

Tätigkeitsbericht des Nationalen Referenzzentrums für Invasive Pilzinfektionen (NRZMyk) 2019



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
Lysett Wagner (bis 4/2019)	PhD Studentin	1038	Lysett.wagner@leibniz-hki.de
Carmen Karkowski	TA	1052	carmen.karkowski@leibniz-hki.de
Grit Mrotzek (seit 10/2017)	TA	1148	grit.mrotzek@leibniz-hki.de
Christiane Weigel	TA	1111	christiane.weigel@leibniz-hki.de

Zusammenfassung

Das NRZMyk konnte seine Tätigkeit auch in 2019 weiter ausbauen. Die Zahl der eingesandten Proben nahm weiter zu und lag mit insgesamt 752 untersuchten Materialien in 2019 erneut deutlich über der Probenzahl des Vorjahres (2018: 657). In vergleichbarem Umfang nahm auch die Zahl der Beratungsgespräche zu. In etwa 85% der Fälle werden dem NRZMyk Pilzisolat zugesandt, in den restlichen Fällen erfolgt ein Erregernachweis aus klinischem Untersuchungsmaterial. Hierbei sind insbesondere Materialien relevant, die spezifisch für eine molekulare Diagnostik gewonnen wurden. Darüber hinaus erfolgt nach wie vor in vielen Fällen ein Erregernachweis aus histopathologischen Präparaten. Insgesamt wurden in 2019 128 unterschiedliche Pilzarten aus 59 Gattungen am NRZMyk nachgewiesen. Die Ausbreitung von *Candida auris*, einem Erreger invasiver Pilzinfektionen, der im Rahmen nosokomialer Ausbrüche übertragen werden kann wurde weiter beobachtet. Die Analyse der ersten deutschen Fälle konnte in 2019 publiziert werden. Das NRZMyk hat in 2019 insgesamt 14 Arbeiten veröffentlicht und aktiv an der Erstellung von Leitlinien und Empfehlungen europäischer Gremien (EUCAST, ECDC) mitgewirkt.

Summary

The NRZMyk further expanded its activity in 2019. The number of samples submitted to the NRZMyk increased to a new record of 752 analyzed samples (in 2018, 657 samples were submitted to the NRZMyk). A similar increase was observed for the clinical counselling interviews. Around 85% of the samples submitted to the NRZMyk are fungal isolates. In the remaining cases, the fungi are detected in specimen from clinical examinations. Of high relevance are samples specifically extracted for molecular diagnostic purposes. Additionally, fungal identification is also carried out on histopathologic samples. In total, 128 different fungal species of 59 genera were detected at the NRZMyk in 2019. The dissemination of *Candida auris*, a pathogen causing invasive fungal infections, which can be transmitted during nosocomial outbreaks was further monitored. The analysis of the first German cases could be published in 2019 in addition to another 13 articles published by the NRZMyk the same year. The NRZMyk is also actively involved in the preparation of guidelines and recommendations of European committees (EUCAST, ECDC).

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 Bearbeitung der Taxonomie der *Mucor* spp. 2019 wurden sowohl die taxonomische Revision des *M. circinelloides* Komplexes als auch die Untersuchung von Resistenzmustern klinisch relevanter *Mucor*-Arten abgeschlossen und veröffentlicht. Ein weiteres Ziel des Projektes ist die Erstellung einer Multilocus-Phylogenie der gesamten *Mucor*-Verwandtschaft, um den taxonomischen Status der verschiedenen Abstammungslinien innerhalb der Gattung *Mucor* zu klären.

