

**Aus der medizinischen Klinik und Poliklinik II  
der Universität Würzburg  
Direktor: Professor Dr. med. H. Einsele**

**Prospektive Untersuchung der Inzidenz und Relevanz invasiver Mykosen  
bei allogenen Stammzell-transplantierten Patienten sowie Evaluation der  
Risikofaktoren für systemische Pilzinfektionen**

**Inaugural - Dissertation**

**zur Erlangung der Doktorwürde der  
Medizinischen Fakultät  
der**

**Julius-Maximilians-Universität Würzburg  
vorgelegt von  
Anne-Katrin Möller  
aus Stuttgart**

**Stuttgart, April 2015**



## **Referentenblatt**

**Referent:** Priv.-Doz. Dr. med. Werner J. Heinz  
**Koreferent:** Prof. Dr. med. Paul-Gerhardt Schlegel  
**Dekan:** Prof. Dr. med. Matthias Frosch

**Tag der mündlichen Prüfung:** 03.05.2016

**Die Promovendin ist Ärztin.**

---

## **Selbständigkeitserklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe bzw. unerlaubte Hilfsmittel angefertigt, andere als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Immunologische Abwehrmechanismen gegen Pilzinfektionen	3
1.2	Risikokollektiv für invasive Mykosen	5
1.3	Invasive Mykosen bei allogenen Stammzell-transplantierten Patienten	6
1.4	Bevorzugte Infektionsorte systemischer Pilzinfektionen	7
1.5	Erregerspektrum invasiver Mykosen	8
1.6	Diagnostik invasiver Mykosen	10
1.7	Definition invasiver Mykosen nach den EORTC-MSG Kriterien	13
1.8	Prävention und Therapie systemischer Mykosen	16
<b>2</b>	<b>Motivation und Zielsetzung</b>	<b>22</b>
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>23</b>
3.1	Patientenkollektiv, Umfang und Dauer der Untersuchung	23
3.2	Europäischer Rahmen der epidemiologischen Studie - PIMDA	23
3.3	Patientenrekrutierung	24
3.3.1	<i>Patientenaufklärung</i>	24
3.3.2	<i>Ein- und Ausschlusskriterien</i>	25
3.4	Studienziele	25
3.5	Datenerfassung	26
3.5.1	<i>Datenerfassung des Studienkollektivs</i>	26
3.5.2	<i>Registrierung der Patientendaten</i>	28
3.5.3	<i>Diagnosestellung der Pilzinfektionen</i>	28
3.6	Literatursuche	29
3.7	Statistische Auswertung	29
3.7.1	<i>Definitionen</i>	29
3.7.2	<i>Statistische Testverfahren</i>	30
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>32</b>
4.1	Rekrutierungserfolg	32
4.2	Patientenkollektiv	32
4.2.1	<i>Datenerfassung zu Beginn des Beobachtungszeitraums</i>	32
4.2.2	<i>Vorausgegangene Chemotherapie bei AML</i>	35
4.2.3	<i>Daten zur Stammzelltransplantation</i>	35

4.2.4	<i>Konditionierungs-Protokolle</i> .....	37
4.3	Inzidenz invasiver Mykosen im Studienkollektiv .....	39
4.3.1	<i>Infektionszeitpunkt</i> .....	41
4.3.2	<i>Infektionsort</i> .....	42
4.4	Untersuchungsmethoden.....	43
4.4.1	<i>PCR-Untersuchung im Serum</i> .....	44
4.4.2	<i>Galactomannan-Bestimmung</i> .....	45
4.4.3	<i>Histologisches und kulturelles Ergebnis</i> .....	47
4.4.4	<i>CT-Thorax Untersuchung</i> .....	48
4.5	Antimykotische Strategie .....	49
4.5.1	<i>Pilzspezifische Prophylaxe</i> .....	49
4.5.2	<i>Empirische und präemptive antimykotische Strategie</i> .....	50
4.5.3	<i>Antimykotische Therapie</i> .....	51
4.6	Evaluation der Risikofaktoren zur Entwicklung einer invasiven Pilzinfektion .....	53
4.6.1	<i>Grunderkrankung</i> .....	53
4.6.2	<i>Alter, Geschlecht, BMI und Nikotinkonsum</i> .....	54
4.6.3	<i>HLA-Status</i> .....	56
4.6.4	<i>Ursprung und Manipulation der Stammzellen</i> .....	57
4.6.5	<i>Chemotherapieregime</i> .....	58
4.6.6	<i>CMV-Status und CMV-Reaktivierung</i> .....	59
4.6.7	<i>Neutropeniedauer</i> .....	60
4.6.8	<i>Persistierendes neutropenes Fieber</i> .....	62
4.6.9	<i>Glukokortikoidapplikation</i> .....	63
4.6.10	<i>Graft versus Host disease</i> .....	64
4.6.11	<i>HCT-CI Score</i> .....	65
4.6.12	<i>Respiratorische Infektionen</i> .....	66
4.6.13	<i>Antibakterielle Therapie</i> .....	66
4.7	Relevanz invasiver Mykosen .....	67
4.7.1	<i>Krankenhausverweildauer</i> .....	67
4.7.2	<i>Mortalität</i> .....	68
4.7.3	<i>Last follow up: Entwicklung der invasiven Mykosen</i> .....	70
4.7.4	<i>Behandlungserfolg der antimykotischen Therapie bei     wahrscheinlichen Aspergillosen</i> .....	72

<b>5 Diskussion</b> .....	<b>74</b>
5.1 Überblick.....	74
5.2 Studienergebnisse .....	74
5.2.1 Inzidenz invasiver Mykosen.....	74
5.2.2 Primärer Infektionsort der Pilzerkrankungen.....	76
5.2.3 Erregerverteilung .....	77
5.2.4 Infektionszeitpunkt.....	78
5.2.5 Untersuchungsmethoden.....	80
5.2.5.1 Galactomannan-Bestimmung.....	80
5.2.5.2 Polymerasekettenreaktion.....	81
5.2.5.3 Thorakale Computertomografie.....	83
5.2.6 Antimykotische Strategien .....	83
5.2.7 Risikofaktoren für invasive Mykosen .....	85
5.2.7.1 Alter, Geschlecht, Grunderkrankung und Nikotinkonsum.....	85
5.2.7.2 Konditionierungs- & Transplantationsassoziierte Daten.....	87
5.2.7.3 Neutropenie und Steroidapplikation .....	89
5.2.7.4 Komplikationen der Transplantation.....	91
5.2.7.5 CMV-Status und CMV-Reaktivierung.....	92
5.2.7.6 Antibiotikatherapie.....	94
5.2.8 Klinische Folgen einer invasiven Mykose .....	94
5.2.8.1 Krankenhausaufenthalt .....	94
5.2.8.2 Mortalität .....	95
5.3 Methodische Überlegungen.....	97
5.3.1 Beeinflussung der Studienergebnisse und Störgrößen .....	97
5.3.2 Limitationen der Arbeit.....	100
5.4 Ausblick.....	102
<b>6 Zusammenfassung</b> .....	<b>104</b>
<b>7 Literaturverzeichnis</b> .....	<b>107</b>
<b>8 Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>115</b>
<b>9 Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>116</b>

## Abkürzungsverzeichnis

- AIDS Acquired Immune Deficiency Syndrome
- ALL Akute lymphatische Leukämie
- AML Akute myeloische Leukämie
- BAL Bronchoalveoläre Lavage
- CMV Cytomegalie Virus
- CT Computertomografie
- EORTC European organisation for research and treatment of cancer
- GM Galactomannan
- GvHd Graft versus Host disease
- HCT-CI Hematopoietic cell transplantation comorbidity index
- HIV Human immunodeficiency virus
- HLA Human Leukocyte Antigen
- HEPA High efficiency particulate air
- i.a.D. In adäquater Dosierung
- IFD Invasive fungal disease
- IL Interleukin
- KM Knochenmark
- MAMPs Microbe associated molecular patterns
- MM Missmatched
- MRD Matched related donor
- MSG Mycosis study group
- MUD Matched unrelated donor
- NHL Non-Hodgkin Lymphom
- PBSCT Periphere blood stem cell transplantation
- PCR Polymerase chain reaction
- PIMDA Prospective invasive mould disease audit
- PRR Pathogen recognition receptor
- SZT Stammzelltransplantation
- TLR Toll-like Rezeptor
- ZNS Zentralnervensystem

# 1 Einleitung

Pilzen kommt in unserer heutigen Gesellschaft eine stetig wachsende Bedeutung zu. Sie besiedeln nahezu alle Lebensräume und man geht davon aus, dass sich ihre Artenvielfalt auf über eine Million beläuft. Rund 300 der bisher bekannten 100.000 Arten können als Krankheitserreger den Menschen befallen. Davon verursachen etwa ein Dutzend Erreger über 90% aller Erkrankungen. [Campbell et al., 2009] Pilzinfektionen können in primäre und opportunistische Infektionen unterteilt werden. [Kayser et al., 2010] Kokkzidioidomykosen, Histoplasmosen und Blastomykosen zählen zu den primären Mykosen, welche in Mitteleuropa praktisch nur durch importierte Fälle vorkommen [Hof et al., 2010]. Im Gegensatz dazu sind opportunistische Pilzinfektionen auch in Europa eine häufige Infektionskomplikaion mit einer steigenden Inzidenz in den letzten zwei Jahrzehnten ([Pfaffenbach et al., 1994], [Marr et al., 2002a]). Neben subkutanen und kutanen Manifestationen nehmen vor allem systemische (invasive) Mykosen einen immer größeren Anteil an den opportunistischen Infektionen ein. Als relevante Krankheitserreger sind hier vor allem *Aspergillus spp.* und *Candida spp.*, aber zunehmend auch seltene Erreger, wie Fusarien oder Mukormyzeten, zu nennen ([Pagano et al., 2006], [Marr et al., 2002b]). Ferner muss auch *Pneumocystis jirovecii* zu den bedeutsamen opportunistischen Pilzen gezählt werden [Gilroy et al., 2011].

Invasive Pilzinfektionen sind heutzutage in fast allen medizinischen Fachrichtungen anzutreffen. In einer Autopsiestudie aus Deutschland zeigte sich, dass bei annähernd 1% der autopsierten Erwachsenen aus allen Fachrichtungen eine systemische Mykose nachzuweisen war [Koch et al., 2004]. Neben vielen anderen Patientenkollektiven gehören jedoch gerade Patienten der Hämatologie und Onkologie zum Hochrisiko-Kollektiv für invasive Pilzinfektionen, da diese Gruppe häufig unter anhaltenden und rezidivierenden Leukopenien oder einem anderweitig geschwächten Immunsystem leidet [Lin et al., 2001]. In den letzten 50 Jahren wurde die Therapie von hämatoonkologischen Grunderkrankungen durch Fortschritte in der Chemotherapie und Strahlentherapie sowie durch optimierte Operationstechniken immer weiter verbessert. Zusätzlich konnten neue, immunsuppressive Therapieansätze, wie die autologe und allogene



Stammzelltransplantation (SZT) die Prognose von Krebspatienten weiter optimieren. Im Rahmen dieser Therapieoptionen werden zunehmend Zytostatika und Immunsuppressiva wie Glukokortikoide verabreicht. Diese Entwicklung hat zur Folge, dass bei immer mehr Patienten mit einer früher fatalen Diagnose eine Heilung oder zumindest eine Verzögerung des Krankheitsprogresses herbeigeführt werden kann. Dementsprechend steigt jedoch die Zahl der Patienten, die als Folge der Grunderkrankung sowie der aggressiven und intensivierten Therapie für längere Zeit einen immunsupprimierten Zustand durchlaufen. Diese Immunsuppression macht sie besonders anfällig für opportunistische Infektionen. So definierten Homei et al. die invasive Aspergillose gar als „iatrogen produziertes Leiden“, als „unerwartetes Ergebnis des medizinischen Fortschritts“ und bezogen sich dabei vorrangig auf die „High-Tech“ Krebstherapie, Transplantationen, immunsuppressive Medikamente und die Behandlung auf Intensivstationen [Homei et al., 2013]. Dieser medizinische Fortschritt hat in den letzten Jahrzehnten einen Anstieg der invasiven Mykosen in der Hämatologie und Onkologie mit sich gebracht. Dabei gehören Patienten nach einer allogenen Stammzelltransplantation und Patienten mit einer akuten Leukämie zu dem Hauptrisiko-Kollektiv für invasive Aspergillosen [Lortholary et al., 2011]. Marr et al. beschrieben beispielsweise eine Steigerung der Inzidenz invasiver Aspergillosen nach allogener Stammzelltransplantation von 1990 bis 1998 [Marr et al., 2002a]. Pfaffenbach et al. schilderten zusätzlich einen Anstieg systemischer Mykosen bei hämatologischen oder onkologischen Grunderkrankungen von 12% im Jahr 1979 auf 30% im Jahr 1990 [Pfaffenbach et al., 1994]. Neueste Untersuchungen deuten jedoch darauf hin, dass dieser Trend in jüngster Zeit wieder rückläufig ist. Eine große Studie aus dem Jahr 2014 zeigt beispielsweise einen Rückgang der Inzidenz invasiver Aspergillosen bei Herztransplantierten Patienten zwischen den Zeiträumen 1988-2000 und 2001-2011 [Munoz et al., 2014]. Weiterhin beschrieben Lortholary et al. in einer großen französischen Multizenterstudie eine stabile Inzidenz invasiver Aspergillosen zwischen 2005 und 2007 [Lortholary et al., 2011].

Nichtsdesdotrotz stellen Pilzinfektionen mittlerweile eine wichtige Komplikation bei vielen kritisch kranken Patienten dar und haben einen großen Einfluss auf deren Morbidität und Mortalität. Die krankheitsbezogene Letalität liegt in

Europa, abhängig von der geografischen Lokalisation und der zugrunde liegenden Krankheit, bei *Candida*-Infektionen zwischen 28% und 59% und bei invasiven Aspergillosen zwischen 38% für AML-Patienten und 94% für nicht-neutropenische Patienten [Lass-Flörl et al., 2009]. Entsprechend einer Übersichtsarbeit aus dem Jahr 2001, welche die Daten von annähernd 2000 Patienten mit invasiver Mykose betrachtete, liegt die Aspergillus-bezogene Sterberate, unabhängig von der Grunderkrankung, bei durchschnittlich 58%. Die höchsten Fall-bezogenen Sterberaten wiesen hier Patienten nach einer Knochenmarktransplantation (86,7%) und Patienten mit einer disseminierten Aspergillose oder ZNS-Beteiligung (88,1%) auf [Lin et al., 2001]. Vor allem die frühe Infektion, bis 40 Tage nach der Transplantation, ist mit einer erhöhten Mortalität verbunden [Marr et al., 2002a]. In der Autopsiestudie von Pfaffenbach et al. wurden die invasiven Mykosen in 76% der Sterbefälle als Todesursache identifiziert [Pfaffenbach et al., 1994]. Bei Pagano et al. bildeten die Pilzinfektionen 51% der Todesursachen in einer Studienpopulation aus 391 hämatologischen Patienten, welche an einer invasiven Mykose erkrankt waren [Pagano et al., 2001]. Unter den Erregern unterscheiden sich die Fall-bezogenen Sterberaten jedoch erheblich. So liegt sie für *Candida spp.* bei 33%, für *Aspergillus spp.* bei 42%, für Mukormyzeten bei 64% und für Fusarien bei 53% unter hämatoonkologischen Patienten. [Pagano et al., 2006] Auch Kontoyiannis et al. beobachteten die schlechtesten Ein-Jahres Überlebensraten nach allogener Transplantation bei Patienten mit einer invasiven Fusariose (6,3%) und einer invasiven Aspergillose (25,4%) [Kontoyiannis et al., 2010]. Die Rate für *Aspergillus fumigatus* wiederum liegt höher als die für *Aspergillus niger* und *Aspergillus terreus* [Pagano et al., 2006]. Diese Daten verdeutlichen die ungeheure Bedeutung der opportunistischen Mykosen als Komplikation in verschiedenen Risikokollektiven.

## 1.1 Immunologische Abwehrmechanismen gegen Pilzinfektionen

Im immunkompetenten Zustand stellen ubiquitär verbreitete, aber gering virulente Pilze, wie *Aspergillus spp.*, *Candida spp.* und *Cryptococcus spp.* selten eine Bedrohung für den Menschen dar [Kauffmann et al., 1989]. Bei immunkompetenten Erwachsenen sind schon 24 Stunden nach der Internalisierung 90% der eingeatmeten Pilzsporen vollständig zerstört [Lass-

Flörl et al., 2013]. Die erste Abwehr des Menschen stellt seine Haut- und Schleimhautbarriere dar. So sind nasale Ziliarzellen beispielsweise in der Lage, Pilzsporen zu phagozytieren und direkt abzutöten [Lass-Flörl et al., 2013]. Zusätzlich spielt die Besiedlung der Haut mit Kommensalen eine entscheidende Rolle bei der Infektabwehr, da sie es dem Pilz erschwert, sich selbst anzusiedeln [Kauffmann et al., 1989]. Zu dieser normalen Flora von Haut und Schleimhäuten gehören jedoch auch häufig schon Pilze, wie der Hefepilz *Candida albicans*. Als Infektion manifestiert er sich dabei nur unter veränderten chemischen, mikrobiologischen oder immunologischen Bedingungen [Campbell et al., 2009]. Dringen die Erreger auf Grund einer hohen Pathogenität oder Wirts-spezifischer Faktoren in das Gewebe ein, müssen sie sich dem Phagozytensystem, bestehend aus Natural Killer Zellen, polymorphkernigen Granulozyten, Blutmonozyten, Gewebsmakrophagen, dendritischen Zellen und untypischen Zelllinien, wie Epithel- und Endothelzellen, stellen ([Lass-Flörl et al., 2013],[Kauffmann et al., 1989]). Vor allem neutrophile Granulozyten spielen hier eine entscheidende Rolle [Lass-Flörl et al., 2013]. Allgemein sind an der primären Erkennung der Mikroorganismen durch den Wirt spezielle „Microbe associated molecular patterns“ (MAMPs) beteiligt, die von „Pathogen recognition receptors“ (PRR) des Wirts erkannt werden. Die wichtigsten PRRs bei Aspergillus-Spezies stellen die Toll-like Rezeptoren 2 und 4 sowie CLEC7A, DC-SIGN und die Mannose-Rezeptoren dar ([Lass-Flörl et al., 2013],[Braedel et al., 2004]). Diese, hauptsächlich transmembranären-, Rezeptoren interagieren mit verschiedenen Transkriptionsfaktoren innerhalb der Zelle und führen letztendlich zu einer Ausschüttung inflammatorischer Zytokine, woraufhin das adaptierte Immunsystem aktiviert wird ([Beutler et al., 2004],[Akira et al., 2008]). So konnte bereits eine Korrelation zwischen einer erhöhten Inzidenz von Aspergillosen und Polymorphismen im TLR4-Gen bei hämatologischen Stammzellspendern dargestellt werden [Bochud et al., 2008]. In einigen Fällen ist vor der Phagozytose des Pilzes noch eine Opsonierung des Erregers mit Antikörpern und C3-Bruchstücken des Komplementsystems notwendig ([Kauffmann et al., 1989],[Lass-Flörl et al., 2013]). Innerhalb der Immunzellen findet dann eine Bekämpfung des Erregers mit Hilfe von reaktiven Sauerstoffmetaboliten, Defensinen und lysosomalen Enzymen statt. Das Myeloperoxidasesystem verstärkt dabei die Wirkung der Sauerstoffmetabolite,

indem es die Erreger durch Proteinchlorierung unter  $H_2O_2$ -Beteiligung abtötet. [Kaufmann et al., 1989] Die Antigen-präsentierenden Zellen wandern im Anschluss an die Internalisierung der Erreger in die regionären Lymphknoten und präsentieren sich der spezifischen Immunabwehr. Diese besteht bei Pilzinfektionen vorrangig aus T-Helferzellen des  $CD4^+$ -Phänotyps ( $T_H1$  Zellen). Jedoch sind neben diesen  $CD4^+$ -Helfer- und Regulatorzellen auch  $CD8^+$ -Zellen an der Infektabwehr beteiligt [Lass-Flörl et al., 2013]. Als protektiver Faktor bei der Bekämpfung von Mykosen gilt die Produktion von Interferon  $\gamma$  und Interleukin 12, wohingegen die IL 4- und IL 10-Bildung durch  $CD4^+$ - $T_H2$  Zellen eher mit einem Krankheitsprogress assoziiert ist ([Cenci et al., 1997],[Cenci et al., 1998]).

Das Zusammenspiel der genannten Zelllinien sowie von Antikörpern, Zytokinen und Interleukinen ist essentiell, um eine Infektion erfolgreich einzudämmen [Lass-Flörl et al., 2013]. Ist das Immunsystem in einem oder mehreren dieser Faktoren geschwächt, kann es zur lokalen Krankheitsmanifestation oder zur Dissemination des Pilzes in weitere Organe kommen. Auf Grund der beteiligten Zelltypen weisen besonders Patienten mit prolongierten Neutropenien, Monozytopenien und Lymphopenien ein erhöhtes Risiko auf, an einer opportunistischen Pilzinfektion zu erkranken ([Garcia-Vidal et al., 2008],[Marr et al., 2002a]). Hieraus wird deutlich, dass zum Beispiel bei einer durch Chemotherapie induzierten Granulozytopenie wesentliche Elemente der Abwehr von Pilzinfektionen fehlen.

## 1.2 Risikokollektiv für invasive Mykosen

Neben hämatologischen und onkologischen Patienten und Empfängern von soliden Organ- oder Stammzelltransplantationen sind auch Patienten, die an einer chronischen Lungenerkrankung leiden, Diabetiker, Patienten mit einer HIV-Infektion im Stadium AIDS, Verbrennungsoffer, Patienten nach großen oder rezidivierenden, abdominalen Operationen und Patienten, die sich auf einer Intensivstation befinden, potentiell gefährdet, an einer invasiven Mykose zu erkranken ([Lin et al., 2001],[Lortholary et al., 2011]). In einer Untersuchung von Lin et al. machten Malignome mit 44,2% den Hauptanteil der zugrunde liegenden Erkrankungen bei Patienten mit einer invasiven Aspergillose aus. Hierunter wiederum bildeten akute Leukämien und Lymphome den größten

Anteil [Lin et al., 2001]. Alle genannten Patientenkollektive weisen ein mehr oder weniger geschwächtes Immunsystem oder lokale Abwehrdefizite auf, welche dem Pilz eine Manifestation als Krankheit ermöglichen. Zusätzliche Faktoren, welche das Auftreten einer systemischen Hefepilzinfektion begünstigen, sind der lang andauernde Einsatz von Breitspektrumantibiotika, eine Eisenüberladung des Organismus, Hyperalimentation und prothetische Materialien wie Zentralvenenkatheter, Ports und Magensonden [Garcia-Vidal et al., 2008]. Daneben existieren jeweils Therapie- und Krankheitsabhängige Faktoren, die das Risiko einer invasiven Pilzinfektion weiter erhöhen.

### 1.3 Invasive Mykosen bei allogenen Stammzell-transplantierten Patienten

Die Neutropenie nach einer Konditionierungs-Chemotherapie bei Empfängern einer Stammzelltransplantation stellt eine Zeit stärkster Immunsuppression dar. Das Risiko, an einer opportunistischen Mykose zu erkranken, steigt mit der Dauer und Tiefe der Neutropenie und variiert nach allogener Stammzelltransplantation deutlich. So werden zunehmend insbesondere ältere Patienten mit einer nicht-myeloablativen Chemotherapie für die Transplantation konditioniert. Auch nach Ende der schweren Granulozytopenie persistiert bei Empfängern einer Stammzelltransplantation meist für mehrere Monate eine Immunsuppression. Hier ist unter anderem die Zahl und Funktion der Lymphozyten einschließlich der CD4<sup>+</sup>-T-Zellen supprimiert. Andere, häufige Komplikationen, wie eine Abstoßungsreaktion, können die Rekonstitution des Immunsystems und ebenso die Barrierefunktion der Haut und Schleimhaut beeinträchtigen. Daher gehören gerade Patienten, welche eine allogene Stammzelltransplantation erhalten, zum Hochrisiko-Kollektiv für invasive Pilzinfektionen ([Lin et al., 2001],[Pagano et al., 2006]). In der frühen Phase nach der Konditionierung stehen neben Pilzen vor allem Bakterien und Herpesviren im Vordergrund der Infektionsverursacher, in der zweiten Phase, bis 100 Tage nach der Transplantation, machen Cytomegalie Virus (CMV)-Reaktivierungen und weiterhin Pilzerkrankungen den Großteil der infektiösen Komplikationen aus [Maschmeyer et al., 2009]. Man unterscheidet bei Stammzelltransplantat-Empfängern allgemein zwischen frühen Infektionen, bis 40 Tage nach der Transplantation, und späten Infektionen, welche zwischen

Tag 40 und 100 nach der Übertragung auftreten. Systemische Mykosen können den Patienten allerdings selbst 100 Tage nach einer Stammzelltransplantation befallen. Dies wird dann als sehr späte Infektion bezeichnet. [Garcia-Vidal et al., 2008] Aktuell ist die Studienlage uneinheitlich bezüglich der Frage, wann sich Pilzinfektionen vorrangig manifestieren. In den letzten Jahrzehnten wurde wiederholt ein Wandel des Zeitintervalls nach Stammzelltransplantationen, in dem Pilzinfektionen bevorzugt auftreten, beschrieben. Verschiedene Zentren beobachteten einen Trend hin zu späten Infektionen, welche erst nach dem Transplantat-Anwachsen diagnostiziert werden. ([Marr et al., 2002a],[Garcia-Vidal et al., 2008]) Vor allem nicht-Aspergillus Schimmelpilzinfektionen, wie Fusariosen und Mukormykosen, haben die Tendenz, sich erst spät zu manifestieren [Garcia-Vidal et al., 2008]. Eine Ursache hierfür könnte die verbesserte Therapie der Grunderkrankung sein, welche ein längeres Überleben der Patienten und somit einen potentiell größeren Zeitraum, in dem die Patienten erkranken können, bedingt. Zusätzlich spielen weitere Faktoren, wie Veränderungen im Patientenkollektiv und eine gesteigerte supportive Therapie, eine Rolle bei dieser Entwicklung. [Marr et al., 2002a] Ebenso könnte hier die Erregerselektion durch eine mögliche, voraus gegangene antimykotische Therapie relevant sein. Dem gegenüber stehen jedoch einige neuere Studien, welche die ersten 40 Tage nach der Stammzellübertragung als wichtigsten Zeitraum für eine Pilzinfektion beschreiben [Girmenia et al., 2014]. Zu den Risikofaktoren einer frühen Infektion gehören Patienten- und Transplantations-spezifische Eigenschaften. Zu den späten Risikofaktoren zählen vor allem Komplikationen, welche durch die medikamentöse, immunsuppressive und antimikrobielle Therapie bedingt sind. ([Marr et al., 2002a],[Garcia-Vidal et al., 2008]) Weiterhin erhöhen bestimmte genetische Veränderungen in den Toll-like Rezeptoren von Empfänger und Spender, wie oben beschrieben, das Risiko einer invasiven Aspergillose ([Koldehoff et al., 2013],[Bochud et al., 2008]).

#### 1.4 Bevorzugte Infektionsorte systemischer Pilzinfektionen

Pilzsporen sind ubiquitär in der Umwelt anzutreffen, sodass der Mensch täglich beispielsweise Hunderte von Aspergillus-Konidien einatmet [Lass-Flörl et al., 2013]. Aus diesem Grund stellt der Respirationstrakt meist den ersten

Ansiedlungsort von humanpathogenen Pilzen dar ([Pfaffenbach et al., 1994],[Marr et al., 2002b],[Homei et al., 2013]). Lin et al. zeigten, dass annähernd 70% der invasiven Aspergillosen die Lunge betreffen [Lin et al., 2001]. Zusätzlich bilden Verletzungen von Haut und Schleimhaut, z.B. durch Verbrennungen, medizinische Eingriffe und Unfälle, Eintrittspforten für verschiedene humanpathogene Erreger [Müller et al., 2000]. Bei den Aspergillus-verursachten Erkrankungen kommen neben diffusen Lungenaffektionen auch lokalisierte Infektionen der Lunge (Aspergillom) und des oberen Respirationstrakts, Sinusitiden, Leber- und Milzinfektionen, Hautinfektionen und ZNS-Manifestationen als Erscheinungsformen vor. Ebenso werden in der Literatur durch *Aspergillus spp.* verursachte Osteomyelitiden beschrieben. [Gamaletsou et al., 2013] Am häufigsten sind jedoch, insbesondere bei Patienten mit hämatologischer Grunderkrankung, die diffusen Lungenentzündungen, welche rund 60% der Infektionen ausmachen, gefolgt von den lokalisierten Infektionen einschließlich des Aspergilloms mit 10,5%. Im Rest der Fälle stellen andere Organe, wie die Haut, die Nasennebenhöhlen oder die Trachea den primären Infektionsort dar. [Lin et al., 2001] Wird eine Infektion nicht rechtzeitig erkannt und behandelt, können sich die Erreger über die Blutbahn auch in primär nicht befallene Organe ausbreiten. Bei den sekundären Infektionsorten einer Schimmelpilzinfektion stand bei Pagano et al. das ZNS an erster Stelle. Aber auch untypische Infektionsorte, wie die Leber und die Nieren, spielten eine Rolle. [Pagano et al., 2001] Laut Marr et al. haben annähernd 9% der betroffenen Patienten eine disseminierte Aspergillose oder eine ZNS-Beteiligung [Marr et al., 2002]. Vor allem bei Empfängern einer Knochenmarktransplantation finden sich gehäuft disseminierte Verläufe der Infektionen [Lin et al., 2001].

## 1.5 Erregerspektrum invasiver Mykosen

Stetige Veränderungen in den Behandlungsstrategien vieler Grunderkrankungen und der steigende Einsatz von präventiven Antimykotika führten in den letzten Jahrzehnten dazu, dass sich die Epidemiologie und Ätiologie von invasiven Mykosen signifikant veränderte. Waren es in den 60er bis 80er Jahren noch Hefepilzinfektionen, hauptsächlich verursacht durch *Candida*-Spezies, welche den Großteil der invasiven Pilzinfektionen bei

immunsupprimierten Patienten ausmachten, stellen heute Schimmelpilze die Haupterreger der opportunistischen Mykosen dar. ([Koch et al., 2004],[Lass-Flörl et al., 2009],[Homei et al., 2013]) In einer italienischen Studie, in der von 1999 bis 2003 über 11.000 hämatologische Patienten auf eine mögliche Pilzinfektion untersucht wurden, hatten 2,9% der Patienten eine Schimmelpilzinfektion, wohingegen nur 1,6% eine Hefepilzinfektion aufwiesen [Pagano et al., 2006]. Für diesen Wandel wird vor allem die Einführung von Fluconazol Anfang der 90er Jahre verantwortlich gemacht. Das Wirkspektrum von Fluconazol liegt bei Hefepilzen. Dieses Azol wird weiterhin häufig zur Prophylaxe bei Risiko-Patienten eingesetzt. [Lass-Flörl et al., 2009] So beobachteten Ziakas et al. in ihrem Review eine geringere Rate an invasiven Candidosen bei Patienten, welche prophylaktisch mit Fluconazol behandelt wurden im Vergleich zu Patienten, welche ein Placebo erhielten [Ziakas et al., 2014]. Dies führt auch zu einer Veränderung der Speziesverteilung. So konnten Zirkel et al. zeigen, dass unter breiter Fluconazol-Prophylaxe der Anteil an *Candida albicans* als Ursache einer Candidämie bei hämatologischen und onkologischen Patienten auf 27% zurückgeht (Zirkel et al., 2012). In vielen Studien stellt *Candida albicans* jedoch weiterhin den häufigsten Erreger von Hefepilzinfektionen dar ([Des Champs-Bro et al., 2011],[Pagano et al., 2006]). Desweiteren werden auch Infektionen mit *Candida glabrata*, *Candida krusei* und *Candida kefyr* beobachtet [Des Champs-Bro et al., 2011]. Neofytos et al. beobachteten Non-albicans Arten sogar als Hauptanteil an Hefepilzinfektionen bei hämatologischen Stammzelltransplantat-Empfängern. *Candida glabrata* verursachte hier 43,5% der invasiven Candidosen [Neofytos et al., 2009]. Auch Kontoyannis et al. beschrieben *Candida glabrata* als Haupterreger von invasiven Hefepilzinfektionen nach hämatopoetischen Stammzelltransplantationen [Kontoyiannis et al., 2010]. Unter den Schimmelpilzen spielen heute Aspergillus-Spezies die größte Rolle ([Pagano et al., 2006],[Pfaffenbach et al., 1994]). In dem Zeitraum von 2000-2003 lag die Inzidenz invasiver Aspergillosen nach allogener Stammzelltransplantation in einer Studie aus Österreich bei 23% [Post et al., 2007]. In der italienischen Studie von Pagano et al. war *Aspergillus spp.* für 58% der invasiven Mykosen verantwortlich [Pagano et al., 2006]. In der Studie von Garcia-Vidal et al. verursachten Aspergillus-Spezies 88% der invasiven Schimmelpilzinfektionen [Garcia-Vidal et al., 2008].



Unter den Aspergillose ist *Aspergillus fumigatus* am häufigsten anzutreffen, wobei jedoch eine Zunahme von *Aspergillus flavus* als ursächlicher Erreger beobachtet wurde ([Pagano et al., 2006],[Lass-Flörl et al., 2009]). Des Champs-Bro et al. beschrieben 2005 in einem französischen Zentrum einen Anteil von 90% von *Aspergillus fumigatus* [Des Champs-Bro et al., 2011]. Zusätzlich kommen auch zunehmend seltene Schimmelpilzarten, wie Mukormyzetten und Fusarien, als Krankheitserreger in Betracht ([Pfaffenbach et al., 1994],[Pagano et al., 2006],[Garcia-Vidal et al., 2008],[Marr et al., 2002b]). So beschrieben Neofytos et al. in ihrer nordamerikanischen Multizenterstudie zwar einen Rückgang der Candida-Infektionen und eine stabile Inzidenz von invasiven Aspergillose zwischen 2005 und 2006, aber steigende Fallzahlen von Mukormykosen und weiteren Schimmelpilzinfektionen [Neofytos et al., 2009]. Zwischen 1998 und 2002 wurden in Seattle 163 Patienten mit einer invasiven Schimmelpilzinfektion nach einer allogenen Stammzelltransplantation identifiziert, wovon immerhin 4% eine Fusarieninfektion, 3% eine Mukormyzetteninfektion und jeweils 1% eine Acremonium- oder Scedosporium-Infektion aufwiesen [Garcia-Vidal et al., 2008].

## 1.6 Diagnostik invasiver Mykosen

Ein wesentliches Problem in der Behandlung invasiver Mykosen stellt ihre nicht hinreichend sensitive und spezifische Diagnostik dar. In vielen Fällen findet die Feststellung einer systemischen Pilzinfektionen gar nicht oder erst postmortem statt ([Koch et al., 2004],[Pagano et al., 2001]). Doch gerade eine frühzeitige und akkurate Diagnosestellung kann die Überlebenschancen dieser kritisch kranken Patienten deutlich verbessern [Perfect et al., 2013].

Das sicherste Verfahren zum Nachweis invasiver Pilzinfektionen ist die histopathologische und mikroskopische Analyse sowie die Kultur von sterilem Material aus dem erkrankten Organsystem. Hiermit ist es möglich, zwischen Schimmelpilzen, Hefepilzen und dimorphen Pilzen zu unterscheiden sowie bei kulturellem Nachweis den Erreger direkt zu identifizieren. [Perfect et al., 2013] Jedoch ist die Gewinnung des Materials bei den meist immunsupprimierten Patienten oftmals nicht möglich. Ein reduzierter Allgemeinzustand, ein erhöhtes Blutungsrisiko bei Thrombopenie nach Chemotherapie und die Gefahr einer pulmonalen Dekompensation bei Lungenbiopsien verbieten häufig die invasive

Prozedur. Zudem dauert das Ergebnis der Kultur meist zu lange für eine schnelle Diagnostik. [Wheat et al., 2006]

Die Antigen-Detektion zum Nachweis einer Pilzinfektion wird bei invasiven Aspergillosen, Kryptokokkosen, Histoplasmosen, Blastomykosen, Penicillinosen und Parakoccidoidomykosen als sinnvoll bewertet [Wheat et al., 2006]. Im Rahmen der Routinediagnostik von Aspergillosen findet der Antigennachweis von Galactomannan mit einem Enzym-linked Immunoassay (Platelia Aspergillus EIA) häufig Anwendung und wird in Leitlinien empfohlen [Heinz et al., 2008]. Ein Index von 0,5 hat sich als bester Cut off-Wert herausgestellt [Perfect et al., 2013]. Die Zellwandkomponente Galactomannan kann sowohl im Vollblut und Serum, als auch in anderen Medien, wie der Bronchioalveolären Lavage-Flüssigkeit und im Liquor, nachgewiesen werden. Dabei ist das Testverfahren in der BAL sensitiver [Perfect et al., 2013]. Der Antigennachweis der Zellwandkomponente 1-3  $\beta$ -D Glucan ist bei fast allen humanpathogenen Pilzen (außer Mucor und Kryptokokkus) möglich. Das Verfahren wird bevorzugt zum Nachweis einer invasiven Candidiasis verwendet. In dem Review von Perfect et al. ergab sich eine gepoolte Sensitivität der 1-3  $\beta$ -D Glucan-Bestimmung von 72%, die gepoolte Spezifität lag bei 85%. [Perfect et al., 2013] Kryptokokkosen können zudem über ein Kapsel-Polysaccharid nachgewiesen werden [Wheat et al., 2006].

Ein neueres, molekularbiologisches Verfahren zur Detektion von Pilzen als Krankheitserreger ist die Polymerasekettenreaktion (PCR) im Blut oder der BAL. Die Sensitivität des Verfahrens lag bei einem Review von 2006 zwischen 45% und 92%, die Spezifität lag bei 72% bis 100% [Wheat et al., 2006]. Allerdings ist die Durchführung der PCR sehr Kosten- und Zeit-aufwändig und zusätzlich sehr anfällig für Kontaminationen. ([Wheat et al., 2006],[Perfect et al., 2013]) Zudem existieren viele unterschiedliche, nicht kommerzielle, lokale „In house“-Verfahren, welche nicht direkt miteinander vergleichbar sind [Perfect et al., 2013]. Aus diesen Gründen ist die PCR bisher noch nicht routinemäßig etabliert und wird nur bei Hochrisiko-Patienten mit moderater Stärke empfohlen. Serologische Verfahren zum Antikörpernachweis haben bei der Diagnostik von Infektionen bei neutropenischen Patienten keine Bedeutung, da die Antikörper meist erst mit einer erheblichen zeitlichen Verzögerung nachzuweisen sind oder die Produktion auf Grund der Immunsuppression komplett ausfällt. Sie können

jedoch eventuell bei Koccidoidomykosen und Histoplasmosen angewendet werden. [Wheat et al., 2006]

Bei der Candidämie ist die Blutkultur der Goldstandard in der Diagnostik [Perfect et al., 2013].

