

# Abstracts

Frühjahrstagung  
der Sektion Antimykotische Chemotherapie

22. – 23. April 2016 in Bonn



© 2016



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License: <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Herausgeber:

Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V.

Wissenschaftlicher Sekretär

Prof. Dr. Michael Kresken

Von-Liebig-Straße 20

53359 Rheinbach

Tel.: 02226/908 912

Fax: 02226/908 918

Email: [michael.kresken@antiinfectives-intelligence.de](mailto:michael.kresken@antiinfectives-intelligence.de)

Die Online-Veröffentlichung dieses Abstractbandes finden Sie im Portal German Medical Science unter <http://www.egms.de/de/meetings/sac2016/>.

## Vorträge

(01)

### Neue Testmethoden für die Diagnose von invasiven Pilzinfektionen

Birgit Willinger

Klinische Abteilung für Klinische Mikrobiologie, Klinisches Institut für Labormedizin, Med. Universität Wien, Wien, Österreich

Unspezifische Symptome und eine Vielzahl an Erregern stellen eine große Herausforderung in der frühzeitigen Diagnostik invasiver Mykosen dar. Ein gesicherter Pilznachweis mit einer einzigen Methode ist bis dato nicht möglich. Es ist daher notwendig unterschiedliche Labormethoden mit klinischen Symptomen und bildgebenden Verfahren zu kombinieren. Neue Methoden, die zuverlässig, einfach, rasch und frühzeitig eine Diagnose ermöglichen sind mehr als erwünscht.

Besondere Hoffnungen setzt man auf molekularbiologische Nachweismethoden, da diese rasch und bereits zu einem frühen Zeitpunkt der Infektion Ergebnisse bringen können. Diese Techniken sind zwar vielfach noch nicht standardisiert, aber dennoch eine wesentliche Hilfe in der modernen Pilzdiagnostik. Ihre klinische Nützlichkeit wird vielfach noch evaluiert. PCR-Assays wurden entwickelt, um invasive Mykosen genus- oder speziesspezifisch nachzuweisen. Eine Methode mit sehr guter Sensitivität und Spezifität ist die Real-Time PCR. Hier gibt es Assays für den Nachweis von *Candida* und *Aspergillus*. Durch den Einsatz spezifischer Sonden können so gleichzeitig verschiedene *Candida*-Arten und verschiedene *Aspergillus*-Arten nachgewiesen und unterschieden werden. Bei noch nicht näher definiertem Verdacht kann die panfungale PCR als Untersuchungsmethode herangezogen. Diese Methode erlaubt es, neben *Candida* und *Aspergillus* auch andere Pilzarten wie Kryptokokken, *Fusarium* spp. und Zygomyceten zu detektieren und zu identifizieren. Da das PCR Produkt aber anschließend noch sequenziert werden muss, dauert die Methode länger und ist auf Grund ihrer breiten Fächerung weniger sensitiv als spezifische PCR-Assays.

Neu entwickelt wurde eine Kombination von PCR und Elektrospray-Ionisierungs-Massenspektrometrie (Firma Abbot, Iridica®). Damit kann eine Vielzahl von Bakterien, Viren, und Pilzen in einem Testansatz nachgewiesen werden. Erst vor kurzem wurde der „T2 Magnetic Resonance Assay“ zum Nachweis von Candidämien auf den Markt gebracht. Hierbei handelt es sich um einen nanodiagnostischen Ansatz, bei dem eine Identifizierung von *Candida* bis auf Speziesebene direkt aus Blut ohne vorherige Anzucht möglich ist. Dieser soll im Vergleich zu herkömmlichen Blutkulturen wesentlich sensitiver sein und rascher Ergebnisse liefern. Diese Methode sowie andere neue Testmethoden werden vorgestellt und auf ihre Routinetauglichkeit hin analysiert.

Bitte zitieren als: Willinger B. Neue Testmethoden für die Diagnose von invasiven Pilzinfektionen. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac01.

DOI: 10.3205/16sac01, URN: urn:nbn:de:0183-16sac018

Frei verfügbar unter: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac01.shtml>

(02)

### Cunninghamella bertholletiae – eine Übersicht

Jörg Steinmann, Julia Radtke, Peter-Michael Rath

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Universitätsklinikum Essen, Essen, Deutschland

*Cunninghamella bertholletiae* gehört in die Ordnung der Mucorales und ist wie die meisten Vertreter dieser Ordnung saprophytär. Der Pilz kommt weltweit vor und wird meistens auf abgestorbenen Pflanzenresten oder im Erdreich gefunden. Aber auch im Oberflächenwasser ist er verbreitet. Zur Gattung *Cunninghamella* gehören zwölf weitere Spezies.

*Cunninghamella* spp. können invasive Mykosen verursachen. Ungefähr 90% der Infektionen werden durch die Spezies *C. bertholletiae* ausgelöst. Meist sind Lunge, Herz oder Gehirn betroffen. Die Patienten haben häufig eine hämatologische Grunderkrankung oder sind durch andere Gründe immunsupprimiert. Die Letalität liegt bei über 70%, was nicht nur an der Grunderkrankung der Patienten liegt, sondern auch an einem besonderen pathogenen Mechanismus dieser Spezies: Die Modulation von Neutrophilen durch *C. bertholletiae* ist ausgeprägter als bei anderen Mucorales. Hierbei kommt es zu einer verstärkten Freisetzung von TNF-alpha und einer supprimierten Freisetzung von Interleukin 8.

*C. bertholletiae* weist eine Pan-Resistenz gegenüber den gängigen Antimykotika auf. Die Identifizierung auf Speziesebene kann durch die Morphologie, zusammen mit der maximalen Wachstumstemperatur und dem Fortpflanzungsmechanismus (homothallisch oder heterothallisch) erfolgen. Molekularbiologische Methoden wie die ITS-rDNA-Sequenzierung sind ebenso einsetzbar. Über die molekulare Epidemiologie von *C. bertholletiae* ist bisher nichts bekannt.

Bitte zitieren als: Steinmann J, Radtke J, Rath PM. *Cunninghamella bertholletiae* – eine Übersicht. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac02.

DOI: 10.3205/16sac02, URN: urn:nbn:de:0183-16sac024

Frei verfügbar unter: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac02.shtml>

(03)

### Besonderheiten der Diagnostik von Pilzinfektionen im niedergelassenen Labor

Ulrike Schumacher, Martina Böhringer

MVZ Labor Ravensburg, Mikrobiologie, Ravensburg, Deutschland

Das MVZ Labor Ravensburg ist Partner der Limbach SE-Gruppe, in der 30 Einzellabore deutschlandweit das gesamte Spektrum der Labordiagnostik anbieten. Das MVZ Labor Ravensburg betreut über 100 Krankenhäuser und mehr als 2.500 Arztpraxen. Aufgrund des großen Einzugsgebietes unseres Labors sind in der Präanalytik Transportzeiten von mehreren Stunden zu berücksichtigen. Im Jahr 2015 wurden in der Mikrobiologie mehr als 600.000 Proben bearbeitet, von denen mehr als 44.000 auf Pilze untersucht wurden. 56% der Proben stammten von stationären, 44% von ambulanten Patienten.

Aus den Materialien von stationären Patienten wurden mehr als 18.000 Pilze isoliert, wobei mit 97.5% Hefen über Hyphenpilzen (2.4%) dominierten. Dermatophyten machten einen Anteil von nur 0.1% aus. In den Materialien von ambulanten Patienten wurden demgegenüber nur 4900 Erreger isoliert (93% Hefen, 5% Hyphenpilze, 2% Dermatophyten).

Ein optimales Management dieser Probenmengen bedarf gut organisierter Strukturen und Verfahren, da individuelle Bearbeitungen nur eingeschränkt möglich sind. Eine der größten Probleme stellt in diesem Zusammenhang die Unzulässigkeit des Einsatzes von MALDI-TOF-MS bei ambulanten Kassenpatienten dar, wodurch ggf. die diagnostische Qualität beeinflusst wird. Für die Resistenztestung sind automatisierte Verfahren unabdingbar. Hier sind fehlende Bewertungsgrenzen für eine Vielzahl von Erregern (z.B. *Cryptococcus* spp., *Candida guilliermondii*) und Schwächen in der Auswertung insbesondere von Echinocandinen von Bedeutung.

Das niedergelassene Labor muss sich in besonderem Maß der Herausforderung stellen, qualitativ gute Diagnostik zu wirtschaftlich vertretbaren Kosten zu gewährleisten.

Bitte zitieren als: Schumacher U, Böhringer M. Besonderheiten der Diagnostik von Pilzinfektionen im niedergelassenen Labor. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac03.  
DOI: 10.3205/16sac03, URN: urn:nbn:de:0183-16sac033  
Frei verfügbar unter: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac03.shtml>

(04)

### Azole resistance in mucromycetes and de novo sequencing of cyp51 homologous genes

M. Lackner, R. Caramalho, T. Larentis, C. Lass-Flörl

Division of Hygiene and Medical Microbiology, Innsbruck Medical University, Innsbruck, Austria

Systemic infections caused by mucormycetes are often lethal. Recommended first line is amphotericin B (AMB) and posaconazole (PSC) is suggested as salvage therapy. Azole resistance was found to be species-dependent for mucormycetes. Therefore, underlying molecular mechanisms of the phenotypical observed PSC were studied. To this aim, Sanger sequence analysis of the two lanosterol 14- $\alpha$  demethylase orthologous genes were performed followed by structural analyses of protein.

A strain collection of 131 Mucorales isolates was catalogued for a) species identification using direct sequencing analysis of the internal transcribed spacer region (ITS), and b) determination of PSC *in vitro* susceptibility testing by following the CLSI guidelines. Full gene sequences of two CYP51 orthologues are available online for *Rhizopus arrhizus*, and *Mucor circinelloides* (<http://www.broadinstitute.org/>). These were set as reference for amplification and sequencing analysis of the genes encoding for lanosterol 14- $\alpha$  demethylase, known as primary structural target of azoles. All nucleic acid sequences of both PSC-susceptible and -resistant strains were screened for SNPs and translated into the amino acid sequence. Found missense mutations were *in silico* modeled based on the molecular 3D structure of the Erg11 protein of *Saccharomyces cerevisiae* (Erg11p6xHis).

Three species [*M. circinelloides* (McCYP51A and McCYP51B), *R. arrhizus* (RaCYP51A and RaCYP51B), and *R. microsporus* (RmCYP51A and RmCYP51B)] were identified to contain subpopulations with reduced *in vitro* susceptibilities against PSC. These subpopulations plus the wild-type populations were genetically analyzed. From the eight amino acid variations found for *R. arrhizus*, one in the orthologous protein of CYP51B was of particular interest (I57V) as it might indirectly affect PSC binding. Furthermore, out of the 12 amino acid changes found for RmCYP51B, the amino acid change RYH might give rise to significant PSC resistance.

We provided for the first time, the full gene sequences of two orthologous loci of lanosterol 14- $\alpha$  demethylase in three clinically relevant Mucorales species. The amino acid substitution RYH found in *R. microsporus* may confer reduced PSC susceptibility. However, experimental validation of this new amino acid change on its impact on PSC resistance is needed.

Please cite as: Lackner M, Caramalho R, Larentis T, Lass-Flörl C. Azole resistance in mucromycetes and de novo sequencing of cyp51 homologous genes. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac04.  
DOI: 10.3205/16sac04, URN: urn:nbn:de:0183-16sac040  
Freely available from: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac04.shtml>

(05)

## Neues in der Antimykotika-Pipeline

Stefan Schwartz

Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Hämatologie und Onkologie, Charité Campus Benjamin Franklin, Berlin, Deutschland

Neuere Studien zur Kombinationstherapie, zum Einsatz höherer Dosen sowie zum kürzlich eingeführten Isavuconazol zeigen in Bezug auf das Therapieansprechen bei invasiven Mykosen keine weiteren Verbesserungen [1], [2], [3], [4]. Insgesamt ist daher die Entwicklung neuer Substanzen wünschenswert.

