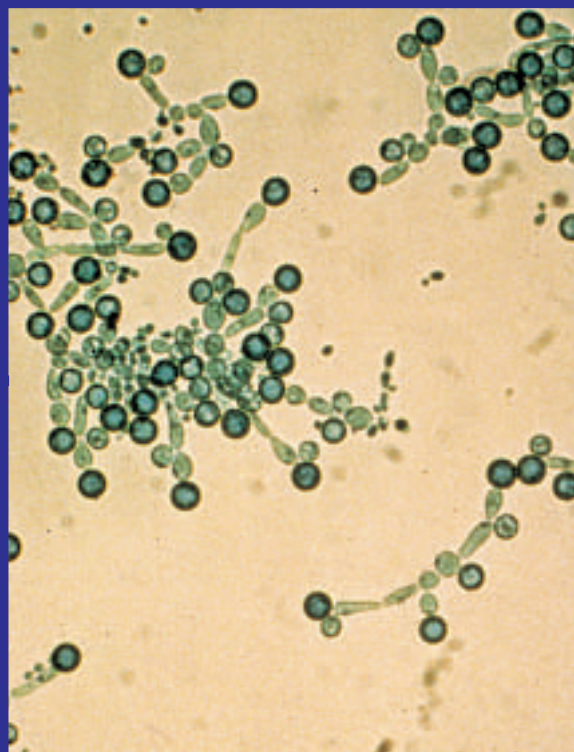


**8**  
**MYKOLOGIE FORUM**  
**6** **Medizinische Mykologie in Klinik und Praxis**



8. Workshop  
**„Gezielte Diagnostik -  
bestmögliche  
Therapieerfolge:  
Zeitgemäße  
Pilzdiagnostik und  
Therapie“**

16. und 17. April 2010  
Berlin

## Consilium Mycologicum

Das Consilium Mycologicum versteht sich als Arbeitsgemeinschaft von langjährig tätigen Mykologen, die Erfahrung und Unabhängigkeit eint. Die von ihnen selbst gestellte Aufgabe ist es, ihr Fachwissen in der medizinischen Mykologie einem breiten Kreis vor allem jüngerer Ärzte, Apotheker und Naturwissenschaftler näher zu bringen. Dieses Wissen bezieht sich auf die Diagnostik und Therapie von Mykosen ebenso wie auf Fortschritte in der Grundlagenforschung. Von den Experten können jederzeit Spezialisten aus Fachrichtungen, die nicht im Consilium Mycologicum vertreten sind, sowie Kollegen, die über hochspezialisierte Kenntnisse verfügen, beratend herangezogen werden. Dadurch wird ein umfangreiches und aktuelles Wissensspektrum erreicht.

[www.consmyc.de](http://www.consmyc.de)

## Liebe Teilnehmer des 8. Consilium Mycologicum Workshops

Seit März 2003 führt das Consilium Mycologicum alljährlich in Berlin Workshops zu der Thematik „Gezielte Diagnostik - bestmögliche Therapieerfolge“ im Hinblick auf Mykosen durch. Diese Workshops zeichnen sich insbesondere durch Themen aus, die eine enge Verbindung zwischen mykologischen Grundlagen und der klinischen Praxis herstellen. In diesem Jahr steht die zeitgemäße frühzeitige gezielte Diagnostik und die folglich frühestmögliche Therapie im Mittelpunkt. Betrachtet werden unter anderem aktuelle moderne Untersuchungsverfahren, pathophysiologische Grundlagen von Candida-Infektionen, aber auch die praktische Umsetzung von Ergebnissen therapeutischer Studien. Mykosen im Alter sind ein bisher selten ausgeführtes Thema, das sich jedoch einem sehr häufigen und bedeutenden Problem widmet. Einen wichtigen Raum nehmen wiederum die mykologischen Komplikationen in der Intensivmedizin ein. Den Abschluß bildet – wie schon früher – ein Thema aus der Veterinärmykologie.



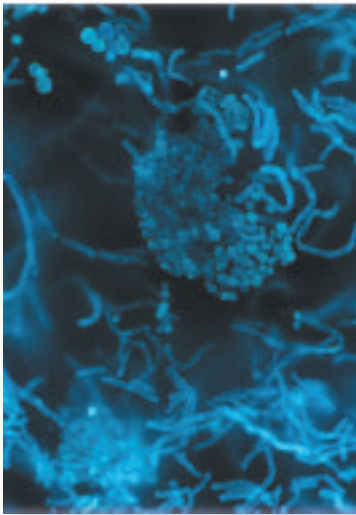
Prof. Dr. rer. nat.  
Hannelore Bernhardt



Prof. Dr. med.  
Manfred Knoke



Dr. med.  
Andreas Glöckner



### Freitag, 16. April 2010

Leitung: H. Bernhardt, M. Knoke und A. Glöckner (alle Greifswald)

14.00-14.05 Begrüßung, Einführung

#### I. Optimale Diagnostik im Spiegel moderner Untersuchungsverfahren

14.05-14.25 DNA-Chip Technologie  
U. Schumacher, Tübingen

14.25-14.45 Prospektive Evaluierung von Antigennachweis und real time PCR zur Detektion von invasiven Mykosen  
B. Willinger, Wien

14.45-14.55 Konfektionierter Candida Antigen EIA für den Gebrauch in der Routine  
R. Rüchel, F. Debusmann, Bovenden, Bremen

14.55-15.10 Diskussion

15.10-15.30 Speziesidentifizierung von Hefen mittels MALDI-TOF Fingerprint-Analyse.  
G. Haase, Aachen

15.30-15.50 Erfahrungen mit der Identifizierung humanpathogener Sprosspilze mittels MALDI-TOF – Massenspektrometrie  
G. Marklein, E. Müller, N. Schöngen, Bonn

15.50-16.05 Fallbericht einer Infektion mit *Microsporium fulvum* bei einer Hobby-Gärtnerin  
C. Hipler, Jena

16.05-16.15 Mykologische Diagnostik in Deutschland - Ergebnisse einer Mini-Umfrage  
A. Schmalreck, München

16.15-16.30 Diskussion

16.30-16.45 Kaffeepause

#### II. Grundlagen

16.45-17.05 From commensal to pathogen: stage- and tissue-specific gene expression of *Candida albicans*  
B. Hube, Jena