Das wichtigste radiologische Verfahren zum Nachweis von pulmonalen Mykosen ist die thorakale, hochauflösende Computertomografie (High Resolution= HR CT). Neben nodulären Herden, welche die häufigsten pulmonalen Veränderungen bei invasiven Schimmelpilzinfektionen darstellen, können noduläre Infiltrate mit Halo-Zeichen, Luftsicheln in scharf begrenzten Läsionen und Kavitäten einen spezifischeren Hinweis auf eine invasive Aspergillose liefern [Greene et al., 2007]. Allgemein ist die radiologische Diagnostik jedoch wenig spezifisch, da beispielsweise noduläre thorakale Herde vielfältige Ursachen haben können [Wheat et al., 2007]. Als Frühzeichen einer pulmonalen Mykose sind vor allem Makroherde mit Halo zu werten. Ein Halo oder eine spätere Höhlenbildung (cavity) ist als prognostisch gutes Zeichen zu betrachten, statistisch zeigt sich hier ein verbessertes Überleben der Patienten [Perfect et al., 2013]. Durch eine Rekonstitution des Immunsystems und einen Anstieg der Granulozyten ist es möglich, dass die beschriebenen Veränderungen am Anfang einer Therapie noch progredient erscheinen, was nicht mit einem Progress der Erkrankung verwechselt werden darf. Diese Erscheinung sollte unter einer bestehenden, wirksamen antimykotischen Therapie wieder rückläufig sein. [Hof et al., 2010] Bei dem Verdacht auf seltenere, extrapulmonale Pilzmanifestationen kommen Verfahren wie die Magnetresonanztomografie, die Computertomografie und die Sonografie zum Einsatz [Hof et al., 2010].

Fieber ist bei neutropenischen Patienten häufig das einzige klinische Zeichen und muss bis zum Beweis des Gegenteils als infektiös verursacht angesehen werden. Das neutropene Fieber stellt ein eigenes Krankheitsbild dar und wird meist über eine einmalige Körpertemperatur von mindestens 38,3°C oder zweimalig über 38,0°C, die unabhängig von anderen Ursachen auftritt und eine Neutrophilenzahl von unter 500/ $\mu$ l beziehungsweise unter 1000/ $\mu$ l, mit einem erwarteten weiteren Abfall, definiert [Müller et al., 2000]. In einer Studie von Pagano et al. war Fieber das häufigste klinische Symptom bei einer Schimmelpilzinfektion, wobei die durchschnittliche Temperatur bei 38,4°C lag

[Pagano et al., 2001]. Daher sollte bei Auftreten eines persistierenden neutropenen Fiebers (>72 Stunden) umgehend eine Diagnostik auf invasive Pilzinfektionen veranlasst werden [Hof et al., 2010].

## 1.7 Definition invasiver Mykosen nach den EORTC-MSG Kriterien

Viele Studien zur Inzidenz invasiver Mykosen sind nicht vergleichbar, weil es lange an einheitlichen Richtlinien zur Definition systemischer Pilzinfektionen fehlte. Um Einheitlichkeit in den Studien zur Therapie von Mykosen zu erreichen und eine ausreichende Sicherheit in der Diagnostik zu gewährleisten, entwickelten die European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) und die amerikanische Mycoses Study Group (MSG) im Jahr 2002 standardisierte Richtlinien zur Klassifikation der Erkrankung. Diese ursprüngliche Einteilung in mögliche (*possible*), wahrscheinliche (*probable*) und gesicherte (*proven*) invasive Pilzinfektionen hatte jedoch einige Mängel. Die erste Kategorie beinhaltete beispielsweise zu viele fragliche Fälle. Zusätzlich führten Verbesserungen in der Diagnostik und Veränderungen der Epidemiologie invasiver Mykosen zur Notwendigkeit einer weiteren Überarbeitung der Richtlinien. Aus diesem Grund wurden von 2003 bis 2005 die Kriterien invasiver Pilzinfektionen erneut betrachtet. Die 2008 veröffentlichte, überarbeitete Definition invasiver Mykosen behielt die Einteilung in die drei ursprünglichen Kategorien bei, änderte aber deren Kriterien. Im Gegensatz zu der Kategorie *possible*, welche nun auf die Fälle beschränkt wurde, die eine höhere Wahrscheinlichkeit hatten, auch erkrankt zu sein, wurden die Kategorien *probable* und *proven* auf Grund der diagnostischen Fortschritte ausgeweitet. Vor allem die Weiterentwicklung indirekter Testverfahren, wie die Detektion von Galactomannan und  $\beta$ -D Glucan, leistete hier ihren Beitrag. Der Nachweis von Nukleinsäure (PCR-Untersuchung) wurde nicht in die revidierten Kriterien aufgenommen, da hierfür eine standardisierte und klinisch validierte Methode fehlte.

Um eine invasive Pilzinfektion zu sichern und so als *proven* einstufen zu können, benötigt man die mikroskopische, kulturelle oder serologische Identifikation des Pilzes aus normalerweise sterilem Material (siehe Tabelle 1-1). Ist eines der in Tabelle 1-1 aufgeführten Kriterien erfüllt, lässt sich der Fall als gesichert klassifizieren, unabhängig von klinischen oder Patienten-

spezifischen Faktoren. Eine wahrscheinliche (*probable*) invasive Pilzinfektion ist durch das Vorhandensein von mindestens einem Patienten-spezifischen Kriterium, einem klinischen Kriterium und einem mykologischen Kriterium definiert. Die zugehörigen Merkmale sind in Tabelle 1-2 aufgelistet. Treffen auf einen Fall zwar ein Patienten-spezifisches Merkmal und ein klinisches Kennzeichen zu, das mykologische Kriterium fehlt jedoch, so wird er als mögliche (*possible*) invasive Pilzinfektion eingestuft. Alle Patienten, welche keinerlei Hinweis auf eine invasive Pilzinfektion liefern, werden anhand der EORTC-MSG Kriterien als *indeterminate* (unklassifiziert) eingeteilt. Invasive Pilzinfektionen, welche durch *Pneumocystis jirovecii* verursacht sind, werden nicht über die genannten Kriterien erfasst. [De Pauw et al., 2008] Da die Kriterien für die Diagnostik invasiver Mykosen jetzt deutlich strenger sind, liegen auch die Fallzahlen in Studien von vor 2008 deutlich höher. So mussten in einer retrospektiven, englischen Studie mit 589 Hochrisiko-Patienten 81% der vorher als *possible* und 75% der vorher als *probable* eingestuften Patienten nach Anwendung der neuen Kriterien in „nicht-klassifizierbar“ zurückgestuft werden [Tsitsikas et al., 2012].

**Tabelle 1-1: EORTC-MSG Kriterien einer gesicherten invasiven Pilzinfektion (ausgenommen endemische Mykosen), [De Pauw et al., 2008]**

Testverfahren: Untersuchungsmaterial	Schimmelpilz	Hefepilz
Mikroskopische Analyse: Steriles Material	Histopathologische, zytopathologische oder direkte, mikroskopische Untersuchung von Material, das durch Nadel-Aspiration oder Biopsie gewonnen wurde: Hyphen oder melanisierte Schimmel-ähnliche Formen + assoziierter Gewebe Schaden	Histopathologische, zytopathologische oder direkte mikroskopische Untersuchung von Material, das durch Nadel-Aspiration oder Biopsie aus normalerweise sterilen Orten gewonnen wurde (außer Schleimhaut): Hefepilz-Zellen (z.B. Kryptokokkus: bekapselte, knospende Hefe, Candida & Trichosporidien: Pseudohyphen oder echte Hyphen)

Kultur: Steriles Material	Schimmelpilz- oder „Schwarze-Hefe“-Kultur von einer steril gewonnenen Probe aus einem normalerweise sterilen Ort, der klinische oder radiologische Anomalitäten zeigt,  im Kontext eines infektiösen Krankheitsprozesses (außer BAL-Flüssigkeit, Urin, Nasennebenhöhlen-Probe)	Hefepilz-Kultur von einer steril gewonnenen Probe (inklusive einer max. 24h liegenden Drainage) aus einem normalerweise sterilen Ort, der klinische oder radiologische Anomalitäten zeigt,  im Kontext eines infektiösen Krankheitsprozesses
Kultur: Blut	Blutkultur, die einen Schimmelpilz ergibt (z.B. Fusarien) im Kontext eines infektiösen Krankheitsprozesses (Aspergillen stellen hier eine Kontamination dar)	Blutkultur, die einen Hefepilz (z.B. Kryptokokkus, Candida etc.) oder Hefe-artige Pilze (z.B. Trichosporidien) ergibt
Serologische Analyse: Sterile Flüssigkeiten	Nicht geeignet	Kryptokokkus-Antigen in sterilen Flüssigkeiten indiziert eine disseminierte Kryptokokkose

**Tabelle 1-2: EORTC-MSG Kriterien einer wahrscheinlichen invasiven Pilzinfektion (ausgenommen endemische Mykosen), [De Pauw et al., 2008]**

<b>Patienten-spezifische Kriterien</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Voraus gegangene Neutropeniephase (<math>&lt;0,5 \times 10^9</math> Neutrophile/l) von über 10 Tagen Dauer, mit dem Auftreten der invasiven Mykose in zeitlichem Zusammenhang stehend</li> <li>• Empfang einer allogenen Stammzelltransplantation</li> <li>• Mind. 21 Tage Behandlung mit Kortikosteroiden mit <math>\geq 0,3</math> mg/kg KG/ Tag Prednisolon-Äquivalenten (ausgenommen allergische bronchopulmonale Aspergillosen)</li> <li>• Behandlung mit anderen, zugelassenen T-Zell Supressoren in den letzten 90 Tagen (z.B. Ciclosporin A, TNF-<math>\alpha</math> Blocker, spezifische monoklonale Antikörper wie Alemtuzumab, Nukleosid-Analoga)</li> <li>• Angeborene, schwere Immundefekte (z.B. chronische Granulomatose, schwere kombinierte Immundefekte)</li> </ul>
<b>Klinische Kriterien (diese müssen vereinbar sein mit den mykologischen Kriterien und zeitlich mit der aktuellen Krankheits-Episode in Zusammenhang stehen)</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Pilzinfektion des unteren respiratorischen Trakts</i> (vorher Ausschluss alternativer Ätiologien) Eines der folgenden Zeichen im thorakalen CT: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dichter, scharf begrenzter Rundherd +/- Halo-Zeichen</li> <li>- Luft-Sichel</li> <li>- Hohlraum</li> </ul> </li> <li>• <i>Tracheobronchitis</i> Eines der folgenden Zeichen in der Bronchoskopie: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tracheobronchiale Ulzerationen</li> <li>- Knötchen</li> <li>- Pseudomembranen</li> <li>- Plaques</li> <li>- Schorf</li> </ul> </li> </ul>

<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Sinunasale Infektion</i> Sinusitis in der Bildgebung +mind. eines der folgenden, klinischen Zeichen: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Akuter, lokalisierter Schmerz (+ Schmerz, der zum Auge ausstrahlt)</li> <li>- Nasale Ulzerationen mit schwarzem Schorf</li> <li>- Ausweitung vom paranasalen Sinus auf den Knochen (inklusive zur Orbita)</li> </ul> </li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>ZNS Infektion</i> Eines der folgenden Zeichen: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Fokale Läsionen in der Bildgebung</li> <li>- Meningeales Enhancement im MRT oder CT</li> </ul> </li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Disseminierte Candidiasis</i> (septische Symptome indizieren eine akute Erkrankung, ihr Fehlen spricht eher für eine chronische Infektion) Mind. eines der folgenden Zeichen nach einer Candidämie-Episode in den letzten zwei Wochen: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Kleine, Schießscheiben-artige Abszesse (Bull's eye lesions in Leber oder Milz)</li> <li>- Progressive retinale Exsudationen in der ophthalmologischen Untersuchung</li> </ul> </li> </ul>
<b>Mykologische Kriterien</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Direkte Testverfahren</i> (Zytologie, Mikroskopie, Kultur) Schimmelpilze im Sputum, in der BAL, an der bronchialen Bürste oder im Sinus-Aspirat, erkennbar an einem der folgenden Zeichen: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Vorhandensein von Pilzelementen</li> <li>- Gewinnung von Schimmelpilzen in der Kultur</li> </ul> </li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Indirekte Testverfahren</i> (Nachweis von Antigen oder Zellwand-Bestandteilen), primär anwendbar auf Aspergillosen und Candidosen <i>Aspergillosen</i>: Galactomannan-Antigen im Plasma, im Serum, in der BAL oder in sterilen Flüssigkeiten <i>Invasive Pilzinfektionen außer Kryptokokkosen und Mukormykosen</i>: <math>\beta</math>-D Glucan im Serum</li> </ul>

## 1.8 Prävention und Therapie systemischer Mykosen

Man unterscheidet zwischen 4 verschiedenen Klassen von Antimykotika, die zur Prävention und Therapie systemischer Pilzinfektionen eingesetzt werden können. Die Polyene bilden die erste Gruppe und wirken über eine Porenbildung in der Membran der Pilzzelle fungizid [Lüllmann et al., 2010]. Amphotericin B Deoxycholat stellt unter den Polyenen den ältesten Vertreter dar und war das erste wirksame Medikament, welches gegen *Aspergillus spp.* eingesetzt wurde [Homei et al., 2013]. Das Antimykotikum hat ein breites Wirkspektrum und muss zur systemischen Therapie intravenös verabreicht werden. Es erfasst unter anderem Infektionen mit *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus*-Arten und *Candida*-Stämmen. Dosis-limitierend wirken sich allerdings die Nephrotoxizität, die Gefahr einer Hypokaliämie und die geringe Tolerabilität des Wirkstoffs aus. Vor allem bei Patienten, die eine Stammzelltransplantation durchlaufen, muss auf eine Interaktion mit weiteren nephrotoxischen, immunsuppressiven Medikamenten geachtet werden.

Amphotericin B sollte mittlerweile ausschließlich in einer Lipidformulierung verabreicht werden, wodurch eine geringere Nephrotoxizität und auch weniger Infusions-bedingte Nebenwirkungen zu verzeichnen sind. Aus diesem Grund und weil inzwischen weitere, besser verträgliche und mindestens ebenso effektive Alternativen zur Verfügung stehen, wird der Einsatz der ursprünglichen Substanz nicht mehr empfohlen. [Böhme et al., 2009] Die zweite Wirkstoffklasse gegen systemische Pilzinfektionen stellen die Azole dar, welche über eine Hemmung der Ergosterol-Synthese fungistatisch wirken. Als Vertreter sind hier unter anderem Fluconazol, Itraconazol, Posaconazol und Voriconazol zu nennen. Fluconazol ist von den Genannten als Einziges nicht gegen *Aspergillus spp.* wirksam. Die nächste zugelassene Gruppe bilden die Echinocandine. Sie wirken wie die Polyene fungizid, indem sie die Synthese des Zellwandbausteins 1-3  $\beta$ -D Glucan hemmen. Caspofungin, Micafungin und Anidulafungin sind hier die zugelassenen Vertreter. Die Antimetabolit-Vorstufe Flucytosin als vierter Vertreter der systemisch wirksamen Antimykotika spielt nur noch eine untergeordnete Rolle und wird vor allem als Kombinationspartner in der Therapie der Kryptokokkose eingesetzt. [Lüllmann et al., 2010]

Die Behandlung oder Vermeidung einer Pilzinfektion kann mit unterschiedlichen Strategien erfolgen. Der Zeitpunkt der Einleitung der Medikation in Abhängigkeit des Risikos und eines Infektionshinweises stellt hierbei den wesentlichen Unterschied zwischen den Indikationen dar.

Die verschiedenen Strategien zur Prävention und Therapie invasiver Mykosen umfassen die Prophylaxe, die empirische Therapie, die präemptive Therapie und zuletzt die gezielte Behandlung einer gesicherten Infektion. Eine Pilzprophylaxe wird bei Hochrisiko-Patienten ohne Hinweis auf eine invasive Pilzinfektion verabreicht. Zu unterscheiden ist hier die Prophylaxe mit Fluconazol, welche bei vielen Indikationen eingesetzt wird, aber nicht *Aspergillus* erfasst, von einer *Aspergillus*-aktiven Prophylaxe. Letztere wird vor allem mit Posaconazol durchgeführt. Durch den Einsatz von Posaconazol konnte die Rate an invasiven Pilzinfektionen unter Hochrisiko-Patienten signifikant gesenkt werden ([Cornely et al., 2007],[Peterson et al., 2013]). Zu dem Patientenkollektiv, bei welchem eine *Aspergillus*-aktive Pilzprophylaxe empfohlen wird, zählen unter anderem Patienten mit einer Abstoßungsreaktion nach allogener Stammzelltransplantation und Patienten, die in Folge einer



Remissions-induzierenden Chemotherapie bei AML eine schwere Neutropenie durchlaufen.

In der empirischen Therapie wird bei Patienten in Neutropenie (Granulozyten  $<500/\mu\text{l}$ ), welche trotz adäquater, antibiotischer Therapie persistierend Fieber über mindestens 72 bis 96 Stunden haben oder rezidivierend fiebern, zusätzlich eine Aspergillus-aktive, antimykotische Therapie eingeleitet, um eine mögliche, invasive Mykose abzudecken.

Die präemptive Therapie wird bei Patienten angewandt, bei denen erste diagnostische Kriterien für eine systemische Pilzinfektion vorliegen und die eine frühe, invasive Mykose haben könnten. Hinweise hierfür ergeben sich zum Beispiel aus radiologischen Veränderungen, mikrobiologischen Ergebnissen oder beidem. Im Gegensatz dazu ist die Therapie etablierter Mykosen auf diejenigen Patienten beschränkt, welche die Kriterien der EORTC-MSG für wahrscheinliche oder gesicherte Pilzinfektionen erfüllen.

Im Jahr 2014 veröffentlichte die deutsche *Arbeitsgemeinschaft Infektionen in der Hämatologie und Onkologie* (AGIHO) die aktualisierten Empfehlungen der antimykotischen Therapie von Krebspatienten [Mousset et al., 2014]. Bei jeder gesicherten Pilzinfektion sollte mit einer intravenösen Therapie begonnen werden, da so der erforderliche Wirkspiegel schneller und sicherer erreicht werden kann. In der Therapie der invasiven Aspergillose stellt Voriconazol die primäre Empfehlung dar. Es bietet eine bessere Ansprechrate, ein längeres Überleben und weniger Nebenwirkungen als das konventionelle Amphotericin B. Dieses war bis 2002 das am häufigsten verwendete Antimykotikum. Zudem ist Voriconazol Liquor-gängig und hat eine gute Aktivität gegen *Aspergillus terreus* [Lass-Flörl et al., 2005]. Als nächste, primäre Therapieoption wird liposomales Amphotericin B bei invasiven Aspergillosen empfohlen. In einer Metaanalyse aus dem Jahr 2014 wurde Caspofungin dem liposomalen Amphotericin B gleichgesetzt. Es bietet weniger Nebenwirkungen bei gleicher Effektivität im Vergleich zu den anderen Antimykotika und kommt daher ebenso als therapeutische Option in Frage. [Zhang et al., 2014] In der sekundären Therapie der invasiven Aspergillose kommen liposomaler Amphotericin B-Komplex, Posaconazol oder Caspofungin zur Anwendung. Wurde ein anderes Antimykotikum als Voriconazol in der Erstlinientherapie angewandt, kommt auch dieses Medikament als Salvage-Therapie in Frage. Posaconazol bietet

den Vorteil, dass es ebenso gut gegen Mukormyzeten wirkt, welche häufig primär nicht von einer Aspergillus-Infektion unterschieden werden können. Allerdings stand zum Zeitpunkt dieser Untersuchung nur eine orale Lösung zur Verfügung. Eine Tablette mit verbesserter Resorption und eine intravenöse Formulierung wurden 2014 zugelassen. Generell hat der Beginn einer Salvage-Therapie zwei verschiedene Ursachen. Einerseits wechselt man auf ein anderes Antimykotikum, wenn die Erstlinien-Therapie auf Grund von Nebenwirkungen nicht ausreichend vertragen wird. Zum anderen tauscht man das Medikament, wenn die Pilzinfektion trotz scheinbar adäquater Therapie progredient ist. Allerdings empfiehlt die AGIHO in diesem Fall, mindestens 14 Tage am Stück bei dem zuerst verabreichten Medikament zu bleiben, erst dann kann eine verlässliche Aussage bezüglich des Progresses der Erkrankung getroffen werden. Bei kritisch kranken Patienten sowie refraktären Infektionen kann entsprechend der Leitlinie der AGIHO auch eine Kombinationstherapie aus zwei verschiedenen Wirkstoffklassen erfolgen. [Mousset et al., 2014] Neben den genannten, medikamentösen Therapieoptionen kommen individuell abgestimmt auch chirurgische Verfahren, immunregulatorische Strategien und Granulozyten-Infusionen in Betracht. Die medikamentöse Therapiedauer sollte sich über 6 bis 12 Wochen erstrecken, wobei mindestens die Zeitspanne der Neutropenie und das Sistieren der klinischen Symptome abgewartet werden sollte. [Mousset et al., 2014]

In der Therapie der invasiven Candidose kommen vorrangig Echinocandine und liposomales Amphotericin B in Frage. Bei nicht neutropenen Patienten kann zusätzlich noch Voriconazol und Fluconazol, sofern es noch nicht vorher prophylaktisch eingesetzt wurde, erwogen werden. [Mousset et al., 2014]

Die Wahl des geeigneten Antimykotikums sollte immer das antimykotische Wirkspektrum, den möglichen Verabreichungsweg, Interaktionen zwischen den Medikamenten, die klinische Effektivität und die lokale Epidemiologie am Standort miteinbeziehen.

**Tabelle 1-3: Empfehlungsgrade der Therapie sowie Evidenzgrade, auf denen die Empfehlungen beruhen [Böhme et al., 2009]**

Empfehlungsgrad	
A	Starke Beweise liegen vor, die Therapie zu empfehlen
B	Moderate Beweise liegen vor, die Therapie zu empfehlen
C	Schwache Beweise liegen vor, die Therapie zu empfehlen
D	Moderate Beweise liegen vor, von der Therapie abzuraten
E	Starke Beweise liegen vor, von der Therapie abzuraten
Evidenzgrad	
I	Beweis stammt von mindestens einer randomisierten, kontrollierten Studie
II	Beweis stammt von mindestens einer gut durchdachten, klinischen Studie ohne Randomisierung, einer Kohorten- oder Fall-Kontroll Studie (bevorzugt aus mehr als einem Zentrum), verschiedenen Zeitreihen oder von hervorstechenden Ergebnissen unkontrollierter Studien
III	Beweis basiert auf der Meinung respektierter Autoritäten, gestützt auf klinischen Erfahrungen, beschreibenden Studien oder dem Gutachten von Experten-Komitees

**Tabelle 1-4: AGIHO Leitlinienempfehlung zur Therapie von invasiven Aspergillosen bei hämatologischen und onkologischen Patienten zum Zeitpunkt der Studie [Böhme et al., 2009]**

Wirkstoff	Empfehlungsgrad	Kommentar
<b>Primäre Therapie der invasiven, pulmonalen Aspergillose (IPA)</b>		
Voriconazol	A I	Zur oralen Einnahme wechseln, wenn klinisch gerechtfertigt
Lip. Amphotericin B	A II A I: bei 3mg/kg	
Amphotericin B	E I	
<b>Sekundäre Therapie der invasiven, pulmonalen Aspergillose</b>		
Generell immer zu einer anderen Substanzklasse wechseln		
Caspofungin	A II	
Posaconazol	A II	
Amphotericin B Lipidkomplex	B II	
Itraconazol	B III	Nur anwenden, wenn kein anderes Medikament toleriert wird
Micafungin	C III	
<b>Therapie der Aspergillus-Sinusitis</b>		
Siehe IPA	B III	
Chirurgische Intervention		Strenge Indikation

Therapie der Aspergillus ZNS-Infektion		
Voriconazol	AII	Siehe IPA
Lip. Amphotericin B		Hochdosis, mindestens 5mg/kg KG
Chirurgische Intervention		Falls technisch durchführbar

**Tabelle 1-5: AGIHO Leitlinienempfehlungen zur Therapie von invasiven Candidosen bei hämatologischen und onkologischen Patienten zum Zeitpunkt der Studie [Böhme et al., 2009]**

Wirkstoff	Empfehlungsgrad	Kommentar
<b>Primäre Therapie der Candidämie</b>		
Echinocandine	AI	Vor allem bei nicht-neutropenen Patienten validiert
Lip. Amphotericin B	AI	
Voriconazol	AI	Vor allem bei nicht-neutropenen Patienten validiert
Fluconazol	AI	Falls der Patient stabil, Fluconazol-sensibel und nicht-neutropen ist und vorher keine Fluconazol-Therapie erhalten hat
Itraconazol	CIII	
Posaconazol	CIII	
Amphotericin B	EI	
<b>Sekundäre Therapie der Candidämie</b>		
Lip. Amphotericin B	AII	
Amphotericin B Lipidkomplex	AII	
Voriconazol	BIII	
Echinocandine	BIII	
<b>Therapie der hepatolienalen Candidiasis</b>		
Fluconazol	BIII	Siehe Primäre Therapie der Candidämie
Lip. Amphotericin B	BIII	Bei neutropenen oder instabilen Patienten
Amphotericin B Lipidkomplex	BIII	
Echinocandine	BIII	
Voriconazol	CIII	

## 2 Motivation und Zielsetzung

Im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit sollte die Rate an möglichen, wahrscheinlichen und sicheren (*possible, probable, proven*) invasiven Pilzinfektionen entsprechend den EORTC-MSG Kriterien von 2008 bei hämatologischen Hochrisiko-Patienten am Universitätsklinikum Würzburg untersucht werden. Als Hochrisiko-Kollektiv galten hierbei Patienten, die auf Grund einer hämatologischen Grunderkrankung eine allogene Stammzelltransplantation am Universitätsklinikum erhielten. In dem Patientenkollektiv wurde eine Neutropeniephase von mindestens 7 Tagen Dauer erwartet. Der Behandlungserfolg einer möglichen, antimykotischen Therapie sollte anhand der Indexpatienten untersucht und die Überlebensrate der erkrankten und nicht erkrankten Fälle verglichen werden. Ein weiteres Ziel war es, die prädisponierenden Faktoren für die Entwicklung einer systemischen Mykose zu identifizieren. Auf Grund dieser Daten könnte es in Zukunft möglich sein, die Population von Patienten zu identifizieren, die am meisten von einer gezielten, präventiven antimykotischen Strategie profitieren würde. Risiko-Patienten könnten enghmaschiger überwacht werden und so das Zeitfenster zwischen dem biologischen Start einer invasiven Pilzinfektion und dem Auftreten erster klinischer Zeichen besser erkannt und dementsprechend therapeutisch eingegriffen werden. Hierdurch soll die Infektionsrate dieser schwerwiegenden Erkrankung reduziert und die Wahrscheinlichkeit, zu überleben, für die Patienten deutlich verbessert werden.

## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Patientenkollektiv, Umfang und Dauer der Untersuchung**

Vom 06. Juni 2012 bis einschließlich 04. Dezember 2012 wurden prospektiv alle Patienten, die auf Grund einer geplanten allogenen Stammzelltransplantation stationär in der Medizinischen Klinik und Poliklinik II der Bayerischen Julius-Maximilians Universität aufgenommen wurden, auf ihre Studientauglichkeit, entsprechend der folgenden, vordefinierten Ein- und Ausschlusskriterien, geprüft und gegebenenfalls aufgeklärt. In die Studie konnten alle Patienten eingeschlossen werden, für die eine Konditionierungs-Chemotherapie vor einer Stammzelltransplantation am Universitätsklinikum Würzburg geplant war. Bei den Studienteilnehmern wurde eine neutropenische Phase ( $<500$  neutrophile Granulozyten/ $\mu\text{l}$ ) von mindestens 7 Tagen Dauer erwartet. Mit dem ersten Tag der Chemotherapie begann der aktive Beobachtungszeitraum, welcher sich im Rahmen der Doktorarbeit primär über 100 Tage erstreckte. In dieser Zeit wurden wichtige Risikofaktoren, relevante Untersuchungsergebnisse und der klinische Verlauf der Patienten dokumentiert. Ein halbes Jahr nach der Konditionierung fand eine Nachbeobachtung aller eingeschlossenen Patienten statt, im Zuge derer das Outcome der Studienteilnehmer in Bezug auf eine mögliche invasive Pilzinfektion überprüft wurde. Dementsprechend endete die Datenerhebung der letzten Patienten genau ein halbes Jahr nach dem letzten Einschluss, am 04. Juni 2013.

Die Patientenrekrutierung war ursprünglich für 12 Wochen angesetzt. Da die optimale Patientenzahl jedoch nicht in diesem Zeitrahmen erreicht werden konnte, wurde die Einschlusszeit, wie oben beschrieben, auf 26 Wochen ausgeweitet.

### **3.2 Europäischer Rahmen der epidemiologischen Studie - PIMDA**

Die vorliegende Arbeit entstand im Rahmen der prospektiven, europäischen, multizentrischen, klinischen Studie PIMDA (Prospective Invasive Mould Disease Audit). In die PIMDA-Studie konnten zusätzlich zu dem oben erwähnten Patientenkollektiv alle Personen eingeschlossen werden, welche ihre erste Dosis Induktions-Chemotherapie auf Grund einer akuten myeloischen

Leukämie (AML) oder eines Myelodysplastischen Syndroms (MDS) zwischen dem 06. Juni 2012 und 04. Dezember 2012 erhielten. Bei PIMDA handelte es sich um eine nicht-interventionelle, epidemiologische Studie. Um die Inzidenz von invasiven Mykosen bei mindestens 1000 Patienten zu untersuchen, wurden Krankenhäuser mit hämatologischen Stationen und/ oder Stammzelltransplantations-Zentren in ganz Europa zur Teilnahme eingeladen. Insgesamt waren 43 Zentren aus 17 europäischen Ländern an der Studie beteiligt, unter anderem Österreich, Frankreich, Belgien, Kroatien und Deutschland. Das Bayerische Universitätsklinikum Würzburg stellte dabei einen von 5 deutschen Studienorten dar. So konnten bis zum Ende der Einschlusszeit über 1200 Patienten für die Studie rekrutiert werden. PIMDA wurde durch die ECMM (European Confederation of Medical Mycology) geleitet.

Die Datenerfassung erfolgte, jeweils mit Zentrum-spezifischen Zugangsdaten, internetbasiert über [www.pimda.eu](http://www.pimda.eu). Jeder neu registrierte Patient bekam automatisch ein PIMDA-eigenes Pseudonym zugeteilt.

### 3.3 Patientenrekrutierung

Alle Patienten mit geplanter allogener SZT wurden in Würzburg über die zentrale Stelle zur Koordination und Planung der Stammzelltransplantation identifiziert. Nach Prüfung der Ein- und Ausschlusskriterien erfolgte direkt nach der stationären Aufnahme die Aufklärung der Patienten.

#### 3.3.1 *Patientenaufklärung*

In Würzburg mussten entsprechend den Empfehlungen der Ethikkommission alle Patienten, deren Daten für die Studie aufgenommen und ausgewertet werden sollten, vorab aufgeklärt werden. Jeder in Frage kommende Patient wurde über Wesen und Tragweite der Untersuchung unterrichtet und bekam eine Patientenaufklärung zur persönlichen Verwahrung überreicht (siehe Anhang A). Dies geschah entweder vor der geplanten Chemotherapie oder innerhalb der ersten Tage nach dem Start der Konditionierung. Alle Patienten, die sich für eine Teilnahme an der Studie entschieden, mussten ihre Zustimmung durch eine Unterschrift auf dem Einverständnisbogen erklären. Dieser wurde ihnen ebenfalls als Kopie ausgehändigt. Die Teilnahme an der

Studie war freiwillig und jeder Patient konnte ohne Angabe von Gründen seine Zustimmung verweigern oder diese im Verlauf wieder zurückziehen.

### 3.3.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Da die vorliegende Untersuchung in eine Mutterstudie eingebettet war, wurden die Einschlusskriterien in Anlehnung an PIMDA definiert. Diese waren im Einzelnen:

#### Einschlusskriterien:

- Stationäre Patienten und Patientinnen von mindestens 18 Jahren
- Patienten oder Patientinnen mit einer geplanten Konditionierungs-Chemotherapie vor einer allogenen Stammzelltransplantation
- Voraussichtliche Dauer der Neutropenie (< 500 Granulozyten/ $\mu$ l) von mindestens 7 Tagen
- Schriftlich informierte Einverständniserklärung

#### Ausschlusskriterien:

- Patienten und Patientinnen unter 18 Jahren
- Patienten und Patientinnen mit einer hämatologischen oder onkologischen Grunderkrankung ohne spezifische Therapie
- Patienten und Patientinnen mit einer geplanten autologen Stammzelltransplantation

### 3.4 Studienziele

Diese Studie hatte es sich zum Ziel gesetzt, die Inzidenz von invasiven Pilzinfektionen bei hämatologischen Risiko-Patienten nach allogener Stammzelltransplantation zu ermitteln. Risikofaktoren für das Auftreten einer Pilzinfektion sollten herausgearbeitet werden. Als sekundäres Studienziel galt es, den klinischen Behandlungserfolg entsprechend der verschiedenen Kategorien von Pilzinfektionen (*possible, probable, proven*) in Abhängigkeit von der antimykotischen Therapie zu determinieren. Eine zusätzliche Zielsetzung



war es, die Realisierbarkeit einer diagnostisch geleiteten Vorgehensweise bei invasiven Mykosen zu prüfen.

## 3.5 Datenerfassung

### 3.5.1 *Datenerfassung des Studienkollektivs*

Bei jedem Patienten wurden ab Einschluss in die Studie relevante Informationen aus der Krankenakte erhoben, dabei waren unter anderem Alter, Geschlecht, Körpergröße und Körpergewicht des Patienten von Bedeutung. Die genaue Diagnose der Patienten einschließlich des Datums der Erstdiagnose, des Stadiums der Erkrankung und möglicher vorausgegangener Transplantationen und relevanter Vorerkrankungen, wie hereditäre Immundefekte, Malignome, Diabetes mellitus und Lungenerkrankungen, wurde erfasst. Der HCT-CI Score (Hematopoietic cell transplantation comorbidity index), welcher ein Ausdruck für das allgemeine Transplantationsrisiko und die Überlebenswahrscheinlichkeit der Patienten nach allogener SZT ist und unter anderem Vorerkrankungen an Herz, Lunge, Leber und Nieren berücksichtigt [Mohamed et al., 2005], wurde entsprechend der Komorbiditäten berechnet. Im Zuge des Aufklärungsgesprächs wurden alle Patienten befragt, ob und wie viele Zigaretten sie rauchten, um später einen Rückschluss über den möglichen Einfluss des Nikotinkonsums auf die Inzidenz von Pilzinfektionen ziehen zu können. Außerdem wurde der CMV-Serostatus von allen Empfängern und Spendern festgehalten.

Im Verlauf des 100tägigen Beobachtungszeitraums wurden alle wesentlichen Daten, welche die Konditionierung und die Transplantation betrafen, erfasst. Während des folgenden, vierteljährigen Zeitraums wurde mindestens einmal wöchentlich der klinische Verlauf jedes Patienten samt Fieberkurve und pulmonalen Symptomen registriert. Alle in dieser Zeit verabreichten antimykotischen, antibiotischen und immunsuppressiven Medikamente wurden dokumentiert. Ebenso in wöchentlichen Abständen fand eine Überprüfung von allen virologischen und mikrobiologischen Befunden, samt Galactomannan-Bestimmungen, Aspergillus PCR-Untersuchungen und allen CT-Thorax Untersuchungen statt. Bei den CT-Thorax Untersuchungen, der PCR-Untersuchung und der GM-Erhebung wurde jeweils das Datum der Erhebung und der entsprechende Befund notiert. Alle primär als pilztypisch eingestuft

CT-Bilder wurden im weiteren Verlauf noch einmal von einem fachärztlichen Betreuer überprüft und diese Einschätzung dokumentiert. Ausschlaggebend bei der abschließenden Einstufung der CT's war die Beurteilung des ärztlichen Betreuers Priv.-Doz. Dr. med. W. Heinz. Zusätzlich wurde aus der elektronischen Patientenakte die Dauer der Neutropenie mit weniger als 500 Granulozyten/ $\mu$ l und weniger als 100 Granulozyten/ $\mu$ l notiert. Am Ende der 100 Tage wurden die stationäre Verweildauer der Patienten sowie die Länge ihrer Intensivstations-Aufenthalte erfasst. Außerdem wurde beurteilt, ob die Patienten eine akute Abstoßungsreaktion (Graft versus Host disease= GvHd) entwickelt hatten und ob eine CMV-Reaktivierung stattgefunden hatte. Auch mögliche virale und bakterielle Infektionen wurden festgehalten. Mit Hilfe der gesammelten Daten wurde nach 100 Tagen erstmals eine Auswertung vorgenommen, um die Rate an möglichen, wahrscheinlichen und gesicherten Pilzinfektionen im frühen und späten Zeitraum nach der Stammzelltransplantation zu determinieren.

Ein halbes Jahr nach Beginn der Konditionierungs-Chemotherapie wurde eine Nachbeobachtung des Patientenkollektivs durchgeführt. Dabei wurde initial mit Hilfe der elektronischen Patientenakten überprüft, ob die Patienten noch lebten. Möglicherweise neu gestartete beziehungsweise veränderte antimykotische Therapien sowie der Verlauf der vorbestehenden Pilzinfektionen wurden erfasst. Retrospektiv wurden alle CT- und Galactomannan-Untersuchungen dieses Zeitraums gesichtet und bewertet. Desweiteren wurde ebenfalls anhand der elektronischen Patientenakte kontrolliert, ob die Patienten an einer chronischen GvHd erkrankt waren. Mit Hilfe dieser Daten wurde eine abschließende Bewertung der Studienteilnehmer vorgenommen, mit dem Ziel, auch sehr späte Pilzinfektionen (>100 Tage nach Transplantation) zu erkennen.

Die Untersuchung und die Datendokumentation endeten bei Erreichen einer der folgenden Endpunkte:

- Tod des Patienten
- 6 Monate nach dem Start der Konditionierung

### 3.5.2 Registrierung der Patientendaten

Alle während der Einschlusszeit erhobenen Patientendaten wurden in einer Excel-Tabelle abgespeichert. Hierfür hatte jeder Patient ein Pseudonym erhalten, welches unabhängig von dem PIMDA-Pseudonym war. Die Zuordnung wurde lediglich auf einer handschriftlichen, separaten Liste vermerkt. Dieses Vorgehen wurde mit dem Datenschutzbeauftragten des Klinikums abgestimmt.

### 3.5.3 Diagnosestellung der Pilzinfektionen

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurde die Diagnosestellung einer invasiven Mykose anhand des EORTC-MSG Protokolls von 2008 durchgeführt. Für die Einstufung als gesicherte invasive Mykose benötigte es die mikroskopische, kulturelle oder serologische Identifikation des Pilzes aus normalerweise sterilem Material. Waren sowohl das klinische und mykologische (aus nicht sterilem Material), als auch das Patienten-spezifische Kriterium (host factor) vorhanden, wurden die Patienten als *probable* eingestuft. Positive Testergebnisse im CT-Thorax (klinisches Zeichen) wurden nur dann als gültig gewertet, wenn sie in zeitlichem Zusammenhang (maximal zwei Wochen Zeitunterschied) mit den restlichen Kriterien standen. Positive Galactomannan-Ergebnisse wurden in Absprache mit dem fachärztlichen Betreuer als beständige Variable angesehen. Waren sie einmal im Verlauf positiv, erfüllte der Patient für immer das mykologische Kriterium. Fehlte nur die mykologische Evidenz, klinisches Zeichen und host factor waren aber vorhanden, wurde der Studienteilnehmer als *possible* bewertet. Als Datum der Erstdiagnose einer systemischen Mykose wurde der Tag gewertet, an dem innerhalb des Beobachtungszeitraums zum ersten Mal alle Kriterien zeitgleich erfüllt waren.

