

# **Häufigkeit und Spektrum von *Malassezia*-Hefen im Bereich des Präputialraumes und der Glans penis sowie im Bereich des hinteren Vaginalgewölbes**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
des Fachbereichs Humanmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Marianne Ingeborg Margarete Schütz  
aus Gießen

Gießen 2003

Aus dem Medizinischen Zentrum für Dermatologie und Andrologie  
Leiter: Prof. Dr. Dr. med. habil. W.-B. Schill  
des Klinikums der Justus-Liebig-Universität Gießen

Gutachter: PD Dr. Peter Andreas Mayser  
Gutachter: Frau Prof. Dr. Roswitha Füssle

Tag der Disputation: 8.Dezember 2003



<b>1 Hintergrund und Fragestellung</b>	<b>1-23</b>
<b>1.1 Einleitung</b>	<b>1-2</b>
Allgemeine Kennzeichen der Hefen der Gattung <i>Malassezia</i>	
<b>1.2 Epidemiologie der <i>Malassezia</i>-Hefen</b>	<b>2-6</b>
<b>1.3 Die Haut des Penis, das Präputium, die Tyson`schen Drüsen</b>	<b>6-11</b>
<b>1.4 Standortflora des männlichen Urogenitaltraktes</b>	<b>11-13</b>
<b>sowie Erreger mykotischer peniler Infektionen</b>	
<b>1.5 Ausgewählte Erkrankungen im Bereich des äußeren Genitale des Mannes</b>	<b>13-17</b>
1.5.1 Balanitis / Balanoposthitis	13-15
1.5.2 Seborrhoisches Ekzem	16-17
<b>1.6 Pityriasis versicolor der Glans penis</b>	<b>17-19</b>
<b>1.7 Vaginalsekret – Kennzeichen und Mikrobiologie</b>	<b>19-21</b>
<b>1.8 Problemstellung</b>	<b>22-23</b>
<b>2 Material und Methode</b>	<b>24-43</b>
<b>2.1 Stämme und Stammhaltung</b>	<b>24-25</b>
2.1.1 Referenzstämme	24
2.1.2 Wildstämme	25
<b>2.2 Kulturverfahren</b>	<b>26-32</b>
2.2.1 Verwendete Nährmedien	26-31
2.2.2 Gewinnung von Reinkulturen	31-32
<b>2.3 Allgemeine Analysemethoden</b>	<b>32-34</b>
2.3.1 In-vitro Nachweis von <i>Malassezia</i> -Hefen und Mikroskopie	32-33
2.3.2 In-vitro Nachweis von <i>Candida</i> -Hefen etc. und Mikroskopie	33-34
<b>2.4 Mykologisch-taxonomische Untersuchungen</b>	<b>34-42</b>
2.4.1 Tween <sup>®</sup> -Cremophor-Auxotypie	34-37
2.4.2 Physiologische Testreihen ID 32 C (Identifizierungssystem für Hefen)	37-40
2.4.3 Bildung von Pigmenten und Fluorochromen	41
2.4.4 Wachstum auf lipidfreiem Medium	41
2.4.5 Spaltung von Esculin	41-42
2.4.6 Catalase-Aktivität	42
<b>2.5 Aktuelles Differenzierungsschema für <i>Malassezia</i>-Hefen</b>	<b>43</b>

<b>3 Ergebnisse</b>	<b>44-61</b>
<b>3.1 <u>Häufigkeit und Spektrum von Mikroorganismen im Bereich des Präputialraumes und der Glans penis (äußerer männlicher Genitaltrakt)</u></b>	<b>44-56</b>
3.1.1 Probandenkollektiv	44
3.1.2 Absolute und relative Nachweishäufigkeiten der <i>Malassezia</i> - und <i>Candida</i> spp.	44-46
3.1.3 Nachweis auf den beiden lipophilen Standard-Medien	46
3.1.4 Semiquantitative Auswertung aller positiven Kulturplatten	46-47
3.1.5 Häufigkeitsverteilung der <i>Candida</i> -Isolate	47-48
3.1.6 Spektrum und Häufigkeitsverteilung der <i>Malassezia</i> spp. Isolate	48-49
3.1.7 Untersuchungen zur Morphologie	49-54
3.1.7.1 Makromorphologie	49-51
3.1.7.2 Mikromorphologie	52-54
3.1.8 Tween <sup>®</sup> -Cremophor-Auxotypie	54
3.1.9 ID 32 C (Identifizierungssystem für Hefen)	55
3.1.10 Bildung von Pigmenten	55
3.1.11 Spaltung von Esculin	56
3.1.12 Catalase-Aktivität	56
<b>3.2 <u>Häufigkeit und Spektrum von Mikroorganismen im Bereich des hinteren Vaginalgewölbes (Fornix posterior) des weiblichen Genitaltraktes</u></b>	<b>57-61</b>
3.2.1 Probandinnenkollektiv	57
3.2.2 Mikrobiologische Nachweise im Untersuchungsgut	57
3.2.3 Absolute und relative Nachweishäufigkeiten der <i>Candida</i> spp.	58
3.2.4 Spektrum und Häufigkeitsverteilung der <i>Candida</i> spp. Isolate	58-59
3.2.5 Morphologie	60
3.2.5.1 Makromorphologie	60
3.2.5.2 Mikromorphologie	60
3.2.6 ID 32 C (Identifizierungssystem für Hefen)	61
<b>4 Diskussion</b>	<b>62-77</b>
<b>5 Zusammenfassung</b>	<b>78-79</b>
<b>6 Summary</b>	<b>80-81</b>

<b>7 Literaturverzeichnis</b>	<b>82-98</b>
<b>8 Rohdatenliste</b>	<b>99-141</b>
<b>9 Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>142-143</b>
<b>10 Danksagung</b>	<b>144</b>
<b>11 Tabellarischer Lebenslauf</b>	<b>145</b>

# 1 Hintergrund und Fragestellung

## 1.1 Einleitung

Allgemeine Kennzeichen der Hefen der Gattung *Malassezia*

Hefen der Gattung *Malassezia* sind ubiquitär auftretende Hefen, die mit Ausnahme von *Malassezia pachydermatis* von einer Versorgung mit längerkettigen Fettsäuren abhängig sind (Kwon-Chung 1992, Ingham 1993). So gehören *Malassezia*-Hefen zu den wenigen obligat lipophilen Mikroorganismen.

Ota und Huang erkannten 1933 die obligate Lipidbedürftigkeit dieser Erreger und damit den Grund für die Schwierigkeit ihrer Anzucht auf Standardmedien (Ota et Huang 1933). Die obligate Lipiddependenz (Benham 1941) mit einem Bedarf an Lipiden mit einer Kettenlänge von mehr als 12 Kohlenstoffatomen (Shiffrine 1963, Nazzarro 1976) befähigt die lipophilen *Malassezia*-Spezies, auf Kohlenhydrate wie Glucose als Carbonquelle verzichten zu können. Ausnahme bildet *M. pachydermatis*, welcher Glucose, Mannit, Glycerol und Sorbitol assimilieren kann (Sloof 1970).

Für die in vitro Anzucht ist aufgrund der obligaten Lipophilie die Verwendung von lipidhaltigen Medien notwendig, entweder eines Basalmediums, wie beispielsweise Sabouraud-Dextrose-Agar, das mit Olivenöl überschichtet wird oder eines Spezialnährmediums wie Dixon-Agar (van Abbe 1964) oder Leeming-Notman-Agar (Leeming et Notman 1987). Guého (Guého et Guillot 1996) und Korting (Korting 1991) haben auch andere lipidhaltige Nährböden beschrieben.

*Malassezia*-Hefen bilden auf Dixon-Agar cremefarbige, gelbliche Kolonien mit einem fruchtig, hefigen Geruch (van Abbe 1964, Labows 1975). Hierbei kommt es nicht zur Ausbildung von Luftmyzel. Gelegentlich werden die Oberflächenstrukturen der Kolonien als charakteristisch für die einzelnen Spezies angegeben (van Abbe 1964, Slooff 1970, Guého et Guillot 1996). Bei einem pH-Wert von 5,5-6,5 und einer Temperatur zwischen 32 und 37 °C haben *Malassezia*-Hefen ihre Wachstumsoptima. Sie zeigen eine Resistenz gegenüber Cycloheximid, welches zur Risikoverminderung der Kontamination in Kultur eingesetzt wird. Sie können in vitro aus Schuppenmaterial und Abstrichen angezüchtet werden.

Im letzten Jahrzehnt vergrößerte sich die Gattung *Malassezia* aufgrund der Möglichkeiten molekularbiologischer Methoden, so dass zusätzlich zu den bekannten Spezies *Malassezia furfur* und *Malassezia pachydermatis* die Spezies *Malassezia sympodialis* im Jahr 1990 und *Malassezia globosa*, *Malassezia obtusa*, *Malassezia restricta* und *Malassezia slooffiae* im

Jahr 1996 beschrieben wurden (Guého et Guillot 1996). Biochemische Methoden stehen zu ihrer Differenzierung mittlerweile zur Verfügung (Guillot et Guého 1996, Mayser et Haze 1997, Mayser et Wille 1998).

Bekanntheit erlangten Hefen der Gattung *Malassezia* vor allem durch das häufig vorkommende, weltweit verbreitete Krankheitsbild der Pityriasis versicolor (PV), welche erstmals 1801 von Willan beschrieben wurde. Die kleieartige Schuppung der Hautläsionen sowie ein Wechsel im Hautkolorit kennzeichnen die typischen Merkmale dieser Erkrankung. Weiterhin haben *Malassezia*-Hefen eine Assoziation zum seborrhoischen Ekzem (SE) (Heng 1990), zur Pityriasis simplex capillitii (Malassez 1874, Mc Ginley 1975, Priestley 1976, Leyden 1976, Shuster 1984), zur *Malassezia (Pityrosporum)*-Follikulitis (MF/PF) (Bean 1971, Potter 1973, Yaffee 1973, Berretty 1980, Yohn 1985, Heymann 1986, Faergemann et Meinhof 1988, Jacinto-Jamorra 1991), zur Papillomatosis confluens et reticularis (Beurey 1965, Duverne 1966), zur Akne vulgaris (Weary 1970, Marples et Leyden 1974, Voss 1974, Kligman 1976, Leeming 1986), zu systemischen Infektionen (Marcon 1987, Guého 1987, Mickelsen 1988, Shek 1989, Surmont 1989, Myers 1992, Barber 1993), zur Psoriasis vulgaris und zum atopischen Ekzem (Kieffer 1990, Wessels 1991, Nordvall 1992, Savolainen 1993, Doekes 1993 a/b, Zargari 1994, Nenoff 2001). Auch betreffen Einzelberichte andere Erkrankungen wie die Onychomykose (Silva 1997), Affektionen des Haarschaftes (Lopes 1994), *Malassezia*-Intertrigo (Kato 1988), Blepharitis (Hickey 1950), Dakrocystitis (Wolter 1977), Erkrankungen der Vulva (Nyirjesy 1994) und der Brustwarze (Bertini 1975).

## **1.2 Epidemiologie der *Malassezia*-Hefen**

*Malassezia*-Hefen sind seit mehr als 100 Jahren bekannt als Bestandteile der Mikroflora der menschlichen Haut und der Haut vieler Warmblüter (Marples 1965, Slooff 1970, Noble 1981, Guého et Guillot 1996, Yarrow 1984, Ingham 1993).

Aufgrund ihrer obligaten Lipiddependenz lassen sie sich besonders in den talgdrüsenreichen Körperarealen nachweisen (Marples 1965, Marples 1973). *M. pachydermatis* bildet innerhalb der Gattung *Malassezia* eine Ausnahme, da diese Spezies unabhängig von der Versorgung mit länger-kettigen Fettsäuren ist. *M. pachydermatis* lässt sich vornehmlich bei Tieren nachweisen, beim Menschen ist diese Hefe bislang nur sehr selten nachgewiesen worden (Slooff 1970, Noble 1981, Sommerville 1972, Midgley 1989, Bandhaya 1993).

*Malassezia*-Hefen lassen sich bei den meisten Menschen im Cerumen, d.h. im äußeren Gehörgang nachweisen (Marples 1965, Randjandiche 1975, Ono 1981, Leeming et Notman 1989).

Häufig kann man die Hefen auf klinisch unveränderter Haut besonders am Kopf (78-97 %) und am Stamm (92-100 %) isolieren (Martin-Scott 1952, Whitlock 1953, Spoor 1954, Meinhof 1967, Ackerman 1969, Roberts 1969, Mc Ginley et al. 1975, Noble 1978) (Abb. 1).

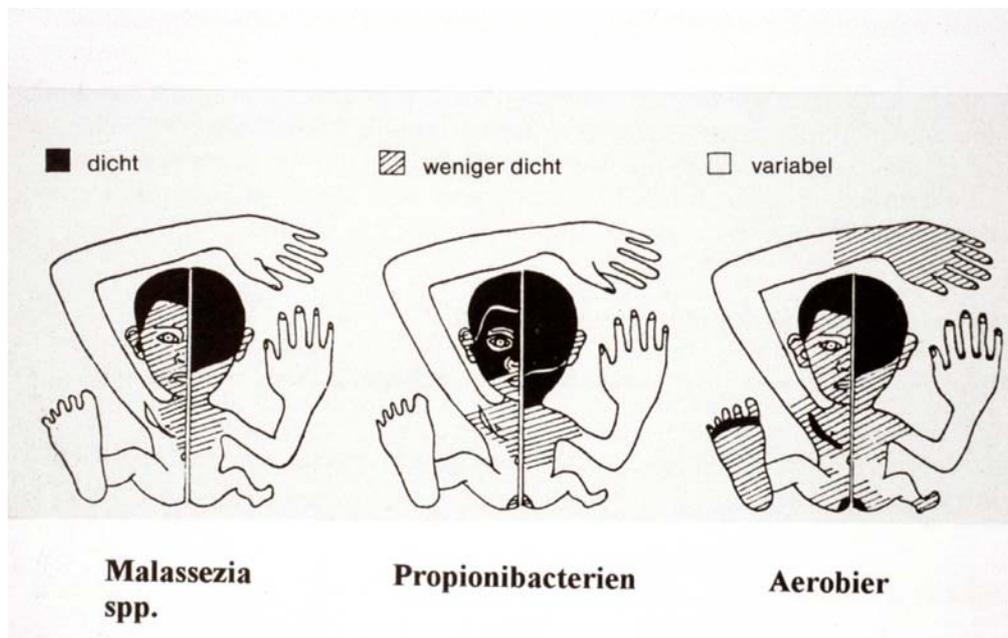


Abb. 1: Besiedlungsdichte von *Malassezia* spp. im Vergleich zu *Propionibakterien* und Aerobiern (Aus: Fritsch, Dermatologie, 1991)

Durch die Entnahmetechnik und das verwendete Nährmedium wird der Nachweis merklich beeinflusst (Korting et al. 1991), so dass es meist zur Revidierung negativer Kulturergebnisse durch modifizierte Entnahmetechnik kommen kann (Noble 1978).

Zu den Einflußfaktoren bezüglich der Besiedlungsdichte gehören zum einen die Talgproduktion (Marples 1965), zum anderen die aktuell bestehende Feuchtigkeit der Hautoberfläche (Noble 1981). Eine Keimzahlreduktion kommt durch abnehmende Talgproduktion im Alter (Noble 1981, Spoor 1954, Faergemann 1980) sowie durch Sebostase (Martin-Scott 1952, Spoor 1954 ) zustande.

Bei Eintritt der Pubertät steigt die Aktivität der Talgdrüsen, so dass sich gerade in diesem Alter besonders hohe Keimzahlen nachweisen lassen.

Keine eindeutigen Angaben findet man in der Literatur für die Besiedlungsdichte bei Säuglingen und Kleinkindern. Hier liefert die Literatur eine 56 %ige (Kinbara et al. 1980)

bzw. 47 %ige (Imwidthaya 1988) Besiedlung mit *Malassezia*-Hefen bei Neugeborenen, deren Besiedlung aus dem Hautkontakt mit der Mutter resultiert sein soll.

Andere Untersuchungen (Faergemann 1980, Abraham et al. 1987) konnten dagegen bei Kindern unter 5 Lebensjahren keine Besiedlung aufzeigen, währenddessen bei den 10 jährigen in 10 % und bei den 15 jährigen in 93 % eine Besiedlung nachgewiesen werden konnte (Faergemann 1980). Auf der Kopfhaut der Kinder konnte eine Besiedlung bei 70 % der 6-15 jährigen (Spoor 1954) nachgewiesen werden, eine andere Quelle beschreibt eine Besiedlung bei 74 % der 8-17 jährigen (Noble 1978).

Die Dichte der Hefekolonisation ist bei Männern und Frauen weitgehend gleich, jedoch differiert die Befunddichte von Mensch zu Mensch stark (Noble 1981, Whitlock 1953, Roberts 1969, Noble 1978).

Der Maximalwert bezogen auf die Besiedlungsdichte von *Malassezia*-Hefen liegt bei 11000 CFU / cm im Brustbereich (siehe auch Tabelle 1) (Leeming et Notman 1989), insgesamt gesehen gibt es nur wenig absolute Daten bezogen auf die Besiedlungsdichte in der Literatur.

Tabelle 1: Besiedlungsdichte von *Malassezia*-Hefen auf der menschlichen Haut (nach Leeming 1989)

Dichte CFU (x10 <sup>3</sup> cm <sup>-2</sup> )	
Brust	11
Rücken	8,9
Stirn	4,8
Wange	1
Ohr	4,8
Hände /Füße	<0,1

Ebenso wenige Daten sind über die Epidemiologie der *Malassezia*-Hefen zu finden (siehe auch Tabelle 2). Ein Problem stellen die in vivo häufig auftretenden Mischkulturen dar und der Mangel an adäquaten Verfahren, um Reinkulturen darzustellen.

Tabelle 2: Epidemiologie von *Malassezia*-Hefen (Guého et Guillot 1996)

<i>M. furfur</i>	selten auf der Haut des Menschen nachweisbar; auch bei Hautgesunden isolierbar; auch bei Pityriasis versicolor selten nachzuweisen
<i>M. pachydermatis</i>	vornehmlich bei Tieren auftretend
<i>M. sympodialis</i>	vermutlich die häufigste Hefe auf der menschlichen Haut; tritt zumeist in Mischkultur mit <i>M. globosa</i> auf
<i>M. globosa</i>	häufig auf kranker und gesunder Haut; auch häufig assoziiert mit Pityriasis versicolor
<i>M. obtusa</i>	sehr selten zu isolieren; tritt auf gesunder Haut und auch bei Pityriasis versicolor auf; schwer in Kultur zu halten
<i>M. restricta</i>	kommt vor allem im Bereich des behaarten Kopfes vor; schwer in Kultur zu halten
<i>M. slooffiae</i>	wurde bisher vornehmlich auf der Haut von Schweinen gefunden; ist gelegentlich auch beim Menschen nachweisbar

*Malassezia*-Hefen befinden sich aufgrund ihrer Lipophilie hauptsächlich im Talgdrüsenfollikel. Da sich Hefen der Gattung *Malassezia* besonders in den Öffnungen der Talgdrüsenfollikel befinden (Abb. 2) und somit keine gleichmäßige Verteilung auf der Hautoberfläche aufweisen, wird die Bestimmung der Besiedlungsdichte der Hefen z.T. erheblich erschwert (Wolff 1976, Plewig 1978).

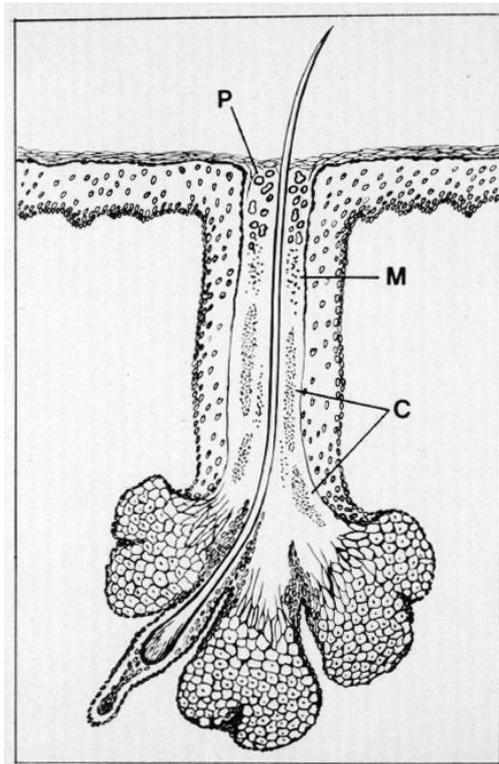


Abb. 2: Schema eines Talgdrüsenfollikels und Topographie der Mikroflora. *Pityrosporum/Malassezia*-Hefen (P) finden sich in der Öffnung, *Mikrokokken* (M) im Akroinfundibulum und *Corynebakterien* (C) im anaeroben Infracinfundibulum (nach Wolff und Plewig 1976)

### 1.3 Die Haut des Penis, das Präputium, die Tyson`schen Drüsen

Die Haut des Penis im Sulcus coronarius glandis ist am distalen Ende an der Tunica albuginea der Schwellkörper befestigt, sie bildet an der Unterseite der Glans eine mediane Falte, die an der Unterseite der Glans befestigt ist und bis an das Orificium urethrae heranreicht, das Frenulum praeputii. Der Hautüberzug ist im erschlafften und kontrahierten Zustand der Schwellkörper länger als diese, so dass die Haut - durch das Frenulum distal festgehalten - eine ringförmige Falte oder Duplikatur bildet - das Präputium - welches die Glans mehr oder weniger vollständig bedeckt.

Am erschlafften Penis besteht das Präputium also aus zwei einander eng anliegenden Hautblättern, von denen das äußere sich an einem kreisförmigen Umschlagsrand am Orificium praeputii in das innere Blatt fortsetzt, das der Glans penis anliegt.

Das Epithel des inneren Blattes zeigt den Charakter eines Schleimhautepithels, d.h. einen sehr geringen Grad an Verhornung und ist wesentlich weniger stark pigmentiert als das äußere Blatt.

Am Sulcus coronarius glandis geht das innere Blatt des leicht verschieblichen Präputiums in die unverschiebliche Hautschicht des Überzuges der Glans über (Alken et al. 1969).

Dieses ist nun die Region der Glandulae sebaceae glandis, den sogenannten Tyson'schen Drüsen (Netter Atlas Ciba Geigy, Abb. 3).

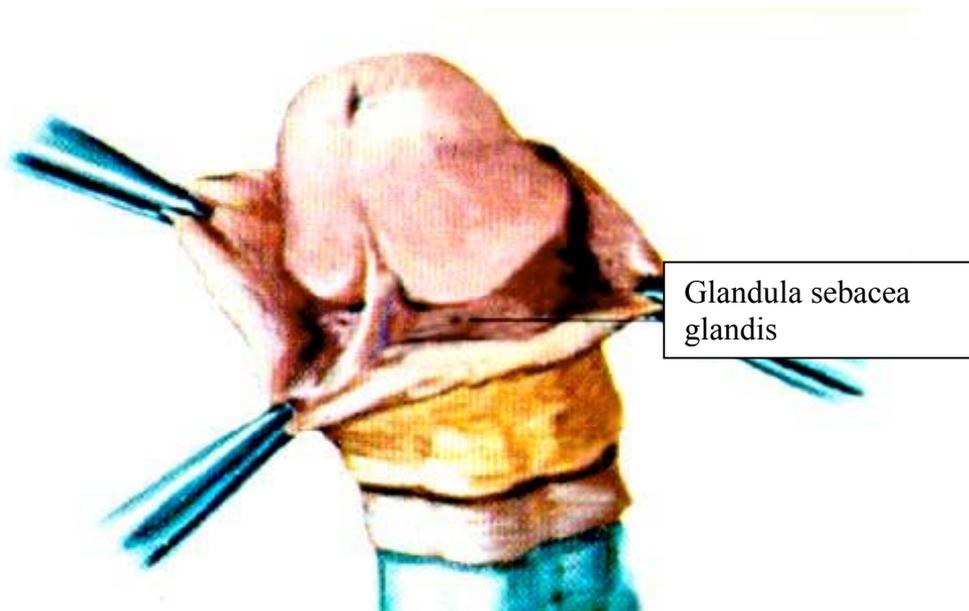


Abb. 3: Tyson'sche Drüsen (Aus: Netter Atlas Ciba Geigy, 1987)

Hierbei handelt es sich um Talgdrüsen, die in variabler Anzahl auf der Glans penis, insbesondere am Collum sowie am inneren Blatt des Präputiums vorkommen, gelegentlich sind sie auch als gelbe Flecke oder Vorwölbungen sichtbar (Henle 1873, Schaffer 1933).

Der jüdische Anatom und Arzt Tyson (1649-1708) entdeckte im 17. Jahrhundert Drüsen, die er damals Glandulae odoriferae nannte (wegen des eigentümlichen Geruches), deren Anzahl inkonstant ist und die bei Männern mit langem Präputium nicht nur mehr, sondern auch größer sind und eine größere Menge an Sekret produzieren, welches oft beißend ist und die Glans angreift. Dies schrieb William Cowper 1694 von seinem Freund Tyson (Cowper 1694).

Im 19. Jahrhundert gab es sogar einen Meinungsstreit älterer Autoren bezüglich der Tyson'schen Drüsen, denn die Existenz als selbständige, wirkliche Drüsen wurde bezweifelt und deren Beschreibung aus einer Verwechslung mit Epidermisfaltungen erklärt. Stieda meinte Ende des 19. Jahrhunderts, dass die vermeintlichen Tyson'schen Drüsen Trugbilder

sein und es sich um zwischen den Papillen querschnittene Rinnen und Furchen handele (Stieda 1897). Andere Autoren, wie v. Kölliker (Kölliker 1897) und v. Ebner waren gegensätzlicher Meinung und hielten an ihrer Meinung fest, es handele sich um echte genuine Talgdrüsen, die zum Teil an der Glans, zum Teil am Frenulum oder an der inneren Lamelle des Präputiums liegen, manchmal zu zwei bis zehn, andere Male zu Hunderten, doch konstant. Durch Tandler (Tandler 1899) am Ende des 19. und Schaffer (Schaffer 1933) am Anfang des 20. Jahrhunderts konnte der Zweifel schließlich entkräftet werden. Sie stellten fest, dass die Glandulae sebaceae glandis den Drüsen an anderen Körperstellen gleichen.

Stieve schreibt 1930, dass die Talgdrüsen in der Auskleidung des Vorhautsackes nur selten vorkommen und bestimmt nicht in jedem Fall nachweisbar seien.

Krompecher stellte aufgrund selbst durchgeführter Untersuchungen fest, dass Talgdrüsen in der Frenulumgegend tatsächlich vorzufinden sind. Er beschreibt weiterhin, dass die aufgeweichten Epithelzellen mit dem Sekret der Talgdrüsen durchtränkt werden und auf diese Art und Weise im Frenulumgebiet das Smegma entsteht. Auf der Eichel und der Innenfläche der Vorhaut wird das Smegma durch die Verfettung des geschichteten Plattenepithels gebildet. Die oberen Schichten des Epithels bestehen hier größtenteils, aber nicht kontinuierlich aus verfetteten Epithelzellen, es wechselt mit solchen Regionen, wo im Epithel Keratohyalin granula erscheinen und die Epithelzellen nicht oder nur in geringem Maße verfetten. Weiter berichtet Krompecher, dass bei zirkumzidierten Männern die Verfettung des Epithels nicht oder nur in ganz geringem Maße vorzufinden ist (Krompecher 1932).

1966 schrieb Gray von vereinzelt Drüsen im Bereich des Penishalses und dem inneren Präputialblattes, den Tyson'schen Drüsen, die ein fetthaltiges Sekret mit eigentümlichem Geruch sezernieren, welches sich mit abgeschilferten Epithelzellen vermischt und als Smegma bezeichnet wird (Gray 1966).

Hyman berichtete schließlich 1969, dass die von Tyson auf der Corona beobachteten makroskopischen Veränderungen, denen er eine glanduläre Struktur zuschrieb und die er für den beißenden Geruch verantwortlich machte, sich als identisch erwiesen mit den Beschreibungen späterer Autoren unter dem Namen Papillomatosis corona penis (Hymann 1969).

Bei der Papillomatosis corona penis fehlen Talgdrüsen oder andere glanduläre Strukturen. Es handelt sich um makroskopisch sichtbare hautfarbene oder weiße papillomatöse Auswüchse von nicht mehr als 3 mm Durchmesser. Zumeist ist die Papillomatose asymptomatisch, es gibt keinen Beweis für eine Beziehung zu glandulären Strukturen oder eine Ursache in einem Virus oder ein anderes infektiöses Agens (Hymann 1969) (Abb. 4, Abb. 6).

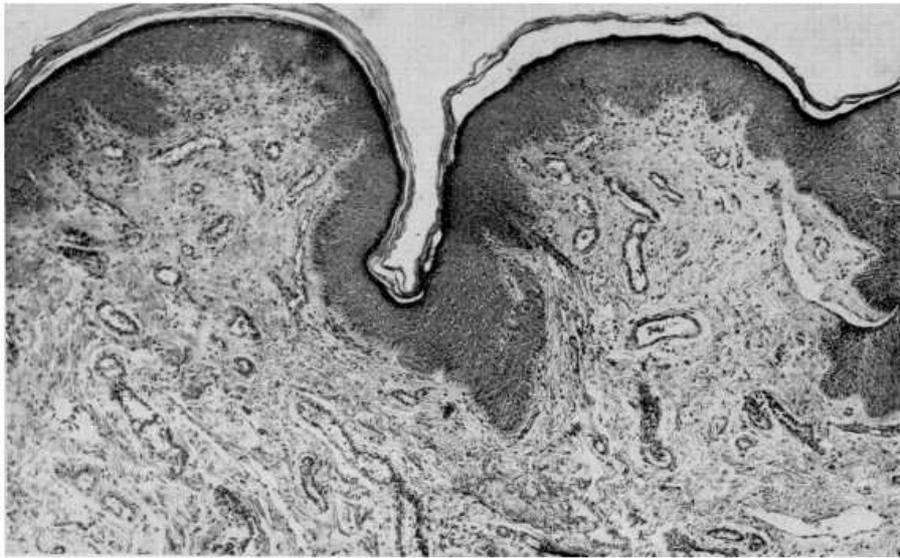


Abb. 4: Mikroskopisches Bild der Papillomatosis corona penis (Aus: Hymann 1969)

Ektope Talgdrüsen beschrieb Hyman als multiple symmetrische, kaum erhabene gelbfarbene Papeln von Miliengröße, die sich im Bereich der oberen Cutis befinden und nicht an folliculäre Strukturen gebunden sind. Diese ektopen Talgdrüsen befinden sich auf der Glans und nicht auf der Corona des Penis (Hymann 1969) (Abb. 5, Abb. 6).

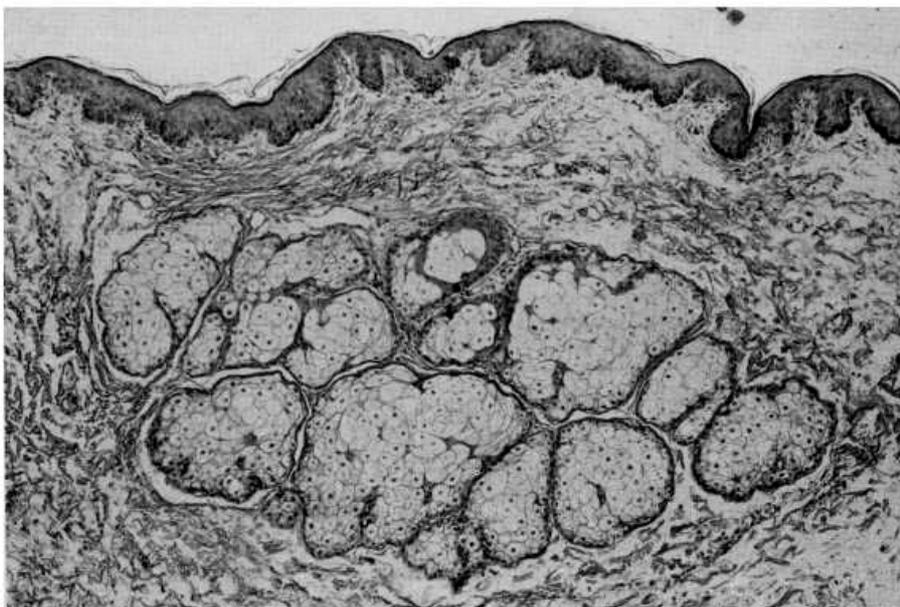


Abb. 5: Mikroskopisches Bild der ektopen Talgdrüsen der Glans penis (Aus: Hymann 1969)



Abb. 6: Makroskopisches Bild der Papillomatosis corona penis (beide Bilder oben) und der ektopen Talgdrüsen (beide Bilder unten) der Glans penis (Aus: Hymann 1969)

Seit Tyson den Begriff „Drüse“ in Verbindung mit penilen Läsionen benutzte, wendeten einige Autoren, die ektopy Talgdrüsen im Bereich des Präputialraumes und der Glans penis gefunden haben, diesen Begriff hierauf an (Kölliker 1897), obwohl es nicht das war, was Tyson beschrieben hatte (Hymann 1969). Andere schließlich, die in diesen Bereichen nach Talgdrüsen suchten und dort keine fanden, negierten die Existenz der Tyson'schen Drüsen (Stieda 1897).

Tyson interpretierte die makroskopischen Läsionen der Corona penis als Bildungsort des Smegmas, doch wird das Smegma weder von der Papillomatosis corona penis noch von ektopen Talgdrüsen gebildet, sondern ist das Ergebnis von abgeschilferten Epithelzellen der Glans und des Präputialraumes, von Mazeration und bakterieller Kontamination.

Hyman schlug schließlich vor, den Ausdruck Tyson`sche Drüsen - abgesehen von historischen Referenzen - abzulösen von den passenden beschreibenden Begriffen, der Papillomatosis corona penis oder den ektope Talgdrüsen (ectopic sebaceous glands) (Hymann 1969).

In dieser Arbeit wird aus historischer Sicht weiterhin der Begriff Tyson`sche Drüsen für die Beschreibung ektoper Talgdrüsen benutzt, auch in aktueller Literatur wird von Tysonitis gesprochen, wenn eine Entzündung ektoper Talgdrüsen beschrieben wird.

In der Literatur wird immer wieder von einer Entzündung der Tyson`schen Drüsen berichtet, insgesamt ist die Tysonitis aber eine sehr selten vorkommende Infektion, es kommt hierbei zu einseitiger oder beidseitiger Schwellung, wobei bei leichtem Druck Eiter aus den Drüsenöffnungen zu exprimieren ist. Die Tysonitis ist als ungewöhnliche Komplikation der Gonorrhoe beschrieben, separat oder in Zusammenhang mit gonorrhöischer Urethritis (Bavidge 1976, Fiumara 1977, Subramanian 1981, Gaffoor 1986, El-Benhawi 1988, Gaffoor 1989). Auch andere Erreger wie *E. coli* sind als auslösende Erreger beschrieben worden.

Weiterhin wird in der Literatur immer wieder von Hyperplasien der Talgdrüsen berichtet, ebenso wie von seniler Hypertrophie der Tyson`schen Drüsen (Ono 1990, Kumar 1999).

In einem Fall von einer Talgdrüsenhyperplasie nahm man bei einem 12 jährigen Jungen sogar zunächst Molluscum contagiosum als Erkrankung an (Piccinno 1990).

Auch im Tierreich gibt es präputiale Talgdrüsen, die in der Vergangenheit schon oft Gegenstand zahlreicher Untersuchungen waren, so etwa bei Ratten und Mäusen, auch in Verbindung mit der Entstehung von Neoplasien (Brown 1972, Murakami 1973, Rudali 1974, Potter 1979, Maronpot 1988).

#### **1.4 Standortflora des männlichen Urogenitaltraktes sowie Erreger mykotischer peniler Infektionen**

Zu den typischen Keimen der urogenitalen Standortflora des Mannes gehören *Streptococcus* spp., Koagulase-positive und -negative *Staphylococcus* spp., *Enterobacteriaceae* spp., *Neisseria* spp., *Corynebacterium* spp., *Acinetobacter* spp., *Mycobacterium* spp., *Bacteroides* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Peptococcus* spp., *Fusobacterium* spp., *Mycoplasma* spp. und *Candida* spp. (Bowie 1977, Schiefer 1994).

Die Keimbesiedlung gleicht sich bei freiliegender Glans penis der grampositiven saprophytären Bakterienflora in talgdrüsenreichen Regionen an, entspricht also der

Keimbefestigung auf dem übrigen Integument. Es erhöht sich unter diesen Bedingungen das Vorkommen koagulasen negativer *Staphylokokken* und aerober *Corynebakterien* auf 100 bzw. 91,5 %, ebenso auch das Vorkommen der mikroaerophilen *Propionibakterien* auf 81,3 %. Bei mangelnder Hygiene und bei bedeckter Glans penis kommt es zu einer Zunahme der Keimdichte, in den Vordergrund treten hier potentiell pathogene Keime wie gramnegative Anaerobier, besonders *Bacteroides melaninogenicus* sowie *Enterokokken*, *Enterobakterien* und koagulasepositive *Staphylokokken* (Neubert 1979), gleichzeitig nimmt der relative Anteil der normalen Hautflora ab.

Mit Ausnahme der äußeren Genitalien und des vorderen Drittels der Urethra ist der Urogenitaltrakt des gesunden Mannes keimfrei. Es besteht eine Komplexität und Inkonstanz bezüglich der Standortflora des Präputiums und der vorderen Urethra, wobei die Keimzahl und die Keimart von verschiedenen Faktoren abhängig sind wie vom Alter, der persönlichen Hygiene, der Anamnese (Harnwegsinfektionen; venerische Erkrankungen; instrumentelle Manipulationen), sexuellen Prädispositionen (genital-genitaler, genital-analer, genital-oraler Verkehr) und sexueller Aktivität (enthaltend, monogam, promiskuitiv lebend). Es finden sich neben nicht oder wenig virulenten Keimen in zumeist geringer Häufigkeit auch fakultativ pathogene Erreger (Schiefer 1998).