ASP2397 ist eine neuartige, aus *Acremonium sp.* isolierte Substanz mit in vitro Wirksamkeit bei Azol-resistenten *Aspergillus spezie*s. ASP2397 wurde im Mausmodell in Dosierungen von 1 - 16mg/kg nach intratrachealer Applikation von *A. fumigatus* getestet. Dabei zeigte sich eine Korrelation zwischen Tagesdosis und Keimlast (CFU/g) im Lungengewebe [5]. T-2307, ein neuartiges Arylamid, zeigt in vitro eine gute Aktivität bei klinischen Candidaisolaten, auch bei nachgewiesener Azol- oder Echinocandinresistenz. Im Mausmodell zeigt es Wirksamkeit bei Infektionen mit *Candida*, *Cryptococcus* und *Aspergillus spezie*s [6], [7]. SCY-078, ein Derivat von Enfumafungin, ist ein für eine orale Therapie geeigneter Glucansyntheseinhibitor der gute in vitro Wirksamkeit gegenüber *Candida* und *Aspergillus spezie*s zeigt. Im Mausmodell konnten 2,7 - 16,9-fach höhere Alveolarfilm Spiegel im Vergleich zu Plasmaspiegeln nachgewiesen werden [8]. Eine Phase II Studie mit SCY-078 bei invasiver Candidiasis ist aktiv (NCT02244606). Biafungin (=CD101), ein neues Echinocandin mit langer Halbwertszeit, zeigt im Tiermodell bei invasiver Candidiasis und Aspergillose eine Konzentrations-abhängige Wirksamkeit [9] und wird derzeit in Phase I Studien untersucht (NCT02551549). F901318 ist ein neuartiger Pyrimidinsyntheseinhibitor und ist wirksam in Tiermodellen zur invasiven Aspergillose. In einer Phase I Studie zeigte sich nach 4-stündiger Einzeldosisinfusion ein rascher Abfall der Plasmaspiegel, ein hohes Verteilungsvolumen und eine Urinrecovery von nur 0,2%, ohne daß Nebenwirkungen beobachtet wurden [10]. Ein innovativer Ansatz ist die Synthese von Antimykotika-Konjugaten mit chemotaktischen Peptiden, die eine Bindung zwischen Pilzzellen und neutrophilen Granulozyten vermitteln. Entsprechende Konjugate mit Caspofungin und Amphotericin B zeigen in vitro nicht nur eine deutlich beschleunigte Migration neutrophiler Granulozyten, sondern auch eine deutlich Verbesserung der fungiziden Wirkung [11].

## Literatur

1. Marr KA, Schlamm HT, Herbrecht R, Rottinghaus ST, Bow EJ, Cornely OA, Heinz WJ, Jagannatha S, Koh LP, Kontoyiannis DP, Lee DG, Nucci M, Pappas PG, Slavin MA, Queiroz-Telles F, Selleslag D, Walsh TJ, Wingard JR, Maertens JA. Combination antifungal therapy for invasive aspergillosis: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2015 Jan;162(2):81-9. DOI: 10.7326/M13-2508
2. Cornely OA, Maertens J, Bresnik M, Ebrahimi R, Ullmann AJ, Bouza E, Heussel CP, Lortholary O, Rieger C, Boehme A, Aoun M, Horst HA, Thiebaut A, Ruhnke M, Reichert D, Vianelli N, Krause SW, Olavarria E, Herbrecht R, . Liposomal amphotericin B as initial therapy for invasive mold infection: a randomized trial comparing a high-loading dose regimen with standard dosing (AmBiLoad trial). *Clin Infect Dis.* 2007 May;44(10):1289-97. DOI: 10.1086/514341
3. Maertens JA, Raad II, Marr KA, Patterson TF, Kontoyiannis DP, Cornely OA, Bow EJ, Rahav G, Neofytos D, Aoun M, Baddley JW, Giladi M, Heinz WJ, Herbrecht R, Hope W, Karthaus M, Lee DG, Lortholary O, Morrison VA, Oren I, Selleslag D, Shoham S, Thompson GR 3rd, Lee M, Maher RM, Schmitt-Hoffmann AH, Zeiher B, Ullmann AJ. Isavuconazole versus voriconazole for primary treatment of invasive mould disease caused by *Aspergillus* and other filamentous fungi (SECURE): a phase 3, randomised-controlled, non-inferiority trial. *Lancet.* 2016 Feb 20;387(10020):760-9. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)01159-9
4. Marty FM, Ostrosky-Zeichner L, Cornely OA, Mullane KM, Perfect JR, Thompson GR 3rd, Alangaden GJ, Brown JM, Fredricks DN, Heinz WJ, Herbrecht R, Klimko N, Klyasova G, Maertens JA, Melinkeri SR, Oren I, Pappas PG, Ráčil Z, Rahav G, Santos R, Schwartz S, Vehreschild JJ, Young JH, Chetchotisakd P, Jaruratanasirikul S, Kanj SS, Engelhardt M, Kaufhold A, Ito M, Lee M, Sasse C, Maher RM, Zeiher B, Vehreschild MJ, VITAL and FungiScope Mucormycosis Investigators. Isavuconazole treatment for mucormycosis: a single-arm open-label trial and case-control analysis. *Lancet Infect Dis.* 2016 Mar 8. pii: S1473-3099(16)00071-2. DOI: 10.1016/S1473-3099(16)00071-2 [Epub ahead of print]
5. Nakamura I, et al. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Characterization of ASP2397, a Novel Potent Antifungal Agent with Activity against Invasive Pulmonary Aspergillosis. In: ICAAC/ICC; 2015 Sep 17-21; San Diego, California, USA. F-746.
6. Sakagami T, et al. In Vitro Activity of T-2307, a New Class of Antifungal Agent, against *Candida* Bloodstream Isolates (CBI). In: ICAAC/ICC; 2015 Sep 17-21; San Diego, California, USA. M-847.
7. Mitsuyama J, Nomura N, Hashimoto K, Yamada E, Nishikawa H, Kaeriyama M, Kimura A, Todo Y, Narita H. In vitro and in vivo antifungal activities of T-2307, a novel arylamidine. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008 Apr;52(4):1318-24. DOI: 10.1128/AAC.01159-07
8. Wring S, et al. Penetration of SCY-078 into Pulmonary Epithelial Lining Fluid Suggests Potential Clinical Utility in Pulmonary Fungal Infections. In: ICAAC/ICC; 2015 Sep 17-21; San Diego, California, USA. A-468c.
9. Miesel L, et al. Intravenous Efficacy of a Novel Echinocandin, CD101, in Neutropenic Mouse Models of Disseminated Candidiasis and Aspergillosis. In: ICAAC/ICC; 2015 Sep 17-21; San Diego, California, USA. Session 197.
10. Kennedy A, et al. Pharmacokinetics of F901318 in Man from an Intravenous Single Ascending Dose Study. In: ICAAC/ICC; 2015 Sep 17-21; San Diego, California, USA. F-751.
11. Irimia D, et al. Bifunctional Small Molecule Immunotherapy. C-001 and C-016 Attract Neutrophils (PMNs) to Inhibit *Aspergillus fumigatus* (Af) Growth in Microfluidic Chambers. In: ICAAC/ICC; 2015 Sep 17-21; San Diego, California, USA. F-762.

Bitte zitieren als: Schwartz S. Neues in der Antimykotika-Pipeline. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac05.  
DOI: 10.3205/16sac05, URN: urn:nbn:de:0183-16sac051

Frei verfügbar unter: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac05.shtml>

(06)

**PK/PD der Triazolantimykotika**

Hans-Peter Lipp

Universitätsapotheke Tübingen, Tübingen, Deutschland

Aufgrund umfangreicher präklinischer Untersuchungsergebnisse ist davon auszugehen, dass die wachstumshemmende Wirkung der Triazolantimykotika auf *Candida* spp. am besten mit einem fungistatischen Wirkungstyp beschrieben werden kann. In diesem Zusammenhang sollte ein AUC/MHK-Quotient von  $\geq 25$ –50 angestrebt werden. Hingegen ist von einem fungiziden Wirkungstyp bei *Aspergillus* spp. auszugehen, wobei für den freien ungebundenen Wirkstoffanteil ein AUC/MHK-Quotient  $\geq 2$ –11 erreicht werden sollte bzw. die erreichten  $c(\min)$ -Werte den MHK-Wert um den Faktor 2 überschreiten sollten.

Erste klinische Studienergebnisse zur PK/PD der Triazole bei Patienten mit ösophagaler Candidiasis bzw. invasiver Aspergillose konnten die präklinischen Studienergebnisse im Wesentlichen bestätigen.

Die Auswertung weitergehender klinischer Studien, die sich mit einem möglichen Zusammenhang zwischen Plasmaspiegeln der Triazolantimykotika (z.B.  $c(\min)$ -Werte [Talspiegel] beim Voriconazol) und der Wahrscheinlichkeit eines Therapieerfolgs bei manifesten Mykosen beschäftigten, haben mittlerweile zur Veröffentlichung von Zielkorridoren geführt, die im Falle eines Therapeutischen Drug Monitorings (TDM) angestrebt werden sollten.

Die umfangreichsten Diskussionen zur Durchführung eines Triazol-TDM wurden zweifelsohne zum Einsatz von Voriconazol geführt, da es im Gegensatz zu Posaconazol in seinen neuen Formulierungen und Isavuconazol mit den höchsten intra- und interindividuellen Schwankungen der Talspiegel verbunden ist. Während sich Einflussfaktoren wie die Komedikation von potenten Cyp3A-Induktoren/Inhibitoren und absorptionsbeeinträchtigenden Faktoren (z.B. Mucositis) eingrenzen lassen, ist der zugrundeliegende Cyp2C19-Genotyp des Patienten oft nicht bekannt, jedoch klinisch von Bedeutung. In diesem Zusammenhang führt vor allem der Cyp 2C19 \*17/\*17 Genotyp vergleichsweise häufig zu Talspiegeln  $< 0,5$ –1  $\mu\text{g/ml}$ .

Während beim Posaconazol vor allem in Verbindung mit der handelsüblichen Suspension immer wieder relativ großen Schwankungen der Plasmaspiegel beobachtet wurden, sind die weiterentwickelten galenischen Formulierungen, die Noxafil-Tablette (HMET-Technologie) und das Infusionskonzentrat, relativ sicher mit Wirkstoffkonzentrationen zwischen 0,5–3,5  $\mu\text{g/ml}$  verbunden, so dass sich die Frage nach einem Routine-TDM weitgehend erübrigt.

Auch beim Isavuconazol ist nach bisherigem Kenntnisstand von einer deutlich geringeren Variabilität der Plasmaspiegel im Vergleich zum Voriconazol auszugehen. Allerdings war das Breitspektrantimykotikum in einer direkten Vergleichsstudie dem Voriconazol i.v./p.o.(ohne TDM) in der Behandlung der invasiven Aspergillose nicht überlegen.