Projekt: FINAR2.0 (*Fungal Infections and Emerging Azole Resistance*)

Koordination: NRZMyk (O. Kurzai)

Partner: Interdisziplinäres Zentrum für Nutzpflanzenforschung (Halle, H. Deising)

Biotype GmbH (Dresden, W. Brabetz)

Förderung: BMBF (InfectControl 2020) 01.04.2019-31.12.2021

Zusammenfassung

In FINAR2.0 wird aufbauend auf das Vorläuferprojekt FINAR die Entwicklung von Azolresistenz bei *Aspergillus fumigatus* in der Umwelt analysiert. Die bereits existierende Stammsammlung von *A. fumigatus* Isolaten (FINAR 2016-2018) aus agrarischen Ökosystemen, von Patienten und infizierten Vögeln wird durch zusätzliche Luft- und Bodenproben erweitert. Basierend auf Resistenzanalysen dieser Isolate wird die Resistenzselektion systematisch erfasst und ihre klinische Relevanz analysiert. Dies bildet die Grundlage für die Entwicklung strategischer Maßnahmen zur Eindämmung von Resistenzentstehung in der Landwirtschaft.

Zudem wurde durch die Kooperation zwischen den akademischen Partnern und Biotype ein neues Diagnose-Kit entwickelt, das es erlaubt, *A. fumigatus* Infektionen schnell zu erkennen und klinisch relevante Resistenzmutationen zu detektieren. Dieser Testprototyp wird nun in einem neu etablierten Labornetzwerk unter Beteiligung des NRZMyk evaluiert und optimiert.

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)

Universitätsklinikum Erlangen (J. Held)

Universitätsklinikum Köln (O. A. Cornely)

Förderung: BMBF

Zusammenfassung

Im Rahmen der klinischen CandiSep-Studie 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. Die Rekrutierung für CandiSep wurde in 2019 abgeschlossen und die Studie wird aktuell ausgewertet.

Standardisierung/ Verbreitung allgemeingültiger Testverfahren, Qualitätssicherung

Das NRZMyk fungierte auch 2019 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 2019 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 auch 2019 weiter gewachsen. Dies drückt sich auch in einem erneuten Probenzuwachs aus. 2018 wurden im NRZMyk insgesamt 657 Proben bearbeitet, 2019 waren es 752 Proben. Das entspricht einem weiteren Anstieg der Probenzahl von 14% (Abb. 1). Unter den eingesandten Proben waren 121 klinische Materialien und 631 Vitalstämmen.

Alle Stämme wurden molekular bestimmt und in der Mehrheit der Fälle (599 von 631 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.