Im männlichen Urogenitaltrakt gelten als obligat pathogene Erreger *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Chlamydia trachomatis*, HSV-2, HSV-1, *Haemophilus ducreyi*, HPV, *Trichomonas vaginalis*. HIV, HBV, HCV, HDV und CMV können bei generalisierten Infektionen mit dem Ejakulat ausgeschieden werden (Schiefer 1998).

Als Erreger dermatologisch relevanter mykotischer peniler Infektionen kommen in Betracht: *Candida* spp., *Malassezia furfur*, *Trichosporon inkin*, die zu den Dermatophyten zählenden *Trichophyton rubrum* und *Trichophyton mentagrophytes* (Dekio 1989), die sehr selten zu penilen Infektionen führen (differentialdiagnostisch kommen bei der penilen Dermatophytose die Psoriasis, die Candidose sowie das Kontaktekzem in Frage) sowie die Systemmykosen hervorrufenden *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis* und *Cryptococcus (Filobasidiella) neoformans* und selten der Erreger *Penicillium marneffeii* (Perfect 1985, Preminger 1993, English et al. 1997, Mayser 1999).

Hefepilze der Gattung *Candida* sind keine obligat pathogenen Erreger und können auch bei klinisch unauffälligen Männern im Präputialraum nachgewiesen werden. Schaller konnte im Präputialraum von 1000 jungen Männern mittels Abklatschkulturen bei 26,8 % der Probanden

Hefen nachweisen, darunter in 25 % der Fälle *C. albicans* (Schaller 1971). Rückblickend auf Daten verschiedener Studien stellte Odds fest, dass weniger als 20 % von zufällig ausgewählten Männern im Bereich des Penis eine Hefenbesiedlung aufweisen mit einem höheren Anteil unter den nichtzirkumzidierten als unter den zirkumzidierten Männern (Odds 1988).

## **1.5 Ausgewählte Erkrankungen im Bereich des äußeren Genitale des Mannes**

### **1.5.1 Balanitis / Balanoposthitis**

Unter Balanoposthitis versteht man entzündliche Veränderungen der Glans (Balanitis) und des inneren Präputialblattes (Posthitis) durch verschiedene Ursachen. Typische Symptome sind ein Erythem, eine Schwellung, Absonderungen, Dysurie, Blutungen und zum Teil die Entstehung von Ulzerationen (Escala 1989). Unabhängig von der Ätiologie ist es zweckmässig, eine akute von einer chronischen Balanoposthitis abzugrenzen. Alle Formen der Balanitis können chronifizieren, vor allem bei älteren Menschen, die Glans und die Vorhaut durchlaufen eine sklerotische und fibröse Umwandlung, an dessen Ende eine obliterative Balanitis steht (Ive 1998).

Auslösende Faktoren sind mikrobielle Infektionen, Kontaktallergie (Antikonzipienzien wie Spermizide, Deodorantien, Desinfektionsmittel, Medikamente wie Antibiotika und Sulfonamide, Salbengrundlagen, Konservierungsmittel, Kondome, wobei Latex, Gummialterungsschutzstoffe und Vulkanisierbeschleuniger im Kondomgummi eine Rolle spielen), toxische Noxen (Seifen, Detergentien, toxisch wirkende Aphrodisiaka wie spanische Fliegen oder Senföl, auch nach Podophyllintherapie von Condyloma acuminata, halogenierte Chinoline, die bestimmten kortikoidhaltigen Externa als Desinfizientien zugesetzt sind), Smegmaretention oder Traumatisierung (Verletzungen oder Friktionstraumen durch modebedingte unzuweckmässige Kleidungsstücke) (Ive 1998, Hodl 1986), wobei die Ursache der Balanitis häufig undiagnostiziert bleibt und diese dann als unspezifische Balanitis bezeichnet wird (Edwards 1996). Die ordentliche Diagnosestellung (zumindest der Versuch) ist für das optimale Management der Erkrankung essentiell (Waugh 1998). Fördernde Faktoren bei der Genese sind phimotische Zustände, mangelhafte oder übertriebene Hygiene und Erkrankungen wie Diabetes mellitus und Immundefekte (Hodl 1986).

Die akute Balanoposthitis nimmt meist ihren Ausgang von der Gegend des Sulcus coronarius, wobei sich Rötung und Schwellung entwickeln, die auf Glans und inneres Präputialblatt übergreifen. Zu den akuten Balanoposthitisen zählen die akute kontaktallergische Balanoposthitis, die akute infektiöse Balanoposthitis und die Balanitis ulcerosa.

Auch die chronische Balanoposthitis ist eine polyätiologische Erkrankung, hierzu zählen die Balanoposthitis diabetica, die Balanoposthitis candidomycetica, die Balanitis erosiva circinata (bei Morbus Reiter), die Balanitis chronica circumscripta benigna plasmacellularis Zoon, die Balanitis keratotica et pseudoepitheliomatosa sowie die Balanitis xerotica obliterans (dem Lichen sclerosus und atrophicus zuzuordnen). Viele Dermatosen können eine Balanitis verursachen, so die Psoriasis, der Lichen planus, der Lichen nitidus, der Lichen simplex chronicus, das Erythema multiforme, die Dermatitis herpetiformis und der Pemphigus und seine Varianten (Waugh 1998).

Nach den auslösenden Erregern kann man die infektiösen Balanitiden in vier Klassen unterteilen, in die mykotische, bakterielle, virusbedingte sowie parasitäre Form.

Anhand von Abstrich- oder Abklatschpräparaten erfolgt hier die weitere Diagnostik.

Zu den häufigsten Erregern von Balanitiden zählen *Streptococcus* spp. (Serovare A,D), Koagulase-positive und -negative *Staphylococcus* spp., *Enterobacteriaceae* spp., (gehören zu den unspezifischen Krankheitserregern), *Streptococcus* spp. (Serovar B), *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis*, HSV-2 und *Candida* spp. (Schiefer 1994, Edwards 1996, Schiefer 1998). Die letzten fünf aufgelisteten Erreger gehören zu den sexuell übertragbaren Krankheitserregern. Auch die Syphilis, die Tuberkulose sowie eine Infektion mit *Mycoplasma hominis* und *Chlamydia trachomatis*, ebenso wie eine Infektion mit *Amöben* oder HPV ist möglich (Waugh 1998). Bei Kindern zwischen 2 und 5 Jahren dominieren im subpräputialen Bereich vor allem *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *Serratia* spp. sowie *Streptococcus* spp. (vor allem  $\beta$ -hämolisierende *Streptokokken*) (Waugh 1998).

Die mykotische Form der Balanitis soll an dieser Stelle näher betrachtet werden.

In den meisten Fällen wird die Infektion durch *Candida* Arten (hier vor allem *Candida albicans*) verursacht.

Die Balanoposthitis candidomycetica wurde 1922 erstmals von dem französischen Dermatologen Dubreuilh beschrieben. Früher wurde diese Erkrankung nur selten beobachtet, wenn sie auftrat, dann zumeist bei Diabetikern, adipösen oder älteren, abwehrschwachen Menschen. Die heutige Zunahme der Balanoposthitis candidomycetica wird möglicherweise durch vermehrten Einsatz von Kortikoiden, Zytostatika, Lokalantibiotika und mangelhafter Körper- und Genitalhygiene verursacht. An Symptomatik bieten die Patienten leichtes

Brennen, Juckreiz nach dem Koitus, selten Schmerzen, (leichte) Rötung an der Glans penis sowie erhöhte Empfindlichkeit in dieser Region. Es gibt aber auch völlig asymptomatisch ablaufende Formen (Qadripur 1987).

Bei der Balanoposthitis candidomycetica handelt es sich zumeist um eine Sekundärinfektion, wobei es zur Übertragung von der Frau auf den Mann beim Geschlechtsverkehr kommt. Sie weist nach den von Odds über 10 Jahre erhobenen Befunden eine steigende Inzidenz auf und beträgt etwa 2,5 % aller Diagnosen bei männlichen Patienten in einer urologischen Klinik (Odds 1988).

*Candida* Arten gelten als fakultativ pathogen, wobei *Candida albicans* am häufigsten nachweisbar ist und im Vergleich zu allen anderen Arten die stärkste Virulenz zeigt. Die Adhärenz des Erregers an die Wirtszelle (Glykoproteine, insbesondere Mannan, auf der Zelloberfläche haben zentrale Bedeutung) ist hierbei der erste und entscheidende Schritt bei Infektionen mit *Candida albicans* (Ollert 1988). Wangh et al. isolierten bei 90 % der mykotischen Balanitiden *Candida albicans*.

*Candida tropicalis* steht bezüglich Häufigkeit und Virulenz an zweiter Stelle. Weiterhin lassen sich fakultativ pathogene Keime wie *Candida pseudotropicalis*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida guilliermondii* und *Candida glabrata* nachweisen. *C. glabrata* ist in etwa 5 % der Infektionen nachzuweisen. Obwohl Infektionen bei Besiedlung mit *C. glabrata* einen milderen Verlauf zeigen, so ist der Hefepilz nicht selten resistent gegenüber einer antimykotischen Therapie insbesondere mit Azolen (Mayser 1999).

Bei Candidainfektionen bildet das vaginale Pilzreservoir die Hauptinfektionsquelle, prädisponierend sind Diabetes mellitus, Hyperurikämie, Adipositas, Hyperhidrosis, konsumierende Erkrankungen, Immundepression, Rekonvaleszenz, Mangelzustände (Eisen- oder Vitaminmangel), Antibiotika-, Zytostatika-, Kortikosteroidbehandlungen und endokrine Störungen (Cushing-Syndrom). Unauffällige Fehlbildungen wie beispielsweise eine rüsselförmig verlängerte Vorhaut oder lokale Traumata, vernachlässigte Intimpflege, auch ungenügendes Abtrocknen nach dem Waschen oder Candidavulvovaginitis bei Sexualpartnerinnen begünstigen generell eine Infektion im Genitalbereich, ebenso wie eine Phimose, bei der es aufgrund nur geringer Luftzufuhr und feuchter Wärme zur Bildung einer feuchten Kammer kommt. Auf diese Art und Weise kommt es leicht zu Mazerationen im Bereich der Glans, durch die nun folgende Möglichkeit der Einwirkung chemischer und physikalischer Noxen ist der Weg zur Besiedlung von Erregern bereitet.

### 1.5.2 Seborrhoisches Ekzem

Bereits 1887 hatte Paul Gerson Unna das seborrhoische Ekzem als Entität abgegrenzt (Unna 1887). Kennzeichnend für das seborrhoische Ekzem sind entzündlich gerötete, fettig schuppige und leicht infiltrierende und gering juckende Herde in seborrhoischen Arealen, so auch in den Regionen des äußeren männlichen Genitale, wobei Seborrhoe bzw. eine erhöhte Menge an Oberflächenlipiden nicht unbedingte Voraussetzung für die Erkrankung darstellen (Burton 1983, Cowley 1990). Die Erkrankung tritt vor allem in Regionen des Körpers auf, die reich an Talgdrüsen sind, vor allem im Bereich der Kopfhaut, im Gesicht, dort vor allem im mittleren Anteil der Augenbrauen, im Bereich der Glabella und der Nasolabialfalten, in der Region des oberen Stammes, dort vor allem praesternal und interscapulär, weiterhin auch im Bereich der Axilla, der Leiste, der Anogenitalregion, des Nabels und der submammären Region, also in den intertriginösen Räumen. Ebenso können die Genitalien beider Geschlechter betroffen sein (Burton 1998).

Eine Arbeitsgruppe konnte eine klare Beziehung zwischen der Erkrankung und der Anzahl der *Malassezia* – Sprosszellen herstellen (Heng 1990), andere zeigten keine Korrelation der Erkrankung mit vermehrter Besiedlung (Mc Ginley 1975, Clift 1988, Bergbrant 1989), doch kommt es zu einer zugunsten von *Malassezia* spp. veränderten Zusammensetzung der Mikroflora (Mc Ginley 1975). Außerdem spielt es eine Rolle wie jedes Individuum auf *Malassezia*-Hefen reagiert (Bergbrant 1989). Obwohl bereits 1904 Sabouraud beim seborrhoischen Ekzem „Malassez-Sporen“ nachgewiesen hat und einen Zusammenhang des Hefepilzes mit der Erkrankung vermutete, wird die Frage, ob *Malassezia* das ätiologische Agens darstellt, nach wie vor kontrovers diskutiert.

Unter Okklusion kommt es zu einer Verschlechterung der Erkrankung im Sinne eines sogenannten *Eccème flannelaire*. Das seborrhoische Ekzem hat eine Prävalenz von 1-3 % in der gesamten Bevölkerung sowie von 3-5 % bei jungen Erwachsenen (Burton 1998), außerdem sind häufiger Männer als Frauen davon betroffen.

Von 155 Patienten mit HIV-Infektion im Stadium WR1A-2A hatten in einer Studie 36 % eine seborrhoische Dermatitis (Berger 1988). Gerade dieses Patientenkollektiv ist besonders empfänglich für Pilzinfektionen (Berger 1988, Eisenstat 1984, Soeprono 1986), die Inzidenz bei Patienten mit AIDS wird in der Literatur angegeben mit 30-80 % (Groisser 1989). Bei AIDS-Patienten konnte gezeigt werden, dass die Stärke der klinischen Symptome sich proportional verhält zur Menge der Hefezellen, die an den Keratinozyten adhärieren (Groisser

1989). Seborrhoische Dermatitis kann ebenfalls eine Komplikation des Morbus Parkinson sein, da diese Erkrankung mit Seborrhoe einhergeht, beschrieben sind weiterhin auch Fälle von seborrhoischer Dermatitis bei Patienten nach Facialisparesie (Bettley 1956) sowie bei Patienten mit Paralyse des Stammes (Wilson 1988, Cowley 1990).

Mehrere Faktoren werden als ätiologisch bedeutsam angenommen, dazu gehören eine abnorme Zusammensetzung des Sebums, bakterielle und mykotische Infektionen der Haut und des Intestinaltraktes sowie abnorme Reaktionen auf Mikroorganismen und andere Faktoren (Marks 1992).

Patienten mit seborrhoischem Ekzem haben in der Zusammensetzung der Hautoberflächenlipide einen signifikant höheren Anteil an Cholesterin, Triglyceriden und Paraffin bezogen auf die Gesamtlipide sowie einen signifikant geringeren Anteil an freien Fettsäuren (Gloor et al. 1972), die Menge an Lipiden differiert nicht signifikant zu gesunden Kontrollpersonen.

## **1.6 Pityriasis versicolor der Glans penis**

Die Pityriasis versicolor (englischsprachige Quellen bezeichnen sie als Tinea versicolor (Borelli 1991)) zählt zu den häufigsten superfiziellen mykotischen Hautinfektionen (Götz 1962, Hay et al. 1998). Es werden mehrere Formen der Pityriasis versicolor unterschieden, zum einen die hyperpigmentierte mit einer makulösen, einer perifollikulären und einer seltenen papulösen Form, zum anderen die hypopigmentierte Pityriasis versicolor alba (Balus 1982, Hay et al. 1998). Die Pityriasis versicolor ist charakterisiert durch scharf abgegrenzte Maculae, die eine manchmal leicht rötliche, im allgemeinen aber eine feine braune Schuppung zeigen, die Läsionen können in Hypopigmentierung übergehen (Pityriasis versicolor alba).

Zur Inzidenz gibt es nur Schätzungen, da die Erkrankung häufig unbemerkt verläuft, insgesamt nur geringe Beschwerden verursacht und weltweit keine Meldepflicht besteht. Das Makroklima hat einen großen Einfluss auf die Inzidenz. In England beispielsweise liegt die Inzidenz bei etwa 0,5-1 % aller Hauterkrankungen (Adamson 1949) wie auch im übrigen Nord- und Mitteleuropa (Balus 1982), dagegen ist die Inzidenz in tropischen und subtropischen Gegenden zum Teil größer als 50 % (Marples 1950, Vanbreuseghem 1950, Hay et al. 1993).

Ursachen mögen in dem höheren Grad der Perspiration liegen, deshalb kann die Erkrankung auch auf Grundkrankheiten hinweisen, die mit vermehrtem Schwitzen einhergehen, so z.B. auf eine Hyperthyreose, eine vegetative Dystonie, eine Tuberkulose oder eine HIV-Infektion (Tietz 2001). Hereditäre und familiäre Faktoren mögen hierbei auch eine Rolle spielen (Smith 1978).

Die häufigsten Manifestationsorte der Erkrankung sind vor allem der obere Körperstamm, der Hals und die Armbeugen (Hay et al. 1993). Das Gesicht, die Kopfhaut und die Genitale zählen zu den weniger häufig betroffenen Körperregionen (Goslen 1987), wobei in den Tropen öfter auch das Gesicht (vor allem bei Kindern) und die Kopfhaut beteiligt sind (Borelli 1991, Borelli 1985, Belec et al. 1991, Terragni et al. 1991).

Prinzipiell kann jede Region des Körpers betroffen sein, sogar Fußsohlen (Götz 1962, Chetty et al. 1979, El-Hefnawi 1971), die frei von Talgdrüsen sind. Exogen applizierte Lipide können bei solch ungewöhnlichen Manifestationen eine Rolle spielen (Roed-Petersen 1980).

Die Gründe für die seltene Beteiligung der Pityriasis versicolor im Bereich der Glans penis und den anderen oben genannten selten befallenen Körperregionen sind nicht aufgeklärt (Aljabre 1994), für Dermatophyosen ist der Penis ebenfalls keine typische Region (Rippon 1988).

Eine Rolle mögen Okklusion, Druck, Schwitzen und schlechte Hygiene spielen (Kaur 1996).

Es gibt insgesamt nur wenige Berichte über die Beteiligung des männlichen Genitale bei der Pityriasis versicolor. Blumenthal berichtete über einen 63jährigen dunkelhäutigen Mann, der sich mit hypopigmentierten, schuppigen Läsionen im Bereich des Penis und der Ellenbeugen vorstellte (Blumenthal 1971). Smith berichtete über 5 Patienten (2 Sudanesen, 2 Inder und 1 Palästinenser im Alter von 23-35 Jahren) mit penilen Läsionen (diskrete, feinschuppige, hypopigmentierte Areale), welche allesamt eine ausgedehnte Hautbeteiligung aufwiesen (Smith 1978). Schließlich berichteten auch Nia und Smith von einem 20jährigen, in der Kindheit zirkumzidierten indischen Patienten mit Beteiligung der Glans penis (Nia 1979).

Aljabre und Sheikh berichteten über einen 23jährigen HIV negativen Mann mit ausgedehnten schuppigen hypo- und hyperpigmentierten Makulae, die auch am Penisschaft als hypopigmentierte Läsionen nachzuweisen waren (Aljabre 1994).

Desweiteren fanden Kaur, Handa und Kumar in einer Studie mit 254 Patienten einen Mann mit Pityriasis versicolor im Bereich des Penisschaftes (Kaur 1996).

Einen besonderen Fall beschrieben Daneshvar und Hashimoto. Sie berichteten über die Beteiligung des Penis bei einem 34jährigen dunkelhäutigen nierentransplantierten immunsupprimierten Patienten (Daneshvar 1987). In diesem Fall wird die Rolle einer

eingeschränkten Lymphozytenfunktion (herabgesetzte Effektorfunktion, damit eine geringere Freisetzung von leukocyte migration inhibiting factor, die eigentlich durch *Malassezia* Antigene stimuliert werden sollte (Sohnle 1978)) und einer zellvermittelten Immunität aufgrund der Kortikosteroidtherapie des Patienten als Ursache für die ausgedehnte und ungewöhnliche klinische Manifestation diskutiert.

### **1.7 Vaginalsekret – Kennzeichen und Mikrobiologie**

Während der hormonalen Ruhephase (3. Woche post partum bis zum 8.-10. Lebensjahr) ist das Vaginalmilieu neutral (pH 7). Erst mit zunehmendem Östrogeneinfluß entwickelt sich der als physiologisch anzusehende, konstante Säuregrad des Vaginalsekretes: pH 4-4,5. Die Azidität beruht auf dem Gehalt an Milchsäure, die durch fermentative Zersetzung von Zellglykogen entsteht. Die Freisetzung von Glykogen aus den Plattenepithelzellen erfolgt durch die zytolytische Kapazität der Döderlein-Bakterien (*Laktobazillen*, kurze unbewegliche grampositive Stäbchen). Die saure Reaktion ist Voraussetzung für die Resistenz der Vagina gegenüber Infektionen (biologische Infektabwehr). Bei Frauen, die an einer bakteriellen Vaginosis leiden, dominieren nicht wie bei gesunden Frauen *Laktobazillen* (Per-Anders 1983).

Bei prämenopausalen Frauen fördern die zirkulierenden Östrogene die Kolonisation von *Laktobazillen*. Diese helfen, einen niedrigen pH-Wert aufrechtzuerhalten und so das Wachstum von pathogenen Bakterien zu hemmen (Molander et al. 1990). Auch bei postmenopausalen Frauen, die aufgrund rezidivierender Genitalinfektionen topische Östrogene auf das Vestibulum vaginae applizierten, resultierte zum einen ein signifikanter Rückgang der Infektionen sowie positive *Laktobazillen* Kulturen, negative *Enterobacteriaceae* Kulturen und eine Reduktion des vaginalen pH-Wertes (Raz et Stamm 1993).

Jede Störung des Vaginalmilieus – besonders in Verbindung mit Östrogenmangel – beeinträchtigt die Integrität der Vagina und steigert die Anfälligkeit gegenüber mechanischen Reizen und Infektionen, was vor allem im Kindes- und Greisenalter der Fall ist, wenn das atrophe Scheidenepithel kein Zellglykogen bildet. Die Vaginalflora wird zudem durch Antibiotikatherapie, durch sexuelles Verhalten sowie durch Verhütungsmethoden beeinflusst.

Die Vagina besitzt keine eigenen Drüsen. Das feuchte Vaginalmilieu wird durch Transsudation der Scheidenhaut und durch die Sekrete aus den benachbarten Vestibular- und

Zervixdrüsen aufrechterhalten. Elektrolyte, besonders Kalium, Harnstoff, freie Fettsäuren, Proteine (Aminosäuren, Albumin), Immunglobuline (IgA und IgG) sowie immunkompetente Zellen werden mit dem Transsudat abgesondert. Es besteht somit in der Scheide ein sekretorisches Immunsystem, das unter Kontrolle der Östrogene steht.

Zu den am meisten prävalenten Bakterien der vaginalen Flora gesunder Frauen gehören die Anaerobier *Peptococci* spp., *Peptostreptococci* spp., *Bacteroides* spp., *Eubacterium* spp., außerdem fakultativ *Staphylococcus epidermidis*, nicht-hämolytische *Streptococci* spp. und *Diphtheroides* (Paavonen 1983). Neben den physiologisch auftretenden *Laktobazillen* findet man im Vaginalsekret auch reichlich *Candida* Arten. Eine Zunahme tritt während der Schwangerschaft auf, wo dies Bedeutung erlangt hinsichtlich einer Ansteckung des Neugeborenen und des Geschlechtspartners. Nach Montemayor et al. liessen sich 56 % *Candida albicans*, 23 % *Candida tropicalis*, 5 % *Candida guilliermondii*, 2 % *Candida pseudotropicalis*, 2 % *Candida krusei* und 12 % andere *Candida* Arten nachweisen.

*C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. famata*, *C. glabrata*, *Rhodotorula rubra* (Vaginalmykosen sind durch diese Hefe nicht bekannt) u.a. gehören zu den fakultativ-pathogen imperfekten (asporogenen) Hefen (Mendling 2001). Die durchschnittliche Kolonisation der Vagina mit fakultativ-pathogenen Hefen liegt bei Kindern in der Ruheperiode bei 3-5 %, bei gesunden nichtschwangeren prämenopausalen Frauen bei 10 %, bei Schwangeren bei 30 %, bei gesunden postmenopausalen Frauen bei 5-10 %, bei Nichtschwangeren mit Abwehrschwächen bei mindestens 30 % (Mendling 2001). Die Pathogenität der Pilze kann durch Veränderungen des Scheidenmilieus gefördert werden, beispielsweise durch pH-Veränderungen, Diabetes mellitus, Schwangerschaft, Kontrazeptivaeinnahme (Qadripur 1987).

Bei *Candida* Infektionen kann es vergleichbar mit *Staphylococcus aureus* Infektionen schließlich zu einer hämatogenen Dissemination kommen, die auf diese Weise eine systemische Infektion bedingt. Im Unterschied zu den Dermatophyten, die überwiegend aus Infektionsquellen der Umwelt stammen, gehören die meisten *Candida* spp. zur menschlichen Flora, wobei die Patienten in der Regel endogen am „eigenen Pilz“ erkranken. Candidosen sind aus infektionsimmunologischer Sicht opportunistische Erkrankungen, die niemals zufällig entstehen. Neben dem Vorhandensein des Erregers ist stets die Koexistenz begünstigender Faktoren mitentscheidend, wobei Diabetes mellitus, Adipositas, feuchtwarmes Milieu zwischen Hautfalten (Aufquellung der Hornschicht und Entstehung von Erosionen und Rhagaden) und schwere Begleiterkrankungen wie Tumorleiden und HIV prädisponierend wirken (Tietz 2001), ebenso wie die langfristige Anwendung von Breitbandantibiotika,

Kortikoiden und Zytostatika (Seeliger 1974). Der Enddarm bildet häufig das Erregerreservoir für Candidosen der Genitoanalregion, zusätzlich ausschlaggebend ist das feuchtwarme Milieu des Genitalbereiches. Es entstehen somit ideale Wachstums- und Vermehrungsbedingungen für *C. albicans*, *C. parapsilosis* und *C. guilliermondii*. Vor allem bei Patienten mit rekurrierenden Candidosen ist an eine gastrointestinale Kolonisation zu denken (Mc Kay 1988). Etwa 20 % der Genitalcandidosen rezidivieren, wobei *Candida* befallene Patientinnen erniedrigte T-Lymphozyten aufweisen, so dass bei der Verhütung von Reinfektionen auch immunabwehrstärkende Maßnahmen zu berücksichtigen sind (Dittrich 1992).

Die Hauptursache von Infektionen im Bereich des Urogenitaltraktes ist das Bakterium *E. coli*. Auch *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Enterococcus faecalis* und *Staphylococcus saprophyticus* (besonders bei jungen Frauen) ebenso wie *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* und *Trichomonas vaginalis* spielen eine Rolle bei zahlreichen Infektionen. Bei den nosokomial erworbenen Infektionen spielen vor allem *Enterococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Pseudomonas* spp. und *Providencia* spp. eine Rolle. Obwohl Anaerobier zu den normalen kommensalen Mikroorganismen der Vagina und der distalen Urethra gehören, sind sie zum Teil der Grund für symptomatische Blaseninfektionen (Schaeffer 1998), ihre Menge ist allerdings weniger hormonabhängig als bei der Besiedlung mit Aerobiern. So ist die Kolonisation der Mukosa des vaginalen Introitus zum Teil von essentieller Bedeutung in der Pathogenese von Urogenitalinfektionen (Neu 1992). Lokales Brennen und Juckreiz sind für gewöhnlich die Indikatoren für lokale inflammatorische Reaktionen, wobei die Symptome akut, periodisch und langanhaltend auftreten können. Zum Teil werden langdauernde milde Symptome mit der Zeit auch als normal akzeptiert (Weström 1983). Rubor, Calor, Dolor und Tumor sind die typischen inflammatorischen Reaktionen der mukosalen Oberfläche, die nicht notwendigerweise von einer Infektion herrühren müssen, sondern auch durch thermale (heiße Duschen), mechanische (Koitus), chemische (lokale Kontrazeptiva) oder allergische (Deodorants, Parfums) Reize bedingt sein können.

## 1.8 Problemstellung

Die Standortflora des Präputialraumes ist komplex und inkonstant. Keimarten und -zahlen sind u.a. abhängig von Alter, persönlicher Hygiene und sexueller Aktivität (Schiefer 1998). Der Präputialraum weist zudem die Eigenschaften eines intertriginösen Raumes auf (Ive 1998, Neubert 1979). Durch das Aufeinanderliegen der Haut von Glans penis und Präputium werden Wärmeabgabe, Verdunstung von Flüssigkeit und Abstoßung des Epithels behindert, es entsteht ein feuchtwarmes, vorwiegend anaerobes Milieu mit einem neutralen bis alkalischen pH (Neubert 1979). Die anatomischen Voraussetzungen prädestinieren insbesondere beim gleichzeitigen Vorliegen von Manifestationsfaktoren zu bakteriellen und mykotischen Balanoposthiden (Ive 1998, Odds 1988, Mayser 1999). Im Vordergrund der Mykosen des Intimbereichs stehen die durch Hefen verursachten Affektionen. Die diesbezüglich häufigsten Mykose-Erreger sind *Candida* spp., insbesondere *Candida albicans*, weiterhin *C. parapsilosis* und *C. guilliermondii*.

Der Präputialraum stellt ein lipidreiches Milieu dar. Zwar fehlen die sogenannten Talgdrüsenfollikelheiten (pilosebaceous units), aber er ist ausgekleidet mit einem mehrschichtigen Plattenepithel, dessen Verfettung und Abschilferung das Smegma liefern (Krompecher 1932). Dieses soll sich zu 26,6 % aus Fetten und zu 13,3 % aus Proteinen zusammensetzen (Parkash et al. 1973). Das Sekret von Talgdrüsen trägt zur Entstehung des Smegmas nur unwesentlich bei, da sich freie Talgdrüsen, die sogenannten Tyson'schen Drüsen, lediglich in variabler Zahl im Bereich des Frenulums und des angrenzenden Sulcus coronarius glandis finden (Ive 1998, Krompecher 1932, Hymann 1969, Tandler 1899). Andererseits herrschen damit im Präputialraum die gleichen Bedingungen und die gleiche lipophile Bakterienflora vor wie in talgdrüsenreichen Hautarealen. Hierzu zählen vor allem die mikroaerophilen *Propionibakterien*, insbesondere *Propionibacterium acnes* (Neubert 1979).

Zu den lipophilen Mikroorganismen der residenten Hautflora des Menschen zählen andererseits auch die Hefen der Gattung *Malassezia* (früher *Pityrosporum* genannt) (Marples 1965, Yarrow 1984, Guého et Guillot 1996). Aufgrund ihrer Abhängigkeit von der Versorgung mit länger-kettigen Fettsäuren (Ausnahme: *M. pachydermatis*) findet man *Malassezia*-Hefen vor allem in seborrhischen Arealen des Körpers. Auf der anderen Seite spielen *Malassezia*-Hefen eine wichtige Rolle in der Pathogenese von Erkrankungen wie der Pityriasis versicolor, dem seborrhischen Ekzem und der *Malassezia*-Follikulitis (Hay et al. 1998).

Über ihr mögliches Vorkommen im lipidreichen Präputialraum finden sich in der Literatur nahezu keine Daten. Lediglich Einzelberichte liegen über das Auftreten der Pityriasis versicolor im Bereich des Penischaftes (Blumenthal 1971, Smith 1978, Kaur 1996, Aljabre 1994, Daneshvar 1987) bzw. der Glans penis vor (Nia 1979). Über eine Mitbeteiligung der *Malassezia*-Hefen an der residenten Flora der Glans penis bzw. des Präputialraumes wurden bisher in der Literatur keine Aussagen gemacht, ebenso fehlte es bisher an einer Aussage über ein Vorkommen von *Malassezia* spp. im Bereich des hinteren Vaginalgewölbes bei der Frau. Hier setzte die vorliegende Arbeit an. Unter folgenden Fragestellungen wurden Abklatschpräparate der Glans penis und Vaginalabstriche des hinteren Scheidengewölbes entnommen:

1. Gibt es überhaupt eine Besiedlung mit *Malassezia*-Hefen bei gesunden Probanden und Probandinnen im Bereich des Genitale? Wenn ja, mit welchem Spektrum und mit welcher Häufigkeit treten sie in dieser Körperregion auf?
2. Gibt es Unterschiede bei der Anzucht von *Malassezia*-Hefen auf den Standardisoliationsmedien zur Anzucht von *Malassezia* spp. mDixon- und Leeming-Notman-Agar hinsichtlich Anzuchthäufigkeit und isoliertem Erregerspektrum?
3. Welche Rolle spielt die Befunddichte von *Malassezia*-Hefen im Genitalbereich?
4. Welchen Einfluß haben Zirkumzision vs. Nichtzirkumzision möglicherweise auf die Besiedlung mit *Malassezia*-Hefen und auf die Art und Häufigkeit genitaler Dermatosen?
5. Welche Rolle spielen die Standortflora des Präputialraumes, die Besiedlung von *Malassezia*-Hefen sowie zahlreiche weitere Faktoren als mögliche Ursache für Balanoposthritiden und als Ansatz für therapeutische Optionen?
6. Welche Bedeutung haben Lipide für die Besiedlung mit *Malassezia*-Hefen?
7. Sind *Malassezia* spp. möglicherweise bedeutsam bei der Psoriasis im Bereich des äußeren Genitale, beim seborrhoischen Genitalekzem, bei der Tysonitis, der Follikulitis, bei systemischen Infektionen oder beim atopischen Ekzem im Genitalbereich?
8. Inwiefern dient das vaginale Milieu als Voraussetzung für eine mikrobielle Besiedlung und als möglicher Hemmfaktor für die Besiedlung von *Malassezia*-Hefen?

## 2 Material und Methode

### 2.1 Stämme und Stammhaltung

#### 2.1.1 Referenzstämme

In der vorliegenden Untersuchung wurden vier Referenzstämme von *Malassezia*-Hefen (Tabelle 3) verwendet. Sie wurden beim Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, The Netherlands (CBS) käuflich erworben oder im Rahmen gemeinsamer wissenschaftlicher Projekte ausgetauscht (Dr. E. Guého, Institut Pasteur, Paris, France; American Type Culture Collection, Maryland, USA). Es war damit möglich, standardisierte Ergebnisse zu erstellen. Bei allen Differenzierungen aus dem täglichen Untersuchungsmaterial wurden die Referenzstämme als Kontrolle mitgeführt.

Nach Erhalt wurden alle Referenzstämme kryokonserviert, um immer auf den definierten Referenzstamm zurückgreifen zu können. Bei *Malassezia globosa* ist eine Kryokonservierung nicht möglich (Guého 1996), so dass diese Spezies wie alle anderen wöchentlich als Subkulturen auf frisch zubereiteten mDixon-Agar verimpft wurden. Kimmig-Agar wurde als Kontaminationskontrolle (Wachstum nicht lipiddependenter Verunreinigungen – Bakterien, non-*Malassezia*-Hefen) mitgeführt.

Tabelle 3: Verwendete *Malassezia* - Referenzstämme

Bezeichnung	Species	Herkunft
CBS 1878 T	<i>M. furfur</i>	Kopfschuppen
CBS 7222 T = EG 604	<i>M. sympodialis</i>	Ohr eines AIDS-Patienten
GM 7*	<i>M. globosa</i>	seborrhisches Ekzem
CBS 1879 T	<i>M. pachydermatis</i>	Ohr eines Hundes mit Otitis

CBS: Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, The Netherlands;

\* Geschenk von Dr. Guého, Institut Pasteur, Paris, France

T: type-strain

### 2.1.2 Wildstämme

Bei 130 männlichen (90 % waren nicht zirkumzidiert), klinisch im Bereich der Glans penis unauffälligen Probanden im Alter von 18-63 Jahren, die sich wegen unerfülltem Kinderwunsch oder erektiler Dysfunktion zwischen 06/2000 und 11/2000 in der andrologischen Sprechstunde vorstellten, wurden jeweils zwei Abklatschpräparate der Glans penis auf den empfohlenen Standardmedien zur Anzucht lipophiler *Malassezia*-Hefen entnommen: zum einen auf Dixon-Agar (van Abbe 1964) in der modifizierten Zusammensetzung nach Guého et al. (mDixon-Agar; Guého et Guillot 1996), zum anderen auf Leeming-Notman-Agar (LN-Agar, Leeming et Notman 1987). Die Patienten besuchten die Sprechstunde nach 5 tägiger sexueller Abstinenz. Bei den nicht zirkumzidierten Männern erfolgte der Abklatsch durch Zurückziehen des Präputiums, so dass die Glans und das innere Blatt des Präputiums miterfasst wurden, der Abklatsch erfolgte in direkter Beimpfung der Nährböden.

Bei 100 Patientinnen der Poliklinik der Gynäkologie und Geburtshilfe der Justus-Liebig-Universität Gießen im Alter von 16-83 Jahren wurde im Rahmen der Krebsvorsorgeuntersuchungen zwischen 09/2000 und 10/2000 bei der Spekulumuntersuchung zusätzlich für die folgenden Untersuchungen ein Abstrich (Vaginalsekret) aus dem hinteren Scheidengewölbe (Fornix posterior) mittels sterilem Wattetupfer entnommen, der dann umgehend auf den beiden lipophilen Nährmedien mDixon- und Leeming-Notman-Agar ausgestrichen wurde, zusätzlich erfolgte ein Ausstrich auf einem Objektträger zur direkten mikroskopischen Betrachtung.

Die Inkubation beider Nährböden erfolgte sowohl bei den Proben der Männer als auch bei den Proben der Frauen standardisiert 10 Tage lang bei 32°C im Brutschrank (Heraeus, Hanau, FRG). Danach folgte die makromorphologische Auswertung der Hefe-Kolonien hinsichtlich Anzahl, Farbe und Beschaffenheit, bei Notwendigkeit folgte eine Herstellung von Reinkulturen durch Überimpfen auf neue Medien.

Die Inkubationszeit liegt bei 32°C, da einige Spezies (*M. restricta*, *M. obtusa*) eine eingeschränkte Temperaturamplitude aufweisen (publiziert von Guého et al. 1996).

Name, Geburtsdatum und Entnahmedatum der Probanden und Probandinnen wurden dokumentiert und die Isolate kryokonserviert, mit Ausnahme von *M. globosa*, bei dem eine Kryokonservierung nicht möglich ist (Guého 1996) und mit Ausnahme der Stämme, die mit Kontaminanten überwachsen waren.

## 2.2 Kulturverfahren

Beide Standardmedien zur Primäranzucht (mDixon- und Leeming-Notman-Agar) wurden mit Chloramphenicol, jedoch ohne Cycloheximidzusatz angesetzt, um auch das vollständige Spektrum möglicherweise vorhandener *Candida*-Hefen erfassen zu können.

