

Tätigkeitsbericht des Nationalen Referenzzentrums für Invasive Pilzinfektionen (NRZMyk) 2017



Nationales Referenzzentrum für Invasive Pilzinfektionen (NRZMyk)

Leibniz-Institut für Naturstoff-Forschung
und Infektionsbiologie e. V. – Hans-Knöll-Institut Jena

Adolf-Reichwein-Str. 23, 07745 Jena

www.nrz-myk.de

Mitarbeiterverzeichnis

Name	Funktion	Telefon 03641-532...	E-Mail
Prof. Dr. med. Oliver Kurzai	Leiter	1551	oliver.kurzai@leibniz-hki.de
PD Dr. rer. nat. Kerstin Voigt	Stellv. Leiterin Labor	1395	kerstin.voigt@hki-jena.de
Prof. Dr. med. Marie von Lilienfeld-Toal	Stellv. Leiterin Klinik	1720	marie.von_lilienfeld-toal@med.uni-jena.de
Dr. rer. nat. Grit Walther	PostDoc	1038	grit.walther@leibniz-hki.de
Carmen Karkowski	TA	1052	carmen.karkowski@leibniz-hki.de
Grit Mrotzek (seit 10/2017)	TA	1148	grit.mrotzek@leibniz-hki.de
Jan Schönfelder (02 bis 09/2017)	TA	1339	jan.schoenfelder@leibniz-hki.de
Christiane Weigel	TA	1111	christiane.weigel@leibniz-hki.de

Zusammenfassung

Das NRZMyk konnte seine Tätigkeit auch in 2017 weiter ausbauen. Die Zahl der eingesandten Proben nahm erneut erheblich zu und erreichte mit insgesamt 560 untersuchten Materialien ein neues Allzeithoch. In etwa vergleichbarem Umfang nahm auch die Zahl der Beratungsgespräche zu. 2017 erlebten Pilzinfektionen eine erhebliche öffentliche Aufmerksamkeit. Insbesondere Arbeiten des NRZMyk zu Schimmelpilzkeratitiden bei Kontaktlinsenträgern führten auch zu überregionaler medialer Berichterstattung. Gleiches gilt für die globale Ausbreitung von *Candida auris*, einem neuen Erreger invasiver Pilzinfektionen, der im Rahmen nosokomialer Ausbrüche übertragen werden kann. In enger Kooperation zwischen NRZMyk und RKI wurden entsprechende Informationen für diagnostische Labors bereitgestellt und bisher in Deutschland aufgetretene Fälle am NRZMyk untersucht.

Summary

The NRZMyk further expanded its activity in 2017. The number of samples submitted to the NRZMyk increased further and reached a new record with 560 analyzed samples. A similar increase was observed for clinical consultancy services. In 2017, fungal infections also received unprecedented attention from the media. One reason for this was an NRZMyk initiated analyses of cases of fungal keratitis in contact lens wearers in Germany which were taken up by nationwide media. Similarly, the global spread of *Candida auris*, a new emerging fungal pathogen that can be transmitted from patient to patient and is able to cause nosocomial outbreaks, was an important topic. In close cooperation between NRZMyk and RKI, information on *C. auris* were prepared for diagnostic laboratories in Germany. All cases of *C. auris* infection in Germany known to date were collected at the NRZMyk and are currently analysed in detail.

1. Entwicklung bzw. Verbesserung diagnostischer Verfahren, Koordination bei der Standardisierung und Verbreitung allgemeingültiger Testverfahren, Initiierung von Untersuchungen zur Qualitätssicherung.

Entwicklung und Verbesserung diagnostischer Verfahren

Die existierenden Forschungsprojekte zur Entwicklung und Verbesserung diagnostischer Verfahren und therapeutischer Möglichkeiten wurden fortgeführt. Laufende Projekte von zentraler Relevanz für die Forschungstätigkeit des NRZMyk werden im Folgenden kurz dargestellt:

Projekt: Polyphasische taxonomische Revision der *Mucoraceae*

Koordination: NRZMyk (G. Walther)

Partner: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre (Utrecht, S. de Hoog)

Förderung: DFG (WA3581/1-1)

Zusammenfassung

In dem Projekt erfolgt weiterhin die polyphasische taxonomische Aufarbeitung der Taxonomie der *Mucor* spp. Die bisher erhobenen Daten erlauben die taxonomische Revision des *M. circinelloides* Komplexes und eine Assoziationsanalyse von Resistenzmustern bei den klinisch relevanten *Mucor*-Arten. Ziel ist die Erstellung einer Multilocus-Phylogenie der *Mucor*-Verwandtschaft, um den taxonomischen Status der verschiedenen Abstammungslinien innerhalb der Gattung *Mucor* zu klären.

