

# Sammlung und Analyse von Daten antifungaler Resistenzen von Schimmelpilzen aus klinisch relevantem Untersuchungsmaterial - 2018

Zusammenfassung der Projekt-Ergebnisse

## Autorin

Univ.-Prof.<sup>in</sup> Dr.<sup>in</sup> Cornelia Lass-Flörl

## Kontaktperson

Univ.-Prof.<sup>in</sup> Dr.<sup>in</sup> Cornelia Lass-Flörl, Medizinische Universität Innsbruck/Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie

## HINTERGRUND

Mykosen gewinnen als sekundäre Erkrankungen zunehmend an Bedeutung. Ihr klinisches Bild wird von der Art des Erregers und der Immunkompetenz der/des Patientin/Patienten entscheidend beeinflusst und reicht von einer Besiedelung über Organmykosen bis hin zu fulminant verlaufenden septischen Formen mit Todesfolge [1]. Die häufigsten Erreger von Organ- und Systemmykosen in Europa sind Hefen der Gattung *Candida* und Schimmelpilze der Gattung *Aspergillus* [2]. Dieser jährliche Bericht soll die aktuelle Häufigkeit von Resistenzen invasiver Schimmelpilze gegenüber Antimykotika darlegen.

## ERGEBNISSE

2018 wurden von der Medizinischen Universität Wien, Abteilung für Klinische Mikrobiologie, von der Medizinischen Universität Innsbruck, Sektion für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie, von der Medizinischen Universität Graz, Diagnostik und Forschungsinstitut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin und von der Krankenanstalt (KA) Rudolfstiftung Wien Schimmelpilzkulturen identifiziert und einer Resistenztestung unterzogen. Ziel war es, eine Analyse der Häufigkeit und Artverteilung klinisch relevanter Schimmelpilzisolat zu erheben sowie die Empfindlichkeit (Minimale Hemmkonzentration; MHK) der Isolate aus Proben der klinischen Routinediagnostik zu bestimmen. Die Erfassung erfolgte mittels Erhebungsbogen, die Isolate wurden vor Ort einer Speziesbestimmung und einer Resistenztestung unterzogen. Als Grundlage für die MHK-Testung galten entweder der

E-Test oder eine andere standardisierte Mikrodilutionsmethode (EUCAST, Version 8.0, Stand 2015) [4].

Getestet wurden Amphotericin B, Itraconazol, Voriconazol, Posaconazol, Micafungin, Caspofungin und Isavuconazol.

Die Auswertung der Resistenztestergebnisse erfolgte nach der europäischen EUCAST-Norm (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing):

Amphotericin B, Itraconazol, Voriconazol und Isavuconazol wurden ab einer MHK > 1 mg/l und Posaconazol ab einer MHK > 0,125 mg/l als resistent gewertet (intermediär empfindliche Isolate wurden zu den resistenten Isolaten addiert). Bisher existieren keine standardisierten Breakpoints für Echinocandine, sodass hier keine eindeutige Aussage zur Resistenzlage gemacht werden kann.

Insgesamt gingen 371 Isolate ein (97 Isolate von der Medizinischen Universität Wien, Abteilung für Klinische Mikrobiologie, 254 von der Medizinischen Universität Innsbruck, Sektion für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie, 14 von der Medizinischen Universität Graz, Diagnostik und Forschungsinstitut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin und 6 Isolate von der KA Rudolfstiftung Wien); 36% (133/371) stammen von Frauen und 64% (237/371) von Männern, 85% (314/371) der Isolate stammen aus bronchoalveolären Lavagen und 4% (14/371) aus Biopsien/Geweben. In 75% (n=280) wurden *Aspergillus*-Spezies nachgewiesen, gefolgt von *Penicillium* sp. (6%, n=22), *Fusarium* spp. (5%, n=18) und Mucormyceten/Zygomyceten (2%, n=9). Non-*Aspergillus* Spezies wurden in 91 Isolaten gezüchtet.