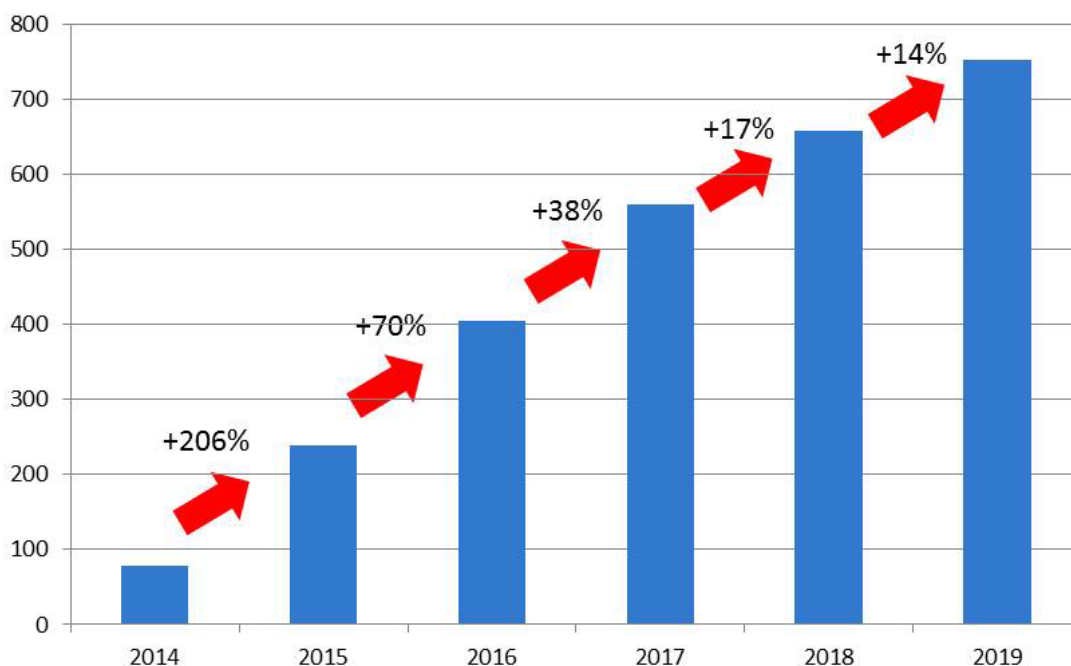


Abb. 1. Die kontinuierliche und erhebliche Zunahme der Anzahl eingehender Proben seit Etablierung des NRZMyk in 2014 zeigt die Akzeptanz des Referenzlabors, führt jedoch gleichzeitig zu einer deutlichen Zunahme des Arbeitspensums und der Kosten.

Tab. 1: Leistungsdaten des NRZMyk für das Jahr 2019

	2019
Anzahl der bearbeiteten Proben insgesamt	752
a) Anzahl der klinischen Proben	121
davon:	
Gewebeproben – nativ	43
Gewebeproben - Paraffin-Präparate	26
Punktate	10
BAL / Bronchialsekrete	16
Trachealsekrete	6
Blut	3
Liquor	7
DNA-Extrakte	10
b.) Anzahl der identifizierten Vitalstämme	631

Spezies	Anzahl
Alternaria alternata	2
Apiotrichum mycotoxinovorans	2
Aspergillus fischeri (Syn. Neosartorya pseudofischeri)	2
Aspergillus flavus	21
Aspergillus fumigatus	137
Aspergillus hiratsukae	2
Aspergillus lentulus	3
Aspergillus spinulosporus	2
Aspergillus terreus	3
Aspergillus tubingensis	11
Aspergillus welwitschiae	7
Candida albicans	89
Candida auris	4
Candida dubliniensis	3
Candida glabrata	36
Candida krusei (Syn. Issatchenkia orientalis)	8
Candida parapsilosis	51
Candida stellimalicola (Syn. Starmera stellimalicola)	2
Candida tropicalis	8
Cladosporium cladosporioides Komplex	3
Cryptococcus deuterogattii ss. Hagen et al. 2015	2
Cryptococcus neoformans ss. Hagen et al. 2015	2
Dipodascus geotrichum (Syn. Geotrichum candidum)	3
Exophiala dematididis	6
Fusarium falciforme	2
Fusarium keratoplasticum	5
Fusarium oxysporum Komplex	12
Fusarium petroliphilum	5
Fusarium proliferatum	2
Fusarium solani	14
Kodamaea ohmeri	2
Lichtheimia ramosa	6
Lomentospora prolificans	5
Malassezia furfur	2
Mucor circinelloides	20
Penicillium chrysogenum	2
Penicillium griseofulvum	3
Peroneutypa scoparia	2
Pseudallescheria ellipsoidea	3
Purpureocillium lilacinum	4
Purpureocillium sodanum	4
Rasamsonia piperina	3
Rhizomucor pusillus	2
Rhizopus arrhizus	7
Rhizopus microsporus	10
Saccharomyces cerevisiae	2
Sarcocladium kiliense	3
Scedosporium apiospermum	12
Talaromyces aff. pinophilus	2
Tintelnotia destructans	3
Trichophyton interdigitale	3
Trichophyton rubrum	2
Trichosporon asahii	3
Sonstige (einmalig nachgewiesene Arten)	75
Anzahl der Proben mit Antimykogramm	599

Anzahl der molekularen Resistenztestungen/Anzahl der nachgewiesenen Mutationen, die zu Aminosäureaustauschen führen: **2019**