Projekt: FINAR (*Fungal Infections and Emerging Azole Resistance*)

Koordination: NRZMyk (O. Kurzai)

Partner: Institut für Nutzpflanzenforschung (Halle, H. Deising)

Klinik für Vögel und Reptilien (Leipzig, E. Krautwald-Junghanns, V. Schmitt)

Biotype Diagnostic GmbH (Dresden, W. Brabetz)

Förderung: BMBF (InfectControl 2020) 1.12.2015-30.11.2018

Zusammenfassung

In FINAR wird die Entwicklung von Azolresistenz bei *A. fumigatus* in der Umwelt analysiert. Phytopathologen, Veterinärmediziner und Wissenschaftler des NRZMyk erfassen dazu systematisch die Resistenzselektion, analysieren die klinische Relevanz und entwickeln strategische Konzepte zur Verhinderung der Ausbreitung von Resistenzen. Es wurden in mittlerweile 2 abgeschlossenen Sammlungen (2016 und 2017) in agrarischen Ökosystemen etwa 2500 unabhängige Isolate von *A. fumigatus* asserviert. Eine weitere Sammlung läuft aktuell (2018). Zusätzlich wurden auch klinische Isolate aus dem NRZMyk (n=120), sowie Isolate von infizierten Vögeln (n=240) untersucht. Auf dieser Datenbasis wird ein neuer diagnostischer Test entwickelt, der es erlaubt, Schimmelpilzinfektionen schnell zu erkennen und klinisch relevante Resistenzen zu detektieren.

Projekt: CandiSep (*(1,3)- β -D-glucan-based diagnosis of invasive Candida infection versus culture-based diagnosis in patients with sepsis and an increased risk for invasive Candida infection*)

Koordination: Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Jena (F. Bloos)

Partner: Universitätsklinikum Jena (D. Thomas-Rüddel, F. Bloos, P. Schlattmann, N. Brillinger)

Universitätsklinik Erlangen (J. Held)

Universitätsklinikum Köln (O. A. Cornely)

Förderung: BMBF

Zusammenfassung

Im Rahmen der klinischen Studie CandiSep wird untersucht, ob die Messung von BDG in Patienten mit Sepsis und einem hohen Risiko für ICI den Zeitraum bis zur empirischen antifungalen Therapie verkürzt und die Überlebensrate erhöht. Dazu werden Blutproben von Patienten mit schwerer Sepsis und einem erhöhten Risiko für ICI auf das Vorhandensein von *Candida* spp. getestet. Das NRZMyk ist in diesem Projekt für den molekularen Nachweis der *Candida*-Arten verantwortlich. In Kooperation mit dem Universitätsklinikum Erlangen erfolgt in diesem Projekt auch die Evaluierung eines neuen diagnostischen Verfahrens.

Standardisierung/ Verbreitung allgemeingültiger Testverfahren, Qualitätssicherung

Das NRZMyk fungierte auch 2017 als Referenzlabor für den bundesweiten Ringversuch „Schimmelpilze“ des Landesgesundheitsamtes Baden Württemberg und steht auf diese Weise im wissenschaftlichen Austausch mit anderen pilztaxonomisch arbeitenden Instituten wie der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) in Braunschweig und dem Westerdijk Fungal Biodiversity Institute (CBS) in Utrecht, NL. Das NRZMyk hat auch 2017 erfolgreich am INSTAND Ringversuch Hefen/Schimmelpilze teilgenommen.

2. Über die Routine hinausreichende Diagnostik und Feintypisierung von Erregern einschließlich molekularbiologischer Untersuchungen zur Aufklärung epidemiologischer Zusammenhänge.

Die Bedeutung des NRZMyk als zentraler Ansprechpartner für alle Fragen zu Diagnostik und Management invasiver Pilzinfektionen ist in 2017 weiter gewachsen. Dies drückt sich auch in einem erneuten deutlichen Probenzuwachs aus. 2017 wurden im NRZMyk insgesamt 560 Proben bearbeitet. Das entspricht einem Anstieg der Probenzahl von 38% im Vergleich zum Vorjahr (2016: N=405, Abb. 1). Unter den eingesandten Proben waren 82 klinische Materialien und 478 Vitalstämmen. Die Stämme wurden molekular bestimmt und in der Mehrheit der Fälle (451 von 478 Stämmen) einer Resistenztestung mittels Mikrodilution nach EUCAST-Protokoll unterzogen. Die Leistungsdaten sind im Detail in Tabelle 1 aufgeführt. Charakteristisch für die Arbeit des NRZMyk ist das große Spektrum nachgewiesener und identifizierter Erreger. Dies wird der klinischen Herausforderung gerecht, bei unspezifischem Verdacht auf eine Pilzinfektion unabhängig von der Gattungszugehörigkeit einen Erregernachweis auf Speziesebene erzielen zu können.

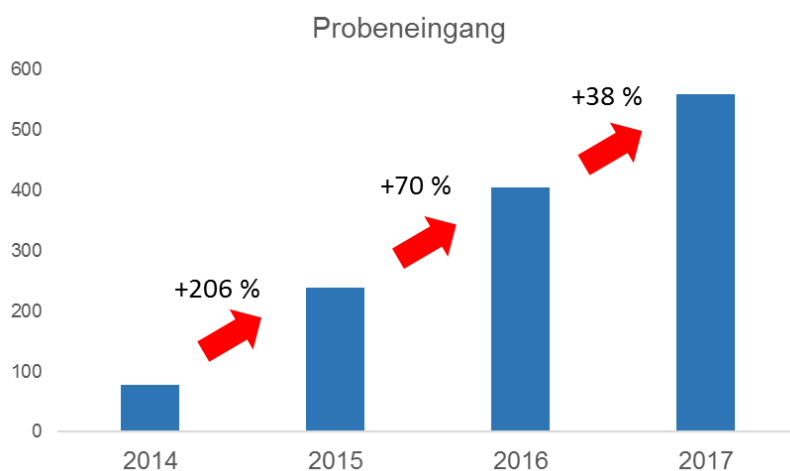


Abb. 1. Die kontinuierliche und erhebliche Zunahme der Anzahl eingehender Proben seit Etablierung des NRZMyk in 2014 zeigt die Akzeptanz des Referenzlabors, führt jedoch gleichzeitig zu einer deutlichen Zunahme des Arbeitspensums und der Kosten.