Unter den *Aspergillus*-Spezies handelte es sich bei 79% (n=222) um Isolate aus dem *Aspergillus fumigatus* complex, 20 Isolate wurden als *A. niger*, 14 Isolate als *A. flavus*, 8 Isolate als *A. terreus*, 6 als *A. nidulans*, 5 als *A. glaucus* und je 1 Isolat als *A. ochraceus*, *A. ustus*, *A. clavatus*, *A. sydowii* und *A. sclerotiorum* identifiziert.

Der Großteil der Patientinnen/Patienten mit nachgewiesenen Schimmelpilzen war der Pulmologie (20%), den chirurgischen (26%), den Intensiv- (28%) und den internistischen Stationen (6%) zuzuordnen.

Sieht man von den *Aspergillus terreus*-Isolaten ab, die eine intrinsische Resistenz gegenüber Amphotericin B aufweisen, zeigten 6% (13/217) der getesteten Isolate erhöhte Minimale Hemmkonzentrationen (MHK > 1 mg/l) gegenüber Amphotericin B (9 *A. flavus*-, 2 *A. nidulans*-Isolate, 1 *A. sclerotiorum* und 1 *A. ochraceus*-Isolat); 5% (11/221) erhöhte MHKs (> 0,125 mg/l) gegenüber Posaconazol (4 *A. flavus*-, 3 *A. niger*-Isolate und 1 *A. fumigatus*-, 1 *A. ustus*-, 1 *A. clavatus*- und 1 *A. sclerotiorum*-Isolat) und 7% (5/71) gegenüber Itraconazol (> 1 mg/l; 1 *A. fumigatus*-, 1 *A. niger*-, 1 *A. ustus*-, 1 *A. clavatus*- und 1 *A. sclerotiorum*-Isolat) auf. Von 25 auf Resistenz gegen Isavuconazol getesteten *Aspergillus*-Isolaten (16 *A. fumigatus*-, 3 *A. flavus*-, 2 *A. niger*-, 2 *A. terreus*-Isolate, 1 *A. clavatus*- und 1 *A. glaucus*-Isolat) zeigten alle Isolate MHKs ≤ 0,5 mg/l und sind somit als in vitro empfindlich zu werten.

Unter den Non-*Aspergillus*-Spezies (91/371) lag die MHK für Amphotericin B bei 40% (21/52) > 1 mg/l, für Posaconazol bei 78% (39/50) > 0,125 mg/l und für Voriconazol bei 52% (24/46) > 1 mg/l.

Die Beurteilung der Resistenzsituation unter den Non-*Aspergillus*-Isolaten gestaltet sich als sehr schwierig, da nach wie vor keine klinischen Breakpoints vorliegen. Die Interpretation der Resistenztestung erfolgt daher in Anlehnung an die für *Aspergillus*-Spezies publizierten Grenzwerte.

*Fusarium*-Spezies, welche bekannt sind für ihre verminderte Empfindlichkeit gegenüber diversen Antimykotika zeigten erhöhte MHKs gegenüber Amphotericin B (> 1 mg/l) in 60% (9/15), gegenüber Voriconazol (> 1 mg/l) in 38% (6/16) und in 87% (13/15) gegenüber Posaconazol (> 0.125 mg/l).

Unter den Mucormyzetten/Zygomyceten zeigten 11% (1/9) eine MHK > 1 mg/ml gegenüber Amphotericin B (*Rhizopus* sp.); 100% (9/9) der Isolate wiesen MHKs > 0.125 mg/l gegenüber Posaconazol auf (7 *Rhizopus* spp., 1 *Lichtheimia* sp.) auf.

Da *Penicillium*-Spezies, ausgenommen *Penicillium marneffe*, bei invasiven Infektionen eine untergeordnete Rolle spielen [3], wurde die Resistenzlage nicht ausgewertet.