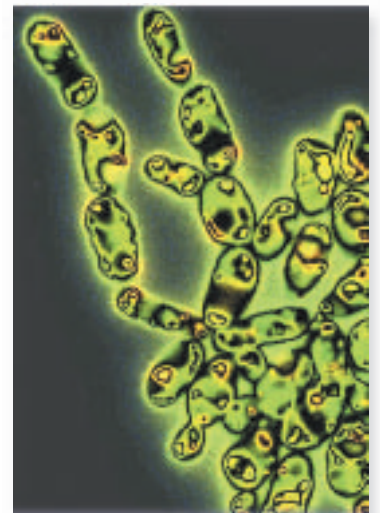
17.05-17.20 Wirt-Pathogen Interaktion bei *Candida albicans*  
S. Rupp, Stuttgart

17.20-17.30 Diskussion

17.30-17.55 Studienergebnisse und ihre Überführung und Bewährung in der Praxis  
O. Cornely, Köln

17.55-18.10 Diskussion

- 18.10-18.30 Vergleich von Infektparametern bei Patienten mit Candidämie und Bakteriämie  
R. Kappe, A. Gorges, D. Rimek, Nordhausen, Bad Langensalza
- 18.30-18.40 Diskussion
- 21.00-22.00 Diskussionsrunde mit H. Bernhardt (Greifswald),  
J. Bernhardt (Rostock), R. Blaschke-Hellmessen (Moritzburg OT Friedewald),  
W. Fegeler (Münster), U. Kaben (Kessin),  
M. Knoke (Greifswald), P. M. Rath (Essen), C. Seebacher (Dresden).



## Sonnabend, 17. April 2010

- 09.00-09.20 ISHAM und Medizinische Mykologie im deutschsprachigen Raum  
J. Müller, Emmendingen
- 09.20-09.30 Diskussion

### III. Mykosen im Alter

- 09.30-09.50 Invasive Pilzinfektionen im Alter. Analyse an einer Intensivstation mit dem Schwerpunkt Akutgeriatrie  
H.J. Heppner, R.R. Klempf, K. Schmitt, I. Johnscher, C. Sieber, Nürnberg
- 09.50-10.05 Pathologie der Mykosen im Alter  
G. Schwesinger, Groß Schoritz
- 10.05-10.15 Diskussion

### IV. Intensivmedizin

- 10.15-10.30 Gibt es eine Sepsis durch Pilze?  
A. Groll, Münster
- 10.30-10.45 Mykosen auf der ITS  
A. Glöckner, Greifswald
- 10.45-11.00 Aspergillus fumigatus-Diagnostik und Therapie auf einer operativen Intensivstation 2000 bis 2009  
P. Kujath, Lübeck
- 11.00-11.15 Diskussion

### V. Veterinärmykologie

- 11.15-11.30 Luftsackmykose bei einem 4 jährigen Appaloosa-Wallach – ein Fallbericht  
K. Büsing, A. Uhlig, R. Schaumann, G.F. Schusser,  
M. Krüger, Rostock, Leipzig
- 11.30-11.40 Diskussion
- 11.40 Schlussbemerkungen
- ab 12.30 Mittagsimbiss



**PD Dr. med. Ulrike K. Schumacher**

Institut für Medizinische  
Mikrobiologie und Hygiene  
Universität Tübingen  
Elfriede-Aulhorn-Strasse 6  
72076 Tübingen

## Identifizierung humanpathogener Pilze durch DNA-Microarrays

Invasive Mykosen gehören zu den häufigen und bedeutenden Komplikationen bei immunsupprimierten Patienten. Die Prognose der Patienten mit invasiven Mykosen wird dabei wesentlich von einer frühzeitig einsetzenden antimykotischen Therapie bestimmt, die den spezifischen Resistenzmustern der Erreger Rechnung trägt. Daher kommt einer sensitiven und zeitnahen Diagnostik und vor allem Identifizierung der Erreger ggf. bis auf Speziesebene eine entscheidende Bedeutung zu. Die konventionelle Identifizierung humanpathogener Erreger im klinischen Labor basierend auf morphologischen Kriterien ist aber häufig zeitaufwändig. So haben in den letzten Jahren molekulare Nachweisverfahren und Identifizierungssysteme auf DNA-Basis zunehmend an Bedeutung gewonnen. Das Nachweiskonzept des von unserer Arbeitsgruppe entwickelten Arrays beruht auf dem Einsatz einer universellen PCR mit consensus-Primern. Das Target dieser Primer ist die ITS-Region der rRNA-Genkassette. Diese Region weist eine Vielzahl von Interjedoch wenige Intraspezies-Unterschiede auf. Nach umfangreichen Sequenzvergleichen in der Sequenz-Datenbank GenBank wurden insgesamt 76 Spezies- und gruppenspezifischer Sonden und Kontrollsonden entwickelt. Diese Sonden werden auf einen Objektträger gespottet und mit dem fluoreszenzmarkierten Amplifikat hybridisiert. So konnte ein Verfahren entwickelt werden, das innerhalb von ca 4 Stunden die wichtigsten Erreger ohne relevante Kreuzhybridisierungen zu identifizieren vermag. Durch Etablierung eines internen Standards gelang es weiterhin, auch Mischungen von zwei Arten in unterschiedlichen Mengenverhältnissen zu detektieren.

Durch Erweiterung der detektierbaren Zielspezies bietet die Microarray-Technik eine interessante Option nicht nur für die Identifizierung humanpathogener Pilze sondern auch für den ausserklinischen Einsatz z.B. bei der Restaurierung von Kunstwerken.

E-Mail: [ulrike.schumacher@med.uni-tuebingen.de](mailto:ulrike.schumacher@med.uni-tuebingen.de)

## Prospektive Evaluierung von Antigennachweis und real time PCR zur Detektion von invasiven Mykosen

Ziel dieser Studie war es neu etablierte PCR-Assays an Hand klinischer Proben zu evaluieren und mit kommerziell erhältlichen Kits zum Antigennachweis (Platelia Candida Antigen®, Platelia Aspergillus®, beides Bio-Rad, Frankreich; Serion ELISA Candida Antigen®, Würzburg, Deutschland; Fungitell®, Cape Cod, USA) zu vergleichen.

Insgesamt wurden 941 Blutproben von 330 Patienten von drei verschiedenen Intensivstationen und einer hämatologischen Abteilung am Wiener Allgemeinen Krankenhaus untersucht. Zum Einsatz kamen neben den bereits angeführten Antigentests Candida- und Aspergillus-spezifische real-time PCR Assays. 13 Proben von 7 Patienten waren in der PCR positiv und wiesen auf das Vorliegen von Candidosen sowie auf eine Aspergillose hin (*C. albicans*, *C. glabrata*, *A. fumigatus*).

