

gyne

Milchsäure macht den Unterschied: Eine Face-to-Face Studie mit Clotrimazol

H.-J. Tietz,
T. Yesilkaya

Milchsäure macht den Unterschied: Eine Face-to-Face Studie mit Clotrimazol

H.-J. Tietz, T. Yesilkaya

Die vaginale Kandidose ist eine schwierige Infektion, da keine Immunität entsteht und die Infektion wiederkehren kann, was die Lebensqualität vieler Patientinnen oft über Jahre beeinträchtigt [1].

Mindestens 75 % aller Frauen erkranken einmal im Leben an einer solchen Mykose [2]. Weltweit leiden knapp 400 Millionen Frauen an einer chronischen Infektion [3]. In Deutschland sind es etwa eine Million Frauen im Alter zwischen 15 und 54 Jahren [4]. Ihr häufigster Erreger, der Hefepilz *C. albicans*, ist somit einer der bedeutendsten Krankheitserreger unserer Zeit (► Abb. 1).

Der Pilz hat sich im Verlauf der Evolution perfekt an eine Koexistenz mit dem Menschen angepasst. Er arrangiert sich nicht nur mit dem Immunsystem. Ebenso gedeiht er anaerob wie aerob, bei sauren und basischen pH-Werten, lebt in Allianz mit gesunden Milchsäurebakterien und in Gegenwart von pathogenen Keimen wie *Gardnerella vaginalis* [5]. Er kann auf Zahnstein, Piercings, Intra-Uterin-Pessaren siedeln, und dickwandige Chlamyosporen bilden, die sein Überleben sichern. Viele Gründe, weshalb die Infektion so hartnäckig verlaufen kann [6].

Ein nachhaltiger Heilerfolg ist jedoch möglich, wenn der Erreger komplett eliminiert wird. Dies gelingt am besten mit einer dreistufigen Pyramide aus Lokalthherapie, systemischer Langzeitbehandlung mit Fluconazol oder Itraconazol und der Sanierung der Infektionsquellen beider Partner [4, 6–9]. Imp-

fungen und Anti-Pilz-Diäten erfüllen die Erwartungen an eine nachhaltige Heilung dagegen nicht [9].

Das Fundament der Therapie ist die Lokalbehandlung. Die wichtigsten Substanzen sind Nystatin, Clotrimazol, und Miconazol, mit denen sich die allermeisten Patientinnen bei sporadischen Episoden nahezu immer erfolgreich in Eigenregie behandeln [10]. Von großer Bedeutung für den Heilerfolg ist auch die Galenik der Formulierungen. So ist Clotrimazol nicht gleich Clotrimazol. Seit der Entdeckung durch Manfred Plempel ist bekannt, dass Clotrimazol seine größte Wirkung in einem sauren Milieu entfaltet und die Erreger bei einem niedrigen pH-Wert am empfindlichsten sind [11, 12].

In einer In-Vitro-Vergleichsstudie zwischen zwei kommerziell erhältlichen Clotrimazol-Vaginaltabletten konnte eine 5-fache Überlegenheit der Milchsäureformulierung gegenüber der ohne diesen Zusatz gezeigt werden [13]. Nicht geklärt werden konnte dabei, ob der Unterschied allein auf die spezifische Wirkung der Milchsäure zurückzuführen ist, oder auch andere galenische Faktoren eine Rolle spielten. Diese Frage sollte in der hier vorliegenden In-Vitro-Studie untersucht werden.

Milchsäure in der Pathogenese und Therapie von Mykosen

Milchsäure ist von zentraler Bedeutung in der gynäkologischen Infektiologie. Einerseits ist es der ideale natürliche Wirkstoff zur Abwehr von bakteriellen Infektionen. Andererseits leben ihre Produzen-

ten, die gesunden Milchsäurebakterien, mit Pilzerregern in Symbiose und spielen eine herausragende Rolle in der Pathogenese der Mykose [14]. Nicht zufällig tritt sie meist nach dem Eisprung in der zweiten Zyklushälfte auf, zum Zeitpunkt der höchsten Bakteriendichte und dem Höhepunkt der Säureproduktion. *C. albicans* gerät in diesem Moment in eine exponentielle Wachstumsphase, mit all den damit verbundenen klinischen Beschwerden [15].