Tab. 1: Leistungsdaten des NRZMyk für das Jahr 2016

Anzahl der bearbeiteten Proben insgesamt	560
a) Anzahl der klinischen Proben	82
davon:	
Gewebeproben – nativ (einschließlich 25 Hornhaut-Proben)	43
Gewebeproben - Paraffin-Präparate	6
BAL	13
Blut	1
Liquor	2
Punktate	12
DNA-Extrakte	2
Trachealsekrete	2
Sputum	1
b) Anzahl der identifizierten Vitalstämme	478
<i>Alternaria alternata</i>	2
<i>Alternaria sp. (Infectoria-Artengruppe)</i>	1
<i>Apiotrichum mycotoxinivorans (Syn. Trichosporon m.)</i>	6
<i>Arthroderma benhamiae</i>	2
<i>Arthrographis kalrae</i>	1
<i>Aspergillus chevalieri</i>	1
<i>Aspergillus flavus</i>	9
<i>Aspergillus fumigatus</i>	118
<i>Aspergillus hiratsukae</i>	1
<i>Aspergillus luchuensis</i>	1
<i>Aspergillus nidulans</i>	1
<i>Aspergillus niger s. str.</i>	1
<i>Aspergillus quadrilineatus x echinulatus</i>	1
<i>Aspergillus sydowii</i>	1
<i>Aspergillus tubingensis</i>	6
<i>Aspergillus udagawae</i>	1
<i>Aspergillus welwitschiae</i>	1
<i>Blastobotrys raffinosifermentans</i>	4
<i>Candida albicans</i>	80

<i>Candida auris</i>	5
<i>Candida blankii</i>	1
<i>Candida dubliniensis</i>	5
<i>Candida glabrata</i>	35
<i>Candida krusei</i>	17
<i>Candida orthopsilosis</i>	2
<i>Candida palmiroleophila</i>	1
<i>Candida parapsilosis</i>	16
<i>Candida pararugosa</i>	1
<i>Candida pelliculosa</i>	1
<i>Candida tropicalis</i>	4
<i>Cladosporium cladosporioides</i> Komplex	1
<i>Clavispora lusitaniae</i>	6
<i>Coniochaeta</i> sp.	1
<i>Cryptococcus neoformans</i> s. str.	1
<i>Cunninghamella bertholletiae</i>	1
<i>Cutaneotrichosporon cyanovorans</i> (Syn. <i>Cryptococcus cyanovorans</i>)	1
<i>Cyberlindera fabianii</i>	3
<i>Dipodascus geotrichum</i> (Syn. <i>Geotrichum candidum</i>)	2
<i>Exophiala dermatitidis</i>	3
<i>Exophiala lecanii-corni</i>	1
<i>Exophiala oligosperma</i>	2
<i>Exophiala spinifera</i>	1
<i>Fusarium keratoplasticum</i>	3
<i>Fusarium oxysporum</i> Komplex	20
<i>Fusarium petroliphilum</i>	10
<i>Fusarium proliferatum</i>	10
<i>Fusarium solani</i> Komplex	3
<i>Fusarium solani</i> s. str.	2
<i>Fusarium</i> sp. (FDSC)	1
<i>Hormographiella aspergillata/Coprinopsis cinerea</i>	1
<i>Kazachstania pintolopesii</i>	1
<i>Lichtheimia corymbifera</i>	4
<i>Lichtheimia ornata</i>	1
<i>Lomentospora prolificans</i>	7
<i>Magnusiomyces capitatus</i>	2
<i>Meyerozyma caribbica</i>	1
<i>Microascus</i> sp.	1
<i>Mucor circinelloides</i>	4
<i>Naganishia diffluens</i>	1
<i>Neurospora crassa</i> Komplex	2
<i>Nothophoma quercina</i>	1
<i>Paecilomyces formosus</i>	1
<i>Paecilomyces variotii</i>	1
<i>Penicillium crustosum</i>	3
<i>Penicillium polonicum</i>	1
<i>Penicillium rubens</i>	1
<i>Pichia</i> sp.	2
<i>Psathyrella candolleana</i>	1
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	2
<i>Rhinochadiella similis</i>	1
<i>Rhizopus arrhizus</i>	3
<i>Rhizopus microsporus</i>	6
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	7