Zusammenfassend besteht ein Zusammenhang zwischen präklinischen PK/PD-Modellen, die mit den Triazolantimykotika durchgeführt wurden, und bisherigen klinischen Erfahrungen bei manifesten Systemmykosen. Ein Therapeutisches Drug Monitoring (TDM) stellt v.a. dann einen Mehrwert in der Therapie dar, wenn von relativ ausgeprägten intra- und interindividuellen Schwankungen der Plasmaspiegel des Triazols auszugehen ist. Sie sind beim Voriconazol, einem potenten Cyp3A, 2C9 und 2C19-Inhibitor, auch für die teilweise sehr variablen Wechselwirkungen mit z.B. Tacrolimus verantwortlich, so dass die Angabe, 1/3 der üblichen Dosierung zu verwenden, nur als ungefähre Anhaltspunkt gesehen werden darf.

| Triazol     | Indikation             | Zielbereich (Wirksamkeit)                             | Zielbereich (Toxizität)                          | Empfehlungsgrad                       |
|-------------|------------------------|---|--|---------------------------------------|
| Itraconazol | Prophylaxe<br>Therapie | $\geq 0,5$ $\mu\text{g/ml}$<br>1–2 $\mu\text{g/ml}$   | (<5 $\mu\text{g/ml}$ )<br>(<5 $\mu\text{g/ml}$ ) | AII (Wirksamkeit)<br>BII (Toxizität)  |
| Posaconazol | Prophylaxe<br>Therapie | $\geq 0,7$ $\mu\text{g/ml}$<br>1–1,5 $\mu\text{g/ml}$ | Keine Angabe<br>Keine Angabe                     | BII (Prophylaxe)<br>AII (Wirksamkeit) |
| Voriconazol | Prophylaxe<br>Therapie | $\geq 0,5$ $\mu\text{g/ml}$<br>1,5–5 $\mu\text{g/ml}$ | <5,5 $\mu\text{g/ml}$<br><5,5 $\mu\text{g/ml}$   | AII (Wirksamkeit)<br>BII (Toxizität)  |

Empfehlungsgrade: A (hoch), B (moderat), Evidenzgrad: II (mindestens eine gut durchgeführte klinische (nicht-randomisierte) Studie vorhanden (mod. nach Laverdiere M, et al. [2])

*Tabelle 1: Mögliche Zielkorridore, die beim Einsatz der verschiedenen Triazolantimykotika Itraconazol, Posaconazol und Voriconazol angestrebt werden sollten, wenn Plasmaspiegel (Talspiegel) gemessen werden*

**Anmerkungen:** Angaben zum Posaconazol beziehen sich vor allem auf den Einsatz der handelsüblichen Suspension. Allerdings ist der angegebene Wert zur Prophylaxe sehr umstritten, da er als mathematischer Durchschnittswert aus einer sehr begrenzten Patientenzahl ermittelt wurde. Beim Voriconazol sollte bei schweren Systemmykosen ein Talspiegel von 2  $\mu\text{g/ml}$  angestrebt werden.

## Literatur

1. Lamoureux F, Duflot T, Woillard JB, Metsu D, Pereira T, Compagnon P, Morisse-Pradier H, El Kholy M, Thiberville L, Stojanova J, Thuillez C. Impact of CYP2C19 genetic polymorphisms on voriconazole dosing and exposure in adult patients with invasive fungal infections. *Int J Antimicrob Agents*. 2016 Feb;47(2):124-31. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2015.12.003
2. Laverdiere M, Bow EJ, Rotstein C, Autmizguine J, Broady R, Garber G, Haider S, Hussaini T, Husain S, Ovetchkine P, Seki JT, Théorêt Y. Therapeutic drug monitoring for triazoles: A needs assessment review and recommendations from a Canadian perspective. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2014 Nov-Dec;25(6):327-43.
3. Lepak AJ, Andes DR. Antifungal pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2014 Nov 10;5(5):a019653. DOI: 10.1101/cshperspect.a019653

Bitte zitieren als: Lipp HP. PK/PD der Triazolantimykotika. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac06.

DOI: 10.3205/16sac06, URN: urn:nbn:de:0183-16sac068

Frei verfügbar unter: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac06.shtml>

(07)

## Posaconazol im klinischen Alltag

Gerlinde Egerer

Universitätsklinikum Heidelberg, Medizinische Klinik Abt. V, Heidelberg, Deutschland

2007 wurde in zwei großen randomisierten Studien ein klarer Vorteil für Hochrisikopatienten mit AML und GvHD, welche eine Posaconazol-Prophylaxe erhielten nachgewiesen [1], [2]. Seither wird Posaconazol in nationalen und internationalen Guidelines als antimykotische Prophylaxe für Patienten mit akuter Leukämie und GVHD-Erkrankung nach allogener Blutstammzelltransplantation empfohlen. Die Lösung zeigt neben einer niedrigen Bioverfügbarkeit stark variable Plasmakonzentrationen. In mehreren Publikationen wurden Real-Life-Untersuchungen publiziert [3], [4]. Hoenigl et al. konnten zeigen, dass suffiziente Posaconazol-Plasmakonzentrationen nach Einnahme der Posaconazol-Lösung nur bei 42% der Patienten erreicht wurden. Durch eine Patientenschulung wurde dieser Anteil signifikant erhöht [3]. Peterson et al. berichteten [4], dass im Vergleich zu einer Patientengruppe ohne Posaconazol-Prophylaxe in der Gruppe, welche eine antimykotische Prophylaxe mit Posaconazolsuspension erhielt, signifikant weniger Patienten an einer IFD erkrankten und weniger systemische antimykotische Therapie nötig war. Darüber hinaus wurden monozentrisch in Heidelberg AML-Patienten verglichen, welche keine Posaconazol-Prophylaxe erhielten, im Vergleich zu Patienten mit Posaconazol-Prophylaxe. Die Untersuchung konnte zeigen, dass bei den Patienten mit entsprechender Prophylaxe der Einsatz systemischer Antimykotika signifikant reduziert werden konnte und auch signifikant weniger nachgewiesene invasive Pilzinfektionen auftraten. Die Posaconazol-Prophylaxe war mit keinen erhöhten Kosten verbunden. Unabhängig von den pharmakologischen Herausforderungen der Posaconazol-Suspension führt eine Posaconazol-Prophylaxe zum Auftreten von signifikant weniger invasiven Pilzinfektionen. Seit Einführung der Posaconazol-Tablette ist anzudeuten, dass diese der Suspension vorzuziehen ist, da wie Pham et al. [5] zeigen konnte, dadurch höhere Spiegel im Vergleich zur Suspension erreicht werden können. Mehr Hepatotoxizität wird nicht beobachtet. Eine TDM erscheint für die Posaconazol-Tablette nicht erforderlich zu sein. Eine Posaconazol-Prophylaxe ist sicher und effektiv; der Tablette sollte gegenüber der Suspension der Vorrang eingeräumt werden.

## Literatur

1. Cornely OA, Maertens J, Winston DJ, Perfect J, Ullmann AJ, Walsh TJ, Helfgott D, Holowiecki J, Stockelberg D, Goh YT, Petrini M, Hardalo C, Suresh R, Angulo-Gonzalez D. Posaconazole vs. Fluconazole or Itraconazole prophylaxis in patients with Neutropenie. *N Engl J Med*. 2007;356(4):348-59.
2. Ullmann AJ, Lipton JH, Vesole DH, Chandrasekar P, Langston A, Tarantolo SR, Greinix H, Morais de Azevedo W, Reddy V, Boparai N, Pedicone L, Patino H, Durrant S. Posaconazole or fluconazole for prophylaxis in severe graft versus host disease. *N Engl J Med*. 2007;356(4):335-47.
3. Hoenigl M, Duetmann W, Raggam RB, Huber-Krassnitzer B, Theiler G, Seeber K, Pruessler F, Zollner-Schwetz I, Prattes J, Wagner J, Wölfler A, Krause R. Impacts of structured personal on-site education on low posaconazole plasma concentrations in patients with haematological malignancies. *Int J Antimicrob Agents*. 2014;44(2):140-4.
4. Peterson L, Ostermann J, Rieger H, Ostermann H, Rieger CT. Posaconazole prophylaxis - impact on incidence of invasive fungal disease and antifungal treatment in hematological patients. *Mycoses*. 2013; 56(6):651-8.
5. Pham AN, Bubalo JS, Lewis JS 2nd. Comparison of posaconazole serum concentrations from haematological cancer patients on posaconazole tablet and oral suspension for treatment and prevention of invasive fungal infections. *Mycoses*. 2016; Jan 6. DOI: 10.1111/myc.12452 [Epub ahead of print].

Bitte zitieren als: Egerer G. Posaconazol im klinischen Alltag. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac07.

DOI: 10.3205/16sac07, URN: urn:nbn:de:0183-16sac070

Frei verfügbar unter: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac07.shtml>

(08)

## Wie relevant ist die in-vitro Empfindlichkeitsprüfung? PRO

Peter-Michael Rath

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Universitätsklinikum Essen, Essen, Deutschland

In der Mykologie wurde eine Resistenztestung lange Zeit als nur in Ausnahmefällen erforderlich angesehen, da praktisch nur intrinsische Resistenzen bekannt waren, die korrekte Identifizierung der Spezies also wegweisend für die Substanzwahl war. Erworbene Resistenzen waren im Wesentlichen nur bei *Candida albicans* gegen Fluconazol bekannt. Hier konnte gezeigt werden, dass erhöhte MHK-Werte häufiger mit einem Therapieversagen einhergehen. Die aus der Bakteriologie bekannte 90-60-Regel scheint auch hier zu gelten.

Eine recht neue Entwicklung ist die zunehmende Häufigkeit von Mutationen bei klinisch relevanten *Candida glabrata*-Stämmen, die zu erhöhten MHK-Werten gegenüber den Echinocandinen führen. Auch hier deutet sich eine Korrelation zwischen erhöhten MHK-Werten und einem ungünstigen Infektionsverlauf an.

Ähnlich der Echinocandin-Resistenz bei *Candida* ist die erworbene Azol-Resistenz bei *Aspergillus*-Spezies ein neues Phänomen. Daher, aber auch wegen der relativen geringen Anzahl gesicherter Infektionen, dem speziellen Patientenkontext mit ohnehin hoher Letalität und technischen Schwierigkeiten bei der Resistenztestung, ist die Datenlage weit weniger eindeutig. Dennoch kann derzeit festgestellt werden, dass die Letalitätsrate bei Patienten mit Infektionen durch Azol-resistente *A. fumigatus* deutlich erhöht ist.

Nicht nur zur Überwachung der Epidemiologie sondern auch wegen der zunehmenden Rate an Resistenzen gegen Antimykotika ist eine flächendeckende Resistenztestung klinisch relevanter Isolate daher wünschenswert, bzw. bei Hochrisikopatienten dringend anzuraten.

Bitte zitieren als: Rath PM. Wie relevant ist die in-vitro Empfindlichkeitsprüfung? PRO. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac08.