Die Dauerkultur aller Stämme erfolgte bei 32°C auf modifiziertem (m)Dixon-Agar (Guého 1996, Guillot 1997). Die Kulturen wurden in wöchentlichen Abständen auf frisch zubereiteten Agar weiterverimpft.

Standardverfahren bezüglich der Identifizierung von Pilzen sind der mikroskopische Direktnachweis und die kulturelle Anzucht auf Selektivnährböden (Murray 1995).

### 2.2.1 Verwendete Nährmedien

Eingesetzt wurde in der vorliegenden Arbeit eine Modifikation des für die Diagnostik von *Malassezia*-Hefen empfohlenen Dixon-Mediums (Lodder, 1971).

Ursprünglich hatte das Medium folgende Zusammensetzung:

#### Dixon-Agar (van Abbe 1964)

Malzextrakt 6 %, getrocknete Ochsen-galle 2 %, Tween<sup>®</sup> 40 1 %, Glycerolmonooleat 0,25 %, Streptomycin 40µg/ml, Cycloheximid 250µg/ml, Agar 1,2 %, Aqua dest. auf 100 %

Die Modifikation des Agars sieht folgendermaßen aus:

modifizierter (m)-Dixon-Agar, Pepton enthaltend (Guého et al. 1996)

3,6 % Malzextrakt, 0,6 % Pepton, 2 % getrocknete Ochsen-galle, 1,0 % Tween<sup>®</sup> 40, 0,2 % Glycerol, 0,2 % Ölsäure, 1,2 % Agar, Aqua dest. auf 100 %

Aus Kostengründen enthielt der verwendete mDixon-Agar anstatt Glycerol und Ölsäure 0,4 % Olivenöl, dieser ist gleichwertig dem oben dargestellten mDixon-Agar (Guého, persönliche Mitteilung an Dr. Mayser). Chloramphenicol wurde hinzugesetzt, um das Kontaminationsrisiko so gering wie möglich zu halten. Das normalerweise ebenfalls zur

Verringerung der Kontamination (Unterdrückung der Anflugflora) zuzusetzende Cycloheximid wurde bei der Zubereitung des Agars nicht hinzugefügt, da es zu diesem Zeitpunkt weltweit nicht über die internationale Apotheke verfügbar war, außerdem wurde das Nährmedium ohne Cycloheximidzusatz verwandt, um auch das volle Spektrum anderer Hefen, insbesondere der *Candida*-Arten zu erfassen.

Die Chloramphenicolösung wurde steril filtriert, danach dem Medium nach Autoklavieren und einer Abkühlphase auf etwa 50°C hinzugegeben, da bei der Substanz eine Temperaturempfindlichkeit besteht (Merck Index, 1996).

Autoklaviert wurde mit dem Melag Autoklaven Typ 23 (Melag, Berlin, FRG) bei 1 bar über 30 min.

#### Zusammensetzung des verwandten mDixon-Agars

	für 250ml	
3,6 % Malzextrakt	9 g	Malzextrakt-Bouillon, Merck, Darmstadt, FRG
0,6 % Pepton (Casein)	1,5 g	Pepton aus Casein, Merck
2,0 % Ochsen-galle	5,0 g	Ox-Bile, desiccated, Fa. Oxoid, Unipath, Basingstoke, UK; *
1,0 % Tween <sup>®</sup> 40	2,5 ml	Tween <sup>®</sup> 40 Atlas, Sigma, St. Louis, USA
0,4 % Olivenöl	1,0 ml	aus der Apotheke kaltsterilisiert
1,2 % Agar	5 g	Agar Agar reinst, Merck
0,04 % Cycloheximid	0,1 g	Sigma-Aldrich, Steinheim, FRG
0,005 % Chloramphenicol	0,0125 g**	Merck, Darmstadt, FRG
	auf 250 ml	
	mit Aqua	
	dest.	
	auffüllen	

\* Aufgrund der BSE-Seuche in Großbritannien konnte die Fa. Oxoid ab Mitte 1996 nicht mehr liefern. Das Produkt wurde dann von Difco, Detroit, USA bezogen.

\*\* Die Stammlösung besteht aus: 6,25 mg Chloramphenicol / 1 ml H<sub>2</sub>O, Abfüllung sterilfiltriert, Lagerung bei -20°C; 2 ml der Stammlösung wurden zugegeben.

Jeweils 15 ml des Mediums wurden unter der Laminar-air-flow Arbeitsbank (Uniflow UUUB 1200, Biohazard) in sterile Kunststoffpetrischalen von 10 cm Durchmesser (Nunc, Roskilde, DK) gegossen.

Weiterhin wurde in der vorliegenden Arbeit parallel zu mDixon-Agar Leeming-Notman-Agar eingesetzt, welcher ebenfalls als Standardmedium zur Anzucht von *Malassezia*-Hefen empfohlen wird (Leeming et Notman 1987).

#### Leeming-Notman-Agar (Leeming 1987)

Zwecks Verringerung der Kontamination wurde zu dem ursprünglichen Medium Chloramphenicol hinzugesetzt, wobei die Zugabe der Menge angelehnt war an dem Zusatz von Chloramphenicol zu mDixon-Agar. Das normalerweise ebenfalls zur Verringerung der Kontamination (Unterdrückung der Anflugflora) zuzusetzende Cycloheximid wurde bei der Zubereitung des Agars nicht hinzugefügt, da es zu diesem Zeitpunkt weltweit nicht über die internationale Apotheke verfügbar war, außerdem wurde das Nährmedium ohne Cycloheximidzusatz verwandt, um auch das volle Spektrum anderer Hefen, insbesondere der *Candida*-Arten zu erfassen.

## Zusammensetzung des verwandten Leeming-Notman-Agar

	für 300 ml	
1,0 % Pepton ( Soja )	3,0 g	Pepton aus Sojabohnenmehl, Merck
0,5 % Glucose	1,5 g	D (+)-Glucose wasserfrei, Merck
0,4 % Ochsen-galle	1,2 g	Ox-Bile, desiccated, Fa. Oxoid, Unipath, Basingstoke, UK; *
0,01 % Hefeextrakt	0,03 g	Yeast Extract, Difco Laboratories
0,1 % Glycerol	0,3 g	Glycerol (etwa 87 %), Merck
0,05 % Glycerolmonostearat	0,15 g	BDH Laboratory, England
1,2 % Agar	3,6 g	Agar Agar reinst, Merck
0,05 % Tween <sup>®</sup> 60	0,15 ml	Tween <sup>®</sup> 60 Atlas, Sigma, St. Louis, USA
1,0 % Vollmilch	3,0 ml	Schwälbchen <sup>®</sup> Vollmilch 3,5 % ig
0,005 % Chloramphenicol	0,0125 g** (2,4 ml) auf 300 ml mit Aqua dest. auffüllen	Merck, Darmstadt, FRG

\* Aufgrund der BSE-Seuche in Großbritannien konnte die Fa. Oxoid ab Mitte 1996 nicht mehr liefern. Das Produkt wurde dann von Difco, Detroit, USA bezogen.

\*\* Die Stammlösung besteht aus: 6,25 mg Chloramphenicol / 1 ml H<sub>2</sub>O, Abfüllung sterilfiltriert, Lagerung bei -20°C; 2 ml der Stammlösung wurden zugegeben.

Jeweils 15 ml des Mediums wurden unter der Laminar-air-flow Arbeitsbank (Uniflow UUUB 1200, Biohazard) in sterile Kunststoffpetrischalen von 10 cm Durchmesser (Nunc, Roskilde, DK) gegossen.

Weitere Nährböden, die in den Untersuchungen zur Anwendung kamen:

Selektivagar für pathogene Pilze (SPF; Merck, Darmstadt, FRG)

Für 1 Liter Medium: Pepton 10,0 g, Glucose 10,0 g, Cycloheximid 0,4 g, Chloramphenicol 0,05 g, Agar 12,5 g.

Jeweils 15 ml des Mediums wurden unter der Laminar-air-flow Arbeitsbank (Uniflow UUUB 1200, Biohazard) in sterile Kunststoffpetrischalen von 10 cm Durchmesser (Nunc, Roskilde, DK) gegossen.

Verwendung für die Tween-Cremophor-Auxotypie nach Guillot und Mayser.

Pilz-Agar nach Kimmig (Merck, Darmstadt, FRG)

Für 1 Liter Medium: Glucose 19,0 g, Pepton e carne 15,0 g, NaCl 1,0 g, Glycerin 5,0 ml, Agar-Agar 15,0 g.

Jeweils 15 ml des Mediums wurden unter der Laminar-air-flow Arbeitsbank (Uniflow UUUB 1200, Biohazard) in sterile Kunststoffpetrischalen von 10 cm Durchmesser (Nunc, Roskilde, DK) gegossen.

Verwendet wurde Kimmig-Agar zur Anzucht von *M. pachydermatis* (*M. pachydermatis* muss neben dem Wachstum auf mDixon-Agar auch auf Kimmig-Agar wachsen, da diese Spezies als einzige auch Glucose verstoffwechseln kann) und zum Ausschluß einer Kontamination der lipophilen *Malassezia*-Hefen.

Weiterhin wurde es zur 1 tägigen Anzüchtung der Hefen genutzt, die makroskopisch eindeutig nicht *Malassezia*-Hefen zuzuordnen waren (zur kulturellen Vermehrung), bevor diese dann weiter auf Reisagar zur mikroskopischen Untersuchung ausgestrichen wurden. Charakteristika des Hefepilzwachstums: cremige, elfenbeinfarbene Kolonien mit glatter Oberfläche und typischem Hefepilzgeruch (Mendling 2001).

Reisagar („Hungernährboden“)

Reisextraktagar (Merck, Darmstadt) hat folgende typische Zusammensetzung:

Reisextraktkonzentrat 0,7 g/l, Agar-Agar 14,3 g/l.

15 g Reisextraktagar (Merck, Darmstadt) wurden in 1 Liter Aqua dest. gelöst.

Nach Autoklavieren wurde jeweils 15 ml des Mediums unter der Laminar-air-flow Arbeitsbank (Uniflow UUUB 1200, Biohazard) in sterile Kunststoffpetrischalen von 10 cm Durchmesser (Nunc, Roskilde, DK) gegossen.

Verwendung zur mikroskopischen Untersuchung (Beurteilung der Mikromorphe) von den Hefen, die makroskopisch eindeutig nicht *Malassezia*-Hefen zugeordnet werden konnten.

Bei Hefen der Gattung *Candida* erfolgte mikromorphologisch die Differenzierung mittels Reisagar (Rieth 1958). Nach etwa ein bis zwei Tagen Pseudomyzelbildung bei *Candida*-Arten, Chlamydosporennachweis (Mantelsporen) bei *Candida albicans* (Mendling 2001). Der Nachweis von *Candida albicans* gelingt hiermit in Subkultur somit einfach und zeitsparend (Dittrich 1992).

#### Pigmentinduktionsmedium für *M. furfur*

für 1l Medium: 20 g Agar (Merck), 30 ml Tween<sup>®</sup> 80 ultra (Sigma, St. Louis, USA). Nach Autoklavieren und Abkühlen auf 50°C wird 3 g L-Tryptophan (Trp; Sigma) hinzugesetzt und das Medium zu je 15 ml des Mediums unter der Laminar-air-flow Arbeitsbank (Uniflow UUUB 1200, Biohazard) in sterile Kunststoffpetrischalen von 10 cm Durchmesser (Nunc, Roskilde, DK) gegossen.

Verwendung zur Klärung der Frage, ob der zuvor nach den Methoden von Guillot und Mayser ausdifferenzierte Stamm *M. furfur* braune Pigmentbildung zeigt (zur Bestätigung der Verdachtsdiagnose). Ausschließlich in der Spezies *M. furfur* induziert dieses Minimalmedium, bestehend einzig aus L-Tryptophan und einer Lipidquelle, die Bildung eines braunen Pigmentes, das in den Agar diffundiert (Mayser et Wille 1998, Nenoff 2001). Stämme der Spezies *M. sympodialis* und *M. pachydermatis* zeigen kein Wachstum auf diesem Nährboden (Mayser et Wille 1998).

#### 2.2.2 Gewinnung von Reinkulturen

Da den verwendeten Standardmedien mDixon- und Leeming-Notman-Agar Chloramphenicol zugesetzt wurde, zeigte sich zumeist jeweils eine nur geringe oder keine Kontamination der Kulturen mit Bakterien der Anflugflora.

Ein größeres Problem in der Darstellung von *Malassezia*-Reinkulturen ist das fast ausschließliche Vorliegen von Mischkulturen mehrerer *Malassezia*-Species in vivo (Guého et

al. 1996), so dass auch häufig in der Primärkultur nur Mischkulturen anzüchtbar sind. Dies wird insbesondere auch durch die Eigenschaft dieser Hefen begünstigt, sich aufgrund ihrer ausgeprägten Lipophilie in wässrigen Lösungen zusammenzuballen und Zellhaufen zu bilden (Guého 1996). Für die Darstellung von Reinkulturen können modifizierte Verfahren der Einzelkoloniedarstellung eingesetzt werden (Drews 1983, Schröder 1987).

#### Modifiziertes Plattengußverfahren nach Koch

Von einer Stammlösung (1 Öse/2ml) wurden Verdünnungsreihen erstellt, diese auf ihren Zellgehalt hin mikroskopiert und auf mDixon-Agar ausgestrichen. Sich bildende punktförmige Einzelkolonien wurden auf mDixon-Agar für weitere biochemische Testungen subkultiviert. Abimpfungen und Beurteilungen der Kolonie-Textur erfolgten unter der Stereolupe (Hund, Wetzlar) bei 10-45facher Vergrößerung.

#### Reinigung von bakteriell verunreinigten Pilzkulturen

Zu 2 ml 0,1 molarer HCl (1 Teil HCl : 9 Teile H<sub>2</sub>O) wurden 1–2 Ösen Pilzkultur hinzugegeben.

Die entstandene Suspension wurde nun 1-2 h stehen gelassen, während dieser Zeit kommt es zu einem Absterben der Bakterien, während die Pilzkulturen die Behandlung mit 0,1 molarer Salzsäure überleben.

Nach 1-2 h wurde die überstehende Flüssigkeit abdekantiert, um anschließend den Bodensatz auf Kimmig-Nährmedium auszustreichen. Auf dem Kimmig-Nährmedium wurde der Pilz einen Tag im Brutschrank belassen und am nächsten Tag nach der Mikroskopie nach entsprechendem Identifizierungsschema ausgewertet.

## **2.3 Allgemeine Analysemethoden**

### 2.3.1 In-vitro Nachweis von *Malassezia*-Hefen und Mikroskopie

Mit dem Nativpräparat erfolgte mikroskopisch der Nachweis von *Malassezia*-Sprosszellen. Zur Betrachtung der Morphologie wurden die Pilzkulturen mit einer Öse direkt auf einem

Objektträger möglichst dünn ausgestrichen, mit einem Tropfen Lactophenol-Blau in Lösung gebracht oder aber nach Zusatz 20 %iger Kalilauge und nach Inkubation von mindestens 20 Minuten in einer feuchten Kammer zunächst bei 120facher, dann bei 480facher Vergrößerung mikroskopiert. Verwendung fand ein Phasenkontrastmikroskop (Dialux, Leitz, Wetzlar). Einzelne *Malassezia*-Sprosszellen sind erkennbar an ihrer doppelten Wandstruktur und dem charakteristischen zur Oberfläche vertikalen Streifenmuster in den inneren Wandabschnitten. Diese Methode wurde bei Präparaten angewandt, bei denen man sich nach makroskopischer Betrachtung der Kolonien sicher war, daß es sich um *Malassezia* spp. handeln könne. Für die Erkennung von *Malassezia*-Sprosszellen konnte durch die Verwendung von optischen Aufhellern (Uvitex 2B = Fungiquil, Dr. Reinehr, Kandern, Germany) die Sensitivität des Nativpräparates erheblich verbessert werden (Mayser et Gründer 1992). Der optische Aufheller tritt hierbei mit dem Chitin der Pilzzelle in Wechselwirkung (Koch et Pimsler 1987). Bei der Betrachtung mit dem Fluoreszenzmikroskop (Leitz, Wetzlar, Germany; Anregungswellenlänge 490 nm) zeigt sich eine leuchtend grün-gelbe Fluoreszenz.

### 2.3.2 In-vitro Nachweis von *Candida*-Hefen etc. und Mikroskopie

Hefen, die makroskopisch eindeutig nicht *Malassezia*-Hefen zuzuordnen waren, wurden 24 Stunden auf Kimmig-Agar kultiviert, um insgesamt mehr Pilzmaterial zur Verfügung zu haben.

Nach 24 Stunden wurde mit einer sterilen Öse eine Pilzkolonie entnommen und auf etwa 1/6 der Fläche des Reisagars dünn ausgestrichen. Auf einer Platte Reisagar konnten somit 6 Pilze mikroskopisch betrachtet und differenziert werden. Die ausgestrichenen Kolonien bedeckte man sofort mittels einer sterilen Pinzette mit sterilen Deckgläschen und betrachtete die Pilze anschließend unter dem Mikroskop. Diese semianaeroben Kulturen wurden für 2-3 Tage bei Zimmertemperatur inkubiert. Schließlich wurden die Pilze nach 24 Stunden, nach 48 Stunden sowie nach 72 Stunden mikroskopisch betrachtet (gesamte Agarplatte mit geöffnetem Deckel zum Betrachten unter das Mikroskop gelegt), ob sich in der Zwischenzeit Pseudomycel, Mycel oder Chlamydosporen gebildet hatten. Auf diese Art und Weise war eine Zuordnung aufgrund der Morphologie bei einigen Stämmen schon sicher möglich, bei einigen konnten auf diese Weise Arten ausgeschlossen werden. Die Identifizierung der einzelnen Pilze nach Art des Myzel- und Sporenaufbaus, also der Art der Fortpflanzung ist grundlegendes Element für die Artbestimmung und Differenzierung (Qadripur 1996).

Zur Verifizierung des Verdachtes aufgrund der mikroskopischen Betrachtung wurde das kommerziell verfügbare Identifizierungssystem für Hefen ID 32 C angewandt.

## 2.4 Mykologisch-taxonomische Untersuchungen

### 2.4.1 Tween<sup>®</sup>-Cremophor-Auxotypie

Bei der Tween<sup>®</sup>-Cremophor-Auxotypie nach Guillot und Guého handelt es sich um einen Agardiffusionstest zur Differenzierung von *Malassezia*-Hefen.

Zu 8,25 g Selektivagar für pathogene Pilze wurden 250 ml Aqua dest. hinzugegeben, verrührt und bei 1 bar 30 min lang bei 121°C autoklaviert (Melag Autoklav). Anstatt von Selektivagar kann auch 16 ml Sabouraud-Dextrose-Agar (0,05 % Chloramphenicol und 0,05 % Cycloheximid enthaltend) pro Petrischale verwendet werden, dieser wird zunächst geschmolzen und dann auf 50°C abgekühlt.

In der vorliegenden Untersuchung wurde Selektivagar verwendet.

In der Zwischenzeit wurden unter der Sterilbank ca. 1-2 Ösen (1 Öse entsprechend 10<sup>5</sup> Zellen pro ml) Pilzkulturen in 1-2 ml Aqua dest. aufgelöst, dadurch entstanden 2 ml der Testhefe. Die Pilzkulturen wurden zuvor maximal 4 Tage auf mDixon-Agar subkultiviert, da der Stamm zur Artbestimmung nicht zu alt sein sollte, ansonsten könnte es zu Problemen bei der eindeutigen Identifizierung kommen.

Nun wurden 16 ml Nährmedium in sterile Plastikröhrchen (50 ml Röhrchen) gefüllt, die in Aqua dest. gelösten Pilzkulturen wurden eingemischt sobald das Nährmedium eine Temperatur von ~ 40°C erreicht hatte, da die Pilze bei zu hohen Temperaturen absterben würden. Anschließend wurde das mit Pilzkulturen versehene, vermischte Nährmedium in sterile Kunststoffpetrischalen von 10 cm Durchmesser (Nunc, Roskilde, Dk) gegossen.

Nach Verfestigung des Mediums wurden in den Agar 5 Löcher mit einer 3 mm Stanze (Stiefel) gestanzt (zur Vereinfachung dieses Vorganges wurde eine alte Vakuumpumpe umgebaut, die eine 3 mm Stanze als Aufsatz hat und mit der Nährmedium von entsprechendem Durchmesser der Stanze abgesaugt werden kann). Die 5 Stanzlöcher wurden zum Befüllen mit Tween<sup>®</sup> 20, 40, 60, 80 und Cremophor EL in den Nährboden gestanzt, wobei zentral das Stanzloch für Cremophor EL und die Stanzlöcher für die verschiedenen Tween<sup>®</sup>-Ester nach dem in der Abbildung gezeigten Schema in das Nährmedium gestanzt wurden (Abb. 7).

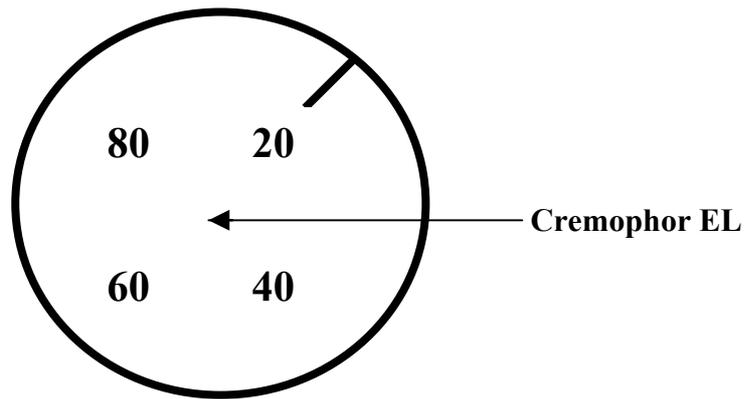


Abb. 7: Stanzlochschemata für Tween<sup>®</sup>-Ester und Cremophor EL

Tween<sup>®</sup> 20, 40, 60, 80 sowie Cremophor EL wurden vor Befüllen der Stanzlöcher einige Zeit bei 30°C in den Brutschrank (Heraeus, Hanau, FRG) gestellt, da sie sich ansonsten aufgrund ihrer Viskosität schlecht pipettieren lassen, was vor allem aufgrund seiner Zusammensetzung beim Tween<sup>®</sup> 60 der Fall ist.

Mit einer 10 µl Pipette wurden die Lösungen alle unverdünnt in die Stanzlöcher pipettiert. Nach etwa 3-5 Tagen bei 30-32°C im Brutschrank finden sich die typischen Wachstumsmuster als Trübungszone um die Stanzlöcher herum. Die Assimilationsmuster sind dann bezüglich des charakteristischen Wachstumsmusters zu beurteilen (Abb. 8). Ein positives Ergebnis wird durch einen Wachstumshof um das Stanzloch angezeigt, was bedeutet, dass der Pilz das entsprechende Tween<sup>®</sup>-Ester bzw. das Cremophor EL assimiliert hat.

Ergänzt wird die Differenzierung durch die Beurteilung der Mikromorphologie nach 10 tägigem Wachstum auf modifiziertem Dixon-Agar bei 32°C (Abb. 9).



Den Fettsäureanteil der verwendeten handelsüblichen Tween<sup>®</sup>-Ester und ihre Bezeichnung zeigt Tabelle 4.

Tabelle 4: Fettsäureanteile und Bezeichnung einiger handelsüblicher Tween<sup>®</sup> - Ester

Bezeichnung	Fettsäureanteil
Tween <sup>®</sup> - 20 = Polyoxysorbitanmonolaurat	50 % C12:0 + C14:0, C16:0 und C18:0
Tween <sup>®</sup> - 40 = Polyoxysorbitanmonopalmitat	90 % C16:0, 10% C18:0
Tween <sup>®</sup> - 60 = Polyoxysorbitanmonostearat	50 % C16:0, 50% C18:0
Tween <sup>®</sup> - 80 = Polyoxysorbitanmonooleat	70 % C18:1 + C18:2, C16:0 und C18:0

Bei Cremophor EL (PEG-35 castor oil) (Sigma, St. Louis, USA) handelt es sich um einen Emulgator, einen Polyethylenglykol-(35)-Rizinusöl-Ester, der einen Hydrophilic-Lipophilic-Balance (HLB)-Wert von mehr als 10 aufweist, um eine Diffusion in das hydrophile Agarmedium zu gewährleisten.

Im Agardiffusionstest mit Cremophor EL weisen nur *M. furfur*-Stämme einen homogen ausgebildeten Wachstumshof auf. Dieser stellt somit ein einfaches, ergänzendes Differenzierungssystem insbesondere zur Abgrenzung der Spezies *M. furfur* dar.

Die Selektivität von Cremophor EL für *M. furfur* beruht auf dessen Ricinusöl-Anteil, da in reinem Ricinusöl auch nur *M. furfur*-Stämme einen homogenen Thallus bilden (Mayser et Haze 1997).

Nach prolongierter Inkubationszeit zeigen sich im Agardiffusionstest mit Cremophor EL bei *M. sympodialis*, *M. slooffiae* und *M. globosa* schwache Halos (Ringe).

#### 2.4.2 Physiologische Testreihen ID 32 C (Identifizierungssystem für Hefen)

Hefen, die nach vorheriger Anzüchtung auf Reisagar mittels Mikroskopie nicht eindeutig zugeordnet werden konnten, wurden mittels ID 32 C eindeutig identifiziert. *Candida albicans* konnte in der Regel mittels Mikroskopie auf Reisagar eindeutig identifiziert werden, da diese Art sich von allen anderen Arten dieser Gattung durch die Chlamydosporenbildung (die runden, dickenwandigen Sporen sind terminal inseriert) unterscheidet.

Bei dem System ID 32 C (BioMerieux, Marcy-l’Etoile, Frankreich) handelt es sich um ein kommerziell verfügbares Identifizierungssystem für Hefen mittels biochemischer Methoden bezogen auf den Kohlenhydratstoffwechsel.

ID 32 C ermöglicht die Identifizierung von Hefen anhand von standardisierten und miniaturisierten Assimilationsreaktionen. Die Auswertung erfolgte entsprechend der Arbeitsanleitung.

Ein ID 32 C Streifen besteht aus 32 Vertiefungen, in denen sich die Kohlenhydrate in dehydratisierter Form befinden (Abb. 11, Tabelle 5).

Abb. 11: ID 32 C Identifizierungssystem für Hefen

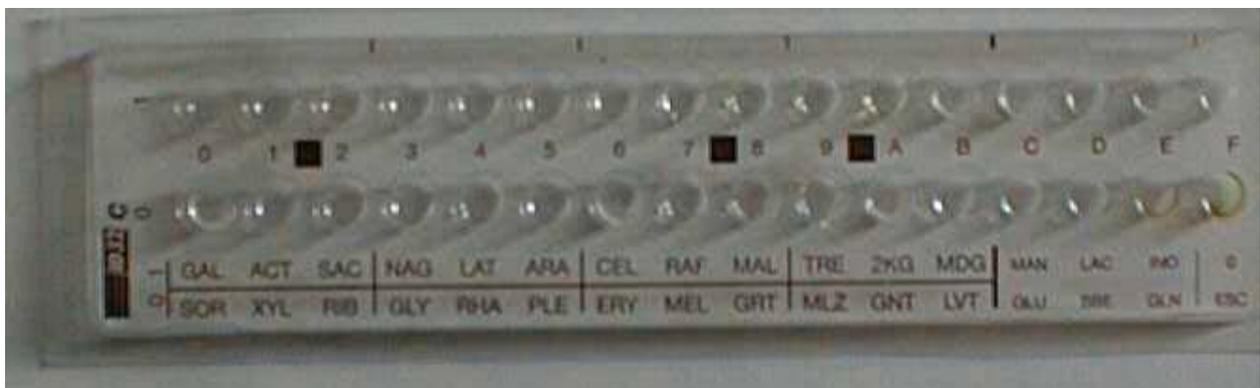


Tabelle 5: Liste der Substrate und Abkürzungen in entsprechender Reihenfolge

0.0 SOR SORbit	1.0 GAL GALactose
0.1 XYL D-XYLose	1.1 ACT ACTidion (= Cycloheximid)
0.2 RIB RIBose	1.2 SAC SACcharose
0.3 GLY GLYcerol	1.3 NAG N-Acetyl-Glucosamin
0.4 RHA RHAmnose	1.4 LAT DL-LacTat
0.5 PLE PaLatinosE	1.5 ARA L-ARAbinose
0.6 ERY ERYthrit	1.6 CEL CELlobise
0.7 MEL MELibiose	1.7 RAF RAFfinose
0.8 GRT GlucuRonaT	1.8 MAL MALtose
0.9 MLZ MeLiZitose	1.9 TRE TREhalose
0.A GNT GlucoNaT	1.A 2KG 2-Keto-Gluconat
0.B LVT LeVullinaT	1.B MDG a-Methyl-D-Glucosid
0.C GLU GLUcose	1.C MAN MANnit
0.D SBE SorBosE	1.D LAC LACtose
0.E GLN GLucosamiN	1.E INO INOsit
0.F ESCulin	1.F 0 Kontrolle

Zunächst wurde einer Dichte von McFarland-Standard 2 entsprechende Keimsuspension mit der zu testenden Hefe hergestellt (Überprüfung erfolgt mit dem McFarland Standard): dafür kann zum einen eine Ampulle Suspensionsmedium oder ein anderes Röhrchen mit 2 ml Aqua dest. ohne Zusätze verwendet werden. Eine oder mehrere morphologisch gleiche Kolonien wurden mit einer zuvor ausgeglühten Platinöse vom Kulturmedium abgenommen und hiermit eine Suspension hergestellt, indem die Hefen mit einer Öse am Innenrand des Röhrchens zerdrückt und langsam mit dem Aqua dest. vermischt wurden.

Die Trübung der angefertigten Suspension sollte der Dichte von McFarland 2 entsprechen. Bei frischen Kulturen ist dies zumeist leichter durchführbar als bei älteren Kulturen, da letztere zum Teil eine zähe und mehlig Beschaffenheit aufweisen. Es wurden Hefen genommen, die 24 h auf Kimmig-Agar bei 32°C inkubiert wurden.

In die mitgelieferte Ampulle „C-Medium“ (Tabelle 6) wurden nun 250 µl der Suspension pipettiert. Danach musste das C-Medium gut mit der Pipette homogenisiert werden, die Bildung von Luftblasen war zu vermeiden.

Tabelle 6: Zusammensetzung des C-Mediums ( End-pH: 6,5-6,7 )

<b>Substanz</b>	<b>Menge</b>
Ammoniumsulfat	5 g
Kaliumdihydrogenphosphat	0,31 g
Dikaliumhydrogenphosphat	0,45 g
Dinatriumphosphat	0,92 g
Natriumchlorid	0,1 g
Calciumchlorid	0,05 g
Magnesiumsulfat	0,2 g
Histidin	0,0005 g
Tryptophan	0,02 g
Methionin	0,02 g
Agar	0,5 g
Vitaminlösung	1 ml
Anorganische Salze	10 ml
demineralisiertes Wasser	ad 1000 ml

Anschließend wurde mit einer Pipette (Eppendorf) ein ID 32 C Streifen beimpft, indem ein Volumen von 135 µl pro Vertiefung pipettiert wurde.

Dabei war darauf zu achten, dass die Pipettenspitze nicht den Boden der Vertiefung berührt, da ansonsten das Ergebnis verfälscht werden konnte. Weiterhin war so zu pipettieren, dass kein Tropfen von einer Vertiefung in eine andere gelangen konnte.

Der ID 32 C Streifen wurde mit dem mitgelieferten Deckel versehen und bei 30°C 24-48 h

inkubiert. Nach 24-48 stündiger Inkubation konnten die Streifen abgelesen werden. Die visuelle Ablesung erfolgte, indem alle Werte mit der Null-Kontrolle (1.F) verglichen wurden und jede Vertiefung mit stärkerer Trübung als positiv bewertet wurde. Nach visueller Ablesung erfolgte mit einem Analytischen-Profil-Index die Codierung der Reaktionen in ein numerisches Profil. Auf dem Ergebnisblatt (Abb. 12) sind die Tests in Dreiergruppen eingeteilt, jedes positive Resultat erhält den Wert 1, 2 oder 4 je nach Position innerhalb der Dreiergruppe.

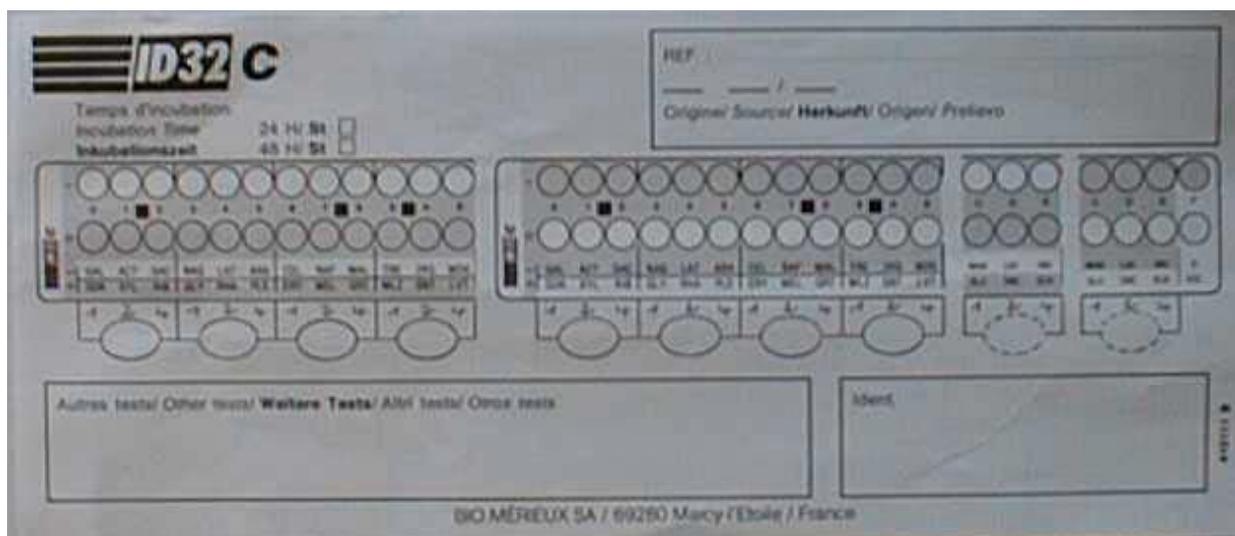


Abb. 12: Ergebnisblatt des ID 32 C Identifizierungssystems für Hefen

Die ersten 24 Tests (linke Seite des Streifens) ergeben eine 8 stellige Profilnummer, bestehend aus 4 Ziffern der oberen und 4 Ziffern der unteren Reihe der Tests. Die weiteren 8 Tests (rechte Seite des Streifens) sind Zusatztests, die bei Bedarf mitverwendet werden und eine Null-Kontrolle (0).

Eine Reinkubation von weiteren 24 h ist notwendig bei niedriger Selektivität, bei zweifelhaftem oder inakzeptablem Profil.

Die Grenzen des Verfahrens liegen darin, dass das System ID 32 C zur Bestimmung der in der Datenbasis vorhandenen Hefen bestimmt ist.

### 2.4.3 Bildung von Pigmenten und Fluorochromen

Eine Besonderheit von *Malassezia*-Hefen ist die Synthese von Pigmenten und Fluorochromen, wenn Tryptophan ( $C_{11}H_{12}N_2O_2$ ; MG: 204,2) als alleinige Stickstoffquelle angeboten wird. Bei den Pigmenten und Fluorochromen handelt es sich um Derivate des Tryptophans. Dieser Effekt lässt sich besonders bei der Spezies *M. furfur* induzieren (Mayser et Wille, 1998).

Die Fähigkeit zur Pigmentbildung konnte so zur Differenzierung beitragen, indem nach positivem Ergebnis für *M. furfur* in der Tween-Cremophor-Auxotypie eine Kultur auf Pigmentinduktionsmedium angelegt wurde, ein Nährmedium welches als alleinige Stickstoffquelle Tryptophan sowie als Lipidquelle Tween<sup>®</sup> 80 (Sigma) enthält. Die Platte wurde dann bei 32°C inkubiert und das Wachstum nach 2, 4, 6, 8 und 10 Tagen beurteilt.

*M. furfur* bildet bei alleinigem Angebot von Tryptophan rotbräunliches Pigment.

### 2.4.4 Wachstum auf lipidfreiem Medium

Da *M. pachydermatis* die einzige nicht obligat lipid-dependente *Malassezia*-Spezies ist, wurden die auf mDixon-Agar angezüchteten Hefeisolate mit einem sterilen Watteträger auf Pilz-Agar nach Kimmig (Merck, Darmstadt, FRG) ohne Zusatz von Lipiden ausgestrichen. Die Inkubation erfolgte für 5 Tage bei 32°C.

Das Wachstum von *M. pachydermatis* konnte auf diese Art und Weise zur Differenzierung beitragen, indem nach positivem Ergebnis für *M. pachydermatis* in der Tween<sup>®</sup>-Cremophor-Auxotypie eine Kultur auf lipidfreiem Medium angelegt wurde, die als Positivkontrolle zu werten war.

### 2.4.5 Spaltung von Esculin

Zur besseren Differenzierung von *M. furfur*, *M. slooffiae*, *M. pachydermatis* und *M. sympodialis* ist die  $\beta$ -Glukosidase-Aktivität mittels Esculin-Agar (Sanofi Diagnostics Pasteur, Freiburg, BRD) getestet worden (Mayser et Haze 1997).

Der in 100 ml Flaschen gelieferte Agar wurde im Autoklaven verflüssigt und anschließend in sterile Reagenzgläser mit Verschluss gegossen.

2-3 Tage alte *Malassezia*-Hefen wurden mittels einer ausgeglühten Platinöse tief in den Agar inokuliert und dann für 5 Tage bei 32°C inkubiert.

Die Spaltung von Eskulin in Eskuletin, Glucose und ein Eisensalz wurde durch eine Verfärbung des Agars von hellbraun nach dunkelbraun angezeigt.

Nach 5 Tagen wurde das Testergebnis beurteilt.