<i>Saksenaea</i> sp.	1
<i>Saprochaete clavata</i> (Syn. <i>Geotrichum clavatum</i>)	1
<i>Sarocladium strictum</i>	1
<i>Scedosporium apiospermum</i>	8
<i>Scedosporium dehoogii</i>	1
<i>Scedosporium minutisporum</i>	1
<i>Schwanniomyces polymorphus</i>	1
<i>Sporothrix schenckii</i>	1
<i>Talaromyces columbinus</i>	1
<i>Tintelnotia destructans</i>	2
<i>Trichophyton interdigitale</i>	1
<i>Trichophyton rubrum</i>	1
<i>Trichosporon asahii</i>	1
<i>Trichosporon coremiiforme</i>	1
<i>Wickeromyces anomalus</i>	1
<i>Yarrowia lipolytica</i> (Syn. <i>Candida lipolytica</i>)	1
Anzahl der Proben mit Antimykogramm	451

Anzahl der molekularen Resistenztestungen/Anzahl der nachgewiesenen Mutationen, die zu Aminosäureaustauschen führen:

<i>Aspergillus fumigatus</i> , P450-Sterol-14-Demethylase-Gen (cyp51A)	23/14
<i>Candida albicans</i> , 1,3-Beta-D-Glucan-Synthase (FKS1)	11/7
<i>Candida glabrata</i> , 1,3-Beta-D-Glucan-Synthase (FKS1 und FKS2)	20/12
<i>Candida krusei</i> , 1,3-Beta-D-Glucan-Synthase (FKS1)	13/13

Anzahl der durchgeführten Subtypisierungen/davon Ausbruchsverdacht **2/1**

Die Speziesidentifizierung der Erreger invasiver Mykosen erfolgt am NRZMyk mittels sequenzbasierter Verfahren. Nach erfolgter Gattungszuordnung anhand der Morphologie werden standardmäßig Sequenzierungen von Markergenen durchgeführt, die in der Mehrzahl der Fälle eine Artdifferenzierung der Isolate erlauben (Tab. 2). Die Bestimmung der Spezies erfolgt auf Basis von internen Alignments, die nur sicher charakterisierte Isolate umfassen und entsprechend der taxonomischen Entwicklungen aktualisiert werden. 2017 wurde in zwei Fällen eine Feintypisierung von Erregern durchgeführt. Dazu werden je nach Art verschiedene PCR- und Sequenz-basierte Methoden wie RFLPs (Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus), RAPDs (Randomly Amplified Polymorphic DNA) und Mikrosatelliten-PCR und Multilokus-Sequenztypisierung (MLST) eingesetzt. In einem Fall konnte auf der Basis der Multilocus-Sequenzdaten ein Ausbruchsgeschehen nicht ausgeschlossen werden.

Tab. 2: Ausgewählte Markergene für die Speziesbestimmung von klinischen Isolaten.

Alignment	Marker
<i>Acremonium sensu lato</i>	ITS und 28S D1/D2 Domäne (LSU)
<i>Aspergillus</i> Sektion <i>Fumigati</i>	Beta-Tubulin und ITS
<i>Aspergillus</i> Sektion <i>Nidulantes</i>	Beta-Tubulin
<i>Aspergillus</i> Sektion <i>Nigri</i>	Beta-Tubulin, Calmodulin
<i>Aspergillus</i> Sektion <i>Terrei</i>	Beta-Tubulin
<i>Aspergillus</i> Sektion <i>Usti</i>	Beta-Tubulin
<i>Aspergillus</i> Sektion <i>Versicolores</i>	Beta-Tubulin
<i>Alternaria</i>	ITS, Translationselongationsfaktor 1alpha (TEF), zweitgrößte Untereinheit der RNA-Polymerase II (RPB2)
<i>Blastobotrys</i>	ITS, LSU
<i>Candida</i>	ITS
<i>Cryptococcus</i>	ITS
<i>Cunninghamella</i>	ITS
<i>Exophiala</i>	ITS
<i>Fusarium fujikuroj</i> Artkomplex	Translationselongationsfaktor 1alpha (TEF)
<i>Fusarium oxysporum</i> Artkomplex	Translationselongationsfaktor 1alpha (TEF)
<i>Fusarium solani</i> Artkomplex	Translationselongationsfaktor 1alpha (TEF)
<i>Geotrichum</i>	ITS
<i>Lichtheimia</i>	ITS
<i>Mucor circinelloides</i> Artkomplex	ITS
<i>Rhizopus</i>	ITS
<i>Rhodotorula</i>	LSU
<i>Saksenaea</i>	ITS
<i>Scedosporium/Lomentospora</i>	ITS
<i>Sporothrix</i>	Calmodulin
<i>Trichosporon</i>	ITS
<i>Trichosporon asahii</i> Artkomplex	Intergeneric spacer-Region (IGS)

3. Führen einer Stammsammlung und Abgabe von Referenzstämmen bzw. von diagnostikspezifischen Referenzpräparaten.

Die Jenaer Mikroorganismensammlung (*Jena Microbial Resource Collection/JMRC*) am HKI fungiert als Stammsammlung des NRZMyk. Bisher wurden etwa 1150 klinische Stämme über das NRZMyk aufgenommen. Die in dieser Kollektion enthaltenen Stämme sind aus wissenschaftlicher Sicht besonders wertvoll, da sie alle molekular identifiziert sind, für die Mehrheit der Stämme Resistenzprofile für alle wichtigen Antimykotika vorliegen und für Stämme mit nachgewiesener phänotypischer Resistenz auch eventuelle Mutationen der Zielgene bekannt sind, was die Stammauswahl zu Forschungszwecken wesentlich erleichtert. Auf Anfrage werden diese Stämme für diagnostische und wissenschaftliche Zwecke zur Verfügung gestellt.