DOI: 10.3205/16sac08, URN: urn:nbn:de:0183-16sac083

Frei verfügbar unter: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac08.shtml>

(09)

## Wie relevant ist die in-vitro Empfindlichkeitsprüfung? KONTRA

Markus Ruhnke

Paracelsus-Kliniken Osnabrück, Abt. Hämatologie & Onkologie, Osnabrück, Deutschland

Die zunehmende Zahl der Antimykotika, der Anstieg invasiver Mykosen bei immunkompromittierten Patienten und die Etablierung von Standards haben den Stellenwert der Empfindlichkeitsprüfung (Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration = MHK, in vitro) bei pathogenen Pilzisolaten erhöht. Zur Empfindlichkeitsprüfung von *Candida*-Isolaten sind standardisierte Methoden etabliert worden. Zum einen hat das „Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, <http://clsi.org/>)“ Grenzwerte für Fluconazol, Voriconazol, Posaconazol, die Echinocandine und Flucytosin vorgeschlagen. Zum anderen hat das „European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST, <http://www.eucastr.org>)“ ebenfalls Methoden für die Empfindlichkeitsprüfung definiert, bisher aber nur Grenzwerte für Fluconazol und Voriconazol publiziert [1]. Grundsätzlich sind diese Methoden aufwendig in der Durchführung (Mikrodilutions-Technik) und nicht alltagstauglich (außer dem sogen. E-Test) und es bleibt offen, welche Methode „besser“ ist. Ein Zusammenhang zwischen den Ergebnissen einer MHK-Testung und klinischem Ansprechen (oder Versagen) konnte für Fluconazol für die Behandlung der oralen Candidose bei AIDS-Patienten gezeigt werden [2]. Der Zusammenhang ist weniger klar für die Behandlung systemischer Infektionen mit Fluconazol oder Voriconazol [3], [4], [5], [6]. Die MHK-Bestimmung von *Candida*-Isolaten, die im Rahmen einer großen klinischen, randomisierten Studie zur Behandlung der Candidämie (Fluconazol vs. Amphotericin B) erbrachte keinen klaren Zusammenhang zwischen MHK-Wert und klinischen Ansprechen oder Versagen [4]. Neuere Untersuchungen weisen auf einen Zusammenhang zwischen MHK-Wert, Fluconazol-Dosis, AUC als pharmakokinetischem Parameter der Exposition und dem klinischen Therapieansprechen hin [7]. Auch für Amphotericin B und die Echinocandine gibt es derzeit keine überzeugenden Belege, die einen Zusammenhang zwischen dem Ergebnis der MHK-Testung von *Candida* spp. und dem klinischen Ansprechen bei systemischer Candidose/Candidämie beweisen würden. Dennoch soll nach den Empfehlungen der PEG/DMykG eine Empfindlichkeitstestung bei allen *Candida*-Isolaten durchgeführt werden, die aus einer Blutkultur oder einer steril entnommenen Probe nachgewiesen wurden [8]. Somit ist grundsätzlich zu berücksichtigen, dass individuelle Faktoren des Patienten den Ausgang einer Therapie stärker beeinflussen als die MHK-Bestimmung.

Ob auch eine routinemäßige Empfindlichkeitsprüfung, in erster Linie von *Aspergillus* spp. gegen Azole wie Itraconazol, Voriconazol oder Posaconazol durchgeführt werden soll, wird zwar gefordert, ist aber derzeit nur Gegenstand der klinischen Forschung. Fallberichte von Patienten, die mit oder an einer azolresistenten Aspergillose (meist Itraconazol- oder Voriconazol-Resistenz) verstorben sind wurden publiziert, ohne dass in diesen Berichten ein Zusammenhang zwischen in-vitro-Resistenz und Therapieversagen zwangsläufig erkennbar ist. In einer prospektiv durchgeführten, internationalen Multicenterstudie an 3788 *Aspergillus*-Isolaten aus 22 Zentren in 19 Ländern wurde eine Prävalenz von azolresistenten *A. fumigatus*-Isolaten mit 3,2% errechnet und ist somit sehr gering [9]. Allerdings stellt die EUCAST-Arbeitsgruppe fest, dass die Interpretation von Fadenpilz-MHK-Werten eine Herausforderung darstellt und sogen. „interpretative breakpoints“ erst etabliert werden müssen [10]. Insgesamt ist die Beurteilung der Ergebnisse deutlich schwieriger und erfahrungsabhängiger als bei *Candida*. und der Stellenwert einer routinemäßigen MHK-Bestimmung von klinischen Isolaten muss kritisch gesehen werden.



## Literatur

1. Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (AFST) of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). EUCAST definitive document EDef 7.1: method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts. Clin Microbiol Infect. 2008 Apr;14(4):398-405. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2007.01935.x
2. Hegener P, Troke PF, Fätkenheuer G, Diehl V, Ruhnke M. Treatment of fluconazole-resistant candidiasis with voriconazole in patients with AIDS. AIDS. 1998 Nov;12(16):2227-8.
3. Pfaller MA, Diekema DJ, Rex JH, Espinel-Ingroff A, Johnson EM, Andes D, Chaturvedi V, Ghannoum MA, Odds FC, Rinaldi MG, Sheehan DJ, Troke P, Walsh TJ, Warnock DW. Correlation of MIC with outcome for Candida species tested against voriconazole: analysis and proposal for interpretive breakpoints. J Clin Microbiol. 2006 Mar;44(3):819-26. DOI: 10.1128/jcm.44.3.819-826.2006
4. Rex JH, Pfaller MA, Barry AL, Nelson PW, Webb CD. Antifungal susceptibility testing of isolates from a randomized, multicenter trial of fluconazole versus amphotericin B as treatment of nonneutropenic patients with candidemia. NIAID Mycoses Study Group and the Candidemia Study Group. Antimicrob Agents Chemother. 1995 Jan;39(1):40-4. DOI: 10.1128/AAC.39.1.40
5. Rex JH, Pfaller MA, Walsh TJ, Chaturvedi V, Espinel-Ingroff A, Ghannoum MA, Gosey LL, Odds FC, Rinaldi MG, Sheehan DJ, Warnock DW. Antifungal susceptibility testing: practical aspects and current challenges. Clin Microbiol Rev. 2001 Oct;14(4):643-58, table of contents. DOI: 10.1128/CMR.14.4.643-658.2001
6. Rex JH, Pfaller MA. Has antifungal susceptibility testing come of age? Clin Infect Dis. 2002 Oct;35(8):982-9. DOI: 10.1086/342384
7. Pai MP, Turpin RS, Garey KW. Association of fluconazole area under the concentration-time curve/MIC and dose/MIC ratios with mortality in nonneutropenic patients with candidemia. Antimicrob Agents Chemother. 2007 Jan;51(1):35-9. DOI: 10.1128/AAC.00474-06
8. Ruhnke M, Rickerts V, Cornely OA, Buchheidt D, Glöckner A, Heinz W, Höhl R, Horré R, Karthaus M, Kujath P, Willinger B, Presterl E, Rath P, Ritter J, Glasmacher A, Lass-Flörl C, Groll AH, German Speaking Mycological Society, Paul-Ehrlich-Society for Chemotherapy. Diagnosis and therapy of Candida infections: joint recommendations of the German Speaking Mycological Society and the Paul-Ehrlich-Society for Chemotherapy. Mycoses. 2011 Jul;54(4):279-310. DOI: 10.1111/j.1439-0507.2011.02040.x
9. van der Linden JW, Arendrup MC, Warris A, Lagrou K, Pelloux H, Hauser PM, Chryssanthou E, Mellado E, Kidd SE, Tortorano AM, Dannaoui E, Gaustad P, Baddley JW, Uekötter A, Lass-Flörl C, Klimko N, Moore CB, Denning DW, Pasqualotto AC, Kibbler C, Arkan-Akdagli S, Andes D, Meletiadis J, Naumiuk L, Nucci M, Melchers WJ, Verweij PE. Prospective multicenter international surveillance of azole resistance in Aspergillus fumigatus. Emerging Infect Dis. 2015 Jun;21(6):1041-4. DOI: 10.3201/eid2106.140717
10. Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST Technical Note on the method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for conidia-forming moulds. Clin Microbiol Infect. 2008 Oct;14(10):982-4. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2008.02086.x

Bitte zitieren als: Ruhnke M. Wie relevant ist die in-vitro Empfindlichkeitsprüfung? KONTRA. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac09.

DOI: 10.3205/16sac09, URN: urn:nbn:de:0183-16sac091

Frei verfügbar unter: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac09.shtml>

(10)

## Molekularbiologische Diagnostik invasiver Aspergillus-Infektionen bei hämatologischen und onkologischen pädiatrischen Patienten

Dieter Buchheidt

3. Medizinische Klinik, Universitätsmedizin Mannheim, Universität Heidelberg, Mannheim, Deutschland

Patienten mit akuten Leukämien in der Induktionstherapie und nach allogener Blutstammzell- oder Knochenmarktransplantation haben ein sehr hohes Risiko, an systemischen Pilzinfektionen, in erster Linie bedingt durch *Aspergillus fumigatus*, zu erkranken; die Sterblichkeit, insbesondere bei Infektionen durch diesen Erreger, ist hoch. Eine frühzeitige Sicherung der Diagnose und eine frühzeitige adäquate antimykotische Therapie sind Faktoren, die zur Verbesserung der Prognose bei dieser Patientengruppe entscheidend beitragen.

Hinsichtlich Epidemiologie, Verlauf der Grundkrankheit und der Wertigkeit von Biomarkern Verfahren zur Infektionsdiagnostik gibt es wichtige Unterschiede zwischen pädiatrischen und erwachsenen hämato-onkologischen Hochrisiko-Patienten, die die diagnostische Wertigkeit der Thorax-CT-Bildgebung wie der serologischen und molekularbiologischen Infektionsmarker betreffen. Daten zu pädiatrischen Patienten sind in diesem Szenario, abgesehen von Studien zur Wertigkeit von Galaktomannan, nur spärlich vorhanden und überwiegend wenig valide.

PCR-basierte Assays sind ein vielversprechender Ansatz zur (Erreger-) spezifischen und sensitiven Infektionsdiagnostik, insbesondere bei der Diagnostik invasiv-pulmonaler *Aspergillus*-Infektionen aus bronchoalveolärer Lavage. Die Mehrzahl der *Aspergillus*-PCR-Diagnostik-Studien wurden allerdings mit erwachsenen hämato-onkologischen Patienten durchgeführt, so dass der diagnostische Stellenwert der *Aspergillus*-PCR-Diagnostik bei pädiatrischen Hochrisiko-Patienten bislang nicht hinreichend geklärt ist. Die vorliegenden Daten zur molekularbiologischen *Aspergillus*-Infektionsdiagnostik bei pädiatrischen Hochrisiko-Patienten werden umfassend referiert.

## Literatur

1. Buchheidt D, Reinwald M, Spiess B, Boch T, Hofmann WK, Groll AH, Lehrnbecher T; Working Group "Infections in Hematology and Oncology", German Paul-Ehrlich-Society. Biomarker-based diagnostic work-up of invasive pulmonary aspergillosis in immunocompromised paediatric patients - is Aspergillus PCR appropriate? Mycoses. 2016 Feb;59(2):67-74. DOI: 10.1111/myc.12443

Bitte zitieren als: Buchheidt D. Molekularbiologische Diagnostik invasiver Aspergillus-Infektionen bei hämatologischen und onkologischen pädiatrischen Patienten. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac10.

DOI: 10.3205/16sac10, URN: urn:nbn:de:0183-16sac105

Frei verfügbar unter: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac10.shtml>

(11)

## Invasive Pilzinfektionen bei Patienten nach allogener Stammzelltransplantation

Nicole Harrison<sup>1</sup>, Christina Forstner<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Univ. Klinik für Innere Medizin I, Abteilung für Infektionen und Tropenmedizin, Medizinische Universität Wien, Wien, Österreich

<sup>2</sup>Zentrum für Infektionsmedizin und Krankenhaushygiene, Universitätsklinikum Jena, Jena, Deutschland

Patienten nach allogener Stammzelltransplantation (HSCT) sind einem erhöhten Risiko für invasive Pilzkrankungen (IFDs) ausgesetzt [1]. Daher ist es Ziel dieser retrospektiven Kohortenstudie der Medizinischen Universität Wien sowohl die epidemiologischen Trends von wahrscheinlichen und gesicherten IFDs [2] als auch den Einfluss der antifungalen Prophylaxe zu beurteilen.

In den Jahren 2009 bis 2013 lag die Ein-Jahres-Inzidenz für IFDs nach allogener HSCT bei 10.3% und war damit vergleichbar mit anderen Zentren [3], [4]. Allerdings zeigte sich in der KMT-Abteilung der Medizinischen Universität Wien keine Änderung der Inzidenz über diesen Zeitraum trotz einer Steigerung der Verabreichung von systemischer Pilzprophylaxe während der Aplasiaphase von 15% 2009 auf 69% der Patienten 2013. Der moderate Einsatz von antifungaler Prophylaxe ergab für diese Kohorte einen interessanten epidemiologischen Hintergrund. Invasive Aspergillose (64%) waren vorherrschend, gefolgt von invasiven *Candida* Infektionen (25%) und *Pneumocystis* Pneumonie (11%), allerdings konnte keine Mukormykose nachgewiesen werden.