Aspergillus fumigatus, P450-Sterol-14-Demethylase-Gen (cyp51A)	21/15
Candida albicans, 1,3-Beta-D-Glucan-Synthase (FKS1)	10/9
Candida glabrata, 1,3-Beta-D-Glucan-Synthase (FKS1 und FKS2)	18/14
Candida krusei, 1,3-Beta-D-Glucan-Synthase (FKS1)	5/0
Candida tropicalis, 1,3-Beta-D-Glucan-Synthase (FKS1)	4/2

Anzahl der durchgeführten Subtypisierungen/davon Ausbruchsverdacht

Candida albicans	4/1
Candida parapsilosis (* zu einem Ausbruchsverdacht gehörig)	10/10*
Purpureocillium lilacinum Komplex	1/1

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.

Am NRZMyk werden je nach Art des Erregers verschiedene PCR- und Sequenz-basierte Methoden der Feintypisierung eingesetzt. Dazu gehören RFLPs (Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus), RAPDs (Randomly Amplified Polymorphic DNA), Mikrosatelliten-PCR und Multilokus-Sequenztypisierung (MLST). 2019 wurden 15 Feintypisierungen vorgenommen, um Ausbruchsverdachten nachzugehen: *Candida albicans* (4), *C. parapsilosis* (10) und *Purpureocillium lilacinum* Komplex (1). Im Fall von *C. albicans* konnte nur für einen der 4 Verdachtsfälle auf der Basis der Multilocus-Sequenzdaten ein Ausbruchsgeschehen nicht ausgeschlossen werden. Die RAPD-basierte Subtypisierung von Isolaten des *P. lilacinum* Komplexes konnte ein Ausbruchsgeschehen ebenfalls nicht ausschließen. Auch die Feintypisierungen *C. parapsilosis*-Isolaten auf der Basis von Mikrosatelliten-PCRs für sprachen für einen Ausbruchsverdacht, der durch die untypischen Resistenzprofile aller Isolate noch erhärtet wurde.

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

Alignment	Marker
<i>Acremonium</i> sensu lato	ITS und 28S D1/D2 Domäne (LSU)
<i>Aspergillus</i> Sektion <i>Fumigati</i>	Calmodulin und ITS
<i>Aspergillus</i> Sektion <i>Nidulantes</i>	Calmodulin
<i>Aspergillus</i> Sektion <i>Nigri</i>	Calmodulin, Beta-Tubulin
<i>Aspergillus</i> Sektion <i>Terrei</i>	Calmodulin
<i>Aspergillus</i> Sektion <i>Usti</i>	Calmodulin
<i>Aspergillus</i> Sektion <i>Versicolores</i>	Calmodulin
<i>Alternaria</i>	ITS, Alt1-Gen
<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>Penicillium</i>	Beta-Tubulin
<i>Rhizopus</i>	ITS
<i>Rhodotorula</i>	LSU
<i>Saksenaea</i>	ITS
<i>Scedosporium/Lomentospora</i>	ITS
<i>Sporothrix</i>	Calmodulin
<i>Talaromyces</i>	Beta-Tubulin
<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 2300 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. 2018 wurde der Aufbau eines Sentinel-Netzwerks begonnen. Im Rahmen eines Kick-off Treffens mit Partnern aus 10 diagnostischen Einrichtungen wurden strategische Eckpunkte diskutiert. 2019 wurden die Kooperationsverträge für das Netzwerk von allen Seiten unterzeichnet. Zum Start sollen im Rahmen eines ersten Moduls Fungämien (Pilznachweise aus Blutkulturen) Pilzen erfasst werden.

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

4.1. Beratung des ÖGD

Das NRZMyk fungiert weiterhin als Experte für die Bewertung von Pilzen in der GESTIS-Biostoffdatenbank, die Informationen für den 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 ist weiterhin die Beobachtung der epidemiologischen Entwicklung der *Candida auris* Fälle in Deutschland und die regelmäßige Absprache mit dem RKI zum weiteren Vorgehen.