Da Fusarien normalerweise nicht als Kommensalen auf dem menschlichen Körper vorkommen und eine Verunreinigung damit nahezu ausgeschlossen ist, wurde das Vorhandensein von *Fusarium spp.* in unsterilem Material (z.B. Trachealsekret) in Absprache mit dem fachärztlichen Betreuer als wahrscheinliche Fusariose gewertet.

### 3.6 Literatursuche

Die Literatursuche für die vorliegende Dissertation wurde über die Internetdatenbanken MEDLINE, PubMed Version ([www.pubmed.com](http://www.pubmed.com)) und Google Scholar durchgeführt. Sowohl englisch- als auch deutschsprachige Literatur aus dem Zeitraum von 1989 bis 2014 wurde bei der Analyse berücksichtigt. Es fand vor allem eine Stichwortsuche mit besonderem Augenmerk auf der Kombination von „*Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*“ und „*invasive fungal disease*“ oder „*mycosis*“ beziehungsweise „*aspergillosis*“ mit den Schlagwörtern „*incidence*“, „*risk-factors*“ sowie „*mortality*“ statt.

### 3.7 Statistische Auswertung

Die statistische Analyse der erhobenen Daten wurde mit Hilfe der Programme Microsoft Excel 2008 und PASW Statistics 18 durchgeführt.

Das Signifikanzniveau wurde vorab standardmäßig auf  $\alpha=0,05$  festgelegt. Bei einem p-Wert kleiner  $\alpha$  konnte somit die Alternativhypothese angenommen werden.

#### 3.7.1 Definitionen

Sensitivität:	Anzahl richtig als krank erkannter Personen/ Anzahl aller kranken Patienten
Spezifität:	Anzahl richtig als gesund erkannter Personen/ Anzahl aller gesunden Personen
Positiv prädiktiver Wert:	Anzahl richtig positiver Ergebnisse/ (Anzahl richtig positiver Ergebnisse + Anzahl falsch positiver Ergebnisse)
Negativ prädiktiver Wert:	Anzahl richtig negativer Ergebnisse/ (Anzahl richtig negativer Ergebnisse + Anzahl falsch negativer Ergebnisse)

95%iges Konfidenzintervall:      Angegeben wird ein unterer Wert und ein oberer Wert, mit 95% Wahrscheinlichkeit liegt der wahre Populationswert zwischen diesen beiden Werten

### 3.7.2 *Statistische Testverfahren*

Um intervallskalierte Variablen auf ihre Normalverteilung zu testen, wurde der Shapiro-Wilk Test angewandt. Bei einem p-Wert im Shapiro-Wilk Test von kleiner 0,05 wurden die Daten als nicht normalverteilt gewertet.

Zum Vergleich von Mittelwerten in verschiedenen Populationen des Studienkollektivs und zur Berechnung der Signifikanz der Unterschiede wurde vorrangig der T-Test für unabhängige Stichproben eingesetzt. Um dieses Testverfahren anwenden zu können, musste in beiden Gruppen eine Normalverteilung und eine Varianzhomogenität der Variable bestehen [Psychologie Freiburg, 2009]. Waren die Variablen nicht nach Gauß verteilt, wurde zum Vergleich von Mittelwerten der Mann-Whitney-U Test verwandt.

Um die Korrelation zwischen kategorialen Variablen zu berechnen, wurde abhängig vom Stichprobenumfang entweder der Chi-Quadrat Test oder der Exakte Test nach Fischer angewandt. Da für den Chi-Quadrat Test in der Kreuztabelle maximal 20% der Zellen eine erwartete Häufigkeit unter 5 haben dürfen, wurde bei kleinem Stichprobenumfang vorwiegend auf den Exakten Test nach Fischer zurückgegriffen.

Zusätzlich wurde zur weiteren Validierung der Risikofaktoren für invasive Mykosen eine binär logistische Regressionsanalyse durchgeführt. Dabei wurde unter Einschluss aller interessanten Variablen eine multivariate Betrachtung der prädisponierenden Faktoren umgesetzt. Die eingeschlossenen Variablen sind der Tabelle 3.1 zu entnehmen. Die Regressionsanalyse diente dem Ausschluss von Störgrößen, welche bei der linearen (univariaten) Untersuchung der Abhängigkeit zweier Variablen möglicherweise aufgetreten waren. Es wurde eine Vorwärts-Regression mit schrittweiser Hinzuziehung der einzelnen Faktoren, in Abhängigkeit von ihrer Signifikanz in der univariaten Untersuchung, durchgeführt.

Für die Darstellung der Überlebenswahrscheinlichkeit im gesamten Patientenkollektiv sowie in Untergruppen wurden Kaplan-Meier

Überlebenskurven erstellt. Mit dem Log-Rank Test konnte dann berechnet werden, ob es signifikante Unterschiede zwischen den Schätzwerten der mittleren Überlebensdauer in den einzelnen Untergruppen gab.

**Tabelle 3-1: Eingeschlossene Variablen in der Regressionsanalyse**

Kategoriale Variablen	Stetige Variablen
Geschlecht	Alter
Grunderkrankung (AML/Andere)	BMI
CMV-Reaktivierung (ja/nein)	HCT-CI Score
CMV-Status	Anzahl der verschiedenen Antibiotika
Respiratorische Virusinfektionen (ja/nein)	Anzahl der verschiedenen $\beta$ -Lactam Antibiotika
Bakterielle Infektionen des Respirationstrakts (ja/nein)	Neutropeniedauer mit $<500$ Neutrophilen/ $\mu$ l in Tagen
Persistierendes neutropenes Fieber (ja/nein)	Neutropeniedauer mit $<100$ Neutrophilen/ $\mu$ l in Tagen
Akute Abstoßungsreaktion (ja/nein)	Fiebertage am Stück
Chronische Abstoßungsreaktion (ja/nein)	Glukokortikoide i.a.D. in Tagen
Verwendung von Fludarabin während der Konditionierung (ja/nein)	Anzahl neutropener Tage gesamt
HLA-Status (verwandt/unverwandt)	
HLA-Status (matched/missmatched)	
$>10$ neutropene Tage am Stück (ja/nein)	
Zweites neutropenes Intervall (ja/nein)	
Glukokortikoide i.a.D. $>20$ Tage (ja/nein)	

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Rekrutierungserfolg

Der Studieneinschluss wurde vom 06.06.2012 bis einschließlich 04.12.2012 durchgeführt. Lediglich zwei Patienten, die im August 2012 ihre Konditionierungs-Chemotherapie vor einer Stammzelltransplantation erhielten, konnten nicht innerhalb eines adäquaten Zeitraums für die Studie aufgeklärt werden und entfielen somit automatisch. Die Aufklärung der Patienten erfolgte im Durchschnitt innerhalb von  $3,2 \pm 6,8$  Tagen nach der Hospitalisierung. In dem genannten Zeitraum wurde die Aufklärung über die Studie bei insgesamt 46 Patienten durchgeführt, wovon drei Personen die Studienteilnahme primär ablehnten. Von den verbliebenen 43 Patienten fielen zwei männliche Personen noch vor dem Start der Stammzelltransplantation aus dem Beobachtungskollektiv heraus. Sie verstarben noch vor beziehungsweise kurz nach der Konditionierung.

### 4.2 Patientenkollektiv

#### 4.2.1 Datenerfassung zu Beginn des Beobachtungszeitraums

Die Beobachtungsgruppe bestand aus 28 Männern (68,3%) und 13 Frauen (31,7%). Das mittlere Alter der Patienten bei Studieneinschluss betrug 54,4 Jahre ( $\pm 12,7$  Jahre). Der jüngste Patient war 20 Jahre, der älteste 72 Jahre alt. Die Verteilung der verschiedenen Altersgruppen im Studienkollektiv kann man Abbildung 4-1 entnehmen.

Bei den akuten myeloischen Leukämien (AML) handelte es sich um 7 primäre und drei sekundäre Erkrankungen. Bei den beiden akuten lymphatischen Leukämien handelte es sich um eine primäre und eine sekundäre Erkrankung. Die Non Hodgkin Lymphome setzten sich aus zwei diffus-großzelligen B-Zell Lymphomen (DLCL), zwei Mantelzelllymphomen und jeweils einer chronisch lymphatischen Leukämie (B-CLL) und einem folliculären Lymphom zusammen. Das Hodgkin-Lymphom entsprach einem nodulär sklerosierenden, klassischen Hodgkin-Lymphom. (siehe Abbildung 4-2)

Der Großteil der Studienteilnehmer befand sich zum Zeitpunkt der Konditionierung im Stadium der stable disease (SD= 29,3%). Die Verteilung der

Stadien der Grunderkrankungen zum Studienbeginn kann man Abbildung 4-3 entnehmen.

Bei Studieneinschluss bestand die zu Grunde liegende Erkrankung bei den Studienteilnehmern im Durchschnitt schon 20 Monate ( $\pm 26$  Monate). Den längsten Krankheitsverlauf von 130 Monaten hatte ein Patient mit einem NHL zu verzeichnen. Den kürzesten Krankheitsverlauf mit einer neu diagnostizierten Erkrankung vor einem Monat hatten zwei Patienten mit einer AML. Die allogene SZT wurde bei den Personen mit einer akuten Leukämie ( $\sim 5,3$  Monate) und einer aplastischen Anämie ( $\sim 5$  Monate) am frühesten nach der Diagnosestellung durchgeführt.

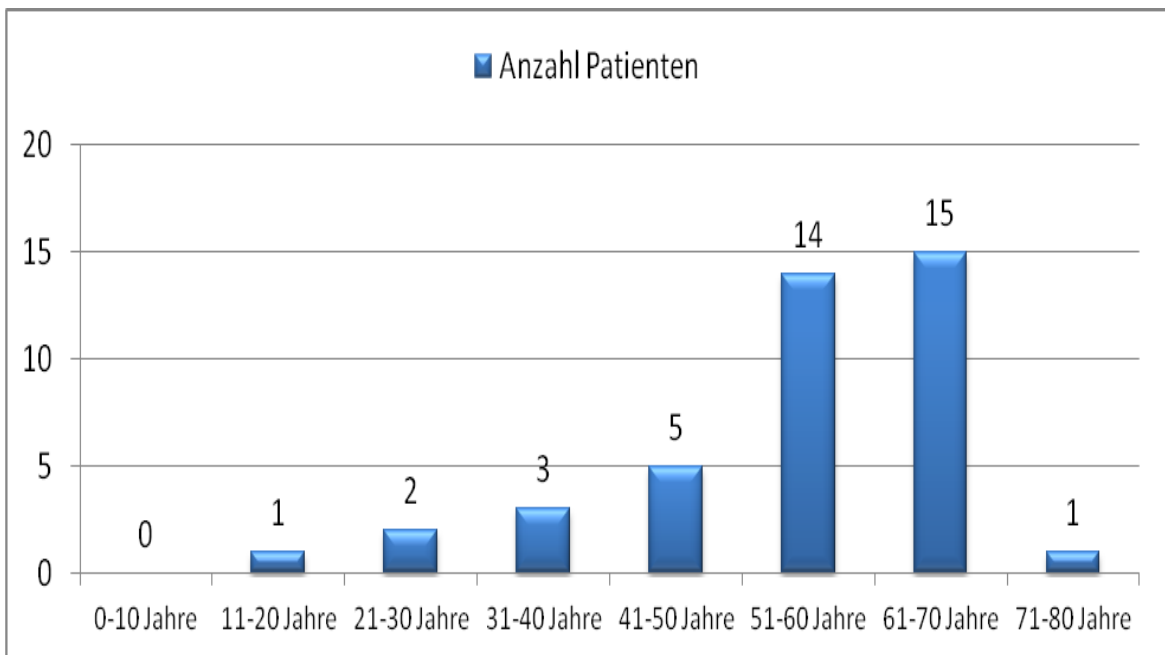
Das mittlere Gewicht der Patienten betrug zum Studienstart 76,6kg ( $\pm 11,7$ kg), der durchschnittliche BMI lag bei 25,3kg/m<sup>2</sup> ( $\pm 3,1$ kg/m<sup>2</sup>). Die weiblichen Studienteilnehmer waren mit einem mittleren BMI von 24,9kg/m<sup>2</sup> etwas schlanker als die Männer mit 25,5kg/m<sup>2</sup>.

Unter den Studienteilnehmern rauchten zum Zeitpunkt der Aufklärung 8 Patienten, 14 Personen berichteten von einem zurückliegenden Nikotinabusus. Von drei Patienten war diesbezüglich keine Information zu erhalten. Die restlichen Studienteilnehmer hatten nie geraucht. Die durchschnittliche Anzahl an Pack years (py) aller Studienteilnehmer, die eine Aussage zu ihrem Nikotinkonsum machten, betrug 11,1py`s. Der Patient mit dem höchsten Nikotinkonsum hatte 80py zu verzeichnen.

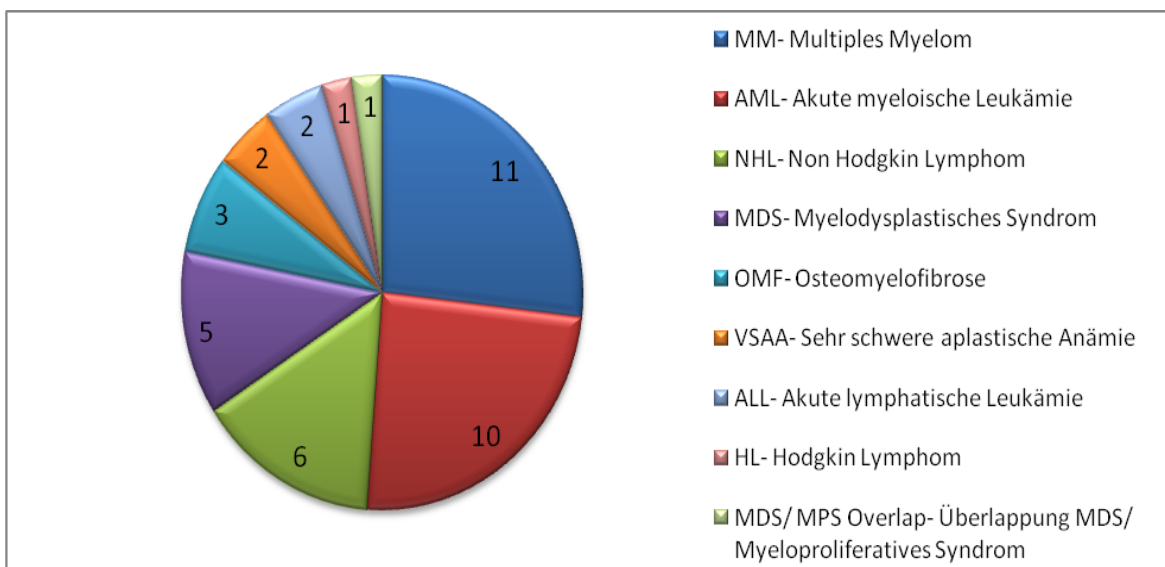
Der HCT-CI Score lag im gesamten Patientenkollektiv im Durchschnitt bei zwei Punkten ( $\pm 1,5$  Punkte). Der höchste Score war mit 6 Punkten, der niedrigste mit 0 Punkten erreicht.



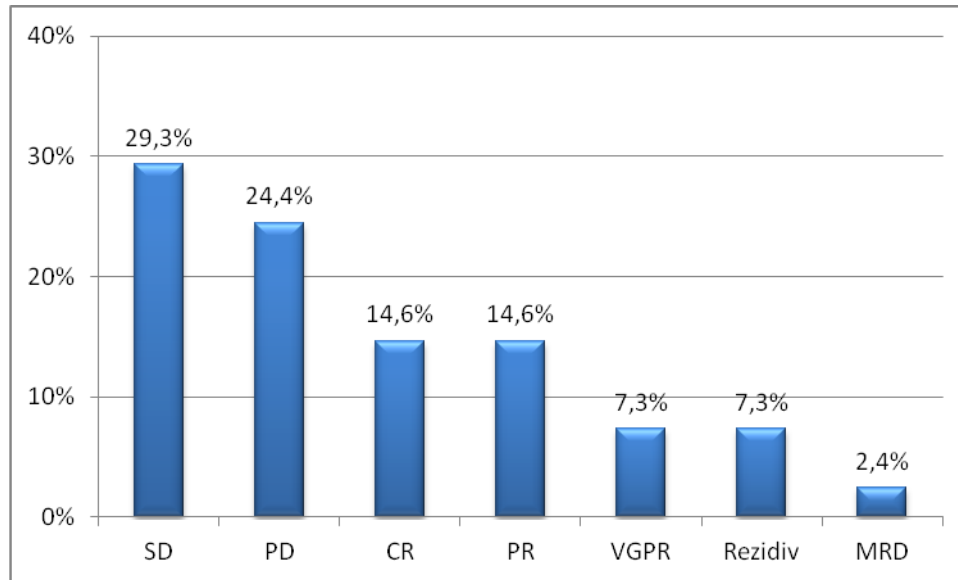
**Abbildung 4-1: Altersverteilung der Patienten bei Studieneinschluss**



**Abbildung 4-2: Häufigkeitsverteilung der Grunderkrankungen**



**Abbildung 4-3: Stadium der Grunderkrankung vor der Konditionierung entsprechend der erkrankungsbezogenen Klassifikation (SD: stable disease, PD: progressive disease, CR: complete resolution, PR: partial remission, VGPR: very good partial remission, MRD: minimal residual disease)**



#### 4.2.2 Vorausgegangene Chemotherapie bei AML

Vier Patienten mit einer neu diagnostizierten akuten myeloischen Leukämie erhielten im Beobachtungszeitraum vor der allogenen Stammzelltransplantation eine Induktions-Chemotherapie. Es handelte sich dabei jeweils um zwei Frauen und zwei Männer. Hierbei kamen bei allen 4 Patienten CytosinArabinosid und Daunorubicin zum Einsatz (DA-Schema). Bei einem Patienten wurde auf diesem Weg eine komplette Remission an Tag 15 nach der Chemotherapie erreicht. Die drei verbleibenden Patienten erhielten auf Grund einer Blastenpersistenz am Tag 15 eine Bridging-Therapie, woraufhin auch bei ihnen eine komplette Remission erzielt werden konnte.

#### 4.2.3 Daten zur Stammzelltransplantation

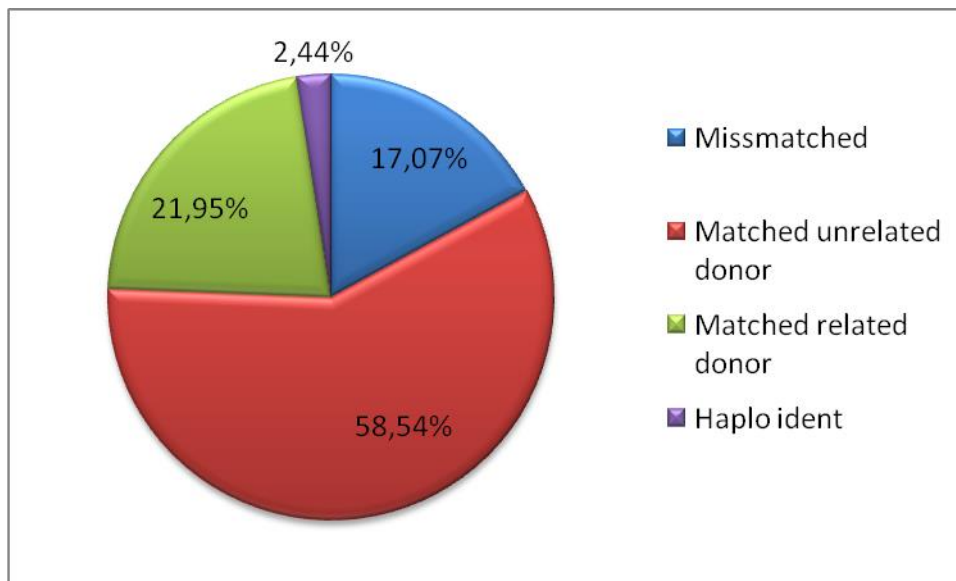
Einer der beiden Männer mit AML erhielt zusätzlich auf Grund eines sekundären Graft-Versagens eine zweite allogene Stammzelltransplantation während des Beobachtungszeitraums. Bei der Bewertung der Risikofaktoren für eine systemische Pilzinfektion ging dieser Patient jeweils mit den Daten der zweiten Transplantation ein.

Zwei Studienteilnehmer hatten bereits zu einem früheren Zeitpunkt eine allogene SZT erhalten. 14 Personen hatten bei Studieneinschluss schon mindestens eine autologe Stammzelltransplantation hinter sich.

Bei 39 Transplantationen wurde keine Manipulation am Stammzell-Transplantat vorgenommen. Bei zwei Stammzell-Transplantaten fand eine CD34<sup>+</sup>-Selektion vor der Übertragung der Zellen statt. Hierunter fiel auch ein Patient mit einer allo-allo Tandem-Transplantation, welcher nach der Transplantation mit CD34<sup>+</sup>-Selektion noch ein Transplantat ohne Selektion erhielt. In einem weiteren Fall fand vor der Übertragung eine Plasmaseparation statt. Lediglich bei einem Patienten wurde eine Konditionierung mit reduzierter Intensität durchgeführt (Reduced Intensity Conditioning= RIC). Alle anderen Patienten erhielten eine myeloablative Konditionierung. Das Stammzelltransplantat stammte in 38 Fällen (92,7%) aus dem peripheren Blut der Spender (PBSCT), nur zwei Patienten (4,8%) erhielten eine direkte Knochenmark-Spende (KM-SZT). Ein Patient erhielt zuerst eine periphere Blutstammzellspende und im weiteren Verlauf eine Knochenmarkspende.

Vierundzwanzig Patienten erhielten ihre Stammzellen von einem unverwandten, HLA-passenden Spender (MUD= Matched Unrelated Donor) und 9 Personen von einem verwandten, HLA-passenden Spender (MRD= Matched Related Donor). Sieben Patienten wurden HLA-verschieden zum Spender transplantiert (MM= Missmatched). Hierbei fanden sich jeweils 9 von 10 übereinstimmende HLA-Merkmale. Vier Patienten stimmten im A-Antigen nicht mit ihrem Spender überein, ein Patient im B-Antigen, einer im DQ-Antigen und einer im DR-Antigen. Einer dieser HLA-mismatched transplantierten Studienteilnehmer bekam eine weitere DRB1-MM durchgeführte Stammzelltransplantation (Tandem Transplantation). Ein weiterer Patient wurde haplo-identisch mit 7 von 10 übereinstimmenden Merkmalen transplantiert. Die Verteilung des HLA-Status unter den Studienteilnehmern zeigt Abbildung 4-4.

**Abbildung 4-4: HLA-Status vom Spender zum Empfänger**



#### *4.2.4 Konditionierungs-Protokolle*

Der Tabelle 4-1 sind die eingesetzten Konditionierungs-Protokolle in Abhängigkeit von der Grunderkrankung zu entnehmen. Da ein Patient mit einer akuten myeloischen Leukämie innerhalb des Beobachtungszeitraums eine zweite allogene Stammzelltransplantation erhielt, sind für diesen Patienten zwei verschiedene Protokolle vermerkt. Zu erwähnen ist außerdem, dass immerhin 81% der Patienten eine Chemotherapie erhielten, in welche Fludarabin integriert war. Von den verbleibenden 8 Therapieprotokollen ohne Fludarabin fand eines bei der zweiten Transplantation des erwähnten AML-Patienten seine Anwendung. Zusätzlich erhielten zwei AML-Patienten vor der eigentlichen Konditionierung eine Vortherapie mit Fludarabin, Cytarabin und Amsacrin. Dementsprechend verblieben nur 5 Personen, die nie mit dem Purin-Analogen therapiert wurden.

**Tabelle 4-1: Konditionierungs-Protokolle in Abhängigkeit von der Grunderkrankung**

<b>Protokoll</b>	<b>Zytostatika</b>	<b>Tägliche Dosis</b>	<b>Tage</b>	<b>Pat. Anzahl</b>
<b>Multiples Myelom</b>				
Individuell	Fludarabin Treosulfan ATG	30 mg/m <sup>2</sup> 14.000 mg/m <sup>2</sup> 20 mg/m <sup>2</sup> oder 10 mg/m <sup>2</sup>	-6, -5, -4 -6, -5, -4 -3, -2, -1 oder -5, -4, -3	8
Individuell	Fludarabin Melphalan ATG	30 mg/m <sup>2</sup> 75 mg/m <sup>2</sup> 20 mg/kg	-6, -5, -4, -3, -2 -3, -2 -5, -4, -3 oder -3, -2, -1	2
Bu/MEL	Busulfan Melphalan ATG	3,2 mg/kg 140 mg/m <sup>2</sup> 20 mg/kg	-5, -4, -3, -2 -2 -3, -2, -1	1
<b>Akute myeloische Leukämie</b>				
Individuell	Fludarabin Melphalan ATG	30 mg/m <sup>2</sup> 75 mg/m <sup>2</sup> 20 mg/kg	-6, -5, -4, -3, -2 -3, -2 -4, -3, -2	6
Cy/TBI	Cyclophosphamid  TBI ATG (in 2 Fällen: Vortherapie mit FLAMSA)	60 mg/kg oder 30 mg/m <sup>2</sup> oder 40 mg/kg 4 Gy 20 mg/kg	-4, -3 -2 -4, -3 -5 -5, -4, -3	3
Bridge-Studie	Clofarabin Melphalan	30 mg/m <sup>2</sup> 140 mg/m <sup>2</sup>	-6, -5, -4, -3 -2	1
Individuell	Fludarabin Melphalan Thiotepa ATG	30 mg/m <sup>2</sup> 60 mg/m <sup>2</sup> 10 mg/kg 20 mg/kg	-6, -5, -4 -2, -1 -7 -4, -3, -2, -1	1
<b>Myelodysplastisches Syndrom</b>				
Individuell	Fludarabin Melphalan ATG	30 mg/m <sup>2</sup> 75 mg/m <sup>2</sup> 20 mg/kg	-6, -5, -4, -3, -2 -3, -2 -4, -3, -2 oder -5, -4, -3	4
Cy/TBI	Cyclophosphamid TBI ATG	60 mg/kg 2 Gy 20 mg/kg	-6 2 mal an -1 -3, -2, -1	1
<b>Non Hodgkin Lymphom</b>				
Fluda/Bu/ ATG	Fludarabin Busulfan  ATG	30 mg/m <sup>2</sup> 0,8 mg/kg  20 mg/kg	-6, -5, -4, -3, -2 4 mal an -4 4 mal an -3 -4, -3, 2	4

Individuell	Fludarabin Treosulfan ATG	30 mg/m <sup>2</sup> 14.000 mg/m <sup>2</sup> 20 mg/m <sup>2</sup>	-6, -5, -4, -3, -2 -6, -5, -4 -4, -3, -2	1
Individuell	Fludarabin Melphalan ATG	30 mg/m <sup>2</sup> 75 mg/m <sup>2</sup> 20 mg/kg	-6, -5, -4, -3, -2 -3, -2 -4, -3, -2	1
<b>Sehr schwere aplastische Anämie</b>				
Cy/ATG	Cyclophosphamid ATG	50 mg/kg 20 mg/kg	-5, -4, -3, -2 -3, -2, -1	1
Cy/Fluda/ ATG	Cyclophosphamid Fludarabin ATG	300 mg/m <sup>2</sup> 30 mg/m <sup>2</sup> 20 mg/kg	-6, -5, -4, -3 -6, -5, -4, -3 -6, -5, -4, -3	1
<b>Osteomyelofibrose</b>				
Fluda/Bu/ ATG	Fludarabin  Busulfan ATG	30 mg/m <sup>2</sup>  0,8 mg/kg 10 mg/kg oder 20 mg/kg	-9, -8, -7, -6, -5, -4 -5, -4, -3 -5, -4, -3 oder -4, -3, -2	3
<b>Akute lymphatische Leukämie</b>				
Individuell	Fludarabin Melphalan ATG	30 mg/m <sup>2</sup> 75 mg/m <sup>2</sup> 20 mg/kg	-6, -5, -4, -3, -2 -3, -2 -3, -2, -1	1
Cy/TBI	Cyclophosphamid TBI  ATG	60 mg/kg 2 Gy  20 mg/kg	-3, -2 2 mal an -3, -2, -1 -3, -2, -1	1
<b>Hodgkin Lymphom</b>				
Individuell	Fludarabin Melphalan Thiotepa ATG	30 mg/m <sup>2</sup> 60 mg/m <sup>2</sup> 10 mg/kg 2,5 mg/kg	-8, -7, -6, -5, -4 -2, -1 -7 -6, -5, -4, -3	1
<b>MDS/MPS-Overlap Syndrom</b>				
Individuell	Fludarabin Melphalan ATG	30 mg/m <sup>2</sup> 75 mg/m <sup>2</sup> 20 mg/kg	-6, -5, -4, -3, -2 -3, -2 -4, -3, -2	1

### 4.3 Inzidenz invasiver Mykosen im Studienkollektiv

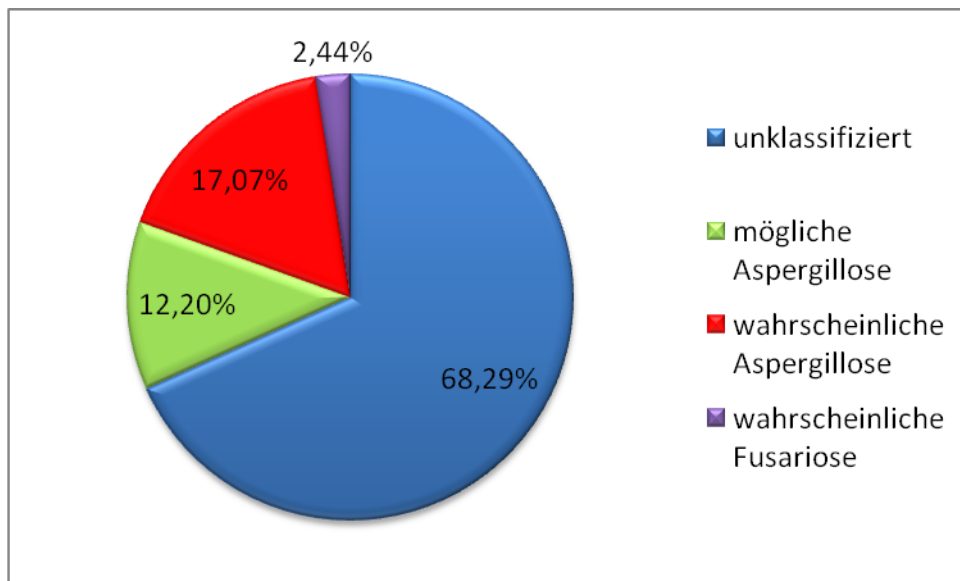
Einhundert Tage nach erfolgter Konditionierung wurde die erste Beurteilung aller Patienten entsprechend der EORTC-MSG Kriterien von 2008 in Bezug auf eine invasive Pilzinfektion vorgenommen. Es zeigte sich, dass 28 Studienteilnehmer (68,3%) keine Pilzinfektion entwickelt hatten und dementsprechend in die Kategorie unklassifiziert (*indeterminate*) eingeordnet werden konnten. Nach 100 Tagen waren 5 Patienten (12,2%) an einer möglichen (*possible*) und 7 Patienten (17,1%) an einer wahrscheinlichen

(*probable*) Aspergillose erkrankt. In einem Fall hatte der Patient schon in der Zeit vor der Transplantation positive Galactomannan-Werte und in zeitlichem Zusammenhang zur SZT ein positives CT-Thorax. Er konnte jedoch erst mit der Durchführung der allogenen Transplantation (host factor) als *probable* eingestuft werden. Eine weitere Patientin wurde schon 5 Tage vor der Konditionierung als *probable* eingestuft, auf Grund einer vorhergehenden Chemotherapie war sie schon über 10 Tage neutropen und erfüllte somit den host factor. Weiterhin hatten 4 der möglichen Infektionsfälle schon kurz vor der Transplantation ein positives klinisches Zeichen (CT-Thorax), allerdings konnten auch sie erst am Tag der Transplantation als *possible* klassifiziert werden. Zusätzlich zu den invasiven Aspergillosen wurde ein Fall mit einer wahrscheinlichen Fusariose beobachtet (siehe Abbildung 4-5). Andere invasive Mykosen wurden nicht diagnostiziert.

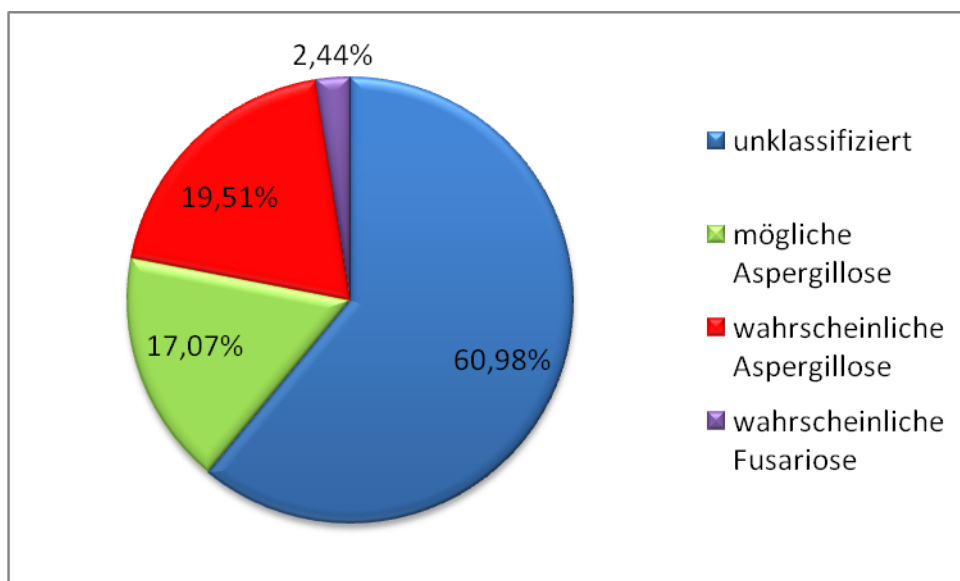
Die zweite Beurteilung des Studienkollektivs auf invasive Pilzinfektionen fand ein halbes Jahr nach dem Beginn der Konditionierung statt. Es waren in der Zwischenzeit zusätzlich zwei Patienten an einer möglichen und ein Patient an einer wahrscheinlichen invasiven Aspergillose erkrankt. Dementsprechend haben im halben Jahr nach SZT insgesamt 8 Personen eine wahrscheinliche und 7 Personen eine mögliche Aspergillose entwickelt. Weiterhin war ein Patient an einer wahrscheinlichen invasiven Fusariose erkrankt. 25 Studienteilnehmer haben bis zum Ende des Beobachtungszeitraums keine Anzeichen einer invasiven Mykose präsentiert. (siehe Abbildung 4-6)

Über den kompletten Studienverlauf betrachtet, machte der Schimmelpilz *Aspergillus spp.* 93,75% und der Schlauchpilz *Fusarium spp.* 6,25% der Krankheitserreger aus.

**Abbildung 4-5: Klassifikation invasiver Mykosen 100 Tage nach der Konditionierung**



**Abbildung 4-6: Klassifikation invasiver Mykosen 6 Monate nach der Konditionierung**



#### 4.3.1 Infektionszeitpunkt

Der Großteil der Patienten, der an einer wahrscheinlichen Aspergillose erkrankte, entwickelte innerhalb des ersten Monats vor beziehungsweise nach der allogenen Stammzelltransplantation die Pilzinfektion (Tag -11, 0, 14, 16, 17, 19, 30 und 109 nach SZT). Die pulmonale Fusariose wurde 70 Tage nach der Transplantation diagnostiziert. Nach dem ersten Monat lag die Wahrscheinlichkeit, eine *probable* Mykose (Aspergillose und Fusariose) zu entwickeln, bei 17,1% und stieg bis zum Ende des 6. Monats auf 22% an (siehe

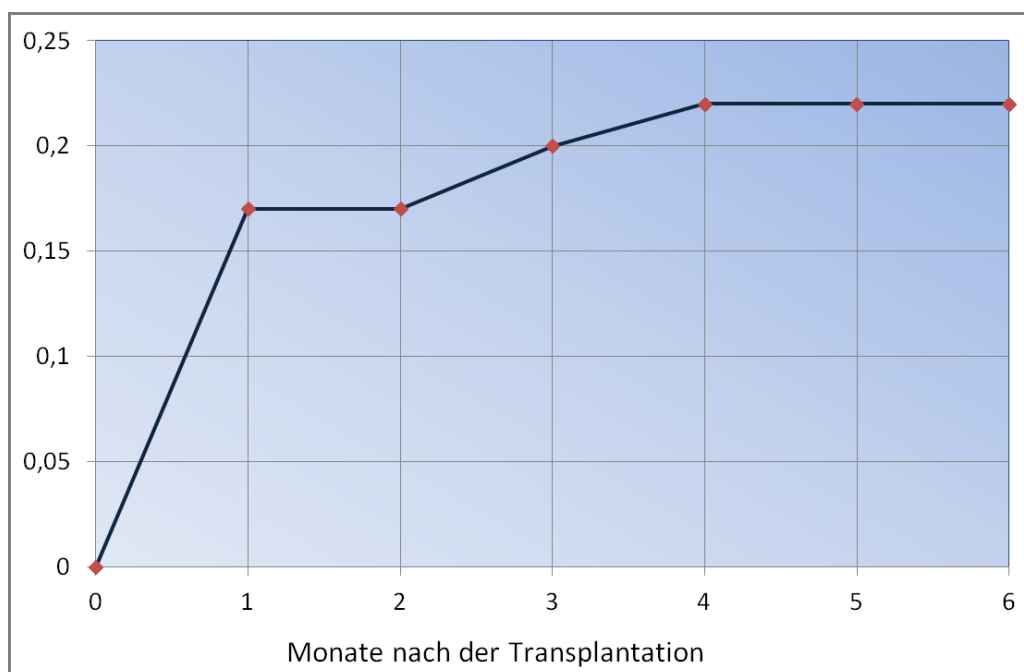


Abbildung 4-7). Die betroffenen Personen erkrankten im Mittel an Tag 29 ( $\pm 37$  Tage) nach der SZT an einer wahrscheinlichen invasiven Mykose. Dementsprechend traten 77,8% der wahrscheinlichen Infektionen früh (bis 40 Tage nach SZT), 11,1% spät (41-100 Tage nach SZT) und ebenfalls 11,1% sehr spät nach der Transplantation auf.