Die Zahl der in die Auswertung aufgenommenen Fadenpilze ist im Vergleich zu den Vorjahren gestiegen. Aufgrund der Tatsache, dass keine einheitlichen Standards zur Probenabnahme und Testung vorliegen, handelt es sich hier um Richtwerte.

*Aspergillus*-Spezies sind mit 75% nach wie vor führend unter den Schimmelpilzen, davon sind 79% dem *Aspergillus fumigatus* complex zuzuordnen. Dies entspricht in etwa dem prozentuellen Verteilungsmuster der Vorjahre. Auch unter den Non-*Aspergillus* Spezies verhielt sich das Spektrum an kultivierten Schimmelpilzen ähnlich zu den Vorjahren

Erfreulicherweise zeigte sich unter den *Aspergillus*-Isolaten keine ansteigende Azol-Resistenz.

Bezogen auf das Resistenzverhalten der nachgewiesenen Schimmelpilze kann Österreich auf eine „sehr zufriedenstellende Situation“ verweisen. In den letzten Jahren mehren sich vor allem aus den Niederlanden und Großbritannien, aber auch aus anderen Ländern Berichte über den Nachweis azolresistenter Isolate von *A. fumigatus* aus klinischen Materialien. Schon kurz nach Einführung von Itraconazol vor über 20 Jahren wurden im Jahr 1997 die ersten klinischen *A. fumigatus* Isolate mit Resistenzen beschrieben. Mittlerweile liegen weltweite Einzelberichte über Schimmelpilzisolat vor, die z.T. auch eine multiple Resistenz gegenüber Azolen aufweisen, und mit einer klinischen Relevanz einhergehen. Häufig werden bei resistenten Stämmen Mutationen im Gen für die Lanosterol-14-alpha-Demethylase CYP51A nachgewiesen. In Österreich wurde bisher ein Isolat detektiert, welches von einer Person mit chronischer Aspergillose stammt.

Resistenzen werden eingeteilt in:

1. Primäre oder „intrinsische“ Resistenzen (gattungsabhängig)
2. Sekundäre oder „erworbene“ Resistenzen

Eine intrinsische Resistenz zeigt sich z.B. bei *Aspergillus terreus* gegenüber dem Polyen Amphotericin B, oder bei *Mucorales* gegenüber Voriconazol oder Candinen. Die Polyenresistenz in Österreich ist insgesamt sehr selten. Diese Resistenz ist unabhängig von einer Antimykotika-Exposition, daher ist die Bestimmung der Gattung bzw. Spezies wichtig für die Therapie.

Die als „new threat/neue Seuche“ bezeichnete Azolresistenz von *Aspergillus fumigatus* steht im Mittelpunkt zahlreicher epidemiologischer Untersuchungen. Bis vor kurzem galt die

erworbene Azolresistenz bei Aspergillen als sehr selten, dennoch wird seit 2005 eine steigende Zunahme beobachtet. Im Jahr 2000 zeigte eine Studie in Manchester, dass 2% von über 900 getesteten klinischen *Aspergillus fumigatus*-Isolaten eine Itraconazol-Resistenz aufweisen. Diese Zahl stieg im Jahr 2007 auf 15%. In den Niederlanden konnte ebenso eine dramatische Zunahme der azolresistenten Aspergillen beobachtet werden. Im Jahr 2000 waren es noch 2,5%, 2002 schon 4,9%, 2004 6,6% und 2009 waren es 10% Azol-resistente Aspergillen. Die Kreuzresistenz für Voriconazol liegt bei 65% und für Posaconazol bei 74%. Die Verteilung der Azol-Resistenz zeigt eine länderspezifische Verteilung, wobei ein sporadisches Auftreten in Belgien, Dänemark, Frankreich, Schweden, Spanien und Norwegen zu sehen ist.