Die Säureresistenz der Hefen erklärt sich aufgrund der in den Genen angelegten pH-Toleranz [16], die ein Überleben bis zu einem Wert von 2,5 erlaubt, womit der Pilz auch im Magen siedeln kann [17]. Zwar produzieren die gesunden Bakterien neben der Säure ebenfalls das für

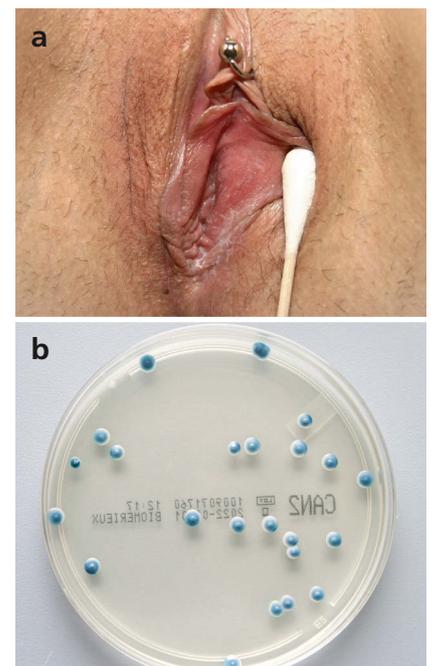


Abb. 1: Vaginale Kandidose (a) mit Nachweis von *C. albicans* auf diagnostischem Candida-Selektivagar (b).



Abb. 2: Semiquantitativer Nachweis der Wirkung fabrikidentischer 200 und 500 mg Clotrimazol- Vaginaltabletten mit (+) und ohne (-) Zusatz von Milchsäure gegenüber *Candida albicans*.

viele Erreger toxische H_2O_2 . Doch auch darauf hat der Erreger eine Antwort. Mit Hilfe von Katalase spaltet *C. albicans* das für andere Keime tödliche H_2O_2 und dessen Radikale [18].

Ein positiver Nebeneffekt dieser Phänomene ist, dass die zu Pilzinfektionen neigenden Frauen aufgrund ihrer meist reichlich vorhandenen gesunden Flora selten an einer bakteriellen Vaginose oder einer Harnwegsinfektion erkranken [9]. Dass *C. albicans* Säure „liebt“, erkannte bereits der weltberühmte Leipziger Gynäkologe Döderlein: „Ich glaube schließen zu dürfen, dass das normale Scheidensekret die Ansiedlung der Soorpilze begünstigt“ [20].

Umso erstaunlicher ist, dass Milchsäurebakterien noch immer zur

Therapie und Vorbeugung vaginaler Kandidosen empfohlen werden. Spezies wie *L. plantarum* sind zwar durchaus in der Lage, mit den Pilzen um die Rezeptoren in der Scheide zu konkurrieren [21, 22], grundsätzlich sind aber auch sie pilzfreundlich. Andererseits ist das exponentielle Wachstum des Erregers im Säuren auch seine Achillesferse. In dieser Phase bildet er Angriffspunkte für Antimykotika und ist damit therapeutisch angreifbar [14]. Entsprechend höher wirksam sind Präparate mit Zusatz von Milchsäure als solche ohne Supplementierung [11, 12], ein Postulat auch dieser Studie.

Direktvergleich identischer Clotrimazol-Vaginaltabletten mit und ohne Milchsäure

Das Ziel der vorliegenden Studie bestand darin, die Überlegenheit

von 200 und 500 mg Clotrimazol-Vaginaltabletten mit dem Zusatz Milchsäure im Vergleich zu identischen Fabrikaten ohne diesen Zusatz experimentell nachzuweisen und zu quantifizieren. Als Vorversuch diente ein einfacher Test, bei dem die Vaginaltabletten direkt auf einen zuvor mit *C. albicans* beimpften Agar gelegt wurden (► Abb. 2). Hierbei wurden folgende Vaginaltabletten miteinander verglichen: Canesten® GYN 3-Tage-Kombi Vaginaltabletten mit 200 mg Clotrimazol – verwendbar bis 10/2023 – Ch.-B.: GP024LA, Canesten® GYN Once Kombi Vaginaltablette mit 500 mg Clotrimazol – verwendbar bis 10/2023 – Ch.-B.: GP022PL, Canesten® GYN 200 mg und 500 mg Clotrimazol ohne Milchsäure – Material-Nr. 38899331.