Von 330 Patienten, die in unserer Studie eingeschlossen waren, entwickelten nur wenige eine invasive Mykose. Mittels PCR wurde Pilz-DNA bei sieben von acht gesicherten Infektionen erfasst. Es gab keine falsch positiven Ergebnisse. Daher nehmen wir an, dass sich die neu entwickelte PCR durchaus für die Erfassung invasiver Pilzinfektionen eignet.

Die Blutproben wurden auch mit den drei verschiedenen Antigentests untersucht. Mit dem Aspergillus-Antigentest waren keine falsch positiven Ergebnisse zu beobachten. Die beiden Candida-Antigentests zeigten unterschiedliche und zum Teil auch diskordante Ergebnisse, die nicht immer mit dem Vorliegen einer Candidose korrelierten. Von sechs Patienten mit nachgewiesener invasiver Candidose wurde nur in zwei Fällen mit beiden Methoden ein übereinstimmend positives Ergebnis erzielt. Bei weiteren zwei Patienten waren beide trotz Vorliegen einer invasiven Candidose negativ. Zwei weitere Patienten zeigten in einer Serie von mehreren, zu unterschiedlichen Zeitpunkten entnommenen Seren sowohl negative als auch positive Ergebnisse, wobei die Ergebnisse der beiden Tests nicht miteinander übereinstimmten. Patienten, die mit Candida besiedelt waren ohne eine Infektion zu entwickeln, zeigten vielfach ebenfalls positive Ergebnisse.

Die besten Testergebnisse wurden mittels Fungitell erzielt. Dieses Testsystem zeigte die höchste Sensitivität und detektierte alle vorliegenden invasiven Mykosen. Allerdings waren auch falsch positive Ergebnisse damit zu beobachten. Die Ergebnisse lassen vermuten, dass eine Besiedelung mit Candida jedoch nicht erfasst wird.

Auf Grund der erzielten Ergebnisse nehmen wir an, dass sich die neu entwickelte PCR durchaus für die Erfassung invasiver Pilzinfektionen eignet und gemeinsam mit dem Antigennachweis eine wertvolle Hilfestellung bei der Diagnose dieser Mykosen bieten kann.

E-Mail: [birgit.willinger@meduniwien.ac.at](mailto:birgit.willinger@meduniwien.ac.at)



**a.o. Univ. Prof. Dr. Birgit Willinger**

Abteilung für Klinische  
Mikrobiologie  
Klinisches Institut für Labormedizin  
Medizinische Universität Wien  
Währinger Gürtel 18-20/5P  
1090 Wien



Prof. Dr. med. Reinhard Röchel  
Steinweg 78, 37120 Bovenden

### Konfektionierter Candida Antigen EIA für den Gebrauch in der Routine

R. Röchel, Bovenden, F. Debusmann, Bremen

Im Jahre 2007 wurde im Rahmen einer med. Promotionsarbeit anhand von Seren, die z.T. von „proven cases“ stammten, ein Vergleich von drei verfügbaren Candida Antigen tests durchgeführt. Dabei schien der Test von Virion (Würzburg) am besten abzuschneiden. -

Während der entspr. Beitrag in Arbeit war, erfuhren wir von einem verbesserten Test (...-Plus) der Fa. Bio-Rad (München), der sich u.a. auf die entspr. Arbeit (Chemotherapie-Journal 17, pp. 264-6) bezog und sich z.B. auf die Empfindlichkeit (doppelte Probe) und „Handling“ des Tests bezog. Der Plus-Test soll nun auch *C. parapsilosis* erfassen (scheint aber weiter nicht auf *C. krusei* anzusprechen). Andere Details, die möglicherweise verändert wurden, sind nun in der Diskussion.

E-Mail: [HRRuechel@aol.com](mailto:HRRuechel@aol.com)

# Speziesidentifizierung von Hefen mittels MALDI-TOF Fingerprint-Analyse

Prof. Dr. med., Dipl. Biolog. Gerhard Haase

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Universitätsklinikum RWTH Aachen,  
Pauwelsstr. 30, 52057 Aachen

Die Identifizierung von Hefen ist zahlenmäßig die häufigste Aufgabe im mykologischen Labor. Während eine klassische phänotypische Identifizierung mittels Kohlenhydratassimilation und mikromorphologischer Merkmale in der Regel mindestens 48h dauert, ist eine vergleichsweise schnelle molekulargenetische Identifizierung mittels Sequenzvergleich weiterhin relativ teuer und arbeitsintensiv. Nach der Erstbeschreibung der Identifizierung von Bakterien durch Massenspektrum- Fingerprinting Analyse im Jahr 1996 hat es mehr als 10 Jahre gedauert bis durch die Weiterentwicklung dieser Technik verlässliche und routinetaugliche Massenspektrometer für diese Aufgabe zur Verfügung standen. Nachdem zunächst der Schwerpunkt dieser Analysen im Bereich der Bakteriologie lag, gibt es seit ca. zwei Jahren auch mehrere Publikationen, die eine Erfolg versprechende Anwendung dieser Technik für die Identifizierung von Hefen beschreibt. So gibt es zum Beispiel schon umfangreiche Datenbanken für Hefen (> 200 Arten) bei den beiden kommerziellen Anbietern dieser Technik (Bruker & Anagnostec).

Der Stand dieser Analysetechnik und deren Vor- und Nachteile sollen in diesem Vortrag diskutiert werden.

E-Mail: [ghaase@ukaachen.de](mailto:ghaase@ukaachen.de)

# Erfahrungen mit der Identifizierung humanpathogener Sprosspilze mittels MALDI-TOF – Massenspektrometrie

G. Marklein, E. Müller, N. Schöngen

Institut für Med. Mikrobiologie, Immunologie und Parasitologie,  
Sigmund-Freud-Str. 25, 33129 Bonn

Die Matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight (MALDI-TOF) Massenspektrometrie nimmt inzwischen in vielen klinisch-diagnostischen Laboratorien einen festen Platz in der Diagnostik bakterieller Infektionserreger ein. Die Zahl der Publikationen zur Eignung der Methodik im Rahmen der mykologischen Labordiagnostik ist jedoch noch relativ gering.