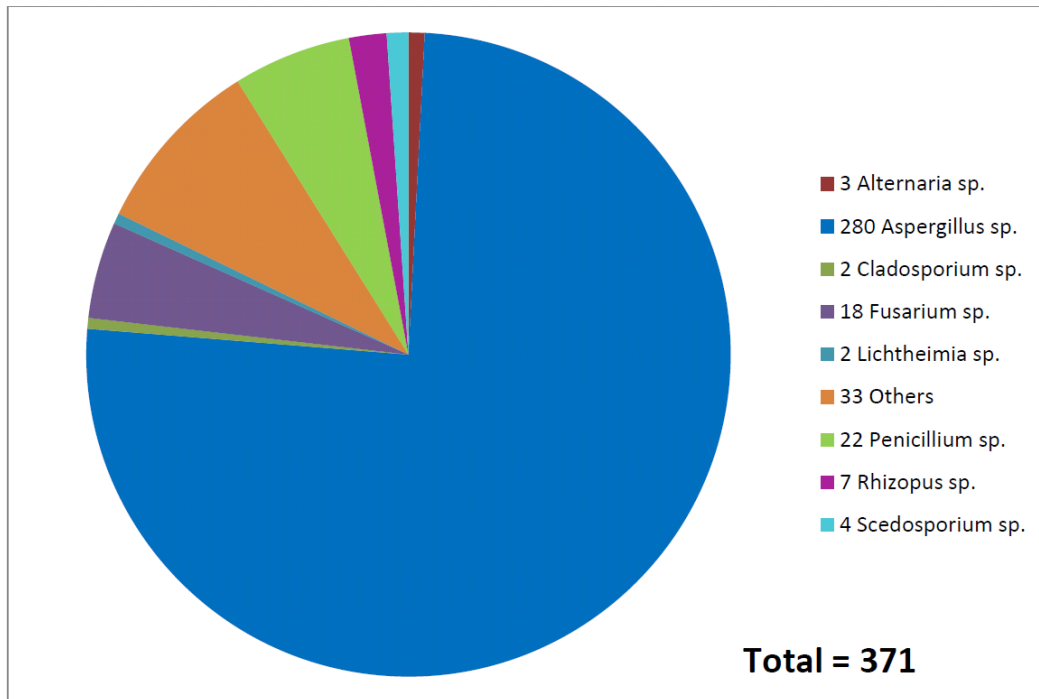
Die Beurteilung der Resistenzsituation unter den Non-*Aspergillus*-Isolaten gestaltet sich als sehr schwierig, da nach wie vor keine klinischen Breakpoints vorliegen. Die Interpretation der Resistenztestung erfolgt daher in Anlehnung an die für *Aspergillus*-Spezies publizierten Grenzwerte, klinische Daten zur Korrelation in vitro/in vivo fehlen.

Non-*Aspergillus* Spezies wurden in 91 Isolaten gezüchtet, davon 24% (22/91) *Penicillium* Spezies, 20% (18/91) *Fusarium*-Spezies und 29% (9/91) Mucormyceten/Zygomyceten.

Insbesondere Fusarien weisen, wie bekannt, eine verminderte Empfindlichkeit gegenüber diversen Antimykotika auf. Gegenüber Amphotericin B zeigten sich in 60% (9/15) der Non-*Aspergillus*-Isolate MHKs > 1 mg/l, gegenüber Voriconazol in 38% (6/16) MHKs > 1 mg/l und gegenüber Posaconazol in 87% (13/15) MHKs > 0.125 mg/l.