4. Aufbau und koordinierende Pflege eines Netzwerks diagnostischer Einrichtungen.

Dem NRZMyk ist es gelungen seit 2014 ein umfassendes nationales Netzwerk aus diagnostischen Einrichtungen, insbesondere Mikrobiologischen Instituten und Instituten für Labormedizin an Universitätskliniken, zu etablieren. In den meisten Einrichtungen stehen dem NRZMyk Ansprechpartner für klinisch-mykologische Untersuchungen zur Verfügung. Für 2018 ist der Aufbau einer Gruppe von Sentinel-Labors geplant, in denen die Epidemiologie ausgewählter invasiver Pilzinfektionen systematisch erfasst werden kann.

5. Beratungstätigkeit für den Öffentlichen Gesundheitsdienst, Laboratorien, niedergelassene Ärzte, Kliniken und Forschungsinstitute. Durchführung von Weiterbildungen und Öffentlichkeitsarbeit.

Klinische Beratung und Fortbildung

Neben der Bearbeitung eingesendeter Proben steht das NRZMyk auch als Ansprechpartner für Ärzte und Mikrobiologen bei Fragen zur Diagnostik, Therapie und zum klinischen Management opportunistischer invasiver Pilzinfektionen zur Verfügung. Im Jahr 2017 wurden Beratungsleistungen vorwiegend telefonisch oder selten per E-Mail durchgeführt (etwa 5-10/Woche). Das NRZMyk informiert auf seiner Homepage www.nrz-myk.de über den Leistungskatalog und das Prozedere zur Einsendung von Probenmaterial (inkl. herunterladbares Einsendeformular), über angebotene Weiterbildungsveranstaltungen sowie über Erreger invasiver Pilzinfektionen. Darüber hinaus werden per Newsletter aktuelle Informationen aus dem Gebiet der Mykologie verbreitet.

Tab. 3: Vorträge auf Fachveranstaltungen

Vorname	Name	Titel des Vortrages	Anlass (Tagung etc.)	Ort	Datum
Oliver	Kurzai	Update zur Resistenzsituation bei pathogenen Pilzen	Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V.	Bonn	17.3.2017
Oliver	Kurzai	Epidemiologie und mikrobiologische Diagnostik bei fungaler Keratitis	Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V.	Bonn	17.3.2017
Oliver	Kurzai	Durchblick trotz Bakterien, Viren und Pilzen: Infektiöse Keratitis	Heidelberger Kompetenztage Auge 2017	Heidelberg	1.7.2017
Oliver	Kurzai	Who gets fungal infections? Risk factors and numbers revisited.	OPATHY Research Network Meeting	Jena	29.8.2017
Grit	Walther	Epidemiology of keratitis caused by the <i>Fusarium solani</i> species complex	51. Wissenschaftliche Tagung der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft e. V.	Münster	31.08.2017
Lysett	Wagner	Antifungal susceptibility of the mucormycosis causing <i>Mucor</i> species	51. Wissenschaftliche Tagung der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft e. V.	Münster	01.09.2017
Oliver	Kurzai	Challenges in Infection Control – Invasive Mycoses as a case study	World Health Summit	Berlin	16.10.2017

Das NRZMyk fungiert weiterhin als Experte für die Bewertung von Pilzen in der GESTIS-Biostoffdatenbank, die Informationen für sicheren Umgang mit Biostoffen am Arbeitsplatz, wie z. B. die erforderlichen technischen, organisatorischen und persönlichen Schutzmaßnahmen bei „gezielten“ Tätigkeiten in Laboratorien, in der Biotechnologie und der Versuchstierhaltung enthält. (<http://www.dguv.de/ifa/GESTIS/GESTIS-Biostoffdatenbank/index.jsp>).

Von besonderer Bedeutung in 2017 war die Beobachtung der epidemiologischen Entwicklung der *Candida auris* Fälle in Deutschland und die regelmäßige Absprache mit dem RKI zum weiteren Vorgehen (vgl. 8.).

6. Zusammenarbeit mit Referenzlaboratorien anderer Länder sowie den Kollaborationszentren der WHO einschließlich der Teilnahme an internationalen Ringversuchen.