Die traditionelle klinisch-mykologische Diagnostik basiert auf einer ganzen Reihe phänotypischer Merkmale und biochemischer Tests zur Spezies-Identifizierung der Isolate, die nicht selten 24-72 Stunden bis zum endgültigen Resultat in Anspruch nimmt.

Molekulare Verfahren wie PCR oder rRNA-Sequenzierung verkürzen zwar das diagnostische Intervall, sind aber relativ kostspielig.

Wir überprüften daher die Eignung der MALDI-TOF MS-Technik für die schnelle und exakte Identifizierung klinischer Hefe-Isolate unter Verwendung des Systems Microflex LT zusammen mit der MALDI Biotyper Software (Bruker Daltonik GmbH, Bremen). Im ersten Teil der Untersuchung prüften wir annähernd 300 Kulturen (Referenzstämme und rezente Isolate konventionell identifizierter Sammlungsstämme), im zweiten Teil ca. 200 frische Isolate aus den laufenden Routine-Einsendungen.

Ausgehend von Einzelkolonien auf Sabouraud-Agar erfolgte nach zwei kurzen Extraktions- und Zentrifugationsschritten die Analyse der Probe, die mit einer Matrix auf eine MALDI-Target-Platte aufgetragen worden war (Gesamt-Zeitaufwand ca. 10 min).

Im ersten Untersuchungsabschnitt ergaben sich für 93 % der Stämme „auf Anhieb“ übereinstimmende Resultate, für die übrigen Isolate erst nach Aufnahme entsprechender Referenzstämme in die Datenbasis, die teilweise erst nach 26S rRNA-Gen-Sequenzierung ermittelt wurden (z.B. *C. dubliniensis*, *C. metapsilosis*, *C. orthopsilosis*, *C. nivariensis*, *P. fabiani*).

Unter Routinebedingungen (2. Teil der Untersuchungen) wurden 98 % der Ergebnisse korrekt und zuverlässig ermittelt.

Schlussfolgerung: Zur Identifizierung klinischer Sprosspilze erwies sich MALDI-TOF MS als zuverlässige und kostengünstige Methode, die auf Grund des geringen Arbeits- und Zeit-aufwandes sowie durch sichere Interpretation der Befunde eine schnelle Diagnose ermöglicht.

E-Mail: [g.marklein@gmx.de](mailto:g.marklein@gmx.de)

## Fallbericht einer Infektion mit *Microsporum fulvum* bei einer Hobby-Gärtnerin

Insgesamt sind 12 klinisch relevante *Microsporum*-Arten bekannt. Die am häufigsten nachgewiesenen Arten sind *M. canis*, *M. audouinii* und *M. gypseum*. Im Rahmen des Vortrages soll eine Infektion mit dem seltenen Erreger *M. fulvum* am rechten Unterarm einer Hobbygärtnerin vorgestellt werden. Aus Schuppenmaterial wurde ein Nativpräparat mit einer Blankophor® Färbung angefertigt. Das Material wurde auf Dermasel® Agar für vier Wochen angezüchtet. Neben morphologischen Kriterien wurden ITS Sequenzierung und Massenspektrometrie (MALDI-TOF) zur Artbestimmung herangezogen.

Das Nativpräparat war negativ, dennoch ließen sich nach 4 Wochen flache konzentrische Kolonien nachweisen, die makroskopisch durch eine radiäre Fältelung und eine flockige, bräunlich gelbe Oberfläche auffielen.

Es zeigten sich mikroskopisch unzählige, große und raue, dickwandige Makrokonidien. Eine Infektion mit einer Art des *M. gypseum* Komplex wurde vermutet.

Die ITS Sequenzierung ergab als Art *M. fulvum*, was massenspektrometrisch bestätigt werden konnte. Das Massenspektrum zeigte eine hohe Übereinstimmung mit den Referenzstämmen ATCC 16445, 16446 und 58591.

*M. fulvum* gehört dem so genannten *M. gypseum* Komplex an. Bei den hierin zusammengefassten Arten (*M. fulvum* und *M. gypseum*) handelt es sich um geophile Dermatophyten. Die Unterscheidung beider Arten ist schwierig und bedarf ausgefeilter diagnostischer Methoden wie der Sequenzanalyse oder der Massenspektrometrie.

Im hier vorgestellten Fall stimmten die morphologischen Kriterien nicht mit den in der Literatur aufgeführten Merkmalen von *M. fulvum* überein, was die Bedeutung moderner molekularer Methoden bei der Diagnostik seltener Dermatophytenarten unterstreicht.

E-Mail: [christina.hipler@med.uni-jena.de](mailto:christina.hipler@med.uni-jena.de)



PD Dr. rer. nat.  
Uta-Christina Hipler

Friedrich-Schiller-Universität Jena,  
Klinik für Dermatologie und  
Allergologie,  
Erfurter Str. 35, 07740 Jena



**Dr. med. Arno Schmalreck**  
MBS, Ruffinistr. 8, 80637 München

### Mykologische Diagnostik in Deutschland - Ergebnisse einer Mini-Umfrage

Im Rahmen eines Ringversuches zur Empfindlichkeitsprüfung von Antimykotika wurde den 18 Teilnehmern ein Fragenkatalog zur mykologischen Routinediagnostik vorgelegt. Die 12 Rückantworten werden kurz kommentiert und zur Diskussion gestellt.

E-Mail: [muenchen-mbs@t-online.de](mailto:muenchen-mbs@t-online.de)

## Wirt-Pathogen Interaktion bei *Candida albicans*

Infektionen durch opportunistische Pathogene wie *Candida albicans* werden durch komplexe Interaktionen zwischen Wirt und Pathogen bestimmt. Dabei spielt neben dem Immunstatus des Wirts die Zellwand von *C. albicans* wie auch deren sekretierte Proteine eine wesentliche Rolle. Die Zellwand bietet sowohl einen Schutzschild gegen mechanische und osmotische Einflüsse, wie auch gegen eine schnelle Erkennung durch das Immunsystem. Die Biogenese der Zellwand ist deshalb von zentraler Bedeutung für die Wirt-Pathogen Interaktion. *C. albicans* ist in der Lage spezifisch auf unterschiedliche Gewebetypen durch Veränderung in der Genexpression zu reagieren. An der Zellwandbiogenese ist eine Vielzahl von Faktoren beteiligt, welche einen wesentlichen Einfluss auf die Adhäsion und Invasion von *Candida* in Gewebemodellen haben, wie auch auf die Reaktionen des Immunsystems gegenüber *Candida*. Durch Gen-Expressionsstudien und Proteomanalytik wurde eine Reihe von Faktoren identifiziert, deren Einfluss auf die Zellwandbiogenese und die Wirt-Pathogen Interaktion haben. Deren Funktion wurde mit Hilfe von Mutationsstudien und über Zellbasierte Assays untersucht, wobei insbesondere die Reaktion gegenüber Immunzellen wie auch Adhäsions- und Invasionsvermögen in Gewebeäquivalenten untersucht wurden.