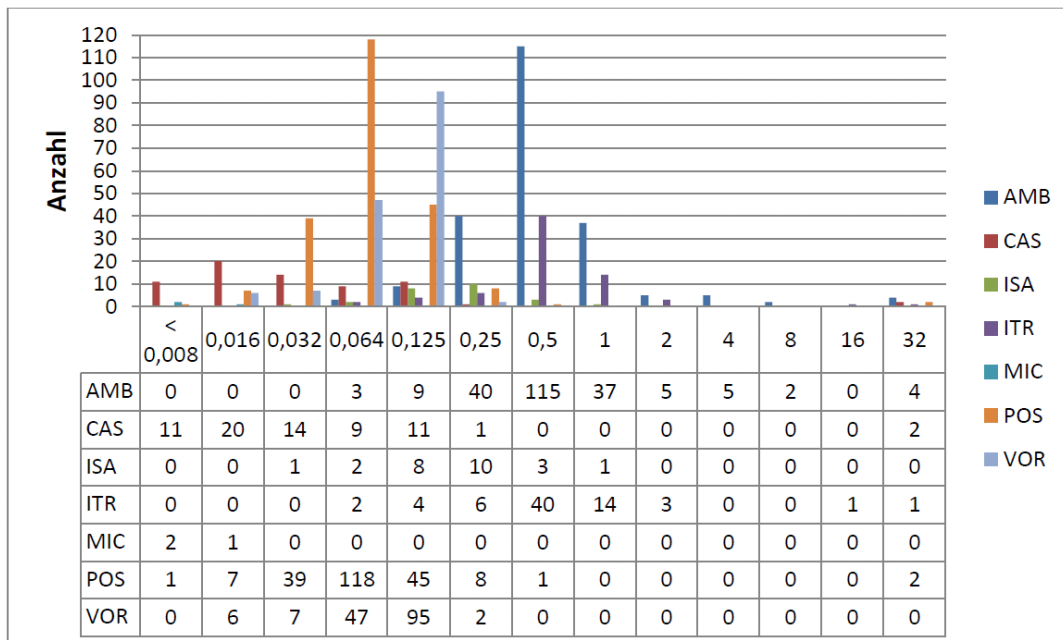
Mucormyceten/Zygomyceten zeigten in 11% (1/9) eine MHK > 1 mg/ml gegenüber Amphotericin B (*Rhizopus* sp.); 100% (9/9) der Isolate wiesen MHKs > 0.125 mg/l gegenüber Posaconazol auf (7 *Rhizopus* sp., 1 *Lichtheimia* sp.) auf.

Abbildung 1: Verteilung der Schimmelpilzspezies aus infektionsrelevanten Regionen nach Anzahl



Quelle Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Medizinischen Universität Innsbruck

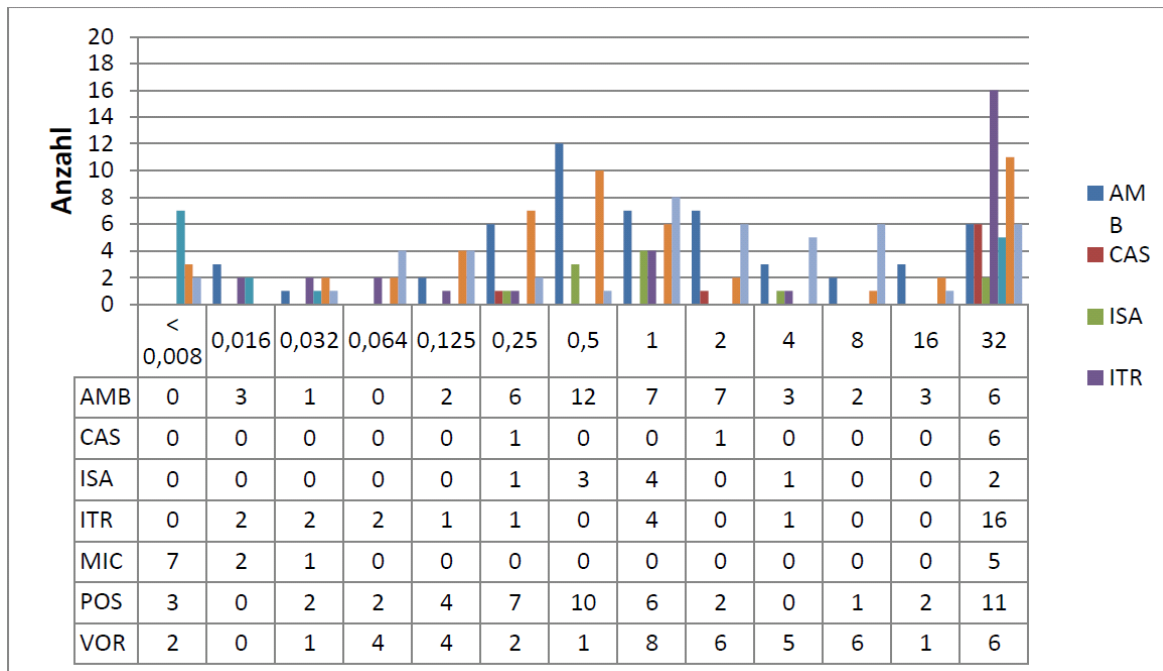
Abbildung 2: In vitro-Resistenz im Überblick: MHK-Verteilung aller Aspergillus-Isolate nach Anzahl