Die am häufigsten eingesetzte antifungale Prophylaxe während der Aplasiaphase war Posaconazol als orale Suspension (50%), gefolgt von Voriconazol (27%) und Fluconazol (16%). In der Phase nach dem Engraftment benötigten insgesamt 65% der Patienten Prophylaxe aufgrund von chronischem Graft-versus-Host-Disease. Vier Patienten entwickelten eine invasive Aspergillose unter Einnahme von Fluconazol und fünf Patienten unter Posaconazol. Zwei Fälle von invasiven *Candida*-Infektionen traten unter Posaconazol bzw. Caspofungin auf. Insgesamt entwickelten 5% (6/113) der Patienten, die Posaconazol als Prophylaxe nach HSCT erhielten, eine fungale Durchbruchsinfektion verglichen zu 6% (6/64) der Patienten welche Fluconazol einnahmen.

Die Mortalität von Patienten mit IFDs war im ersten Jahr nach HSCT signifikant erhöht (Mortalität 25% ohne IFD vs. 48% mit IFD,  $p=0.02$ ), vor allem bei Patienten mit invasiver Aspergillose (Mortalität 63%,  $p=0.003$ ). Auch das Risiko für eine Aufnahme an der Intensivstation war in dieser Patientengruppe signifikant erhöht (12% ohne IFD vs. 64% mit IFD,  $p<0.0001$ ). Der Einsatz von antifungaler Prophylaxe nach HSCT war der einzige negative Prädiktor für das Auftreten einer IFD (AOR 0.3, 95% CI 0.1-0.8). Fortlaufende Studien sind notwendig um den optimalen Einsatz der antifungalen Prophylaxe, insbesondere den Einfluss von neuen Präparaten und Formulierungen, in Zukunft evaluieren zu können.

### Literatur

1. Mackall C, Fry T, Gress R, Peggs K, Storek J, Toubert A; Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR); National Marrow Donor Program (NMDP); European Blood and Marrow Transplant Group (EBMT); American Society of Blood and Marrow Transplantation (ASBMT); Canadian Blood and Marrow Transplant Group (CBMTG); Infectious Disease Society of America (IDSA); Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA); Association of Medical Microbiology and Infectious Diseases Canada (AMMI); Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Background to hematopoietic cell transplantation, including post transplant immune recovery. *Bone Marrow Transplant.* 2009 Oct;44(8):457-62. DOI: 10.1038/bmt.2009.255
2. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, Pappas PG, Maertens J, Lortholary O, Kauffman CA, Denning DW, Patterson TF, Maschmeyer G, Bille J, Dismukes WE, Herbrecht R, Hope WW, Kibbler CC, Kullberg BJ, Marr KA, Muñoz P, Odds FC, Perfect JR, Restrepo A, Ruhnke M, Segal BH, Sobel JD, Sorrell TC, Viscoli C, Wingard JR, Zaoutis T, Bennett JE; European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group; National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis.* 2008 Jun 15;46(12):1813-21. DOI: 10.1086/588660
3. Omer AK, Ziakas PD, Anagnostou T, Coughlin E, Kourkoumpetis T, McAfee SL, Dey BR, Attar E, Chen YB, Spitzer TR, Mylonakis E, Ballen KK. Risk factors for invasive fungal disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a single center experience. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013 Aug;19(8):1190-6. DOI: 10.1016/j.bbmt.2013.05.018
4. Liu YC, Chien SH, Fan NW, Hu MH, Gau JP, Liu CJ, Yu YB, Liu CY, Hsiao LT, Liu JH, Chiou TJ, Chen PM, Tzeng CH. Incidence and risk factors of probable and proven invasive fungal infection in adult patients receiving allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Microbiol Immunol Infect.* 2015 Jan 30. pii: S1684-1182(15)00026-2. DOI: 10.1016/j.jmii.2015.01.002 [Epub ahead of print]

Bitte zitieren als: Harrison N, Forstner C. Invasive Pilzinfektionen bei Patienten nach allogener Stammzelltransplantation. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac11.

DOI: 10.3205/16sac11, URN: urn:nbn:de:0183-16sac116

Frei verfügbar unter: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac11.shtml>

(12)

## The lung mycobiome

Robert Krause

Section of Infectious Diseases and Tropical Medicine, Department of Internal Medicine, Medical University of Graz, Austria

Culture-based approaches are inadequate to completely understand the interactions of the host and the microbiome, and culture independent molecular assays are more efficient in describing microbial communities [1]. After omitting the paradigm that the healthy lung is sterile, it is now believed that the lung microbiome as a poly-microorganism unit contributes to pathogenesis of various diseases. Most of the research studies targeting the respiratory microbiome have focused on bacteria and their impact on lung health and lung diseases. Recently, the mycobiome has gained attention and lower respiratory tract (LRT) diseases (e.g. chronic obstructive pulmonary disease, cystic fibrosis) and other diseases or conditions (e.g. HIV infection, lung transplantation, treatment at intensive care units) have been investigated with regard to possible involvement of mycobiome in development or progression of diseases. It has been shown that diversities of mycobiome in the LRT vary in different populations and conditions and links to different stages of diseases have been proposed. However, most of studies are based on sputum samples and contamination by mycobiota of the oral cavity can not be excluded. As shown by Ghannoum et al. [2] the oral cavity of 20 healthy non smoking adults contained various fungal genera (74 culturable and 11 non-culturable) detected by next generation sequencing (NGS) in oral washes. The total number of culturable species detected was 101, with each individual having between 9–23 species. *Candida* spp. was detected in 75%, *Cladosporium* spp. in 60%, *Aspergillus* spp. and *Fusarium* spp. in 35% and 30% of individuals. *C. albicans* was the most frequently identified species and was detected in 40% of all investigated subjects. Therefore, mycobiota studies investigating the lower respiratory tract by sampling sputum or by passing the oral cavity with endotracheal/endobronchial catheters or bronchoscopes should be interpreted with caution. Thorough description of sampling techniques and presentation of clinical data including underlying disease and treatments as well as prudent selection of comparators (i.e. healthy adults) are necessary for rational assessment of mycobiota data.

### References

1. Bousbia S, Raoult D, La Scola B. Pneumonia pathogen detection and microbial interactions in polymicrobial episodes. *Future Microbiol.* 2013 May;8(5):633-60. DOI: 10.2217/fmb.13.26
2. Ghannoum MA, Jurevic RJ, Mukherjee PK, Cui F, Sikaroodi M, Naqvi A, Gillevet PM. Characterization of the oral fungal microbiome (mycobiome) in healthy individuals. *PLoS Pathog.* 2010 Jan 8;6(1):e1000713. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000713

Please cite as: Krause R. The lung mycobiome. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac12. DOI: 10.3205/16sac12, URN: urn:nbn:de:0183-16sac127  
Freely available from: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac12.shtml>

(13)

## Literatur-Review: Wirt-Pathogen-Interaktion bei invasiven Mykosen

Sebastian Wurster

Universitätsklinikum Würzburg, Medizinische Klinik und Poliklinik II, Infektiologie, Würzburg, Deutschland

Die Untersuchung der Pathogenese von invasiven Mykosen und der Interaktion der Erreger mit dem menschlichen Immunsystem bildet eine wichtige Grundlage für die Etablierung neuer diagnostischer und therapeutischer Verfahren. Mein Vortrag beleuchtet daher wesentliche Publikationen des letzten Jahres zur Wirt-Pathogen-Interaktion bei Aspergillose, Mucormykosen und Candidosen.

Dabei werden hochrangig publizierte Arbeiten zu einzelnen Aspekten aus dem Kaleidoskop der Immunzellen vorgestellt, u. a. zur Interaktion von neutrophilen Granulozyten mit *Candida* und *Aspergillus* oder zur T-Zell-Immunität bei Mucormykosen. Neben den Klassikern der innatens und adaptiven Immunität wurde kürzlich allerdings auch die Relevanz neuer Zelltypen wie den plasmazytoiden dendritischen Zellen oder den myeloiden Suppressorzellen bei der Abwehr von Pilzerregern und der Modulierung der Immunreaktion gezeigt. Auch die Aktivierung von Thrombozyten durch fungale Zellwandstrukturen soll thematisiert werden. Im Zusammenhang mit dem zuletzt multipel publizierten und diskutierten Konzept der „Trained Immunity“ des innatens Immunsystems wird darauf eingegangen, wie Kommensalen die Wirt-Antwort gegen pathogene Erreger beeinflussen können. Auf der Pilzseite werden einige neue Aspekte der Zellwandbiologie wie die Interferenz von Melanin mit Phagozytose-Prozessen adressiert.

Der Vortrag setzt einen Schwerpunkt auf europäische Arbeiten und vor allem Arbeiten mit Beteiligung von Wissenschaftlern aus dem deutschsprachigen Raum, u. a. mit systembiologischen Publikationen aus dem FungiNet-Konsortium (TR 124), das sich schwerpunktmäßig mit der Modellierung von Netzwerken der Pilz-Mensch-Interaktion bei Aspergillose und Candidosen befasst.

Bitte zitieren als: Wurster S. Literatur-Review: Wirt-Pathogen-Interaktion bei invasiven Mykosen. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac13. DOI: 10.3205/16sac13, URN: urn:nbn:de:0183-16sac132  
Frei verfügbar unter: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac13.shtml>

(14)

## Paracoccidioidomykose in Österreich

Genrot Wagner<sup>1</sup>, Axel Eckhardt<sup>1</sup>, Ulrich Sagel<sup>2</sup>, Friedrich Wrba<sup>3</sup>, Karl Dam<sup>1</sup>, Birgit Willinger<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universitätsklinikum St. Pölten, Klinische Abteilung für Innere Medizin 2, St. Pölten, Österreich

<sup>2</sup>Universitätsklinikum St. Pölten, Klinisches Institut für Hygiene und Mikrobiologie, St. Pölten, Österreich

<sup>3</sup>Medizinische Universität Wien, Klinisches Institut für Pathologie, Wien, Österreich

<sup>4</sup>Medizinische Universität Wien, Klinische Abteilung für Klinische Mikrobiologie, Wien, Österreich

Soweit uns bekannt ist, wurde bisher in Österreich erst ein importierter Fall einer Paracoccidioidomykose dokumentiert [1]. Unabhängig davon berichten wir über einen weiteren Fall. Ein 62-jähriger Pensionist wurde an unserer Abteilung aufgrund von allgemeiner Schwäche, linkseitigen Brust- und Bauchschmerzen, Gewichtsverlust, Nachtschweiß sowie Husten stationär aufgenommen. Anamnestisch war eine Lungentuberkulose mit wiederholten Reaktivierungen zu erheben. Eine genaue Reiseanamnese ergab, dass der Patient vor mehr als 10 Jahren in einer ländlichen Gegend in Peru lebte. Die CT zeigte postspezifische Veränderungen der Lunge sowie deutlich vergrößerte Nebennieren beidseits. In der MRT des Schädels fand sich temporo-parietal eine singuläre Läsion. Weiter ergab die PET eine gesteigert metabolische Aktivität in den vergrößerten Nebennieren sowie einen hypermetabolen zervikalen Lymphknoten. Zusammenfassend bestand der hochgradige Verdacht auf eine neuerliche Reaktivierung der Tuberkulose mit Dissemination in beide Nebennieren und primärer Nebennierenrindensuffizienz. Aus dem Sputum war jedoch sowohl mit Ziehl-Neelsen Färbung auch als mit PCR und Kultur *Mycobacterium tuberculosis* nicht nachweisbar. Es wurde nun entschieden eine CT gezielte Biopsie der linken Nebenniere sowie eine chirurgische Entfernung eines zervikalen Lymphknotens durchzuführen. Die Histologie der Nebennierenbiopsie zeigte Granulome mit zentraler Nekrose, jedoch fand sich auch ein Hinweis auf Pilze. *Paracoccidioides brasiliensis* konnte mittels Mikroskopie, Kultur und molekularer Sequenzanalyse aus Pilzisolaten nachgewiesen werden. Es wurde die Diagnose einer chronischen Paracoccidioidomykose mit Dissemination gestellt. Eine antimykotische Therapie mit liposomalem Amphotericin B wurde eingeleitet. In weiterer Folge wurde diese durch eine orale Therapie, initial mit Itraconazol und anschließend mit Posaconazol ersetzt. Im Verlauf kam es zu einer klinischen und radiologischen Besserung.