E-Mail: [rupp@igb.fraunhofer.de](mailto:rupp@igb.fraunhofer.de)



**PD Dr. Steffen Rupp**

Molekulare Biotechnologie  
Fraunhofer-Institut für  
Grenzflächen- und  
Bioverfahrenstechnik IGB  
Nobelstr. 12  
70569 Stuttgart



**Prof. Dr. med. Oliver A. Cornely**  
Klinik I für Innere Medizin, Klinikum  
der Universität Köln,  
Joseph-Stelzmann-Str. 9,  
50924 Köln

## Studienergebnisse und ihre Überführung und Bewährung in der Praxis

Eine allgemeine Kritik an klinischen Studien ist die mangelnde Übertragbarkeit der Ergebnisse in die klinische Realität. Diese Kritik ist umso zutreffender je enger eine Studienpopulation gefasst wird. Wenn im Grunde nur mehr eine Subpopulation der betroffenen Bevölkerungsgruppe in eine Studie Eingang findet, dann ist die Übertragbarkeit der Studienergebnisse eher nicht gewährleistet.

Eine zweite Problematik eröffnet sich, wenn Studienergebnisse die Grundlagen bewährter Strategien verändern. Ein neuer diagnostisch-therapeutischer Algorithmus wird notwendig, ohne dass eine einzelne Studie diesen Pfad vollständig evaluieren kann.

Ein weiteres Problem besteht in sich wider sprechenden Studienergebnissen. Sie können die Interpretation erschweren, aber gleichzeitig wichtige Hinweise zum off label use geben.

Im Folgenden sind Beispiele aus dem Gebiet der invasiven Mykosen dargestellt.

### Beispiel 1: Eng definierte Studienpopulation

Eine erste Studie zur Erstlinientherapie der invasiven Aspergillose mit Caspofungin ergab vergleichsweise geringe Ansprechraten für Patienten mit hämatologischer Grunderkrankung (33%) und für Patienten nach allogener Stammzelltransplantation (42%). In dieser Studie wurde ein sehr eng umschriebenes Patientenkollektiv behandelt. Der Galactomannan-Nachweis galt erst am einem Index von 0,7 als positiv. Die Ergebnisse der Studie sind kaum auf den klinischen Alltag übertragbar, da Caspofungin üblicherweise deutlich früher im Verlauf einer Aspergillose eingesetzt wird. Eine weitere Studie zur invasiven Aspergillose, die bei Vorliegen eines typischen CT-Befunds auf den mikrobiologischen Nachweis verzichtete, erreichte eine >50%ige Ansprechrate. Ihre Ergebnisse könnten größere klinische Relevanz bekommen.

### Beispiel 2: Ungewisse Validität bisheriger Strategien

Die Posaconazol-Prophylaxe wurde u.a. an Patienten mit akuter myeloischer Leukämie evaluiert. Der primäre Endpunkt, die überlegene Reduktion invasiver Mykosen wurde erreicht. Da die Ausschlusskriterien der Studie eng gefasst waren, zeigten die Ergebnisse eine gute Übertragbarkeit auf die tatsächliche klinische Situation. Die Prophylaxe mit Posaconazol fand rasche Umsetzung durch die Kliniker und bildet seither einen Standard. Das Problem ist nun folgendes: Die bisher gültigen Algorithmen basieren auf Studien, die ohne (wirksame) Prophylaxe durchgeführt wurden. Ob beispielsweise der bisherige Standard einer empirischen Therapie nach 72-96 Stunden Antibiotika-refraktären Fiebers weiterhin sinnvoll ist, steht derzeit in Frage.

### Beispiel 3: Widersprechende Studienergebnisse

Der randomisierte Vergleich von Voriconazol und Amphotericin B-Desoxycholat änderte weltweit die Therapie der Aspergillose. Sie wurde erstmals zu einer beherrschbaren Erkrankung. Da invasive Aspergillosen so früh wie möglich behandelt werden müssen, begann rasch ein off label use bereits vor Sicherung einer Pilzinfektion. Es folgten dann die weiteren Studien, die die Effektivität der empirischen Therapie und der Prophylaxe mit Voriconazol belegen sollten. Das Problem liegt in den unerwarteten negativen Ergebnissen dieser Studien. Die frühzeitige Therapie mit Voriconazol war nicht besser als die empirische Gabe von liposomalem Amphotericin B oder die Prophylaxe mit Fluconazol oder Itraconazol. Es wurden Designaspekte dieser Studien als ursächlich diskutiert, ohne dass die Diskrepanz der Studienergebnisse vollständig erklärt werden konnte.

E-Mail: [oliver.cornely@zks-koeln.de](mailto:oliver.cornely@zks-koeln.de)



**Prof. Dr. med. Reinhard Kappe**

Institut für medizinische  
Laboratoriumsdiagnostik und  
Mikrobiologie  
Suedharz-Krankenhaus  
Nordhausen gGmbH  
Firmensitz: Dr. Robert-Koch Str. 39,  
99734 Nordhausen

## Vergleich von Infektparametern bei Patienten mit Candidämie und Bakteriämie

Reinhard Kappe<sup>1)</sup>, Alexander Gorges<sup>1)</sup>, Dagmar Rimek<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Institut für medizinische Laboratoriumsdiagnostik und Mikrobiologie, Südharz-Krankenhaus Nordhausen gGmbH, Dr.-Robert-Koch-Str. 39, D-99734 Nordhausen

<sup>2)</sup> Thüringer Landesamt für Lebensmittelsicherheit und Verbraucherschutz (TLLV), Tennstedter Str. 8/9, 99947 Bad Langensalza

Hintergrund: Fieber bakterieller und mykotischer Ätiologie ist klinisch schwer zu unterscheiden.

Methoden: Retrospektive, monozentrische Analyse von Körpertemperatur, Blut-Leukozyten-Konzentration, C-reaktivem Protein (CRP) und Zeitdauer bis zum Positiv-Signal der Blutkulturen bei 33 Episoden von Candidämie und 20 Fällen bakterieller Sepsis.