Eine deutliche Braunfärbung von mehr als 1/3 des Mediums ist kennzeichnend für *M. sympodialis*. *M. furfur* zeigt eine schwache Verfärbung. *M. pachydermatis* und *M. slooffiae* zeigen keine Reaktion.

Bei der Testung der Wildisolate aus dem Bereich der Glans penis dienten die Ergebnisse mit den *Malassezia*-Referenzstämmen als Maßstab.

#### 2.4.6 Catalase-Aktivität

Der Catalase-Nachweis erfolgte als Objektträgertest (Guillot 1996).

Das Enzym Catalase katalysiert die Zerlegung der bei Oxydationsreaktionen entstehenden Peroxyde ( $2 \text{H}_2\text{O}_2 - \text{Catalase} \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ ).

Ein Tropfen des ID color Catalase-Reagenz (bio-merieux, Marcy- l' Etoile, Frankreich) ( $\text{H}_2\text{O}_2$  10 Vol. 3 %, Dickungsmittel 2 %, Evans-Blau 0,00125 %) wurde auf einen Objektträger gegeben. In diesen Tropfen wurden mit einer Platinöse sorgfältig 1-2 Kolonien eingerührt. Innerhalb von 5 Sekunden nach Zugabe der Hefekolonie zum Reagenz zeigt sich ein positives Testergebnis durch aufsteigende Gasblasen (freigesetzter Sauerstoff) mit anhaltender Schaumbildung.

Einziges *Malassezia*-Spezies, die keine Catalase-Aktivität zeigt, ist *M. restricta*.

## 2.5 Aktuelles Differenzierungsschema für *Malassezia*-Hefen

Auf der Basis insbesondere physiologischer Parameter publizierten Guého et al. 1996 folgendes Differenzierungsschema für *Malassezia*-Hefen (Abb. 13).

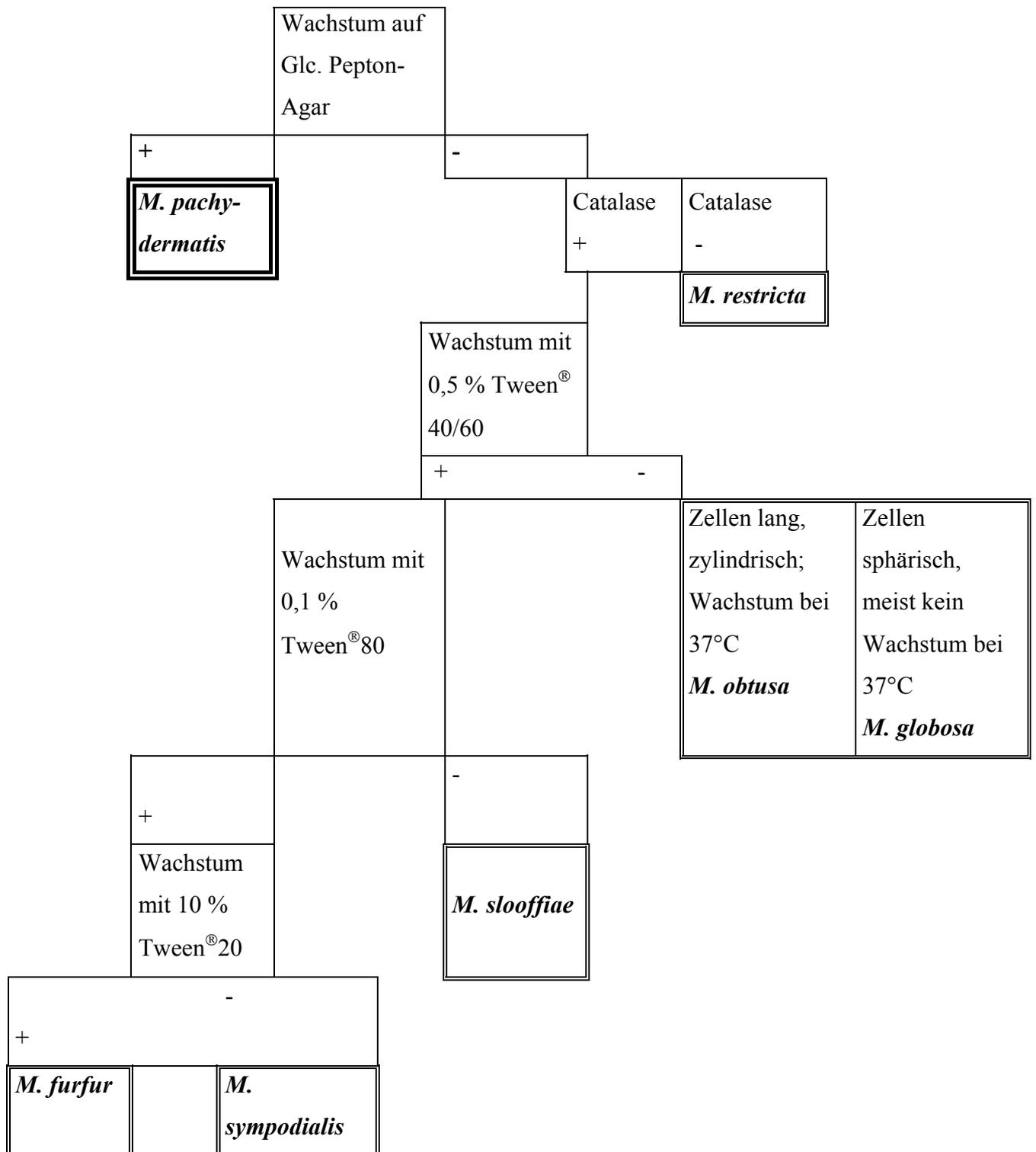


Abb. 13: Differenzierungsschema für *Malassezia*-Hefen nach Guého 1996

### 3 Ergebnisse

#### **3.1 Häufigkeit und Spektrum von Mikroorganismen im Bereich des Präputialraumes und der Glans penis (äußerer männlicher Genitaltrakt)**

##### **3.1.1 Probandenkollektiv**

130 männliche Patienten des Zentrums für Dermatologie und Andrologie der Justus-Liebig-Universität Gießen im Alter von 18-63 Jahren (Tabelle 7), die sich zwischen 06/2000 und 11/2000 wegen unerfülltem Kinderwunsch oder erektiler Dysfunktion in der andrologischen Sprechstunde vorstellten, wurden in die Untersuchung miteinbezogen.

Tabelle 7: Altersverteilung der 130 männlichen Patienten

<b>Alter</b>	<b>≤ 20</b>	<b>21-30</b>	<b>31-40</b>	<b>41-50</b>	<b>51-60</b>	<b>61-70</b>
<b>Anzahl</b>	1	39	73	13	2	2

Das Durchschnittsalter der Probanden lag bei 34,4 Jahren. 96,9 % der Probanden waren jünger als 50 Jahre, 83 % der Männer waren < 40 Jahre, 23,8 % waren unter 30 Jahre. Patienten mit bakteriellen Hautinfektionen und mit Dermatosen, die zu einer Sekundärbesiedlung mit pathogenen Keimen führen können, wie beispielsweise die Psoriasis, Ekzeme, Ulcera cruris wurden von der Untersuchung ausgeschlossen. 90 %, entsprechend 117 Probanden, waren nicht zirkumzidiert.

##### **3.1.2 Absolute und relative Nachweishäufigkeiten der *Malassezia*- und *Candida* spp.**

Die absolute und relative Nachweishäufigkeit von *Malassezia*-spp. und *Candida* spp. im Untersuchungsgut zeigt Tabelle 8.

Tabelle 8: Absolute und relative Häufigkeit von *Malassezia* bzw. *Candida* spp. im Untersuchungsgut

	Absolute Häufigkeit (n)	Relative Häufigkeit (%)
<i>Malassezia</i> spp.	64	49,2 %
<i>Candida</i> spp.	27	20,8 %
<i>Malassezia</i> spp. und <i>Candida</i> spp.	14	10,8 %
Negativ	53	40,8 %

Mittels Abklatschkultur von der Glans penis konnten bei 64 von 130 Probanden eine Besiedlung mit *Malassezia* spp. nachgewiesen werden, entsprechend 49,2 %, während bei 27 Männern *Candida* spp. isoliert werden konnten, welches einem Prozentsatz von 20,8 % entspricht. In insgesamt 14 Fällen fanden sich Doppelbesiedlungen mit Nachweis von sowohl *Malassezia* spp. als auch *Candida* spp. (10,8 %). Es handelte sich in 10 Fällen um eine Mischbesiedlung mit *Candida albicans*, in zweien mit *C. parapsilosis* und in jeweils einem mit *C. famata* bzw. *C. guilliermondii*. Bei 40,8 % der Probanden (53/130) konnten weder *M.spp.* noch *C.spp.* nachgewiesen werden.

Schimmelpilze konnten bei 24 Probanden isoliert werden, *Rhodotorula* spp. wurden in 8 Fällen isoliert, Bakterien waren bei 44 Männern nachweisbar. Eine bakterielle Besiedlung, die vergesellschaftet war mit einer Besiedlung von *Malassezia*-Hefen, konnte in 20 Fällen nachgewiesen werden, das sind 45 % der mit Bakterien besiedelten Probanden. Ein gemeinsames Vorkommen von Bakterien und *Candida* spp. konnte bei 6 Männern gezeigt werden, davon waren 4 Probanden alleine mit *Candida* spp. vergesellschaftet und 2 Probanden wiesen zusätzlich zu den *Candida* spp. eine Besiedlung mit *Malassezia* spp. auf.

Unter den 130 Probanden befanden sich insgesamt 10 % (entsprechend einer absoluten Zahl von 13) zirkumzidierte Männer. Wertet man diese gesondert aus, so ließen sich bei 8 der Zirkumzidierten *Malassezia* spp. und bei nur einem Probanden *Candida* spp. isolieren, dies bedeutet eine *Malassezia*-Besiedlung bei 61,5 % der Zirkumzidierten und eine *Candida*-Besiedlung von 7,7 %. Bei 4 zirkumzidierten Männern war das Ergebnis bezüglich *Malassezia*- und *Candida*-Besiedlung negativ.

90 % der Probanden waren nicht zirkumzidiert (entsprechend einer absoluten Zahl von 117), bei den Nichtzirkumzidierten ließen sich bei 56 Probanden *Malassezia* spp. nachweisen, entsprechend 47,9 % der Nichtzirkumzidierten, bei 26 Männern konnte eine *Candida* spp.-Besiedlung aufgezeigt werden, entsprechend 22,2 % der nichtzirkumzidierten Männer.

In den weiteren Auswertungen wird von der Gesamtzahl der Probanden ausgegangen, wobei die zirkumzidierten und nichtzirkumzidierten Männer miteingeschlossen sind.

### 3.1.3 Nachweishäufigkeit auf den beiden lipophilen Standard-Medien

Die Nachweishäufigkeit von *Malassezia*- und *Candida*-Hefen auf den beiden eingesetzten lipophilen Standard-Medien (m-Dixon-Agar und Leeming-Notman-Agar) zeigt Tabelle 9.

Tabelle 9: Vergleich der eingesetzten lipidhaltigen Nährböden hinsichtlich der Isolathäufigkeit

	<i>M. spp.</i>	<i>C. spp.</i>
Nur mDixon positiv	24	5
Nur Leeming-Notman positiv	22	14
Beide positiv	18	8
Gesamt positiv	64	27

Mit beiden Nährböden lassen sich *Malassezia*-Hefen in etwa gleicher Häufigkeit nachweisen. Der alleinige Nachweis auf m-Dixon-Agar war bei 24 Männern möglich, der alleinige Nachweis auf Leeming-Notman-Agar (LN-Agar) bei 22 Männern. Ein gleichzeitiger Nachweis auf beiden Nährböden gelang jedoch nur bei 18 Probanden. Der Nachweis von *Candida spp.* gelang auf LN-Agar in 14 Fällen, hingegen nur in 5 Fällen auf mDixon-Agar. Ein gleichzeitiger Nachweis auf beiden Nährböden war bei 8 Probanden möglich.

In diesem Fall ließen sich mit Leeming-Notman-Agar also besser *Candida*-Hefen nachweisen, wohingegen sich *Malassezia*-Hefen in etwa gleicher Häufigkeit mit beiden Nährböden nachweisen ließen.

### 3.1.4 Semiquantitative Auswertung aller positiven Kulturplatten

Tabelle 10 zeigt die semiquantitative Auswertung aller positiven Kulturplatten nach 10tägiger Inkubation. Sie wurden nach folgendem Maßstab bewertet: + = nach 10 Tagen makroskopisch

1 Kolonie; ++ = nach 10 Tagen makroskopisch 2-5 Kolonien; +++ = nach 10 Tagen makroskopisch > 5 Kolonien.

Tabelle 10: Semiquantitative Bewertung der Kulturplatten

	+	++	+++	$\Sigma$
<i>Malassezia</i> spp.	23 (= 28 %)	33 (= 40 %)	26 (= 32 %)	82 (= 100 %)
<i>Candida</i> spp.	8 (= 22,9 %)	10 (= 28,6 %)	17 (= 48,5 %)	35 (= 100 %)

+ = nach 10 Tagen makroskopisch 1 Kolonie

++ = nach 10 Tagen makroskopisch 2-5 Kolonien

+++ = nach 10 Tagen makroskopisch > 5 Kolonien

Die Befunddichte ist bei Vorliegen von *Candida*-Hefen etwas höher, bei 48,5 % konnten nach 10 Tagen Inkubation mehr als 5 Kolonien beobachtet werden. Die Auswertung aller positiven Platten mDixon- und Leeming-Notman-Agars, einschließlich der Doppelisolierungen, zeigt also eine Tendenz zur höheren Befunddichte bei *Candida*-Nachweis. Aber auch beim *Malassezia*-Nachweis finden sich in 72 % der Fälle mehr > 2 Kolonien und in 32 % mehr als 5 Kolonien.

### 3.1.5 Häufigkeitsverteilung der *Candida*-Isolate

Tabelle 11 zeigt das Spektrum und die Häufigkeitsverteilung der 27 *Candida*-Isolate.

Tabelle 11: Häufigkeitsverteilung der isolierten *Candida*-Arten

	Absolute Häufigkeit (n)	Relative Häufigkeit (%)
<i>Candida albicans</i>	20	74,1 %
<i>Candida parapsilosis</i>	3	11,1 %
<i>Candida guilliermondii</i>	3	11,1 %
<i>Candida famata</i>	1	3,7 %
$\Sigma$	27	100 %

Es dominiert mit 74,1 % *Candida albicans*, gefolgt von *Candida parapsilosis* und *Candida guilliermondii* mit jeweils 11,1 % und *Candida famata* mit 3,7 %. Bei insgesamt 8 Patienten konnten *Candida* spp. sowohl auf mDixon-Agar als auch auf Leeming-Notman-Agar nachgewiesen werden, davon konnten 6 x *Candida albicans* , 1x *Candida parapsilosis* und 1x *Candida guilliermondii* isoliert werden. Auffallend ist, dass es keinen Nachweis von *Candida glabrata* gab.

*C. albicans* dominierte in allen Altersgruppen, während *C. guilliermondii* und *C. famata* nur in der Gruppe der 31-40 jährigen nachweisbar war.

### 3.1.6 Spektrum und Häufigkeitsverteilung der *Malassezia* spp. Isolate

Spektrum und Häufigkeitsverteilung der 82 isolierten *Malassezia* spp. bei insgesamt 64 *Malassezia* positiven Patienten (18 *Malassezia* Isolate konnten auf beiden zur Untersuchung verwendeten Nährmedien nachgewiesen werden) zeigt, getrennt für beide Nährböden, Tabelle 12.

Tabelle 12: Spektrum der isolierten *Malassezia* spp. auf beiden Nährböden

	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar	
	Absolute Häufigkeit	Relative Häufigkeit	Absolute Häufigkeit	Relative Häufigkeit
<i>M. furfur</i>	1	2,4 %	1	2,5 %
<i>M. pachydermatis</i>	2	4,8 %	-	-
<i>M. globosa</i>	18	42,8 %	18	45,0 %
<i>M. sympodialis</i>	20	47,6 %	15	37,5 %
Nicht diff.	1	2,4 %	6	15,0 %
$\Sigma$	42	100,0 %	40	100,0 %

Hinsichtlich des Spektrums bestehen zwischen beiden Nährböden keine wesentlichen Unterschiede. Es dominieren auf beiden Nährböden *M. sympodialis* und *M. globosa*, deren Häufigkeit sich auf beiden Nährböden jedoch in etwa reziprok verhält.

Die beiden *M. pachydermatis*-Isolate konnten nur auf mDixon-Agar nachgewiesen werden. Die bei nur einem Probanden nachgewiesenen *M. furfur* Isolate waren auf beiden Nährböden nachweisbar. Es war das einzige *Malassezia*-Isolat, welches eine deutliche bräunlich-rote Pigmentbildung zeigte (Mayser et Wille 1998).

7 Isolate, die von Leeming-Notman-(6) bzw. mDixon Agar (1) stammten, konnten nicht weiter differenziert werden, da sie von Kontaminanten überwachsen wurden.

Die nachgewiesenen 7 Doppelbesiedlungen (zwei verschiedene *Malassezia*-Arten bei jeweils einem Probanden) umfassten *M. globosa* und *M. sympodialis* bei 6 Probanden und *M. pachydermatis* und *M. sympodialis* bei einem Probanden.

In allen Altersgruppen zeigten sich keine bedeutsamen Unterschiede in der Verteilung der *Malassezia* spp..

### 3.1.7 Untersuchungen zur Morphologie

#### 3.1.7.1 Makromorphologie

Nach jeweils 10 tägiger Anzucht bei 32°C sowohl auf mDixon- als auch auf Leeming-Notman-Agar wurden die Platten hinsichtlich der makromorphologischen Ausprägung ihrer Kolonien beurteilt (Abb. 14, Abb. 15, Abb. 16, Abb. 17).



Abb. 14: Makromorphologie von *Malassezia*-Hefen auf mDixon-Agar



Abb.: 15: Makromorphologie von *Malassezia*-Hefen auf Leeming-Notman-Agar



Abb. 16: Makromorphologie von *Candida*-Hefen auf mDixon-Agar

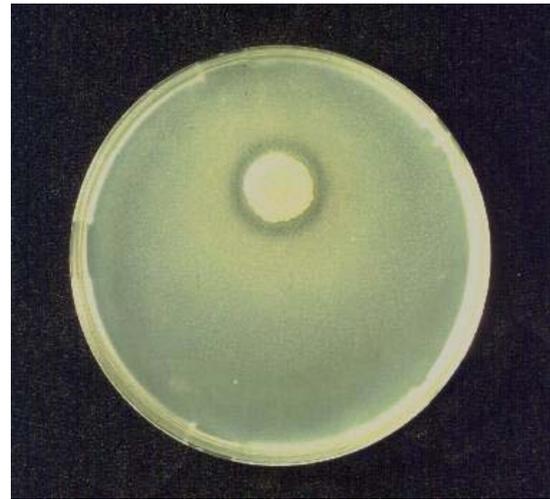


Abb.: 17: Makromorphologie von *Candida*-Hefen auf Leeming-Notman-Agar

Auf lipidhaltigem Nährmedium bilden sich bei *Malassezia* spp. cremefarbene, gelbliche Kolonien mit fruchtig-hefigem Geruch aus (van Abbe 1964, Labows 1975).

Die einzelnen *Malassezia*-Arten weisen allein schon bei makromorphologischer Beurteilung einige auffällige Charakteristika auf.

Hinweisend auf *M. sympodialis*: Nach 10 tägigem Wachstum bei 32°C auf mDixon- und Leeming-Notman-Agar fanden sich glänzende Kulturen mit glatter Oberfläche mit etwa 5 mm Durchmesser und einer Hofbildung um die Kulturen herum.

*M. sympodialis* wurde erstmals 1990 beschrieben. Das erste Isolat stammte aus dem Ohr eines AIDS erkrankten Patienten, welches als Referenzkultur CBS 7222 hinterlegt wurde. Diese Referenzkultur wurde auch als Vergleichskultur verwendet.

*M. sympodialis* entspricht *Pityrosporum ovale* Form 3 (Midgley 1989), *Malassezia furfur* serovar A (Cunningham et al. 1990) sowie *Malassezia ovalis* Form 3 (Midgley 1993).

Hinweisend auf *M. globosa*: Nach 10 tägigem Wachstum bei 32°C auf mDixon- und Leeming-Notman-Agar fanden sich Kulturen mit zerklüftetem Oberflächenrelief und mit etwa 4 mm einen geringeren Durchmesser als andere *Malassezia*-Arten.

*M. globosa* ist identisch mit dem *M. furfur* Serovar B (Cunningham et al. 1990) und *Malassezia sensu* Midgley (Midgley 1993). Als Referenzstamm wurde GM 7 verwendet, der ursprünglich von einem Patienten mit seborrhoischem Ekzem stammt.

Hinweisend auf *M. pachydermatis*: Nach 10 tägigem Wachstum bei 32°C auf mDixon- und Leeming-Notman-Agar sowie später zur Kontrolle auf Pilz-Agar nach Kimmig (Glucose enthaltend) fanden sich stumpf-glänzende, glatte Kulturen mit etwa 5 mm Durchmesser.

*M. pachydermatis* entspricht *Pityrosporum pachydermatis* Weidman 1925 sowie *Pityrosporum canis* Gustafson 1955.

Als Referenzstamm wurde CBS 1879 T verwendet, der vom Ohr eines Hundes mit Otitis stammt.

Hinweisend auf *M. furfur*: Nach 10 tägigem Wachstum bei 32°C auf mDixon- und Leeming-Notman-Agar fanden sich stumpf-glänzende, teils glatte, teils rauhe, leicht genabelte, cremefarbene Kulturen von etwa 5 mm Durchmesser, mit zunehmendem Alter der Kulturen bekamen die cremefarbenen Kulturen eine bräunliche Tönung.

Als Referenzstamm wurde CBS 1878 T verwendet, der ursprünglich von einer Pityriasis capitis isoliert wurde.

*Candida*-Arten zeigten creme- bis elfenbeinfarbene, halbkugelige Kolonien. Sie sind glatt und von weich-zäher Konsistenz mit typischem Hefegeruch. Alte Kolonien zeigten z.T. am Rand winzige wurzelartige Ausläufer im Agar, wobei es sich um Pseudomycel handelt, das mit zunehmendem Alter der Kultur den Nährboden durchwächst. Dieses Phänomen konnte man insbesondere bei *C. albicans* feststellen.

Auf einigen Nährböden bildete sich eine Wuchsform mit starker Faltung und Runzelung der Oberfläche aus, die aber keine Bedeutung hinsichtlich der Artendifferenzierung aufwies.

*Rhodotorula* spp. bildeten makroskopisch rote Kolonien (carotinoides Pigment).

Bei Schimmelpilzen zeigten die Kulturen ein rasches Wachstum und die Ausbildung von Luftmyzel.

Bakterien bildeten makroskopisch glänzende Kolonien aus, ohne Bildung von Luftmyzel.

### 3.1.7.2 Mikromorphologie

Die mikromorphologische Auswertung erfolgte nach 10 tägiger Inkubation bei 32°C unter zur Hilfenahme des Identifikationsschemas für *Malassezia*-Hefen unter Einbeziehung der Morphologie nach Guillot 1996 (siehe Abb. 9 auf Seite 36).

-> Hinweisend auf *M. sympodialis*: Sympodiale Sprossung, Sprosszellen oval bis rund.

-> Hinweisend auf *M. globosa*: Sphärische Zellen (stabile runde Mikromorphologie).

-> Hinweisend auf *M. pachydermatis*: Schmale ovoide Zellen mit einer sehr breiten Basis.

-> Hinweisend auf *M. furfur*: Lange zylindrische, ovoide oder runde Zellen,

ihre nestförmige Lagerung kann so dicht sein, dass sie wie ein Oktaeder erscheinen. Die Kolonien bestehen aus kleinen, ellipsoiden oder flaschenähnlichen Zellen mit einem typischen Kragen (Collarette), der während der Bildung der Tochterzellen entsteht.

Bei *Malassezia*-Hefen findet sich auf normaler Haut ausschließlich die Sprosszellphase (bei Hautläsionen sowohl die Hyphen- als auch Sprosszellform, wobei die Hyphen relativ kurze, wenig septierte, z.T. halbmondförmig gekrümmte Hyphenstücke sind, die neben in Haufen angeordneten runden Pilzelementen liegen) (Nenoff 2001).

Aufgrund seiner runden Morphologie ließ sich besonders gut *M. globosa* abgrenzen, welcher sich auch sehr gut mit optischen Aufhellern (Uvitex 2B = Fungiqua, Dr. Reinehr, Kändern, Germany) angefärbt im fluoreszenzmikroskopischen Bild darstellte (Abb. 18, Abb. 19).

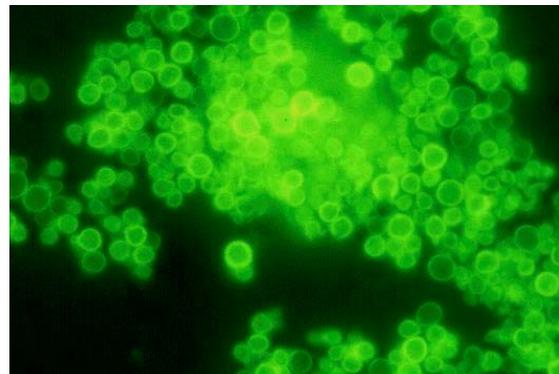


Abb. 18: 120fache Vergrößerung

Abb. 19: 480fache Vergrößerung

Fluoreszenzmikroskopische Darstellung von *M. globosa* mittels Fungiqua-Anfärbung

Die mikromorphologische Auswertung der *Candida*-Hefen erfolgte nach 2-3 tägiger Inkubation auf Reisagar bei Zimmertemperatur, da Untersuchungen von Nativmaterial keine sichere Differenzierung der *Candida*arten erlaubt.

Es zeigten sich Sprosszellen, die terminal oder lateral der für *Candida*-Hefen typischen Pseudomyzelien angeordnet waren.

*Candida albicans*: Im mikroskopischen Kulturpräparat waren an vegetativen Reproduktionsformen Sprosszellen (Blastosporen), Pseudomycel (typisch für *Candida*-Arten), Chlamydosporen (stets rund) und Mycel (Septenentwicklung) erkennbar. Die Sprosszellen sind rundlich bis oval, sie entwickeln sich im Nährboden traubenförmig um das Pseudomycel, stets im Bereich der Zellgrenzen. Das Pseudomycel, welches typisch ist für *Candida*-Arten besteht aus verlängerten Sprosszellen, die Grenze zum Mycel ist dabei fließend. Chlamydosporenbildung unterscheidet *Candida albicans* von allen anderen Arten dieser Gattung, wobei die großen, runden, dickwandigen (doppelwandigen) Sporen bei *C. albicans* terminal, manchmal auch intercalar inseriert sind. Stimulation der Chlamydosporenbildung wurde durch das Wachstum auf Reisagar (Reisstärke enthaltend) erreicht, sie würde durch Glucose gehemmt.

Das Mycel ist gekennzeichnet durch die Entwicklung von Septen.

*Candida guilliermondii* (überwiegend sekundäre Bedeutung als störender Begleitkeim, klinische Erscheinungen, die auf diese Art allein zurückgehen sind ziemlich selten):

An vegetativen Reproduktionsformen waren längliche bis zylinderförmige Sprosszellen, Blastosporen und Pseudomycel erkennbar. Das oft nur gering ausgebildete Pseudomycel wird aus einer Kette von langen, z.T. gewundenen Zellen gebildet, um deren Trennwände sich kleine längliche Blastosporen gruppieren. Werden die Kulturen älter, so vermitteln sie den Eindruck eines ballförmigen Gebildes.

*Candida parapsilosis*: Ovale oder längliche Sprosszellen, gut entwickeltes, meist schmales Pseudomycel und vereinzelt Riesenmycel (Zellen von doppelter Größe und Pseudomycel von doppelter Breite, welches typisch für *Candida parapsilosis* ist) waren an vegetativen Reproduktionsformen erkennbar. Das Pseudomycel zeigte sich neben den ovalen, z.T. länglichen Sprosszellen gut entwickelt.

*Candida famata*: Kleinere Sprosszellen als bei *C. albicans*, Pseudomycel und Mycel fehlten.

*Rhodotorula* spp. zeigten runde, ovale, z. T. längliche Sprosszellen. Pseudomycel und Mycel zeigten sich typischerweise wenig entwickelt.

### 3.1.8 Tween-Cremophor-Auxotypie

Anhand der Tween-Cremophor-Auxotypie nach Guillot (1996) und Mayser (1997) konnten die *Malassezia*-Arten *M. sympodialis* (Abb. 20), *M. globosa* (Abb. 21), *M. pachydermatis* (Abb. 22) und *M. furfur* (Abb. 23) differenziert werden.



Abb. 20: *M. sympodialis*



Abb. 21: *M. globosa*



Abb. 22: *M. pachydermatis*



Abb. 23 : *M. furfur*

### 3.1.9 ID 32 C (Identifizierungssystem für Hefen)

Bei insgesamt 15 Wildisolaten wurde die Differenzierung mittels dem kommerziell verfügbaren Identifizierungssystem für Hefen ID 32 C (BioMerieux, Marcy-l'Etoile, Frankreich) durchgeführt. Es wurden mit diesem Identifizierungssystem 6 Isolate als *C. albicans*, 4 Isolate als *C. guilliermondii*, 4 Isolate als *C. parapsilosis* und 1 Isolat als *C. famata* identifiziert.

### 3.1.10 Bildung von Pigmenten

Es konnten 2 Isolate *M. furfur* auf den beiden Nährböden mDixon- und Leeming-Notman-Agar isoliert werden, die von einem Probanden stammten. Beide Isolate bildeten nach insgesamt 10 tägigem Wachstum auf Pigmentinduktionsmedium (Stickstoffquelle Tryptophan, Lipidquelle Tween<sup>®</sup> 80 enthaltend) rotbräunliches Pigment (Abb. 24), welches die Differenzierung *M. furfur* zusätzlich bestätigte.

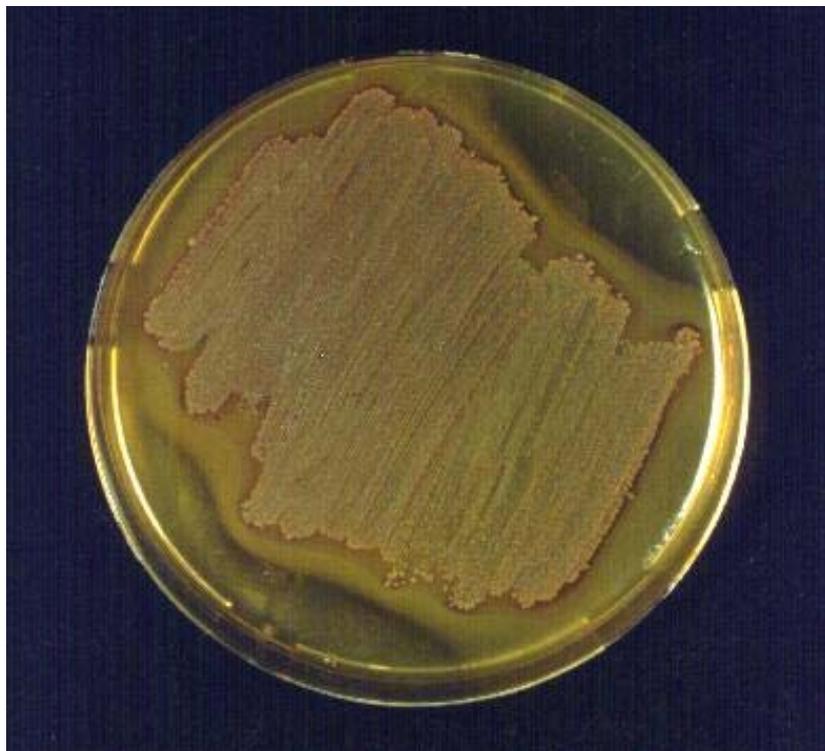


Abb. 24: Pigmentbildung von *M. furfur* auf Pigmentinduktionsmedium

### 3.1.11 Spaltung von Esculin

Die Spaltung von Esculin nach 5 Tagen Inkubation bei 32°C führte bei den zuvor durch Tween-Cremophor-Auxotypie differenzierten 35 *M. sympodialis* Isolaten zu einer deutlichen Braunfärbung des Agars von mehr als einem Drittel (+++).

Bei 2 Isolaten fand sich eine schwache Verfärbung ((+) oder +) des Agars als Zeichen von *M. furfur*, was auch dem Ergebnis der Differenzierung entsprach.

Zweimal fand sich bei den Isolaten keine Reaktion als Ausdruck einer reinen *M. pachydermatis* Kultur, was als zusätzliche Bestätigung des Auxotypie-Ergebnisses und dem Wachstum auf Kimmig-Agar zu werten war.

Es wurden jeweils Referenzstämme mitgeführt (Abb. 25, Abb. 26 )

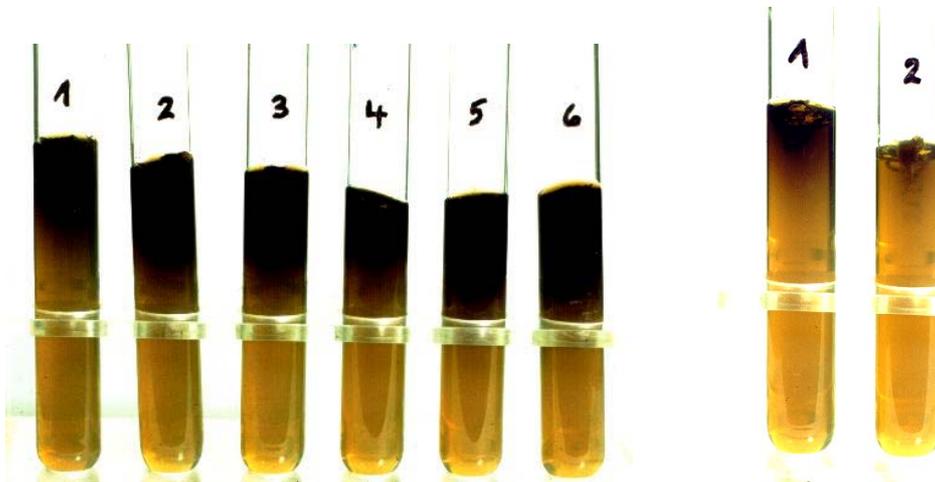


Abb. 25: *M. sympodialis* Isolate:  
Deutliche Braunfärbung des Agars  
von mehr als einem Drittel (+++)

Abb. 26: Direkter Vergleich eines  
*M. sympodialis* Isolates (+++) und  
eines *M. pachydermatis* Isolates (-)

### 3.1.12 Catalase-Aktivität

Es wurden alle 82 *Malassezia*-Isolate hinsichtlich ihrer Catalase-Aktivität überprüft. Bei allen Isolaten kam es zu einer Gasbildung bei Kontakt mit dem ID color Catalase-Reagenz (bio-merieux, Marcy- l' Etoile, Frankreich). Die Catalase-Reaktion war somit für alle Isolate positiv. Reinkulturen von *M. restricta* waren hiermit nicht nachweisbar, die Catalase-Reaktion wäre negativ ausgefallen.

## **3.2 Häufigkeit und Spektrum von Mikroorganismen im Bereich des hinteren Vaginalgewölbes (Fornix posterior) des weiblichen Genitaltraktes**

### **3.2.1 Probandinnenkollektiv**

100 Patientinnen der Poliklinik der Gynäkologie und Geburtshilfe der Justus-Liebig-Universität Gießen im Alter von 16-83 Jahren (Tabelle 13), die sich zwischen 09/2000 und 10/2000 im Rahmen der Krebsvorsorgeuntersuchung in der gynäkologischen Sprechstunde vorstellten, wurden untersucht. Es wurde ein Abstrich aus dem hinteren Scheidengewölbe (Fornix posterior) entnommen.

Tabelle 13: Altersverteilung der 100 Patientinnen

<b>Alter</b>	<b>&lt; 20</b>	<b>21-30</b>	<b>31-40</b>	<b>41-50</b>	<b>51-60</b>	<b>61-70</b>	<b>71-80</b>	<b>81-90</b>
<b>Anzahl</b>	5	15	19	23	22	7	8	1

Das Durchschnittsalter der Probandinnen lag bei 45,5 Jahren. 81 % der Probandinnen waren jünger als 60 Jahre, 61 % der Frauen waren < 50 Jahre, 37 % waren unter 40 Jahre und 18 % der Frauen waren < 30 Jahre. Patientinnen mit bakteriellen Hautinfektionen und mit Dermatosen, die zu einer Sekundärbesiedlung mit pathogenen Keimen führen können, wurden von der Untersuchung ausgeschlossen.

### **3.2.2 Mikrobiologische Nachweise im Untersuchungsgut**

Bei keiner Frau, gleich welchen Alters, konnten *Malassezia* spp. nachgewiesen werden.

Außer den zu erwartenden Bakterien konnten *Saccharomyces cerevisiae*, Schimmelpilze sowie *Rhodotorula* spp. nachgewiesen werden.

Schimmelpilze konnten bei 5 Probandinnen (5 %) isoliert werden, *Rhodotorula* spp. wurden in 2 Fällen (2 %) isoliert, *Saccharomyces cerevisiae* wurde bei 2 Probandinnen (2 %) nachgewiesen, Bakterien waren bei 40 Frauen (40 %) nachweisbar.

Weiterhin konnten *Candida* spp. isoliert werden.

### 3.2.3 Absolute und relative Nachweishäufigkeiten der *Candida* spp.

Die Häufigkeitsverteilung der mit *Candida*-Arten besiedelten Probandinnen zeigt Tabelle 14.

**Tabelle 14: Häufigkeitsverteilung der mit *Candida*-Arten besiedelten Probandinnen**

	Absolute Häufigkeit (n)	Relative Häufigkeit (%)
<i>Candida albicans</i>	22	73,3 %
<i>Candida glabrata</i>	8	26,7 %
$\Sigma$	30	100,0 %

22 % der Probandinnen waren mit *C. albicans* und 8 % mit *C. glabrata* besiedelt, davon wiesen 2 % der Frauen eine Doppelbesiedlung (gemeinsame Besiedlung von *C. albicans* und *C. glabrata*) auf, so dass bei insgesamt 28 % der Frauen eine Besiedlung mit *Candida* spp. nachweisbar war (bezogen auf das Untersuchungskollektiv von 100 Frauen).