Bereits hier zeigt sich eindrucksvoll die höhere Wirksamkeit der Tabletten mit Milchsäure im Vergleich zu den säurefreien Fabrikaten. Vermessen mit der Software ImageJ vom National Institutes of Health (NIH) zeigten sich die folgenden quantitativen Unterschiede:

1. 200 mg ohne Milchsäure vs. 200 mg mit Milchsäure = 1:1,5, gleichbedeutend einer Vergrößerung des Hemmhofes durch die Milchsäure um 47 %,
2. 500 mg ohne Milchsäure vs. 500 mg mit Milchsäure = 1:1,6, gleichbedeutend einer Vergrößerung des Hemmhofes durch die Milchsäure um 55 %.

Experimenteller Aufbau des Dilutionstests

Methode der Wahl zur Quantifizierung der Hemmeffekte war ein bereits etablierter Flüssigmedium-Dilutionstest mit Ermittlung der Anzahl koloniebildender Einheiten (CFU/ml) als Maßeinheit [13]. Geprüft wurden Clotrimazol-Fabrikate von 200 und 500 mg, mit und ohne Zusatz von Milchsäure in ansons-

ten identischer Zusammensetzung (► Abb. 3).

Die Tabletten wurden gemörsert und in Wasser gelöst. Als Verdünnungsmittel diente abgekochtes und nicht gepuffertes Berliner Leitungswasser mit einem neutralen und das Experiment damit nicht beeinflussenden pH-Wert von 7,4. Die gemörserten Tabletten wurden in 4 ml Wasser gelöst, mit einer aus vier Kolonien bestehenden 4 ml-Erreger-Suspension im Verhältnis von 1 ml:1 ml vermischt und über Nacht bei 37°C inkubiert. Zwecks Auswertbarkeit und Sichtbarmachung der Hemmeffekte wurden die Gemische geometrisch verdünnt und in Volumina von 200 µg mittels Glasspatel homogen auf zwei Nährmedien gespachtelt: den Selektiv-Agar für pathogene Pilze und das Indikatormedium für *C. albicans*, Candida ID (► Abb. 3).

Die Schalen wurden über drei Tage bei 37°C bebrütet. Die Auszählung der Kolonien erfolgte manuell und wurde fotodokumentiert. Der optimale Messbarkeitsbereich lag bei Verdünnungsstufen von 10^{-3} – 10^{-4} . Die Mittelwerte von fünf unabhängigen Hauptversuchen sind in ► Tabelle 1 aufgeführt.

Ergebnisse und Diskussion

Es zeigte sich eine deutliche Überlegenheit der Milchsäure (MS)-Formulierungen gegenüber Vaginaltabletten ohne Milchsäure. 200 mg Clotrimazol mit MS war 4,2-fach fungizider und 500 mg Clotrimazol mit MS war 7,1-fach fungizider. Der Mittelwert für beide Dosierungen mit MS entsprach einer 5,65-fach fungizideren Wirkung und entsprach damit dem Ergebnis der Vergleichsstudie mit handelsüblichen Produkten [13]. Damit ist die Überlegenheit von Canesten® GYN-Vaginaltabletten klar auf die spezifische Wirkung der Milchsäure zu-