Ergebnisse: Die Tabelle zeigt die statistisch ausgewerteten Ergebnisse.

**Tabelle. Infektparameter bei nicht-neutropenischen Patienten mit Candidämie und Bakteriämie.**

	Körper- Temperatur [Median (Bereich)] (°C)	Blut- Leukozyten [Median (Bereich)] (Gpt/L)	C-reaktives Protein (CRP) [Median (Bereich)] (mg/L)	Blutkultur-Dauer von d. Entnahme bis zum Positiv-Signal (Tage)
Candidämie (n=33)*	38,5 (37,1 - 40,8)	13,6 (0,7 - 27,3)	183 (12 - 435)	2,0 (0 - 5)
Bakteriämie (n=20)**	38,8 (36,3 - 40,2)	17,0 (5,0 - 49,0)	176 (71 - 280)	1,1 (1 - 3)
P-Wert Signifikanz	0,33 NS	0,27 NS	0,77 NS	0,07 NS

\* *Candida albicans* 22, *Candida parapsilosis* 3, *Candida glabrata* 4, *Candida tropicalis* 2, *Candida lusitanae* 2.

\*\* *Escherichia coli* 9, *Klebsiella pneumoniae* 1, *Staphylococcus aureus* 7, *Streptococcus pneumoniae* 1, G-Streptokokken 1, *Enterococcus faecalis* 1.

NS nicht signifikant.

Schlussfolgerungen: (1) Körpertemperatur, Blut-Leukozyten-Konzentration und C-reaktives Protein (CRP) unterschieden sich nicht signifikant bei nicht-neutropenischen Patienten mit Candidämie und Bakteriämie. (2) Blutkulturen mit Bakterien wurden im Mittel 1 Tag schneller positiv als Blutkulturen mit Sprosspilzen.

E-Mail: Reinhard.Kappe@shk-ndh.de

## ISHAM und Medizinische Mykologie im deutschsprachigen Raum

Die ISHAM-Organisationsstrukturen werden in ihrer Gesamtheit dargestellt. In diesem Rahmen wird der Leistungs- und Repräsentationsanteil des deutschsprachigen Raumes A-CH-(DDR-)D definiert und bewertet. Die ISHAM-Mitgliederzahlen des A-CH-D-Raumes werden im Vergleich mit europäischem (UK, F) und außereuropäischen (USA, Japan, Brasilien) Nationalitäten präsentiert und Entwicklungstrends aufgezeigt. Anhand einer Analyse des ISHAM-Kongresses 2009 in Tokyo werden exemplarisch die Leistungsanteile des A-CH-D-Raumes mit anderen Nationalitäten verglichen. Die erhobenen Daten belegen wissenschaftspolitischen Handlungsbedarf der medizinischen Mykologie des A-CH-D-Raumes innerhalb der ISHAM.

E-Mail: [Joh.Mueller.Malem@t-online.de](mailto:Joh.Mueller.Malem@t-online.de)



**Professor Dr. rer. nat.  
Johannes Müller**

Brandelweg 24  
79312 Emmendingen-Maleck



**Dr. med. H. J. Heppner**

Klinikum Nürnberg,  
1. Medizinische Klinik,  
Bereichsleitung internistische  
Intensivmedizin, Institut für  
Biomedizin des Alterns, Lehrstuhl  
Innere Medizin –Geriatric,  
FAU Erlangen – Nürnberg,  
Prof.-E.-Nathan-Str.1,  
90419 Nürnberg

## Invasive Pilzinfektionen im Alter. Analyse an einer Intensivstation mit dem Schwerpunkt Akutgeriatrie

H. J. Heppner, R.R. Klempt, K. Schmitt, I. Johnscher, C. Sieber

Klinikum Nürnberg, 1. Medizinische Klinik, Bereichsleitung internistische Intensivmedizin, Institut für Biomedizin des Alterns, Lehrstuhl Innere Medizin –Geriatric, FAU Erlangen – Nürnberg, Prof.-E.-Nathan-Str.1, 90419 Nürnberg

### Ziel:

Mit einer Risikostratifizierung können betagte, schwerstkranke Patienten einer Intensivstation mit dem Schwerpunkt Akutgeriatrie, die ein hohes Risiko für eine systemische oder pulmonale Pilzinfektion tragen, frühzeitig identifiziert und adäquat behandelt werden.

### Hintergrund:

Die Inzidenz von Pilzinfektionen steigt zunehmend. Der überwiegende Anteil sind Infektionen mit *Candida*-Spezies, aber es ist ein Wechsel auf non-*albicans* Arten und Infektionen mit *Aspergillus fumigatus* zu verzeichnen. Intensivpatienten haben ein hohes Risiko einer Pilzinfektion und daher muss frühzeitig eine Risikostratifizierung erfolgen und eine adäquate Therapie eingeleitet werden.

### Material und Methoden:

Es wurden retrospektiv 6254 Patientenfälle an einer 10 Betten konservativen Intensivstation analysiert um Auswirkungen des geänderten Therapieregimes zu erkennen. Erfasst wurden die Gesamtzahl der Isolate, die mikrobiologische Spezifizierung, sowie die Art des Probenmaterials und der Infektion. Besonderes Augenmerk galt den Patienten mit Sepsis und einer *Aspergillus fumigatus*- Infektion.

### Ergebnisse:

Im Beobachtungszeitraum wurden bei 89 Patienten über 65 Jahre 252 Isolate gewonnen.

In die Alterscluster geteilt waren 47 % 65-75 Jahre, 29 % 76-85 Jahre und 24 % über 85 Jahre alt. Hefepilze waren am häufigsten vertreten. Führend *Candida albicans* mit 155 Nachweisen. Die non-*albicans* Spezies teilten sich in 46 Isolate mit *C. glabrata*, 20 Isolate *C. tropicalis*, 4 Isolate *C. krusei*, 1 Isolat *C. parapsilosis* und 4 Isolate *C. guilliermondii*. *Aspergillus fumigatus* wurde in 17 Isolaten nachgewiesen.

### Schlussfolgerung:

Es konnte dargestellt werden, dass geriatrische Patienten mit einer Sepsis unter adäquater Therapie sehr gefährdet sind an einer invasiven Pilzinfektion komplikativ zu erkranken. Mit einer frühzeitigen Risikostratifizierung und einer daraus resultierenden adäquaten antimykotischen Therapie lässt sich die Häufigkeit dieser schweren Komplikation reduzieren.