Dieser Fall unterstreicht sowohl die klinischen als auch histologischen Ähnlichkeiten der Paracoccidioidomykose und Tuberkulose. Bei Patienten, die nach Süd- oder Mittelamerika gereist sind oder dort gelebt haben, sollten systemische Mykosen als Differentialdiagnose mitberücksichtigt werden.

### Literatur

1. Mayr A, Kirchmair M, Rainer J, Rossi R, Kreczy A, Tintelnot K, Dierich MP, Lass-Flörl C. Chronic paracoccidioidomycosis in a female patient in Austria. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2004 Dec;23(12):916-9. DOI: 10.1007/s10096-004-1239-9

Bitte zitieren als: Wagner G, Eckhardt A, Sagel U, Wrba F, Dam K, Willinger B. Paracoccidioidomykose in Österreich. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac14.

DOI: 10.3205/16sac14, URN: urn:nbn:de:0183-16sac147

Frei verfügbar unter: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac14.shtml>

(15)

## Identifizierung neuer Resistenz- und Virulenzfaktoren mit Hilfe einer genomweiten Sammlung von *Candida glabrata* Gendeletionsmutanten

Fabian Istel<sup>1</sup>, Tobias Schwarzmüller<sup>1</sup>, Walter Glaser<sup>1</sup>, Birgit Willinger<sup>2</sup>, Karl Kuchler<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medical University Vienna, Max F. Perutz Laboratories, Campus Vienna Biocenter, Vienna, Austria

<sup>2</sup>Medical University Vienna, Klinische Abteilung für klinische Mikrobiologie, Vienna, Austria

Die Häufigkeit systemischer Pilzinfektionen ist in den letzten Jahren bei immunsupprimierten Patienten stetig gestiegen. Diese Infektionen werden häufig von Pilzen der Gattung *Candida* ausgelöst und zeichnen sich durch eine hohe Mortalität aus. *Candida glabrata* (*C.g.*) ist momentan der zweithäufigste Erreger bei systemischen Candidosen und ist verantwortlich für etwa 20 % dieser Infektionen [1]. Die inherente Toleranz von *C.g.* gegenüber Azolen ist hierbei von besonderer Bedeutung, da Azole in der Therapie und Prophylaxe weit verbreitet sind. Interessanterweise ist *C.g.* aber nicht in der Lage Hyphen zu bilden oder Proteinasen zu sekretieren. In *Candida albicans* (*C.a.*) sind beides wichtige Fähigkeiten für dessen Virulenz [2]. Diese Unterschiede zu *C.a.* und die inherente Toleranz gegenüber konventionellen antifungalen Therapien unterstreichen die Notwendigkeit die Virulenzfaktoren von *C.g.* besser zu verstehen.

Um potentielle Virulenz- und Resistenzfaktoren zu identifizieren, haben wir mit der Erstellung einer Sammlung von Gendeletionsmutanten in *C.g.* begonnen. Mit Hilfe dieser Kollektion ist es möglich die Rolle bestimmter Gene für beispielsweise Virulenz und Resistenz zu untersuchen. Die über 700 Mutanten der Sammlung wurden umfangreich *in vitro* unter verschiedenen Stresskonditionen getestet. Diese umfassten unter anderem extreme Temperaturen, verschiedene pH-Werte, osmotischen sowie antifungalen Stress [3].

Um diesen großen Datensatz zu verifizieren, haben wir ausgewählte Gene ebenfalls in klinischen Isolaten entfernt. Diese klinischen Isolate weisen zum Teil hohe Toleranzen gegenüber Echinocandinen, Azolen und Polyenen auf. Dadurch ist es möglich die Rolle einzelner Gene bei antifungalen Resistenzen in der Klinik zu erforschen.

## Literatur

1. Pfaller MA, Andes DR, Diekema DJ, Horn DL, Reboli AC, Rotstein C, Franks B, Azie NE. Epidemiology and Outcomes of Invasive Candidiasis Due to Non-albicans Species of Candida in 2,496 Patients: Data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH) Registry 2004-2008. *PLoS One*. 2014 Jul; 9(7):e101510. DOI: 10.1371/journal.pone.0101510
2. Kaur R, Domergue R, Zupancic ML, Cormack BP. A yeast by any other name: *Candida glabrata* and its interaction with the host. *Curr Opin Microbiol*. 2005 Aug;8(4):378-384.
3. Schwarzmüller T, Ma B, Hiller E, Istel F, Tscherner M, Brunke S, Ames L, Firon A, Green B, Cabral V, Marcet-Houben M, Jacobsen ID, Quintin J, Seider K, Frohner I, Glaser W, Jungwirth H, Bachellier-Bassi S, Chauvel M, Zeidler U, Ferrandon D, Gabaldón T, Hube B, d'Enfert C, Rupp S, Cormack B, Haynes K, Kuchler K. Systematic phenotyping of a large-scale *Candida glabrata* deletion collection reveals novel antifungal tolerance genes. *PLoS Pathog*. 2014 Jun 19;10(6):e1004211. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004211

Bitte zitieren als: Istel F, Schwarzmüller T, Glaser W, Willinger B, Kuchler K. Identifizierung neuer Resistenz- und Virulenzfaktoren mit Hilfe einer genomweiten Sammlung von *Candida glabrata* Gendeletionsmutanten. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac15. DOI: 10.3205/16sac15, URN: urn:nbn:de:0183-16sac157  
Frei verfügbar unter: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac15.shtml>

## Freie Beiträge/Poster

(16)

### Analyse der in vitro-Aktivität neutrophiler Granulozyten gegenüber *A. fumigatus* unter dem Einfluss von Antimykotika und Immunsuppressiva

C. Decker, S. Wurster, A.M. Hellmann, H. Einsele, A.J. Ullmann, J. Löffler

Invasive Aspergillosen, die häufigsten Schimmelpilzinfektionen bei immunsupprimierten Patienten, gehen trotz des Einsatzes verschiedener Antimykotika mit einer hohen Letalität einher. Ein Problem ist dabei die geringe Korrelation der in vitro-Suszeptibilität und des therapeutischen Ansprechens, wobei u. a. eine Interaktion der Medikation mit dem innaten Immunsystem diskutiert wird. In diesem Projekt wurden daher verschiedene fungizide Effektormechanismen von neutrophilen Granulozyten unter dem Einfluss klinisch relevanter Antimykotika sowie Immunsuppressiva evaluiert.

Neutrophile Granulozyten wurden aus EDTA-Blut von gesunden Spendern isoliert und mit PMA und inaktivierten oder vitalen Keimschläuchen von *A. fumigatus* stimuliert. Ein Teil der Proben wurde mit therapeutischen Konzentrationen von liposomalem Amphotericin B (LAmB) oder Voriconazol, sowie Prednisolon oder Ciclosporin A und Mycophenolatmofetil (MMF) behandelt. Die Freisetzung von Sauerstoffradikalen (ROS) wurde in einem Dichlorfluorescein-basierten Assay evaluiert.

Es zeigte sich nur in Gegenwart von LAmB eine reduzierte ROS-Antwort auf PMA (-22 %,  $p < 0.001$ ) und vitale *A. fumigatus*-Keimschläuche (-25 %,  $p < 0.05$ ), wohingegen eine geringfügig verstärkte ROS-Sekretion bei Stimulation mit inaktivierten Keimschläuchen zu beobachten war. Die Zugabe von Prednisolon wirkte diesem durch LAmB bedingten Anstieg entgegen, während Ciclosporin A und MMF zu keiner signifikanten Beeinflussung der ROS-Sekretion führten. Parallel hierzu wurde die Freisetzung von Interleukin-8 mittels ELISA evaluiert. In Gegenwart von LAmB fand sich eine leicht reduzierte IL-8-Sekretion nach PMA-Stimulation (55 vs. 92 pg/ml).

Als weitere Parameter wurden die Phagozytose FITC-markierter, inaktivierter *A. fumigatus*-Keimschläuche durchflusszytometrisch quantifiziert und die Bildung von *Neutrophil Extracellular Traps* (NETs) nach Exposition der Neutrophilen gegenüber inaktivierten Keimschläuchen durch Messung der NET-Elastase-Aktivität evaluiert. Beide Effektorfunktionen zeigten sich weder durch die Zugabe von Antimykotika noch durch Immunsuppressiva signifikant beeinflusst.

In der Gesamtschau ergab sich mit Ausnahme einer leichten, auch gegenüber dem unspezifischen Stimulus PMA bestehenden, Verminderung der ROS- und IL-8-Freisetzung in Präsenz von LAmB, kein Anhaltspunkt für eine klinisch relevante Beeinflussung neutrophiler Effektorfunktionen durch Antimykotika oder das Zusammenwirken von Antimykotika und Immunsuppressiva.

Bitte zitieren als: Decker C, Wurster S, Hellmann AM, Einsele H, Ullmann AJ, Löffler J. Analyse der in vitro-Aktivität neutrophiler Granulozyten gegenüber *A. fumigatus* unter dem Einfluss von Antimykotika und Immunsuppressiva. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac16. DOI: 10.3205/16sac16, URN: urn:nbn:de:0183-16sac163  
Frei verfügbar unter: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac16.shtml>

(17)

## Inzidenz und assoziierte Mortalität invasiver Mykosen bei Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie

M. Gründahl, A. Grau, W. Heinz

Medizinische Klinik und Poliklinik II, Infektiologie, Universitätsklinikum Würzburg, Würzburg, Deutschland

**Hintergrund:** Invasive Mykosen stellen bei Patienten mit hämatologischer Grunderkrankung eine lebensgefährliche Komplikation dar. Insbesondere Patienten mit akuten Leukämien haben ein hohes Risiko an diesen opportunistischen Infektionen zu erkranken. Bei den akuten lymphatischen Leukämien (ALL) ist eine Prophylaxe bisher nicht etabliert. Im Rahmen dieser retrospektiven monozentrischen Studie wurde die Inzidenz und Mortalität invasiver Mykosen bei ALL-Patienten erfasst und der Einfluss einer antimykotischen Prophylaxe analysiert.

**Methodik:** Mit Hilfe der DRG Datenbanken wurden Patienten mit Primärdiagnose einer ALL von 2005 bis 2015 erfasst. Für den Verlauf von 100 Tagen ab Erstdiagnose der ALL wurden die invasiven Mykosen anhand der revidierten Kriterien der European Organization for Research and Treatment of Cancer/ Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC-MSG) klassifiziert [1] und deren mögliche Risikofaktoren ermittelt. Hierzu wurden anhand Patientenakten Einflussgrößen wie Alter, Therapieregime und patientenbezogene Risikofaktoren erhoben. Ebenso wurde die Inzidenz der invasiven Mykosen zwischen Patienten, welche eine antimykotische Prophylaxe erhielten, im Vergleich zu Patienten ohne prophylaktische antimykotische Behandlung, betrachtet. Zu statistischen Analysen wurde SPSS 23.0 verwendet.