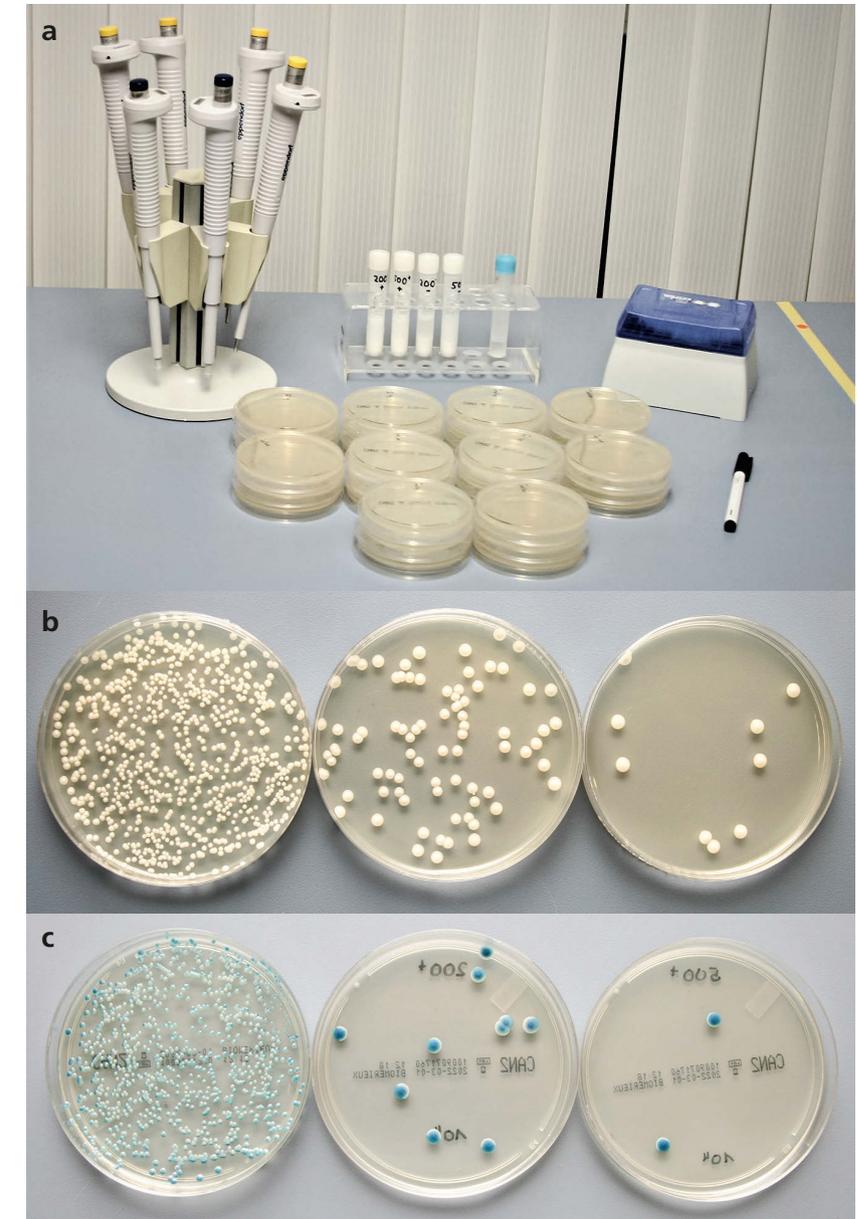


Abb. 3: (a) Experimenteller Aufbau des Mikrodilutionstests. Die Vaginaltabletten wurden in Wasser gelöst, danach zu gleichen Teilen mit einer Erregersuspension von *C. albicans* vermischt und in geometrischen Stufen bis zu einem optimal messbaren Bereich von 10^{-4} verdünnt. (b) und (c): Die Schalen zeigen exemplarisch die aus den 10^{-3} und 10^{-4} Verdünnungen exakt zählbaren Kolonien von *C. albicans* auf Selektivagar für pathogene Pilze (b) und Candida ID-Agar (c), jeweils in der Mitte Clotrimazol ohne Milchsäure und rechts Clotrimazol mit Milchsäure im Vergleich zur Negativkontrolle ohne Antimykotikum (links).

rückzuführen, das Hauptergebnis der vorliegenden Studie.

Bemerkenswert ist, dass 200 mg Clotrimazol in Milchsäure der Wirkung von 500 mg ohne Milchsäure entsprachen. Die Überlegenheit von Faktor 7,1 zu 4,2 legt zudem die Vermutung nahe, dass der sy-

nergistische Wirkeffekt von Clotrimazol in Milchsäure mit der Dosis von Clotrimazol steigt, ein Phänomen, welches in Signifikanzstudien weiter untersucht werden sollte.

Clotrimazol ist ein grundsätzlich hochwirksames Antimykotikum, unabhängig von der Dosis und

Nährmedien	Vaginaltabletten			
	200 mg		500 mg	
	MS ⁻	MS ⁺	MS ⁻	MS ⁺
Sabouraud	57,6 ±4,7	14,4 ±2,3	17,0 ±3,7	2,6 ±1,1
Candida ID	58,2 ±7,1	13,3 ±1,3	15,6 ±1,1	2,0 ±0,7
gesamt	57,9 ±5,7	13,8 ±1,9	16,3 ±2,7	2,3 ±0,9
Hemm-Faktor	4,2		7,1	