E-Mail: heppner@klinikum-nuernberg.de

## Pathologie der Mykosen im Alter

Angeregt durch eine Untersuchung von A. Rinne, J. Martikainen, G. Schwesinger und A. Jääskeläinen der Universitäten Tromsø, Qulu, Greifswald und Turku „Mors senilis – old new diagnosis“ (2009) ergab sich auch die Fragestellung nach „Mykosen im Alter“. In der vorliegenden Literatur fanden sich kaum Hinweise. Am Ende der Vorgänge des harmonischen Alterns, wenn alle Organe gleichmäßig altern, steht der Tod an Altersschwäche. Es handelt sich um das Erlöschen des Lebens, welches Schopenhauer (1788-1860) so charakterisierte: „Diese Menschen sterben gar nicht, sie hören nur auf zu leben“. Dass es den „reinen Tod“ durch Einschränkung der Anpassungsreserve und Reparationskapazität durch Verbrauch, d.h. Alterung gibt, ist seit Rössle (1876-1956) unbestritten.

Bereits während der Geburt beginnt die Besiedlung des bis zu diesem Zeitpunkt keimfreien Magen-Darm-Kanals. Diese Mikrobiota besteht zu über 99% aus Bakterien einschließlich Archaea. Daneben sind aber bei 96% der Neugeborenen bereits am Ende des ersten Lebensmonats Hefen nachweisbar. Unter den prädisponierenden Faktoren für Pilzinfektionen finden sich in fast allen Publikationen die praxisrelevanten Kriterien „sehr jung, sehr alt, sehr krank“. Die Bedeutung der Sektionsstatistik ergibt sich bei Endomykosen im Alter aus der Tatsache, dass ohne autopsische Klärung das Ausmaß von Morbidität und Letalität erheblich unterschätzt wird. Erschwerend kommt hinzu, dass seit 1970 weltweit die Autopsierate erheblich absinkt (M. Knoke et al., *Mycoses* 2008; 51: 291-300). Wo wird heute in Deutschland ein Verstorbener zwischen 70 und 80 Jahren noch obduziert? Aber auch die Post-mortem-Diagnostik der Mykose in den Instituten für Pathologie und Rechtsmedizin dürfte im Routineverfahren eine erhebliche Dunkelziffer aufweisen (fehlende Anwendung spezieller Nachweismethoden, in welchem Sektionsprotokoll taucht heute im Gegensatz zu früher noch die Diagnose einer Onychomykose auf?).

E-Mail: [consmyc@uni-greifswald.de](mailto:consmyc@uni-greifswald.de)



**Dr. med. Günther Schwesinger**

18574 Groß Schoritz,  
OT Silmenitz



**Dr. med. Andreas Glöckner**

FA für Innere Medizin/  
 Infektiologie/Intensivmedizin  
 BDH-Klinik Greifswald GmbH  
 Neurologisches  
 Rehabilitationszentrum und  
 Querschnittgelähmtenzentrum  
 Karl-Liebknecht-Ring 26a  
 17491 Greifswald

## Mykosen auf der ITS

Bei invasiven Mykosen auf der Intensivtherapiestation handelt es sich bis auf Ausnahmen um nosokomiale, opportunistische Infektionen mit unspezifischer Symptomatik, die häufig vital bedrohliche Komplikationen darstellen. Als Erreger werden überwiegend Sprosspilze der Gattung *Candida* isoliert, jedoch scheinen auch Infektionen durch Schimmelpilze, vornehmlich *Aspergillus* spp., eine zunehmende Rolle zu spielen. Zahlenmäßig bleiben invasive Pilzinfektionen deutlich hinter den bakteriell verursachten zurück, jedoch ist die Inzidenz steigend und die Letalität ist mit 40 bis 50% weiterhin hoch. So fanden sich in einer 2004 publizierten großen Untersuchung in Krankenhäusern in den USA 4,6 Sepsisfälle durch *Candida* spp. pro 10000 Aufnahmen, damit rangiert diese Erregergruppe in der Häufigkeit auf Platz 4. Die Inzidenz der Sepsisfälle, die durch Pilze bedingt sind, stieg in den USA von über 5000 Fällen im Jahr 1979 auf über 16000 Episoden im Jahr 2000. In einer deutschen Multicenterstudie zur Epidemiologie der Sepsis konnte die Beteiligung von Pilzen bei jedem fünften Patienten gezeigt werden. Es muss davon ausgegangen werden, dass die Candidämie etwa 7- bis 10-mal häufiger auf einer Intensivtherapiestation als auf einer normalen internistischen oder chirurgischen Station auftritt. Ein Hauptproblem bei der Indikationsstellung zur antimykotischen Therapie besteht in dem Fakt, dass der Beweis für eine invasive Mykose als eindeutige Therapieindikation mit den bis dato zur

Verfügung stehenden diagnostischen Möglichkeiten zu selten gelingt und häufig eine risikostratifizierte Behandlungsindikation gestellt werden muss, die auf anamnestischen Angaben und einer Vielzahl von klinischen und paraklinischen Befunden basiert.

Bei Patienten, die an einem Ein- oder Mehrorganversagen leiden,

**Therapiebeeinflussende Faktoren**



- Lokalisation der Infektion
- *Candida* Spezies
- Immunsituation (Neutropenie)
- Alter (kannale)
- Komorbidität (Organversagen)
- Begleitmedikation

sind bei der Auswahl des Antimykotikums neben dem Wirkspektrum, insbesondere Anwendungsbeschränkungen bzw. Dosisanpassungen, mögliche Nebenwirkungen und Interaktionen zu beachten.