**Ergebnisse:** In der Studie wurden 58 Patienten, hiervon 35 Männer und 23 Frauen, mit der Primärdiagnose ALL identifiziert. Das durchschnittliche Erkrankungsalter lag bei 49,2 Jahren (Median 48,5 Jahre; Streuung 17-87 Jahre). Die Inzidenz wahrscheinlicher oder gesicherter invasiver Mykosen lag bei 12% (7 Fälle). Nach EORTC-MSG Kriterien ergaben sich insgesamt 2 (3,4%) Fälle „proven“, 5 (8,6%) „probable“, 10 (17,2%) „possible“ sowie 5 (8,6%) „uncertain“. 36 (62,1%) Patienten waren ohne Infektionshinweis. Bei 12 von 33 (36,4%) Patienten ohne jede und bei 5 von 25 (20%) mit antimykotischer Prophylaxe wurde eine mögliche, wahrscheinliche oder gesicherte Pilzinfektion diagnostiziert. Innerhalb des Follow-ups von 100 Tagen verstarben 6 von 57 Patienten (10,3%). Bei keinem der verstorbenen Patienten war eine Mykose der Kriterien „proven“ oder „probable“ nachgewiesen worden.

**Zusammenfassung:** In dieser Untersuchung findet sich auch bei ALL Patienten eine deutlich erhöhte Inzidenz an wahrscheinlichen und gesicherten invasiven Mykosen. Eine durch die Pilzinfektionen erhöhte Mortalität konnte jedoch hier nicht festgestellt werden.

### Literatur

1. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, Pappas PG, Maertens J, Lortholary O, Kauffman CA, Denning DW, Patterson TF, Maschmeyer G, Bille J, Dismukes WE, Herbrecht R, Hope WW, Kibbler CC, Kullberg BJ, Marr KA, Muñoz P, Odds FC, Perfect JR, Restrepo A, Ruhnke M, Segal BH, Sobel JD, Sorrell TC, Viscoli C, Wingard JR, Zaoutis T, Bennett JE; European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group; National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. Clin Infect Dis. 2008 Jun 15;46(12):1813-21. DOI: 10.1086/588660

Bitte zitieren als: Gründahl M, Grau A, Heinz W. Inzidenz und assoziierte Mortalität invasiver Mykosen bei Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac17.

DOI: 10.3205/16sac17, URN: urn:nbn:de:0183-16sac175

Frei verfügbar unter: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac17.shtml>

(18)

### Pulmonale 3-Tesla MRT-Bildgebung zur Differenzierung infektiöser (Mykose, Tbc) versus maligner Herdbefunde

Sebastian Nagel<sup>1</sup>, Stefan Schwartz<sup>2</sup>, Thomas Elgeti<sup>1</sup><sup>1</sup>Klinik und Hochschulambulanz für Radiologie, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin, Berlin, Deutschland<sup>2</sup>Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Hämatologie und Onkologie, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin, Berlin, Deutschland

In einer ersten Studie konnte die prinzipielle Verwendbarkeit der pulmonalen 3-Tesla MRT-Bildgebung zur Detektion von pilzpneumonischen Herdinfiltraten bei Patienten mit hämatologischer Grunderkrankung gezeigt werden [1]. Im Rahmen dieser Studie wurden auch andere Krankheitsentitäten (Pilzpneumonie [n=13; alle probable], pulmonale Lymphombeteiligung [n=3], pulmonale Metastasen [n=2], Tuberkulose [n=1]) untersucht, die sich morphologisch mittels Computertomographie nur unzureichend differenzieren ließen. Es konnte gezeigt werden, dass das MRT aufgrund des besseren Weichteilkontrastes Informationen liefert, die eine weitergehende, nicht-invasive Einordnung pulmonaler Herdbefunde ermöglichen kann (Tabelle 1).

| Pilzpneumonie<br>auswertbar n=5                             | Pulmonale Lymphombeteiligung<br>auswertbar n=2                           | Pulmonale Tuberkulose<br>auswertbar n=1   |
|---|--|---|
| T1:<br>iso- bis hyperintens, homogen<br>(n=5)               | T1:<br>mäßig hyperintens, homogen<br>(n=2)                               | T1:<br>hyperintens, zentrale Einschmelzung<br>(n=1)                                   |
| T2:<br>hyperintenser Saum, zentral<br>hypointens (n=3)      | T2:<br>Isointens, homogen (n=2)  | T2:<br>Hyperintens, zentrale Einschmelzung<br>(n=1)                                   |
| Diffusionswichtung:<br>keine Diffusionsrestriktion<br>(n=5) | Diffusionswichtung:<br>deutliche Diffusionsrestriktion,<br>homogen (n=2) | Diffusionswichtung:<br>geringe Diffusionsrestriktion, zentrale<br>Einschmelzung (n=1) |

Tabelle 1: Vergleich der MRT Signalintensitäten zur Skelettmuskulatur

In der weitergehenden Analyse der MR-Signalcharakteristika unterschiedlicher Krankheitsentitäten mit pulmonaler Beteiligung deutet sich an, dass das Verhältnis der T2-Signalintensität des pulmonalen Befundes gegenüber der Skelettmuskulatur hilfreich in der grundsätzlichen Differenzierung entzündlicher (Verhältnis durchschnittlich 1,34) versus maligner (Verhältnis durchschnittlich 0,92) pulmonaler Befunde sein könnte.

#### Literatur

1. Nagel SN, Wyschkon S, Schwartz S, Hamm B, Elgeti T. Can magnetic resonance imaging be an alternative to computed tomography in immunocompromised patients with suspected fungal infections? Feasibility of a speed optimized examination protocol at 3 Tesla. Eur J Radiol. 2016 Apr;85(4):857-63.

Bitte zitieren als: Nagel S, Schwartz S, Elgeti T. Pulmonale 3-Tesla MRT-Bildgebung zur Differenzierung infektiöser (Mykose, Tbc) versus maligner Herdbefunde. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016.

Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac18.

DOI: 10.3205/16sac18, URN: urn:nbn:de:0183-16sac187

Frei verfügbar unter: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac18.shtml>

(19)

### Non-Invasive Detection of Mucorales DNA in Serum by Mucorales Specific Real-Time PCR Assay

Jan Springer<sup>1</sup>, Michaela Lackner<sup>2</sup>, Werner J. Heinz<sup>1</sup>, Brigitte Risslegger<sup>2</sup>, Christian Ensinger<sup>3</sup><sup>1</sup>Medizinische Klinik und Poliklinik II, University Hospital Würzburg, Germany<sup>2</sup>Division of Hygiene and Medical Microbiology, Medical University of Innsbruck, Austria<sup>3</sup>Institute of Pathology, Medical University of Innsbruck, Austria

**Purpose:** Invasive fungal infections (IFI) are life-threatening complications in immunocompromised patients. Due to improved diagnosis and treatment options, infections caused by *Candida spp.* and *Aspergillus spp.* are decreasing, while other rare fungal pathogens like Mucorales are on the rise. Mucormycosis is a very severe fungal infection and difficult to diagnose. Standard culture is insensitive and microscopy as well as radiological imaging unspecific. Most diagnostic procedures are invasive and thus cannot be used for screening. DNA detection from serum as described for *Aspergillus* or Mucorales (Yamakami et al., 1996; Millon et al., 2013) by polymerase chain reaction (PCR) is a rapid and very sensitive tool to identify pathogens and can improve diagnosis and treatment.

**Methods:** Forty-six serum specimens from 5 hematological patients were collected from 2008 to 2012 at Medical University Hospitals of Innsbruck and Würzburg. Sera were drawn twice weekly. According to EORTC/MSG criteria (DePauw et al., 2008), 3 patients were classified having proven/probable IFI either by histology or positive culture from bronchoalveolar lavage (BAL).

Sera were available up to 127 days before EORTC classification date. DNA from 1 ml of serum was manually extracted by using a commercially available kit (UltraSens Virus Kit, Qiagen). Extracts were analysed by real-time PCR assay

(qPCR) amplifying the 18S rDNA region. This assay was modified using the primers published by Bialek *et al.* (2005) comprising in addition a Mucorales specific probe and degenerated nucleotides. A single round PCR cycling was used. Amplicons of positive PCR reactions were sequenced and aligned with reference sequences using BLAST analysis search.

**Results:** DNA extracts of serum samples were analysed by a Mucorales-specific qPCR assay within 4 hours. Four samples of the 3 probable/proven Mucorales IFI cases were positive. Sequencing revealed 2 different Mucorales strains (*Lichtheimia sp.*, *Rhizopus sp.*) confirming pathogen identification by conventional methods. PCR from serum detected Mucorales DNA up to 3 days earlier than BAL or biopsy. Day “zero” was defined as time point of EORTC classification (positive BAL culture, biopsy). None of the unclassified control samples were positive.

**Conclusion:** Using qPCR allowed Mucorales specific detection of DNA in serum. This probe-based assay detecting a broad spectrum of Mucorales was used as an add-on tool to confirm mucormycosis in serum. Due to easy availability of serum even in severely ill patients, qPCR can be used as a screening tool in high-risk patients with suspected mould infection. The method used is faster and more sensitive than standard methods. It can help to distinguish between infections with *Aspergillus* and Mucorales, which is relevant for antimycotic regimens and patients' outcome.

Please cite as: Springer J, Lackner M, Heinz WJ, Risslegger B, Ensinger C. Non-Invasive Detection of Mucorales DNA in Serum by Mucorales Specific Real-Time PCR Assay. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac19.  
DOI: 10.3205/16sac19, URN: urn:nbn:de:0183-16sac198  
Freely available from: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac19.shtml>

(20)

### Aspergillus fumigatus-spezifische T-Zellen in der Diagnostik invasiver Aspergillosen – Möglichkeiten und Grenzen in der klinischen Praxis

S. Wurster, P. Weis, J. Helm, M. Lazariotou, L. Page, A.J. Ullmann

Universitätsklinikum Würzburg, Medizinische Klinik und Poliklinik II, Infektiologie, Würzburg, Deutschland

**Hintergrund:** Der Nachweis Antigen-spezifischer T-Zellen wurde kürzlich als diagnostische Option bei invasiven Aspergillosen nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation beschrieben. In unserem Projekt wurden verschiedene zur Implementierung in der Routinediagnostik relevante Aspekte untersucht und wesentliche Vor- und Nachteile sowie potentielle Weiterentwicklungen des Assays eruiert.

**Ergebnisse & Diskussion:** Bei der Untersuchung der Auswirkungen einer 2-stündigen präanalytischen Probenlagerung (n = 6) zeigte sich gegenüber der sofortigen Aufreinigung eine Reduktion des Mittelwertes *A. fumigatus*-spezifischer T-Zellen um 69% (RT) bzw. 55% (4 °C). Die präanalytische Lagerungszeit und damit potentielle Transportzeit kann durch Verwendung von heparinisierten, mit RPMI verdünnten und agitierten Blutproben ohne signifikante Reduktion der Sensitivität auf 4 h verlängert werden. Die Sensitivität der in der Literatur beschriebenen Methodik kann des Weiteren durch Verlängerung der Stimulationsperiode der PBMCs mit dem Lysat optimiert werden (0,120% 18 h vs. 0,061% 7 h, n = 10, p < 0,001).