Es dominiert mit 73,3 % *C. albicans*, weiterhin konnten bei 26,7 % der *Candida* positiven Probandinnen *C. glabrata* isoliert werden.

Eine bakterielle Besiedlung, die vergesellschaftet war mit einer Besiedlung von *C. albicans*, konnte in 3 Fällen aufgezeigt werden, das entspricht 7,5 % der mit Bakterien besiedelten Probandinnen. Ein gemeinsames Vorkommen von *Saccharomyces cerevisiae* und *C. albicans* konnte bei einer Frau gezeigt werden.

### 3.2.4 Spektrum und Häufigkeitsverteilung der *Candida* spp. Isolate

Insgesamt wurden bei den Frauen 49 Isolate von *Candida*-Arten isoliert.

Spektrum und Häufigkeitsverteilung der insgesamt 49 isolierten *Candida* spp. bei insgesamt 28 *Candida* positiven Probandinnen zeigt, getrennt für beide Nährböden, Tabelle 15.

Tabelle 15: Spektrum der isolierten *Candida* spp. auf beiden Nährböden

	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar	
	Absolute Häufigkeit	Relative Häufigkeit	Absolute Häufigkeit	Relative Häufigkeit
<i>C. albicans</i>	18	75%	18	72%
<i>C. glabrata</i>	6	25%	7	28%
$\Sigma$	24	100%	25	100%

Hinsichtlich des Spektrums bestehen zwischen beiden Nährböden keine wesentlichen Unterschiede. *C. albicans* konnte auf beiden Nährböden in gleicher Häufigkeit nachgewiesen werden. Ebenso konnte *C. glabrata* in nahezu gleicher Häufigkeit auf beiden Nährmedien isoliert werden.

Bei 4 der insgesamt 22 *C. albicans* positiven Frauen konnten die Hefen nur von mDixon-Agar isoliert werden. Ebenfalls bei 4 der insgesamt 22 *C. albicans* positiven Probandinnen konnten die Hefen nur von Leeming-Notman-Agar isoliert werden.

Bei 14 Probandinnen konnten *C. albicans* auf beiden verwendeten Nährböden isoliert werden, das sind 63,6 % der Probandinnen, bei denen man die Art *C. albicans* auf beiden Nährmedien nachweisen konnte.

Nur auf mDixon-Nährmedium konnte *C. glabrata* bei einer der insgesamt 8 *C. glabrata* positiven Frauen isoliert werden. Bei 2 der 8 *C. glabrata* positiven Probandinnen konnte die Hefe nur auf Leeming-Notman-Agar isoliert werden.

In 5 Fällen war ein gleichzeitiger Nachweis von *C. glabrata* auf beiden Nährböden möglich, dies sind 62,5 % der Frauen, bei denen die Art *C. glabrata* auf beiden Nährmedien nachgewiesen werden konnte.

Beide Hefen, sowohl *C. albicans* und *C. glabrata*, konnten somit in nahezu gleichem relativen Prozentsatz auf beiden Nährböden nachgewiesen werden.

### 3.2.5 Morphologie

#### 3.2.5.1 Makromorphologie

Nach jeweils 10 tägiger Anzucht bei 32°C sowohl auf mDixon- als auch auf Leeming-Notman-Agar wurden die Platten hinsichtlich der makromorphologischen Ausprägung ihrer Kolonien beurteilt.

*Saccharomyces cerevisiae* entwickelten grauweiße- bis cremefarbene Kolonien von weicher Konsistenz mit glattem Rand und „punktierter“ Oberfläche. Sie erinnern bezüglich ihrer Oberfläche an Kolonien mancher Bakterienarten.

*Candida*-Arten, *Rhodotorula* spp., Schimmelpilze und Bakterien entsprachen der Beschreibung ihrer Makromorphologie auf Seite 51.

#### 3.2.5.2 Mikromorphologie

Die mikromorphologische Auswertung der *Candida*-Hefen erfolgte nach 2-3 tägiger Inkubation auf Reisagar bei Zimmertemperatur, da Untersuchungen von Nativmaterial keine sichere Differenzierung der *Candida*arten erlaubt.

Es zeigten sich Sprosszellen, die terminal oder lateral der für *Candida*-Hefen typischen Pseudomyzelien angeordnet waren.

*Candida glabrata*: Kleinere Sprosszellen als bei *C. albicans*, Pseudomycel und Mycel fehlten.

*Saccharomyces cerevisiae* zeigten große, ovale bis rundliche Sprosszellen, zumeist in Haufen angeordnet.

*Candida albicans* und *Rhodotorula* spp. entsprachen der Beschreibung ihrer Mikromorphologie auf Seite 53 und 54.

### **3.2.6 ID 32 C (Identifizierungssystem für Hefen)**

Bei insgesamt 24 Wildisolaten wurde die Differenzierung mittels dem kommerziell verfügbaren Identifizierungssystem für Hefen ID 32 C (BioMerieux, Marcy-l'Etoile, Frankreich) durchgeführt. Es wurden mit diesem Identifizierungssystem 8 Isolate als *C. albicans*, 13 Isolate als *C. glabrata* und 3 Isolate als *Saccharomyces cerevisiae* identifiziert.

## 4 Diskussion

Hefen der Gattung *Malassezia* sind seit mehr als einhundert Jahren als Bestandteile der Mikroflora der menschlichen Haut und der Haut vieler Warmblüter bekannt (Yarrow 1984, Ingham 1993). Ihnen wird eine Bedeutung bei einer Vielzahl von Erkrankungen zugeschrieben, wozu insbesondere die Pityriasis versicolor, die *Malassezia*-Follikulitis, das seborrhoische Ekzem und systemische Infektionen gehören (Faergemann 1994, Mittag 1996, Faergemann 1997, Nenoff 2001).

*Malassezia*-Hefen waren die ersten Mikroorganismen, deren Wachstum als obligat lipidabhängig erkannt wurde. Aufgrund ihrer Lipiddependenz (Ausnahme: *Malassezia pachydermatis*) (Lodder 1971) sind sie besonders in den talgdrüsenreichen Arealen des Körpers zu finden (Marples 1965, Marples 1973). Sie leben auf der Haut und in den Talgdrüsenfollikeln als saprophytärer Keim (Standortkeim) (Wolff 1976). Da sich im Bereich der Glans penis freie Talgdrüsen befinden, sogenannte Tyson'sche Drüsen, stellte sich die Frage, ob auch in dieser Körperregion *Malassezia*-Hefen regelhaft anzutreffen sind.

In der vorliegenden Arbeit sollten nun erstmals Vorkommen, Häufigkeit und Artenspektrum von *Malassezia*-Hefen im Bereich des Präputialraumes und der Glans penis erfasst werden, mit dem Ziel, neue Erkenntnisse über Epidemiologie sowie die Rolle von *Malassezia* spp. bei Erkrankungen im Bereich des äußeren Genitale zu gewinnen. Dazu wurden zwei verschiedene Standardmedien verglichen, zum einen Leeming-Notman-Agar, zum anderen mDixon-Agar.

Bei nahezu jedem zweiten Probanden konnte eine Besiedlung des Präputialraumes mit *Malassezia* spp. gefunden werden. Am häufigsten nachgewiesen wurden die Spezies *M. sympodialis* und *M. globosa*, die auch zu den häufigsten *Malassezia*-Species auf der übrigen menschlichen Haut gehören (Guého et Guillot 1996, Nakabayashi 2000). Die nicht obligat lipiddependente Species *M. pachydermatis*, die vornehmlich bei Tieren isoliert werden kann oder auch als potentiell Pathogen bei abwehrgeschwächten Patienten beschrieben wurde (Gedek 1977, Bond 1996, Bond 1997, Guého 1996, Guillot 1999, Nenoff 2001), konnte nur zweimal und auch nur auf dem mDixon-Medium nachgewiesen werden. *M. furfur*, der möglicherweise aufgrund seiner Fähigkeit zur Pigmentbildung in der Pathogenese der Pityriasis versicolor bedeutsam ist (Mayser et Wille 1998), wurde bei nur einem Probanden isoliert. Bedeutsam in der Pathogenese der Pityriasis versicolor scheint nach neueren Daten auch die in dieser Untersuchung am männlichen Genitaltrakt häufig nachweisbare Spezies *M. globosa* (Faergemann 1993, Nakabayashi 2000, Crespo 2000) zu sein. *M. slooffiae*, *M.*

*restricta* und *M. obtusa*, die eher seltener auf der menschlichen Haut nachweisbar sind oder vornehmlich im Bereich des behaarten Kopfes (*M. restricta*) vorkommen (Guého et Guillot 1996), konnten nicht isoliert werden.

Andererseits wurde über eine Pityriasis versicolor im Bereich des männlichen Genitale, insbesondere der Glans penis, bisher nur selten in der Literatur berichtet (Blumenthal 1971, Smith 1978, Kaur 1996, Aljabre 1994, Daneshvar 1987, Nia 1979), jedoch tritt sie möglicherweise häufiger als bisher angenommen auf (Ive 1998). Aus diesem Grund wird von einigen Autoren die Notwendigkeit zur genauen, häufigen Untersuchung der Haut mit besonderem Wert auf die atypischen Körperregionen nachdrücklich betont (Aljabre 1994, La Touche 1967, Kaur 1996), vor allem auch bei immunsupprimierten Patienten (Daneshvar 1987).

Die komplette körperliche Untersuchung mit Wood Licht (gelbgrüne Fluoreszenz bei der Pityriasis versicolor) ist in dieser Beziehung eine hervorragende Möglichkeit, um den kompletten Befall der Pityriasis versicolor, vor allem bei dunkelhäutigen Patienten, zu erfassen und sie weist insbesondere die Regionen nach, wie etwa das äußere Genitale, von denen der Patient wahrscheinlich häufig nichts bemerkt (Nia 1979).

Um mögliche Unterschiede in der Sensitivität für einzelne Species herauszuarbeiten, wurden die beiden zur Isolation und Kultur von *Malassezia*-Hefen empfohlenen Standardmedien, mDixon-Agar und LN-Agar, parallel in dieser Studie eingesetzt. Sie konnten in etwa gleicher Häufigkeit ein positives Ergebnis erzielen (mDixon-Agar 42 Probanden, LN-Agar 40 Probanden). Bemerkenswerterweise wurde ein gleichzeitiges positives Kulturergebnis bezüglich *Malassezia*-Hefen darunter nur in 18 Fällen erzielt. Auch das Spektrum der Isolate war vergleichbar. Nicht differenzierbare Stämme stellten sich auf Leeming-Notman-Agar etwas häufiger dar. Dies war bedingt durch ein starkes Überwachsen mit Kontaminanten, da auf einen Cycloheximid-Zusatz im Nährboden aufgrund des auch angestrebten Nachweises von *Candida*-Species verzichtet wurde.

Nach dieser Untersuchung kann man sagen, dass weder bei mDixon-Agar noch bei Anwendung von Leeming-Notman-Agar eindeutige Unterschiede in der quantitativen und qualitativen Erfassung von *Malassezia*-Hefen bestehen. In der Literatur wird immer wieder die Empfehlung diskutiert, das vollfette Kuhmilch enthaltende Medium von Leeming-Notman anzuwenden, da es den Erfordernissen einer besseren Quantifizierung mehr entsprechen würde (Leeming 1987, Korting 1991, Bergbrant 1992). Nach dieser Untersuchung sind Leeming-Notman-Agar und mDixon-Agar als gleichwertig anzusehen. Zur Anwendung

sollten in der Diagnostik von *Malassezia*-Hefen also in Zukunft beide Nährmedien parallel zueinander Anwendung finden. Es kann nämlich durchaus sein, wie in dieser Untersuchung vorgekommen, dass auf dem einen Medium *Malassezia* zu kultivieren ist, wohingegen auf dem anderen kein Nachweis zu erbringen ist, so dass die beiden lipophilen Nährmedien ergänzend zur Anwendung kommen sollten, um eine exakte Diagnosestellung zu ermöglichen.

Obwohl nicht die üblichen Isolationsmedien verwendet wurden, sind die erhaltenen Werte für die Kolonisation des Präputialraumes mit *Candida* spp. bei Gesunden denen der Literatur vergleichbar (Odds 1988, Mayser 1999, Schaller 1971). Dies trifft auch für das Spektrum zu. Bemerkenswert scheint, dass Keime, die im Rahmen einer chronisch rezidivierenden Vaginalmykose (tritt mehr als viermal im Jahr auf laut Definition) problematisch sind wie *C. glabrata* und *C. krusei* (*C. glabrata* ist die zweithäufigste Hefeart bei vaginalen Hefepilzkolonisationen hinter *C. albicans*), in dieser Untersuchung bei männlichen Probanden nicht nachweisbar waren.

Auf *Candida* spp. scheinen *Malassezia*-Hefen aufgrund der in der vorliegenden Studie häufig angetroffenen Vergesellschaftung (mehr als 50 % der *Candida*-Isolate traten zusammen mit *Malassezia* spp. auf) keinen hemmenden Einfluß auszuüben.

Nach den vorliegenden Ergebnissen der Untersuchung finden *Malassezia*-Hefen in dem lipidreichen Milieu des Präputialraumes offensichtlich gute Wachstumsbedingungen. Hierbei scheinen, da sogenannte Talgdrüsenfollikelheiten (pilosebaceous units) fehlen, insbesondere freie Talgdrüsen, die sogenannten Tyson'schen Drüsen, eine wichtige anatomische Voraussetzung darzustellen. Aufgrund des positiven Nachweises von *Malassezia* spp. bei 64 von 130 Männern ist die Vermutung zu äußern, dass es sich bei dieser Hefegattung möglicherweise um einen Bestandteil der residenten Mikroflora der Glans penis handeln könnte, die, da lipidhaltige Nährböden routinemäßig nicht verwandt werden, in der Routinediagnostik bisher weitgehend übersehen wurden. Die Diagnose erfolgt in der Routinediagnostik durch ein Abklatschpräparat der Glans penis und des inneren Vorhautblattes oder durch Abstrich insbesondere aus dem Sulcus coronarius auf Sabouraud- oder Kimmig-Agar (Schiefer 1998), welcher zur Anzucht von *Malassezia*-Hefen nicht geeignet ist.

Bedeutsam ist dies, da es neben den klassischen infektiösen Hauterkrankungen, wie z.B. Impetigo, Erysipel und Trichophytien, noch eine Vielzahl von Hautleiden gibt, die zwar nicht primär durch Infektionen entstehen, aber dennoch wahrscheinlich durch ortsständige

Bakterien und Pilze unterhalten werden. Für viele dieser Hauterkrankungen ist die genaue pathogenetische Rolle der Standortflora allerdings bis dato noch nicht gesichert.

In Zukunft könnte zur Verifizierung der Annahme „*Malassezia*-Hefen als residente Mikroflora der Glans penis“ eine zusätzliche Anwendung von lipidhaltigen Nährböden in der Routinediagnostik stattfinden.

Die insgesamt geringere Befunddichte bei den *Malassezia*-Hefen gegenüber den *Candida*-Hefen ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass *Malassezia*-Hefen nicht gleichmäßig im Bereich der Glans verteilt sind, sondern sich besonders im Bereich der Mündungen der Tyson'schen Drüsen, also am Sulcus finden. Dies ist vergleichbar ihrer Lokalisation, insbesondere innerhalb der sogenannten Talgdrüsenfollikelheiten (pilosebaceous units) am behaarten Integument (Leeming et Notman 1989). Auf der Haut sind die Talgdrüsen normalerweise mit Haarfollikeln assoziiert und bilden die sogenannten Talgdrüsenfollikelheiten (pilosebaceous units) (Hymann 1963), die den Lebensraum für einen Teil der Mikroflora darstellen (Wolff 1976), wobei ganz oben in der Nähe der Follikelmündung (extrazellulär zwischen den Hornzelllamellen im Akroinfundibulum) die lipophilen *Malassezia (Pityrosporum)*-Hefen liegen, die sich dort in charakteristischer Kettenform anordnen und in einer amorphen Masse aus Sebum, zellulären Fragmenten, Lipidzellen und Hornzellen liegen. In der Mitte des Akroinfundibulums finden sich die aeroben *Mikrokokken* und in der Tiefe des Infrainfundibulums die anaerob wachsenden *Corynebakterien* (Wolff 1976). In Übergangsregionen zwischen Haut und Schleimhaut und gelegentlich auch auf normaler Haut treten die Talgdrüsen unabhängig von Haarfollikeln auf (Hymann 1963), wie dies im Bereich der Glans penis und des Präputialraumes der Fall ist.

Möglicherweise spielt daher auch die Probenentnahmetechnik für die Nachweishäufigkeit und die Nachweisdichte eine Rolle. Eventuell wären bei geänderter Abnahmetechnik die Ergebnisse der Nachweishäufigkeit und Nachweisdichte von *Malassezia*-Hefen noch höher, da sich die freien Talgdrüsen (Tyson'sche Drüsen) besonders im Sulcus coronarius befinden. Als geänderte Abnahmetechnik wäre ein Abstrich direkt aus dem Sulcus coronarius mittels eines in steriler Kochsalzlösung angefeuchteten Wattetupfers zu empfehlen.

Zirkumzision hat einen Einfluß auf Art und Häufigkeit genitaler Dermatosen (Parker 1983, Fakjian 1990, Mallon et al. 2000). Am häufigsten wird die sogenannte Beschneidung aus religiösen oder stammesgeschichtlichen Gründen durchgeführt. Schätzungen zufolge ist annähernd jeder sechste Mann auf der Welt zirkumzidiert (Williams 1993). Religiöse

Beschneidung wird auch von den Muslimen praktiziert, und zwar im Alter zwischen 4 und 13 Jahren (Williams 1993). Medizinische Indikation für eine Zirkumzision stellt eine Phimosis und eine rezidivierende Balanitis dar (Robarts 1962, Stenram 1986, Holman 1999). In einer Untersuchung durch Mallon et al. waren 72 % der Patienten mit Psoriasis nichtzirkumzidiert, 69 % der Lichen planus Patienten sowie 72 % der Patienten mit seborrhoischem Ekzem gehörten in die Gruppe der Nichtzirkumzidierten. Insgesamt war der Großteil der Männer mit penilen Infektionen nichtzirkumzidiert (84 %). Dies lässt vermuten, dass Zirkumzision bezogen auf inflammatorische Dermatosen einen protektiven Effekt hat und eine nicht beschnittene Vorhaut Inflammation möglicherweise unterstützt durch ein Köbnerphänomen oder etwa die Anwesenheit von noch nicht identifizierten Agentien, die eine Inflammation induzieren können (Mallon 2000). Die Inzidenz von *Candida*-Trägern im Bereich des Penis und bei Patienten mit symptomatischer Balanitis ist bei Nichtzirkumzidierten höher (Rodin 1976, Davidson 1977, Odds 1988).

In der vorliegenden Untersuchung waren überwiegend nicht zirkumzidierte Männer eingeschlossen, so dass bezüglich der Häufigkeit und Vorkommen von *Malassezia* spp. bei zirkumzidierten Männern nur eingeschränkt Aussagen getroffen werden können. Bei den zirkumzidierten Probanden der Untersuchung handelte es sich um muslimische Männer, die aufgrund ihrer Religion zirkumzidiert worden sind. Von diesen 13 Männern ließen sich bei 8 (61,5 %) *Malassezia*-Hefen nachweisen, während bei nur einem *Candida*-Hefen nachweisbar waren. Bei den 117 nichtzirkumzidierten Männern ließen sich bei 56 (47,9 %) *Malassezia*-Hefen nachweisen, während bei 26 Probanden (22,2 % der Nichtzirkumzidierten) *Candida*-Hefen nachweisbar waren. Zu werten ist dies als Hinweis, dass bei zirkumzidierten Männern - im Gegensatz zu den Verhältnissen bei *Candida* spp. - die Besiedlung mit *Malassezia*-Hefen einen höheren Prozentsatz als bei Nichtzirkumzidierten erreichen könnte. *Malassezia*-Hefen weisen ein Wachstumsoptimum im sauren Milieu auf (etwa pH 5,5), entsprechend ihrer Anpassung an das physiologische Milieu trockener, aber lipidreicher Hautregionen (Guého et Guillot 1996). Bei bedeckter Glans penis nimmt die Feuchtigkeit zu, der pH erreicht neutrale bis alkalische Werte. Gleichzeitig nimmt der relative Anteil der normalen Hautflora ab und potentiell pathogene Feuchtkeime nehmen ihren Platz ein (Neubert 1979). Hingegen finden sich nicht zur normalen Hautflora gehörende Keime bei unbedeckter Glans nur spärlich. Dies mag eine Folge des trockenen Milieus und des niedrigen pH, schließlich auch der unbehinderten Epithelabschilferung sein, welche Anflugkeime bald wieder eliminiert. Die Bakterienflora bei unbedeckter Glans, also bei Zirkumzidierten, entspricht daher der des übrigen Integumentes (Neubert 1979) und ist insbesondere mit einem Anstieg der

mikroaerophilen *Propionibakterien* verbunden. *P. acnes* fand sich in einer Untersuchung von 61 zirkumzidierten vs. 149 nicht zirkumzidierten gesunden Probanden in 82 vs. 65,8 % unter der Bakterienflora der Glans (Neubert 1979). Dieses Phänomen könnte auch für die in einer gleichen ökologischen Nische lebenden *Malassezia*-Hefen (Marples 1965, Hay 1998) zutreffen.

Weiterhin wurden in der vorliegenden Untersuchung auch keine Kinder und weitgehend keine Männer in höherem Lebensalter untersucht. Aber auch hier könnten vergleichsweise Daten herangezogen werden, die für *Propionibakterien* ermittelt wurden (Neubert 1979).

So wurden die Kolonisierungsraten bei 43 Kindern zwischen 2 und 11 Jahren mit 32,5 %, bei 137 Personen zwischen 12 und 60 Jahren mit 79,6 % und bei 30 Männern über 60 Jahren mit 83,3 % ermittelt. Bei Männern im höheren Lebensalter finden sich lipophile *Propionibakterien* noch ebenso reichlich wie in der mittleren Altersgruppe. Andererseits scheint auch hier, wie bei der Besiedlung des übrigen Integuments, insbesondere die Aktivitätszunahme der Talgdrüsen mit der Pubertät für die Ausbildung der lipophilen Hautflora eine Rolle zu spielen (Hay 1998). Es wäre daher auch für präpubertäre Kinder eine geringere Kolonisierungsrate für *Malassezia*-Hefen im Bereich des Genitale zu erwarten.

Die Standortflora des Präputialraumes weist insgesamt eine Komplexität und Inkonstanz auf. Es besteht eine Abhängigkeit von Alter, persönlicher Hygiene und sexueller Aktivität (Schiefer 1998). Die anatomischen Voraussetzungen, nämlich das Aufeinanderliegen der Haut von Glans penis und Präputium, dadurch die behinderte Wärmeabgabe, Flüssigkeitsverdunstung und Epithelabstoßung prädestinieren zum einen zum Auftreten von Balanoposthiden, zum anderen gehören angeborene oder erworbene Phimosen, Nachträufeln von Harn, Reiben von Kleidung, nasse Windeln bei Säuglingen, Urethritiden, Harninkontinenz bei älteren Männern, Traumen, chemische Reizung (z.B. Jod), Kontakt mit infiziertem Vaginalsekret, Hauterkrankungen (Erythema multiforme, Lichen ruber planus, Psoriasis), Arzneimittel (Phenolphthalein, Antipyrin, Chinin) sowie mangelhafte oder übertriebene Hygiene zu den prädisponierenden Faktoren. Balanoposthitis kommt bei Menschen, die sich täglich reinigen sowie bei Zirkumzidierten weniger häufig vor.

Auch Stoffwechselerkrankungen, bei denen der Reizstoffe enthaltende Harn unter der Vorhaut retiniert wird, wie die Glucose beim schlecht eingestellten Diabetiker oder auch Urate bei der Hyperurikämie (Gicht), Oxalate oder Ammoniumsalze in ungewöhnlich hoher Konzentration kommen als Ursachen für Balanoposthiden in Betracht, ebenso wie eine reduzierte Immunabwehr bei HIV-Infektion. Dies führt zu der Annahme, dass sich bei diesen

Patienten zusätzlich Pilze, wie beispielsweise aus der Gattung *Malassezia* auf das prädisponierende Milieu als symptomatische Infektion aufpfropfen könnten. So wäre zu vermuten, dass aufgrund der Smegmaretention, die auch Fette enthält, ein optimaler Lebensraum für *Malassezia*-Hefen vorherrschen könnte, hinzu kommen Faktoren wie feuchtwarmes Milieu und Störungen der epithelialen Integrität.

Möglicherweise könnte bei Diabetikern eine insgesamt höhere Besiedlung mit *Malassezia*-Hefen gefunden werden, insbesondere von der in der Untersuchung nur 2 mal isolierten Art *Malassezia pachydermatis*, da diese Art als einzige der *Malassezia* spp. Kohlenhydrate assimiliert. *M. pachydermatis* kann Glucose, Mannit, Glycerol und Sorbitol assimilieren (Slooff 1970). Chronischer Diabetes mellitus fördert infolge erhöhten Zuckergehaltes der Haut besonders in intertriginösen Räumen, wie dies auch im Bereich des äußeren Genitale des Mannes der Fall ist, entzündliche Reaktionen. Kommt mangelhafte Hygiene hinzu, so kann es leicht zu einer Intertrigo kommen, wobei eine *Malassezia*-Intertrigo durchaus auftreten kann, aber als eine Rarität in der Literatur beschrieben wird (Kato 1988).

Bei Patienten mit Diabetes mellitus kommt die Balanitis bei nicht zirkumzidierten Männern mit einer höheren Prävalenz von 34,8 % vor, während bei Nichtzirkumzidierten ohne Diabetes die Prävalenz bei 12,5 % liegt und bei zirkumzidierten Nichtdiabetikern bei 2,3 % in einer randomisierten Studie, die 1990 gemacht wurde (Fakjian 1990).

Diabetiker sind für Candidosen prädisponiert, da Glucose die Sprosszellbildung von *C. albicans* fördert, möglicherweise ist auch die zellvermittelte Immunität und Phagozytose von *C. albicans* bei Diabetikern reduziert (Mendling 2001).

Bei nachgewiesener *Candida albicans* Infektion kommt Nystatin (Polyen), Ketoconazol (Imidazolderivat), Bifonazol, Ticonazol (beides Imidazole), Ciclopiroxolamin oder Amphotericin B (Polyen) in Puder (gleichzeitig austrocknend) oder Cremeform (Öl-in-Wasser-Emulsionen) 3 mal täglich bis zur Heilung der Haut zur Anwendung. Dieses Vorgehen würde auch bei *Malassezia* spp. Wirksamkeit aufweisen, vor allem die Anwendung von Ketoconazol. Vorteilhaft ist diese Kenntnis, sofern *Malassezia* spp. bei penilen Läsionen eine Rolle spielen im Sinne einer eventuell gleichzeitig bestehenden Pityriasis der Glans penis oder auch bei einer vorliegenden Doppelbesiedlung von *Candida* spp. und *Malassezia* spp.. Bei *Malassezia*-Infektionen zeigen vor allem Imidazolderivate beste Ergebnisse in der Wirksamkeit. Alternativ kommen bei *Malassezia*-Infektionen antimykotisch wirksame Substanzen anderer Wirkstoffgruppen (Allylamine, Hydroxypyridone) zur Anwendung. *M. furfur* scheint am wenigsten empfindlich gegenüber Antimykotika (in vitro) zu sein, wohingegen *M. sympodialis*, *M. slooffiae*, *M. globosa* und *M. obtusa* deutlich empfindlicher

sind mit übereinstimmend niedrigeren MHK-Werten gegenüber Ketoconazol, Econazol und Miconazol. Klinisch bedeutsame Resistenzen sind bisher aber nicht beschrieben. Möglicherweise wäre aber in Zukunft die Kenntnis der jeweiligen *Malassezia* Spezies Voraussetzung für eine adäquate antimykotische Therapie (Hammer 2000, Nenoff 2001).

Physiologisch könnten *Malassezia*-Hefen eine Bedeutung bei der Infektabwehr und der Aufrechterhaltung der Barrierefunktion haben, insbesondere über die Produktion freier Fettsäuren sowie von Azelainsäure (C<sub>9</sub> Dicarbonsäure: HOOC-(CH<sub>2</sub>)-COOH). Diese haben Einflüsse auf das bakterielle Wachstum und üben eine antimikrobielle Wirkung gegenüber *Propionibakterien* und *Staphylokokken* aus (Leeming 1986).

Für *Malassezia*-Hefen wurde die Hydrolyse von Triacylglyceriden unter Freisetzung von Glycerol und freien Fettsäuren (Weary 1970, Caprilli 1973) nachgewiesen. Ein in vivo Nachweis einer Lipase-Aktivität ist bisher mittels Techniken der Histochemie und Elektronenmikroskopie nicht gelungen. Catterall et al. konnten 1978 lediglich mit in-vitro Untersuchungen eine membranständige extrazelluläre Lipase darstellen.

Da *Malassezia* spp. auch eine Rolle bei Hauterkrankungen spielen (Hay 1998), sind sie vielleicht bedeutsam bei bislang nicht erklärbaren Erkrankungen der Glans penis. Hierunter wäre das seborrhoische Genitalekzem zu nennen, wie auch die Psoriasis im Bereich der Glans penis, letztere möglicherweise als Ausdruck eines Köbner Phänomens, welches auch beim genitalen Lichen planus auftritt. Die Psoriasis und der Lichen planus stellen die häufigsten systemischen Dermatosen dar, die optional eine genitale Manifestation machen (Köhn 1999). Eine experimentelle Auslösung der Psoriasis durch *Malassezia*-Extrakte wurde bereits beschrieben (Lober 1982, Nenoff 2001), auch kommt die Psoriasis in Assoziation mit der seborrhoischen Dermatitis vor. Bei der Psoriasis im Bereich des Genitaltraktes ist die Diagnostik von Anfang an auch durch eine Zirkumzision beeinflusst, denn ein Psoriasisplaque auf der freiliegenden Glans penis ist leichter zu erkennen als bei bedeckter Glans, wo sie ihre charakteristische Schuppung verliert (Johnson 1993). Psoriatische Läsionen der Genitalregion treten in allen Altersgruppen von Kindern bis zu Senioren auf (Köhn 1999). Die genitale Psoriasis scheint allerdings häufiger bei Männern als bei Frauen aufzutreten (Farber 1992). Die Häufigkeit des isolierten Befalls von Psoriasis im Bereich des äußeren Genitale, wobei bei Frauen auch die Vulva betroffen sein kann, scheint allerdings niedrig zu sein. Allerdings ist diese Region wohl häufig mit dem Befall anderer Regionen vergesellschaftet. Möglicherweise lassen sich durch Anzüchtung in lipidhaltigen Spezialmedien bei Patienten

mit vermuteter Psoriasis und Befall des äußeren Genitale *Malassezia*-Hefen nachweisen, so dass dies therapeutisch genutzt werden kann, auch gerade in den Fällen, die eine pustuläre Psoriasis limitiert auf den Penis aufzeigen (Quan 1996). In der Literatur wurde von einem Fall berichtet, bei dem eine Patientin eine Psoriasis guttata auf den Läsionen einer *Malassezia*-Follikulitis entwickelte. Dabei wurde vermutet, dass die Transformation der Pusteln in die Psoriasis guttata das Köbner Phänomen darstellen könnte (Elewski 1990).

Die Psoriasis ist neben epidermaler Hyperproliferation, Desquamation und Inflammation auch begleitet von Störungen der epidermalen Lipidsynthese. In psoriatischem Gewebe konnte ein erhöhter Gehalt an freier Arachidonsäure und an Metabolisierungsprodukten sowohl der Cyclooxygenase als auch der Lipoxygenase gezeigt werden (Schneider 1997). Dies zeigt Parallelitäten zu erhöhten Spiegeln an Lipoperoxiden und ihren Derivaten, die in läsionaler, nicht jedoch in nicht-läsionaler Haut von Patienten mit Pityriasis versicolor nachgewiesen wurden (Nazarro 1986). So wurde eine Bedeutung bei der Erkrankung vermutet, doch konnte das Enzym in vivo bisher nicht dargestellt werden.

Vor allen Dingen sollte an eine pathogenetische Beteiligung von *Malassezia*-Hefen in der diagnostischen Beurteilung des Krankheitsbildes gedacht werden.

Auch bei Patienten mit atopischem Ekzem ist bei Entzündungen der Haut sowie des Genitalbereiches an eine Besiedlung mit *Malassezia*-Hefen zu denken. Spezifisches IgE gegen *Malassezia furfur* findet sich bei einem Großteil der Patienten mit atopischem Ekzem (Kieffer 1990, Wessels 1991, Nordvall 1992, Nenoff 2001). In Hautbiopsien von Patienten war an der Stelle des Patch-Testes eine Infiltration von CD4+-T-Zellen und Eosinophilen erkennbar, außerdem war die Expression von ICAM-1- und HLA-DR hochreguliert. *Malassezia* kann demzufolge als Trigger über diese Mechanismen bei sensibilisierten Patienten mit atopischem Ekzem die Ekzemreaktion auslösen oder zumindest unterhalten (Nenoff 2001). Auch periphere mononukleäre Blutzellen zeigen eine höhere Proliferationsrate als Antwort auf *Malassezia*, wie auch die TH2-assoziierte Zytokinproduktion von *Malassezia*-stimulierten T-Zell-Linien höher war bei Patienten mit atopischem Ekzem, was bei der Unterhaltung der Hautentzündung eine Rolle spielt (Tengvall 2000).

Beim seborrhoischen Genitalekzem spielen *Malassezia*-Hefen möglicherweise auch eine Rolle. Die Frage, ob *Malassezia* das ätiologische Agens ist, wird nach wie vor kontrovers diskutiert. Die klinische Beobachtung, dass das seborrhoische Ekzem sehr gut auf eine antimykotische Therapie - besonders mit dem Imidazolderivat Ketoconazol - anspricht,

unterstützt die Annahme einer solchen kausalen Beziehung des lipophilen Sprosspilzes *Malassezia* mit dieser chronisch-entzündlichen Dermatose. Die Heilung unter einer topischen Ketoconazoltherapie geht immer mit einer Eliminierung von *Malassezia* einher (Nenoff 2001).

Bezüglich *Malassezia*-Hefen konnte eine Arbeitsgruppe eine klare Beziehung zwischen der Erkrankung und der Anzahl der *Malassezia*-Sprosszellen herstellen (Heng 1990), andere zeigten keine Korrelation der Erkrankung mit vermehrter Besiedlung (Mc Ginley 1975, Clift 1988, Bergbrant 1989, Ashbee 1993), doch kommt es zu einer zugunsten von *Malassezia* spp. veränderten Zusammensetzung der Mikroflora (Mc Ginley 1975). Erhöhte Spiegel von Serum IgG-Antikörpern gegen *Malassezia* wurden beim seborrhoischen Ekzem beschrieben, allerdings geht man heute davon aus, dass die Titer von untergeordneter Bedeutung sind (Nenoff 2001).

Die seborrhoische Dermatitis ist auch etabliert als möglicher Marker einer frühen HIV-Infektion (Berger 1988, Alessi 1988, Nenoff 2001), Exazerbationen können als Progression der HIV-Infektion gesehen werden. Es ist also wichtig, eine mögliche HIV-Infektion bei jedem Patienten mit einer seborrhoischen Dermatitis egal welcher Pathogenese in Betracht zu ziehen, insbesondere auch bei Hochrisikogruppen wie Homosexuellen, Drogenabhängigen und Menschen mit hoher Promiskuität (Burton 1998). Eine Assoziation, wenn nicht sogar eine ursächliche Rolle von *Malassezia*-Hefen, wird bei der seborrhoischen Dermatitis angenommen. Die Patienten zeigten zum Teil eine klinische Antwort, indem sie auf Ketoconazolgabe mit einer Abnahme der *Malassezia*-Zellen pro Keratinozyt reagierten (Groisser 1989). Die Stärke der klinischen Symptomatik verhält sich hierbei proportional zur Menge der Hefezellen, die an den Keratinozyten adhärieren (Groisser 1989).

Patienten mit *Pityrosporum*-Follikulitis (*Malassezia*-Follikulitis), deren Erkrankung mit einem seborrhoischen Ekzem assoziiert war, zeigten in einer Studie signifikant höhere Titer von Serum IgG-Antikörper gegen *Pityrosporum orbiculare* als die Kontrollen, außerdem konnte eine erhöhte Lipoxygenaseaktivität bei *Pityrosporum* spp. aufgezeigt werden. Es kommt zu einer Follikulitis, indem die Hefen im Follikel freie Fettsäuren produzieren und das folliculäre Ostium blockieren (Goodfield 1987, Hill 1990), außerdem wird der inflammatorische Prozess durch die Aktivierung des alternativen Komplementweges in Gang gehalten.

Wird bei einem Patienten die äußerst selten auftretende Tysonitis klinisch diagnostiziert und der Nachweis von *Gonokokken* oder *E.coli* fällt negativ aus, so wäre es sinnvoll, die

Diagnostik hinsichtlich *Malassezia*-Hefen auszuweiten und Kulturen auf mDixon- oder Leeming-Notman-Agar anzulegen. Denn in der vorliegenden Untersuchung konnten bei nahezu jedem zweiten Probanden *Malassezia* spp. im Bereich des Sulcus coronarius nachgewiesen werden und aus den Tyson'schen Drüsen stammen die Lipide, die *Malassezia*-Hefen zum Wachstum benötigen.