4.2. Klinische Beratung

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. In 2019 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.

4.3. Weiterbildungen

Mitarbeiter des NRZMyk waren an zahlreichen Fortbildungsveranstaltungen beteiligt (Tab. 3)

Tab. 3: Ausgewählte Vorträge auf Fachveranstaltungen

Vorname	Name	Titel des Vortrages	Anlass (Tagung etc.)	Ort	Datum
Oliver	Kurzai	Pilzkeratitis aus mikrobiologischer Sicht	Augenärztliche Tagung Oculoplastik, Cornea, Retina	Würzburg	9.2.2019
Oliver	Kurzai	Sepsis or how to lose and regain control of a complex system	31. Irseer Naturstofftage	Kloster Irsee	22.2.2019
Oliver	Kurzai	Resistente Pilze – neue Herausforderungen in der Behandlung systemischer Mykosen?	Tagung der Berliner Mikrobiologischen Gesellschaft	Berlin	2.4.2019
Oliver	Kurzai	Fungal Infections – A One Health Challenge	15th Warsaw International Medical Congress	Warschau	10.5.2019
Oliver	Kurzai	Infektiöse Keratitis – Schwerpunkt Amöben	Heidelberger Ophthalmologietage	Heidelberg	11.5.2019
Oliver	Kurzai	Fungi in blood - How fungal pathogens interact with circulating immune cells	FEBS Kurs Human Fungal Pathogens	La Colle sur Loup	22.5.2019

Oliver	Kurzai	Antifungal drug resistance in <i>Candida</i> – relevance in clinical management	AIDS Mycoses Meeting	Capetown	12.7.2019
Oliver	Kurzai	Invasive Pilzinfektionen – Beratung und Diagnostik am NRZMyk	MYK2019	Mannheim	5.10.2019
Grit	Walther	Updates on the taxonomy of opportunistic Mucorales and consequences for diagnostics	53. Wissenschaftliche Tagung der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft e. V.	Mannheim	06.09.2019
Oliver	Kurzai	New challenges & new diagnostic options in early diagnosis of invasive fungal infection	Weimar Sepsis Update	Weimar	11.9.2019
Oliver	Kurzai	<i>Candida</i> in blood - Host pathogen interaction during bloodstream infection	Trends in Medical Mycology TIMM 2019	Nizza	11.10.2019
Oliver	Kurzai	Fungal Infections – Diagnosis, Drugs, Resistance	FunHomics Summerschool	Jena	25.10.2019
Oliver	Kurzai	Invasive Pilzinfektionen - Beratung & Diagnostik am NRZMyk	KIMS 2019	Berlin	6.12.2019

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 im engen Austausch mit allen relevanten Referenzzentren in Europa. 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 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 (www.pilzkeratitis.de)

Die mykotische Keratitis ist ein seltenes, aber sehr ernstzunehmendes ophthalmologisches Krankheitsbild mit visus- oder gar bulbusbefrohendem Verlauf. Gemeinsam haben NRZMyk und Universitätsaugenklinik Düsseldorf 2015 das Deutsche Pilz-Keratitis Register ins Leben gerufen. In diesem Register werden klinische Daten von Patientinnen und Patienten mit mittels PCR, Kultur, Histologie oder konfokaler Mikroskopie gesicherter mykotischer Keratitis gesammelt. Parallel erfolgt eine Asservierung der Erreger am NRZMyk.

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.