Risikofaktoren für Schimmelpilz-Exposition im privaten oder beruflichen Umfeld, die mittels eines standardisierten Fragebogens identifiziert wurden, waren mit signifikant höheren spezifischen T-Zell-Frequenzen bei gesunden Probanden assoziiert (Abbildung 1). Auch bei Laborpersonal mit regelmäßigem *Aspergillus*-Kontakt wurden höhere spezifische T-Zell-Frequenzen detektiert. Dies unterstreicht die Verwendbarkeit als Expositionsmarker, erschwert jedoch die Festlegung eines Grenzwertes zur Bestimmung pathologischer Werte bei Patienten.

Bei Patienten nach allogener Stammzelltransplantation werden Mycophenolatmofetil (MMF), Ciclosporin A (CsA) und Prednisolon zur GvHD-Prophylaxe oder Therapie genutzt. Bei *in vitro* Untersuchungen zeigte sich unter therapeutischen Konzentrationen dieser Immunsuppressiva, einzeln und in Kombination, eine erhebliche Sensitivitätsreduktion des Assays (Abbildung 2), sodass unter dieser Medikation mit falsch-negativen Testresultaten gerechnet werden muss.

**Ausblick:** Verbesserungen des Protokolls und der präanalytischen Lagerungsbedingungen erleichtern die klinische Anwendbarkeit des Assays, eine erschwerte Festlegung von Grenzwerten und eine reduzierte Sensitivität unter Immunsuppressiva-Gabe sind hingegen in der diagnostischen Routine, insbesondere bei Patienten nach Stammzelltransplantation, problematisch. Eine Anwendung für umweltmedizinische Fragestellungen erscheint vielversprechend.



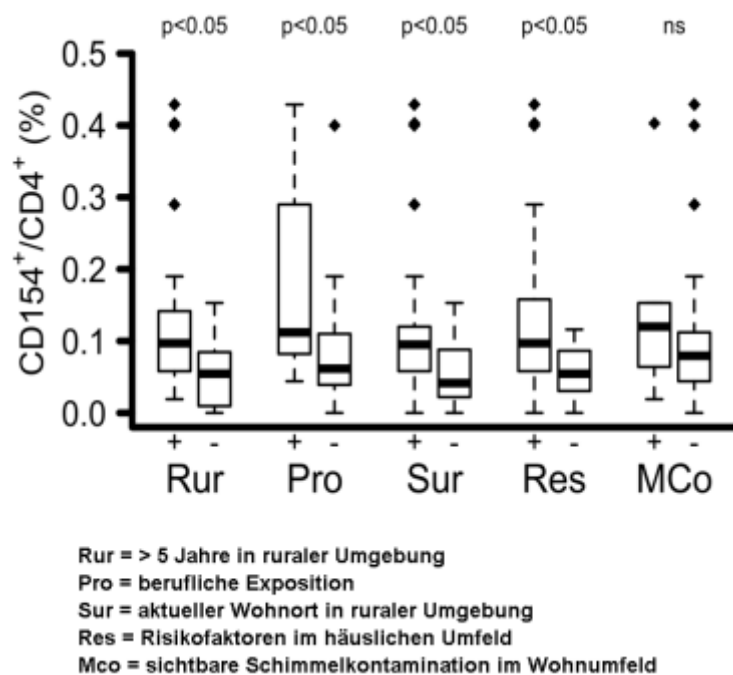


Abbildung 1

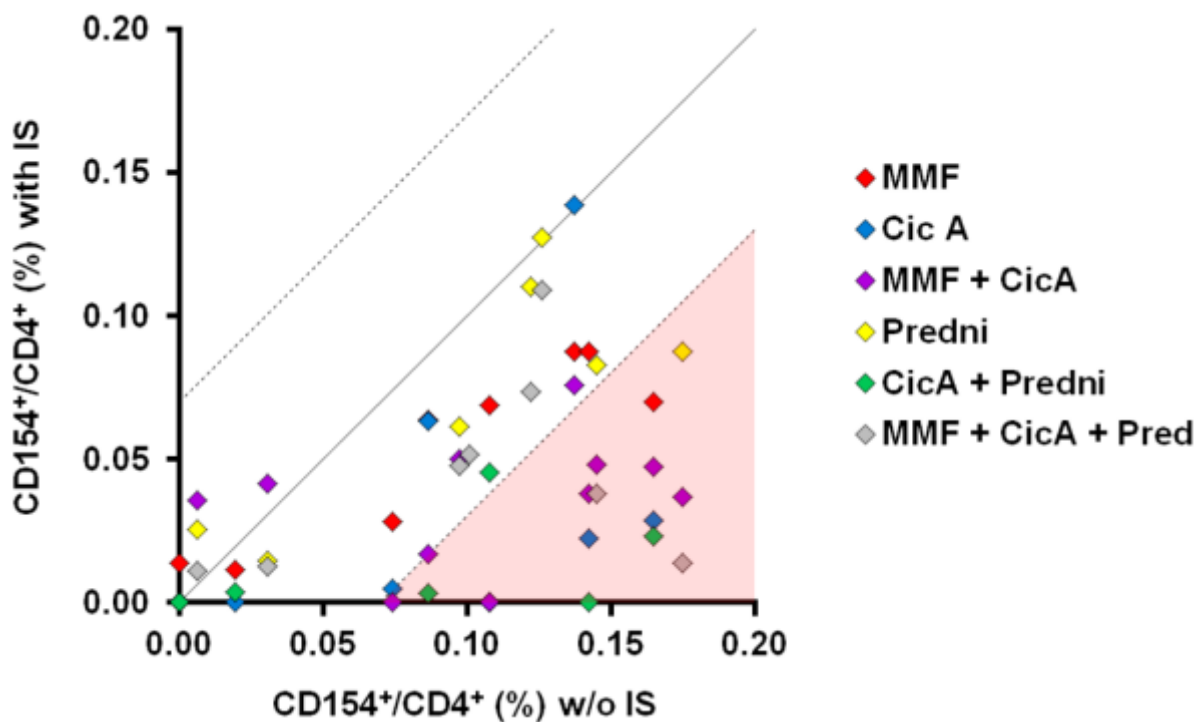


Abbildung 2

Bitte zitieren als: Wurster S, Weis P, Helm J, Lazariotou M, Page L, Ullmann AJ. Aspergillus fumigatus-spezifische T-Zellen in der Diagnostik invasiver Aspergillosen – Möglichkeiten und Grenzen in der klinischen Praxis. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac20.  
 DOI: 10.3205/16sac20, URN: urn:nbn:de:0183-16sac202  
 Frei verfügbar unter: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac20.shtml>

(21)

## Autochthone *Cryptococcus gattii* Infektion in Deutschland

D. Wilmes<sup>1</sup>, C. Klawe<sup>2</sup>, I. McCormick Smith<sup>1</sup>, V. Rickerts<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Robert Koch Institut, FG 16, Berlin, Deutschland

<sup>2</sup>Krankenhaus der Barmherzigen Brüder, Neurologie und Neurophysiologie, Trier, Deutschland

Kryptokokkose ist weltweit die Hauptursache fungaler Hirnhautentzündungen und wird meist durch *Cryptococcus neoformans* (Serotyp A und D) verursacht. Die zunächst in tropischen Regionen beschriebene Schwesterart *Cryptococcus gattii* (Serotyp B und C) wird seit 2000 zunehmend in gemäßigten Klimazonen Nordamerikas als Infektionserreger (Genotyp VGII) bei Patienten ohne Immunsuppression beschrieben.

Wir beschreiben die Kasuistik eines 55-jährigen Deutschen ohne Auslandsanamnese, bei dem eine Infektion durch *C. gattii* diagnostiziert wurde um Unterschiede zu *C. neoformans* in der Krankheitspräsentation darzustellen. Der Patient wurde mit Meningismus und einem Lungenrundherd stationär aufgenommen. Im Tuschepräparat des Liquors konnte eine Kryptokokkose diagnostiziert werden. Die Diagnose des Lungenherds konnte histologisch als Kryptokokkom gesichert werden. Im Verlauf konnte eine idiopathische CD4 Lymphopenie (CD4: 26/μl) nachgewiesen werden.

*C. gattii* wurde aus dem Liquor angezüchtet. Die molekulare Typisierung zeigte den weltweit vorkommenden Genotyp VG I. Die Behandlung des Patienten wurde mit Amphotericin B-deoxycholat und 5-Fluorocytosin durchgeführt. Persistierende Kopfschmerzen bei erhöhtem Liquor-Eröffnungsdruck wurden mit regelmäßig durchgeführten Liquorpunktionen gebessert. Die Schmerzen korrelierten mit der Persistenz der Erreger (positives Liquor Antigen) bis Monat 30 unter einer Erhaltungstherapie mit Fluconazol.

Mit Infektionen durch *C. gattii* ist in Deutschland auch bei Patienten ohne Reiseanamnese zu rechnen. Das klinische Bild kann durch eine Kombination pulmonaler sowie zentralnervöser Manifestationen geprägt sein. Erhöhter Liquordruck und Antigenpersistenz können zu lange persistierender Symptomatik beitragen. Bei kulturellem Nachweis von Kryptokokken sollte eine Speziesidentifizierung angestrebt werden um die Epidemiologie dieser Infektionen zu evaluieren.

Bitte zitieren als: Wilmes D, Klawe C, McCormick Smith I, Rickerts V. Autochthone *Cryptococcus gattii* Infektion in Deutschland. In: Frühjahrstagung der Sektion Antimykotische Chemotherapie 2016. Bonn, 22.-23.04.2016. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. Doc16sac21.

DOI: 10.3205/16sac21, URN: urn:nbn:de:0183-16sac215

Frei verfügbar unter: <http://www.egms.de/en/meetings/sac2016/16sac21.shtml>

## Autorenindex:

(Zahlen beziehen sich auf Abstractnummern):

|                        |            |
|------------------------|------------|
| Böhringer, Martina     | 03         |
| Buchheidt, Dieter      | 10         |
| Caramalho, R.          | 04         |
| Dam, Karl              | 14         |
| Decker, C.             | 16         |
| Eckhardt, Axel         | 14         |
| Egerer, Gerlinde       | 07         |
| Einsele, H.            | 16         |
| Elgeti, Thomas         | 18         |
| Ensinger, Christian    | 19         |
| Forstner, Christina    | 11         |
| Glaser, Walter         | 15         |
| Grau, A.               | 17         |
| Gründahl, M.           | 17         |
| Harrison, Nicole       | 11         |
| Heinz, W.              | 17         |
| Heinz, Werner J.       | 19         |
| Hellmann, A.M.         | 16         |
| Helm, J.               | 20         |
| Istel, Fabian          | 15         |
| Klawe, C.              | 21         |
| Krause, Robert         | 12         |
| Kuchler, Karl          | 15         |
| Lackner, M.            | 04         |
| Lackner, Michaela      | 19         |
| Larentis, T.           | 04         |
| Lass-Flörl, C.         | 04         |
| Lazariotou, M.         | 20         |
| Lipp, Hans-Peter       | 06         |
| Löffler, J.            | 16         |
| McCormick Smith, I.    | 21         |
| Nagel, Sebastian       | 18         |
| Page, L.               | 20         |
| Radtke, Julia          | 02         |
| Rath, Peter-Michael    | 02, 08     |
| Rickerts, V.           | 21         |
| Risslegger, Brigitte   | 19         |
| Ruhnke, Markus         | 09         |
| Sagel, Ulrich          | 14         |
| Schumacher, Ulrike     | 03         |
| Schwartz, Stefan       | 05, 18     |
| Schwarz Müller, Tobias | 15         |
| Springer, Jan          | 19         |
| Steinmann, Jörg        | 02         |
| Ullmann, A.J.          | 16, 20     |
| Wagner, Gernot         | 14         |
| Weis, P.               | 20         |
| Willingner, Birgit     | 01, 14, 15 |
| Wilmes, D.             | 21         |
| Wrba, Friedrich        | 14         |
| Wurster, S.            | 16, 20     |
| Wurster, Sebastian     | 13         |