Tab. 1: Vergleich der Hemmwirkung von Clotrimazol-Vaginaltabletten in zwei Dosierungen (200 mg und 500 mg), mit und ohne Zusatz von Milchsäure (MS⁺, MS⁻), anhand von koloniebildenden Einheiten von *C. albicans* in Mittelwerten und Standardabweichungen, ermittelt im Dilutionstest bei einer Verdünnung von 10⁻⁴ mithilfe zweier Medien in jeweils fünf voneinander unabhängigen Testserien.

dem Zusatz von Milchsäure, wie der Vergleich zu den Kontrollen ohne Wirkstoff zeigt (► Abb. 4). Es häufen sich jedoch Stämme der Spezies *C. albicans* mit einer Resistenz gegenüber Fluconazol. Diese kommen überwiegend aus Ländern, in denen Fluconazol frei verkäuflich ist, eine Situation, in der Resistenzen entstehen können [22, 23]. In unserem Einzugsgebiet liegt der Anteil bei nur etwa 5 % [24].

Das Problem besteht jedoch in einer Kreuzresistenz der Erreger gegenüber allen anderen Azolen [24]. Von praktischer Bedeutung ist deshalb die hier beobachtete etwa 25-fach stärkere Wirkung von 500 mg Clot-

rimazol in Milchsäure gegenüber 200 mg Clotrimazol ohne Milchsäurezusatz (► Tab. 1).

Daraus ergibt sich die Überlegung, bei Verdacht auf Resistenz und Therapieversagen das Clotrimazol mit der größten Wirkung einzusetzen: Das sind 500 mg in Milchsäure. Ein vielversprechender Ansatz, um dank der nachgewiesenen fulminanten Wirkung aufkommende Resistenzen zu durchbrechen beziehungsweise zu verhindern.

Zusammengefasst zeigt sich auch hier, wie brillant die Idee von Manfred Plempel war, das von ihm entdeckte Clotrimazol mit Milchsäure als Wirkverstärker zu kombinieren [11].

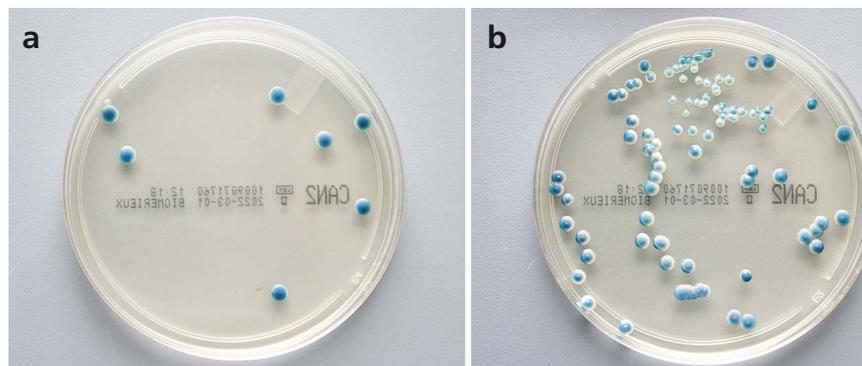


Abb. 4: Direktvergleich der Hemmwirkung einer 500 mg Vaginaltablette mit Milchsäure (a) im Vergleich zur säurefreien Formulierung (b) bei einer Verdünnung der Erreger-Antimykotikum-Gemische von 10⁻⁴.

Literatur:

- Matter-Walstra K. Chronisch-vaginale Pilzinfekte – Untersuchungen zur Lebensqualität betroffener Frauen. Schweiz Zschr Ganzheits Medizin 2000; 4, 205–11
- de Cássia Orlandi Sardi J et al. Vulvovaginal Candidiasis: Epidemiology and Risk Factors, Pathogenesis, Resistance, and New Therapeutic Options. Curr Fungal Infect Rep 2021;15,32–40
- Denning DW et al. Global burden of recurrent vulvovaginal candidiasis: a systematic review. Lancet Infect Dis 2018;18:339–47
- AWMF Leitlinie Vulvovaginalkandidose 015/072. 2020
- Tietz HJ. Porträt eines Überlebenskünstlers. Der Privatarzt Gynäkologie 2019;10:12–4
- Tietz HJ & Gunkel U. Mykosen bei Kindern und Erwachsenen. 2. Auflage, 2021. ISSN 2365-7618; 2365-7618
- Mendling W. Diagnostik und Therapie beim Symptom Fluor. FRAUENARZT 2018;59:120–8
- Donders G et al. Individualized decreasing dose maintenance Fluconazole regimen for recurrent vulvovaginal candidiasis. Am J Obstet Gynecol 2008;199:613–9
- Tietz HJ, & Gunkel U. Mykosen in der gynäkologischen Praxis. Vaginale Kandidosen. gyne 2020;41:32–40.
- Tietz HJ et al. Behandlung akuter Vaginalmykosen mit Clotrimazol. gyne 2015;36:27–31
- Plempel M et al. Antimycotic properties of clotrimazole. Postgrad Med J 1974;50:11–2
- Mohr CP. Behandlung von vulvovaginalen Candidamykosen mit Clotrimazol in Milchsäureformulierung. Ärztliche Kosmetologie 1987;17,438–46
- Tietz HJ & Yesilkaya T. Clotrimazol mit und ohne Milchsäure – eine vergleichende quantitative Wirksamkeitsstudie. Gyn Depesche 2020;23: 33–7
- Tietz HJ. Milchsäure in der Pathogenese und Therapie von Mykosen. gyne 2021;42: 68-72
- Voss H & Herrlinger R. Taschenbuch der Anatomie. Gustav Fischer Verlag Jena. 1972;2:209–10
- Döderlein, A. Das Scheidensekret und seine Bedeutung für das Purperalfieber. Verlag von Eduard Besold; Leipzig 1892
- Mühlschlegel FA & Fonzi WA. PHR2 of *Candida albicans* encodes a functional homolog of the pH-regulated gene PHR1 with an inverted pattern of pH-dependent expression. Mol Cell Biol 1997;17(10):5960–7
- Wu Ch-S et al. A prospective study of fungal infection of gastric ulcers: Clinical significance and correlation with medical treatment. Gastrointest Endosc 1995;42:56–8

19. Wyszog et al. Cloning and Sequencing of a *Candida albicans* Catalase Gene and Effects of Disruption of This Gene. *Infect Immun* 1998;66:1953–61
20. De Seta et al. *Lactobacillus plantarum* P176630 für preventing *Candida* vaginitis recurrence: a retrospective comparative study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014;182:136–9
21. Tietz HJ. Chronische Mykosen: Nachhaltige Therapie mit SUBA-Itraconazol und *Lactobacillus plantarum*. *gyne* 2016;37:38–44
22. Hudson MM. Antifungal resistance and over-the-counter availability in the UK: a current perspective. *J Antimicrob Chemother* 2001;48:345–50
23. Whaley SG et al. Azole Antifungal Resistance in *Candida albicans* and Emerging Non-*albicans* *Candida* Species. *Front. Microbiol.* 2017; <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02173>
24. Tietz HJ Nystatin – hoch wirksam, auch bei Azol-Resistenz. *gyne* 2021;42:61–7

Interessenkonflikt:

H.-J. Tietz gibt an, zur Durchführung zweier Studien (Labor) zu Clotrimazol mit und ohne Milchsäure von Bayer Vital GmbH gefördert worden zu sein. T. Yesilkaya gibt an, als Medical Affairs Manager für das Produkt Canesten GYN bei Bayer Vital GmbH angestellt zu sein.

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. med. Hans-Jürgen Tietz
Institut für Pilzkrankheiten
Luisenstr. 50
10117 Berlin
Tel.: 030-28873650

Zusammenfassung

Vaginaltabletten mit Clotrimazol und Zusatz von Milchsäure sind um das durchschnittlich 5,5-fache wirksamer als Formulierungen ohne Milchsäure. Die vorliegende Studie bestätigt, dass Clotrimazol in einem sauren Milieu am wirksamsten und *C. albicans* am empfindlichsten ist. Das bietet eine für die Therapie von Mykosen bestmögliche Synergie.

Schlüsselwörter: Clotrimazol – Milchsäure – Dilutionstest – Mykosen – *C. albicans*

Summary

Lactic acid makes the difference: a face-to-face-study with clotrimazole
H.-J. Tietz, T. Yesilkaya

Vaginal tablets with clotrimazole and the addition of lactic acid are in average 5.5 times more effective than formulations without lactic acid. The present study confirms that clotrimazole is most effective and *C. albicans* most sensitive in an acidic environment. This provides the best possible synergy for the therapy of mycoses.