Patienten, die Dauerkatheterträger sind und die häufig Infektionen aufweisen, ohne dass eine bakterielle Ursache nachgewiesen werden kann, könnten auch auf *Malassezia*-Besiedlung hin untersucht werden. Es ist anzunehmen, dass die Hefen den Kunststoff von Dauerkathetern besiedeln könnten, gerade auch wenn der Patient im gesunden Zustand Träger von *Malassezia* spp. im Bereich des äußeren Genitale war. Die Vermutung, zumindest der Möglichkeit einer Besiedlung rührt von der Adhärenz von *M. furfur* und *M. pachydermatis* am Kunststoff intravenöser Dauerkatheter (Powell 1987). Die Adhärenz zwischen den Pilzzellen geschieht unter Beteiligung der kapselähnlichen Außenlamelle von *Malassezia* spp. und den Hornzellen (bei der Pityriasis versicolor), was als unspezifische Adhärenz gedeutet wurde (Mittag 1995). Diese Form der Adhärenz wurde auch an anderen Materialien beobachtet, wie beispielsweise am Kunststoff intravenöser Katheter (Powell 1987). Von der Besiedlung des Katheters aus kann es schließlich zu einer systemischen Infektion (pulmonale Infiltrate, Fieber, Thrombozytopenie, Aktivierung Gerinnungssystem) kommen im Sinne einer Sepsis oder bei der Besiedlung von Dauerkathetern zu einer Urosepsis vor allem bei immunsupprimierten Patienten. Dies kann vor allem in Zukunft ein Problem darstellen, da die Zahl der Immunsupprimierten auch weiter steigen wird, sei es in der Zahl der Patienten mit HIV-Erkrankungen, Tumorerkrankungen, Zustand nach Transplantationen oder Patienten mit Kortikoidanwendungen z.B. im Rahmen rheumatischer Erkrankungen. Der Keimnachweis erfolgt durch Untersuchung der Katheterspitze, wobei die Erkrankung nach Entfernen des Katheters ausheilt, eine antimykotische Therapie ist nicht unbedingt erforderlich.

Nachdem bei den untersuchten Männern in dieser Untersuchung nahezu jeder zweite Proband eine *Malassezia*-Besiedlung aufwies, stellte sich die Frage, ob auch bei den Frauen im Bereich des hinteren Vaginalgewölbes eine Besiedlung gefunden werden könnte und ob das dort vorherrschende Milieu überhaupt eine Besiedlung mit den Hefen zulassen würde.

In der an 100 Frauen (Alter 16-83 Jahren) durchgeführten Untersuchung konnten mittels vaginal-Abstrich aus dem hinteren Scheidengewölbe keine *Malassezia*-Hefen nachgewiesen

werden. Zum einen liegt der vaginale pH (~4,5) unterhalb des Wachstumsoptimums der *M.*-Hefen (Wachstumsoptimum bei pH 5,5 – 6,5), zum anderen scheinen hier ausreichende Lipidquellen nicht zur Verfügung zu stehen. Die humane Vagina hat keine Drüsen. Die Hauptkomponenten der Vaginalflüssigkeit bestehen aus Transsudat der Vaginalwand, abgeschilferten Epithelzellen, zervikalem Schleim, Flüssigkeit aus dem oberen Genitaltrakt (Endometrium, Tuben) und Leukozyten. Auch die Sekretion der Bartholini- und Skene-Drüsen am Introitus vaginae und nahe der Urethralöffnung tragen zur Vaginalflüssigkeit bei, die in einer durchschnittlichen Menge von 1-3g/24h bei Frauen im reproduktionsfähigem Alter gebildet wird (Moghissi 1979). Die hauptsächlichen organischen Komponenten der Vaginalflüssigkeit sind Proteine (Aminosäuren, Albumin), Immunglobuline IgA (weniger als 10mg/dL) und IgG (weniger als 1-270 mg/dL), Carbohydrate, Harnstoff und Fettsäuren, außerdem organische und anorganische Salze. Die im Scheideninhalt nachgewiesenen Aminosäuren, Lipide und Phospholipide zeigen keine wesentlichen qualitativen Unterschiede zwischen Schwangeren und Nichtschwangeren mit und ohne Sprosspilzbefall. Trotzdem nimmt man an, dass die Aminosäuren, Lipide und Phospholipide ebenso wie Glucose einen Einfluss auf die Vermehrung von Sprosspilzen in der Vagina und die Manifestation einer Mykose ausüben können. Aminosäuren können als wachstumsbegünstigende Faktoren eine Rolle spielen, da viele Mikroorganismen, unter ihnen auch Sprosspilze, Aminosäuren für ihren Stoffwechsel bzw. für ihr Wachstum benötigen. Auch aufgrund des sehr hohen Gehalts an verschiedenen Lipiden bestehen günstige Bedingungen für Sprosspilze, da Sprosspilze eine hohe Lipaseaktivität aufweisen (Neumann 1984). Gerade diese genannten Punkte treffen auch für die *Malassezia*-Hefen zu, welche (*M. furfur*) ausreichendes Wachstum bei allen Aminosäuren mit Ausnahme von Cystein zeigen (Mayser und Imkampe 1998) und vor allem obligat lipidabhängig sind. Möglicherweise spielen also noch andere unbekanntere Faktoren eine Rolle, die ein Wachstum im Bereich des Genitale der Frau verhindern. Eine Rolle bei der Verhinderung einer Besiedlung könnten die Immunglobuline spielen. Im Vaginalsekret sind die Mengen an IgG relativ hoch nach der Menstruation, sie nehmen ab während der ovulatorischen Phase und bleiben relativ niedrig während der Lutealphase (Usala 1989), so dass auch die Phase des Zyklus eine Rolle bei der Besiedlung von Mikroorganismen spielt. Die größte Produktion organischer Fettsäuren entstammt den metabolischen Produkten der bakteriellen Flora. Die Menge organischer Fettsäuren variiert von Frau zu Frau. Normalerweise steigt die Produktion in der Mitte des Zyklus und fällt ab während der Lutealphase. Frauen, die orale Kontrazeptiva benutzen, zeigen keine zyklischen Veränderungen hinsichtlich der Produktion, insgesamt haben sie einen niedrigeren Anteil an

freien Fettsäuren im Vaginalsekret (Michael 1974), so dass auch dies eine Rolle spielen könnte, warum keine *Malassezia*-Hefen nachgewiesen werden konnten.

Mädchen vor der Menarche zeigen eine hohe Kolonisation der Vagina mit *Bacteroides fragiles*, *Bacteroides melaninogenicus* und *Clostridium perfringens*. Begründet ist dies in einem erhöhten, in neutralem Bereich liegenden pH-Wert, da kurz nach der Geburt das Vaginalepithel dünn und atrophisch wird mit niedrigen Glykogenspiegeln, gleiches gilt für menopausale Frauen, die keine Hormone einnehmen. So wäre zu vermuten, dass es aufgrund der erhöhten bakterieller Besiedlung mit erhöhter Produktion von freien Fettsäuren zumindest möglich wäre, dass sich *Malassezia*-Hefen als residente Mikroflora oder auch als Kommensalen oder Symbionten mit anderen Mikroorganismen im Bereich des Genitale befinden könnten.

Möglicherweise spielt auch der Zeitpunkt der Abstrichentnahme eine Rolle, also der Zyklustag am Tag der Entnahme, da bei prämenopausalen Frauen der höchste Grad an bakterieller Adhärenz in den ersten Tagen des Menstruationszyklus nachzuweisen ist, während sie sich nach dem erwarteten Tag der Ovulation reduzieren (Schaeffer et al. 1979). Auch die Menge und die Zusammensetzung verändert sich während des normalen Menstruationszyklus (Huggins 1981).

Bei 5 % der Frauen konnten in der Untersuchung Schimmelpilze nachgewiesen werden. Dies kann zur falschen Annahme führen, es handele sich um Schimmelpilze im Vaginalsekret. Erst der wiederholte Nachweis würde eine sichere Diagnose erlauben, ansonsten sind die Schimmelpilze zur Anflugflora zu rechnen. Bei 2 % der Frauen konnten *Saccharomyces cerevisiae* aus dem Vaginalsekret asymptomatischer Frauen kultiviert und identifiziert werden. Diese zählen zu den perfekten Hefen, die unter bestimmten Bedingungen durch Zellverschmelzung mehrere intrazelluläre Askosporen als Fruchtformen bilden können (askosporogene Hefen). Sie sind im allgemeinen nicht pathogen. Ihr Nachweis ist somit kein behandlungsbedürftiger Befund (Mendling 2001).

Bei insgesamt 28 % der Frauen fand sich in der Untersuchungsgruppe der vorliegenden Untersuchung eine Besiedlung mit *Candida*-Hefen, wobei bei 22 % *C. albicans* und bei 8 % *C. glabrata* (2 % Doppelbesiedlungen) nachgewiesen werden konnten. Hierbei beeinflussen zahlreiche Faktoren die Zusammensetzung der mikrobiellen Flora, so die Anatomie (Fisteln, Vaginalprolaps), der Glykogengehalt der Epithelzellen, Hormone (Alter, Menstruationszyklus, Schwangerschaft, Entbindung, hormonelle Behandlung), Trauma (Operationen, Entbindung), Malignität und Strahlentherapie, antimikrobielle Behandlung, Immunsuppression, Erkrankungen wie Diabetes mellitus und Urämie, Kontrazeptiva (orale,

Diaphragma), Hygiene, Fremdkörper (Tampongebrauch), Menstruationsblutung, Lochien, Geschlechtsverkehr und die Adhärenz von Bakterien auf vaginalen Epithelzellen (Paavonen 1983, Weström 1983). In Zukunft ist vor einer gezielten Diagnostik somit eine genaue Befragung der Patientin zu fordern. Diese zahlreichen Faktoren stellen zum Teil auch das Problem bei der standardisierten Untersuchung der Frauen bei der Infektionsdiagnostik dar. Vermutlich wäre es bei einer unspezifischen Vaginitis ohne Erregernachweis im Bereich des Introitus vaginae (Bereich der Mündung der Bartholini- und Skene-Drüsen) sinnvoll, einen zusätzlichen Abstrich zu entnehmen und diesen auf lipidhaltigem Nährboden im Hinblick auf *Malassezia*-Diagnostik zu kultivieren, da wie oben schon erwähnt zahlreiche Faktoren die mikrobielle Flora der Vagina ebenso wie die Zusammensetzung des Vaginalsekretes beeinflussen, obwohl die meisten sogenannten unspezifischen Vaginitiden wohl durch *Gardnerella vaginalis* ausgelöst werden (Gardner 1983). Sinnvoll könnte dies vor allem bei Frauen mit chronischen Pilzinfektionen sein (Nyirjesy 1994). In der Literatur wurde von einer *Malassezia furfur*-Follikulitis der Vulva einer immunsupprimierten Frau bei rheumatoider Arthritis berichtet, die sich als squamöse epitheliale Hyperplasie maskierte (Nyirjesy 1994). So ist vor allem bei Immunsupprimierten an eine Besiedlung mit *Malassezia furfur* bei Auftreten einer Vulvafollikulitis zu denken, außerdem kann *Malassezia furfur* selten auch einmal im Rahmen der Pityriasis versicolor die Vulva befallen (Kaufmann 1989). *M. furfur* könnte auch für ähnliche Symptome verantwortlich sein, die bei Frauen mit vulvären Dystrophien auftreten (Nyirjesy 1994). Obwohl dieser Fall sehr unwahrscheinlich scheint, sollten Gynäkologen und Dermatologen an das mögliche Vorkommen von *Malassezia* spp. bei Patientinnen mit herabgesetzter Immunität denken. Gerade in Zukunft ist mit einer wachsenden Anzahl von immunsupprimierten Frauen zu rechnen. Das Risiko für opportunistische Pilzinfektionen, so auch für symptomatische *Malassezia*-Infektionen wird ansteigen, so dass ein derartig beschriebener Fall häufiger auftreten könnte und es vor allem darauf ankommt, an die Möglichkeit der Besiedlung mit *Malassezia* spp. zu denken. Trotz des in dieser Untersuchung negativen Ergebnisses bezüglich *Malassezia*-Hefen ist eine Besiedlung der Vagina oder des Introitus dennoch nicht sicher auszuschließen, da das Vaginalsekret freie Fettsäuren, den nötigen Nährstoff für *Malassezia*-Hefen enthält. Außerdem kann es bei Frauen auch zu einer pH-Wert Verschiebung von pH 4,5 in Richtung alkalisch kommen, was dem Wachstumsoptimum von *Malassezia*-Hefen eher entspricht. Dies ist vor allem bei alten Frauen der Fall, bei denen die *Laktobazillen* vermindert sind. So wäre möglicherweise bei diesen Frauen, die sich unbehandelt vorstellen und die Symptomatik einer

unspezifischen Vaginitis aufzeigen, zumindest an eine symptomatische *Malassezia* Besiedlung zu denken.

In dieser Untersuchung lässt sich, da keinerlei *Malassezia*-Hefen bei Frauen isoliert werden konnten, somit auch kein Hinweis bezüglich einer sexuellen Übertragung der Hefe finden, obwohl bei nahezu der Hälfte der untersuchten Männer die Hefe im Bereich des Sulcus coronarius nachgewiesen werden konnte und so die Vermutung einer Zugehörigkeit zur residenten Flora des äußeren männlichen Genitale naheliegt. Bei der Untersuchung der Frauen blieb allerdings unklar, ob gerade ihr Partner zu den mit *Malassezia*-Hefen besiedelten Männern gehört und wie häufig die Frauen mit ihrem Partner Geschlechtsverkehr hatten.

Obwohl das Ejakulat einen puffernden Effekt auf den sauren physiologischen pH-Wert der Vagina im Sinne einer pH-Verschiebung nach alkalisch hat, also in Richtung pH-Optimum für *Malassezia*-Hefen, könnten wohl noch andere Faktoren eine Rolle spielen, die möglicherweise hemmend auf eine Besiedlung wirken, wie hormonelle Einflüsse, das Alter der Frau, hormonale Kontrazeption, der Zeitpunkt im ovariellen Zyklus, die bakterielle Besiedlung der Vagina und die Zusammensetzung der Vaginalflüssigkeit zum Zeitpunkt des Koitus.

Die eingangs gestellten Fragen sind daher wie folgt zu beantworten:

1. Es konnte eine Besiedlung mit *Malassezia*-Hefen in 49,2 % der untersuchten Probanden nachgewiesen werden. Auf mDixon-Agar wurden 47,6 % der Isolate als *M. sympodialis* identifiziert, 42,8 % als *M. globosa*, 4,8 % als *M. pachydermatis* und 2,4% als *M. furfur*. *Candida* spp. konnten in 20,8 % nachgewiesen werden. In der untersuchten Gruppe der Frauen konnten keine *Malassezia* spp. nachgewiesen werden.
2. Isolationshäufigkeit und Spektrum waren bei der Anzüchtung von *Malassezia*-Hefen zwischen den beiden Nährböden mDixon- und Leeming-Notman-Agar vergleichbar.
3. Die geringere Befunddichte von *Malassezia*-Hefen gegenüber *Candida*-Hefen weist möglicherweise auf eine ungleichmäßige Verteilung der Hefen im Bereich der Glans penis hin, so dass durch geänderte Abnahmetechnik (Abstrich aus dem Sulcus coronarius) die Nachweisdichte noch höher sein könnte, da sich die freien Talgdrüsen vor allem im Sulcus coronarius befinden.
4. Bei zirkumzidierten Männern könnte nach dieser Untersuchung zu urteilen die Besiedlung mit *Malassezia*-Hefen einen höheren Anteil als bei nichtzirkumzidierten Männern erreichen. Gegensätzliche Ergebnisse existieren für *Candida*-Hefen. Zu

prüfen wäre diese Annahme in Zukunft an einer höheren Fallzahl in der Routinediagnostik unter Verwendung der beiden lipophilen Nährmedien.

Insgesamt ist der Großteil der Männer mit penilen Läsionen nichtzirkumzidiert.

5. Aufgrund des prädisponierenden lipophilen Milieus im Bereich des Präputialraumes existiert für *Malassezia*-Hefen ein optimaler Lebensraum, der unter Einwirkung zusätzlicher Faktoren wie feuchtwarmem Milieu und Störung epithelialer Integrität zur Infektion im Sinne einer Balanoposthitis führen könnte. Vor allem schlecht eingestellte Diabetiker sind hiervon gefährdet. Therapeutisch ist die Kenntnis der jeweiligen *Malassezia* Spezies nutzbar.
6. Über die Produktion von freien Fettsäuren sowie Dicarbonsäuren könnten *Malassezia*-Hefen bedeutsam sein in der Infektabwehr und der Aufrechterhaltung der Barrierefunktion im Bereich des äußeren Genitale beim Mann.
7. *Malassezia*-Hefen sind aufgrund des Nachweises im Bereich des äußeren Genitale bei gesunden Probanden möglicherweise auch bedeutsam bei bislang nicht erklärbaren Krankheiten der Glans penis, so bei der Psoriasis im Bereich des äußeren Genitale, dem seborrhoischen Genitalexzem, der Tysonitis, der Follikulitis, dem Lichen planus und dem atopischen Ekzem im Genitalbereich. Zu prüfen wäre diese Annahme in Zukunft auch über eine zusätzliche Diagnostik mittels lipophiler Nährmedien bei Patienten mit entsprechender Symptomatik.
8. 28 % der Frauen wiesen wie zu erwarten eine Besiedlung mit *Candida* spp. auf. Der vaginale pH liegt mit 4,5 unterhalb des Wachstumsoptimums für *Malassezia*-Hefen, zum anderen scheinen ausreichende Lipidquellen nicht vorhanden zu sein, desweiteren könnten noch andere Faktoren, so z.B. das Alter, eine hormonelle Kontrazeption, der Zeitpunkt im ovariellen Zyklus, die vaginale bakterielle Besiedlung u.a. eine Rolle spielen, die hemmend auf eine Besiedlung mit *Malassezia*-Hefen wirken.

## 5 Zusammenfassung

Hefen der Gattung *Malassezia* (*M. furfur*, *M. sympodialis*, *M. globosa*, *M. obtusa*, *M. restricta*, *M. slooffiae*, *M. pachydermatis*) sind ubiquitär auftretende Hefen. Mit Ausnahme von *M. pachydermatis* besteht eine Abhängigkeit von der Versorgung mit längerkettigen Fettsäuren, so dass *Malassezia*-Hefen zu den wenigen obligat lipophilen Mikroorganismen gehören. Aufgrund ihrer Lipophilie lassen sie sich besonders in den talgdrüsenreichen Körperarealen nachweisen. Da sich im Bereich der Glans penis freie Talgdrüsen befinden, sogenannte Tyson'sche Drüsen, stellte sich die Frage, ob auch hier *Malassezia*-Hefen regelhaft anzutreffen sind.

Zu Erkrankungen der Vulva durch *Malassezia* spp. gibt es Einzelberichte, ebenso hinsichtlich des Auftretens der Pityriasis versicolor, der häufigsten durch *Malassezia* verursachten Erkrankung, im Bereich der Glans penis oder des Penisschaftes.

Über eine Mitbeteiligung der *Malassezia*-Hefen an der residenten Flora der Glans penis bzw. des Präputialraumes wurden bisher in der Literatur keine Angaben gemacht, ebenso fehlte eine Aussage bezüglich des Vorkommens im Bereich des hinteren Vaginalgewölbes. In dieser Arbeit wurden Vorkommen, Häufigkeit und Artenspektrum von lipophilen *Malassezia*-Hefen bei gesunden, in der Mehrzahl nicht zirkumzidierten Männern untersucht. Dabei sollten auch die Standardisoliationsmedien zur Anzucht von *Malassezia*-Hefen, mDixon und Leeming-Notman-Agar, hinsichtlich Anzuchthäufigkeit und isoliertem Erregerspektrum verglichen werden. Ebenso sollte auf die mögliche Beteiligung der Hefen auf genitale Erkrankungen eingegangen werden.

Nach 10 tägiger Inkubation bei 32°C wurden die *Malassezia*- und *Candida*-Hefen nach mikromorphologischen und biochemischen Kriterien differenziert.

Nahezu jeder zweite Proband der untersuchten 130 Männer wies eine Besiedlung des Präputialraumes mit *Malassezia* spp. auf, wobei am häufigsten die Spezies *M. sympodialis* und *M. globosa* nachgewiesen werden konnten, die auch zu den häufigsten *Malassezia*-Hefen auf der übrigen menschlichen Haut gehören. *M. pachydermatis* konnte nur in 2 Fällen nachgewiesen werden. *M. furfur*, der möglicherweise bedeutsam in der Pathogenese der Pityriasis versicolor ist, wurde nur bei einem Probanden isoliert.

Aufgrund der Untersuchung ist anzunehmen, dass *Malassezia*-Hefen möglicherweise Bestandteil der residenten Mikroflora der Haut im Bereich der Glans penis sind. Der Nachweis der *Malassezia*-Hefen im Bereich der Glans penis könnte die Bedeutung an der Mitbeteiligung zahlreicher Erkrankungen des äußeren Genitale vermuten lassen, so etwa bei

der Balanoposthitis, dem seborrhoischen Genitalekzem, der Psoriasis im Bereich der Glans, dem Lichen planus im Bereich des Genitale, der Follikulitis, der Tysonitis und dem atopischen Ekzem mit Beteiligung des äußeren Genitale.

Bezüglich der Anzüchtung auf den beiden zur Anzüchtung von *Malassezia*-Hefen empfohlenen Standardmedien konnten keine auffälligen Unterschiede in der Differenzierung nachgewiesen werden. Die erhaltenen Werte für die Kolonisation mit *Candida* spp. sind mit denen der Literatur vergleichbar, ebenso das Spektrum der differenzierten *Candida*-Hefen.

Um die Rolle von *M. spp.* in der Physiologie und Pathophysiologie der Genitalregion zu bestimmen, ist die Anwendung von lipidhaltigem Medium bei Männern mit rezidivierenden und potentiell infektiösen Erkrankungen des äußeren Genitale zu empfehlen. Wird wie in dieser Untersuchung auf Cycloheximid verzichtet, so kann auch die *Candida*-Flora miterfasst werden. Eine Diagnosestellung durch Pilznachweis ist unerlässlich, wenn nicht unnötige Therapieversager in Kauf genommen werden sollen, da alleine schon die Standortflora des Präputialraumes eine hohe Komplexität und Inkonstanz aufweist. Die exakte Diagnose ist also die Voraussetzung für eine gezielte Behandlung.

Bei 100 Frauen konnten mittels Vaginalabstrich aus dem hinteren Scheidengewölbe keine *Malassezia*-Hefen nachgewiesen werden, wobei wohl auch der vaginale pH (~ 4,5) eine Rolle spielt, da er unterhalb des Wachstumsoptimums von *Malassezia*-Hefen liegt, zum anderen mögen andere lokale Faktoren eine Rolle spielen.

28 % der Frauen wiesen, wie schon aus früheren Studien zu erwarten war, eine *Candida*-Besiedlung auf, wobei der größte Anteil (> 2/3) wie ebenfalls zu erwarten auf *C. albicans* fiel. Bei Frauen mit klinischer Symptomatik im Bereich der Vulva, beispielsweise bei vulvären Dystrophien oder einer unklaren Schuppung im Bereich der Vulva ist aber zumindest an die Möglichkeit einer *Malassezia* Besiedlung im Sinne einer Pityriasis versicolor oder einer *Malassezia*-Follikulitis zu denken.

## 6 Summary

Yeasts of the genus *Malassezia* (*M. furfur*, *M. sympodialis*, *M. globosa*, *M. obtusa*, *M. restricta*, *M. slooffiae*, *M. pachydermatis*) are ubiquitous. With the exception of *M. pachydermatis* they depend on the supply of long-chain fatty acids and thus belong to the few lipophilic microorganisms. *Malassezia* yeasts primarily occur in seborrheic areas of the body. This raised the question whether they could be demonstrated in the area of glans penis which is rich in free sebaceous glands (Tyson's glands).

Only single observations of vulvar diseases caused by *Malassezia* spp. have been reported as well as of pityriasis versicolor – the most *Malassezia* associated disease- at the glans penis and penile sheath.

From the literature there has been no evidence so far that *Malassezia* yeasts are part of the resident flora of the glans penis and the preputial space and in the area of the posterior vaginal fornix. The present study was aimed at evaluating these questions and investigated the existence, frequency and spectrum of lipophilic *Malassezia* yeasts within the area of the glans penis and preputial space in healthy men, most of whom were uncircumcised. At the same time, the standard isolation media for culture of *Malassezia*, modified Dixon- (mDixon) and Leeming-Notman-agar, were compared in terms of culture frequency and pathogenic spectrum. Furthermore, the possible involvement of these yeasts in genital diseases was discussed.

After 10 days of incubation at 32°C *Malassezia* and *Candida* yeasts were differentiated by micromorphological and biochemical criteria.

Colonization with *Malassezia* spp. was found in nearly 50 % of the 130 men investigated, *M. sympodialis* and *M. globosa* being most frequent which are also most common in other human areas. *M. pachydermatis* was detected in two cases. *M. furfur* which may be significant in the pathogenesis of pityriasis versicolor was isolated in only one man.

From the study it can be assumed that *Malassezia* yeasts are part of the resident microflora of the glans penis. Their demonstration in the area of the glans penis might suggest that they are also involved in numerous genital diseases, e.g. balanoposthitis, seborrheic eczema, psoriasis of the glans, lichen planus, folliculitis, tysonitis and atopic eczema.

No significant differences were found between the two standard media used for culture of *Malassezia* yeasts. The results for *Candida* colonization in the preputial area of healthy men were comparable to those reported in the literature; the same applies to the spectrum.

To determine the role of *Malassezia* spp. in the physiology and pathophysiology of the genital region, lipid-containing media are recommended for men with recurrent and potentially

infectious diseases of the external genitals. Omitting cycloheximide, as in the present study, will also allow the detection of *Candida* species. As the resident flora of the preputial space is highly complex and inconstant, the diagnosis should be confirmed by demonstration of fungus to avoid unnecessary treatment failures. An exact diagnosis is the basis for an objective therapy.

A study in 100 women failed to detect *Malassezia* yeasts in smears from the posterior vaginal fornix. The vaginal pH (~4,5) is lower than that required for optimal growth of *Malassezia* and perhaps other local factors are responsible for the negative culture result.

As could be expected from previous studies, colonization with *Candida* was found in 28 % of the women, with *Candida albicans* predominating in more than 2/3. However, in women showing clinical symptoms in the vulvar area, e.g. vulvar dystrophy or undefined scaling, the possibility of *Malassezia* colonization leading to pityriasis versicolor or *Malassezia* folliculitis should always be kept in mind.

## 7 Literaturverzeichnis

- Abraham, Z., Berderly, A., Lefler, E.: *Pityrosporum orbiculare* in children. Mykosen 30 : 581-583, 1987
- Ackerman, A.B., Kligman, A.M.: Some observations on dandruff. J. Soc. Cosm. Chem. 20: 81-101, 1969
- Adamson, H.G.: Pityriasis versicolor with subsequent leucodermic patches. Brit. J. Derm. 61 : 322-323, 1949
- Alessi, E., Cusini, M., Zerboni, R.: Mucocutaneous manifestations of patients infected with AIDS. J Am Acad Dermatol, 19: 290-7, 1988
- Aljabre, S.H., Sheikh, Y.H.: Penile involvement in pityriasis versicolor. Trop. Geogr. Med. 46 : 184-5, 1994
- Alken, C.E., Dix, V.W., Goodwin, W.E., Wildbolz, E.: Die Haut des Penis und das Praeputium, die Tysonschen Drüsen. In: Handbuch der Urologie, Band I, Springer Verlag, pp. 385-388, 1969
- Ashbee, H.R., Ingham, E., Holland, K.T., Cunliffe, W.J.: The carriage of *Malassezia furfur* serovars A,B and C in patients with pityriasis versicolor, seborrhoeic dermatitis and controls. Br J Dermatol 129: 533-540, 1993
- Balus, L., Grigoriu, D. : Pityriasis versicolor. Alsbach, Cilag GmbH, 1982
- Bandhaya, M.: The distribution of *Malassezia furfur* and *Malassezia pachydermatis* on normal human skin. Southeast Asean J. Trop. Med. Public Health 24 : 343-346, 1993
- Barber, G.R., Brown, A.E., Kiehn, T.E., Edwards, F.F., Armstrong, D.: Catheter-related *Malassezia furfur* fungemia in immunocompromised patients. Am. J. Med. 95: 365-370, 1993
- Bavidge, K.J.N.: Gonococcal infections of the penis. Br. J. Ven. Dis. 52: 66, 1976
- Bean, S.F.: Acneiform eruption from tetracycline. Br. J. Derm. 85: 585-586, 1971
- Bélec, L., Testa, J., Bouree, P.: Pityriasis versicolor in the Central African Republic: a randomized study of 144 cases. J. Med. Vet. Mycol. 29 : 323-329, 1991
- Benham, R.W.: Cultural characteristics of *Pityrosporum ovale* – a lipophilic fungus. Nutrient and growth requirements. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 46: 176-178, 1941
- Bergbrant, I.M., Faergemann, J.: Seborrhoeic dermatitis and *Pityrosporum ovale*: a cultural and immunological study. Acta Derm. Venereol. 69: 332-335, 1989

- Bergbrant, I.M., Igerud, A., Nordin, P.: An improved method for quantitative culture of *Malassezia furfur*. Res. Microbiol. 143: 731-735, 1992
- Berger, R.S.: Cutaneous manifestations of early human immunodeficiency virus exposure. J Am Acad Dermatol, 19: 298-303, 1988
- Berretty, P., Neumann, M., Hausman, R., Dingemans, K.: Follikulitis, verursacht durch *Pityrosporum*. Der Hautarzt 31: 613-615, 1980
- Bertini, N., Kuttin, E.S., Beemer, A.M.: Cytopathology of nipple discharge due to *Pityrosporum orbiculare* and cocci in an elderly woman. Acta Cytol. 19: 38-42, 1975
- Bettley, F.R., Marten, R.H.: Unilateral seborrhoeic dermatitis following a nerve lesion. Arch Dermatol, 73: 110-115, 1956
- Beurey, J., Valot, J., Moigeolle, J.M., Weber, M., Salpetier, P.: Papillomatose confluent et reticulée de Gougerot et Carteaud associée au pityriasis versicolor. Bull. Soc. Franc. Derm. Syph. 72: 416-418, 1965
- Blumenthal, H.: Tinea versicolor of the penis. Arch Derm . 103 : 461-462 , 1971
- Bond, R., Lloyd, D.H.: Factors affecting the adherence of *Malassezia pachydermatis* to canine corneocytes in vitro. Veterinary Dermatology 7: 49-56, 1996
- Bond, R., Anthony, R.M., Dodd, M., Lloyd, D.H.: Isolation of *Malassezia sympodialis* from feline skin. J. Med. Vet. Mycol. 34: 145-147, 1996
- Bond, R., Howell, S.A., Haywood, P.J., Lloyd, D.H.: Isolation of *Malassezia sympodialis* and *Malassezia globosa* from healthy pet cats. Vet. Rec. 141: 200-201, 1997
- Borelli, D.: Pityriasis versicolor por *Malassezia ovalis*. Mycopathologica 89 : 147-153, 1985
- Borelli, D., Jacobs, P.H., Nall, L.: Tinea versicolor: epidemiological, clinical and therapeutic aspects. J. Am. Acad. Dermatol. 25 : 300-305, 1991
- Bowie, W.R., Pollock, H.M., Forsyth, P.S., Floyd, J.F., Alexander, E.R., Wang, S.P., Holmes, K.K.: Bacteriology of the urethra in normal men and men with nongonococcal urethritis . J. clin. Microbiol. 6 : 482-488, 1977
- Brown, J.C., Williams, J.D.: A histochemical study of the preputial glands of male laboratory rat and mouse. Acta. Anat. 81(2): 270-85, 1972
- Burton, J.L., Pye, R.J. : Seborrhoea is not a feature of seborrhoeic dermatitis. Br. Med. J. 286: 1169-70, 1983

- Burton, J.L., Holden, C.A.: In: Champion, R.H., Burton, J.L., Ebling, F.J.G., eds. Textbook of Dermatology , 6th edn., Vol. 1. Oxford: Blackwell Scientific Publications pp. 638-643, 1998
- Caprilli, F., Mercantini, R., Nazarro Porro, M., Passi, S., Tonolo, A.: Studies of the genus *Pityrosporum* in submerged culture. Mycopath. Mycol. Appl. 51: 171-189, 1973
- Catterall, M.D., Ward, M.W., Jacobs, P.: A reappraisal of the role of *Pityrosporum orbiculare* in pityriasis versicolor and the significance of extracellular lipase. J. Invest. Derm. 71: 398-401, 1978
- Chetty, G.N., Kamalam, A., Thambiah, A.S.: Pityriasis versicolor – a study of 200 cases in a tropical skin clinic. Mykosen. 22 : 234-246, 1979
- Clift, D.C., Dodd, H.J., Kirby, J.D.T., Midgley, G., Noble, W.C.: Seborrhoeic dermatitis and malignancy. An investigation of the skin flora. Acta Derm. Venereol. 68: 48-52, 1988
- Cowley, N.C., Farr, P.M., Shuster, S.: The permissive effect of sebum in seborrhoeic dermatitis: an explanation for the rash in neurological disorders. Br. J. Derm. 122: 71-76, 1990
- Cowper, W.: Myotomia Reformata: Or, a new administration of all the muscles are explained the errors of former anatomists concerning them confuted, and several muscles not hitherto taken notice of described; to which are subjoin'd a graphical description of the bones; and other anatomical observations, London: Sam. Smith and Ben. Walford, pp. 228-229, 1694
- Crespo, Erchiga V., Ojeda, Martos A., Casana, Vera A., Crespo, Erichaga A., Sanchez, Fajardo F.: *Malassezia globosa* as the causative agent of pityriasis versicolor. Br. J. Derm. 143: 799-803, 2000
- Cunningham, A.C., Leeming, J.P., Ingham, E., Gowland, G.: Differentiation of three serovars of *M. furfur*. J. Appl. Bacteriol. 68: 439-446, 1990
- Daneshvar, S.A., Hashimoto, K.: An unusual presentation of tinea versicolor in an immunosuppressed patient. J. Am. Acad. Derm. 17 : 305-305, 1987
- Davidson, F.: Yeast and circumcision in the male. Br. J. Vener. Dis. 53: 121-2, 1977
- Dekio, S., Jidoi, J.: Tinea of the glans penis. Dermatologica. 178: 112-4, 1989
- Dittrich, O., Rieth, H.: Pilzinfektion des Menschen. Teil4: Genitalmykosen. Med. Mo. Pharm. 15. Jahrgang. Heft 9. pp. 273-5, 1992

- Doekes, G., van Ieperen van Dijk, A.G.: Allergens of *Pityrosporum ovale* and *Candida albicans*. I. Cross reactivity of IgE-binding components. *Allergy* 48: 394-400, 1993 (a)
- Doekes, G., Kaal, M.J., van Ieperen van Dijk, A.G.: Allergens of *Pityrosporum ovale* and *Candida albicans*. II. Physicochemical characterisation. *Allergy* 48: 391-393, 1993 (b)
- Drewnowski, G.: *Mikrobiologisches Praktikum*, 4. Aufl., Berlin – Heidelberg – New York, Springer-Verlag, 1983
- Duverne, M.M.J., Volle, H., Gogue, Y., Perret, J.: Papillomatose confluent et reticulée de Gougerot et Carteaud avec présence d'un pityriasis versicolor. *73* : 335-338, 1966
- Edwards, S.: Balanitis and balanoposthitis: a review. *Genitourin. Med.* 72(3): 155-9, 1996
- Eisenstat, B.A., Wormser, E.P.: Seborrhoeic dermatitis and butterfly rash in AIDS. *N Engl J Med*, 311: 198, 1984
- El-Benhawi, M.O., El-Tonsy, M.H.: Gonococcal urethritis with bilateral tysonitis. *Cutis* 41: 425-6, 1988
- Elewski, B.: Does *Pityrosporum ovale* have a role in psoriasis? *Arch. Dermatol.* 126: 1111-1112, 1990
- El-Hefnawi, H., El-Gothamy, Z., Refai, M.: Studies on pityriasis versicolor in Egypt. II. Clinical and therapeutic. *Mykosen* 14 : 483 – 490, 1971
- English, J.C., Laws, R.A., Keough, G.C., Wilde, J.L., Foley, J.P., Elston, D.M.: Dermatoses of the glans penis and prepuce. *J. Am. Acad. Dermatol.* 37: 1-24, 1997
- Escala, J.M., Rickwood, A.M.: Balanitis. *Br. J. Urol.* 63: 196-197, 1989
- Faergemann, J., Fredriksson, T.: Age incidence of *Pityrosporum orbiculare* on human skin. *Acta Derm. Venereol.* 60 : 531-33, 1980
- Faergemann, J., Meinhof, W.: *Pityrosporum*-Folliculitis. *Akt. Dermatol.* 14: 400-403, 1988
- Faergemann, J.: *Pityrosporum ovale* and skin diseases. *Keio. J. Med.* 42: 91-94, 1993
- Faergemann, J.: *Pityrosporum* infections. *J. Am. Acad. Dermatol.* 31: 18-20, 1994
- Faergemann, J.: *Pityrosporum* yeasts-what's new? *Mycoses.* 40 (Suppl.1): 29-32, 1997
- Fakjian, N., Hunter, S., Cole, G.W., Miller, J.: An argument for circumcision. Prevention of balanitis in the adult. *Arch. Dermatol.* 126(8): 1046-7, 1990