E-Mail: [a.gloeckner@bdh-klinik-greifswald.de](mailto:a.gloeckner@bdh-klinik-greifswald.de)

## Aspergillus fumigatus - Diagnostik und Therapie auf einer operativen Intensivstation 2000 bis 2009

Auf einer operativen Intensivstation wurden in den letzten 10 Jahren 9253 Patienten behandelt. Darunter fanden sich 42 Patienten bei denen eine invasive Aspergillus-Infektion diagnostiziert wurde. 12 Patienten wurden wegen eines Aspergilloms elektiv operiert. 5 Patienten mussten sich einer Notfalloperation (3x Blutung, 2x Perforation) unterziehen. 25 Patienten litten unter einer generalisierten broncho-alveolären Aspergillose. Hauptrisikofaktor war eine neoadjuvante Radiochemotherapie, die überwiegend bei Patienten mit Tumoren im oberen Gastrointestinaltrakt (13x Ösophagus) durchgeführt wurde. Am häufigsten wurden die Aspergilleninfektionen über die broncho-alveoläre Lavage diagnostiziert. Bei 3 Patienten wurde die Diagnose erst durch die Sektion gestellt. Die Indikation zur Therapie stellt sich immer dann, wenn Aspergillen im Bronchialsekret nachgewiesen werden. Therapiert wurde mit Amphotericin B, Voriconazol, Caspofungin, und Anidulafungin. Die Letalität ist hoch. 19 von 25 Patienten verstarben, zum Teil an der Grundkrankheit, zum Teil an der Aspergilleninfektion. Von den operierten Patienten verstarben 5 von 17 Patienten. In der Zusammenschau scheint nur der früh und rechtszeitige Einsatz einer antimykotischen Therapie ein erfolgversprechender Ansatz zu sein. Im fortgeschrittenen Stadium der Infektion ist eine Restitution nur selten zu erreichen

E-Mail: kujath-luebeck@t-online.de



**Prof. Dr. med. Peter Kujath**

Universitätsklinikum  
Klinik für Chirurgie  
Ratzeburger Allee 160  
23562 Lübeck



**Dr. med. vet. Kirsten Büsing**

Institut für Nutztierwissenschaften  
und Technologie der Universität  
Rostock

## Luftsackmykose bei einem 4jährigen Appaloosa-Wallach – ein Fallbericht

Kirsten Büsing<sup>1)</sup>, Albrecht Uhlig<sup>2)</sup>, Reiner Schaumann<sup>3)</sup>, Gerald F. Schusser<sup>2)</sup>, Monika Krüger<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Institut für Bakteriologie und Mykologie, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig;

<sup>2)</sup> Medizinische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig;

<sup>3)</sup> Institut für Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie, Medizinische Fakultät, Universität Leipzig

Hintergrund: Bei der Luftsackmykose des Pferdes handelt es sich um eine sporadisch vorkommende Schimmelpilzinfektion der oberen Atemwege, die oftmals durch *Aspergillus fumigatus* ausgelöst wird und vorwiegend einseitig auftritt. Da die Infektion im Anfangsstadium zumeist ohne klinische Symptome verläuft, wird die Krankheit häufig erst im Zusammenhang mit Nasenbluten und anschließender Endoskopie diagnostiziert. Als Komplikation kann eine ipsilaterale Facialisparesis und/oder Vestibulär-syndrom entstehen. Eine Ruptur der mykotisch veränderten A. maxillaris führt häufig zum Verblutungstod.

Fallbericht: Ein erst 4-jährige Appaloosa-Wallach wurde nach einer in der Nacht aufgetretenen starken Epistaxis in die Medizinische Tierklinik überwiesen. Bereits einige Tage zuvor trat bei dem bis dahin klinisch völlig unauffälligen Pferd zweimal Nasenbluten auf. Ein Trauma wurde vorberichtlich als Ursache ausgeschlossen. Bei Eintreffen des Pferdes in der Klinik war nur noch eine geringgradige Blutung aus den Nüstern zu beobachten.

Diagnostik und Therapie: Der Wallach wurde einer umfassenden klinischen und labormedizinischen Untersuchung unterzogen. Im Anschluss daran erfolgte eine Endoskopie der oberen Atemwege. Im linken Luftsack waren massenhaft graue Beläge und einzelne Blutkoagula nachweisbar, die zu der Diagnose Luftsackmykose führten. Es wurden eine Biopsie und 3 Abstriche für die mykologische Untersuchung entnommen. In allen Proben ließ sich *Aspergillus nidulans* kulturell anzüchten und mittels Mikroskopie und Sequenzierung eindeutig identifizieren. Die durch die nächtliche starke Blutung verursachte Anämie wurde mit einer Bluttransfusion behandelt. Da der Besitzer keine Operationserlaubnis für das Pferd erteilte, wurde nach Absprache eine konservative Therapie eingeleitet. Hierbei wurde täglich der betroffene Luftsack nach Umwidmung und unter Einhaltung der Rechtsvorschriften mit Terbinafin und einer Jodlösung gespült, da der einzige für diese Indikation zugelassene Wirkstoff Ketoconazol Erregerlücken im Bereich der Aspergillen aufweist. Systemische Antimykotika sind aufgrund einer zu langsamen Anflutung in das Gewebe und aus finanzieller Sicht für den Einsatz beim Pferd nicht geeignet. An den Folgetagen trat vorerst keine weitere Blutung auf. Elf Tage nach der Einlieferung kam es zu einer Ruptur der A. maxillaris und das Pferd starb.

Schlussfolgerung: Neben *Aspergillus fumigatus* ist auch *Aspergillus nidulans* an der Entstehung einer Luftsackmykose beim Pferd beteiligt. Trotz gezielter Diagnostik sind die Therapiemöglichkeiten oftmals durch starke rechtliche und finanzielle Zwänge eingeschränkt.

E-Mail: [kirsten.buesing@uni-rostock.de](mailto:kirsten.buesing@uni-rostock.de)

## IMPRESSUM

MYKOLOGIE FORUM

Sonderausgabe – Abstracts zum 8. Workshop Consilium Mycologicum  
Medizinische Mykologie in Klinik und Praxis  
Mitteilungen der Deutschsprachigen  
Mykologischen Gesellschaft e.V.  
DMyKG e.V., [www.dmykg.de](http://www.dmykg.de)

Herausgeber:

Vorstand der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft e.V.  
Vorsitzender: Prof. Dr. med. Oliver A. Cornely  
Stellv. Vorsitzender: Prof. Dr. med. Martin Schaller  
Kassenwartin: PD Dr. rer. nat. Uta-Christina Hipler  
Schriftführer: Prof. Dr. rer. nat. Peter-Michael Rath

Redaktion:

Gabriele Henning-Wrobel  
Tel. 02943 486880 – [E-Mail: presse@dmykg.de](mailto:presse@dmykg.de)

Verlag:

SENT Science News

Herstellung / Druck:

Druckerei Preuß GmbH, Ratingen

ISSN-Nr. 1439-5673





Veranstalter: Pfizer Pharma GmbH unter der wissenschaftlichen Mitarbeit des Consilium Mycologicum