Keywords: Clotrimazole – lactic acid – dilution test – *C. albicans* – mycoses

Prof. Dr. med.
Hans-Jürgen
Tietz



Dr. Tanju
Yesilkaya



Canesten® GYN

Wirkstoff: Clotrimazol. **Zusammensetzung:** Canesten® GYN 3-Tage-Therapie Vaginalcreme: 1 g Creme enthält 20 mg Clotrimazol. Canesten® GYN 3-Tage-Therapie Vaginaltabletten: 1 Vaginaltablette enthält 200 mg Clotrimazol. Canesten® GYN 3-Tage-Kombi: 1 Vaginaltablette enthält 200 mg Clotrimazol und 1 g Creme enthält 10 mg Clotrimazol. Canesten® GYN Once Kombi: 1 Vaginaltablette enthält 500 mg Clotrimazol und 1 g Creme enthält 10 mg Clotrimazol. **Sonstige Bestandteile:** Vaginaltabletten: Calciumlactat-Pentahydrat, Crospovidon, hochdisperses Siliciumdioxid, Lactose-Monohydrat, Magnesiumstearat (Ph.Eur.), Maisstärke, Hypromellose, mikrokristalline Cellulose, Milchsäure. Creme: Benzylalkohol, Octyldodecanol (Ph.Eur.), Cetylstearylalkohol (Ph.Eur.), Cetylpalmitat (Ph.Eur.), Sorbitanstearat, Polysorbitat 60, gereinigtes Wasser. **Anwendungsgebiete:** Infektiöser Ausfluss, verursacht durch Hefepilze; Entzündungen der Scheide und Schamlippen (*Candida* vulvitis) durch Pilze – meist *Candida* – sowie Superinfektionen mit Clotrimazol-empfindlichen Bakterien. **Gegenanzeigen:** Überempfindlichkeit gegen den Wirkstoff oder einen der sonstigen Bestandteile. Canesten® GYN darf in den folgenden Fällen nur unter ärztlicher Kontrolle angewendet werden: in der Schwangerschaft und Stillzeit; bei erstmaligem Auftreten der Erkrankung; wenn die Erkrankung häufiger als 4-mal im Verlauf der vergangenen 12 Monate aufgetreten ist. Während der Schwangerschaft sollten die Vaginaltabletten verwendet werden, die ohne Verwendung eines Applikators eingeführt werden können. **Nebenwirkungen:** Erkrankungen des Immunsystems. Nicht bekannt (Häufigkeit auf Grundlage der verfügbaren Daten nicht abschätzbar): Angioödem, anaphylaktische Reaktion, Überempfindlichkeit. Erkrankungen des Kreislaufsystems. Nicht bekannt (Häufigkeit auf Grundlage der verfügbaren Daten nicht abschätzbar): Hypotonie, Synkope. Erkrankungen der Atemwege, des Brustraums und des Mediastinums. Nicht bekannt (Häufigkeit auf Grundlage der verfügbaren Daten nicht abschätzbar): Atemnot. Erkrankungen der Haut und des Unterhautzellgewebes. Nicht bekannt (Häufigkeit auf Grundlage der verfügbaren Daten nicht abschätzbar): Hautausschlag, Nesselsucht. Erkrankungen der Geschlechtsorgane und der Brustdrüse. Nicht bekannt (Häufigkeit auf Grundlage der verfügbaren Daten nicht abschätzbar): Vulvovaginaler Juckreiz, vulvovaginales Brennen, vulvovaginale Hautrötung, vaginale Hautablösungen, vulvovaginales Unbehagen, vulvovaginale Schmerzen, Vaginalblutungen, vaginaler Ausfluß. Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts. Nicht bekannt (Häufigkeit auf Grundlage der verfügbaren Daten nicht abschätzbar): Bauchschmerzen, Übelkeit. Allgemeine Störungen an der Verabreichungsstelle. Nicht bekannt (Häufigkeit auf Grundlage der verfügbaren Daten nicht abschätzbar): Hautreizung der Applikationsstelle, Ödeme, Schmerzen. Creme: Benzylalkohol kann allergische Reaktionen hervorrufen. Bei Überempfindlichkeit gegen Cetylstearylalkohol können allergische Reaktionen an der Schleimhaut auftreten. **Warnhinweis:** Creme: Enthält Benzylalkohol und Cetylstearylalkohol! **Bayer Vital GmbH, 51368 Leverkusen, Deutschland Stand: 09/2021**