AMB Amphotericin B; CAS Caspofungin; ISA Isavuconazol; ITR Itraconazol; MIC Micafungin; POS Posaconazol, VOR Voriconazol

Quelle Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Medizinischen Universität Innsbruck

Abbildung 3: In vitro-Resistenz im Überblick: MHK Verteilung aller Non-Aspergillus-Isolate nach Anzahl



AMB Amphotericin B; CAS Caspofungin; ISA Isavuconazol; ITR Itraconazol; MIC Micafungin; POS Posaconazol, VOR Voriconazol

Quelle Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Medizinischen Universität Innsbruck

## AUSBLICK

Infektionen durch Pilze, vorwiegend *Candida*- und *Aspergillus*-Spezies gewinnen zunehmend an Bedeutung. Risikopatientinnen/-patienten sind hämatologisch/onkologische Patientinnen/Patienten mit Neutropenie, insbesondere Leukämie-Patientinnen/-Patienten, bei denen auch seltene Fadenpilze wie Mucormyzetten, und *Fusarium*-Spezies bedeutsam sind. Auch nicht-neutropenische Patientinnen/Patienten, die entsprechende, meist iatrogen induzierte Risikofaktoren aufweisen, sind durch invasive *Candida*-Infektionen gefährdet. Die Letalität invasiver Mykosen ist hoch und kann nur durch eine frühzeitige adäquate Therapie gesenkt werden. Die Zukunft wird eine zunehmende Zahl immundefizienter und immer älter werdender Patientinnen/Patienten mit sich bringen. Neben dem Anstieg der Risikopopulation und dem damit verbundenem Einsatz antimykotischer Substanzen wird sich das Spektrum opportunistischer Pilze erweitern.

Wie sich die epidemiologische Situation in Österreich entwickelt bleibt abzuwarten. Engmaschige Kontrollen und Überwachungen sind notwendig.

## REFERENZEN

1. Singh N and Paterson D. *Aspergillus* infections in transplant recipients. Clin Microbiol Rev 2005;18:44-69.
2. Pfaller M, Pappas P, Wingard J. Invasive fungal pathogens: current epidemiological trends. Clin Infect Dis 2006;43:3-14.
3. Lyraztopoulos G1, Ellis M, Nerringer R, Denning DW. Invasive infection due to penicillium species other than *P. marneffeii*. J Infect 2002;45(3):184-95.
4. EUCAST. Antifungal agents. Breakpoint tables for interpretation of MICs. Available for download at: [http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)

### Impressum

Medieninhaber, Verleger und Herausgeber:

Ressort, Straße 2, 1010 Wien

Wien, 2018. Stand: 19. September 2019

Vorname Nachname

Telefon: +43 1 711 00-201234

E-Mail: [empfaenger@sozialministerium.at](mailto:empfaenger@sozialministerium.at).