Bezieht man auch die Fälle mit einer möglichen Pilzinfektion mit ein, so lag der durchschnittliche Infektionszeitpunkt bei Tag 37 ( $\pm 49$  Tage) nach der Stammzelltransplantation (zusätzlich Tag 0, 0, 0, 0, 64, 112 und 155 nach SZT). Auch hier war eine klare Anhäufung der Infektionen im frühen Zeitraum nach der Transplantation zu beobachten.

Vier Patienten mit einer möglichen und ein Patient mit einer wahrscheinlichen Pilzinfektion erhielten am Tag der allogenen Transplantation (Tag 0) die entsprechende Klassifizierung, da schon vorher ein positives CT-Bild des Thorax vorlag, der host factor aber erst mit der Stammzellübertragung zustande kam.

**Abbildung 4-7: Wahrscheinliche invasive Mykosen in Abhängigkeit von der Zeit nach der Stammzelltransplantation**



#### 4.3.2 Infektionsort

Alle Patienten, die im Zuge dieser Arbeit als mögliche oder wahrscheinliche Fälle mit einer invasiven Mykose identifiziert wurden, waren an einer

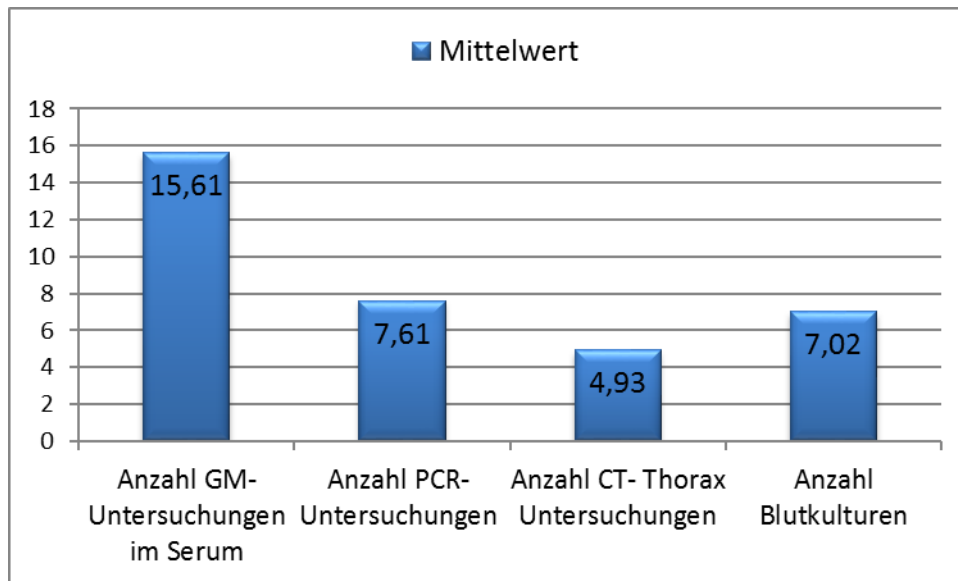
Pilzinfektion des Respirationstrakts erkrankt. Die Fälle, die als wahrscheinliche oder mögliche Aspergillosen klassifiziert wurden, hatten zusätzlich zu einem positiven Galactomannan-Befund im Serum mindestens ein pilztypisches Infiltrat der Lunge in der Computertomografie vorzuweisen und wurden dementsprechend als pulmonale Aspergillosen eingestuft. Bei einem weiteren Patienten konnte man im Trachealsekret *Fusarium*-Spezies nachweisen, dies war in Zusammenschau mit der Klinik und einem unspezifisch veränderten CT-Thorax Bild als pulmonale Fusariose zu werten.

Im Verlauf dieser Arbeit wurden keine Patienten identifiziert, welche einen primären Infektionsort außerhalb der Lunge aufwiesen. Auch weitete sich keine der pulmonalen Affektionen auf weitere Organsysteme aus.

#### 4.4 Untersuchungsmethoden

Um eine frühzeitige Diagnosesicherung einer invasiven Mykose zu erreichen, werden in der Medizinischen Klinik und Poliklinik II des Universitätsklinikums Würzburg routinemäßig mehrere Pilz-spezifische Untersuchungsmethoden bei stationären Patienten mit hohem Infektionsrisiko durchgeführt. Hierunter fallen unter anderem die zweimal wöchentliche Galactomannan-Bestimmung im Serum, frühzeitige thorakale CT-Untersuchungen und, im Rahmen von Studien, die PCR-Untersuchung des Patienten-Serums auf Aspergillus-DNA. Zusätzlich werden bei begründetem klinischen Verdacht Blutkulturen angelegt oder eine Bronchoalveoläre Lavage mit anschließender mikrobiologischer Analyse durchgeführt. In Abbildung 4-8 ist die durchschnittliche Anzahl der häufigsten Untersuchungstechniken in den 100 Tagen aktiver Beobachtung im Gesamtkollektiv dargestellt.

**Abbildung 4-8: Durchschnittliche Anzahl verschiedener Untersuchungstechniken in den 100 Tagen Beobachtungszeitraum pro Patient**



#### 4.4.1 PCR-Untersuchung im Serum

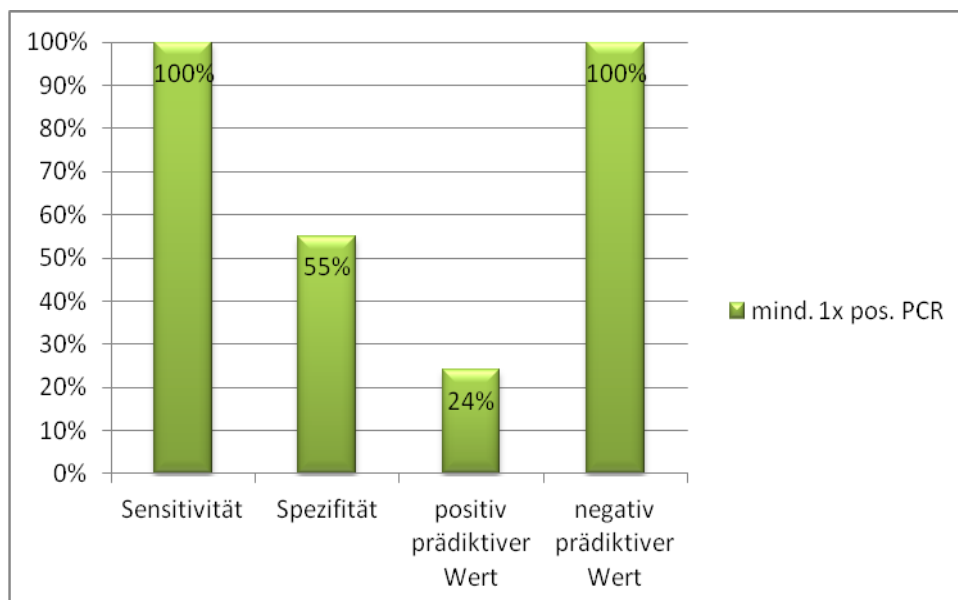
Von 41 registrierten Patienten erhielten 28 Personen (68,3%) innerhalb des 100tägigen Beobachtungszeitraums mindestens eine PCR-Untersuchung, die restlichen 13 Personen erhielten keine entsprechende Analyse. Bei diesen 28 Patienten wurden im Mittel 11,14 Untersuchungen auf Pilz-DNA durchgeführt. Siebzehn der getesteten Patienten (60%) hatten im Verlauf mindestens ein positives PCR-Ergebnis. Fünf Patienten (17,9%) wurden sogar mindestens zweimal positiv getestet. Von 8 Patienten, die im Verlauf von 6 Monaten als *probable* klassifiziert wurden, erhielt die Hälfte gar keine PCR-Untersuchung. Die restlichen Personen hatten alle mindestens einmalig ein positives PCR-Ergebnis im Serum zu verzeichnen. Bei drei dieser Studienteilnehmer war die PCR schon vor einem anderen mikrobiologischen Erregernachweis und somit vor der Klassifikation als *probable* positiv (18, 24 und 106 Tage vorher). Einer dieser Patienten hatte zu einem späteren Zeitpunkt ein zweites, positives PCR-Ergebnis. Bei dem vierten Patienten wurde die PCR erst 25 Tage nach der Diagnose einer wahrscheinlichen Aspergillose positiv.

Bei 4 von 7 Patienten, welche im Verlauf von 6 Monaten als *possible* eingestuft werden konnten, wurde keine PCR-Untersuchung durchgeführt. Die restlichen drei Personen wurden genau einmal positiv getestet. Jedoch lag das positive Untersuchungsergebnis bei zwei Personen erst 19 Tage beziehungsweise 39

Tage nach der Klassifikation vor. Ein Patient hatte schon 144 Tage vor dem Pilz-typischen, thorakalen CT eine positive PCR.

Die Aussagekraft der PCR-Untersuchung kann man Abbildung 4-9 entnehmen. Die Ergebnisse sind jeweils auf diejenigen Patienten bezogen, die eine PCR-Untersuchung erhalten haben. Zudem wurden alle unsicheren Fälle und möglichen Aspergillosen ausgeschlossen, verglichen wurde zwischen sicheren oder wahrscheinlichen und unklassifizierten Fällen. Insgesamt zeigte sich, dass die PCR-Untersuchung bei einem einmalig positiven Testergebnis eine sehr gute Sensitivität (100%), aber eine schlechte Spezifität hatte (55%). Bei einer zweimalig positiven PCR-Untersuchung lag die Sensitivität nur noch bei 25%.

**Abbildung 4-9: Aussagekraft der PCR-Untersuchung**



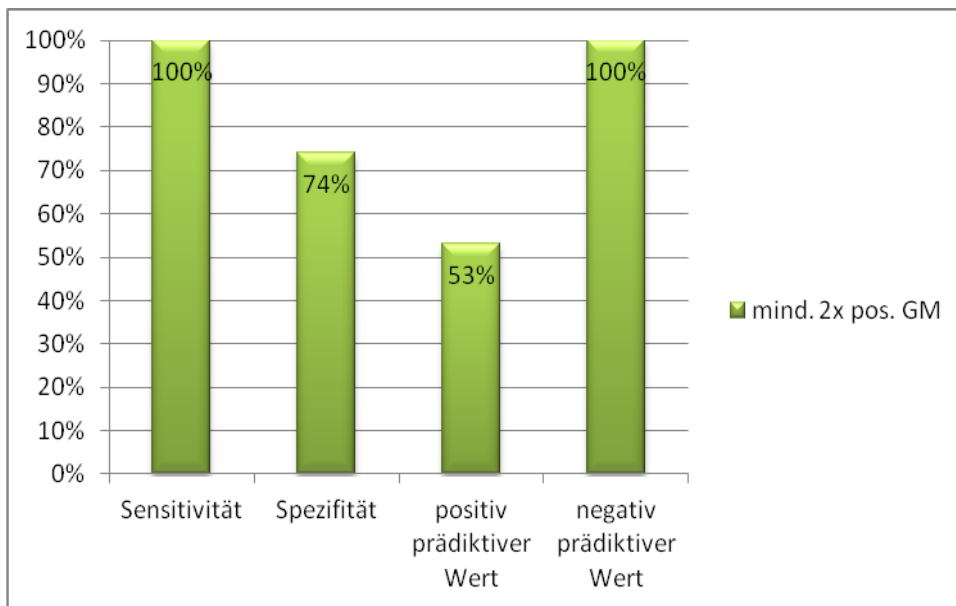
#### 4.4.2 Galactomannan-Bestimmung

Bei allen Patienten im Beobachtungskollektiv wurde jeweils zweimal pro Woche eine Blutabnahme zur Galactomannan-Bestimmung im Serum durchgeführt. In Abhängigkeit von ihrer jeweiligen Verweildauer im Krankenhaus bekamen die Patienten zwischen 6 und 57 serologische Untersuchungen auf das Pilz-Antigen innerhalb des 100tägigen Beobachtungszeitraums (Mittelwert  $15,6 \pm 8,6$  Untersuchungen). Zusätzlich bekam ein Patient eine Liquor-Untersuchung auf GM, ein Patient eine Untersuchung von Trachealsekret auf GM und zwei Personen eine GM-Bestimmung in der BAL. Diese Spezial-Untersuchungen

fielen in allen 4 Fällen negativ aus. Insgesamt wurden 640 GM-Befunde analysiert. Von den 41 untersuchten Patienten hatten 13 Personen (31,7%) mindestens einmalig ein positives Galactomannan-Ergebnis im Serum, 10 Personen (24,4%) sogar mindestens zweimal. Im Mittel hatten die 13 Patienten  $4,2 \pm 4,6$  positive Ergebnisse. Der Patient mit der höchsten Anzahl positiver GM-Bestimmungen hatte 16 Befunde mit einem Index über 0,5 im Beobachtungszeitraum. Zusätzlich wurden bei 9 Patienten auch Galactomannan-Befunde erfasst, die bis einen Monat vor Beginn des Beobachtungszeitraums zurückreichten. Unter den hierbei erhobenen 18 Befunden fanden sich zusätzlich 12 positive Ergebnisse. Bei allen drei Patienten mit lediglich einem positiven Testergebnis im Beobachtungszeitraum konnten in diesem vorausgegangenen Zeitabschnitt weitere Befunde mit einem Index über 0,5 gefunden werden. Zwei dieser Personen wurden später als wahrscheinliche Aspergillose und einer als unklassifiziert eingestuft. Der höchste beobachtete Galactomannan-Wert ergab sich mit 4,85 bei einem Patienten, der im Verlauf als unklassifiziert eingestuft wurde. Abbildung 4-10 kann man die Aussagekraft der Galactomannan-Bestimmung bei zweimalig bestätigtem Ergebnis im Serum in Bezug auf wahrscheinliche Pilzinfektionen entnehmen, wobei die erwähnten Untersuchungsergebnisse, die vor dem Beobachtungszeitraum lagen, mit einbezogen wurden. Als nicht erkrankt zählen hier alle Personen, welche gar keinen Hinweis auf eine Pilzinfektion präsentierten. Alle möglichen Fälle wurden für diese Kalkulation nicht berücksichtigt. Jeder Patient, der später als *probable* eingestuft wurde, hatte mindestens zweimal ein positives Galactomannan-Ergebnis. Hierdurch lag die Sensitivität der Untersuchung bei 100%. Die Spezifität war mit 74% etwas besser als die der PCR.

Im Durchschnitt lag das erste positive Untersuchungsergebnis 25,38 Tage vor der Klassifikation als wahrscheinliche Aspergillose vor. Zwei Patienten erhielten die Klassifikation mit dem Tag der Galactomannan-Bestimmung, da hiermit das mykologische Kriterium erfüllt war.

**Abbildung 4-10: Aussagekraft der Galactomannan-Bestimmung im Serum**



#### 4.4.3 Histologisches und kulturelles Ergebnis

Innerhalb des aktiven Beobachtungszeitraums wurden insgesamt 288 Blutkulturen bei den Patienten abgenommen. Im Mittel erhielt jeder Patient  $7 \pm 5,9$  Blutabnahmen für die aerobe und anaerobe Kultur (Minimum 0, Maximum 25). Lediglich ein Studienteilnehmer erhielt keine Blutkultur-Abnahme. Bei keinem der getesteten Patienten wurde der kulturelle Nachweis eines Schimmelpilzes oder Hefepilzes erbracht. Jedoch gelang der Nachweis einer Vielzahl bakterieller Erreger, einschließlich *Pseudomonas aeruginosa*, Staphylokokken, Klebsiellen, Enterokokken und vielen weiteren. Zusätzlich wurden bei 4 Patienten Liquorkulturen angelegt, welche in keinem Fall einen Erreger ergaben. In drei Fällen wurde eine Kultur von BAL-Flüssigkeit angelegt, welche ebenfalls keinen Nachweis von Pilzen erbrachte. Bei einem Patienten wurde eine Probenentnahme (PE) aus der Lunge durchgeführt. Hier konnte zwar eine massive Zerstörung des Lungengerüsts nachgewiesen werden, jedoch fanden sich keine Erreger in der mikroskopischen Untersuchung. Bei einem weiteren Patienten wurden zweimalig Kulturen von Aszites angelegt, hier konnte ebenfalls kein Erreger isoliert werden. Der Abstrich der Venenkatheterspitze, welcher bei 37 Patienten, zum Teil mehrfach, durchgeführt wurde, erbrachte Staphylokokken, Enterokokken und Corynebakterien in der Kultur. Lediglich bei einem Patienten konnte an der

Spitze eines Shaldon-Katheters *Candida krusei* in sehr geringer Konzentration (+) nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis wurde auf Grund der negativen Folgeuntersuchungen und der geringen Erregermenge als Kontamination gewertet. Auch im Rachenabstrich, Sputum oder Trachealsekret, welche bei vielen Patienten abgenommen wurden, fanden sich zu keinem Zeitpunkt der aktiven Nachverfolgung Hinweise auf eine Pilzinfektion.

#### 4.4.4 CT-Thorax Untersuchung

Innerhalb der 100 Tage aktiver Beobachtung wurde bei jedem Patienten mindestens einmalig eine CT-Untersuchung der Lunge (Minimum eine Untersuchung, Maximum 12 Untersuchungen) durchgeführt. Im Mittel erhielt jeder Studienteilnehmer  $4,9 \pm 3$  thorakale CT's. Insgesamt wurden 202 CT-Thorax Untersuchungen in diesem Zeitraum ausgewertet, wovon 50 Bilder (24,8%) als pilztypisch klassifiziert wurden und damit in die Kategorie einer möglichen oder wahrscheinlichen Aspergillose eingingen. Nach 100 Tagen ergaben sich infolgedessen 12 Studienteilnehmer, die mindestens ein pilztypisches Computertomografie-Bild aufwiesen. Im Mittel wurden bei diesen 12 Personen 4 CT-Untersuchungen mit pilztypischen Infiltraten durchgeführt.

Im Zeitraum von 100 Tagen bis 6 Monaten nach Studieneinschluss wurden ebenfalls alle angefertigten CT's begutachtet und alle verdächtigen beziehungsweise positiven Bilder dokumentiert. Hier ergaben sich zusätzlich bei drei, vorher als unklassifiziert bewerteten, Patienten insgesamt 4 endgültig positiv beurteilte Tomografien. Zudem hatten 2 Studienteilnehmer, welche vorher als *possible* klassifiziert wurden, weiterhin Pilz-typische Infiltrate in der Lunge vorzuweisen.

Die am häufigsten beobachteten Zeichen im CT-Thorax, welche auf eine Pilzinfektion hinwiesen, waren mit je 6 Fällen der hyperdense Rundherd von mindestens 5mm Durchmesser (dense lesion) sowie der dichte Rundherd mit Halo-Bildung. Zusätzlich wurde in drei weiteren Fällen eine Kavernen-Bildungen beobachtet. Die Angaben beziehen sich immer auf das Pilz-spezifischste Erscheinungsbild. Dabei ist zu erwähnen, dass zwei der Fälle mit Rundherd plus Halo-Zeichen sowie ein Fall mit Rundherd plus Kavernenbildung bei den möglichen Aspergillosen auftraten.

Bei 9 der überlebenden Stammzelltransplantations-Patienten wurden in der Follow-up Phase keine erneuten, thorakalen Untersuchungen mehr durchgeführt. Unter diese 9 Patienten fielen auch zwei Personen mit einer vorbestehenden möglichen Mykose und ein Patient mit einer vorbestehenden wahrscheinlichen Aspergillose. Bei allen drei Personen zeigte das letzte CT im Beobachtungszeitraum noch pilztypische Veränderungen. Hier war dementsprechend keine Beurteilung des Verlaufs der Pilzinfektion möglich.

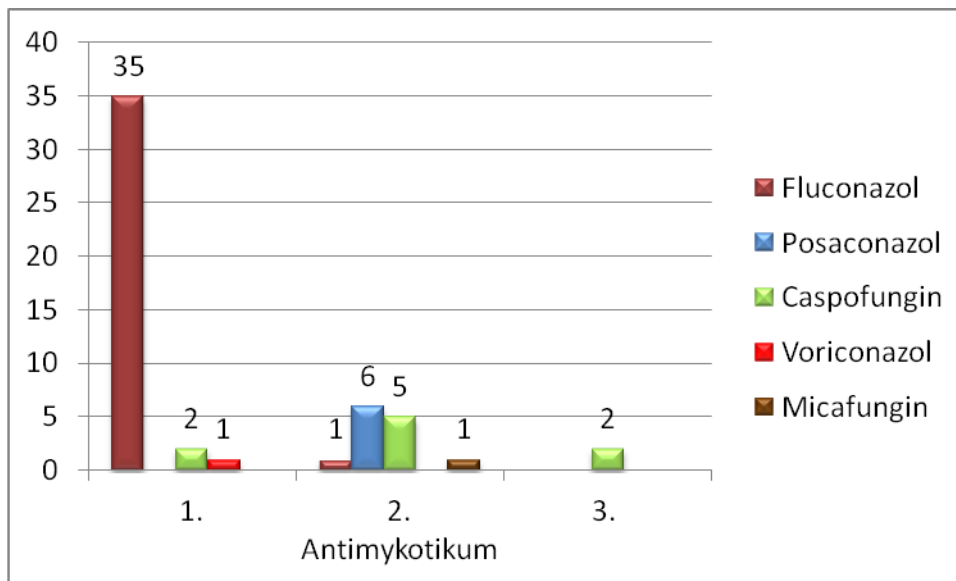
## 4.5 Antimykotische Strategie

### 4.5.1 Pilzspezifische Prophylaxe

Insgesamt erhielten 93% der Studienteilnehmer (38 Patienten) eine antimykotische Prophylaxe. Das am häufigsten gebrauchte Erstlinien-Medikament zur Vorbeugung invasiver Pilzinfektionen war mit 92% das nicht Aspergillus-wirksame Fluconazol. Weiterhin wurde bei 5,3% der Patienten primär eine Prophylaxe mit Caspofungin im Rahmen einer Würzburger Studie (Casphylax) durchgeführt. Ein Patient erhielt Voriconazol als initiales Antimykotikum. Zusätzlich zur oralen Prophylaxe bekamen 18 Patienten das lokal wirksame Amphomoronol oder eine Mundspülung verabreicht. Im Rahmen der Zweitlinien-Prophylaxe auf Grund von Nebenwirkungen der Erstlinien-Therapie oder weil die Patienten im Verlauf in Casphylax eingeschlossen wurden, kamen vor allem Posaconazol und Caspofungin zum Einsatz. (siehe Abbildung 4-11)



Abbildung 4-11: Antimykotische Prophylaxe



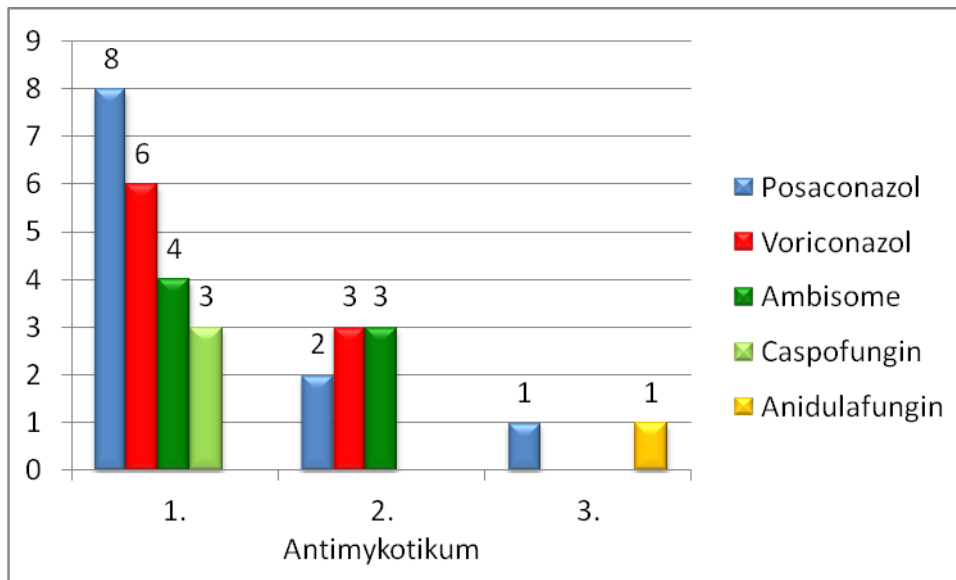
#### 4.5.2 Empirische und präemptive antimykotische Strategie

Drei Patienten mit persistierendem neutropenischem Fieber erhielten in den ersten 6 Monaten nach Studieneinschluss eine empirische, antimykotische Therapie. Hierbei kam einmal Posaconazol, einmal Caspofungin und einmal Voriconazol mit Posaconazol im Anschluss zum Einsatz. Vier Patienten erhielten trotz neutropenischem Fieber von mindestens drei Tagen Dauer keine empirische, Aspergillus-aktive, antimykotische Therapie.

Der Abbildung 4-12 kann man die verschiedenen Medikamente, welche zur präemptiven, antimykotischen Therapie verwendet wurden, entnehmen. Insgesamt erhielten 21 von 41 Patienten (51%) eine präemptive Therapie während des Studienverlaufs. Dies geschah in 7 Fällen auf Grund eines pilztypischen, thorakalen CT-Befunds, in 4 Fällen auf Grund eines unspezifischen, thorakalen CT's und in einem Fall wegen einem unspezifischen thorakalen CT zuzüglich eines fraglich pilztypischen CT-Befunds in den Nasennebenhöhlen. Zwei Patienten hatten sowohl ein positives Galactomannan als auch zweimalig eine positive PCR-Untersuchung. Ein Patient hatte ein positives Galactomannan samt unspezifischem thorakalen CT-Befund. In zwei weiteren Fällen war ein positiver Galactomannan-Wert die Ursache der präemptiven Therapie und in einem Fall eine zweifach positiv ausgefallene PCR-Untersuchung. Ein Patient erhielt seine präemptive, antimykotische

Therapie auf Grund einer unspezifischen Computertomografie und eines positiven PCR-Befunds. Bei zwei Patienten lies sich mit Hilfe der Akte kein Motiv für die antimykotische Therapie ermitteln.

**Abbildung 4-12: Präemptive antimykotische Therapie**

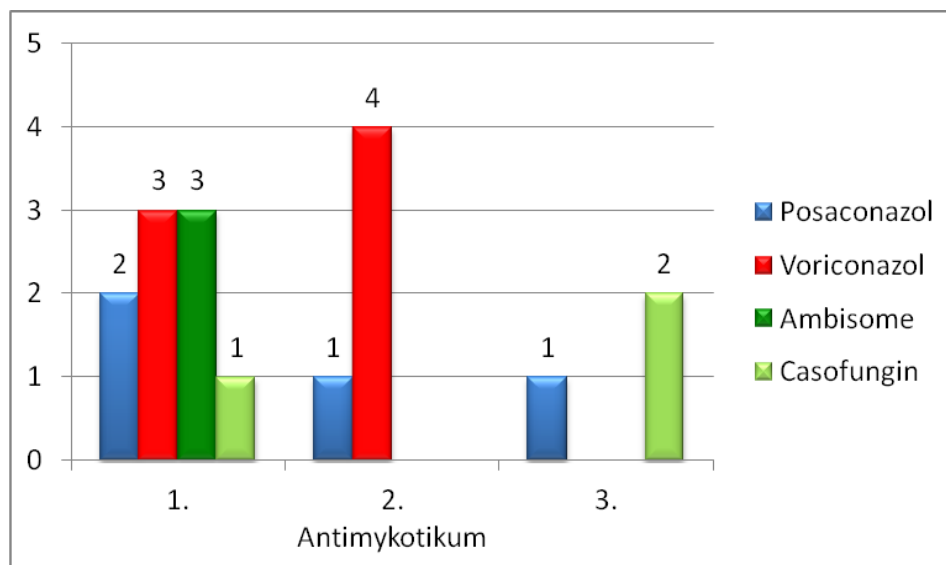


#### 4.5.3 Antimykotische Therapie

Dreizehn Patienten wurden im Verlauf der Studie spezifisch antimykotisch therapiert. Bei 4 Patienten geschah dies auf Grund einer Soor-Mukositis. Ein Studienteilnehmer erhielt eine antimykotische Therapie bei Candida-Nachweis im Respirationstrakt, was entgegen der Leitlinien und anerkannter Diagnostik als Candida-Pneumonie eingestuft wurde. Acht Personen wurden angesichts einer wahrscheinlichen invasiven Aspergillose und ein Patient angesichts einer wahrscheinlichen invasiven Fusariose medikamentös behandelt. Einer der Studienteilnehmer mit einer invasiven Aspergillose hatte schon vorher eine Pilzmedikation (Caspofungin) auf Grund einer Soor-Mukositis erhalten. In der Erstlinientherapie der wahrscheinlichen Aspergillosen wurde in je 37,5% der Fälle Voriconazol beziehungsweise liposomales Amphotericin B verwendet. In je 12,5% der Krankheitsfälle kamen Caspofungin oder Posaconazol zum Einsatz (je ein Patient). Allerdings wurden die letzten beiden Patienten schon vor der Erstdiagnose der Aspergillose mit dem entsprechenden Antimykotikum therapiert und das Regime wurde in beiden Fällen innerhalb von 10 Tagen auf Voriconazol umgestellt. Die invasive Fusariose wurde nur mit Posaconazol

therapiert. Voriconazol spielte mit 80% der Verordnungen zusätzlich in der Zweitlinien-Therapie eine wesentliche Rolle. Insgesamt wurden 4 Patienten lediglich mit einem Antimykotikum therapiert, dies war bei den wahrscheinlichen Aspergillose drei Mal Voriconazol und bei der wahrscheinlichen Fusariose Posaconazol. Drei Personen erhielten zusätzlich eine Zweitlinientherapie und zwei Personen eine Zweit- und Drittlinentherapie. Der Abbildung 4-13 kann man die antimykotische Therapie der invasiven Aspergillose und der Fusariose entnehmen. Bei 6 Patienten mit einer wahrscheinlichen Aspergillose wurde die Pilz-spezifische Therapie am Tag der Diagnosestellung begonnen (75%). Der Patient mit der wahrscheinlichen Fusariose und die zwei oben erwähnten Patienten mit einer wahrscheinlichen Aspergillose erhielten schon vor der Erstdiagnose der Pilzinfektion präemptiv ein entsprechendes Antimykotikum, welches primär beibehalten wurde.

**Abbildung 4-13: Antimykotische Therapie auf Grund einer wahrscheinlichen Pilzinfektion (Aspergillose oder Fusariose)**

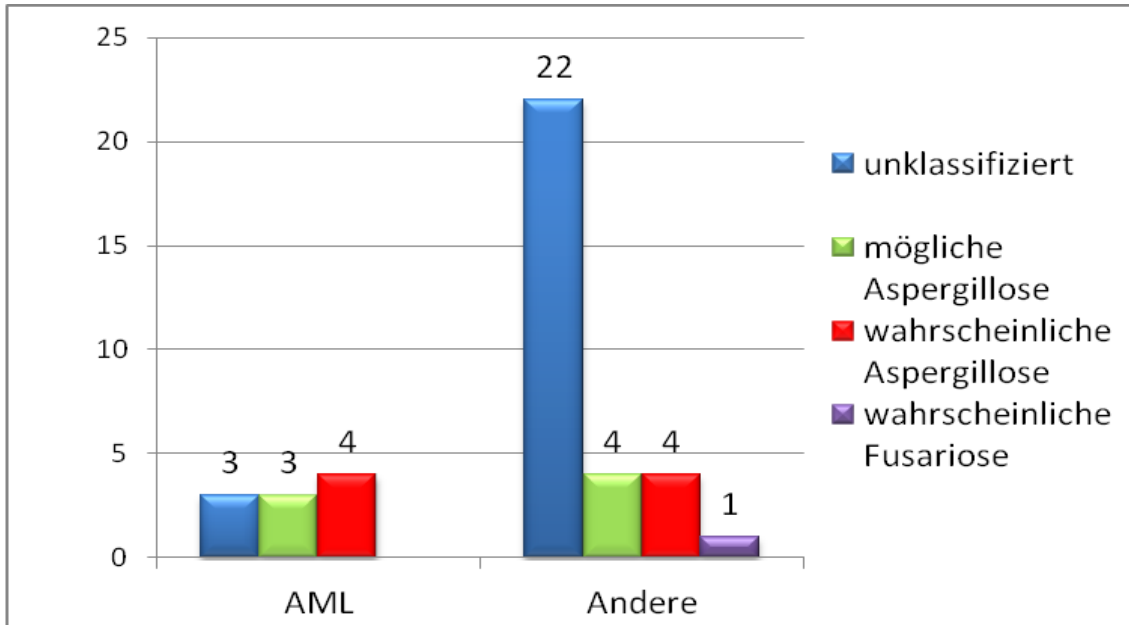


## 4.6 Evaluation der Risikofaktoren zur Entwicklung einer invasiven Pilzinfektion

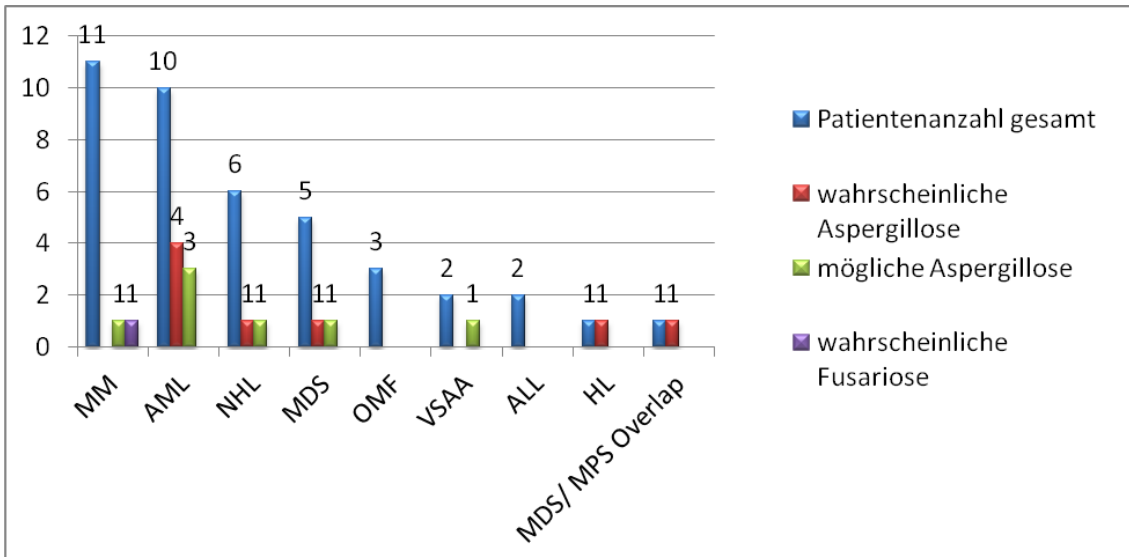
### 4.6.1 Grunderkrankung

Als wichtigen Risikofaktor, an einer invasiven Mykose zu erkranken, stellte sich die zu Grunde liegende Erkrankung heraus. Das größte Risiko, eine systemische Pilzinfektion zu entwickeln, hatten im Studienkollektiv Patienten mit einer akuten myeloischen Leukämie. Von ihnen erkrankten 40% an einer wahrscheinlichen Aspergillose und 30% an einer möglichen Aspergillose (siehe Abbildung 4-14). Zusätzlich entwickelte sowohl der Patient mit einem Hodgkin Lymphom, als auch der Patient mit einem MDS/MPS-Overlap Syndrom eine wahrscheinliche Aspergillose (je 1/1). Alle drei beziehungsweise zwei Studienteilnehmer, die an einer Osteomyelofibrose oder einer akuten leukämischen Leukämie erkrankt waren, wurden als unklassifiziert eingestuft. Der Unterschied im Auftreten einer systemischen Mykose (*possible* und *probable*) zwischen Patienten mit einer AML und allen anderen Patienten lag in der univariaten Analyse mit einem p-Wert von 0,051 knapp oberhalb der Signifikanzgrenze. In der Regressionsanalyse zeigte sich nach dem Einschluss aller in Kapitel 3.7.2 genannten Faktoren mit einem p-Wert von 0,014 eine deutliche Signifikanz. Das Risiko, an einer möglichen oder wahrscheinlichen Mykose zu erkranken, stieg bei einer AML als Grunderkrankung auf das 32fache (OR= 32,19).

**Abbildung 4-14: Klassifikation invasiver Mykosen in Abhängigkeit von der Grunderkrankung nach 6 Monaten I**



**Abbildung 4-15: Klassifikation invasiver Mykosen in Abhängigkeit von der Grunderkrankung nach 6 Monaten II**



#### 4.6.2 Alter, Geschlecht, BMI und Nikotinkonsum

Im Patientenkollektiv hatten die weiblichen Studienteilnehmer ein mehr als doppelt so hohes Risiko, an einer wahrscheinlichen Aspergillose zu erkranken (31% versus 14%). Im Gegensatz dazu war das Risiko, eine mögliche Aspergillose zu entwickeln, mit 15% zu 18% bei beiden Geschlechtern etwa gleich hoch. Die einzige diagnostizierte Fusariose trat bei einem männlichen

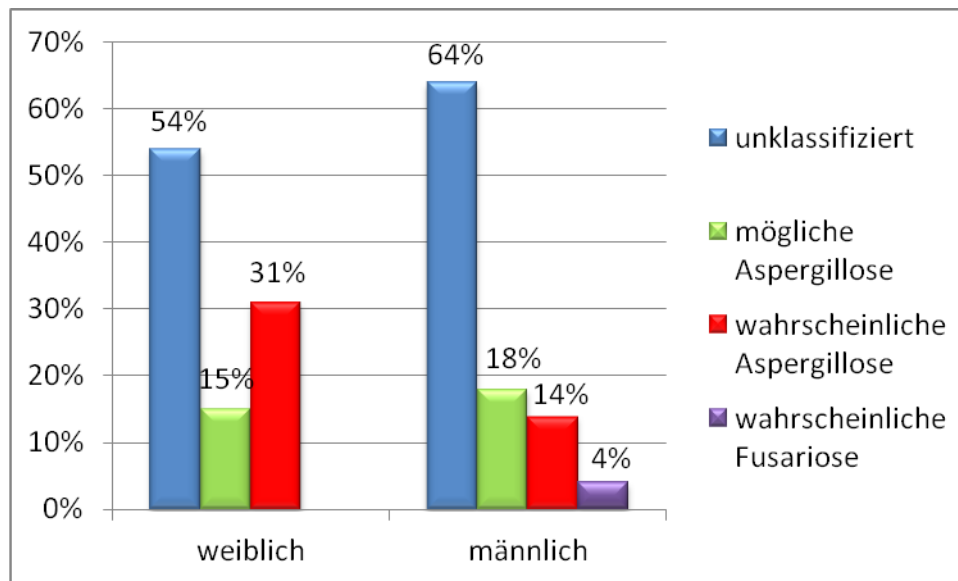
Studienteilnehmer auf. (siehe Abbildung 4-16) Insgesamt zeigte sich jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den Geschlechtern, an einer invasiven Mykose zu erkranken ( $p=0,701$ ). Auch die multivariate Analyse zeigte keinen statistischen Zusammenhang.