Von besonderer Bedeutung ist nach wie vor die Beobachtung der aktuellen Ausbreitung von *Candida auris* in Deutschland. Das NRZMyk beteiligt sich hierbei in enger Absprache mit dem RKI an den entsprechenden Erhebungen durch das ECDC (aktuelle Daten online vorab publiziert <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.12.2000240>). Die aktuell in D erfassten Fälle sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Tab. 4: Am NRZMyk erfasste *C. auris* Fälle in D

Case nr.	NrZID	Species	Geburtsjahr des Pat.	Folgeisolate
1	no strain	<i>Candida auris</i>	k. A.	
2	NRZ-2018-598	<i>Candida auris</i>	1943	
3	NRZ-2019-207	<i>Candida auris</i>	1950	NRZ-2019-216
4	NRZ-2015-214	<i>Candida auris</i>	1959	
5	NRZ-2017-545	<i>Candida auris</i>	1957	
6	NRZ-2017-367	<i>Candida auris</i>	1960	
7	NRZ-2018-590	<i>Candida auris</i>	1963	
8	NRZ-2017-288	<i>Candida auris</i>	1968	
9	NRZ-2017-505	<i>Candida auris</i>	2002	NRZ-2018-074
10	NRZ-2017-394	<i>Candida auris</i>	k. A.	
11	NRZ-2019-672	<i>Candida auris</i>	1976	
12	NRZ-2019-731	<i>Candida auris</i>	1930	
13	NRZ-2020-039	<i>Candida auris</i>	1974	NRZ-2020-087; NRZ-2020-150; NRZ-2020-224
14	NRZ-2020-170	<i>Candida auris</i>	1961	

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*, *C. tropicalis*) 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 2019 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 dublinensis</i>	1,3-Beta-D-Glucan-Synthase 1 (<i>FKS1</i>), Hotspot 1	CD1f_450/ CD1r_450 (unpubl.)
<i>Candida dublinensis</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 1/2	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 albicans*, *C. glabrata* und *C. tropicalis* im Zeitraum Januar bis Dezember 2019

Species	Zielgen	Mutationen (Häufigkeit)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>CYP51A</i>	L98H (11), [F46Y+M172V+ E427K] (1), [L98H, T289A, G448S] (1), P216L (1), [Y121F, T289A] (1)
<i>Candida albicans</i>	<i>FKS1</i>	S645P (4), F641S (2), R1361G (1), R1361H (1), D1337Y (1)
<i>Candida glabrata</i>	<i>FKS1</i> und <i>FKS2</i>	S663P (6), F659del (2), F659L(1), F659S (1), F625S (2), D666H(1), R1378S (1)
<i>Candida tropicalis</i>	<i>FKS1</i>	S645P (1), S645F (1)

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.

Anhang

Publikationsverzeichnis (nur Publikationen mit direktem Bezug zum NRZMyk)