- Farber, E.M., Nall, L.: Genital psoriasis. *Cutis*. 50: 263-266, 1992
- Fiumara, N.J.: Gonococcal tysonitis. *Br. J. Ven. Dis.* 53: 145, 1977
- Fritsch, P.: *Dermatologie 2. Auflage*; Berlin-Heidelberg-New York: Springer-Verlag, 1991
- Gaffoor, P.M.: Gonococcal tysonitis. *Postgrad. Med. J.* 62: 869-70, 1986
- Gaffoor, P.M., Bayyari, K.H.: Gonococcal tysonitis: an unusual penile infection. *Indian J. Derm.* 34: 90-1, 1989
- Gardner, H.L.: „Non-specific” vaginitis: A non-entity. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 40 : 7-10, 1983
- Gedek, B.: Die autochtone Flora von Kleintieren als Reservoir humanpathogener Pilze. *Mykosen* 20: 47-50, 1977
- Gloor, M., Wiegand, I., Friedrich, H.C.: Über Menge und Zusammensetzung der Hautoberflächenlipide beim sogenannten seborrhoischen Ekzem. *Derm. Mschr.* 158: 759-64, 1972
- Götz, H.: Pityriasis versicolor. In: *Die Pilzkrankheiten der Haut durch Dermatophyten. Handbuch für Haut- und Geschlechtskrankheiten* (Hrsg.: A. Marchionini, H. Götz). Erg. Bd. IV/3, Heidelberg: Springer Verlag, 352-360, 1962
- Goncalves, A.P.: Unusual locations of pityriasis versicolor with particular reference to scalp lesions. *Derm. Tropical.* 2: 211-216, 1963
- Goodfield, M.J.D., Saihan, E.M., Crowley J.: Experimental folliculitis with *Pityrosporum orbiculare*: the influence of host response. *Acta Derm Venereol* 67: 445-7, 1987
- Goslen, J.B., Kobayashi, G.S.: Mycological infection. In : Fitzpatrick, T.B., Eisen, A.Z., Wolff, K., Freedberg, I.M., Austen, K.F., eds. *Dermatology in general medicine*. Vol II, 3rd ed. New York: McGraw Hill Company, 2193-248, 1987
- Gray, H.: *Anatomy of the Human Body*, ed 28, Goss, C.M. (ed.), Philadelphia: Lea & Febiger, Publishers p. 1309, 1966
- Groisser, D., Bottone, E.J., Lebwohl, M.: Association of *Pityrosporum orbiculare* (*Malassezia furfur*) with seborrheic dermatitis in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *J Am Acad Dermatol*, 20: 770-3, 1989
- Guého, E., Midgley, G., Guillot, J.: The genus *Malassezia* with description of four new species. *Antonie van Leeuwenhoek* 69: 337-355, 1996

- Guého, E., Simmons, R.B., Pruitt, W.R., Meyer, S.A., Ahearn, D.G.: Association of *Malassezia pachydermatis* with systemic infections of humans. *J. Clin. Microbiol.* 25: 1789-90, 1987
- Guillot, J., Guého, E., Chevrier, G., Chermette, G.: Epidemiological analysis of *Malassezia pachydermatis* isolates by partial sequencing of the large subunit ribosomal RNA. *Res. Vet. Sci.* 62: 22-25, 1997
- Guillot, J., Bond, R.: *Malassezia pachydermatis*: a review. *Medical mycology* 37: 295-306, 1999
- Guillot, J., Guého, E., Lesourd, M., Midgley, G., Chévrier, G., Dupont, B.: Identification of *Malassezia* species, A practical approach. *J. Mycol. Med.* 6: 103-110, 1996
- Gustafson, B.A.: Otitis externa in the dog. A bacteriological and experimental study. Royal veterinary College of Sweden, Stockholm, 1955
- Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T.V.: In vitro activities of ketoconazole, econazole, miconazole, and Melaleuca alternifolia (tea tree) oil against *Malassezia* species. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 44: 467-469, 2000
- Hay, R.J., Roberts, S.O.B., Mackenzie, D.W.R.: Mycology. In: Champion, R.H., Burton, J.L., Ebling, F.J.G., eds. *Textbook of dermatology*. Vol.2, 5<sup>th</sup> ed. Oxford / London: Blackwell Scientific. 1127 – 1216, 1993
- Hay, R.J., Roberts, S.O.B., Mackenzie, D.W.R.: Pityriasis versicolor. In: *Textbook of Dermatology* (Champion, R.H., Burton, J.L., Ebling, F.J.G., eds) 6<sup>th</sup> edn., Vol.2. Oxford: Blackwell Scientific Publications: pp. 1286-1290, 1998
- Heng, M.C.Y., Henderson, C.L., Barker, D.C., Haberfelde, G.: Correlation of *Pityrosporum ovale* density with clinical severity of seborrhoeic dermatitis assessed by a simplified technique. *J. Am. Acad. Dermatol.* 23: 82-86, 1990
- Henle, J.: *Handbuch der systematischen Anatomie, Band 2: Eingeweidelehre*, 2. Auflage, Braunschweig: F. Vieweg & Sohn, 1873
- Heymann, W.R., Wolf, D.J.: *Malassezia* folliculitis occurring during pregnancy. *Int. J. Dermatol.* 25: 49-51, 1986
- Hickey, C.S.: *Pityrosporum ovale*: A cause of blepharitis. *J. Maine Med. Ass.* 41: 135, 1950
- Hill, M.K., Goodfield, M.J., Rodgers, F.G. et al.: Skin surface electron microscopy of *Pityrosporum* folliculitis. *Arch Dermatol.* 126: 181-4, 1990

- Hodl, S., Kresbach, H.: Balanitis and differential diagnosis. Wien. Med. Wochenschr. 136(18): 457-61, 1986
- Holman, J.R., Stuessi, K.A.: Adult circumcision. Am. Fam. Physician. 59(6): 1514-1518, 1999
- Huggins, G.R., Preti, G.: Vaginal odors and secretions. Clin. Obstet. Gynecol. 24: 355, 1981
- Hymann, A.B., Brownstein, M.H.: Tyson's „glands“. Arch. Dermatol. 99: 31-36, 1969
- Hyman, A.B., Guiducci, A.A.: „Ectopic sebaceous glands“, in Montagna, W., Ellis, R.A., Silver, A.F. (eds.) Advances in biology of skin, vol 4, The sebaceous glands, London: Pergamon Press pp. 78-93, 1963
- Imwidthaya, S., Thianprasit, M.: *Malassezia furfur* in dermatological patients and clinically normal persons. J. Med. Assoc. Thai. 71 : 145-149, 1988
- Ingham, E., Cunningham, A.C.: *Malassezia furfur*. J. Vet. Med. Mycol. 31: 265-288, 1993
- Ive, F.A.: The male genitalia. In: Champion, R.H., Burton, J.L., Ebling, F.J.G., eds. Textbook of Dermatology , 6th edn., Vol. 4. Oxford: Blackwell Scientific Publications pp. 3181-3204, 1998
- Jacinto-Jamora, S., Thamesis, J., Katigbak, M.L.: *Pityrosporum* folliculitis in the Philippines: diagnosis, prevalence and management. J. Am. Acad. Dermatol. 24: 693-696, 1991
- Johnson, R.A.: Diseases and disorders of the anogenitalia of males. In: Dermatology in General Medicine. Fitzpatrick, T.B., Eisen, A.Z., Wolff, K., Freedberg, I.M., Austen, K.F. (eds.). McGraw-Hill Inc., New York, pp. 1417-1462, 1993
- Katoh, T., Kagawa, S., Ishimoto, M.: *Malassezia* intertrigo, a new clinical entity. Mycoses 31: 558-62, 1988
- Kaufmann, R.H., Friedrich, E.G. Jr, Gardner, H.L.: Benign diseases of the vulva and vagina. 3<sup>rd</sup> ed. Chicago: Yearbook Medical Publishers, p. 351, 1989
- Kaur, I., Handa, S., Kumar, B.: Tinea versicolor. Involvement of unusual sites. Int. J. Dermatol. 35 : 604-5, 1996
- Kieffer, M., Bergbrant, I.M., Faergemann, J., Jemec, G.B.E., Ottevanger, V., Stahl Skov, P., Svevgaard, E.: Immune reactions to *Pityrosporum ovale* in adult patients with atopic and seborrhoeic dermatitis. J. Am. Acad. Dermatol. 22: 739-42, 1990

- Kinbara, T., Saito, T., Kano, C., Kobayashi, H.: Microscopical survey of *Pityrosporum* flora clinically normal skin. Jap. J. Med. Mycol. 21 : 151-156, 1980
- Kligman, A.M., Mc Ginley, K.J., Leyden, J.J.: The nature of dandruff. J. Soc. Cosmet. Chem. 27: 111-139, 1976
- Koch, H.H., Pimsler, M.: Evaluation of Uvitex 2B: a non specific fluorescent stain for detecting and identifying fungi and algae in tissue. Lab. Med. 18: 603-606, 1987
- Köhn, F.M., Plieger-Bruss, S., Schill, W.B.: Penile skin diseases. Andrologia. 31 (Suppl. 1): 3-11, 1999
- Kölliker: Über die Tyson'schen Drüsen des Menschen, Verh. Anat. Ges. 11 : 7-8 (Aug 15), 1897
- Korting, H.C., Loferer, S., Hamm, N.: The detergent scrub method for quantitative determination of *Malassezia furfur* on chest and back skin: comparative evaluation of three different media. Mycoses 34: 267-271, 1991
- Krompecher, S.T.: Die Histologie der Absonderung des Smegma praeputii. Anatom. Anz. Ergänzungsheft 75: 170-176, 1932
- Kumar, A., Kossard, S.: Band-like sebaceous hyperplasia over the penis. Australas. J. Dermatol., 40(1): 47-8, 1999
- Kwon-Chung, K.J., Bennett, J.E.: Medical Mycology. Philadelphia: Lea & Febiger, pp.170-182, 1992
- Labows, J.N., McGinley, K.J., Leyden, J.J.: Characteristic gamma-lactone odor production of the genus *Pityrosporum*. Appl. Environm. Microbiol. 38: 412-415, 1975
- La Touche, C.J.: Scrotal dermatophytosis : an insufficiently documented aspect of tinea cruris. Br. J. Derm. 79 : 339- 44, 1967
- Leeming, J.P. , Holland, K.T. , Bojar, R.A.: The in vitro antimicrobial effect of azelaic acid. Br. J. Derm. 115: 551-556, 1986
- Leeming, J.P. , Notman, F.H.: Improved methods for isolation and enumeration of *Malassezia furfur* from human skin. J. Appl. Bacteriol. 25: 2017-2019, 1987
- Leeming, J.P., Notman, F.H., Holland, K.T.: The distribution and ecology of *Malassezia furfur* and cutaneous bacteria on human skin. J. Appl. Bacteriol. 67: 47-52, 1989
- Leyden, J.J., Mc Ginley, K.J., Kligman, A.M.: Role of microorganisms in dandruff. Arch. Derm. 112: 333-338, 1976

- Lober, C.W. , Belew, P.W. , Rosenberg, E.W. , Bale, G.: Patch test with killed sonicated microflora in patients with psoriasis. Arch. Dermatol. 118: 322-325, 1982
- Lodder J: Genus 3. *Pityrosporum* Sabouraud. In: Kreger-van Rij, N.J.W. (Ed.) The yeasts. A taxonomic study. 1<sup>st</sup> edn., Amsterdam: North Holland Publishing Company, pp. 440-445, 1952
- Lopes, J.O., Alves, S.H., Benevenga, J.P., Encarnacao, C.S.: Nodular infection of the hair caused by *Malassezia furfur*. Mycopathologia 125: 149-52, 1994
- Malassez, L.: Note sur le champignon de la pélade. Arch. Physiol. II, 1: 203-212, 1874
- Mallon, E., Hawkins, D., Dineen, M., Francis, N., Fearfield, L., Newson, R., Bunker, C. : Circumcision and genital dermatoses. Arch. Dermatol. 136: 350-354, 2000
- Marcon, M.J., Powell, D.A.: Epidmiology, diagnosis and management of *Malassezia furfur* systemic infections. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 7: 161-75, 1987
- Marcon, M.J., Powell, D.A.: Human infections due to *Malassezia* spp. Clin. Microbiol. Rev. 5: 101-119, 1992
- Marks, R.: Seborrhoeic eczema in adults. In: Eczema. Martin Dunitz Verlag, pp. 132-134, 1992
- Maronpot, R.R., Ulland, B., Mennear, J.: Transplantation characteristics, morphologic features, and interpretation of preputial gland neoplasia in the Fischer 344 rat. Environ. Health. Perspect. 77: 33-6, 1988
- Marples, M.J.: The incidence of certain skin diseases in Western Samoa: A preliminary survey. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 44 : 319-332, 1950
- Marples, M.J.: The genus *Pityrosporum*. In: The Ecology of the Human Skin. Springfield: C.C. Thomas, pp. 408-422, 1965
- Marples, R.R., McGinley, K.J., Mills, O.H.: Microbiology of comedones in acne vulgaris. J. Invest. Derm. 60: 80-83, 1973
- Marples, R.R., Leyden, J.J., Stewart, R. N., Mills, O.H., Kligman, A.M.: The skin microflora in acne vulgaris. J. Invest. Derm. 62: 37-41, 1974
- Martin-Scott, I.: The *Pityrosporum ovale*. Brit. J. Derm. 64: 257-273, 1952
- Mayser, P.: Mycotic infections of the penis. Andrologia 31 (suppl.1): 13-16, 1999
- Mayser, P., Gründer, K.: Die Wertigkeit mykologischer Nativdiagnostik *Pityrosporum* induzierter bzw. –aggravierter Dermatosen. Hautnah myk 2: 68-72, 1992

- Mayser, P., Haze, P., Papavassilis, C., Pickel, M., Gründer, K., Guého E.: Differentiation of *Malassezia* spp. - selectivity of cremophor EL, castor oil and ricinoleic acid for *Malassezia furfur*. Br. J. Derm. 137: 208-213, 1997 (a)
- Mayser, P., Haze, P., Pickel, M.: Polidocanol sensitivity – a possible tool in the differentiation of *Malassezia* spp. Mycoses 40: 391-395, 1997 (b)
- Mayser, P., Wille, G., Imkampe, A., Thoma, W., Arnold, N., Monsees, T.: Synthesis of fluorochromes and pigments in *Malassezia furfur* by use of tryptophane as single nitrogen source. Mycoses 41: 265-271, 1998
- Mayser, P., Imkampe, A., Winkeler, M., Papavassilis, C.: Growth requirements and nitrogen metabolism of *Malassezia furfur*. Arch. Dermatol. Res. 290: 277-282, 1998
- Mc Ginley, K.J., Leyden, L.J., Marples, R.R., Kligman, A.M.: Quantitative microbiology of the scalp in non-dandruff, dandruff and seborrheic dermatitis. J. Invest. Dermatol. 64: 401-405, 1975
- Mc Kay, M.: Cutaneous manifestations of candidiasis. Am. J. Obstet. Gynecol. 158 (4): 991-3, 1988
- Meinhof, W., Braun-Falco, O.: Über lipotrophe Hefen auf der menschlichen Haut und deren Bedarf an bestimmten Fettsäuren. Fette Seifen Anstrichmittel 69: 861-4, 1967
- Mendling, W.: Vaginalmykosen. In: Tietz, H.J., Mendling, W. Haut- und Vaginalmykosen. Berlin, Wien: Blackwell Wiss.-Verl., pp. 63-119, 2001
- Michael, R.P., Bonsall, R.W., Warner, P.: Human vaginal secretions: Volatile fatty acid content. Science 186: 1217, 1974
- Mickelsen, P.A., Viano-Paulson, M.C., Stevens, D.A., Diaz, P.: Clinical and microbiological features of infection with *M. pachydermatis* in high-risk infants. J. Infect. Dis. 157: 1163-1168, 1988
- Midgley, G.: The diversity of *Pityrosporum (Malassezia)* yeasts in vivo and in vitro. Mycopathologia 106 : 143-53, 1989
- Midgley, G.: Morphological variation in *Malassezia* and its significance in pityriasis versicolor. In: Dimorphic Fungi in Biology and Medicine, Vanden Bossche H et al. (eds.), New York: Plenum Press, pp. 267-77, 1993
- Mittag, H.: Fine-structural investigation of *Malassezia furfur*. II. The envelope of the yeast cells. Mycoses 38: 3-21, 1995
- Mittag, H.: Aspects of the morphology of *Malassezia*-associated diseases. Mycoses 39 (suppl. 1): 13-19, 1996

- Moghissi, K.S.: Vaginal fluid constituents. In: Beller, F.K., Schumacher, F.B. (Ed.) The biology of the fluids of the female genital tract. Elsevier North Holland, Inc. Amsterdam, p.13, 1979
- Molander, U., Milsom, I., Ekelund, P., Mellstrom, D., Eriksson, O.: Effect of oral oestriol on vaginal flora and cytology and urogenital symptoms in the post menopause. *Maturitas* 12: 113-120, 1990
- Murakami, S.: Isolation and analysis of squalene alcohols from rat preputial glands. *Kobe. J. Med. Sci.* 19(2): 91-110, 1973
- Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C., Tenover, R.H. (eds.): Manual of clinical microbiology, 6 th edition. American Society for Microbiology. Washington, D.C. ASM Press. 1995
- Myers, J.W., Smith, R.J., Youngberg, G., Gitierrez, C., Berk, S.L.: Fungemia due to *Malassezia furfur* in patients without the usual risk factors. *Clin. Infect. Dis.* 14: 620-621, 1992
- Nakabayashi, A., Sei, Y., Guillot, J.: Identification of *Malassezia* species isolated from patients with seborrhoeic dermatitis, atopic dermatitis, pityriasis versicolor and normal subjects. *Medical Mycology* 38: 337-341, 2000
- Nazarro Porro, M., Passi, S., Caprilli, F., Nazarro, P., Morpurgo, G.: Growth requirement and lipid metabolism of *Pityrosporum orbiculare*. *J. Invest. Derm.* 66: 178-82, 1976
- Nazarro Porro, M., Passi, S., Picardo, M., Merrcantini, R., Breathnach, A.S.: Lipoxygenase activity of *Pityrosporum* in vitro and vivo. *J. Invest. Derm.* 87: 108-112, 1986
- Nenoff, P., Reinl, P., Hausteil, U.F.: Der Hefepilz *Malassezia*: Erreger, Pathogenese und Therapie 52: 73-86, 2001
- Netter, F.H., Ludvik, W., Gitsch, E., Reinold, E.: Genitalorgane. In: Netter, F.H., Oppenheimer, E., eds. Farbatlanten der Medizin, 2th edn., Ciba-Geigy Corporation, Ardsley, N.Y., Stuttgart: Georg Thieme Verlag pp. 12 & 36, 1987
- Neu, H.C.: Urinary tract infections. *Am. J. Med.* 4A: 63S-70S, 1992
- Neubert U, Lentze I. Die bakterielle Flora des Präputialraumes. *Hautarzt* 30: 149-153, 1979
- Neumann, G., Gartzke, J., Boehme, H., Spitzbart, H.: The significance of vaginal fluid substances as growth media in genital mycosis. *Zentralbl. Gynakol.* 106: 325-30, 1984

- Nia, A.K., Smith, E.L.: Pityriasis versicolor of the glans penis. Brit. J. Vener. Dis. 55 : 230, 1979
- Noble, W.C.: Microbiology of Human Skin. London: Lloyd-Duke. pp. 3-65; 263-268, 1981
- Noble, W.C., Midgley, G.: Scalp carriage of *Pityrosporum* species: The effect of physiological maturity, sex and race. Sabouraudia 16: 229-232, 1978
- Nordvall, S.L., Lindgren, L., Johansson, S.G.O., Johansson, S., Petrini, B.: IgE antibodies to *Pityrosporum orbiculare* and *Staphylococcus aureus* in patients with high serum total IgE. Clin. Exp. Allergy. 22: 756-61, 1992
- Nyirjesy, P., Nixon, J.M., Jordan, C.A., Buckley, H.R.: *Malassezia furfur* folliculitis of the vulva: olive oil solves the mystery. Obstet. Gynecol. 84: 710-711, 1994
- Odds, F.C.: *Candida* and candidosis. Balliere Tindall, London, Philadelphia, p.135, 1988
- Ollert, M., Korting, H.C., Braun-Falco, O.: Pathomechanismen bei Infektionen mit *Candida albicans*. Hautarzt. 39: 498-503, 1988
- Ono, T., Jono, M., Kuriya, N.: Tinea versicolor and earwax. J. Dermatol. 8: 75-78, 1981
- Ono, T., Matsuno, M., Ishihara, T., Saita, B.: Senile hypertrophy of Tyson's glands. J. Dermatol. 17(7) : 452-4, 1990
- Ota, M., Huang, P.T.: Sur les champignons du genre *Pityrosporum* Sabouraud. Ann. Parasit. Hum. Com. 11 : 49-58, 1933
- Paavonen, J. : Physiology and ecology of the vagina. Scand. J. Infect. Dis. 40: 31-35, 1983
- Parkash, S., Jeyakumar, S., Subramanyan, K., Chauduri, S.: Human subpreputial collection. Its nature and formation. J. Urol. 110: 211-212, 1973.
- Parker, S.W., Stewart, A.J., Wren, M.N., Gollow, M.M., Straton, J.A.: Circumcision and sexually transmissible disease. Med. J. Aust., 2: 288-290, 1983
- Per-Anders, M., Laszlo, V.S.: In vitro interactions between *Lactobacilli* and other microorganisms occurring in the vaginal flora. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 40 : 47-51, 1983
- Perfect, J.R., Seaworth, B.A.: Penile Cryptococcosis with review of mycotic infections of penis. Urology. 25: 528-31, 1985

- Piccinno, R., Carrel, C.F., Menni, S., Brancaleon, W.: Preputial ectopic sebaceous glands mimicking molluscum contagiosum. *Acta. Derm. Venereol.* 70: 344-345, 1990
- Plewig, G.: *Pityrosporum* in normal sebaceous follicles comedones, acneiform eruptions, and dandruff. *Mykosen, Suppl.* 1 : 155-163, 1978
- Potter, B.S., Burgoon, C.F., Johnson, W.C.: *Pityrosporum* folliculitis. Report of seven cases and review of the *Pityrosporum* organism relative to cutaneous disease. *Arch. Dermatol.* 107: 388-391, 1973
- Potter, J.E., Prutkin, L., Wheatley, V.R.: Sebaceous gland differentiation. Separation, morphology and lipogenesis of isolated cells from the mouse preputial gland tumor. *J. Invest. Dermatol.* 72(3):120-7, 1979
- Powell, D.A., Marcon, P.H.D., Durrell, J.E., Pfister, R.M.: Scanning electron microscopy of *Malassezia furfur*. Attachment to broviac catheters. *Hum. Pathol.* 18: 740-745, 1987
- Preminger, B., Gerard, P.S., Lutwick, L., Frank, R., Minkowitz, S., Plotkin, N.: Histoplasmosis of the penis. *J. Urol.* 149: 848-50, 1993
- Priestley, G.C., Savin, J.A.: Tge microbiology of dandruff. *Br. J. Derm.* 94: 469-471, 1976
- Qadripur, S.A.: Infektiöse Balanitiden. In: Balanitis. Universitätshautklinik Göttingen: Basotherm GmbH, pp.21-30, 1987
- Qadripur, S.A.: Allgemeines über Pilze. In: Qadripur, S.A. Pilze und Pilzkrankungen. Ein Leitfaden für die Praxis, 1. Auflage, Stuttgart: Georg Thieme Verlag, pp. 4-6, 1996
- Quan, M.B., Ruben, B.S.: Pustular psoriasis limited to the penis. *Int. J. Dermatol.* 35: 202-204, 1996
- Randjandiche, M.: Frequence de *Pityrosporum ovale* dans l'oreille humaine. *Dermatologica* 151: 100-103, 1975
- Raz, R., Stamm, W.E. : A controlled trial of intravaginal estriol in postmenopausal women with recurrent urinary tract infections. *N. Engl. J. Med.* 329: 753-756, 1993
- Rieth, H.: Differential-Diagnose der *Candida*-Pilze. *Arch. f. klein. und exp. Derm.* 205: 541-550, 1958
- Rippon, J.W.: Tinea cruris. In: Medical Mycoloy: The pathogenetic fungi and pathogenetic actinomycetes. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders, pp. 207-10, 1988

- Robarts, F.H.: Penis and prepuce. In: Mason Brown JJ, ed. Surgery of Childhood. London, England: Edward Arnold, 1159-1181, 1962
- Roberts, S.O.B.: The mycology of the clinically normal scalp. Brit. J. Derm. 81: 626-628, 1969
- Rodin, P., Kolator, B. : Carriage of yeasts of the penis. Br. Med.J. 1: 1123-4, 1976
- Roed-Petersen, J.: Tinea versicolor and body lotions. Acta Derm. Venereol. 60 : 439 – 440, 1980
- Rudali, G., Roudier, R., Vives, C.: The preputial gland of the male mouse. Pathol. Biol. 22(10): 895-99, 1974
- Savolainen, J., Broberg, J.: Crossreacting IgE antibodies to *Pityrosporum ovale* and *Candida albicans* in atopic children. Clin. Exp. Allergy 22: 469-74, 1993
- Schaeffer, A.J., Amundsen, S.K., Schmidt, L.N.: Adherence of *Escherichia coli* to human urinary tract epithelial cells. Infect. Immun. 24: 753-759, 1979
- Schaeffer, A.J.: Aetiopathology and pathogenesis of urogenital infections. Andrologia 30 (Supp. 1): 3-6, 1998
- Schaffer, J.: Lehrbuch der Histologie und Histogenese, 3. Auflage, Berlin und Wien: Urban & Schwarzenberg, pp. 442 ff., 1933
- Schaller, K.F.: Mykosen des Intimbereiches. I. Hefemykosen. Mykosen 14: 303-309, 1971
- Schiefer, H.G., Jantos, C., Weidner, W.: Urethroadnexitis des Mannes und akutes Urethralyndrom der Frau. Mikrobiologische und immunologische Untersuchungen zur ätiologischen Klassifikation. Urologe 33 : 188-195, 1994
- Schiefer, H.G.: Microbiology of male urethroadnexitis. Diagnostic procedures and criteria for aetiological classification. Andrologia 30, Suppl. 1: 7-13, 1998
- Schiefer, H.G.: Mikrobiologische Untersuchungen. In: Krause, W., Weidner, W. Andrologie, Krankheiten der männl. Geschlechtsorgane. 3rd edn., Stuttgart:Enke Verlag, pp. 95-101, 1998
- Schneider, I.M., Wohlrab, W., Neubert, R.: Fettsäuren und Epidermis. Hautarzt. 48: 303-310, 1997
- Schröder, H.: Mikrobiologisches Praktikum. 4. Auflage, Berlin: Volk und Wissen, 1987
- Seeliger, H.P., Vogtle-Junkert, U.: The increase of candida-mycosis with special reference to the genital tract. Geburtshilfe. Frauenheilkd. 34 (9): 736-41, 1974

- Shek, Y., Tucker, M.C., Viciano, A.L., Manz, H.J., Connor, D.H.: *Malassezia furfur*-disseminated infections in premature infants. *Am. J. Clin. Pathol.* 92: 595-603, 1989
- Shiffrine, M., Marr, A.G.: The requirement of fatty acids by *Pityrosporum ovale*. *J. Gen. Microbiol.* 32: 263-270, 1963
- Shuster, S.: The aetiology of dandruff and mode of action of therapeutic agents. *Br. J. Derm.* 111: 235-242, 1984
- Silva, V., Moreno, G.A., Zaror, L., de Oliviera, E., Fischman, O.: Isolation of *Malassezia furfur* from patients with onychomycosis. *J. Med. Vet. Mycol.* 35: 73-74, 1997
- Slooff, W.Ch.: Genus *Pityrosporum* Sabouraud. In: *The Yeasts – A Taxonomic Study* (Hrsg. J. Lodder) 2 nd edition, Amsterdam: North-Holland Publishing Company, pp. 1167-1186, 1970
- Smith, E.L.: Pityriasis versicolor of the penis. *Brit. J. Vener. Dis.* 54 : 441, 1978
- Soeprono, F.F., Schinella, R.A., Cockerell, C.J. et al.: Seborrhoeic-like dermatitis of AIDS. *J Am Acad Dermatol*, 14: 242-8, 1986
- Sohnle, P.G., Collins-Lech, C.: Cell – mediated immunity to *Pityrosporum orbiculare* in tinea versicolor. *J. Clin. Invest.* 62 : 45 – 53, 1978
- Somerville, D.A.: Yeasts in a hospital for patients with skin disease. *J. Hyg. (Cambridge)* 70: 667-675, 1972
- Spoor, H.J., Traub, E.F., Bell, M.: *Pityrosporum ovale* types cultured from normal and seborrhoeic subjects. *Arch. Dermatol. Syphilol.* 69: 323-330, 1954
- Stenram, A., Malmfors, G., Okmian, L.: Circumcision for phimosis: a follow-up study. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, 20: 84-92, 1986
- Stieda, L.: Über die vermeintlichen Tyson'schen Drüsen, *Verh. Anat. Ges.* 11 : 7-8 (Aug 15), 1897
- Subramanian, S.: Gonococcal urethritis with bilateral tysonitis and periurethral abscess. *Sex. Trans. Dis.* 8: 77, 1981
- Surmont, I., Gavilanes, A., Vandepitte, J., Devlieger, H., Eggermont, E. : *Malassezia furfur* fungemia in infants receiving intravenous lipid emulsions. A rarity or just underestimated? *Eur. J. Ped.* 148: 435-438, 1989
- Tandler, J.: Über die Tysonschen Drüsen. *Anat. Anz.* 16: 207-208, 1899
- Tengvall Linder, M., Johansson, C., Scheynius, A., Wahlgren, C.F.: Positive atopy patch test reactions to *Pityrosporum orbiculare* in atopic dermatitis patients. *Clin. Exp. Allergy.* 30: 122-131, 2000

- Terragni, L., Lasagni, A., Oriani, A.: Pityriasis versicolor of the face. *Mycoses* 34 : 345-347, 1991
- Tietz, H.J.: Klinik und Therapie von Hautmykosen. In: Tietz, H.J., Mendling, W. Haut- und Vaginalmykosen. Berlin, Wien: Blackwell Wiss.-Verl., pp.47-59, 2001
- Unna, P.G.: Das seborrhoische Ekzem. *Monatsh. Prakt. Dermatol.* 6: 827-846, 1887
- Usala, S.J., Usala, F.O., Haciski, R., Holt, J.A., Schumacher, G.F.: IgG and IgA content of vaginal fluid during menstrual cycle. *J. Reprod. Med.* 34: 292-4, 1989
- Van Abbe, N. J.: The investigation of dandruff. *J. Soc. Cosm. Chemists* 15: 609-630, 1964
- Vanbreuseghem, R.: Un probleme de mycologie médicale: Le pityriasis versicolor. *Ann. Inst. Pasteur*, 79 : 798-901, 1950
- Voss, J.G. : Acne vulgaris and free fatty acids. *Arch. Derm.* 109: 89-898, 1974
- Waugh, M.A.: Balanitis. *Dermatol.Clin.*, 16(4): 757-62, 1998
- Weary, P.E. : Comedogenic potential of the lipid extract of *Pityrosporum ovale*. *Arch. Derm.* 102: 84-91, 1970
- Weidman, F.D.: Exfoliative dermatitis in the Indian rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*) with the description of the new yeast species *Pityrosporum pachydermatis*. In: Fox A. (Ed.): Report of the Laboratory of comparative pathology of the zoological society of Philadelphia. pp. 36-44, 1925
- Wessels, M.W., Doekes, G., van Ieperen-van Dijk, A.G., Koers, W.J., Young, E.: IgG-antibodies to *Pityrosporum ovale* in atopic dermatitis. *Br. J. Derm.* 125: 227-32, 1991
- Weström, L., Per-Anders, M.: Definitions of infectious and infectious-like conditions in the lower genital tract of the female. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 40 : 65-70, 1983
- Whitlock, F.A.: *Pityrosporum ovale* and some scaly conditions of the scalp. *Brit. Med. J.* 1: 484-487, 1953
- Williams, N., Kapila, L.: Complications of circumcision. *Br. J. Surg.*, 80 : 1231-1236, 1993
- Wilson, C.L., Walshe, M.: Incidence of seborrhoic dermatitis in spinal injury patients. *Br J Dermatol*, 119: 48, 1988
- Wolff, H.H., Plewig, G.: Ultrastruktur der Mikroflora in Follikeln und Komedonen. *Hautarzt* 27: 432-440, 1976
- Wolter, J.R.: *Pityrosporum* species associated with dacryoliths in obstructive dacryocystitis. *Am. J. Ophthalm.* 84: 806-809, 1977

Yaffee, H.S.: *Pityrosporum* folliculitis. Arch. Derm. 108: 277, 1973

Yarrow, D., Ahearn, D.G.: *Malassezia* Baillon. In: The yeasts: A taxonomic study (Kreger van Rij NJW, ed), 3rd edn., Amsterdam: North Holland Publishing Company. pp. 882-5, 1984

Yohn, J.J., Lucas, J., Camisa, C.: *Malassezia* folliculitis in immunocompromised patients. Cutis 35: 536-538, 1985

Zargari, A., Harfast, B., Johansson, S., Johansson, S.G., Scheynius, A.: Identification of allergen components of the opportunistic yeast *Pityrosporum orbiculare* by monoclonal antibodies. Allergy 49: 50-56, 1994

## 8 Rohdatenliste

### Probandenliste

Diese Liste beinhaltet Probanden, die in der andrologischen Sprechstunde der Justus-Liebig-Universität Gießen untersucht wurden. Während der andrologischen Untersuchung wurden standardisiert zwei Abklatschpräparate der Glans penis zum einen auf mDixon-Agar, zum anderen auf Leeming-Noman-Agar angefertigt.

Probanden vom 13.06.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
1	C. B. 18.06.64	8x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	-	-	Dix (a): Malassezia Mischkult.	Ring	+	+	+	-	M. symp.	
2	D. L. 21.03.65	-	-	-	Schimmel- pilz								
3	M. R. 14.06.72	-	-	-	Schimmel- pilz								
4 ***	F. S. 02.08.61	-	Schimmel- pilz	-	Schimmel- pilz								
5	M. S. 29.04.59	-	3x hellbraun, glänzende K. ohne Hof	2x hellbraun, matte K. ohne Hof	1x hellbraun, glänzende K. ohne Hof	Dix (b): Bakterien LN (a): Malassezia LN (b): Bakterien	LN (a): Ring	+	+	+	-	M. symp.	
6 ***	B. T. 10.03.72	1x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	2x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	Dix (a): Malassezia LN (a): Malassezia	Dix (a): + LN (a): +	+	+	+	+	M. furfur M. furfur	

Probanden vom 14.06.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
7 ***	A. B. 20.01.48	-	-	1x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	LN (a): M.globosa	LN (a): Ring	+	+	-	-	G	
8	T. E. 10.04.75	-	-	-	4x glänzende, hellbraune K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
9 ***	G. K. 19.12.49	2x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	1x hellbraun, matte K. ohne Hof	1x gelbe K. ohne Hof	Dix (a): M.globosa LN (a): M.globosa LN (b): Bakterien	Dix (a): Ring LN (a): Ring	+	+	-	-	G G	
10	A. K. 04.08.70	1x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	-	Schimmel- pilz	Dix (a): Malassezia	Dix (a): Ring	+	+	-	-	G	
11	E. L. 18.12.66	-	1x weiße K. ohne Hof	7x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	LN (a): Malassezia Mischkult.	LN (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.	Dix (b): Candida famata
12	J. V. 22.03.69	-	-	-	1x hellbraun, glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
13	W. W. 08.06.70	3x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	-	multiple, konfluier. weiße Kolonien	Dix (a): Malassezia Mischkult. LN (b): Candida albicans	Dix (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.	

Probanden vom 15.06.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El	
14	W. F. 06.11.65	-	-	-	Schimmel- pilz							
15	I. S. 16.06.69	-	7x weiße, matte K. ohne Hof	-	16x weiße, matte K. ohne Hof	Dix (b): Candida albicans						LN (b): Candida albicans

Probanden vom 16.06.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El	
16	M. D. 05.01.62	3x hellbraun, matte K. ohne Hof	9x weiß- glänzende K. ohne Hof	6x hellbraun, matte K. mit Riffelung	1x weiß- glänzende K. ohne Hof	Dix (a): Malassezia Mischkult. Dix (b): Bakterien LN (a): Malassezia Mischkult. LN (b): Bakterien	Dix (a):  LN (a): Ring	  +	  +	  +	  -	M.pachy. (A)  M.symp.
17 ***	B. G. 20.08.61	3x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	-	-	Dix (a): M.globosa	Dix (a): (Ring)	Ring	Ring	-	-	F
18	A. N. 30.05.60	-	3x weiße K. ohne Hof	-	Schimmel- pilz							Dix (b): Candida parapsilo- sis

Probanden vom 19.06.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
19 ***	R. A. 02.08.60	-	-	-	-								
20	L. H. 20.06.61	-	-	-	-								
21	S. K. 24.09.65	4x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	-	Schimmel- pilz	Dix (a): M.globosa	Dix (a): Ring	+	+	-	-	G	
22	D. Z. 24.06.65	1x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	multiple hellbraun, matte K. ohne Hof	multiple weiße K. ohne Hof	Dix (a): M.globosa LN (a): Malssezia Mischkult.	Dix (a): (Ring) LN (a): Ring	Ring +	Ring +	- +	- -	F M.symp.	LN (b): Candida albicans

## Probanden vom 20.06.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween <sup>®</sup> 20	Tween <sup>®</sup> 40	Tween <sup>®</sup> 60	Tween <sup>®</sup> 80	Crem El		Ergebnis
23	M. B. 10.01.78	-	-	-	multiple weiß- glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
24	L. C. 20.01.75	1x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	7x hellbraun, matte K. ohne Hof	Schimmel- pilz	Dix (a): M.globosa LN (a): M.globosa	Dix (a): Ring LN (a): Ring	+	+	-	-	G	
25	T. H. 03.03.64	-	-	2x hellbraun, matte K. ohne Hof	2x hellbraun- weiße K. ohne Hof	LN (a): M.globosa LN (b): Bakterien	LN (a): Ring	+	+	-	-	G	
26	R. M. 30.09.77	-	-	-	-								
27	D. R. 03.05.62	-	1x hellbraun- weiß glänzende K. ohne Hof	-	multiple hellbraun- weiß glänzende K. ohne Hof	Dix (b): Bakterien LN (b): Bakterien							
28	L. S. 31.07.61	5x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	2x hellbraun, matte K. ohne Hof	multiple hellbraun- weiß glänzende K. ohne Hof	Dix (a): Malassezia Mischkult. LN (a): Malassezia Mischkult. LN (b): Bakterien	Dix (a): Ring LN (a): Ring	+	+	+	-	M.symp. M.symp.	
29	M. S. 22.09.71	2x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	-	Schimmel- pilz	Dix (a): M.globosa	Dix (a): (Ring)	Ring	Ring	-	-	F	

Probanden vom 21.06.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
30	H. D. 22.07.59	-	-	-	1x rote K. ohne Hof	LN (b): Rhodo- torula							
31	S. M. 29.12.65	5x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	-	Schimmel- pilz	Dix (a): Malassezia Mischkult.	Dix (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.	
32	J. M. 30.09.60	-	1x weiße K. ohne Hof	-	multiple hellbraun, glänzende K. ohne Hof	Dix (b): Candida albicans LN (b): Bakterien							
33	U. W. 15.03.66	-	-	multiple hellbraun, matte K. ohne Hof	1x rote K. ohne Hof	LN (a): M.globosa LN (b): Rhodo- torula	LN (a): Ring	+	+	-	-	G	
34	R. W. 27.12.65	1x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	3x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	Dix (a): Malassezia Mischkult. LN (a): M.globosa	Dix (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.	
							LN (a): Ring	+	+	-	-	G	

Probanden vom 23.06.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
35	C. H. 05.10.65	10x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	-	2x weiße K. ohne Hof	Dix (a): M.globosa	Dix (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.	LN (b): Candida guillier- mondii
36 ***	H. K. 02.01.66	-	-	multiple hellbraun, matte K. ohne Hof	-	LN (a): Malassezia						Schimmel pilz	
37	H. N. 11.08.37	multiple hellbraun, matte K. ohne Hof	-	-	-	Dix (a): Malassezia Mischkult.	Dix (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.	
38	M. R. 29.05.69	-	-	multiple hellbraun, matte K. ohne Hof	-	LN (a): M.globosa	LN (a): Ring	+	+	-	-	G	

Probanden vom 26.06.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
39	T. E. 02.03.68	3x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	multiple hellbraun, matte K. ohne Hof	-	Dix (a): M.globosa LN (a): M.globosa	Dix (a): Ring LN (a): Ring	+	+	-	-	G G	
40	A. L. 02.09.68	-	-	-	-								
41	G. S. 02.11.66	-	-	-	-								

Probanden vom 27.06.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
42	R. F. 04.10.54	-	-	-	1x rote K. ohne Hof	LN (b): Rhodo- torula							
43	G. H. 22.10.65	-	9x weiße K. ohne Hof	-	4x weiße K. ohne Hof	Dix (b): Candida albicans LN (b): Candida albicans							
44	D. S. 13.07.67	-	multiple weiße K. ohne Hof	-	multiple weiße K. ohne Hof	Dix (b): Candida albicans LN (b): Candida albicans							
45	L. Z. 12.10.66	1x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	multiple hellbraun, matte K. ohne Hof	3x gelbe K. ohne Hof	Dix (a): Malassezia Mischkult. LN (a): M.globosa LN (b): Bakterien	Dix (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.	
							LN (a): (Ring)	Ring	Ring	-	-	F	

Probanden vom 28.06.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
46 ***	C. A. 15.01.72	-	-	-	-								
47	M. B. 02.05.66	-	-	-	-								
48	S. K. 28.11.77	-	-	-	-								

Probanden vom 29.06.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
49	O. D. 23.07.66	-	-	4x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	LN (a): Malassezia Mischkult.	LN (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.	
50	D. P. 15.12.71	-	-	1x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	LN (a): M.globosa	LN (a): (Ring)	Ring	Ring	-	-	F	
51	H. S. 14.12.63	8x hellbraun, matte K. mit Riffelung ohne Hof	5x hellbraun, glänzende K. ohne Hof	multiple hellbraun, matte K. ohne Hof	-	Dix (a): Malassezia Dix (b): Bakterien LN (a): Malassezia Mischkult.	LN (a): Ring	+	+	+	-	Schimmel pilz  M.symp.	
52	M. S. 19.09.69	-	-	-	-								

Probanden vom 30.06.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
53	F. B. 27.03.79	2x hellbraun, matte K. mit Hof	-	-	-	Dix (a): Malassezia Mischkult.	Dix (a): Ring	+	+	+	-	M. symp.	
54	M. L. 14.11.64	1x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	-	-	Dix (a): Malassezia	Dix (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.	