Das durchschnittliche Alter aller Studienteilnehmer betrug zum Zeitpunkt der Rekrutierung 54,4 Jahre. Die Patienten, die in dem halbjährigen Beobachtungszeitraum keine systemische Pilzinfektion entwickelten, waren im Mittel  $52 \pm 11,1$  Jahre alt, die Patienten mit einer wahrscheinlichen Aspergillose waren durchschnittlich 7 Jahre älter ( $58,7 \pm 14,6$  Jahre). Der Altersmittelwert der Patienten mit einer möglichen Aspergillose lag bei 55,4 Jahren. Die Unterschiede im Alter von Patienten mit einer möglichen und wahrscheinlichen Aspergillose sowie Fusariose (62 Jahre) zu den Patienten ohne invasive Mykose erwies sich als signifikant mit einem p-Wert von 0,019. Ältere Patienten erkrankten somit signifikant häufiger an systemischen Pilzinfektionen. In der multivariaten Analyse war die Erkrankungswahrscheinlichkeit für eine wahrscheinliche Infektion (ohne *possible*-Fälle) mit  $p=0,055$  knapp nicht signifikant. Es ergab sich jedoch ein um den Faktor 1,13 gesteigertes Risiko für eine wahrscheinliche Mykose pro zusätzlichem Lebensjahr.

Die Patienten mit einer wahrscheinlichen Aspergillose oder Fusariose hatten im Mittel einen BMI von  $24,4 \text{ kg/m}^2$  ( $\pm 1,47$ ), wohingegen die Patienten ohne Hinweis auf eine systemische Mykose oder mit einer möglichen Aspergillose mit einem BMI von  $25,8 \text{ kg/m}^2$  ( $\pm 3,63$ ) im Durchschnitt etwas kräftiger waren. Der Unterschied erwies sich in der univariaten Analyse mit einem p-Wert von 0,166 als nicht signifikant. Auch die Regressionsanalyse ergab keinen relevanten Zusammenhang.

Es konnte von 38 Patienten eine Aussage bezüglich ihres Nikotinkonsums erhoben werden. 22 Personen waren Raucher oder hatten früher in ihrem Leben geraucht, die restlichen 16 Personen waren immer Nichtraucher gewesen. Es ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Erkrankungshäufigkeit an invasiven Mykosen in Abhängigkeit vom Nikotinabusus. Patienten mit einer *possible* oder *probable* systemischen Pilzinfektion hatten im Durchschnitt 9,9 pack years zu verzeichnen, Patienten ohne Pilzinfektion hatten im Mittel 10,6py`s.

**Abbildung 4-16: Risiko für eine invasive Pilzinfektion in Abhängigkeit vom Geschlecht**



#### 4.6.3 HLA-Status

Dreiundvierzig Prozent der Patienten, deren Stammzelltransplantation mismatched, also HLA-verschieden, durchgeführt wurde (3 von 7 Patienten), entwickelten innerhalb der Studiendauer eine wahrscheinliche Aspergillose. Zusätzlich erkrankten 28,6% an einer möglichen Aspergillose (2 von 7 Patienten). Dementsprechend waren nur 28,6% dieser Patienten frei von Hinweisen auf eine invasive Pilzinfektion. Demgegenüber standen 33 Patienten, welche eine HLA-passende Stammzellspende bekamen. Hier blieben 66,7% (verwandter Spender) beziehungsweise 70,8% (nicht verwandter Spender) der Transplantat-Empfänger frei von den Zeichen einer systemischen Mykose. Der einzige haplo-identisch transplantierte Patient erkrankte im Verlauf an einer invasiven wahrscheinlichen Aspergillose. Zusammenfassend hatten im Studienkollektiv diejenigen Patienten, die ihre Stammzellen von einem HLA-unpassenden Spender (mismatched und haplo-identisch) erhielten, ein signifikant höheres Risiko, eine systemische Pilzinfektion zu entwickeln ( $p=0,026$ ). Auch die Regressionsanalyse identifizierte ein HLA-Mismatch zwischen Spender und Empfänger als relevanten Risikofaktor für eine wahrscheinliche Infektion (ohne *possible*,  $p=0,017$ ). Das Risiko für eine wahrscheinliche Infektion war bei einem HLA-unpassenden Spender um 18% höher als bei einem passenden Spender ( $OR=18,24$ ).

Desweiteren wurde bei der Analyse der Risikofaktoren das Studienkollektiv in zwei Subgruppen aufgeteilt, je nachdem, ob die transplantierten Stammzellen von einem verwandten (MRD und haplo ident) oder unverwandten (MM und MUD) Spender kamen. Von 10 Personen, die ihre Stammzellen von einem verwandten Spender erhielten, erkrankten 40% an einer wahrscheinlichen Aspergillose, wohingegen von 31 Personen, welche einen fremden Spender hatten, nur 16% eine wahrscheinliche Aspergillose bzw. Fusariose entwickelten (siehe Tabelle 4-2) . Bei dem Vergleich der beiden Kollektive ergab sich in der univariaten Analyse dennoch für keine Gruppe ein signifikant erhöhtes Risiko, an einer wahrscheinlichen Mykose zu erkranken ( $p=0,395$ ). Auch wenn man in den Vergleich die möglichen Infektionsfälle miteinbezog, ergab sich mit einer exakten Signifikanz von 0,612 keine relevante Korrelation. Die Regressionsanalyse zeigte hingegen mit einer statistischen Signifikanz von  $p=0,03$  eine Transplantation von einem unverwandten Spender als protektiven Faktor für eine systemische wahrscheinliche Pilzinfektion.

**Tabelle 4-2: Risiko für eine invasive Pilzinfektion in Abhängigkeit vom HLA-Matching**

		Klassifikation nach 6 Monaten				Gesamt
		unklassifiziert	mögliche Aspergillose	wahrscheinliche Aspergillose	wahrscheinliche Fusariose	
HLA	Haplo-ident	-	-	1 (100%)	-	1
	MM	2 (28,6%)	2 (28,6%)	3 (42,8%)	-	7
	MRD	6 (66,7%)	-	3 (33,3%)	-	9
	MUD	17 (70,8%)	5 (20,8%)	1 (4,2%)	1 (4,2%)	24

#### 4.6.4 Ursprung und Manipulation der Stammzellen

95 Prozent der Stammzelltransplantate (39 Transplantate) wurden bei der ersten allogenen Transplantation im Beobachtungszeitraum aus dem peripheren Blut der Spender gewonnen. Alle 8 Fälle einer wahrscheinlichen Aspergillose sowie die invasive Fusariose ereigneten sich bei Patienten, die eine periphere Blutstammzellspende bekommen hatten. Nur zwei Patienten erhielten eine direkte Knochenmarkspende. Einer dieser Patienten erkrankte danach an einer möglichen Aspergillose, der andere entwickelte keine invasive Pilzinfektion. Zusätzlich wurde die zweite Transplantation bei dem Patienten mit



dem allo-allo Konzept als KM-SZT durchgeführt, dieser entwickelte ebenso eine mögliche Aspergillose.

Von den 41 Studienpatienten war bei drei Patienten vor der Transplantation eine Manipulation der Stammzellen durchgeführt wurden. Bei zwei Transplantaten wurde eine Selektion CD34<sup>+</sup>-Zellen vorgenommen und bei einem Transplantat eine Plasmaseparation. Einer der beiden Studienteilnehmer mit einer CD34<sup>+</sup>-Selektion bekam nachfolgend eine weitere SZT ohne Manipulation des Transplantats. Die Person mit der Plasmaseparation entwickelte im Studienverlauf keine Zeichen einer Pilzinfektion. Die Person mit der alleinigen Selektion CD34<sup>+</sup>-Zellen erkrankte innerhalb des Studienverlaufs an einer wahrscheinlichen Aspergillose, die Person mit dem allo-allo Konzept erkrankte im Beobachtungszeitraum an einer möglichen Aspergillose. Auf Grund der kleinen Fallzahlen mit einer Manipulation der Stammzellen beziehungsweise einer Knochenmarkspende lässt sich keine Aussage bezüglich des Risikos für eine invasive Mykose ableiten.

#### 4.6.5 Chemotherapieregime

Unter anderem bei Popova et al. wurde ein Zusammenhang zwischen der Verwendung von ATG und Fludarabin im Therapieregime der Konditionierung und dem gehäuften Auftreten von invasiven Mykosen beschrieben [Popova et al., 2012]. Aus diesem Grund betrachteten wir diese beiden Faktoren genauer. Da in unserem Studienkollektiv jedoch nur bei einem Patient kein ATG verabreicht wurde, konnte bezüglich des Einflusses von ATG keine Aussage getroffen werden. Dieser Patient wurde im Verlauf als *indeterminate* klassifiziert. Desweiteren bekamen 12% der Patienten eine Chemotherapie ohne Fludarabin. Von diesen 5 Personen erkrankte im Verlauf einer an einer wahrscheinlichen Aspergillose. Alle weiteren Pilzinfektionen traten bei Studienteilnehmern mit Fludarabin im Konditionierungs-Protokoll auf. Eine Assoziation zwischen Fludarabin und dem Auftreten einer möglichen oder wahrscheinlichen Mykose zeigte sich hier nicht ( $p=0,63$ ).

#### 4.6.6 CMV-Status und CMV-Reaktivierung

Im Rahmen der vorliegenden Doktorarbeit zeigte sich in Abhängigkeit von dem CMV-Status von Empfänger zu Spender kein signifikant verschiedenes Risiko, an einer invasiven Mykose zu erkranken ( $p=0,625$ ). (siehe Tabelle 4-3)

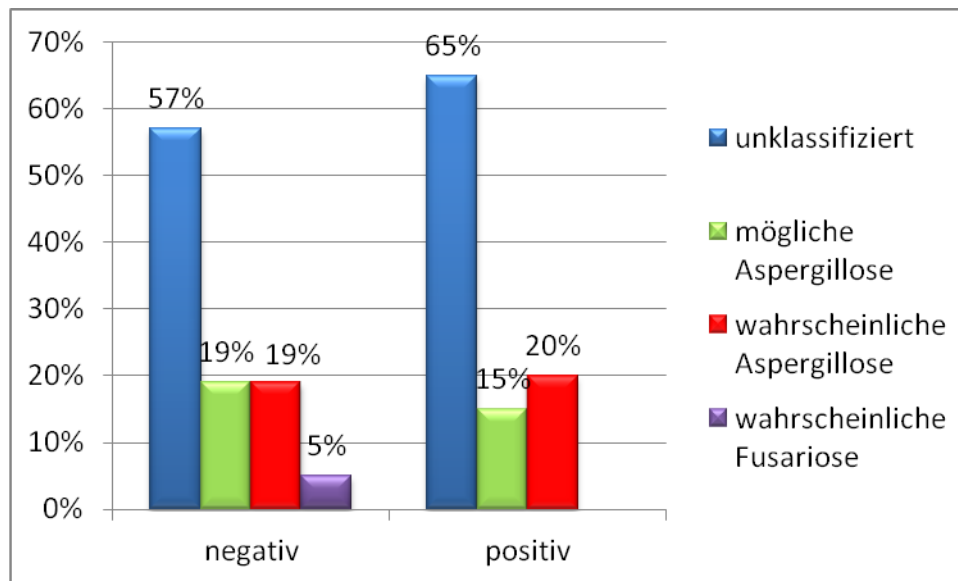
Von den Patienten mit einer CMV-Reaktivierung entwickelten 20% eine wahrscheinliche Aspergillose und 15% eine mögliche Aspergillose. Von den Patienten ohne CMV-Reaktivierung im Beobachtungszeitraum erkrankten jeweils 19% an einer möglichen und 19% an einer wahrscheinlichen Aspergillose. Die wahrscheinliche Fusariose trat bei einem Studienteilnehmer ohne CMV-Reaktivierung auf. (siehe Abbildung 4-17) Somit zeigte sich auch hier kein signifikanter Unterschied bei der Entwicklung einer systemischen Mykose ( $p=1,00$ ).

Die Regressionsanalyse lieferte in beiden Fällen das gleiche Ergebnis wie die univariate Analyse.

**Tabelle 4-3: CMV-Status als Risikofaktor für invasive Mykosen**

		Klassifikation nach 6 Monaten				Gesamt
		unklassifiziert	mögliche Aspergillose	wahrscheinliche Aspergillose	wahrscheinliche Fusariose	
CMV-Status	neg/neg	7 (58,3%)	3 ( 25%)	2 ( 16,7%)	-	12
Empf./Spender	neg/pos	3 (60%)	-	1 (20%)	1 (20%)	5
	pos/neg	3 (50%)	2 (33,3%)	1 (16,7%)	-	6
	pos/pos	12 (66,7%)	2 (11,1%)	4 (22,2%)	-	18

Abbildung 4-17: CMV-Reaktivierung und invasive Mykosen



#### 4.6.7 Neutropeniedauer

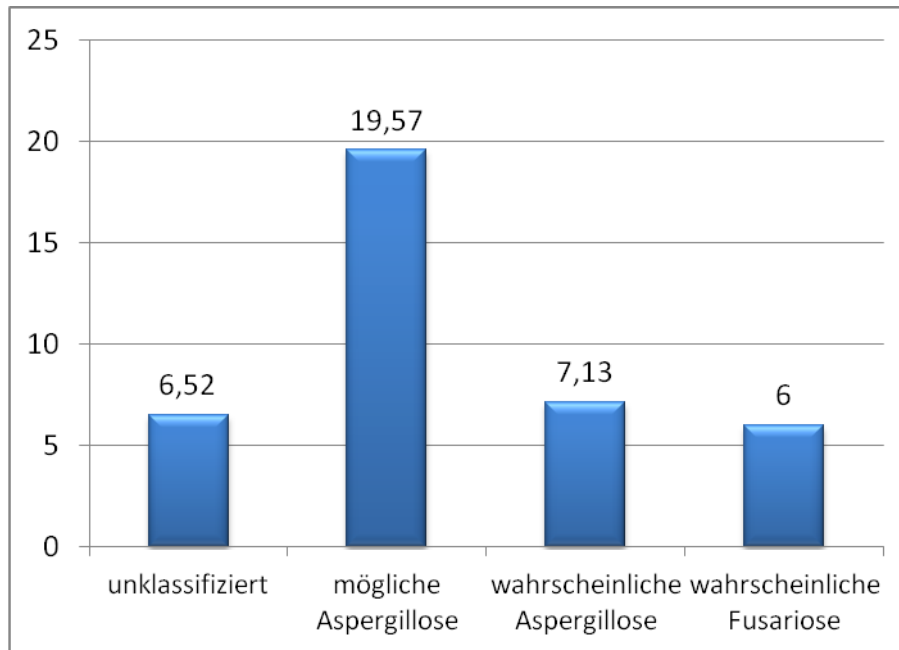
Im Mittel befanden sich die Studienteilnehmer 14,71 ( $\pm 12,68$ ) Tage am Stück in einer neutropenen Phase mit Nachweis von weniger als 500 neutrophilen Granulozyten/ $\mu\text{l}$  im peripheren Blut. Der Patient mit der kürzesten Neutropeniedauer befand sich zwei Tage, der Patient mit der längsten Neutropeniedauer 85 Tage in dieser Phase der stärksten zellulären Immunsuppression. Der erwähnte Patient mit der sehr langen Neutropeniephase erkrankte im Studienverlauf an einer möglichen Aspergillose. Von den 41 Studienpatienten durchliefen 26 Personen (63,4%) eine neutropene Phase mit weniger als 500 neutrophilen Granulozyten/ $\mu\text{l}$  von mindestens 11 Tagen Dauer. Dementsprechend hatten 15 Personen ein kürzeres maximales neutropenes Intervall. Fünf Patienten (12,2%) entwickelten innerhalb des 100tägigen Beobachtungszeitraums ein zweites neutropenes Intervall.

Bei dem Vergleich der Erkrankungshäufigkeiten von invasiven Mykosen (*possible* und *probable*) zwischen Patienten mit mindestens 11 neutropenen Tagen und Patienten unter 11 neutropenen Tagen konnte kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden ( $p=0,322$ ). Ebenso stellte sich das Vorhandensein eines zweiten neutropenen Intervalls nicht als Risikofaktor für eine mögliche oder wahrscheinliche Mykose heraus ( $p=1,0$ ). Auch der Vergleich der durchschnittlichen Neutropeniedauer unter 500 Neutrophilen/ $\mu\text{l}$  in beiden Kollektiven erbrachte keinen signifikanten Unterschied in der Erkrankungs-

wahrscheinlichkeit für systemische Mykosen ( $p=0,112$ ). Eine zusätzliche Berechnung wurde ohne den Ausreißer mit der sehr langen Neutropeniephase (85 Tage) durchgeführt, um einen möglichen Einfluss von seiner Seite auf die Mittelwerte auszuschließen. Auch ohne diesen Patienten war der Unterschied der Mittelwerte der Neutropenedauer zwischen Patienten mit und ohne systemische Mykose nicht statistisch relevant ( $p=0,257$ ). Ein ebenfalls nicht signifikantes Ergebnis ergab sich, wenn man nur die wahrscheinlichen mit den unklassifizierten Fällen verglich.

Allerdings konnte ein relevanter Unterschied in der Dauer der Neutropenie mit unter 100 Neutrophilen/ $\mu\text{l}$  in beiden Kollektiven gezeigt werden ( $p=0,028$ ). Patienten ohne Hinweis auf eine Pilzinfektion waren im Mittel 6,52 Tage unterhalb der erwähnten Grenze, Patienten mit Verdacht auf eine Pilzinfektion (*possible* und *probable*) waren durchschnittlich 12,5 Tage in diesem Bereich. Hierbei ist jedoch zu erwähnen, dass sich gerade Patienten mit einer möglichen Aspergillose die durchschnittlich längste Zeit in einer neutropenen Phase mit weniger als 100 Neutrophilen/ $\mu\text{l}$  befanden (siehe Abbildung 4-18). Mit einem p-Wert von 0,069 konnte dieser Zusammenhang in der multivariaten Analyse nicht bestätigt werden. Auch hier fand eine zweite Berechnung ohne den oben erwähnten Ausreißer statt, welcher sich 60 Tage unterhalb einer Neutrophilenzahl von 100/ $\mu\text{l}$  befand. Ohne diesen Patienten wurde die statistische Signifikanz der Mittelwert-Unterschiede mit einem p-Wert von 0,08 knapp verfehlt und bestätigte damit die Regressionsanalyse. Der Mittelwert der maximalen Anzahl neutropener Tage unter 100 Granulozyten/ $\mu\text{l}$  für die Subgruppe „*possible* Aspergillose“ lag ohne den Ausreißer nur noch bei 12,8 Tagen.

**Abbildung 4-18: Mittelwerte der maximalen Anzahl neutropener Tage (<100 neutrophile Granulozyten/ $\mu$ l) im Studienkollektiv**



#### 4.6.8 Persistierendes neutropenes Fieber

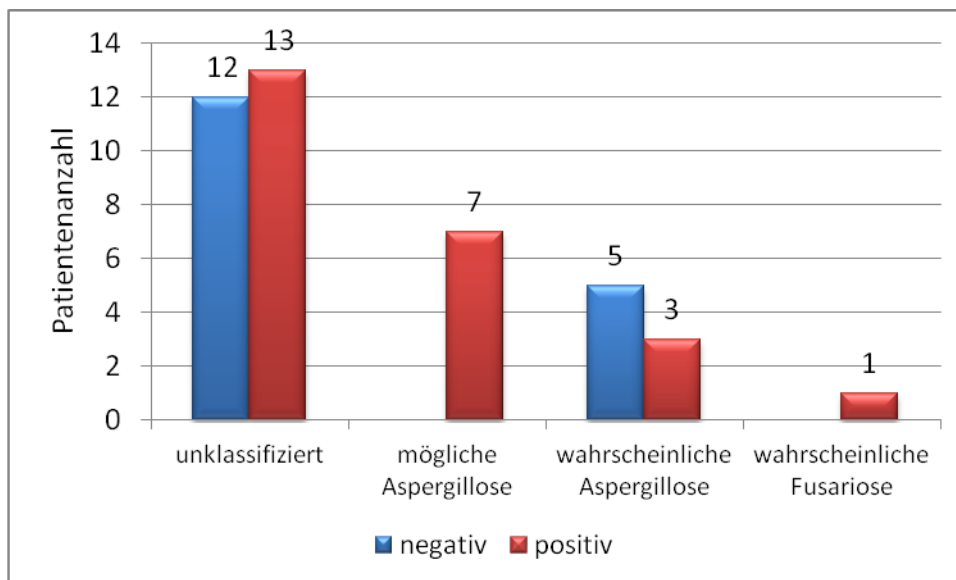
Eine Temperaturerhöhung über 38°C von mindestens 72 Stunden Dauer, welche innerhalb der neutropenen Phase eines Patienten mit weniger als 500 neutrophilen Granulozyten/ $\mu$ l auftrat, wurde als persistierendes neutropenes Fieber gewertet. Zweiundvierzig Prozent der Studienpatienten durchliefen eine solche Periode. Im Studienkollektiv zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten eines persistierenden neutropenen Fiebers und der Entwicklung einer möglichen Aspergillose ( $p=0,038$ ). Alle Patienten, die im Verlauf an einer möglichen Aspergillose erkrankten, hatten vorher eine solche prolongierte neutropene Fieberphase durchlaufen. Es zeigte sich jedoch keine Korrelation zum Auftreten einer wahrscheinlichen Aspergillose oder Fusariose im Vergleich zu den unklassifizierten Fällen ( $p=1,0$ ). Von ihnen hatten nur 44,4% (*probable*) bzw. 52% (*indeterminate*) ein persistierendes neutropenes Fieber durchgemacht. (siehe Abbildung 4-19). In der Regressionsanalyse konnte das erste Ergebnis mit einer Signifikanz von  $p=0,53$  nicht bestätigt werden. Hier zeigte sich weder ein Zusammenhang zwischen einem persistierenden neutropenen Fieber und dem Auftreten einer möglichen oder

wahrscheinlichen Pilzinfektion, noch zwischen einem persistierenden neutropenen Fieber und einer wahrscheinlichen Pilzinfektion.

Auch der Vergleich der maximalen Anzahl von Fiebertagen am Stück innerhalb der Neutropenie brachte einen signifikant höheren Wert (im Mittel 4,29 Tage) bei den Patienten mit einer möglichen Aspergillose ( $p=0,018$ ). Patienten mit einer wahrscheinlichen Aspergillose hatten im Durchschnitt 2,75 Tage und Patienten ohne systemische Mykose 2,52 Tage neutropenes Fieber durchlaufen.

Desweiteren wurde die Anzahl der Fiebertage während der stationären Aufenthalte der Patienten mit und ohne systemische Mykose verglichen. In der univariaten Analyse ergab sich kein relevanter Zusammenhang ( $p=0,227$ ). Allerdings zeigte sich in der Regressionsanalyse ein vermehrtes Auftreten systemischer Pilzinfektionen bei Patienten mit langen Fieberphasen ( $p=0,032$ ). Die Wahrscheinlichkeit für eine invasive Mykose (*possible* oder *probable*) stieg mit jedem Fiebertag um den Faktor 1,14 an.

**Abbildung 4-19: Persistierendes neutropenes Fieber**



#### 4.6.9 Glukokortikoidapplikation

Innerhalb der ersten 100 Tage des Studienverlaufs wurde den Patienten im Mittel 25,17 ( $\pm 25,51$ ) Tage fortlaufend ein Steroid mit einer Prednisolon-Äquivalenz Dosis über 0,3mg/kg Körpergewicht verabreicht. Der Patient mit der

längsten Steroidapplikation erhielt 108 Tage die angegebene Dosierung. Sechs Patienten erhielten kein Steroid in entsprechender Dosierung.

Mit einem p-Wert von 0,025 bei dem Vergleich der durchschnittlichen Applikationsdauer in Tagen von systemischen Glukokortikoiden in adäquater Dosis (Prednisolonäquivalent mit einer Dosierung von mindestens 0,3mg/kg KG pro Tag) ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen Patienten ohne und mit (*possible* und *probable*) invasiver Mykose. Vergleich man allerdings nur Patienten ohne Hinweis auf eine systemische Mykose (*indeterminate*) mit Patienten, welche eine wahrscheinliche Aspergillose oder Fusariose innerhalb des halben Jahres entwickelt hatten, war der Unterschied der Mittelwerte nicht mehr statistisch signifikant ( $p=0,218$ ). Das gleiche Ergebnis ergab sich bei dem Vergleich der Patienten, welche die erwähnte Steroid-Dosis im aktiven Beobachtungszeitraum über mindestens 21 Tage verabreicht bekommen hatten und jenen, welche ein kürzeres Einnahmeintervall zu verzeichnen hatten. Auch hier zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Patienten mit einer wahrscheinlichen oder möglichen Mykose und den Patienten, welche als *indeterminate* klassifiziert wurden ( $p=0,011$ ). Jedoch ergab sich hier ebenfalls kein relevanter Unterschied in der Erkrankungshäufigkeit, wenn man direkt die wahrscheinlichen mit den unklassifizierten Fällen verglich ( $p=0,254$ ). In der multivariaten Analyse zeigte sich ein ähnliches Bild. Hier hatten Patienten mit einer prolongierten Steroidzufuhr ein signifikant höheres Risiko, an einer möglichen oder wahrscheinlichen Pilzinfektion zu erkranken ( $p=0,009$ ). Ein Einnahmemintervall unter 21 Tagen ergab sich als protektiver Faktor ( $OR=0,035$ ). Das Ergebnis konnte auch hier im direkten Vergleich von unklassifizierten und wahrscheinlichen Fällen nicht bestätigt werden, der Unterschied war nicht statistisch signifikant ( $p=0,38$ ).

#### 4.6.10 *Graft versus Host disease*

Sowohl das Auftreten einer akuten als auch das Auftreten einer chronischen Abstoßungsreaktion zeigte im Studienkollektiv keine statistisch relevante Korrelation mit der Wahrscheinlichkeit, an einer systemischen Mykose zu erkranken. Für die akute Abstoßungsreaktion ergab sich ein p-Wert von 0,942, für die chronische Abstoßungsreaktion zeigte sich ein p-Wert von 0,815. Die

Tabellen 4-4 und 4-5 zeigen die Häufigkeit der verschiedenen Klassifikationen einer Pilzinfektion bei Patienten mit und ohne Graft versus Host disease.

**Tabelle 4-4: Akute GvHd und Wahrscheinlichkeit für eine invasive Mykose**

		Klassifikation nach 6 Monaten				Gesamt
		Unklassifiziert	Mögliche Aspergillose	Wahrscheinliche Aspergillose	Wahrscheinliche Fusariose	
akute GvHd	neg.	10 (58,8%)	3 (17,6%)	4 (23,5%)	-	17
	pos.	15 (62,5%)	4 (16,7%)	4 (16,7%)	1 (4,2%)	24

**Tabelle 4-5: Chronische GvHd und Wahrscheinlichkeit für eine invasive Mykose**

		Klassifikation nach 6 Monaten				Gesamt
		Unklassifiziert	Mögliche Aspergillose	Wahrscheinliche Aspergillose	Wahrscheinliche Fusariose	
Chronische GvHd	unbekannt	-	1 (100%)	-	-	1
	negativ	16 (61,5%)	3 (11,5%)	6 (23,1%)	1 (3,9%)	26
	positiv	9 (64,3%)	3 (21,4%)	2 (14,3%)	-	14

#### 4.6.11 HCT-CI Score

Der HCT-CI Score lag bei den Patienten mit einer wahrscheinlichen Aspergillose bei durchschnittlich 2,88 Punkten ( $\pm 2,03$ ), wohingegen der Score bei den Patienten ohne Hinweis auf eine systemische Pilzinfektion (*indeterminate*) bei durchschnittlich 1,72 Punkten ( $\pm 1,46$ ) lag. Mit einem p-Wert von 0,086 war diese Differenz der Mittelwerte nicht signifikant verschieden, sodass man keine Prognose des Scores für die Entwicklung einer invasiven Mykose ableiten konnte. Die Mittelwerte des HCT-CI Scores von den Patienten mit einer möglichen Aspergillose ( $2,14 \pm 1,07$  Punkte) und von den Patienten mit der wahrscheinlichen Fusariose (2 Punkte) lagen genau zwischen den beiden anderen, oben angegebenen Werten.



#### 4.6.12 *Respiratorische Infektionen*

In den 100 Tagen aktiver Beobachtung erkrankten 14 Patienten an einem viralen, respiratorischen Infekt. In 10 Fällen wurden hierbei Rhinoviren als primäre Erreger diagnostiziert. Zusätzlich wurden in jeweils einem Fall Coronaviren, Inflenzaviren, RS-Viren und Parainflenzaviren nachgewiesen. Bei 25 Patienten konnten virologisch keine respiratorischen Erreger gefunden werden und bei zwei Personen wurde keinerlei Testung von Atemwegs-Material vorgenommen. Drei Studienteilnehmer mit einem nachgewiesenen viralen, respiratorischen Infekt erkrankten im Verlauf an einer möglichen und drei Studienteilnehmer an einer wahrscheinlichen Aspergillose (jeweils 21%). Sechzehn Prozent (4 Studienteilnehmer) der Patienten ohne viralen, respiratorischen Infekt entwickelten eine mögliche Aspergillose und 20% (5 Studienteilnehmer) eine wahrscheinliche Aspergillose. Ebenso trat die invasive Fusariose bei einem Patienten ohne viralem Atemwegsinfekt auf. Es zeigte sich bei dem Vergleich der beiden Kollektive (Patienten mit und ohne viralem Atemwegsinfekt) kein signifikanter Unterschied im Auftreten einer systemischen Mykose ( $p=1,0$ ).

#### 4.6.13 *Antibakterielle Therapie*

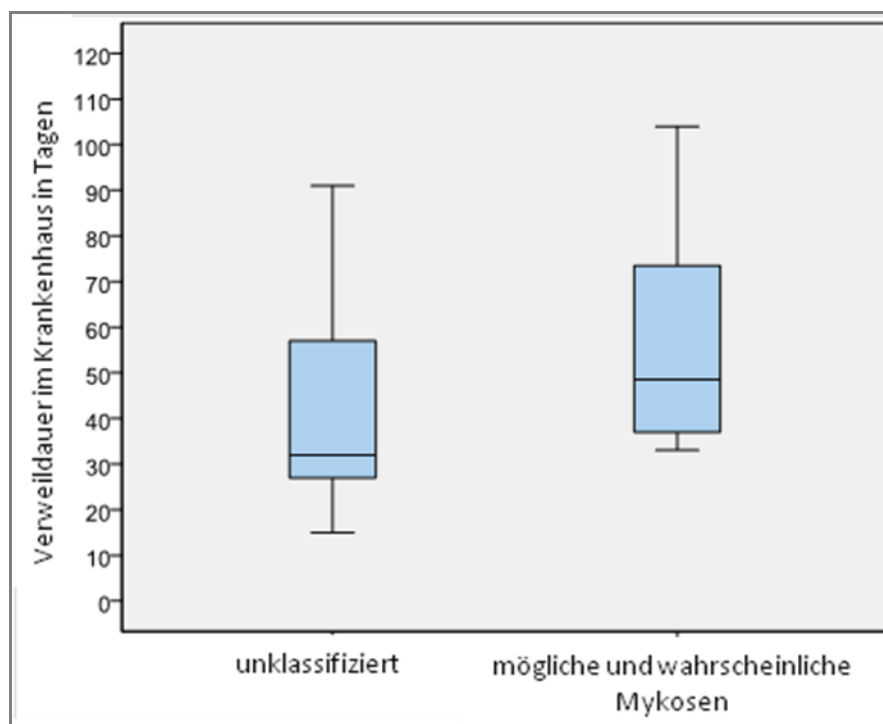
Es bestand weder ein Zusammenhang zwischen der Anzahl der verordneten Antibiotika innerhalb der ersten 100 Tage nach Konditionierung und dem Auftreten einer wahrscheinlichen Pilzinfektion ( $p=0,182$ ), noch zwischen der Anzahl der verordneten  $\beta$ -Lactam Antibiotika und dem Auftreten einer wahrscheinlichen Mykose ( $p=0,064$ ). (jeweils ohne mögliche Pilzinfektionen gerechnet) Die Anzahl der unterschiedlichen, verabreichten Antibiotika betrug bei den Patienten, welche als unklassifiziert eingestuft wurden,  $9,8\pm 7,1$ , bei den möglichen Aspergillose-Fällen  $9,3\pm 2,7$  und bei den wahrscheinlichen Mykosen  $10,1\pm 1,6$ . Die Anzahl der durchschnittlich verabreichten  $\beta$ -Lactam Antibiotika betrug bei den unklassifizierten Fällen  $2,4\pm 1,3$ , bei den möglichen Aspergillosen  $2,9\pm 0,9$  und bei den wahrscheinlichen Mykosen  $3,2\pm 0,8$ .

## 4.7 Relevanz invasiver Mykosen

### 4.7.1 Krankenhausverweildauer

Die durchschnittliche Verweildauer der Patienten im Krankenhaus von der stationären Aufnahme bis 100 Tage nach der Konditionierung lag bei  $47,3 \pm 22,2$  Tagen. Diejenigen Patienten, bei denen während des halben Jahres Beobachtung kein Hinweis auf eine invasive Mykose vorlag, verbrachten im Mittel 41,8 Tage ( $\pm 21,5$ , 95%iges CI:32,9;50,7) stationär am Universitätsklinikum. Die Patienten, welche einen Hinweis auf eine invasive Pilzinfektion lieferten (mögliche & wahrscheinliche Mykosen), verbrachten im Durchschnitt 55,9 Tage ( $\pm 21$ , 95%iges CI:44,8;67,1) im Krankenhaus. Somit ergab sich ein signifikanter Unterschied in der Krankenhausverweildauer von erkrankten und nicht erkrankten Personen ( $p=0,015$ ). Die Patienten mit einer wahrscheinlichen Mykose waren im Durchschnitt 55,8 Tage ( $\pm 17,9$ ; 95%iges CI:42;69,6) hospitalisiert. Auch im direkten Vergleich der wahrscheinlichen und unklassifizierten Fälle ergab sich eine signifikant längere Krankenhausverweildauer bei Patienten mit einer systemischen Mykose ( $p=0,031$ ).

**Abbildung 4-20: Durchschnittliche Verweildauer im Krankenhaus von der stationären Aufnahme bis 100 Tage nach der Konditionierung**



Bei 11 der 41 Studienpatienten (26,8%) war es auf Grund klinischer Verschlechterung in den ersten 100 Tagen notwendig, sie auf eine Intensivstation zu verlegen. Diese 11 Patienten verbrachten zwischen einem und 69 Tagen auf der Intensivstation, die mittlere Verweildauer aller Studienpatienten lag dort bei  $3,85 \pm 11,8$  Tagen. Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen der Dauer der Intensivstations-Aufenthalten der Patienten mit und ohne Hinweis auf eine invasive Mykose ( $p=0,622$ ). Die mittlere Dauer der Intensivstations-Aufenthalte lag bei den Patienten mit einer wahrscheinlichen Mykose bei  $8,44 \pm 22,8$  Tagen, die Patienten ohne Hinweis auf eine systemische Mykose lagen im Durchschnitt  $2,64 \pm 6,6$  Tage auf IC.

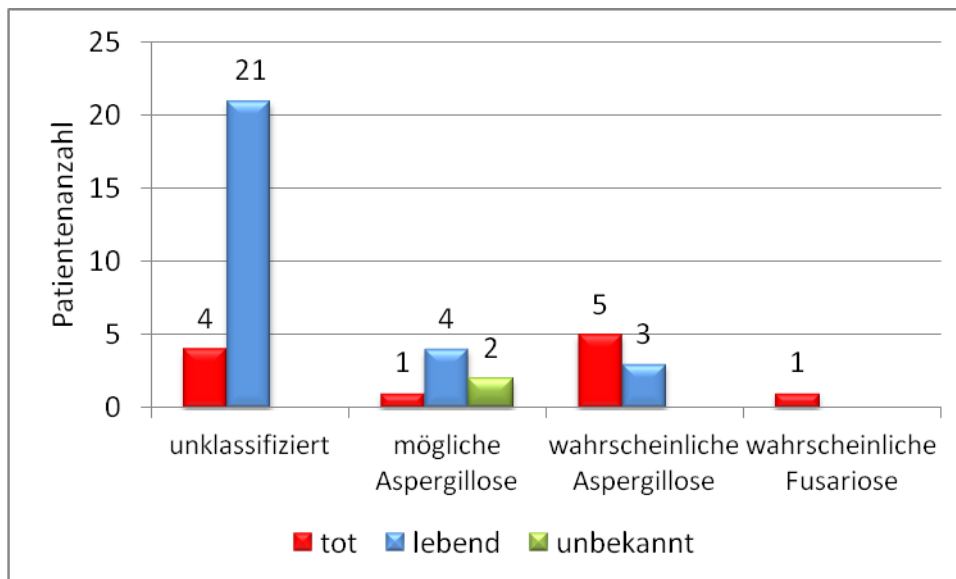
#### 4.7.2 Mortalität

Zum Zeitpunkt der ersten Analyse, 100 Tage nach Konditionierungs-Beginn, lebten von den 41 eingeschlossenen Patienten noch 32 Personen (78,0%). Acht Patienten (19,5%) waren während ihres stationären Aufenthalts am Universitätsklinikum verstorben und ein Patient war unter einem palliativen Therapiekonzept in ein heimatnahes Krankenhaus verlegt wurden, weshalb dessen Verlauf nicht bekannt ist. Sechs Monate nach der Konditionierung waren von den Studienteilnehmern 11 Personen (26,8%) verstorben und 28 Personen (68,3%) lebten. Bei insgesamt zwei Personen (4,9%, beide *possible*) konnte der Verbleib nicht ermittelt werden. In die folgenden Berechnungen gingen die beiden unklaren Fälle, soweit nicht anders erwähnt, nicht mit ein. Dementsprechend hatte das Studienkollektiv eine Gesamtmortalität von 28,2% im ersten halben Jahr nach der Konditionierung. Von den Patienten, die keine invasive Mykose in dem Zeitraum entwickelt hatten, waren lediglich 16% verstorben, wohingegen von den Patienten mit einer möglichen Aspergillose 20% und von denen mit einer wahrscheinlichen Aspergillose 62,5% verstorben waren. Zählt man die beiden *possible*-Fälle mit unklarem Überleben als „tot“, ergibt sich für die möglichen Aspergillose-Fälle eine Sterberate von 42,9%. Der Patient mit der invasiven Fusariose verstarb ebenfalls im Beobachtungszeitraum (siehe Abbildung 4-21).