- Barber AE, Weber M, Kaerger K, Linde J, Gözl H, Duerschmied D, Markert A, Guthke R, Walther G, Kurzai O (2019) Comparative genomics of serial *Candida glabrata* isolates and the rapid acquisition of echinocandin resistance during therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 62(2), e01628-18.
- Hamprecht A, Barber AE, Mellinghoff SC, Thelen P, Walther G, Yu Y, Neurgaonkar P, Dandekar T, Cornely OA, Martin R, Kurzai O (2019) *Candida auris* in Germany and previous exposure to foreign healthcare. *Emerg Infect Dis* 25(9), 1763-1765.
- Hassan MIA, Cseresnyes Z, Al-Zaben N, Dahse HM, Vilela de Oliveira RJ, Walther G, Voigt K, Figge MT (2019) The geographical region of origin determines the phagocytic vulnerability of *Lichtheimia* strains. *Environ Microbiol* 21(12), 4563-4581.
- Koehler P, Arendrup MC, Arian-Akdagli S, Bassetti M, Bretagne S, Klingspor L, Lagrou K, Meis JF, Rautemaa-Richardson R, Schelenz S, Hamprecht A, Koehler FC, Kurzai O, Salmanton-García J, Vehreschild JJ, Alanio A, Alastruey-Izquierdo A, Arsic Arsenijevic V, Gangneux JP, Gow NAR, Hadina S, Hamal P, Johnson E, Klimko N, Lass-Flörl C, Mares M, Özenci V, Papp T, Roilides E, Sabino R, Segal E, Talento AF, Tortorano AM, Verweij PE, Hoenigl M, Cornely OA (2019) ECMM CandiReg-A ready to use platform for outbreaks and epidemiological studies. *Mycoses* [Epub ahead of print].
- Nessler A, Schauerte N, Geiger C, Kaerger K, Walther G, Kurzai O, Eisenberg T (2019) *Sporothrix humicola* (Ascomycota: Ophiostomatales) - A soil-borne fungus with pathogenic potential in the eastern quoll (*Dasyurus viverrinus*). *Med Mycol Case Rep* 25, 39-44.
- Pérez-Hansen A, Lass-Flörl C, Lackner M, Aigner M, Alastruey-Izquierdo A, Arian-Akdagli S, Bader O, Becker K, Boekhout T, Buzina W, Cornely OA, Hamal P, Kidd SE, Kurzai O, Lagrou K, Lopes Colombo A, Mares M, Masoud H, Meis JF, Oliveri S, Rodloff AC, Orth-Höller D, Guerrero-Lozano I, Sanguinetti M, Segal E, Taj-Aldeen SJ, Tortorano AM, Trovato L, Walther G, Willinger B (2019) Antifungal susceptibility profiles of rare ascomycetous yeasts. *J Antimicrob Chemother* 74(9), 2649-2656.
- Roth M, Daas L, Renner-Wilde A, Cvetkova-Fischer N, Saeger M, Herwig-Carl M, Matthaei M, Fekete A, Kakkassery V, Walther G, von Lilienfeld-Toal M, Mertens C, Lenk J, Mehlan J, Fischer C, Fuest M, Kroll S, Bayoudh W, Viestenz A, Frings A, MacKenzie CR, Messmer EM, Seitz B, Kurzai O, Geerling G (2019) Das Deutsche Pilz-Keratit-Register: Erste Ergebnisse einer multizentrischen Erhebung [The German keratomycosis registry: Initial results of a multicenter survey]. *Ophthalmologie* 116(10), 957-966.
- Springer J, Walther G, Rickerts V, Hamprecht A, Willinger B, Teschner D, Einsele H, Kurzai O, Loeffler J (2019) Detection of *Fusarium* species in clinical specimens by probe-based real-time PCR. *J Fungi (Basel)* 5(4), 105.
- von Lilienfeld-Toal M, Wagener J, Einsele H, Cornely OA, Kurzai O (2019) Invasive Fungal Infection. *Dtsch Arztebl Int* 116(16), 271-278.
- Wagener J, Kurzai O (2019) *Candida auris* – Steckbrief eines neuen Pilzes. *Deutsches Ärzteblatt Suppl. Perspektiven der Infektiologie & Immunologie* 116(1), 29-30. (Review)
- Wagner L, de Hoog S, Alastruey-Izquierdo A, Voigt K, Kurzai O, Walther G (2019) A revised species concept for opportunistic *Mucor* species reveals species-specific antifungal susceptibility profiles. *Antimicrob Agents Chemother* 63(8), pii: e00653-19.
- Wagner L, Stielow JB, de Hoog GS, Bensch K, Schwartze VU, Voigt K, Alastruey-Izquierdo A, Kurzai O, Walther G (2019) A new species concept for the clinically relevant *Mucor circinelloides* complex. *Persoonia* 42, 67-97.
- Walther G, Wagner L, Kurzai O (2019) Updates on the taxonomy of Mucorales with an emphasis on clinically important taxa. *J Fungi (Basel)* 5(4), 106.
- Walther G, Wagner L, Kurzai O (2019) Outbreaks of Mucorales and the species involved. *Mycopathologia*, <https://doi.org/10.1007/s11046-019-00403-1>.

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