Über die enge Zusammenarbeit mit den assoziierten Partnern des NRZMyk in Deutschland hinaus kooperiert das NRZMyk auch mit Referenzlaboratorien auf internationaler Ebene. Das NRZMyk steht hier vor allem im engen Austausch mit folgenden internationalen Partnern:

Tab. 4: Internationale Kooperationspartner (Auswahl)

Niederlande	Westerdijk Fungal Biodiversity Institute (CBS), Utrecht	Sybren de Hoog, Abdullah Al-Hatmi
Spanien	Spanish National Center for Microbiology, Madrid	Ana Alastruey-Izquierdo
Österreich	Referenzzentrale für Aspergillus und Aspergillus-Infektionen, Medizinische Univ. Innsbruck	Cornelia Lass-Flörl
Österreich	Referenzzentrale für Candida und Candida-Infektionen, AKH Wien	Birgit Willinger
Frankreich	National Reference Ctr for Mycoses & Antifungals, Université Paris Descartes and Institut Pasteur, Paris, France	Olivier Lortholary
Großbritannien	Mycology Reference Center, Manchester	Malcolm Richardson
Dänemark	Nationales Referenzzentrum für Pilzinfektionen, Statens Serum Institute, Kopenhagen	Maiken Arendrup

Neben den direkten bilateralen Kontakten erfolgt der Austausch auch über die einschlägigen Gremien der ESCMID (*European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases*) und der ISHAM (*International Society for Human and Animal Mycology*).

7. In Abstimmung mit dem Robert Koch-Institut Auswertung und Interpretation der Daten mit dem Ziel, die epidemiologische Situation möglichst repräsentativ für Deutschland zu beschreiben. Initiierung von und Mitarbeit bei Surveillanceprojekten.

Kooperation mit FungiScope

Die 2015 begonnene Kooperation des NRZMyk mit FungiScope, einem weltweiten Register für seltene Pilzinfektionen, das von der Infektiologie der Uniklinik Köln (Oliver Cornely) geleitet wird, wurde 2017 fortgeführt. Im Rahmen dieser Kooperation werden Einsender des NRZMyk gebeten, klinische Daten zu seltenen am NRZMyk diagnostizierten Mykosen im Rahmen des Infektionsregisters FungiScope zu erfassen. FungiScope stellt dazu Dokumentationshilfe zur Verfügung. Diese Daten können zukünftig als Basis für die Entwicklung neuer diagnostischer Methoden und die Verbesserung der Therapieberatung auf nationaler und internationaler Ebene dienen. Gleichzeitig werden alle aus Deutschland für die Stammsammlung von FungiScope eingereichten Isolate zur Referenzidentifizierung an das NRZMyk weitergeleitet und in der Stammsammlung des NRZMyk asserviert.

Etablierung eines Registers für Mykotische Keratitiden

2017 registrierte das NRZMyk 59 Fälle (Isolat von Cornea, Kontaktlinse und Kontaktlinsen-Reinigungsflüssigkeit bei diagn. Keratitis) mit Verdacht auf mykotische Keratitis. Bei etwa der Hälfte der Fälle (37) handelte es sich um durch *Fusarium*-Arten verursachte Augeninfektionen bei Kontaktlinsenträgern ohne Grunderkrankung. Weiterhin wird in Kooperation mit der Klinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Düsseldorf (Prof. G. Geerling, Dr. M. Roth) ein nationales Register für Mykotische Keratitiden geführt (www.pilzkeratitis.de). Im Falle einer mikrobiologisch diagnostizierten Pilzkeratitis ergeht nach Einsendung der positiven Probe im NRZMyk (hier: mikrobiologische Aufarbeitung inkl. Speziesidentifizierung, ggf. Subtypisierung, Resistenztestung, Asservierung in der Stammsammlung etc.) anonym Meldung an das Pilzkeratitis-Register zur Erhebung der klinischen Daten - soweit möglich inkl. Fotodokumentation. Den kooperierenden Kliniken werden hierfür entsprechende Erhebungsbögen sowohl in Papier- wie auch in digitaler Form zur Verfügung gestellt.

Kooperation mit AlertsNet 2.0 (www.alertsnet.de)

Die Kooperation mit AlertsNet, einem thüringenweiten prospektiven populationsbasierten Register zur Erfassung von nosokomialen Blutstrominfektionen und Antibiotikaresistenzen (Leitung: Prof. F. Brunkhorst) wurde fortgesetzt. Zurzeit erfolgt jedoch in AlertsNet noch keine systematische Sammlung von Blutkulturisolaten.

8. Überwachung der eingehenden Daten mit dem Ziel der zeitnahen Aufdeckung von Ausbrüchen oder Ausbruchsgefahren sowie umgehende Mitteilung an das Robert Koch-Institut. Unterstützung des Öffentlichen Gesundheitsdienstes und des RKI bei ergänzenden Untersuchungen im Rahmen von Ausbruchsuntersuchungen.

Die Interaktion mit dem RKI hat 2017 im Vergleich zu den Vorjahren erheblich zugenommen. Ursache hierfür ist die globale Ausbreitung von *Candida auris*. *C. auris* wurde 2009 erstmals als Erreger einer Otomykose in Japan beschrieben. Seitdem wurde diese Art aus unterschiedlichen klinischen Materialien nachgewiesen, sowohl als Erreger invasiver Infektionen als auch als Besiedler. *C. auris* zeigt häufig hohe minimale Hemmkonzentrationen (MHKs) für verschiedene Antimykotika und kann durch nosokomiale Übertragung zu Krankenhausausbrüchen führen. Der größte und bisher am umfangreichsten dokumentierte Ausbruch mit *C. auris* in Europa ereignete sich 2015/2016 in einer herzchirurgischen Einheit am Royal Brompton Hospital, London. In den ersten 16 Monaten dieses Ausbruchs wurden 50 *C. auris* Nachweise dokumentiert. In 56% der Fälle (28 von 50) handelte es sich dabei um reine Kolonisation, in 16% der Fälle (9 von 50) um Blutstrominfektionen. Die Erregerisolate waren dabei genetisch sehr eng miteinander verwandt. Weitere Ausbrüche mit zum Teil >100 betroffenen Patienten sind in Europa in Großbritannien und in Spanien aufgetreten.