Somit lag die Überlebenswahrscheinlichkeit der allogenen Stammzell-transplantierten Patienten nach 6 Monaten Studienlaufzeit bei 71,8% (ohne 2 unklare Fälle). Die kumulierte Überlebenszeit aller Studienteilnehmer lag bei

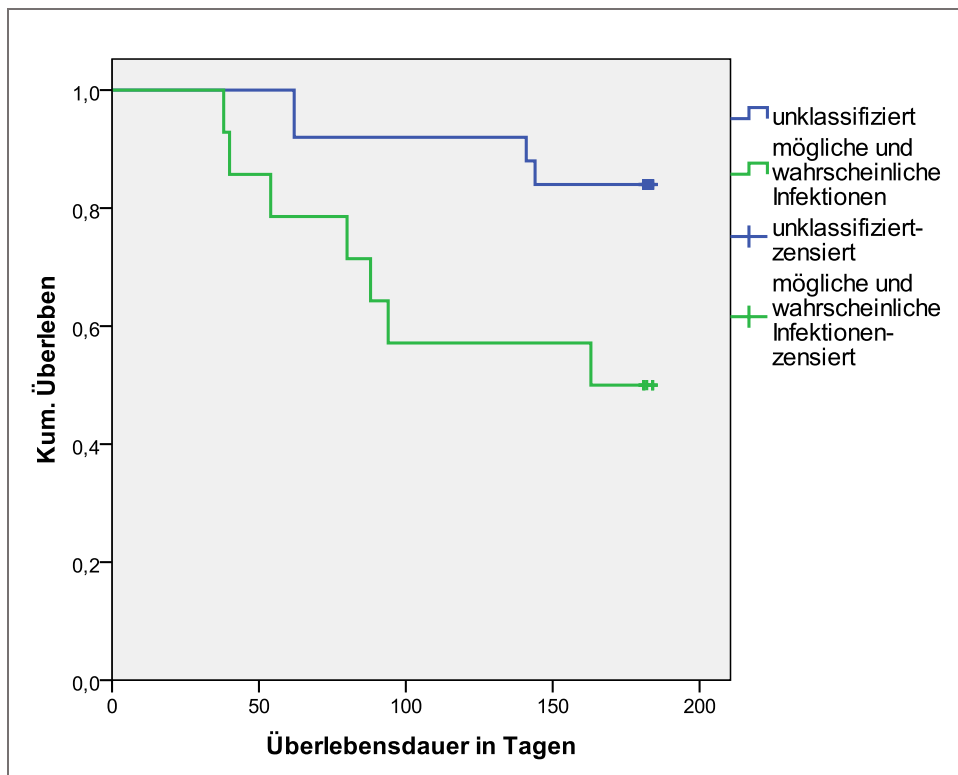
156,9 Tagen (95% CI:141,63;172,612). Der Schätzwert für die Patienten ohne systemische Mykose lag bei 170,9 Tagen und für Patienten mit einer systemischen Mykose (*possible* und *probable*) lag bei 131,8 Tagen. Dabei ergab sich ein signifikanter Unterschied der Überlebenswahrscheinlichkeiten in beiden Kollektiven ( $p=0,016$ ).

**Abbildung 4-21: Überleben nach 6 Monaten Studienlaufzeit**



Im Durchschnitt starben die Patienten  $87,8 \pm 43,6$  Tage nach dem Start der Konditionierung zur Vorbereitung auf ihre allogene Stammzelltransplantation. Der früheste Todesfall im Beobachtungszeitraum trat 38 Tage nach der Chemotherapie ein, der späteste 163 Tage danach. Der Kaplan-Meier Kurve in Abbildung 4-22 kann man die Todeszeitpunkte der einzelnen Studienteilnehmer in Abhängigkeit von ihrer EORTC-MSG Klassifikation entnehmen. Bei den Patienten mit einer möglichen oder wahrscheinlichen invasiven Aspergillose beziehungsweise einer invasiven Fusariose trat der Tod im Mittel  $39,7 \pm 19,2$  Tage nach der Erstdiagnose der Pilzinfektion ein. Der Studienteilnehmer mit der Fusariose verstarb schon 10 Tage nach der Diagnosestellung und somit zum frühesten Zeitpunkt nach Bekanntwerden der invasiven Mykose. Der einzige nicht überlebende Patient mit einer möglichen Aspergillose verstarb 32 Tage nach der Erstdiagnose und die Patienten mit einer wahrscheinlichen Aspergillose verstarben im Mittel 47,2 Tage nach der Erstdiagnose.

**Abbildung 4-22: Überlebenskurven für Patienten mit und ohne systemische Mykose ohne unklare Fälle (zwei mögliche Aspergillosen)**



Innerhalb der Untergruppe der Patienten, welche eine wahrscheinliche Pilzinfektion entwickelte, fand sich mit einem p-Wert von 0,775 hinsichtlich des Geschlechts keine signifikant unterschiedliche Überlebenswahrscheinlichkeit. Allerdings ließ sich ein leichter Trend erkennen, dass Männer häufiger als Frauen verstarben, wenn eine wahrscheinliche Mykose bei ihnen diagnostiziert wurde. Auch der Vergleich der Sterberaten in den beiden Geschlechtern bei *possible*- und *probable*-Fällen erbrachte keinen Hinweis darauf, dass das Geschlecht eine Determinante der Überlebenswahrscheinlichkeit sein könnte ( $p=0,65$ ).

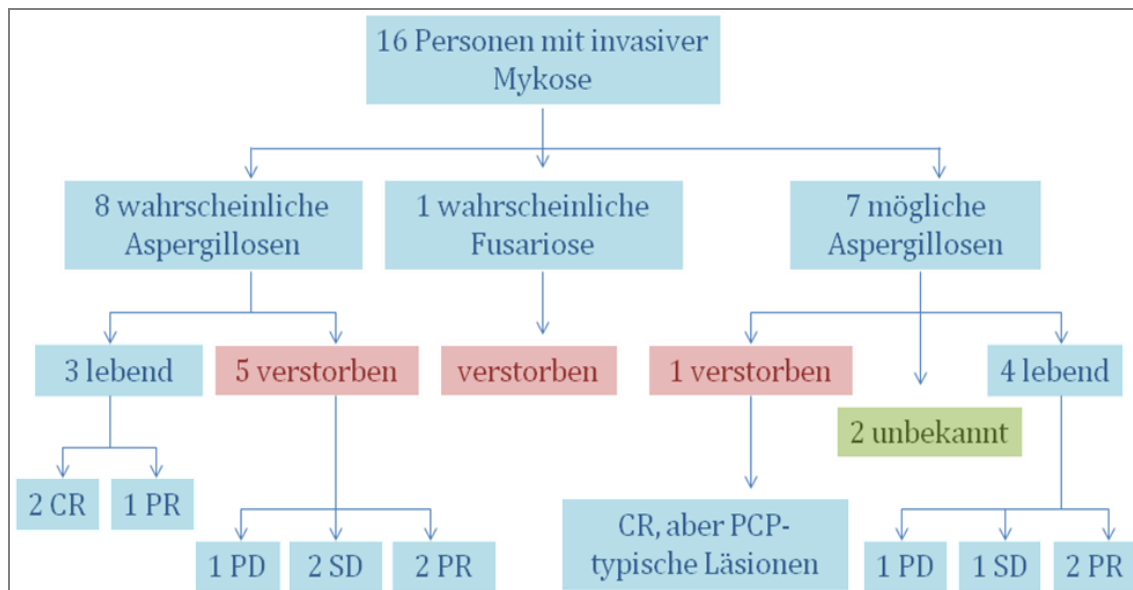
#### 4.7.3 Last follow up: Entwicklung der invasiven Mykosen

Von den 41 allogenen Stammzell-transplantierten Patienten, die an der vorliegenden Studie teilnahmen, erkrankten 16 Personen innerhalb eines halben Jahres an einer invasiven Pilzinfektion. Dabei waren 8 Fälle einer wahrscheinlichen Aspergillose, 7 Fälle einer möglichen Aspergillose und ein Fall einer wahrscheinlichen Fusariose zu verzeichnen. Von den insgesamt 9

*probable*-Fällen überlebten lediglich drei Patienten mit einer invasiven Aspergillose die 6 Monate Beobachtungszeit. Zwei von ihnen befanden sich zum Zeitpunkt des Follow-ups in einer kompletten Remission (CR) der invasiven Mykose. Bei dem dritten Patienten konnte die Entwicklung der Mykose nicht beurteilt werden, da nach einem zwar regredienten, aber immer noch pilztypischen Befund im CT am Ende der 100 Tage keine weitere Schnittbildgebung durchgeführt wurde. Von den verstorbenen Patienten mit einer wahrscheinlichen Aspergillose wiesen zwei Personen zum Zeitpunkt der letzten Datenerhebung vor ihrem Tod unveränderte, pilztypische Infiltrate auf (stable disease). Bei einem Patient war vor dem Tod eine progressive Pilzinfektion der Lunge zu verzeichnen und bei zwei Personen waren im letzten angefertigten thorakalen CT lediglich noch unspezifische Befunde zu erheben (partielle Remission). Der Patient mit der invasiven Fusariose verstarb vor Ablauf des halben Jahres, bis zum Schluss wies er unspezifische, thorakale Veränderungen in der Bildgebung auf.

Von den 7 möglichen Mykosen lebten 4 Patienten am Ende des ersten halben Jahres, bei zwei weiteren Personen konnte das 6-Monats Überleben nicht ermittelt werden. In beiden Fällen wurde zum Zeitpunkt der letzten Datenerhebung eine progressive pulmonale Pilzinfektion nachgewiesen. Der einzige sicher verstorbene *possible*-Fall wies in seinem letzten CT keine Aspergillus-typischen, pulmonalen Herde mehr auf, es fanden sich jedoch *Pneumocystis jirovecii* Pneumonie-verdächtige Läsionen. Bei zwei der überlebenden Patienten zeigte das letzte thorakale CT eine regrediente Erkrankung. In einem Fall war der vorbestehende Lungenherd größenregredient, aber immer noch pilztypisch und in dem anderem Fall war lediglich noch ein unspezifisches Residuum nachzuweisen. Die beiden weiteren überlebenden *possible*-Fälle befanden sich bei der letzten Datenerhebung im Stadium einer stabilen Pilzinfektion bzw. einer progredienten Erkrankung. (siehe Abbildung 4-23)

**Abbildung 4-23: Verlauf der invasiven Mykosen in Abhängigkeit vom Überleben nach 6 Monaten (letztes ausgewertetes CT; CR: komplette Remission, PR: partielle Remission, PD: progressive Erkrankung, SD: stabile Erkrankung)**



#### 4.7.4 Behandlungserfolg der antimykotischen Therapie bei wahrscheinlichen Aspergillosen

Bei allen drei Patienten, die alleinig mit Voriconazol ohne Zweitlinien-Therapie behandelt wurden, konnte ein Ansprechen der Infektion auf das Medikament erzielt werden. Bei einem Patienten wurde eine komplette Remission und bei zwei Patienten eine partielle Remission der Pilzinfektion erreicht. Trotzdem starb einer der Patienten mit partieller Remission. Ein Patient, der initial mit Posaconazol und als Zweitlinien-Therapie mit Voriconazol behandelt wurde, wies am Ende des halben Jahres keinerlei Pilz-spezifische Veränderungen der Lunge mehr auf (komplette Remission) und lebte auch am Ende des Beobachtungszeitraums. Der Studienteilnehmer, dessen antimykotische Therapie aus Caspofungin, gefolgt von Voriconazol, bestand, verstarb im Verlauf der Therapie und hatte zum Todeszeitpunkt eine progressive, systemische Mykose. Zwei Patienten, welche initial mit liposomalem Amphotericin B (Ambisome) therapiert wurden und im Anschluss Voriconazol bzw. Posaconazol einnahmen, zeigten am Ende der Datenerhebung keine Veränderung der pilztypischen Infiltrate im CT und wurden daher als stable disease klassifiziert. Ein weiterer Patient, welcher erst liposomales Amphotericin B und dann Voriconazol einnahm, zeigte eine weitgehend partielle

Remission mit lediglich unspezifischen Residuen in der Schnittbildgebung. Alle Patienten mit liposomalem Amphotericin B in der Erstlinien-Therapie verstarben innerhalb des Studienverlaufs.



## 5 Diskussion

### 5.1 Überblick

In der vorliegenden Arbeit wurden die Daten von 41 hämatologischen und onkologischen Patienten ausgewertet, welche eine Konditionierungs-Chemotherapie mit nachfolgender allogener Stammzelltransplantation am Universitätsklinikum Würzburg erhielten. Infektionen stellen in diesem Risikokollektiv trotz ausgedehnter prophylaktischer Strategien und verbesserter Diagnostik eine der wichtigsten Komplikationen dar und sind eine relevante Ursache für eine erhöhte Mortalität, verlängerte Krankenhausaufenthalte und hohe zusätzliche, pharmako-ökonomische Kosten. Vor allem humanpathogene Pilze spielen in den letzten Jahrzehnten eine immer größere Rolle als Verursacher von systemischen Infektionen nach allogener Stammzelltransplantation. ([Chi et al., 2013],[Des Champs-Bro et al., 2011] Aus diesem Grund untersuchte diese Studie die Inzidenz invasiver Mykosen im genannten Patientenkollektiv, die möglichen Risikofaktoren zur Entwicklung einer systemischen Mykose und die Überlebenswahrscheinlichkeit der erkrankten Personen.

### 5.2 Studienergebnisse

#### 5.2.1 Inzidenz invasiver Mykosen

Es konnte gezeigt werden, dass im Zeitraum vom 06.06.2012 bis 04.06.2013 am Universitätsklinikum Würzburg 17,07% der allogenen transplantierten Patienten innerhalb der ersten 40 Tage nach der Konditionierung (frühe Infektion) eine wahrscheinliche invasive Aspergillose entsprechend der aktuellen EORTC-MSG Kriterien entwickelten. Nach einem Beobachtungszeitraum von 100 Tagen war 19,51% des Studienkollektivs an einer wahrscheinlichen invasiven Mykose erkrankt. Ein halbes Jahr nach der Konditionierung betrug der Anteil der an einer wahrscheinlichen invasiven Mykose (Aspergillose oder Fusariose) erkrankten Patienten insgesamt 21,95%. Acht Patienten (19,51%) waren an einer wahrscheinlichen Aspergillose und ein Patient an einer wahrscheinlichen Fusariose erkrankt. Zusätzlich hatten 17,07%

der Studienteilnehmer eine mögliche Aspergillose entwickelt. Sechs Monate nach der Konditionierung entsprach dies einer Inzidenz an invasiven Mykosen von 39,02%. Um die Ergebnisse vergleichbarer zu machen und da in den meisten Studien nur sichere (*proven*) und wahrscheinliche (*probable*) Fälle in die Rate invasiver Mykosen mit einbezogen werden, sind im Folgenden die 22% der Patienten mit einer gesicherten oder wahrscheinlichen invasiven Pilzinfektion zu berücksichtigen.

In einer italienischen Studie, welche von 1999-2003 durchgeführt wurde und die Daten von 11.802 Patienten auswertete, lag die durchschnittliche Inzidenz systemischer wahrscheinlicher und gesicherter Mykosen bei Patienten mit einer hämatoonkologischen Grunderkrankung mit 4,6% deutlich niedriger als in unserer Erhebung [Pagano et al., 2006]. Allerdings handelte es sich hierbei nicht um Hochrisiko-Patienten nach einer allogenen Stammzelltransplantation und es wurden nicht die gleichen EORTC-MSG Kriterien verwendet. In einer neueren, ebenfalls großen italienischen Studie lag die Inzidenz invasiver wahrscheinlicher und gesicherter Mykosen ein Jahr nach der allogenen Transplantation bei 8,8% [Girmania et al., 2014]. Garcia-Vidal et al. hingegen beschrieben eine Inzidenz von invasiven Schimmelpilzinfektionen bei allogenen Stammzelltransplantat-Empfängern von 13,1% nach 12 Monaten [Garcia-Vidal et al., 2008]. Lortholary et al. beobachteten 12 Monate nach einer allogenen Stammzellübertragung eine Inzidenz invasiver Aspergilloser von 8,1% [Lortholary et al., 2011]. In einer Studie aus Seattle, in der von 1989 bis 2004 336 Patienten eine myeloablative Konditionierung zur Vorbereitung auf eine allogene Stammzelltransplantation erhielten, entwickelten 33 Personen, also annähernd 10%, eine invasive Aspergillose [Bochud et al., 2008]. Lass-Flörl et al. nannten in ihrem Review eine Inzidenz von invasiven Aspergillosern in Europa bei allogenen transplantierten Patienten zwischen 6,3% und 23% und Chi et al. beschrieben eine Rate an invasiven Aspergillosern nach allogener SZT zwischen 5% und 30% ([Lass-Flörl et al., 2009],[Chi et al., 2013]). Weiterhin beschrieben Zhang et al. eine kumulative Inzidenz invasiver Mykosen von 19,8% unter allogenen-transplantierten, chinesischen Studienteilnehmern [Zhang et al., 2010]. Neofytos et al. beobachteten bei über 1000 allogenen transplantierten Patienten eine Inzidenz an invasiven Schimmelpilzinfektionen von nur 3,8% [Neofytos et al., 2013]. Insgesamt liegt unser Studienergebnis im

internationalen Vergleich also im oberen Drittel der beschriebenen Inzidenz invasiver Mykosen.

Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass in Würzburg routinemäßig ein hoher diagnostischer Aufwand zur Früherkennung einer potentiellen Pilzinfektion betrieben wird. So findet zum Beispiel im Gegensatz zu einigen Zentren zweimal wöchentlich eine Galactomannan-Bestimmung im Serum der Patienten statt. Weiterhin werden regelmäßig thorakale CT-Untersuchungen angeordnet und im Rahmen von Studien regelmäßig PCR-Untersuchungen des Serums auf Pilz-DNA durchgeführt. Dieses Vorgehen erhöht die Wahrscheinlichkeit, insbesondere Aspergillus-Infektionen diagnostizieren zu können. Eine weitere Möglichkeit wäre, dass die Inzidenz invasiver Mykosen, wie in einigen Studien beschrieben, weiterhin steigt und unser Ergebnis ein Ausdruck dieser Entwicklung ist. Eine lokal erhöhte Inzidenz kann zum jetzigen Zeitpunkt ebenso nicht ausgeschlossen werden. Zusätzlich liegt in der vorliegenden Studie jedoch ein relativ kleines Studienkollektiv vor, welches sich schwer mit Studien an mehreren hundert oder tausend Teilnehmern vergleichen lässt, da sich mögliche Ausreißer statistisch bedeutsamer auswirken. Insbesondere ist auch zu berücksichtigen, dass es sich hier im Gegensatz zu den meisten aufgeführten Publikationen nicht um eine retrospektive, sondern um eine prospektive Untersuchung handelte.

### 5.2.2 Primärer Infektionsort der Pilzkrankungen

In der vorliegenden Arbeit konnte keine Infektion außerhalb der Lunge nachgewiesen werden. Diese Präferenz invasiver Mykosen für den respiratorischen Trakt deckt sich mit den Ergebnissen früherer Untersuchungen. So zeigten Lin et al. beispielsweise, dass in ihrer Studie 85,2% der invasiven Pilzinfektionen bei hämatologischen Patienten primär im Respirationstrakt vorzufinden waren, Rabagliati et al. beschrieben immerhin einen Anteil der Lungeninfektionen von 77% ([Lin et al., 2013], [Rabagliati et al., 2009]). Auch bei Lortholary et al. stellte die Lunge mit 92,9% der Fälle den bevorzugten Infektionsort von *Aspergillus spp.* dar [Lortholary et al., 2011]. Jedoch kamen in anderen Erhebungen auch Infektionen außerhalb der Lunge vor, so zum Beispiel im Larynx, in den Nasennebenhöhlen und im ZNS [Rabagliati et al., 2009]. Diese extrapulmonalen Infektionen werden unter

anderem mit Hilfe von kranialen bzw. zerebralen CT`s (sinunasale- & ZNS-Manifestation) sowie bioptisch gewonnenen Proben (Hautmanifestation) diagnostiziert [Pagano et al., 2001]. Insbesondere diese invasive Diagnostik wurde bei nahezu keinem Patienten im Studienkollektiv angewendet. Es konnte folglich auch keine gesicherte (*proven*) Infektion außerhalb der Lunge beobachtet werden. Vor allem chirurgische Techniken zur Diagnose-Sicherung werden bei Patienten nach allogener Stammzelltransplantation meist vermieden, da es zu massiven Blutungen auf Grund einer Thrombozytopenie und zur verzögerten Wundheilung und Erholung nach der anstrengenden Prozedur kommen kann. Für eine solche invasive Diagnostik ist aber der Nachweis einer lokalen, z.B. zerebralen, Manifestation eine essentielle Voraussetzung. So ist es möglich, dass durch die am Universitätsklinikum Würzburg in der Stammzelltransplantation durchgeführte, intensivierete Diagnostik Infektionen früh erkannt und sekundäre Manifestation verhindert werden konnten. Auch Blutstrom-Infektionen durch Hefepilze wurden nicht beobachtet. Für eine abschließende Bewertung dieser sehr niedrigen Inzidenz von Candidämien ist das Patientenkollektiv jedoch zu klein (s. Kapitel 5.2.3).

### 5.2.3 Erregerverteilung

In der vorliegenden Arbeit war der Erreger *Aspergillus spp.* mit 93,8% der Fälle überproportional häufig vertreten. Lediglich in einem Fall wurde eine Infektion mit *Fusarium*-Spezies beobachtet. Diese hohe Inzidenz an *Aspergillus spp.*-verursachten Infektionen bestätigt das Ergebnis publizierter Studien. Bei Li et al. lag der Anteil von *Aspergillus spp.* an invasiven Schimmelpilzinfektionen unter allogenen transplantierten Patienten beispielsweise bei 85% [Li et al., 2012]. Rabagliati et al. wiesen eine Erregerverteilung bei hämato-onkologischen und Stammzell-transplantierten Patienten mit invasiven Mykosen von 63,4% für *Aspergillus spp.*, 17,1% für *Candida spp.*, 9,8% für *Mycormycosis spp.* und 4,9% für *Fusarium*-Spezies nach [Rabagliati et al., 2009]. Garcia-Vidal et al. nannten einen Anteil von *Aspergillus spp.* an Schimmelpilzinfektionen bei allogenen-transplantierten Patienten von 88% [Garcia-Vidal et al., 2008]. Auch Yong et al. beschrieben *Aspergillus spp.* als häufigsten Erreger von Schimmelpilzinfektionen bei immunsupprimierten Patienten [Yong et al., 2013]. Des Champs et al. untersuchten retrospektiv über 1000 Patienten eines

französischen, hämatoonkologischen Zentrums auf mögliche, wahrscheinliche oder gesicherte invasive Pilzinfektionen und kamen auf einen Anteil von 66% für den Erreger *Aspergillus spp.* [Des Champs-Bro et al., 2011]. Da in Würzburg der Erregernachweis fast ausschließlich über den Galactomannan-Nachweis erfolgte, war eine Differenzierung der Spezies nicht möglich. Zudem können auch Kreuzreaktionen, zum Beispiel durch *Penicillium spp.*, nicht ausgeschlossen werden. Insgesamt ist es bemerkenswert, dass in diesem Würzburger Kollektiv keine Hefepilzinfektion nachgewiesen wurde. Zwar konnte bei 20 Patienten eine Kolonisation mit *Candida spp.* in mindestens einer Körperregion beobachtet werden und 4 Patienten hatten den Nachweis von *Saccharomyces spp.* im Stuhl, Rachen- oder Trachealsekret vorzuweisen, eine Infektion wurde aber in keinem Fall diagnostiziert. Insgesamt wurden im Studienkollektiv 288 Blutkulturen (je aerob und anaerob) in den 100 Tagen aktiver Nachverfolgung angelegt, es fand sich jedoch keine Candidämie. Bei einer bereits 2012 für die Würzburger Hämatologie und Onkologie beschriebenen Candidämierate von 0-0,32% pro Hospitalisation ist für die Untersuchung von systemischen Hefepilzinfektionen ein größeres Kollektiv erforderlich [Zirkel et al., 2012].

#### 5.2.4 Infektionszeitpunkt

Das Risiko, an einer wahrscheinlichen invasiven Mykose zu erkranken, war im Studienkollektiv im ersten Monat nach der Konditionierung mit 17,07% am größten. Es stieg bis zum Ende des Beobachtungszeitraums nur auf 21,95% an. Über 77% der Infektionen traten demnach in der frühen Phase nach der Stammzelltransplantation auf und jeweils 11,1% im späten und sehr späten Zeitraum nach der Transplantation. Auch in einer großen, aktuellen Studie aus Italien mit über 1800 Studienteilnehmern wurde der Großteil der Erstdiagnosen einer invasiven Mykose in den ersten 40 Tagen nach der allogenen Stammzellübertragung gestellt. Hier lag die Inzidenz invasiver wahrscheinlicher und gesicherter Mykosen bei 5,1%, 6,7% und 8,8% an Tag 40, 100 beziehungsweise 365 nach der Transplantation [Girmania et al., 2014]. Dem widersprechend beobachteten Garcia-Vidal et al., die über 1200 Patienten in ihre Studie einschlossen, vor allem späte Pilzinfektionen nach einer allogenen Stammzelltransplantation. In den ersten 40 Tagen traten in ihrer

amerikanischen Erhebung 22% der invasiven Pilzinfektionen auf, 40% beziehungsweise 38% der Pilzinfektionen wurden spät oder sehr spät nach der Stammzellübertragung diagnostiziert. [Garcia-Vidal et al., 2008] Marr et al. waren einige Jahre vorher auf ein ähnliches Ergebnis gekommen. Auch sie beschrieben in einem Kollektiv von über 1600 Patienten eine Tendenz hin zu späten Pilzinfektionen. Dreißig Prozent der Fälle traten bei ihnen innerhalb der ersten 40 Tage nach der Transplantation auf, die restlichen 70% ereigneten sich im späten und sehr späten Zeitraum. [Marr et al., 2002a] Da die beiden letztgenannten Studien jedoch einen Zeitraum von 1993 bis 2002 erfassen, also schon über 10 Jahre alt sind, wäre es möglich, dass der aktuelle Trend tatsächlich in Richtung der frühen Infektionen geht. Dagegen spricht allerdings eine Studie, welche ihre Daten zwischen 2004 und 2007 in Nordamerika erhob. In dieser Studie von Neofytos et al. lag der mittlere Erkrankungszeitpunkt bei 77 Tagen für invasive Candidosen beziehungsweise 82 Tagen für invasive Aspergillosen nach einer autologen oder allogenen Stammzelltransplantation [Neofytos et al., 2009]. Auch in der Multizenterstudie von Lortholary et al. traten 68% der invasiven Aspergillosen später als 100 Tage nach der allogenen Transplantation auf. Lediglich 19% der Krankheitsfälle ereigneten sich im frühen Zeitraum. [Lortholary et al., 2011] Berücksichtigt werden sollte hier jedoch auch, dass bei mehreren Patienten die Aspergillose erst nach Einleitung der Konditionierung diagnostiziert wurde, typische CT-Veränderungen aber bereits vorher beobachtet wurden. Es ist möglich, dass die Infektion zum Beispiel bereits während der Induktions-Chemotherapie der AML aufgetreten war. Dies kann auch einen Beitrag zu der relativ hohen Inzidenz leisten. Bei allen Vergleichen ist zusätzlich zu bedenken, dass ein Teil der möglichen, sehr späten Infektionsfälle in unserer Studie nicht erfasst werden konnte, da sich die Nachbeobachtung nur bis 180 Tage nach der Transplantation erstreckte. Es ist möglich, dass auch nach dem halben Jahr Studiendauer noch Patienten an einer invasiven Mykose erkrankten und die wirkliche Rate an sehr späten Infektionen über den erhobenen 11,1% lag.

## 5.2.5 Untersuchungsmethoden

### 5.2.5.1 Galactomannan-Bestimmung

Jeder Studienteilnehmer wurde regelmäßig im Serum auf das Aspergillus-Antigen Galactomannan getestet. Insgesamt hatten 31,7% der Patienten mindestens einmal einen Galactomannan-Index über 0,5 und 24,4% hatten mindestens zweimal ein solches Ergebnis. Die Spezifität der Galactomannan-Testung war mit 74% besser als die der PCR-Untersuchung. Alle Patienten mit wahrscheinlicher Aspergillose hatten zwei positive Galactomannan Werte, formal einer Sensitivität von 100% entsprechend. Es muss allerdings darauf hingewiesen werden, dass Galactomannan selbst in die EORTC-MSG Kriterien zur Diagnose einer Aspergillus-Infektion eingeht und die Analyse zur Sensitivität und Spezifität daher nur eingeschränkt verwertbar ist. Insbesondere erfolgte die Klassifikation als wahrscheinliche Aspergillose im untersuchten Studienkollektiv ausschließlich auf Basis des Galactomannan-Werts. In der Multizenterstudie von Lortholary et al. wurden in Frankreich über 400 wahrscheinliche und gesicherte Aspergillose-Fälle unterschiedlichster Fachrichtungen untersucht, wobei immerhin 88% mindestens zweimal pro Woche eine Galactomannan-Bestimmung erhielten. Hier zeigte sich, dass bei allogenen transplantierten Patienten und Personen mit einer akuten Leukämie immerhin 69% der Indexfälle mindestens zweimal ein positives Ergebnis zu verzeichnen hatten. [Lortholary et al., 2011] Dementsprechend erscheint es sinnvoll, gerade Patienten mit mehreren positiven Untersuchungsergebnissen gezielt auf thorakale oder extrapulmonale Infektionsherde zu untersuchen, um die Personen gegebenenfalls entsprechend der EORTC-MSG Kriterien klassifizieren und behandeln zu können. Wheat et al. beschrieben in ihrem Review eine Sensitivität des genannten Verfahrens zwischen 56% und 100%. Eine schlechtere Sensitivität ergab sich beispielsweise bei einer vorher durchgeführten, antimykotischen Prophylaxe. Die Spezifität lag in ihrer Analyse zwischen 82% und 99%. [Wheat et al., 2006] In einem Cochrane-Review wurde eine Gesamt-Sensitivität des Verfahrens von 78% (61% bis 89%) und eine Gesamt-Spezifität von 81% (72% bis 88%) errechnet, wenn ein Grenz-Wert von 0,5 verwendet wurde, wie es inzwischen von Herstellern empfohlen wird und auch in Würzburg der Fall ist. In den Studien, in denen ein Cut off-Wert von 1

oder 1,5 verwendet wurde, lag die Sensitivität entsprechend niedriger und die Spezifität höher. [Leefflang et al., 2008] Es zeigt sich demnach, dass in Würzburg die Sensitivität der GM-Untersuchung wie erwartet sehr gut war, die Spezifität jedoch schlechter als in anderen Studien ausfiel. Wheat et al. beschrieben diesbezüglich eine Korrelation falsch positiver Ergebnisse mit der Einnahme einiger  $\beta$ -Lactam Antibiotika wie Piperacillin/Tazobactam [Wheat et al., 2006]. Als weitere wichtige Ursache einer schlechten Spezifität kommen Kreuzreaktionen mit anderen Pilzen, wie *Histoplasma spp.* und *Fusarium spp.* in Frage ([Narreddy et al., 2008],[Nucci et al., 2014]). Zusätzlich ist die Verbindung zwischen falsch positiven GM-Ergebnissen und Galactomannan-haltigen Bluttransfusionen [Martin-Rabadan et al., 2012], intravenösen Gluconat-haltigen Hydrierungslösungen wie PLASMA-LYTE [Racil et al., 2007] und einer unsterilen Aufarbeitung der Blutproben im Labor [Girmenia et al., 2007] in früheren Studien beschrieben wurden. Lediglich die Einnahme aller Antibiotika, so auch von Piperacillin/Tazobactam, wurde im Rahmen der vorliegenden Studie erfasst. Hier ergab sich, dass 4 der 6 unklassifizierten Patienten (67%), welche ein positives GM-Ergebnis aufwiesen, zum Zeitpunkt der Testung oder maximal eine Woche vorher mit dem  $\beta$ -Lactam Antibiotikum therapiert wurden. Die anderen zwei Personen wiesen das positive GM-Resultat schon vor der Konditionierung auf, sodass auf Grund fehlender Daten zur Antibiotika-Therapie aus diesem Zeitraum keine Aussage bezüglich eines möglichen Zusammenhangs getroffen werden kann. Da jedoch insgesamt 93% aller Patienten in den 100 Tagen aktiver Beobachtung mit Piperacillin/Tazobactam therapiert wurden, aber nur ein Teil der Personen positive Antigen-Ergebnisse aufwies, ist in unserer Studie kein signifikanter Zusammenhang mit falsch positiven Resultaten zu ziehen.

#### 5.2.5.2 Polymerasekettenreaktion

Die PCR-Untersuchung des Serums auf *Aspergillus*-DNA, welche bei 68,3% der Patienten durchgeführt wurde, erbrachte bei einem einmalig positiven Ergebnis eine sehr gute Sensitivität in der Detektion von wahrscheinlichen Aspergillosen (100%), jedoch nur eine geringe Spezifität (55%). Bei einem zweimalig positiven Ergebnis lag die Sensitivität nur noch bei 25%. Insgesamt hatten 60% der getesteten Personen mindestens einmal ein positives Ergebnis



und 17,9% mindestens zweimal ein solches Ergebnis. Khot et al. beschrieben in ihrem Review eine Sensitivität der PCR-Untersuchung im Serum/Vollblut der Patienten zwischen 55% und 100%. Die Spezifität lag bei ihrer Analyse zwischen 63% und 100%. Tendenziell lag die Spezifität eher im oberen Drittel, also zwischen 80% und 100%. Jedoch wiesen sie auch auf die großen Unterschiede in den Ergebnissen der Studien und die sehr uneinheitliche Bewertung der PCR-Untersuchung im Vergleich zur Galactomannan-Bestimmung hin. [Khot et al., 2009] Eine weitere Übersichtsarbeit nannte eine Sensitivität zwischen 45% und 92% und eine Spezifität von 72% bis 100% für die PCR-Untersuchung [Wheat et al., 2006]. Es ist jedoch zu beachten, dass die Aspergillus-PCR entgegen dem Galactomannan-Antigen Nachweis nicht in die EORTC-MSG Klassifikation zur Diagnostik invasiver Mykosen eingeht. Dadurch wird bei einem falsch negativen GM-Wert und fehlendem, anderem mikrobiologischen Nachweis eine positive PCR irrtümlich als falsch gewertet. Daher ist ein direkter Vergleich auf Basis der EORTC-MSG Kriterien nicht möglich. Insgesamt zeigt die Aspergillus-PCR in der Mehrzahl der Untersuchungen eine bessere Spezifität als Sensitivität, was dem Ergebnis unserer Studie widerspricht. Zu erwähnen ist hierbei allerdings, dass lediglich die Hälfte der *probable*-Fälle, also 4 Patienten, überhaupt auf Pilz-DNA getestet wurde. Dies lässt sich darauf zurückführen, dass die PCR-Untersuchung am Universitätsklinikum Würzburg nur im Rahmen von Studien durchgeführt wurde und nur ein Teil der Patienten in diese Studien eingeschlossen werden konnte. Aus diesem Grund konnten bei der Berechnung der Sensitivität und Spezifität nur 4 wahrscheinliche Fälle mit 21 unklassifizierten Fällen verglichen werden, dieses Kollektiv ist daher nur eine Subgruppe einer laufenden PCR-Studie und unzureichend für eine weitere Analyse. Auch Khot et al. und Wheat et al. beschrieben die große Schwankungsbreite der Aussagekraft der PCR-Untersuchung in verschiedenen Studien ([Khot et al., 2009],[Wheat et al. 2006]). Insgesamt ist die Untersuchung von den lokalen Gegebenheiten am Studienort, dem Testverfahren und dem jeweiligen Patientenkollektiv abhängig und schwer zwischen verschiedenen Zentren zu vergleichen.

Im Durchschnitt war die DNA-Detektion schon einen Monat (30,75 Tage) vor der Diagnose einer invasiven Mykose zum ersten Mal positiv. Im Einzelnen lieferte die PCR 18, 24 beziehungsweise 106 Tage vor der Diagnose einer

wahrscheinlichen Aspergillose ein positives Resultat. Nur bei einem weiteren Studienteilnehmer mit invasiver Aspergillose war das Ergebnis erst 25 Tage nach der Erstdiagnose positiv. Hebart et al. beschrieben eine durchschnittliche Zeitspanne von 9 Tagen vom Erregernachweis mittels PCR bis zur klinischen Diagnose einer invasiven Aspergillose, wobei auch bei ihnen der Zeitraum zwischen 2 und 34 Tagen schwankte [Hebart et al., 2000]. Es zeigt sich jedoch die Tendenz, dass die PCR schon vor der klinischen Diagnosestellung einer Pilzinfektion ein positives Ergebnis liefert, sich also in Kombination mit der Galactomannan-Bestimmung zur Früherkennung von invasiven Aspergillosen eignet. Da Silva et al. schlugen beispielsweise auf Grund ihrer beobachteten, hohen Übereinstimmung zwischen PCR und GM-Testung bei negativen Ergebnissen die PCR als Bestätigungstest von positiven GM-Ergebnissen vor [Da Silva et al., 2014].

#### 5.2.5.3 Thorakale Computertomografie

Bei der Betrachtung aller pilztypischen, thorakalen CT-Befunde zeigte sich, dass der hyperdense Rundherd mit oder ohne Halo den Großteil der Formationen ausmachte. Zu diesem Ergebnis kamen auch schon Greene et al., in deren Studie dichte Rundherde mit mindestens 1 cm Durchmesser bei 94% der Patienten mit invasiver pulmonaler Aspergillose gefunden werden konnten. Zusätzlich hatten 61% der Patienten ein Halo-Zeichen um die noduläre Veränderung. (Greene et al., 2007] Interessanterweise wurden in unserer Studie zwei der Fälle mit Halo-Zeichen sowie einer der drei Fälle mit Kavernenbildung bei möglichen Aspergillosen beobachtet. Auch wenn diese Zeichen einen spezifischeren Hinweis auf eine vorliegende Pilzinfektion geben als eine runde Konsolidierung, ist nicht ausreichend gesichert, dass in diesen drei Fällen auch tatsächlich eine Pilzinfektion vorgelegen hat.

#### 5.2.6 Antimykotische Strategien

In der Prophylaxe von invasiven Mykosen kam am Universitätsklinikum vor allem Fluconazol zum Einsatz, Posaconazol und Caspofungin spielten hingegen in der Zweitlinientherapie, empirisch oder als sekundäre Prophylaxe eine Rolle. Diesen Trend beschrieben auch Ziakas et al. in ihrem Review. Sie nannten Fluconazol als am besten untersuchtes und am häufigsten

prophylaktisch eingesetztes Antimykotikum nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation. [Ziakas et al., 2014] Präemptiv wurden in absteigender Reihenfolge die Antimykotika Posaconazol, Voriconazol, liposomales Amphotericin B und Caspofungin verwendet. Eine adäquate, antimykotische Therapie kann im Stadium der möglichen Infektion (präemptive Therapieeinleitung) das Therapieansprechen und Überleben der Patienten deutlich verbessern [Nivoix et al., 2008]. Nivoix et al. plädierten dafür, weitere Forschungsarbeit in die Entwicklung effizienter, präemptiver Strategien zu stecken, um die Lücke zwischen der ungerichteten, empirischen Therapie und der spezifischen Therapie zu schließen [Nivoix et al., 2008].