Probanden vom 06.07.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
55	H. B. 23.07.57	-	-	-	2x rote K. ohne Hof	LN (b): Rhodo- torula							
56	R. B. 20.01.62	-	-	-	Schimmel- pilz								
57	A. E. 06.02.72	multiple hellbraun matte, glatte K. ohne Hof; multiple, hellbraun, matte geriffelte K. ohne Hof	-	multiple hellbraun, matte K. mit Hof	-	Dix (a): Malassezia Mischkult. LN (a): M.globosa	Dix (a), glatte K.: Ring Dix (a), geriffelte K.: Ring LN (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.	
								+	+	+	-	M.symp.	
								+	+	+	-	M.symp.	

58	F. H. 20.12.70	-	-	-	-								
59	M. K. 21.08.65	1x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	1x hellbraun, matte K. mit Hof	-	Dix (a): Malassezia LN (a): M.globosa	Dix (a): Ring LN (a): (Ring)	+	+	+	-	M.symp. F	
60	M. M. 14.04.67	-	-	-	2x gelbe K. ohne Hof; 1x rote K. ohne Hof	LN (b): Bakterien; Rhodo- torula							
61	W. S. 23.11.57	-	-	-	1x weiße K. ohne Hof	LN (b): Candida albicans							
62	J. S. 13.09.64	-	-	2x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	LN (a): M.globosa	LN (a): Ring	+	+	-	-	G	

Probanden vom 07.07.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
63	D. S. 02.08.74	-	6x dunkel- braun, glänzende K. ohne Hof	7x hellbraun, matte K. ohne Hof	1x weiß- glänzende K. ohne Hof	Dix (b): Bakterien LN (a): Malassezia LN (b): Bakterien						Schimmel pilz	

Probanden vom 10.07.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
64 ***	K. C. 14.12.75	-	multiple hellbraun, glänzende K. ohne Hof	multiple hellbraun, matte K. ohne Hof	1x orange K. ohne Hof	Dix (b): Bakterien LN (a): Malassezia Mischkult. LN (b): Bakterien	LN (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.	
65	P. G. 24.05.62	-	-	2x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	LN (a): M.globosa	LN (a): Ring	+	+	-	-	G	
66	N. S. 13.06.62	11x hellbraun, geriffelte K. ohne Hof; 3x hellbraun, matte, glatte K. ohne Hof	-	6x hellbraun, matte K. ohne Hof	multiple weiß- glänzende K. ohne Hof	Dix (a): Malassezia Mischkult. LN (a): Malassezia Mischkult. LN (b): Bakterien	Dix (a): Ring  LN (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.  M.symp.	LN (b): Candida parapsilo- sis

Probanden vom 11.07.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
67	H.-J. , B. 10.01.60	multiple hellbraun, matte K. ohne Hof	-	2x hellbraun, matte K. ohne Hof	multiple weiße K. ohne Hof	Dix (a): M.globosa LN (a): M.globosa LN (b): Candida albicans	Dix (a): (Ring) LN (a): (Ring)	Ring  Ring	Ring  Ring	-  -	-  -	F  F	
68	T. M. 29.07.70	2x hellbraun, matte, geriffelte K. ohne Hof	-	3x hellbraun, matte K. ohne Hof	2x weiß- glänzende K. ohne Hof	Dix (a): Malassezia Mischkult. LN (a): M.globosa LN (b): Bakterien	Dix (a): Ring  LN (a): (Ring)	+  Ring	+  Ring	+  -	-  -	M.symp.  F	
69	K. P. 02.05.65	-	2x weiße K. ohne Hof	-	1x weiße K. ohne Hof	Dix (b): Candida albicans LN (b): Candida albicans							
70	C. S. 05.06.71	-	-	1x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	LN (a): M.globosa	LN (a): Ring	+  	+  	-  	-  	G	

Probanden vom 12.07.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
71	T. B. 12.09.59	-	-	-	-								
72	W. S. 17.12.69	-	3x rot, glänzende K. ohne Hof; multiple weiße K. ohne Hof	multiple hellbraun matte K. ohne Hof	3x rot glänzende K. ohne Hof; 11x weiße K. ohne Hof	LN (a): Malassezia Dix (b); LN (b): Rhodo- torula						Schimmel pilz	Dix (b): Candida parapsilo- sis LN (b): Candida parapsilo- sis

Probanden vom 13.07.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme						Differen- zierung nach ID 32
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El	Ergebnis	
73	H. A. 14.01.64	7x hellbraun, matte K. ohne Hof	6x weiße K. ohne Hof	-	multiple hellbraun glänzende K. ohne Hof; multiple weiß- glänzende K. ohne Hof	Dix (a): Malassezia Mischkult. Dix (b): Candida albicans LN (b): Bakterien; Candida albicans	Dix (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.	
74	L. F. 29.09.67	2x hellbraun, matte, geriffelte K. mit Hof	-	8x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	Dix (a): M.globosa LN (a): Malassezia Mischkult.	Dix (a): Ring	+	+	-	-	G	
							LN (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.	
75	V. R. 17.06.62	1x hellbraun, matte K. mit Hof	-	-	multiple hellbraun- weiß glänzende K. ohne Hof	Dix (a): Malassezia Mischkult. LN (b): Bakterien	Dix (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.	

Probanden vom 14.07.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme						Differen- zierung nach ID 32
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El	Ergebnis	
76	B. S. 14.09.58	-	6x hellbraun glänzende K. ohne Hof	-	6x hellbraun glänzende K. ohne Hof	Dix (b): Bakterien LN (b): Bakterien							

Probanden vom 17.07.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
77	M. D. 11.05.69	-	1x weiße K. ohne Hof	-	multiple hellbraun, glänzende K. ohne Hof; 1x rote K. ohne Hof	LN (b): Bakterien; Rhodo- torula							Dix (b): Candida guillier- mondii
78	G. W. 27.07.65	multiple hellbraun, matte K. ohne Hof	multiple hellbraun, glänzende K. ohne Hof	-	multiple hellbraun, glänzende K. ohne Hof	Dix (a): M.globosa Dix (b): Bakterien LN (b): Bakterien	Dix (a): Ring	+	+	-	-	G	

Probanden vom 18.07.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
79	F. J. 12.10.67	-	-	multiple hellbraun, matte K. ohne Hof	-	LN (a): Malassezia						Schimmel pilz	
80 ***	I. M. 11.05.59	multiple hellbraun, matte K. ohne Hof	-	-	2x hellbraun glänzende K. ohne Hof	Dix (a): Malassezia LN (b): Bakterien	Dix (a) :					M. pachy.	
81	P. M. 14.09.60	-	-	-	-								
82	K. S. 13.05.59	-	-	3x hellbraun, matte K. ohne Hof	multiple weiß- glänzende K. ohne Hof	LN (a): Malassezia Mischkult. LN (b): Bakterien	LN (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.	
83	M. W. 27.01.82	-	-	5x hellbraun, matte K. ohne Hof	3x weiße K. ohne Hof	LN (a): Malassezia LN (b): Candida albicans						Schimmel pilz	

Probanden vom 19.07.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
84	P. D. 18.09.62	2x hellbraun, matte K. mit Hof	-	-	multiple hellbraun- weiß glänzende K. ohne Hof	Dix (a): M.globosa LN (b): Bakterien	Dix (a): Ring	+	+	-	-	G	

Probanden vom 24.07.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
85	H. L. 04.05.66	-	-	-	2x hellbraun, glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
86	H. R. 03.06.71	-	Schimmel- pilz	-	2x gelbe K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							

Probanden vom 28.07.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
87	A. S. 16.02.64	-	-	-	1x hellbraun, glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
88	F. V. 22.01.74	-	-	-	-								
89	D. V. 22.04.63	-	Schimmel- pilz	-	1x hellbraun, glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							

Probanden vom 03.08.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
90	A. K. 28.02.65	1x hellbraun, matte K. mit Hof	3x hellbraun glänzende K. ohne Hof	-	konfluier. weiß glänzende K. ohne Hof	Dix (a): Malassezia Mischkult. Dix (b): Bakterien LN (b): Bakterien	Dix (a): (Ring)	Ring	Ring	-	-	F	

Probanden vom 14.08.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
91	C. V. 06.11.70	-	-	1x hellbraun, matte K. ohne Hof	2x weiße K. ohne Hof	LN (a): Malassezia LN (b): Candida albicans						Schimmel pilz	

Probanden vom 08.09.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
92	T. B. 21.03.68	-	-	1x hellbraun, matte K. ohne Hof	1x weiße K. ohne Hof	LN (a). Malassezia Mischkult. LN (b): Candida albicans	LN (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.	
93	E. D. 12.09.71	-	-	-	6x weiße konfluier. K. ohne Hof								LN (b): Candida albicans
94	B. N. 04.11.64	-	-	-	-								
95	T. S. 10.10.74	-	Schimmel- pilz	-	7x hellbraun, glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
96	W. S. 25.10.38	-	-	-	-								

Probanden vom 15.09.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
97	S. B. 28.01.68	-	Schimmel pilz	-	Schimmel pilz								
98	W. F. 10.11.61	-	-	-	-								

Probanden vom 18.09.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
99	H. S. 02.08.65	-	-	-	-								
100 ***	I. T. 17.07.77	-	-	-	1x hellbraun, glänzende K. ohne Hof 1x weiße K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							LN (b): Candida albicans

Probanden vom 19.09.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
101	V. A. 07.02.59	-	-	-	1x gelbe K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
102 ***	S. C. 02.01.75	3x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	2x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	Dix (a): M.globosa LN (a): M.globosa	Dix (a): (Ring) LN (a): (Ring)	Ring	Ring	-	-	F	
103	N. H. 04.05.71	-	Schimmel pilz	-	Schimmel pilz								
104	S. H. 14.12.58	-	-	-	1x weiße K. ohne Hof	LN (b): Candida albicans							
105	V. S. 20.02.72	-	-	-	-								

Probanden vom 22.09.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
106	M. P. 07.02.58	-	-	-	-								
107	S. R. 19.02.67	-	multiple, weiße K. ohne Hof	-	multiple, weiße K. ohne Hof								Dix (b): Candida guillier. LN (b): Candida guillier.

Probanden vom 25.09.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
108	H. E. 03.08.58	-	-	-	multiple, hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
109 ***	M. M. 17.07.70	-	-	-	-								
110	W. W. 15.04.65	5x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	-	multiple, hellbraun glänzende K. ohne Hof	Dix (a): <i>M.globosa</i> LN (b): Bakterien	Dix (a): Ring	+	+	-	-	G	
111	D. W. 28.04.67	1x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	-	multiple, hellbraun glänzende K. ohne Hof	Dix (a): <i>M.globosa</i> LN (b): Bakterien	Dix (a): Ring	+	+	-	-	G	

Probanden vom 27.09.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
112	R. B. 12.03.70	-	-	-	multiple, hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							

113	C. H. 23.01.72	-	-	-	multiple, hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
114	A. K. 26.08.73	-	3x weiße K. ohne Hof	-	4x weiße K. ohne Hof	Dix (a): Candida albicans LN (b): Candida albicans							
115	W. K. 29.12.69	-	-	-	weiß, glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
116	A.-J., M. 02.07.60	-	-	-	multiple, hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
117	A. M. 25.11.66	-	-	-	multiple, hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
118	A. S. 03.12.70	-	-	-	1x rote K. ohne Hof	LN (b): Rhodo- torula							
119	D. S. 10.02.62	1x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	-	2x weiße K. ohne Hof	Dix (a): Malassezia LN (b): Candida albicans	Dix (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.	

Probanden vom 09.10.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
120	A. A. 14.08.71	-	-	-	multiple, hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
121	U. B. 12.02.62	3x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	-	multiple, hellbraun glänzende K. ohne Hof	Dix (a): M.globosa LN (b): Bakterien	Dix(a) : (Ring)	Ring	Ring	-	-	F	
122	A. L. 06.08.65	-	-	-	3x hellbraun, glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
123	A. M. 20.08.72	1x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	-	-	Dix (a): M.globosa	Dix (a): (Ring)	Ring	Ring	-	-	F	
124	S. S. 08.05.72	2x hellbraun, matte K. mit Hof	-	-	multiple weiße K. ohne Hof	Dix (a): Malassezia	Dix (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.	LN (b): Candida albicans
125	K.-H., W. 13.11.66	-	4x weiße K. ohne Hof	1x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	LN (a): Malassezia	LN (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.	Dix (b): Candida albicans

Probanden vom 11.10.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
126	I. K. 25.11.61	1x hellbraun, matte K. mit Hof	-	-	Schimmel pilz	Dix (a): Malassezia	Dix (a): Ring	+	+	+	-	M.symp.	
127	D. L. 02.08.67	3x hellbraun, matte K. mit Hof	-	2x hellbraun, matte K. mit Hof	-	Dix (a): Malassezia LN (a): Malassezia	Dix (a): Ring LN (a): Ring	+	+	+	-	M.symp. M.symp.	
128	U. R. 30.03.56	-	-	1x hellbraun, matte K. ohne Hof	-	LN (a): M.globosa	LN (a): (Ring)	Ring	Ring	-	-	F	
129	M. S. 29.07.68	-	-	-	-								

Probanden vom 23.10.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
130	W. M. 29.04.65	-	-	-	-								

\*\*\* unter der laufenden Nummer bedeutet, dass es sich um die zirkumzidierten Männer handelt.

Unter der Rubrik „Name“ stehen die Anfangsbuchstaben des Vor- und Nachnamens der jeweiligen Probanden.

Unter der Rubrik „andere (b)“ sind alle anderen Pilzarten gemeint außer *Malassezia* spp..

„+“ unter der Rubrik „Auxonogramme“ bedeutet Wachstumshofbildung, „-“ unter der Rubrik „Auxonogramme“ bedeutet keine Wachstumshofbildung.

„-“ unter der Rubrik „mDixon-Agar und Leeming-Notman-Agar“ bedeutet keine makroskopisch nachweisbare Kolonie.

„A“, „F“ und „G“ unter der Rubrik „Ergebnis“ bezieht sich auf die Assimilationsmuster für *Malassezia*-Hefen nach Guillot 1996 auf Seite 36.

„A“ steht für *Malassezia pachydermatis*; „F“ steht für *Malassezia globosa*, *Malassezia obtusa* oder *Malassezia restricta*, zusätzliche Differenzierungsmethoden müssen angewandt werden, um zum endgültigen Ergebnis zu kommen; „G“ steht für *Malassezia globosa*, *Malassezia obtusa* oder *Malassezia restricta*, zusätzliche Differenzierungsmethoden müssen angewandt werden, um zum endgültigen Ergebnis zu kommen; in dieser Untersuchung waren alle Assimilationsmuster sowohl „F“ als auch „G“ der Spezies *Malassezia globosa* in der weiteren Differenzierung zuzuordnen.

Probandinnenliste

Diese Liste beinhaltet Probandinnen, die in der gynäkologischen Poliklinik der Justus-Liebig-Universität Gießen untersucht wurden. Während der gynäkologischen Untersuchung wurde standardisiert vom hinteren Scheidengewölbe jeweils ein Vaginalabstrich abgenommen, der zum einen auf mDixon-Agar, zum anderen auf Leeming-Notman-Agar ausgestrichen wurde.

Probandinnen vom 25.09.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
1	L. H. 14.01.57	-	-	-	multiple hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
2	A. H. 05.02.68	-	-	-	Schimmel pilz								
3	S. K. 03.12.38	-	-	-	multiple hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
4	S. P. 29.07.71	-	-	-	3x rote K. ohne Hof	LN (b): Rhodo- torula							
5	M. S. 10.01.59	-	1x hellbraun glänzende K. ohne Hof	-	2x weiße K. ohne Hof	Dix (b): Bakterien LN (b): Candida albicans							

Probandinnen vom 26.09.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
6	D. D. 01.07.68	-	-	-	1x gelbe K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
7	A. D. 19.01.38	-	Schimmel pilz	-	Schimmel pilz								
8	I. E. 02.06.36	-	-	-	2x hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
9	C. G. 18.09.41	-	3x weiße K. ohne Hof	-	2x weiße K. ohne Hof	Dix (b): Candida albicans LN (b): Candida albicans							
10	B. H. 02.04.60	-	4x hellbraun glänzende K. ohne Hof	-	3x hellbraun glänzende K. ohne Hof	Dix (b): Bakterien LN (b): Bakterien							
11	R. L. 16.05.43	-	1x weiße K. ohne Hof	-	1x gelbe K. ohne Hof; 2x hellbraun glänzende K. ohne Hof	Dix (b): C. albicans LN (b): Bakterien; Bakterien							
12	U. V. 08.11.46	-	-	-	5x hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							

Probandinnen vom 27.09.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween <sup>®</sup> 20	Tween <sup>®</sup> 40	Tween <sup>®</sup> 60	Tween <sup>®</sup> 80	Crem El		<b>Ergebnis</b>
13	M. F. 14.09.48	-	-	-	multiple hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
14	K. F. 21.06.52	-	-	-	-								
15	A. F. 13.10.47	-	-	-	5x hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
16	H. H. 05.07.58	-	-	-	-								
17	E. L. 29.10.39	-	-	-	4x hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							

Probandinnen vom 28.09.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
18	J. B. 06.07.82	-	multiple hellbraun glänzende K. ohne Hof	-	3x weiße K. ohne Hof	Dix (b): Bakterien LN (b): Candida albicans							
19	P. H. 01.07.78	-	5x weiße K. ohne Hof	-	3x weiße K. ohne Hof	Dix (b): Candida albicans LN (b): Candida albicans							
20	U. M. 01.02.60	-	2x weiße K. ohne Hof	-	3x weiße K. ohne Hof								Dix (b): Saccharo. Cervisiae LN (b): Candida albicans
21	A. T. 13.12.49	-	multiple hellbraun glänzende K. ohne Hof	-	multiple hellbraun glänzende K. ohne Hof	Dix (b): Bakterien LN (b): Bakterien							
22	E. G. 26.04.55	-	-	-	3x hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							

Probandinnen vom 02.10.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
23	Z. F. 05.09.72	-	1x weiße K. ohne Hof	-	-	Dix (b): Candida albicans							
24	P. G. 06.10.54	-	-	-	Schimmel pilz								
25	B. G. 29.12.57	-	-	-	-								
26	M., S.-C. 25.04.74	-	-	-	-								
27	A. S. 12.03.40	-	-	-	-								
28	A. S. 03.06.76	-	-	-	5x hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
29	E. S. 11.02.21	-	multiple weiße K. ohne Hof	-	multiple weiße K. ohne Hof								Dix (b): Candida albicans LN (b): Candida albicans
30	M. S. 01.01.33	-	-	-	multiple hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							

Probandinnen vom 05.10.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
31	R. A. 07.02.42	-	-	-	-								
32	H. B. 04.03.43	-	-	-	-								
33	A. K. 26.11.57	-	multiple hellbraun glänzende K. ohne Hof	-	-	Dix (b): Bakterien							
34	U. S. 03.03.52	-	5x weiße K. ohne Hof	-	2x weiße K. ohne Hof	Dix (b): Candida albicans LN (b): Candida albicans							LN (b): Candida glabrata
35	M. S. 29.03.24	-	-	-	-								
36	U. S. 01.03.36	-	-	-	-								
37	D. W. 16.09.40	-	6x hellbraun glänzende K. ohne Hof	-	-	Dix (b): Bakterien							

Probandinnen vo 06.10.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		<b>Ergebnis</b>
38	W. P. 11.11.50	-	-	-	multiple hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
39	G. P. 30.07.41	-	-	-	3x hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							

Probandinnen vom 09.10.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
40	V. B. 18.01.65	-	multiple hellbraun glänzende K. ohne Hof	-	-	LN (b): Bakterien							
41	S. D. 22.04.61	-	-	-	-								
42	A. G. 17.04.51	-	-	-	2x hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
43	M. G. 03.07.24	-	-	-	-								
44	L. H. 22.02.21	-	-	-	1x hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
45	S. P. 29.07.71	-	-	-	-								
46	A. R. 16.11.25	-	multiple hellbraun glänzende K. ohne Hof	-	multiple hellbraun glänzende K. ohne Hof	Dix (b): Bakterien LN (b): Bakterien							
47	R., T.-S. 08.07.41	-	-	-	3x gelbe K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							

Probandinnen vom 10.10.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
48	E. B. 04.07.41	-	multiple weiße K. ohne Hof	-	multiple weiße K. ohne Hof								Dix (b): Candida glabrata LN (b): Candida glabrata
49	I. D. 28.01.59	-	multiple weiße K. ohne Hof	-	multiple weiße K. ohne Hof								Dix (b): Candida albicans LN (b): Candida albicans
50	A. F. 04.06.66	-	9x weiße K. ohne Hof	-	multiple weiße K. ohne Hof	Dix (b): Candida albicans LN (b): Candida albicans							
51	L. K. 08.10.52	-	-	-	4x hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
52	R. O. 15.01.77	-	-	-	-								
53	I. R. 25.01.65	-	-	-	3x hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							

Probandinnen vom 11.10.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
54	E. A. 07.06.79	-	8x weiße K. ohne Hof	-	multiple weiße K. ohne Hof	LN (b): Candida albicans							Dix (b): Candida glabrata
55	D. B. 17.03.40	-	-	-	4x gelbe K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
56	C. F. 08.08.52	-	9x weiße K. ohne Hof	-	multiple hellbraun glänzende K. ohne Hof	Dix (b): Candida albicans LN (b): Bakterien							
57	B. G. 17.04.71	-	-	-	-								
58	B. H. 26.09.54	-	-	-	-								
59	M. K. 12.12.26	-	5x weiße K. ohne Hof	-	3x weiße K. ohne Hof	Dix (b): Candida albicans LN (b): Candida albicans							
60	H. K. 25.12.33	-	multiple weiße K. ohne Hof	-	multiple weiße K. ohne Hof								Dix (b): Candida glabrata LN (b): Candida glabrata
61	E. K. 17.11.46	-	-	-	-								

62	S., T.-M. 26.11.69	-	-	-	-								
63	E. W. 01.04.51	-	multiple weiße K. ohne Hof	-	multiple weiße K. ohne Hof	Dix (b): Candida albicans LN (b): Candida albicans							

Probandinnen vom 13.10.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
64	S. B. 12.11.67	-	-	-	-								
65	S. B. 14.96.66	-	multiple weiße K. ohne Hof	-	9x weiße K. ohne Hof								Dix (b): Candida albicans LN (b): Candida albicans
66	I. D. 28.01.59	-	multiple weiße K. ohne Hof	-	multiple weiße K. ohne Hof								Dix (b): Candida glabrata LN (b): Candida glabrata
67	K. F. 28.03.70	-	-	-	-								
68	U., I.-H. 03.03.56	-	-	-	-								

69	Z. K. 01.01.58	-	multiple hellbraun glänzende K. ohne Hof	-	multiple hellbraun glänzende K. ohne Hof	Dix (b): Bakterien LN (b): Bakterien							
70	G. K. 20.09.61	-	-	-	-								
71	D. K. 07.06.77	-	1x weiße K. ohne Hof	-	3x hellbraun glänzende K. ohne Hof	Dix (b): Candida albicans LN (b): Bakterien							
72	M. K. 02.04.80	-	-	-	5x gelbe K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
73	S. K. 14.10.80	-	-	-	-								
74	D. S. 20.11.47	-	6x weiße K. ohne Hof	-	5x weiße K. ohne Hof	Dix (b): Candida albicans LN (b): Candida albicans							
75	S. W. 04.04.66	-	Schimmel pilz	-	-								

Probandinnen vom 16.10.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsdag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
76	N. A. 03.04.64	-	4x weiße K. ohne Hof	-	5x weiße K. ohne Hof								Dix (a): Candida glabrata LN (b): Candida glabrata
77	A. B. 08.10.47	-	-	-	-								
78	J. E. 13.06.26	-	-	-	Schimmel pilz								
79	M. F. 31.01.41	-	multiple hellbraun glänzende K. ohne Hof	-	multiple hellbraun glänzende K. ohne Hof	Dix (b): Bakterien LN (b): Bakterien							
80	A. K. 26.11.57	-	-	-	3x gelbe K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							
81	Z. K. 25.05.65	-	-	-	-								
82	H. L. 29.03.45	-	3x hellbraun glänzende K. ohne Hof	-	7x hellbraun glänzende K. ohne Hof	Dix (b): Bakterien LN (b): Bakterien							
83	J. M. 23.09.84	-	multiple weiße K. ohne Hof	-	multiple weiße K. ohne Hof	Dix (b): Candida albicans LN (b):							

						Candida albicans							
84	S. M. 03.09.62	-	-	-	-								
85	E. S. 11.02.21	-	multiple weiße K. ohne Hof	-	multiple weiße K. ohne Hof								Dix (b): Saccharo. cerevisiae LN (b): Saccharo. cerevisiae
86	T. S. 31.07.58	-	9x weiße K. ohne Hof	-	3x weiße K. ohne Hof	Dix (b): Candida albicans							LN (b): Candida albicans
87	C. Y. 01.09.76	-	-	-	2x hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							

Probandinnen vom 18.10.2000

Lfd. Nr.	Name Geburtsstag	mDixon-Agar		Leeming-Notman-Agar		Mikros- kopie	Auxonogramme					Differen- zierung nach ID 32	
		Malassezia (a)	andere (b)	Malassezia (a)	andere (b)		Tween®20	Tween®40	Tween®60	Tween®80	Crem El		Ergebnis
88	R. A. 07.02.42	-	-	-	-								
89	S. B. 25.10.17	-	1x weiße K. ohne Hof	-	3x weiße K. ohne Hof								Dix (b): Candida glabrata LN (b): Candida glabrata
90	C. F. 13.06.61	-	-	-	-								
91	I. J. 20.01.54	-	-	-	-								
92	D. M. 10.06.77	-	1x hellbraun glänzende K. ohne Hof	-	-	LN (b): Bakterien							
93	G. P. 22.05.41	-	-	-	multiple weiße K. ohne Hof								LN (b): Candida glabrata
94	G. R. 18.03.75	-	3x hellbraun glänzende K. ohne Hof	-	-	LN (b): Bakterien							
95	A. S. 06.11.78	-	3x weiße K. ohne Hof	-	2x weiße K. ohne Hof	Dix (b): Candida albicans LN (b):							

						Candida albicans							
96	M. S. 24.08.47	-	-	-	1x rote K. ohne Hof	LN (b): Rhodo- torula							
97	C. S. 30.07.69	-	8x weiße K. ohne Hof	-	10x weiße K. ohne Hof	Dix (b): Candida albicans LN (b): Candida albicans							
98	A.-C., S. 10.07.81	-	-	-	-								
99	M. T. 04.06.59	-	1x hellbraun glänzende K. ohne Hof	-	-	LN (b): Bakterien							
100	H. T. 15.04.67	-	-	-	3x hellbraun glänzende K. ohne Hof	LN (b): Bakterien							

Unter der Rubrik „Name“ stehen die Anfangsbuchstaben des Vor- und Nachnamens der jeweiligen Probandin.

Unter der Rubrik „andere (b)“ sind alle anderen Pilzarten gemeint außer *Malassezia* spp..

„-“ unter der Rubrik „mDixon-Agar und Leeming-Notman-Agar“ bedeutet keine makroskopisch nachweisbare Kolonie.

## 9 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AIDS	Acquired immuno deficiency syndrome
Aqua dest.	Aqua destillatum
bzw.	beziehungsweise
C	Celsius
<i>C.</i>	<i>Candida</i>
CBS	Centralbureau voor Schimmelcultures, Baarn, The Netherlands
CD	Cluster of differentiation; internationale Nomenklatur für Oberflächenantigene
CFU	Colony forming units
cm	Zentimeter
CMV	Cytomegalie Virus
Crem El	Cremophor EL
d.h.	das heißt
(m)Dix	(modifizierter) Dixon-Agar
<i>E.</i>	<i>Eschericha</i>
et al.	et alterans
etc.	et cetera
Fa.	Firma
g	Gramm
ggf.	gegebenenfalls
Glc	Glukose
h	Stunde
HBV	Hepatitis-B-Virus
HCV	Hepatitis-C-Virus
HDV	Hepatitis-D-Virus
HIV	Human immunodeficiency virus
HLA	Human leukocyte antigen
HLB	Hydrophilic-lipophilic-balance
HPV	Humanes Papilloma Virus
HSV-1	Herpes simplex Virus-1
HSV-2	Herpes simplex Virus-2
ICAM	Intercellular adhesion molecule

K.	Kolonien
l	Liter
Lfd. Nr.	Laufende Nummer
LN	Leeming-Notman-Agar
m	Meter
µg	Mikrogramm
min.	Minuten
Mischkult.	Mischkultur
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
<i>M.</i>	<i>Malassezia</i>
<i>M. pachy.</i>	<i>Malassezia pachydermatis</i>
<i>M. symp.</i>	<i>Malassezia sympodialis</i>
n	absolute Häufigkeit
<i>P.</i>	<i>Propionibakterien</i>
PF/MF	<i>Pityrosporum</i> follikulitis / <i>Malassezia</i> follikulitis
pH	Pondus hydrogenii; negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionen
PV	Pityriasis versicolor
SE	Seborrhoisches Ekzem
SPF	Selektivagar für pathogene Pilze
spp.	Spezies
STD	Sexually transmitted disease
T	Type-strain
Tab.	Tabelle
TH	T-Helferzellen
u.a.	unter anderem
UK	United Kingdom
UV	ultraviolett
Vol.	Volumenanteil
vs.	versus
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil

## 10 Danksagung

Herrn PD Dr. med. Peter Mayser, Leiter des Mykologischen Labors der Dermatologischen Klinik der Justus Liebig-Universität, gilt mein besonderer Dank für die Möglichkeit, meine Dissertation am Medizinischen Zentrum für Dermatologie und Andrologie der Justus-Liebig-Universität Gießen durchzuführen sowie für die großzügige Unterstützung meiner wissenschaftlichen Arbeit. Er stand mir zu jeder Zeit mit wissenschaftlichem Rat zur Seite.

Bei Frau U. Förste, Medizinisch-Technische Assistentin im Mykologischen Labor, bedanke ich mich recht herzlich, die durch ihre Praxiserfahrung und ihr Engagement bei der Herstellung von Nährmedien wesentlich zum Gelingen meiner Arbeit beigetragen hat.

Frau Erb und deren Mitarbeiter aus dem Fotolabor danke ich für die entstandenen Fotos, sie standen mir jederzeit mit ihrem fachlichen Rat zur Seite.

Darüber hinaus bedanke ich mich bei der Andrologischen Abteilung des Zentrums für Dermatologie und Andrologie, insbesondere bei den Oberärzten Herrn Dr. med. H.-C. Schuppe und Herrn Dr. med. A. Jung, die es mir überhaupt ermöglichten diese Arbeit durchzuführen, indem sie mir Abklatschpräparate aus der Andrologischen Sprechstunde zukommen ließen.

Ebenso gilt mein Dank an die Schwestern und Ärzte der Poliklinik der Gynäkologie und Geburtshilfe, von denen ich Abstriche aus dem hinteren Scheidengewölbe für meine Untersuchungen bekam.

Einen herzlichen Dank geht an Frau Scharfe, die mir bei der Übersetzung der Publikation für das BJU (British Journal of Urology) behilflich war und mir mit konstruktiver Kritik jederzeit zur Seite stand.

Besonderer Dank geht auch an meine guten Freunde Herrn Bernhard Krönung sowie Herrn Udo Weber, die mir in Computerfragen eine große Hilfe waren.

Weiterer Dank geht auch an meine Mit-Doktoranden, die zu einem sehr schönen, angenehmen Arbeitsklima im Labor beigetragen haben.

Vor allem danke ich meinen Eltern, die mir das Studium der Humanmedizin ermöglicht haben und auf deren Unterstützung ich mich immer verlassen konnte.

## 11 Tabellarischer Lebenslauf

Name: Marianne Ingeborg Margarete Schütz  
Geburtsdatum: 14.01.1977  
Geburtsort: Gießen  
Eltern: Dr. med. Karl-Heinz Schütz, geb. am 02.07.1920,  
Facharzt für Innere Medizin  
Waltraut Schütz, geb. am 21.09.1932, Krankenschwester

### Schulbildung:

1983 – 1987 Grundschule in Schotten  
1987 – 1989 Förderstufe  
Gesamtschule Schotten (Vogelsbergschule)  
1989 – 1993 gymnasialer Zweig  
Gesamtschule Schotten (Vogelsbergschule)  
1993 – 1996 gymnasiale Oberstufe  
Laubach – Kolleg  
1996 Abitur am Laubach - Kolleg

### Studium:

WS 1996/97 Studium Diplom – Biologie an der  
Justus-Liebig-Universität Gießen  
SS 1997 Studium der Humanmedizin an der  
-WS 2001/02 Justus-Liebig-Universität Gießen  
SS 2002 Studium der Humanmedizin an der  
-SS 2003 Philipps-Universität Marburg

### Examina:

22.03.1999 Ärztliche Vorprüfung  
23.03.2000 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
03.04.2002 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
13.05.2003 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Ich erkläre ehrenwörtlich: Ich habe die dem Fachbereich Humanmedizin der Justus-Liebig-Universität in Gießen vorgelegte Dissertation mit dem Titel

„Häufigkeit und Spektrum von *Malassezia*-Hefen im Bereich des Präputialraumes und der Glans penis sowie im Bereich des hinteren Vaginalgewölbes“

im Medizinischen Zentrum für Dermatologie und Andrologie, Klinikum der Justus-Liebig-Universität, Gießen

unter Betreuung von: PD Dr. med. Peter Andreas Mayser

selbständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät bzw. Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Gießen, den 25.06.2003

Marianne Ingeborg Margarete Schütz

Vorliegende Arbeit wurde auf folgenden Kongressen vorgestellt und in folgenden Publikationsorganen veröffentlicht:

09.03.-10.03.2001 130. Tagung der Vereinigung Südwestdeutscher Dermatologen in Marburg, Posterpräsentation  
„Häufigkeit und Spektrum von *Malassezia*-Hefen im Bereich des Präputialraumes und der Glans penis“

13.09.-15.09.2001 35. Wissenschaftliche Tagung der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft e.V. in Marburg, Vortrag  
„Verteilung von *Malassezia*-Hefen im Bereich des Präputialraumes und der Glans penis – Häufigkeit und Spektrum“

*Mycoses* 44(6): 235-236, 2001

„Verteilung von *Malassezia*-Hefen im Bereich des Präputialraumes und der Glans penis – Häufigkeit und Spektrum“

*BJU (British Journal of Urology) International* 88(6): 554-558, 2001

„Frequency and spectrum of *Malassezia* yeasts in the area of the prepuce and glans penis“

Gießen, den 25.06.2003

Marianne Ingeborg Margarete Schütz