Folgende Maßnahmen wurden im Hinblick auf *C. auris* gemeinsam mit dem RKI getroffen:

- 1) Kontinuierliche Informationen der mikrobiologischen Labors über Emails sowie im Rahmen von Fortbildungsvorträgen, Folien für Schulungsvorträge wurden vom NRZMyk für andere Labors zur Verfügung gestellt.
- 2) Veröffentlichung einer gemeinsamen Stellungnahme zur Bedeutung von *C. auris* und dem klinischen Management mit den Nationalen Referenzzentralen in Österreich, dem Universitätsklinikum Köln (ECMM Exzellenzzentrum) und dem RKI unter Federführung des NRZMyk.
- 3) Sammlung und Referenztestung aller bisher in Deutschland bekannten isolierten *C. auris* Fälle sowie Initiierung weitergehender epidemiologischer Untersuchungen in Kooperation mit dem Universitätsklinikum Köln.
- 4) Bereitstellung deutscher Daten im Rahmen einer ECDC Erhebung zu *C. auris*.
- 5) Beteiligung an einer Information der Öffentlichkeit durch zahlreiche Medienbeiträge (Print und Fernsehen).

9. Epidemiologische Analyse und Bewertung der Resistenz- und Virulenzentwicklung.

Das NRZMyk führt für die Mehrheit der eingehenden Isolate phänotypische Resistenztestungen mit der Mikrodilutionsmethode nach den Vorgaben des *European Committee on Antimicrobial*

Susceptibility Testing (EUCAST) durch. *Aspergillus fumigatus*-Isolate, die im Mikrodilution-Test deutlich erhöhte MHK-Werte aufweisen, werden auf das Vorhandensein von Mutationen im Zielgen der Azole, dem P450-Sterol-14-Demethylase-Gen (*cyp51A*) untersucht. Bei *Candida*-Stämmen (*Candida glabrata*, *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. krusei*) mit phänotypisch nachgewiesener Echinocandin-Resistenz werden die Hotspot-Regionen des Gens bzw. der Gene für die 1,3-Beta-D-Glucan-Synthase (*FKS1* und *FKS2*) sequenziert. Alle bisher in die molekulare Resistenztestung einbezogenen Zielgene mit den dazugehörigen Primern der jeweiligen Art sind in Tabelle 5 aufgeführt. Tabelle 6 fasst die 2017 bei den einzelnen Arten nachgewiesenen Mutationen zusammen.

Tab. 5: Zielgene der jeweiligen Arten, die bei vorliegender Antimykotikaresistenz auf Mutationen untersucht werden.

Art	Zielgen/Region	Primer
<i>Aspergillus fumigatus</i>	14 α -Sterol-Demethylase (<i>CYP51A</i>)	CYP1-L/CYP1-R/CYP2-L/CYP2-R/CYP3-L/CYP3-R
<i>Candida albicans</i>	1,3-Beta-D-Glucan-Synthase 1 (<i>FKS1</i>), Hotspot 1	GSC1f_450/GSC1r_450
<i>Candida albicans</i>	1,3-Beta-D-Glucan-Synthase 1 (<i>FKS1</i>), Hotspot 2	CAS2f_497/CAS2r_497
<i>Candida dubliniensis</i>	1,3-Beta-D-Glucan-Synthase 1 (<i>FKS1</i>), Hotspot 1	CD1f_450/ CD1r_450 (unpubl.)
<i>Candida dubliniensis</i>	1,3-Beta-D-Glucan-Synthase 1 (<i>FKS1</i>), Hotspot 2	CDS2f_497/CDS2r_497 (unpubl.)
<i>Candida glabrata</i>	1,3-Beta-D-Glucan-Synthase 1 (<i>FKS1</i>), Hotspot 1	FKS1_HS1_f/FKS1_HS1_r/FKS1_HS1_s
<i>Candida glabrata</i>	1,3-Beta-D-Glucan-Synthase 1 (<i>FKS1</i>), Hotspot 2	FKS1_HS2_f/FKS1_HS2_r/FKS1_HS2_s
<i>Candida glabrata</i>	1,3-Beta-D-Glucan-Synthase 2 (<i>FKS2</i>), Hotspot 1	FKS2_HS1_f/FKS2_HS1_r/FKS2_HS1_s
<i>Candida glabrata</i>	1,3-Beta-D-Glucan-Synthase 1 (<i>FKS2</i>), Hotspot 2	FKS2_HS2_f/FKS2_HS2_r/FKS2_HS2_s
<i>Candida krusei</i>	1,3-Beta-D-Glucan-Synthase 1 (<i>FKS1</i>), Hotspot 1	CKS1f/CKS1r
<i>Candida krusei</i>	1,3-Beta-D-Glucan-Synthase 1 (<i>FKS1</i>), Hotspot 2	CKS1f/CKS1r
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	Dihydropteroat-Synthase (<i>DHPS</i>)	Pk2/PSB1
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	Dihydrofolat-Reduktase (<i>DHFR</i>)	FR01/FR634

Tab. 6: Identifizierte Mutationen in Resistenzassoziierten Zielgenen bei vorliegenden Antimykotikumresistenzen bei Isolaten der Spezies *Aspergillus fumigatus*, *Candida glabrata*, *C. albicans* und *C. krusei*.