Zur Therapie von wahrscheinlichen Mykosen wurden in je drei Fällen Voriconazol und liposomales Amphotericin B, in zwei Fällen Posaconazol und in einem Fall Caspofungin verordnet. Es zeigte sich, dass bei den Patienten mit einer initialen Voriconazol- oder Posaconazol-Therapie die besten Behandlungserfolge erzielt werden konnten. Auch wenn die Patientenzahl in der vorliegenden Untersuchung für eine abschließende Bewertung zu klein ist, kamen Lortholary et al. doch zu einem ähnlichen Ergebnis. Sie beschrieben eine niedrigere 12-Wochen Mortalität bei Patienten mit einer wahrscheinlichen oder gesicherten Pilzinfektion, welche als Erstlinientherapie Voriconazol erhalten hatten. Diese Patienten hatten eine 12-Wochen Mortalität von 45%, wohingegen Personen mit einer anderen Erstlinientherapie eine Mortalität von 60% aufwiesen. [Lortholary et al., 2011] Analog dazu beobachteten Baddley et al. eine gesteigerte Wahrscheinlichkeit, an einer invasiven Mykose zu versterben, wenn eine Amphotericin B-Zubereitung oder Caspofungin in der Erstlinientherapie verwendet wurde [Baddley et al., 2010]. Insbesondere unter Berücksichtigung der Phase III Zulassungs-Studie von Voriconazol, welche eine Überlegenheit im Überleben bei Therapie der Aspergillose dokumentierte [Herbrecht et al., 2002], wird dieses Azol als Erstlinientherapie in den aktuellen Leitlinien empfohlen. So befürworteten sowohl die Arbeitsgemeinschaft für Infektionen in der Hämatologie und Onkologie (AGIHO) der deutschen hämatologischen und onkologischen Gesellschaft (DGHO) [Mousset et al., 2014] und die amerikanische infektiologische Fachgesellschaft (*IDSA= Infectious Diseases Society of America*), als auch eine europäische Expertenrunde (*ECIL= European Conference on Infections in Leukemia*) den

Einsatz von Voriconazol in der Therapie invasiver Aspergillosen ([Freifeld et al., 2011],[Maertens et al., 2011]).

### 5.2.7 Risikofaktoren für invasive Mykosen

#### 5.2.7.1 Alter, Geschlecht, Grunderkrankung und Nikotinkonsum

Als ein wichtiger Risikofaktor zur Entwicklung einer systemischen Pilzinfektion stellte sich in der aktuellen Studie das Alter der Patienten heraus. Je älter die Patienten waren, umso größer war ihre Gefahr, an einer invasiven Aspergillose zu erkranken. Auch Garcia-Vidal et al. beschrieben eine altersabhängige Erhöhung des Risikos, an einer frühen invasiven Schimmelpilzinfektion zu erkranken [Garcia-Vidal et al., 2008]. Vor allem Patienten über 40 Jahre waren in bisherigen Studien besonders gefährdet, eine frühe opportunistische Infektion zu entwickeln ([Marr et al., 2002a],[Garcia-Vidal et al., 2008]). In der vorliegenden Arbeit lag das durchschnittliche Alter bei Erstdiagnose einer wahrscheinlichen Aspergillose bei  $58,7 \pm 14,6$  Jahren, der Patient mit der wahrscheinlichen Fusariose war 62 Jahre alt. Die Gesamtheit der Studienteilnehmer hatte hingegen bei Studieneinschluss ein medianes Alter von 54,4 Jahren.

Das Geschlecht der Patienten stellte sich bei Marr et al. nicht als Risikofaktor für eine frühe Pilzinfektion heraus (Marr et al., 2002a). Im Gegensatz dazu konnte bei Hammond et al. ein männliches Geschlecht mit einem erhöhten Risiko für invasive Aspergillosen bei Patienten mit akuten Leukämien in Verbindung gebracht werden [Hammond et al., 2010]. Eine ähnliche Aussage trafen Neofytos et al., welche ein weibliches Geschlecht als protektiven Faktor für eine systemische Schimmelpilzinfektion bei Patienten mit einer AML und einer Induktions-Chemotherapie beschrieben [Neofytos et al., 2012]. Analog dazu benannten Li et al. eine Assoziation zwischen dem männlichen Geschlecht und einem erhöhten Risiko, an einer invasiven Pilzinfektion zu erkranken [Li et al., 2014]. In unserer Analyse des Würzburger Studienkollektivs war hingegen eine leichte Tendenz zu verzeichnen, dass Frauen vermehrt an wahrscheinlichen Mykosen erkrankten, allerdings ergab sich hier kein statistisch signifikanter Zusammenhang. Frauen erkrankten mit 31% fast doppelt so häufig an wahrscheinlichen Pilzinfektionen wie Männer mit 18%.

Patienten, welche an einer akuten myeloischen Leukämie litten, erkrankten deutlich häufiger an einer invasiven Mykose als der Rest der Studienteilnehmer. Insgesamt 40% der Personen mit einer AML entwickelten eine wahrscheinliche und 30% eine mögliche Aspergillose. Damit lag der Anteil sogar noch über dem Ergebnis anderer Studien. So wiesen AML-Patienten in einer großen italienischen Studie eine Inzidenz von 12% für wahrscheinliche und gesicherte invasive Mykosen auf [Pagano et al., 2006]. Schon länger ist bekannt, dass sowohl Patienten mit einer akuten Leukämie, als auch Patienten nach einer allogenen SZT zum Hochrisiko-Kollektiv für opportunistische Pilzinfektionen zählen [Lin et al., 2001],[Pagano et al., 2006]). In einer großen französischen Studie stellten sich akute Leukämien und allogene Stammzelltransplantationen als wichtigste Patienten-spezifische Risikofaktoren dar [Lortholary et al., 2011]. Auch Girmenia et al. beschrieben eine aktive akute Leukämie zum Zeitpunkt der allogenen Transplantation als Risikofaktor für eine frühe invasive Pilzinfektion [Girmenia et al., 2014]. Es ist demnach nicht verwunderlich, dass Patienten, welche auf Grund einer akuten Leukämie eine allogene Transplantation erhalten, also beide prädisponierenden Faktoren aufweisen, häufiger an einer Pilzinfektion erkranken. Hier ist insbesondere die lange Neutropenie im Rahmen der Remissions-induzierenden Chemotherapie bei AML zu berücksichtigen, welche allein bereits ein hohes Risiko und den host factor der diagnostischen Kriterien begründet. Diese Chemotherapie geht bei AML-Patienten häufig der allogenen Stammzelltransplantation direkt voraus. Allerdings wiesen in unserer Studie Patienten mit einer akuten lymphatischen Leukämie kein erhöhtes Risiko für eine systemische Mykose auf. ALL-Patienten hatten bei Pagano et al. immerhin eine Inzidenz von 6,5% für invasive Mykosen zu verzeichnen [Pagano et al., 2006]. Ebenso waren bei uns Patienten mit einer Osteomyelofibrose oder einem Multiplen Myelom nicht im Risikokollektiv für Pilzinfektion zu finden. Marr et al. beschrieben eine erhöhte Gefahr für eine frühe Pilzinfektion auch bei Patienten mit einer Aplastischen Anämie oder einem Myelodysplastischen Syndrom (MDS), was bei uns nicht bestätigt werden konnte. Dies ist sicherlich vorrangig auf die kleinen Patientenkollektive der jeweiligen Grunderkrankungen im Studienkollektiv zurückzuführen. Im Gegensatz dazu hatten Patienten mit einer chronisch myeloischen Leukämie (CML) in der chronischen Phase bei Marr et al. eine niedrigere Inzidenz von

Pilzinfektionen [Marr et al., 2002a]. In Würzburg wurde jedoch innerhalb des Beobachtungszeitraums keine allogene Stammzelltransplantation bei Personen mit einer CML durchgeführt, weshalb dieses Kollektiv nicht betrachtet werden konnte.

Um den Einfluss des Nikotinabusus mit konsekutiver Lungengerüstschädigung als möglichen Risikofaktor für pulmonale Mykosen zu untersuchen, wurde bei den Studienteilnehmern auch der Zigarettenkonsum erfasst. So war beispielsweise von Blaschke et al. ein möglicher Zusammenhang zwischen dem chronischen Nikotinkonsum einer Person und dem Auftreten einer Candida-Pneumonie angesprochen wurden [Blaschke et al., 2002]. Es ergab sich bei uns jedoch kein signifikanter Unterschied in der Erkrankungshäufigkeit an invasiven Mykosen bei Patienten mit und ohne Nikotinabusus. Allerdings ist davon auszugehen, dass ein möglicher Einfluss des Nikotins durch die stärkere Gewichtung anderer Risikofaktoren überdeckt wurde. So beschrieben Blaschke et al. beispielsweise den genannten Zusammenhang auch bei Patienten ohne eindeutige Immunsuppression, also bei fehlenden weiteren Störgrößen [Blaschke et al., 2002].

#### 5.2.7.2 Konditionierungs- & Transplantationsassoziierte Daten

Als weiterer Risikofaktor für eine systemische Mykose ergab sich in unserer Arbeit die fehlende HLA-Übereinstimmung von Spender und Empfänger. Es erkrankten signifikant mehr Patienten an einer möglichen oder wahrscheinlichen Aspergillose, welche ein Transplantat eines HLA-unpassenden Spenders erhalten hatten. Dementsprechend betrug die Ein-Jahres Inzidenz von invasiven Aspergillosen bei Marr et al. unter verwandten, HLA-passenden Spendern 7,3%, bei unverwandten oder HLA-verschiedenen Spendern lag sie bei 10,5% [Marr et al., 2002a]. Auch Garcia-Vidal et al. beschrieben einen Zusammenhang des HLA-Mismatchings von Spender und Empfänger und dem Risiko, eine systemische, frühe Schimmelpilzinfektion zu akquirieren [Garcia-Vidal et al., 2008]. Desweiteren beschrieben Girmenia et al. Patienten mit Stammzellen von einem unverwandten Spender als Risikokollektiv für Pilzinfektionen [Girmenia et al., 2014]. In unserer Studie konnte dies nicht bestätigt werden. Patienten, welche ihre Stammzellen von einem unverwandten Spender erhielten, erkrankten signifikant seltener an einer

wahrscheinlichen Pilzinfektion. Dies ist möglicherweise der Tatsache geschuldet, dass lediglich 10 Personen einen verwandten Spender hatten und demnach das Kollektiv sehr klein war. Auch die Stammzellquelle spielte in einigen Vorstudien eine entscheidende Rolle als prädisponierender Faktor für systemische Mykosen. So hatten Empfänger von peripheren Blutstammzellen eine niedrigere Wahrscheinlichkeit, an einer invasiven Mykose zu erkranken, als jene, die ihre Stammzellen aus dem Knochenmark bezogen. Dies wurde vor allem dadurch erklärt, dass Knochenmarktransplantate eine niedrigere Anzahl von B- und T-Lymphozyten enthalten als periphere Stammzelltransplantate und die Empfänger dadurch stärker immunsupprimiert sind. [Storek et al., 2001] Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden lediglich drei Transplantate aus dem Knochenmark der Spender entnommen. Von den zugehörigen drei Empfängern entwickelten zwei Personen eine mögliche Aspergillose, allerdings war auch hier das Kollektiv zu klein, um eine statistisch sinnvolle Aussage zu treffen.

Ein Faktor, der laut Marr et al. sowohl im frühen, als auch im späten Zeitraum nach einer Transplantation ein erhöhtes Risiko für invasive Pilzinfektionen bedingt, ist die Übertragung von T-Zell depletierten oder CD34<sup>+</sup>-selektionierten Stammzellen [Marr et al., 2002a]. Dies verdeutlicht die protektive Rolle von T-Lymphozyten bei der Entwicklung einer systemischen Mykose. Desweiteren beschrieben Girmenia et al. eine gesteigerte Rate an Pilzinfektionen bei Patienten, welche ihre Stammzellen aus dem Nabelschnurblut erhielten [Girmenia et al., 2014]. Da im untersuchten Kollektiv keine Nabelschnurblut-Transplantation und lediglich 2 Transplantationen mit CD34<sup>+</sup>-selektionierten Stammzellen durchgeführt wurden, ist hierzu keine Aussage möglich. Weiterhin zeigte sich bei Garcia-Vidal et al. eine Tendenz zu vermehrten invasiven Schimmelpilzinfektionen, wenn ATG bei der Konditionierung eingesetzt wurde [Garcia-Vidal et al., 2008]. Auch Popova et al. beschrieben den Einsatz von ATG bei der Konditionierung als unabhängigen Risikofaktor [Popova et al., 2012]. Da im Rahmen unserer Studie jedoch lediglich eine Konditionierung ohne ATG durchgeführt wurde, lässt sich hierzu ebenfalls keine Aussage treffen. Popova et al. nannten zusätzlich den Einsatz von Fludarabin als Chemotherapeutikum im Zuge der Konditionierung als Risikofaktor für invasive Mykosen nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation [Popova et al., 2012]. In dem von uns betrachteten Patientenkollektiv wurde während der

Konditionierung lediglich bei 5 Personen komplett auf das Purin-Analogon verzichtet. Von diesen 5 Patienten entwickelte einer im Verlauf des halben Jahres eine wahrscheinliche Aspergillose. Die restlichen 4 Patienten blieben frei von Pilz-typischen Symptomen. Insgesamt ergab sich jedoch keine Korrelation zwischen einem gehäuftem Auftreten invasiver Mykosen und der Verabreichung von Fludarabin, was aber der kleinen Untergruppe mit Fludarabin-freiem Therapieregime geschuldet sein kann.

Auch ein hoher HCT-CI Score, welcher anhand der Vorerkrankungen der Patienten eine allgemeine Aussage bezüglich des Transplantationsrisikos trifft, war nicht mit einer größeren Gefahr für eine invasive Mykose assoziiert. Dieses Ergebnis kann wahrscheinlich dadurch erklärt werden, dass hier relativ unspezifisch Vorerkrankungen an der Lunge, den Nieren und der Leber, sowie Tumorerkrankungen, Diabetes mellitus und Adipositas berücksichtigt werden. Diese Faktoren weisen nur zum Teil auf einen reduzierten Immunitätszustand (z.B. Diabetes mellitus) oder ein organbedingtes erhöhtes Infektionsrisiko (z.B. Lungenschäden) hin und erfassen das gesamte, Infektions-unabhängige Gesundheitsrisiko der Patienten. Daher ist der Wert unspezifisch und kann durch andere Risiken überlagert werden. So ist es möglich, dass andere Faktoren, wie die HLA-Kompatibilität und das Alter der Stammzellempfänger, einen relevanteren Einfluss auf die Inzidenz der Pilzinfektionen hatten.

### 5.2.7.3 Neutropenie und Steroidapplikation

Im Gegensatz zu vielen Vorstudien konnte in unserer Untersuchung kein direkter Zusammenhang zwischen einer prolongierten Agranulozytose (neutrophile Granulozyten  $<500/\mu\text{l}$ ) und einer systemischen Mykose nachgewiesen werden. Diese war bei Lin et al. sowie Aliyali et al. als einer der Hauptrisikofaktoren für eine IFD beschrieben wurden ([Lin et al., 2013],[Aliyali et al., 2013]). Auch Li et al. benannten die Stärke der Neutropenie als bedeutenden prädisponierenden Faktor für eine opportunistische Pilzinfektion [Li et al., 2014]. Ebenso nannten Marr et al. die Länge und die Stärke der Neutropenie als wichtigste Einflussgrößen für frühe und späte invasive Aspergillose [Marr et al., 2002a]. Ein Abfall der Granulozyten unter  $1000/\mu\text{l}$  war bei ihnen mit einem gesteigerten und unter  $500/\mu\text{l}$  mit einem stark gesteigerten Risiko für opportunistische Infektionen verbunden. Die Studie von Marr et al.



impliziert zusätzlich, dass auch eine verlängerte Lymphopenie Einfluss auf die Entwicklung einer Pilzinfektion hat [Marr et al., 2002a]. Auch Garcia-Vidal et al. beschrieben spezifische Zytopenien, wie die Neutropenie, die Lymphopenie und die Monozytopenie als Risikofaktoren für invasive Schimmelpilzinfektionen im kompletten Zeitraum nach der Transplantation [Garcia-Vidal et al., 2008]. Auch in unserer Erhebung ergab sich, dass Patienten, welche eine prolongierte Neutropeniephase mit weniger als 100 Neutrophilen/ $\mu$ l durchliefen, häufiger an möglichen und wahrscheinlichen Aspergillosen erkrankten, als Patienten mit einer kürzeren Neutropeniedauer. Allerdings zeigte sich diese Tendenz vor allem bei Patienten mit einer möglichen Aspergillose. Zudem konnte dieser Trend nach Herausrechnung eines Ausreißers nicht mehr bestätigt werden.

Entsprechend unserer vorweg getroffenen Annahme ergab sich eine relevante Korrelation zwischen einer prolongierten Glukokortikoidtherapie und einem erhöhten Risiko für invasive Aspergillosen. Ein besonderes Augenmerk wurde dabei auf Patienten mit und ohne systemischer Einnahme eines Prednisolon-Äquivalents in einer Dosis von mindestens 0,3mg/kg KG und mindestens 21 Tagen Applikationsdauer gelegt. Dies entspricht auch der Dosis, welche in den EORTC-MSG Kriterien als „host factor“ für ein hohes Risiko einer invasiven Mykose definiert wurde [De Pauw et al., 2008]. Eine hohe Steroidapplikation über einen langen Zeitraum wurde bereits als unabhängiger Risikofaktor für eine späte Pilzinfektion benannt ([Marr et al., 2002a],[Garcia-Vidal et al., 2008]). Auch Fukuda et al. beschrieben eine Glukokortikoidtherapie mit mindestens 2mg/kg KG/d eines Prednisolon-Äquivalents als Risikofaktor für eine systemische Schimmelpilzinfektion nach nicht-myeloablativer Konditionierung [Fukuda et al., 2003]. Montagna et al. benannten die Therapie mit Kortikosteroiden als hauptsächliche Ursache einer invasiven Pilzinfektion bei nicht-hämatologischen Patienten [Montagna et al., 2014]. In der vorliegenden Studie erkrankten Patienten, welche weniger als 21 Tage eine Steroidtherapie in oben genannter Dosierung erhielten, signifikant seltener an einer möglichen oder wahrscheinlichen Mykose. Dieser Zusammenhang war jedoch vor allem auf die *possible*-Fälle zurückzuführen. Es konnte anhand der vorliegenden Daten nicht differenziert werden, ob die Steroidtherapie einen unabhängigen Risikofaktor darstellt oder zum Beispiel als Therapeutikum einer Abstoßungsreaktion (GvHd) einen indirekten Hinweis auf ein hohes

Infektionsrisiko liefert. Die Graft versus Host disease wurde hier jedoch, wie in Kapitel 5.2.7.4 beschrieben, nicht als signifikanter Risikofaktor erfasst.

#### 5.2.7.4 Komplikationen der Transplantation

Das persistierende neutropenische Fieber stellte sich in unserer Untersuchung als wichtiger Indikator für die spätere Diagnose einer möglichen Aspergillose heraus. Jeder Patient mit einer möglichen Mykose hatte vor der Erstdiagnose mindestens 72 Stunden eines neutropenen Fiebers durchlaufen. In Bezug auf wahrscheinliche Mykosen konnte jedoch keine Korrelation festgestellt werden. Allgemein konnte eine lange Fieberphase, auch ohne Neutropenie, als Hinweiskriterium für eine folgende mögliche oder wahrscheinliche Pilzinfektion beobachtet werden. Jeder zusätzliche Tag mit Temperaturen über 38°C erhöhte die Wahrscheinlichkeit für eine systemische Pilzinfektion bei den Studienpatienten um den Faktor 1,14. Pagano et al. zeigten, dass bei hämatologischen Krebspatienten mit Schimmelpilzinfektionen das Fieber eines der wichtigsten klinischen Symptome darstellt. Patienten mit einer pulmonalen Schimmelpilzinfektion wiesen zu 81% Fieber auf. [Pagano et al., 2001] In der Multizenterstudie von Montagna et al. stellte sich Fieber als das häufigste klinische Symptom von invasiven Schimmelpilzinfektionen dar [Montagna et al., 2014]. Allerdings gilt es hier zu bedenken, dass Fieber bei neutropenen Patienten verschiedenste Gründe haben kann. Neben Infektionen, welche wohl die häufigsten Ursachen des neutropenen Fiebers sind, kommen unter anderem auch Tumorfieber, GvHd-assoziiertes Fieber, Medikamentennebenwirkungen und Transfusionsreaktionen als Ursache in Frage. In einer spanischen Studie an 72 Patienten mit neutropenem Fieber nach einer Chemotherapie oder Stammzelltransplantation war ein mindestens 5tägiges Fieber in der Aplasie in 54% der Fälle durch nicht-mykotische Infektionen verursacht. Die Studie ging sogar soweit, dass 39% der Patienten mit neutropenem Fieber entsprechend eines niedrigen Risiko-Scores nicht antimykotisch therapiert wurden. Der Score beinhaltete dabei das Vorhandensein eines möglichen klinischen Fokus und die Schwere der Erkrankung bei den betreffenden Patienten (Sepsis, septischer Schock). In all diesen Fällen konnte im Nachhinein eine Pilzinfektion als Ursache des Fiebers ausgeschlossen werden. [Aguilar-Guisada et al., 2012] Dementsprechend lässt

sich auch anhand unserer Daten nicht ausreichend sicher zuordnen, ob das Fieber bei den Patienten mit einer möglichen Aspergillose tatsächlich mit der Pilzkrankung assoziiert war oder auf andere Umstände zurückzuführen ist.

Eine akute oder chronische Abstoßungsreaktion konnte in der vorliegenden Studie nicht als Risikofaktor für eine Pilzinfektion beobachtet werden. Dies widerspricht vielen vorausgegangenen Studien, in denen diese Größen als wichtige Hinweisfaktoren für invasive Mykosen beschrieben wurden. So zählten bei Garcia-Vidal et al. die akute und die chronische GvHd zu den wichtigsten Risikofaktoren für eine systemische Mykose [Garcia-Vidal et al., 2008]. Diese Tatsache konnte auch in einer großen, aktuellen Studie mit über 1800 eingeschlossenen Patienten bestätigt werden. Das größte Risiko ergab sich hier, wenn auf eine akute GvHd eine chronische GvHd folgte. [Girmenia et al., 2014] Marr et al. nahmen hierzu an, dass sich das Risiko der Abstoßungsreaktion vor allem auf den therapeutischen, immunsuppressiven Einsatz von Glukokortikoiden bezieht, also durch zusätzliche Faktoren beeinflusst wird [Marr et al., 2002a]. So ist es auch in unserer Analyse möglich, dass unabhängige Variablen das Ergebnis beeinflussten.

Vierunddreißig Prozent der Studienteilnehmer erkrankten in den 100 Tagen aktiver Beobachtung an einer respiratorischen Virusinfektion, vornehmlich durch Rhinoviren verursacht. Jedoch war das Auftreten einer solchen viralen Infektion nicht mit einem erhöhten Risiko für eine invasive Mykose assoziiert. Dies widerspricht den Ergebnissen bisheriger Studien. Patienten, die an einer respiratorischen Virusinfektion nach dem 40. Tag erkrankten, hatten dort ein 2,1fach erhöhtes Risiko, an einer invasiven Aspergillose zu erkranken. Die erkrankten Patienten hatten konsekutiv auch ein erhöhtes Risiko, an der invasiven Aspergillose zu versterben. Neben Respiratory Syncytial-Viren waren hier auch Parainfluenzaviren und Influenzaviren von Bedeutung ([Marr et al., 2002a],[Garcia-Vidal et al., 2008]).

#### 5.2.7.5 CMV-Status und CMV-Reaktivierung

In der vorliegenden Untersuchung konnte eine CMV-Reaktivierung bei den Stammzellempfängern nicht als prädisponierender Faktor für eine Pilzinfektion nachgewiesen werden. Eine positive CMV-Antigenämie, beziehungsweise eine CMV-Reaktivierung war bei Li et al. und Zhang et al. hingegen einer der

wichtigsten Risikofaktoren für die Erkrankung an einer systemischen Pilzinfektion nach allogener Transplantation ([Li et al., 2012],[Zhang et al., 2010]). Auch Garcia-Vidal et al. beschrieben eine CMV-Reaktivierung als einen der wesentlichen Faktoren für eine systemische Mykose [Garcia-Vidal et al., 2008]. Die durchschnittliche Latenzzeit zwischen einer CMV-Infektion und der invasiven Mykose lag bei Marr et al. bei 5 Tagen. Diesen Zusammenhang erklärten sich Marr et al. zum einen durch die mögliche Neutropenie nach einer Ganciclovir-Therapie, zum anderen äußerten sie die Vermutung, dass die CMV-Erkrankung ebenso einen Marker für einen nicht erfassten, spezifischen Immundefekt darstellen könnte [Marr et al., 2002a]. Garcia-Vidal et al. arbeiteten die CMV-Reaktivierung jedoch unabhängig von der verabreichten Glukokortikoid-Dosis und der Neutropeniedauer in allen Phasen nach der Transplantation als Riskofaktor für eine nachfolgende invasive Aspergillose heraus [Garcia-Vidal et al., 2008]. Somit lässt sich der Zusammenhang nicht alleine durch die begleitende Aplasie bei Ganciclovir-Gabe erklären. Eine andere Erklärung wäre, dass das Cytomegalie Virus verschiedene, antimikrobielle Effektormechanismen beeinflussen und abschwächen kann [Laursen et al., 2001]. Dem widersprechend fanden Gimenez et al. bei der Datenaufarbeitung von 167 allogenen Stammzell-transplantierten Patienten keinerlei signifikanten Zusammenhang zwischen einer CMV-Antigenämie und einer potentiell nachfolgenden, invasiven Aspergillose [Gimenez et al., 2014]. Dies stützt wiederum die Resultate unserer Studie. Ob dieses Ergebnis die tatsächliche Lage an unserem Standort widerspiegelt, muss jedoch an einer größeren Fallzahl geprüft werden.

Zusätzlich spielte der Cytomegalie Virus-Serostatus von Empfänger und Spender unter anderem in einer Studie von Bochud et al. eine Rolle bei der Entwicklung einer systemischen Pilzinfektion. Die Kombination aus CMV-positivem Empfänger und CMV-positivem Spender stellte die ungünstigste Konstellation dar ([Marr et al., 2002a],[Bochud et al., 2008]). Dieses Ergebnis konnte bei uns nicht bestätigt werden, der CMV-Serostatus von Empfänger und Spender stellte sich unabhängig von nachfolgenden Pilzinfektionen dar.

#### 5.2.7.6 Antibiotikatherapie

Da unter anderem Yong et al. in ihrem Review eine erhöhte Rate an invasiven Aspergillosen unter der Einnahme von drei oder mehr verschiedenen Antibiotika beschrieben, wurde in dieser Studie ein weiteres Augenmerk auf diesen Faktor gerichtet [Yong et al., 2013]. Auch Li et al., welche das Auftreten invasiver Mykosen bei über 2000 neutropenen Patienten untersuchten, erkannten den Einsatz von zwei oder mehr Breitspektrum-Antibiotika als wichtigen Risikofaktor [Li et al., 2014]. Dabei kann eine mehrfache, antibiotische Therapie auch Folge eines länger persistierenden Fiebers sein. Kontrovers zu diesen Ergebnissen stellten sich die Anzahl von verschiedenen Antibiotika sowie die Anzahl verschiedener  $\beta$ -Lactam Antibiotika in unserer Studie nicht als relevante Risikofaktoren für eine systemische Mykose heraus. Dies könnte sich auch durch eine, im Vergleich zu den anderen Studien, eventuell frühere Einleitung einer empirischen oder präemptiven antimykotischen Therapie erklären lassen.

#### 5.2.8 Klinische Folgen einer invasiven Mykose

##### 5.2.8.1 Krankenhausaufenthalt

Insgesamt zeigte sich, dass die Patienten mit einer diagnostizierten invasiven Mykose (*possible* und *probable*) signifikant länger stationär im Krankenhaus verbrachten, als diejenigen Patienten, welche als unklassifiziert eingestuft wurden. Als Ursachen für dieses Ergebnis kommt vorrangig die höhere Morbidität der Patienten, aber zusätzlich auch die Notwendigkeit einer intensivierten, meist intravenösen antimykotischen Therapie und die stationäre Überwachungspflichtigkeit der erkrankten Personen in Betracht. Diese Bilanz konnte schon in der US-amerikanischen Studie von Tong et al. gezogen werden, hier hatten Patienten mit einer Aspergillose einen signifikant längeren Krankenhausaufenthalt als Patienten ohne eine solche Infektionskrankheit. Dementsprechend kamen bei diesen Patienten auch bedeutend höhere finanzielle Belastungen auf die Krankenhäuser zu. [Tong et al., 2009] So nannten Des Champs-Bro et al. beispielsweise einen Betrag von knapp 427.000 Euro, welcher sich in einem französischen Zentrum im Jahr 2005 aus der zusätzlichen Behandlung von Mykosen ergab [Des Champs-Bro et al., 2011]. Da das Auftreten invasiver Mykosen mit weiteren Komplikationen, wie

zum Beispiel der Notwendigkeit einer antibiotischen Therapie, einer GvHd sowie viralen Infektionen etc. assoziiert ist, können die Dauer des Krankenhausaufenthalts und die gesteigerten Kosten auch durch diese Faktoren mitverursacht sein. Dennoch ist davon auszugehen, dass sich auch am Universitätsklinikum Würzburg systemische Mykosen durch die verlängerten stationären Aufenthalte und den Bedarf an zusätzlichen, antimykotischen Therapien auf die jeweiligen Behandlungskosten auswirken.

#### 5.2.8.2 Mortalität

Von den 41 eingeschlossenen Personen verstarben im Zeitraum von 6 Monaten nach der Konditionierung insgesamt 11 Patienten (26,8%), der durchschnittliche Todeszeitpunkt lag bei Tag 88 nach der Konditionierung. Auf Grund fehlender Autopsie-Befunde war es nicht möglich, die genaue Todesursache der einzelnen Patienten zu ermitteln. Eine abschließende Aussage über eine Pilzinfektions-bezogene Sterberate ist daher nicht möglich, lediglich ein Bericht über die Over-all mortality. Unter den dokumentierten Todesursachen in den Arztbriefen fanden sich unter anderem: septischer Schock, atypische Pneumonie, hepatorenales Syndrom sowie therapierefraktäre GvHd.

Bei der Betrachtung der Überlebenswahrscheinlichkeiten der einzelnen Patientengruppen ergab sich, dass Personen mit einer wahrscheinlichen Mykose ein deutlich geringeres 6-Monats Überleben hatten als der Rest des Studienkollektivs. Von den Patienten mit einer wahrscheinlichen Aspergillose oder Fusariose verstarben 66,7% innerhalb des ersten halben Jahres nach der Transplantation, wohingegen von den Patienten ohne Hinweis auf eine Pilzinfektion nur 16% verstarben. Patienten mit einer möglichen Aspergillose wiesen mit 14,3% in der vorliegenden Studie keine erhöhte Mortalität auf. Marr et al. beschrieben eine durchschnittliche Überlebensrate unter Stammzelltransplantations-Empfängern mit invasiven Aspergillosen von rund 30% nach 6 Monaten und nur 20% nach einem Jahr ([Marr et al., 2002a],[Marr et al., 2002b]). Dabei entspricht die Mortalität nach einem halben Jahr in etwa dem Ergebnis der vorliegenden Studie. Analog dazu wiesen auch Li et al. eine Mortalität von 60% unter allogenen-transplantierten Patienten mit einer Schimmelpilzinfektion nach 12 Wochen nach [Li et al., 2012]. In einer großen amerikanischen Studie lebten 12 Wochen nach der allogenen Stammzell-

übertragung noch 50% der Patienten mit einer invasiven Schimmelpilzinfektion [Neofytos et al., 2013]. Lortholary et al. beobachteten eine Mortalität von bis zu 60% in einem Patientenkollektiv aus 424 Patienten mit einer gesicherten oder wahrscheinlichen Aspergillose aus unterschiedlichen Fachrichtungen. Die durchschnittliche Mortalität lag bei ihnen nach 12 Wochen bei 44,8% [Lortholary et al., 2011]. Eine iranische Studie von 2013, welche die Inzidenz invasiver Aspergillosen bei Patienten auf der Intensivstation untersuchte, beobachtete sogar eine Gesamtletalität von 69,2% bei möglichen und wahrscheinlichen Aspergillose-Fällen [Aliyali et al., 2013]. Im Gegensatz dazu wiesen Rabagliati et al. eine Gesamtmortalität invasiver Mykosen bei hämatoonkologischen und Stammzell-transplantierten Patienten von nur 36% nach [Rabagliati et al., 2009].

Der Tod ereignete sich bei den möglichen und wahrscheinlichen invasiven Mykosen im Mittel 40 Tage nach der Diagnosestellung der systemischen Pilzinfektion. Die Studienteilnehmer mit einer wahrscheinlichen Aspergillose verstarben im Mittel 47,2 Tage nach der Erstdiagnose. Sechs der 7 nicht überlebenden Patienten mit einer invasiven möglichen oder wahrscheinlichen Mykose verstarben vor dem 50. Tag nach der Erstdiagnose. Der Tod trat demnach vor allem in den ersten zwei Monaten nach der Diagnose ein. In der Studie von Marr et al. verstarben ebenfalls die meisten Patienten in den ersten zwei Monaten nach der Erstdiagnose einer wahrscheinlichen oder gesicherten Pilzinfektion [Marr et al., 2002b]. Zu einem ähnlichen Resultat kam auch die italienische SIMIFF-Studie, in welcher der Großteil der hämatologischen Patienten schon in den ersten 30 Tagen nach der Diagnose einer Schimmelpilzinfektion verstarb [Montagna et al., 2014]. Da hier jedoch stets die allgemeinen Überlebensraten und nicht die Fall-bezogenen Überlebensraten betrachtet wurden, könnten die späten Todesfälle auch auf andere Ursachen zurückzuführen und unabhängig von der Pilzinfektion sein. Diese Überlegung lässt sich beispielsweise mit der Studie von Wingard et al. untermauern. Auch hier traten die Sterbefälle bei einer invasiven Aspergillose vorrangig in den ersten 6 Wochen (74%) nach dem antimykotischen Therapiestart auf. Von diesen frühen Todesfällen waren 68% direkt auf die Infektion mit *Aspergillus spp.* zurückzuführen, wohingegen von den verbleibenden späten Todesfällen nur 24% auf die Pilzinfektion zurückgeführt wurden. Die späteren Sterbefälle

waren vor allem mit den Grunderkrankungen der Patienten und den aggressiven Therapien assoziiert. [Wingard et al., 2008] Somit kann man davon ausgehen, dass die späten Todesfälle in unserer Studie wahrscheinlich auf anderen Faktoren als der invasiven Mykose beruhen. Insgesamt liegt das Hauptrisiko, an einer systemischen Pilzinfektion zu versterben, vor allem in den ersten zwei Monaten nach der Erstdiagnose der Erkrankung.

In der Studie von Neofytos et al. war ein männliches Geschlecht mit einer signifikant höheren Mortalitätsrate bei allogenen-transplantierten Patienten mit einer invasiven Schimmelpilzinfektion verbunden [Neofytos et al., 2013]. Dieses Ergebnis konnte in unserer Analyse nicht bestätigt werden. Zwar zeigte sich eine deutliche Tendenz, dass Männer eher an einer wahrscheinlichen Pilzinfektion verstarben als Frauen, jedoch war dieser Trend nicht statistisch signifikant. Desweiteren wurden von Lortholary et al. ein hohes Alter, das Auftreten von Pleuraergüssen, mehr als eine positive Galactomannan-Bestimmung, mindestens zwei positive Pilzkulturen und eine ZNS-Mitbeteiligung als Risikofaktoren für eine erhöhte Sterblichkeit nach einer Pilzinfektion beschrieben [Lortholary et al., 2011]. Baddley et al. nannten zusätzlich als schlechte prognostische Faktoren in Bezug auf das Überleben bei hämatopoetischen SZT-Empfängern eine stattgehabte Neutropenie, eine Nieren- und Leberinsuffizienz, ein frühes Auftreten der Pilzinfektion nach der Transplantation, eine CMV-Reaktivierung, Malnutrition und den therapeutischen Einsatz von Methylprednisolon [Baddley et al., 2010]. Diese Variablen konnten an dem hier untersuchten, kleineren Kollektiv nicht bestätigt werden.

## 5.3 Methodische Überlegungen

### 5.3.1 *Beeinflussung der Studienergebnisse und Störgrößen*

Die Inzidenz invasiver Mykosen wurde im Studienzentrum Würzburg in zweierlei Richtung beeinflusst. Auf der einen Seite findet in Würzburg routinemäßig eine sehr umfangreiche Diagnostik zur Detektion invasiver Mykosen statt, so erfolgte zum Beispiel die zweimal wöchentliche Galactomannan-Bestimmung im Serum. Dies ist nicht in jeder Transplantationseinheit der Fall. Insbesondere eine zusätzliche, regelmäßige PCR-Bestimmung auf Aspergillus-DNA im Serum ist keine flächendeckend



angewandte Untersuchungsmethode. So ist es denkbar, dass auf Grund dieser umfassenden Diagnostik auch mehr systemische Pilzinfektionen erfasst wurden. Es bleibt auf Grund der hohen Rate invasiver Mykose an unserem Zentrum also die Frage offen, ob es sich wirklich um eine gestiegene Inzidenz invasiver Pilzinfektionen, oder um ein Resultat der aktiven Screeningmethoden handelt. Auf der anderen Seite ist die Transplantationsstation in Würzburg seit dem Jahr 2005 in einem hochmodernen Neubau mit vielen technischen und baulichen Neuerungen, welche die immunsupprimierten Patienten vor Infektionen schützen sollen, untergebracht. So arbeitet das Transplantationszentrum mit HEPA-Filtrationssystemen inklusive leichtem Überdruck in den Patientenzimmern und dem Stationsbereich, speziellen Wasserfiltern in allen Nasszellen, separat zubereitetem Essen und gesondert zur Verfügung gestellter Kleidung für Besucher und Belegschaft. [UKW, 2005] Den protektiven Effekt einer hoch effizienten Luftfilterung in hämatologischen Stationen in Bezug auf die Inzidenz invasiver Mykosen beschrieben bereits Meneguetti et al. in ihrem Review [Meneguetti et al., 2013]. Perkhofer et al. zeigten, dass nur 30% der invasiven Schimmelpilzinfektionen, welche in ihrer österreichischen Multizenterstudie detektiert wurden, bei Patienten aus Zimmern mit HEPA-Filtrationssystemen auftraten. Fast 60% der Schimmelpilzinfektionen traten bei Patienten aus Standard-Patientenzimmern auf und der Rest der Inpatienten hatte Kontakt zu Baustaub während des Klinikaufenthalts. [Perkhofer et al., 2010] Es ist also anzunehmen, dass die genannten Vorkehrungen in Würzburg die Inzidenz systemischer Pilzinfektionen und allgemein infektiöser Komplikationen eher senken. Desweiteren liegt eine mögliche Fehlerquelle bei der Analyse der Inzidenz an unserem Standort in der Tatsache, dass in der vorliegenden Studie nicht zwischen *hospital-acquired* und *community-acquired* Infektionen unterschieden wurde. Es ist bekannt, dass eine effektive Luftfilterung Pilzsporen in der Luft signifikant senkt. Dieses Ziel lässt sich jedoch nur im stationären Umfeld verwirklichen. Da die Patienten jedoch meist einige Wochen nach der Transplantation entlassen werden können, sind sie im häuslichen Umfeld einer potentiell hohen Rate an Pilzsporen und somit einem höheren Risiko für Pilzinfektionen ausgesetzt. So beschrieben Rocchi et al., dass entgegen der ärztlichen Ratschläge immerhin 56% der nach Hause entlassenen Patienten über 5 Pflanzen in ihrer Wohnung hatten und 58,5%

mindestens ein Haustier besaßen. Rocchi et al. erkannten, dass 36% der Patienten, welche im Verlauf an einer invasiven Mykose erkrankten, zu Hause, aber nicht im Krankenhaus, mit hohen Schimmelpilzspiegeln konfrontiert waren. Der Großteil dieser Patienten (4 von 5) wiesen die höchsten Werte aller Studienteilnehmer an *Aspergillus spp.* in ihrem häuslichen Umfeld auf. [Rocchi et al., 2014] Die Dauer der stationären Versorgung, die ambulante Weiterbehandlung und die Pilzexposition, welche auch klimatischen Einflüssen unterliegt, divergiert zwischen verschiedenen Zentren. Aus diesem Grund ist davon auszugehen, dass auch die häusliche Umgebung der Patienten einen Anteil an der unterschiedlichen Inzidenz von Pilzinfektionen in verschiedenen Studien hat.