Species	Zielgen	Mutationen (Häufigkeit)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>CYP51A</i>	L98H (7), [F46Y+M172V+ E427K] (2), F219L (2), Y121F(1), G448S (1), M220I (1)
<i>Candida albicans</i>	<i>FKS1</i>	F641S (2), S645Y (1), S645F (1), S645P (1), P649A (1), R1361S (1)
<i>Candida glabrata</i>	<i>FKS1</i> und <i>FKS2</i>	S663P (4), F659Y (2), F659del (2), L630Q (1), D666N (1), D666Y (1), T678A (1)
<i>Candida krusei</i>	<i>FKS1</i>	L701M (9), [L701M+ D1342H] (4)

10. Regelmäßige Berichterstattung sowie Beratung des Robert Koch-Instituts zu den entsprechenden Sachfragen und Mitwirkung bei der Erarbeitung von Empfehlungen des Robert Koch-Institutes für Diagnostik, Therapie und Prävention sowie allgemein in der angewandten Infektionsepidemiologie.

Durch die fachliche Expertise der beteiligten Wissenschaftler und Kliniker ist eine Mitwirkung bei der Erarbeitung von Empfehlungen des Robert Koch-Institutes für Diagnostik, Therapie und Prävention jederzeit möglich. Im Jahr 2017 fanden regelmäßige telefonische Abstimmungen mit dem RKI zum Thema *Candida auris* statt (vgl. 8.).

Anhang

Publikationsverzeichnis

2017 veröffentlichte Publikationen mit Bezug zum NRZMyk

Habbe KJ, Frings A, Schrader S, Roth M, MacKenzie C, Walther G, Kurzai O, Geerling G (2017) [*Tintelnotia destructans*: new enemy at the gates]. *Ophthalmologe* [Epub ahead of print].

Pinder N, Pelzl LH, Walther G, Backhaus J, Kurzai O, Hoppe-Tichy.(2017). Caspofungin infusion solutions (50 mg/100 mL): chemical stability and antifungal activity against *Candida* spp. *Pharmazie* 72(4):197-199.

Walther G, Stasch S, Kaerger K, Hamprecht A, Roth M, Cornely OA, Geerling G, Mackenzie CR, Kurzai O, von Lilienfeld-Toal M (2017) *Fusarium* Keratitis in Germany. *J Clin Microbiol* 55(10), 2983-2995.

Weber M, Schaer J, Walther G, Kaerger K, Steinmann J, Rath PM, Spiess B, Buchheidt D, Hamprecht A, Kurzai O (2017) FunResDB-A web resource for genotypic susceptibility testing of *Aspergillus fumigatus*. *Med Mycol*

Lima DX, Souza-Motta C, Wagner L, Voigt K, De Souza CAF, De Oliveira RJV, Da Silva GA, De Azevedo Santiago ALCM, Walther G. (2017) *Circinella simplex*—a misapplied name of *Mucor circinatus* sp. nov. *Phytotaxa* 329(3):269-276.

Abkürzungsverzeichnis

AS	Aminosäure
AMB	Amphotericin B
Ani	Anidulafungin
AspIRS	<i>Aspergillus Intrinsic Risk Stratification Study</i>
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BLAST	<i>Basic Local Alignment Search Tool</i>
CAS	Caspofungin
CBS	<i>Centraalbureau voor Schimmelcultures</i>
CYP51A	14 α -sterol Demethylase Gen
DHFR	Dihydrofolat-Reduktase
DHPS	Dihydropteroat-Synthase
DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i> - Desoxyribonukleinsäure
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
EF1alpha	Elongation Faktor 1 alpha
EUCAST	<i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i>
FFSC	<i>Fusarium fujikuroi</i> species complex
FOSC	<i>Fusarium oxysporum</i> species complex
FSSC	<i>Fusarium solani</i> species complex
FKS	1,3-Beta-D-Glucan-Synthase 1
HKI	Leibniz-Institut für Naturstoff-Forschung und Infektionsbiologie – Hans-Knöll-Institut Jena
HS	Hotspot Region
ITR	Itraconazol
ITS	<i>Internal transcribed spacer</i>
JMRC	<i>Jena Microbial Resource Collection</i>
LSU	<i>large subunit</i>
MLST	Multilokus-Sequenztypisierung
ÖGD	Öffentlicher Gesundheitsdienst
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
POS	Posaconazol
RAPDs	<i>Randomly Amplified Polymorphic DNA</i>
RFLPs	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
RNA	<i>Ribonucleic acid</i> - Ribonukleinsäure
TEF	Translationselongationsfaktor 1alpha
Terb	Terbinafin
VOR	Voriconazol