Auch bei der Betrachtung weiterer Punkte, wie beispielsweise der Antibiotika-Applikation im Patientenkollektiv, ergeben sich unterschiedliche Einflussfaktoren auf die Studienergebnisse. Die signifikant höhere Letalität von Patienten mit invasiver Mykose und die dementsprechend kürzere Überlebensdauer können Faktoren wie die Dauer der Antibiotikatherapie und des Krankenhausaufenthalts verfälschen. Da die Patienten mit einer invasiven Pilzinfektion durchschnittlich früher verstarben, bekamen sie eventuell auch weniger Antibiotika in diesem Zeitraum verabreicht und hatten weniger Tage, an denen sie hospitalisiert sein konnten. Andererseits kann die invasive, lebensgefährliche Infektion auch eine Intensivierung der Antibiotika-Therapie hervorrufen, insbesondere, da die infektiöse Genese oftmals zu Beginn der klinischen Symptome nicht gesichert ist.

Da einmalig positive Galactomannan-Ergebnisse entsprechend der EORTC-MSG Vorgaben von 2008 für immer das mykologische Kriterium eines Patienten erfüllen, ergaben sich im Rahmen der korrekten Klassifizierung der Studienteilnehmer einige Unklarheiten. Es ist möglich, dass vorausgegangene positive Galactomannan-Befunde, zum Beispiel von auswärtigen Zentren, bei fehlender Dokumentation nicht erfasst wurden. Aus diesem Grund ist unklar, inwieweit einige der *possible*-Fälle eigentlich als wahrscheinliche Mykosen eingestuft werden müssten, da sie schon im Vorhinein das sonst fehlende mykologische Kriterium erfüllten. Andererseits ist auch der Zusammenhang von Befunden mit großem zeitlichen Abstand zu hinterfragen.

Anhand der Patientenakte war es schwierig, zwischen einer sekundären prophylaktischen Therapie und einer präemptiven Therapie zu unterscheiden. In einigen Fällen hatten die Patienten schon mehrere Wochen vor dem Start des Aspergillus-abdeckenden Medikaments eine positive PCR, einen pilztypischen CT-Befund oder eine positive Galactomannan-Bestimmung erhalten. Da in diesen Fällen jedoch kein zeitlicher Zusammenhang mit dem Start des Antimykotikums hergestellt werden konnte, wurde die Behandlung als prophylaktisch gewertet.

In der durchgeführten Untersuchung konnte gezeigt werden, dass die Krankenhausverweildauer bei Patienten mit einer wahrscheinlichen Mykose signifikant länger war, als bei Patienten, welche als *indeterminate* oder *possible* klassifiziert wurden. Es bleibt dabei offen, inwieweit ein verlängerter Krankenhaus-Aufenthalt das Risiko für eine invasive Mykose gesteigert hat oder umgekehrt die invasive Mykose einen verlängerten stationären Aufenthalt bedingte.

Auch ist der Vergleich der erhobenen Ergebnisse mit Studien, welche vor 2008 durchgeführt wurden, nur eingeschränkt möglich, da sich 2008 die Kriterien für eine invasive Pilzinfektion erneut änderten und somit die Inzidenz von Infektionen in früheren Studien tendenziell höher lag als heute.

### 5.3.2 Limitationen der Arbeit

Da es sich bei der vorliegenden Arbeit nicht um eine interventionelle Studie handelte, wurde von Seiten des Studienteams auch kein Einfluss auf die Diagnostik und Therapie der einzelnen Studienteilnehmer genommen. Aus diesem Grund waren zum Beispiel die Indikationsstellung für ein thorakales CT und weitere diagnostische Verfahren sowie die Behandlung der erkrankten Studienteilnehmer nicht vereinheitlicht und somit abhängig von dem jeweils betreuenden Arzt. Aus der nicht-standardisierten Betreuung der Patienten resultierten teilweise schwer vergleichbare Aufzeichnungen über den Behandlungserfolg der Indexpatienten. Zudem hing auch die Dokumentation von verschiedenen Patienten-spezifischen Daten von dem jeweils behandelnden Arzt ab, was mitunter zu einer unzureichenden Aussagekraft dieser Variablen führte. So konnte beispielsweise der Einfluss einer vorausgegangenen, invasiven Pilzinfektion vor dem Studienstart nicht ermittelt

werden, da diesbezüglich nur bei wenigen Studienteilnehmern eine Information zu erhalten war.

Als weitere Einschränkung der Arbeit ist das relativ kurze Nachbeobachtungsintervall von einem halben Jahr zu nennen. Dadurch war es nicht möglich, invasive Pilzinfektionen der Studienpatienten im weiteren Verlauf zu detektieren, denn das Immunsystem bei allogenen Stammzell-transplantierten Patienten hat sich im Durchschnitt erst nach einem kompletten Jahr wieder vollständig regeneriert [Bartsch et al., 1996]. Allerdings besteht das größte Risiko für invasive Mykosen vor allem während der ersten drei kritischen Monate nach einer Stammzelltransplantation, welche über die 100 Tage aktiver Nachbeobachtung erfasst wurden. Desweiteren war der Progress der invasiven Mykosen auf Grund der relativ kurzen Nachbeobachtung nicht in jedem Fall sicher zu beurteilen. Es ist bekannt, dass pilztypische thorakale Veränderungen im CT auf Grund einer Rekonstitution des Immunsystems mit ansteigenden Granulozyten anfangs progredient erscheinen können, obwohl die Erkrankung stabil oder rückläufig ist [Hof et al., 2010]. Es ist demnach möglich, dass bei einzelnen Fällen, die am Ende der Nachbeobachtung als progressive Erkrankungen gewertet wurden, die Immunrekonstitution und -reaktion in der thorakalen Schnittbildgebung beobachtet wurde. Es wäre gegebenenfalls sinnvoll, in einer möglichen Folgestudie einen Beobachtungszeitraum von einem Jahr oder länger zu wählen.

Als wichtige Einschränkung der Studie ist die geringe Anzahl an Studienteilnehmern zu nennen, wodurch es schwierig war, signifikante Ergebnisse zu erzielen. Dieser Faktor war vor allem auf die vorab definierte, relativ kurze Studien-Einschlusszeit von einem halben Jahr zurückzuführen. Obwohl der Großteil der in Frage kommenden Patienten erfasst und aufgeklärt wurde, konnten am Ende nur 41 Patienten in die Studie eingeschlossen werden. Als Ursache hierfür ist zu erwähnen, dass am Universitätsklinikum Würzburg eine Patientenaufklärung vor Studieneinschluss erfolgen musste. Dies war im Rahmen der internationalen Datenerfassung für PIMDA in vielen anderen Studienzentren nicht notwendig. Daraus ergab sich, dass von 44 aufgeklärten Patienten drei Personen (7%) die Studienteilnahme ablehnten. Diese drei Patienten fühlten sich laut eigener Aussage vor allem auf Grund eines ausgeprägten Krankheits- und Schwächegefühls nicht in der Lage, sich

mit dem Thema auseinanderzusetzen und lehnten daher die Studienteilnahme ab. Somit konnten gerade Patienten, welche sehr in ihrem Allgemeinzustand beeinträchtigt waren, nicht in die Studie eingeschlossen werden.

Da es durch die Studienvorgaben von PIMDA nicht möglich war, eine aktive Nachverfolgung der Studienteilnehmer über ein halbes Jahr hinaus durchzuführen, konnte nicht bei allen Patienten der Verbleib und das Überleben am Ende der Beobachtungszeit ermittelt werden. So konnte beispielsweise bei zwei der 7 Personen mit einer möglichen Aspergillose nicht herausgefunden werden, ob sie nach dem halben Jahr noch lebten. Einer dieser Studienteilnehmer wurde laut Krankenakte unter einem palliativen Therapiekonzept in ein heimatnahes Krankenhaus verlegt. Es ist demnach wahrscheinlich, dass er innerhalb des Studienzeitraums verstarb. Zudem wurde trotz pilztypischer Infiltrate im CT bei einigen Patienten keine weitere Schnittbildgebung angeordnet, sodass bei diesen Personen keine verwertbare Aussage bezüglich der Entwicklung der Mykose am Ende des halben Jahres getroffen werden konnte.

#### 5.4 Ausblick

Da in der vorliegenden Studie nur mit den Daten von insgesamt 41 Patienten gearbeitet werden konnte, die Fallzahl also vergleichsweise klein war, war es vor allem bei der Evaluation der Risikofaktoren zur Entwicklung einer IFD schwierig, signifikante Resultate zu erzielen. Bei der Betrachtung einzelner Faktoren zeichneten sich zwar Tendenzen ab, die statistische Analyse erbrachte jedoch keine relevanten Ergebnisse. Aus diesem Grund wäre es sinnvoll, eine Weiterführung der Studie mit einem größeren Patientenkollektiv zu planen. Im Zuge einer solchen Folgestudie könnte gleichzeitig der Beobachtungszeitraum auf ein Jahr ausgeweitet werden, um auch Pilzinfektionen, welche später als ein halbes Jahr nach Konditionierung auftreten, erfassen zu können. So zeigten Marr et al. beispielsweise, dass immerhin 17% der registrierten Fälle einer wahrscheinlichen oder gesicherten invasiven Aspergillose bei allogenen Stammzell-transplantierten Patienten später als 6 Monate nach der Transplantation auftraten [Marr et al., 2002a]. Auf diesem Wege könnte man zusätzlich den Verlauf der an einer invasiven Pilzinfektion erkrankten Patienten länger beobachten, die Letalität nach

Pilzinfektionen noch genauer beurteilen und den Behandlungserfolg einzelner Antimykotika besser bewerten. Auch wäre es denkbar, eine inhaltlich ähnliche Studie auf weitere Patientenkollektive, wie Empfänger einer Chemotherapie bei AML, auszuweiten. Denn gerade Patienten mit dieser Grunderkrankung waren in der vorliegenden Studie am häufigsten von systemischen Mykosen betroffen. In einer großen amerikanischen Analyse von 231 Personen mit neu diagnostizierter, akuter Leukämie lag die kumulative Inzidenz einer wahrscheinlichen oder gesicherten invasiven Mykose immerhin bei 11% nach 100 Tagen. Allerdings wurde in der genannten Patientenpopulation keine prophylaktische, antimykotische Therapie verabreicht. [Hammond et al., 2010] Es wäre nun die Aufgabe einer Folgestudie, herauszufinden, wie sich die Inzidenz invasiver Mykosen bei AML-Patienten unter der in Würzburg durchgeführten, antimykotischen Prophylaxe verhält. Ein Fokus zukünftiger Betrachtungen könnte bei einer längeren Einschlusszeit von mindestens einem Jahr auch auf der Jahreszeit-abhängigen Inzidenz von invasiven Mykosen liegen, da diesbezüglich beispielsweise ein Zusammenhang bei Petrova et al. geäußert wurde [Petrova et al., 2005]. Da es hierzu jedoch auch gegensätzliche Erkenntnisse gibt, so beobachteten Lortholary et al. zum Beispiel keine Saisonalität invasiver Aspergillosen über einen Erhebungszeitraum von 2005 bis 2007, wäre eine solche Analyse sicherlich interessant [Lortholary et al., 2011].

## 6 Zusammenfassung

Opportunistische Infektionen stellen ein ernst zu nehmendes Problem bei immunsupprimierten Patienten in der Hämatologie und Onkologie sowie speziell bei Stammzell-transplantierten Patienten dar. Vor allem die Inzidenz invasiver Pilzinfektionen stieg in den letzten Jahrzehnten in diesem Risikokollektiv immer weiter an. Dabei verbleibt die Morbidität und Mortalität bei Patienten mit einer systemischen Mykose trotz verbesserter Diagnostik und Therapie weiterhin hoch.

Im Rahmen dieser Studie sollte die Inzidenz und Relevanz invasiver Mykosen am Standort Würzburg untersucht werden und die wesentlichen Risikofaktoren für eine Pilzinfektion bei hämatoonkologischen Hochrisiko-Patienten herausgearbeitet werden. Um dies zu verwirklichen, wurden die Daten von 41 Patienten, welche eine allogene Stammzelltransplantation am Universitätsklinikum Würzburg erhielten, detailliert dokumentiert und analysiert. Die aktive Beobachtung fand dabei bis 100 Tage nach Beginn der Konditionierungs-Chemotherapie statt. Eine Nachbetrachtung der Patientendaten in Bezug auf invasive Pilzinfektionen wurde ein halbes Jahr nach Studienstart durchgeführt.

Zur Diagnostik von invasiven Pilzinfektionen wurden im Beobachtungszeitraum bei allen Studienteilnehmern regelmäßig thorakale CT-Untersuchungen und Bestimmungen des Aspergillus-typischen Antigens Galactomannan im Serum durchgeführt. Zusätzlich erfolgte bei einem Teil der Patienten eine PCR-Untersuchung ihres Serums auf Aspergillus-DNA. Dabei zeigte die PCR-Untersuchung eine 100%ige Sensitivität und 55%ige Spezifität bei einem einmalig positiven Ergebnis. Wenn zwei positive PCR-Ergebnisse gefordert wurden, war die Sensitivität deutlich reduziert. Bei der Betrachtung der Galactomannan-Bestimmung ergab sich eine 74%ige Spezifität bei einem zweimalig positiven Ergebnis.

Von den 41 Studienteilnehmern erkrankten innerhalb des ersten halben Jahres nach der Konditionierung 22% an einer wahrscheinlichen invasiven Mykose und 17% an einer möglichen invasiven Mykose. Dabei waren 94% der Erkrankungen auf den Schimmelpilz *Aspergillus spp.* zurückzuführen. Lediglich bei einem Patienten wurde der Schlauchpilz *Fusarium spp.* nachgewiesen.

Systemische Hefepilzinfektionen traten nicht auf. Alle detektierten Fälle einer invasiven Pilzinfektion wiesen die Lunge als primären Infektionsort auf. Der Großteil der Infektionen ereignete sich in den ersten 40 Tagen nach der Konditionierung, so waren 78% der Fälle als frühe Infektionen einzustufen. Als Risikofaktoren für die Entwicklung einer invasiven Mykose wurden in der vorliegenden Arbeit das Alter der Patienten und eine mit HLA-Mismatch durchgeführte Transplantation aufgedeckt. Die akute myeloische Leukämie als Grunderkrankung war ein weiterer, unabhängiger, prädisponierender Faktor für eine mögliche oder wahrscheinliche Mykose. Eine prolongierte aplastische Phase mit neutrophilen Granulozyten unter 100/ $\mu$ l sowie ein persistierendes neutropenes Fieber zeigten sich als Risikofaktoren für die Entwicklung einer möglichen Aspergillose. In Bezug auf wahrscheinliche Pilzinfektionen zeigte sich hier jedoch kein Zusammenhang. Eine lange Fieberphase präsentierte sich als Hinweisfaktor für eine folgende mögliche oder wahrscheinliche Infektion. Eine prolongierte Steroidzufuhr von mindestens 21 Tagen Dauer erwies sich als weiterer Risikofaktor für invasive mögliche Mykosen. Das Geschlecht der Patienten, akute sowie chronische Abstoßungsreaktionen, der CMV-Status von Empfänger und Spender und eine CMV-Reaktivierung, der HCT-CI Score, ein Nikotinabusus sowie respiratorische virale Infekte waren in der vorliegenden Studie keine signifikanten Risikofaktoren für eine invasive Pilzinfektion. Desweiteren waren im Studienkollektiv auch die Anzahl der verabreichten Antibiotika und  $\beta$ -Lactam Antibiotika sowie die Dauer der neutropenen Phase mit weniger als 500 neutrophilen Granulozyten/ $\mu$ l keine relevanten Risikofaktoren für eine Pilzinfektion.

Es zeigte sich, dass Patienten, die an einer invasiven Mykose erkrankt waren, eine signifikant längere Krankenhausverweildauer hatten, als Patienten ohne Hinweis auf eine systemische Pilzinfektion. Nach einem halben Jahr Studienverlauf lag das Gesamtüberleben der Patienten bei 71,8% (ohne 2 unklare Fälle gerechnet). Jedoch war das Auftreten einer invasiven Pilzinfektion mit einer deutlich höheren Mortalität assoziiert. Nach 6 Monaten lebten von den Patienten mit einer wahrscheinlichen Mykose noch 33,3%, wohingegen von den Patienten, welche ohne Zeichen einer Mykose als unklassifiziert eingestuft wurden, noch 84% am Leben waren. Der Tod ereignete sich bei den Patienten



mit einer möglichen oder wahrscheinlichen Infektion im Durchschnitt 40 Tage nach der Erstdiagnose der Pilzinfektion.

Zusammenfassend zeigte sich, dass der Anteil von Fällen mit invasiver Mykose im Studienkollektiv hoch lag und diese Infektion mit einer hohen Letalität assoziiert war. Anhand dieser Daten erscheint es indiziert, dass der Fokus bei allogenen transplantierten Risiko-Patienten in Zukunft noch stärker auf dem Erkennen dieser opportunistischen Infektionen liegen sollte, um frühzeitig und adäquat intervenieren und therapieren zu können. Auch eine Aspergillus-aktive, antimykotische Prophylaxe ist für diesen Zeitraum zu prüfen. Da sich die ersten 40 Tage nach der Transplantation als Hauptrisiko-Zeitraum für eine invasive Mykose herausgestellt haben, sollten gerade in dieser, zum Großteil stationären, Phase besondere Anstrengungen unternommen werden, die erkrankten Patienten früh zu erkennen und zu behandeln. Auf diesem Wege wäre es eventuell möglich, das Gesamtüberleben der Patienten nach einer allogenen Stammzelltransplantation noch weiter zu verbessern.

## 7 Literaturverzeichnis

[Aguilar-Guisado et al., 2012]	Aguilar-Guisado M, Martín-Peña A, Espigado I et al., Universal antifungal therapy is not needed in persistent febrile neutropenia: a tailored diagnostic and therapeutic approach, <i>Haematologica.</i> , 2012 Mar, 97(3):464-71.
[Akira et al., 2006]	Akira S, Uematsu S, Takeuchi O, Pathogen recognition and innate immunity, <i>Cell</i> , 2006, 124:783-801.
[Aliyali et al., 2013]	Aliyali M, Hedayati MT, Habibi MR et al., Clinical risk factors and bronchoscopic features of invasive aspergillosis in intensive care unit patients, <i>J Prev Med Hyg.</i> , 2013 Jun, 54(2):80-82.
[Avni et al., 2011]	Avni T, Leibovici L, Paul M et al., PCR diagnosis of invasive candidiasis: systematic review and meta-analysis, <i>J Clin Microbiol.</i> , 2011, 49:665–670.
[Baddley et al., 2010]	Baddley JW, Andes DR, Marr KA et al., Factors associated with mortality in transplant patients with invasive aspergillosis, <i>Clin Infect Dis.</i> , 2010 Jun, 50(12):1559-67.
[Bartsch et al., 1996]	Bartsch HH, Mertelsmann R (Hrsg), et al., Knochenmark- und periphere Stammzelltransplantation- Medizinische Probleme der Posttransplantationsphase und Rehabilitationstrategien, Basel, Karger, 1996, 16-24.
[Beutler et al., 2004]	Beutler B et al., Interferences, questions and possibilities in Toll-like receptor signaling, <i>Nature</i> , 2004, 430:257-263.
[Blaschke et al., 2002]	Blaschke S, Don M, Schillinger W, Rüchel R, Candida pneumonia in patients without definitive immunodeficiency, <i>Mycosis</i> , 2002, 45:22-26.
[Bochud et al., 2008]	Bochud PY, Chien JW, Marr KA et al., 2008, Toll-like receptor 4 Polymorphisms and aspergillosis in stem- cell transplantation, <i>N Engl J Med</i> , 2008, 359:1766-1777.
[Böhme et al., 2009]	Böhme A, Ruhnke M, Buchheidt D et al., Treatment of invasive fungal infections in cancer patients- recommendations of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO), <i>Ann Hematol.</i> , 2009, 88:97–110.
[Boutboul et al., 2002]	Boutboul F, Alberti C, Leblanc T et al., Invasive Aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: Increasing antigenemia is associated with progressive disease, <i>Clin Infect Dis.</i> , 2002, 34:939–943.
[Braedel et a., 2004]	Braedel S, Radsak M, Einsele H et al., <i>Aspergillus fumigatus</i> antigens activate innate immune cells via toll-like receptors 2 and 4, <i>Br J Haematol</i> , 2004, 125:392-399.
[Campbell et al., 2009]	Campbell NA, Reece JB, Urry et al., <i>Biologie</i> , 8. Aktualisierte Auflage, Pearson Studium 2009, 858-881.
[Cenci et al., 1997]	Cenci E, Perito S, Enssle K et al., Th1 and Th2 cytokines in mice with invasive aspergillosis, <i>Infect Immun</i> , 1997, 65:564-570.
[Cenci et al., 1998]	Cenci E, Mencacci A, Fe d' Ostiani C et al., Cytokine- and T helper- dependent lung mycosal immunity in mice with invasive pulmonary aspergillosis, <i>J Infect Dis</i> , 1998, 178: 1750-1760.
[Chi et al., 2013]	Chi AK, Soubani AO, White AC et al., An Update on

	Pulmonary Complications of Hematopoietic Stem Cell Transplantation, <i>Chest</i> , 2013, 144(6):1913-1922.
[Cornely et al., 2007]	Cornely OA, Maertens J, Winston DJ et al., Posaconazole vs. fluconazole or itraconazole prophylaxis in patients with neutropenia, <i>N Engl J Med.</i> , 2007, 356(4):348-59.
[Da Silva et al., 2014]	Da Silva TV, Carneiro LC, Ramos Fdos S, PCR as a screening test for invasive aspergillosis in haematological patients: a pilot study, <i>Mycopathologia.</i> , 2014 Feb, 177(1-2):111-4.
[De Pauw et al., 2008]	De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP et al., Revised definitions of 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 disease mycoses study group (EORTC/MSG) consensus group, <i>Clinical infectious diseases</i> , 2008, 46:1813-1821.
[Des Champs-Bro et al., 2011]	Des Champs-Bro B, Leroy-Cotteau A, Mazingue F et al., Invasive fungal infections: epidemiology and analysis of antifungal prescriptions in onco-haematology, <i>J Clin Pharm Ther.</i> , 2011 Apr, 36(2):152-160.
[Donnelly et al., 2006]	Donnelly JP et al., Polymerase chain reaction for diagnosing invasive aspergillosis: getting closer but still a ways to go, <i>Clin Infect Dis.</i> , 2006 Feb 15, 42(4):487-9.
[El Fekih et al., 2012]	El Fekih N, Belghith I, Trabelsi S, Skhiri-Aounallah H, Khaled S, Faza'a B, Epidemiological and etiological study of foot mycoses in Tunisia, 2012, <i>Actas Dermosifiliogr.</i> , 2012 Jul-Aug, 103(6):520- 524.
[Florent et al., 2006]	Florent M, Katsahian S, Vekhoff A et al., Prospective evaluation of a polymerase chain reaction –ELISA targeted to <i>Aspergillus fumigatus</i> and <i>Aspergillus flavus</i> for the early diagnosis of invasive aspergillosis in patients with hematological malignancies, <i>J Infect Dis.</i> , 2006, 193:741–747.
[Fukuda et al., 2003]	Fukuda T, Boeckh M, Carter RA et al., Risks and outcomes of invasive fungal infections in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants after nonmyeloablative conditioning, <i>Blood.</i> , 2003 Aug 1, 102(3):827-33.
[Gamaletsou et al., 2013]	Gamaletsou MN, Rammaert B, Bueno MA et al., <i>Aspergillus</i> osteomyelitis: Epidemiology, clinical manifestations, management, and outcome, <i>J Infect.</i> , 2013 Dec 27.
[Garcia-Vidal et al., 2008]	Garcia-Vidal C, Upton A, Kirby KA et al., Epidemiology of invasive mold infections in allogeneic stem cell transplant recipients: biological risk factors for infection according to time after transplantation, <i>Clinical Infectious Diseases</i> , 2008, 47:1041-1050.
[Gilroy et al., 2011]	Gilroy SA, Bennett NJ, Pneumocystis pneumonia, <i>Semin Respir Crit Care Med.</i> , 2011 Dec, 32(6):775-782.
[Gimenez et al., 2014]	Giménez E, Solano C, Nieto J et al., An investigation on the relationship between the occurrence of CMV DNAemia and the development of invasive aspergillosis in the allogeneic stem cell transplantation setting, <i>J Med Virol.</i> , 2014 Apr, 86(4):568-575.
[Girmenia et al., 2014]	Girmenia C, Raiola AM, Piciocchi A et al., Incidence and

	outcome of invasive fungal diseases after allogeneic stem cell transplantation: a prospective study of the Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo (GITMO), Biol Blood Marrow Transplant., 2014 Mar 13.
[Greene et al., 2007]	Greene RE, Schlamm HT, Oestmann JW et al., Imaging findings in acute invasive pulmonary aspergillosis: clinical significance of the halo sign, Clin Infect Dis., 2007 Feb 1, 44(3):373-379.
[Gupta et al., 2012]	Gupta M, Vyas S, Development, characterization and in vivo assessment of effective lipidic nanoparticles for dermal delivery of fluconazole against cutaneous candidiasis, Chem Phys Lipids., 2012 May, 165(4):454-461.
[Hammond et al., 2010]	Hammond SP, Marty FM, Bryar JM et al., Invasive fungal disease in patients treated for newly diagnosed acute leukemia, American Journal of Hematology, September 2010, 85(9):695–699.
[Hebart et al., 2000]	Hebart H, Löffler J, Meisner C, Early detection of <i>aspergillus</i> infection after allogeneic stem cell transplantation by polymerase chain reaction screening, J Infect Dis., 2000 May, 181(5):1713-9.
[Heinz et al., 2008]	Heinz W, Ullmann A, DGHO Leitlinie: Infektiöse Komplikationen nach Hochdosistherapie und autologer SZT: Diagnostik vor Neutropenie und im Verlauf; <a href="http://www.dgho-infektionen.de/e2735/e3620/e15791/e15803/">http://www.dgho-infektionen.de/e2735/e3620/e15791/e15803/</a>
[Herbrecht et al., 2002]	Herbrecht R, Denning DW, Patterson TF, et al., Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis, N Engl J Med, 2002, 347:408-415.
[Herold, 2011]	Herold G, Innere Medizin, 2011, 375-377/ 386-392.
[Hof et al., 2010]	Hof H, Heinz W, Kompendium medizinische Mykologie, Ein Ratgeber für Klinik, Praxis und Labor, 2010, Aesopus Verlag e.K., Linkenheim-Hochstetten.
[Homei et al., 2013]	Homei A, Worboys M, Fungal Disease in Britain and the United States 1850–2000: Mycoses and Modernity, Basingstoke (UK): Palgrave Macmillan, 2013.
[Kauffmann et al., 2014]	Kauffman CA, Freifeld AG, Andes DR et al., Endemic fungal infections in solid organ and hematopoietic cell transplant recipients enrolled in the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET), Transpl Infect Dis., 2014 Mar 4.
[Kaufmann et al., 1989]	Kaufmann SHE et al., Immunologische Abwehrmechanismen bei Pilzinfektionen, Dt. Ärztebl. 86, Heft 43, 1989, 35:3169-3173.
[Kayser et al., 2010]	Kayser FH, Böttger EC, Zinkernagel RM et al., Taschenlehrbuch Medizin Mikrobiologie, 12. Auflage, Thieme Verlag, 2010, 360-389.
[Khot et al., 2009]	Khot PD, Fredricks DN, PCR-based diagnosis of human fungal infections, Expert Rev Anti Infect Ther., 2009 Dec, 7(10):1201–1221.
[Koch et al., 2004]	Koch S, Höhne FM, Tietz HJ et al., Incidence of systemic mycoses in autopsy material, Mycoses., 2004 Feb, 47(1-2):40-46.
[Koldehoff et al., 2013]	Koldehoff M, Beelen DW, Elmaagacli AH et al., Increased susceptibility for aspergillosis and post-transplant immune

	deficiency in patients with gene variants of TLR4 after stem cell transplantation, <i>Transpl Infect Dis.</i> , 2013 Oct, 15(5):533-539.
[Kontoyiannis et al., 2010]	Kontoyiannis DP, Marr KA, Park BJ et al., Prospective Surveillance for Invasive Fungal Infections in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients, 2001–2006: Overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database, <i>Clin Infect Dis.</i> , 2010, 50(8):1091-1100.
[Lamoth et al., 2012]	Lamoth F, Cruciani M, Mengoli C et al., Beta-glucan antigenemia for the diagnosis of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies: a systematic review and meta-analysis of cohort studies from the third European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-3), <i>Clin Infect Dis.</i> , 2012, 54:633–643.
[Lass-Flörl et al., 2005]	Lass-Flörl C, Griff K, Mayr A, et al., Epidemiology and outcome of infections due to <i>Aspergillus terreus</i> : 10-year single centre experience, <i>British Journal of Haematology</i> , 2005, 131(2):201–207.
[Lass-Flörl et al., 2009]	Lass-Flörl C et al., The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe, <i>Mycoses.</i> , 2009 May, 52(3):197-205.
[Lass-Flörl et al., 2013]	Lass Flörl C, Roilides E, Löffler Jet al., Minireview: host defence in invasive aspergillosis, <i>Mycoses</i> , July 2013, 56(4):403–413.
[Laursen et al., 2001]	Laursen A, Mogensen S, Andersen H et al., The impact of CMV on the respiratory burst of macrophages in response to <i>Pneumocystis carinii</i> , <i>Clin Exp Immunol</i> , 2001, 123:139-146.
[Leeflang et al., 2008]	Leeflang MM, Debets-Ossenkopp YJ, Visser CE et al., Galactomannan detection for invasive aspergillosis in immunocompromized patients, <i>Cochrane Database Syst Rev (Online)</i> , 2008, (4):CD007394.
[Li et al., 2011]	Li X, Zhu H, Fan H et al., Pulmonary fungal infections after bone marrow transplantation: the value of high-resolution computed tomography in predicting their etiology, <i>Chinese Medical Journal</i> , 2011, 124(20)3249-3254.
[Li et al., 2012]	Li L, Wang J, Zhang W et al., Risk factors for invasive mold infections following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a single center study of 190 recipients, <i>Scand J Infect Dis.</i> , 2012 Feb, 44(2):100-107.
[Li et al., 2014]	Li Y, Xu W, Jiang Z et al., Neutropenia and invasive fungal infection in patients with hematological malignancies treated with chemotherapy: a multicenter, prospective, non-interventional study in China, <i>Tumour Biol.</i> , 2014 Mar 25.
[Lin et al., 2001]	Lin SJ, Schranz J, Steven M et al., aspergillosis case-fatality rate: systematic review of the literature, <i>Clinical Infectious disease</i> , 2001, 32:358-366.
[Lin et al., 2013]	Lin XM, Deng Q, Zhao MF et al., Epidemiology of invasive fungal disease in patients with hematological diseases, <i>Zhonghua Yi Xue Za Zhi.</i> , 2013 Sep, 93(36):2876-2879.
[Lortholary et al., 2011]	Lortholary O, Gangneux JP, Sitbon K et al., Epidemiological trends in invasive aspergillosis in France: the SAIF network (2005-2007), <i>Clin Microbiol Infect</i> , 2011

	Dec, 17(12):1882-1889.
[Lüllmann et al., 2010]	Lüllmann H, Mohr K, Hein L, Pharmakologie und Toxikologie, 17. Auflage, Georg Thieme Verlag KG, 2010, 325-35/ 520-526.
[Maertens et al., 2007]	Maertens JA, Klont R, Masson C et al., Optimization of the cut-off for the <i>Aspergillus</i> double-sandwich enzyme immunoassay, Clin Infect Dis., 2007, 44:1329–1336.
[Maertens et al., 2011]	Maertens J, Marchetti O, Herbrecht R et al., European guidelines for antifungal management in leukemia and hematopoietic stem cell transplant recipients: summary of the ECIL 3--2009 update, Bone Marrow Transplant, 2011 May, 46(5):709-18.
[Martin-Rabadan et al., 2012]	Martín-Rabadán P, Gijón P, Alonso Fernández R et al., False-positive <i>Aspergillus</i> antigenemia due to blood product conditioning fluids, Clin Infect Dis., 2012 Aug, 55(4):e22-7.
[Marr et al., 2002a]	Marr KA, Carter RA, Boeckh M et al., Invasive Aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: changes in epidemiology and risk factors, blood, 2002, 100:4458-4366.
[Marr et al., 2002b]	Marr KA, Carter RA, Crippa F et al., Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients, Clin Infect Dis, 2002, 34:909-917.
[Marr et al., 2004]	Marr KA, Boeckh M, Carter RA et al., Combination antifungal therapy for invasive aspergillosis. Clin Infect Dis, 2004, 39(6):797-802.
[Marr et al., 2005]	Marr KA, Laverdiere M, Gugel A et al., Antifungal therapy decreases sensitivity of the <i>Aspergillus</i> galactomannan enzyme immunoassay, Clin Infect Dis., 2005, 40:1762–1769.
[Maschmeyer et al., 2009]	Maschmeyer G, Sandherr M et al., Infektionen in der Hämatologie und Onkologie, Internist, 2009, 50:187-202.
[Maschmeyer et al., 2012]	<a href="http://www.dgho-onkopedia.de/de/onkopedia/leitlinien/febrile-neutropenie-mit-lungeninfiltraten-nach-intensiver-Chemotherapie">http://www.dgho-onkopedia.de/de/onkopedia/leitlinien/febrile-neutropenie-mit-lungeninfiltraten-nach-intensiver-Chemotherapie</a>
[Meneguetti et al., 2013]	Meneguetti MG, Ferreira LR, Silva MF et al., Assessment of microbiological air quality in hemato-oncology units and its relationship with the occurrence of invasive fungal infections: an integrative review, Rev Soc Bras Med Trop., 2013 Jul-Aug, 46(4):391-396.
[Mengoli et al., 2009]	Mengoli C, Cruciani M, Barnes RA et al., Use of PCR for diagnosis of invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis, Lancet Infect Dis, 2009, 9:89–96.
[Mohamed et al., 2005]	Mohamed L. Sorrow, Michael B. et al., Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT, Blood, 2005 Oct, 106(8):2912–2919.
[Montagna et al., 2014]	Montagna MT, Lovero G, Coretti C et al., SIMIFF study: Italian fungal registry of mold infections in hematological and non-hematological patients, Infection., 2014 Feb, 42(1):141-51.
[Mousset et al., 2014]	Mousset S, Buchheidt D, Heinz W et al., Treatment of invasive fungal infections in cancer patients--updated recommendations of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and

	Oncology (DGHO), Ann Hematol., 2014 Jan, 93(1):13-32.
[Müller et al., 2000]	Müller P, Schlimok G et al., Monitoring infektiöser Komplikationen bei Patienten mit akuten Leukämien und autologen Blutstammzelltransplantationen, Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin, Lab Med 2000, 24(2):63-68.
[Munoz et al., 2014]	Muñoz P, Cerón I, Valerio M et al., Invasive aspergillosis among heart transplant recipients: A 24-year perspective, J Heart Lung Transplant., 2014 Mar, 33(3):278-288.
[Narreddy et al., 2008]	Narreddy S, Chandrasekar PH et al., False-positive <i>Aspergillus</i> galactomannan (GM) assay in histoplasmosis, J Infect, 2008, 56:80-1.
[Neofytos et al., 2009]	Neofytos D, Horn D, Anaissie E, Epidemiology and outcome of invasive fungal infection in adult hematopoietic stem cell transplant recipients: analysis of Multicenter Prospective Antifungal Therapy (PATH) Alliance registry, Clin Infect Dis., 2009 Feb 1, 48(3):265-73.
[Neofytos et al., 2012]	Neofytos D, Lu K, Hatfield-Seung A et al., Epidemiology, outcomes, and risk factors of invasive fungal infections in adult patients with acute myelogenous leukemia after induction chemotherapy, Mycology, Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2013 Feb, 75(7):144–149.
[Neofytos et al., 2013]	Neofytos D, Treadway S, Ostrander D et al., Epidemiology, outcomes, and mortality predictors of invasive mold infections among transplant recipients: a 10-year, single-center experience, Transplant Infectious Disease, 2013 Jun, 15(3):233–242.
[Nivoix et al., 2008]	Nivoix Y1, Velten M, Letscher-Bru V et al., Factors associated with overall and attributable mortality in invasive aspergillosis, Clin Infect Dis., 2008 Nov 1, 47(9):1176-84.
[Nucci et al., 2014]	Nucci M, Carlesse F, Cappellano P et al., Earlier diagnosis of invasive fusariosis with <i>Aspergillus</i> serum galactomannan testing. PLoS One., 2014 Jan 28, 9(1).
[Pagano et al., 2001]	Pagano L, Girmenia C, Mele L et al., Infections caused by filamentous fungi in patients with hematologic malignancies. A report of 391 cases by GIMEMA Infection Program, haematologica, 2001, 86:862-870.
[Pagano et al., 2006]	Pagano L, Caira M, Candoni A et al., The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM-2004 study, haematologica /the hematology journal, 2006, 91(8):1068-1073.
[Perfect et al., 2013]	Perfect JR et al., Fungal diagnosis: how do we do it and can we do better?, Curr Med Res Opin., 2013 Apr 29, 4:3-11.
[Perkhofer et al., 2010]	Perkhofer S, Lass-Flörl C, Hell M et al., The Nationwide Austrian <i>Aspergillus</i> Registry: a prospective data collection on epidemiology, therapy and outcome of invasive mould infections in immunocompromised and/or immunosuppressed patients, Int J Antimicrob Agents., 2010 Dec, 36(6):531-6.
[Peterson et al., 2013]	Peterson L, Ostermann J, Rieger H et al., Posaconazole prophylaxis - impact on incidence of invasive fungal disease and antifungal treatment in haematological patients, Mycoses, 2013 Nov, 56(6):651-658.

[Petrova et al., 2005]	Petrova NA, Kliasova GA et al., Possible sources of aspergilla infection in a hematological hospital, Ter Arkh., 2005, 77(7):71-77.
[Pfaffenbach et al., 1994]	Pfaffenbach B, Donhuij SK, Pahnke J et al., systemic fungal infections in hematologic neoplasms. An autopsy study of 1053 patients, Med Klin (Munich)., 1994 Jun 15, 89(6):299-304.
[Pfeiffer et al., 2006]	Pfeiffer CD, Fine JP, Safdar N et al., Diagnosis of invasive aspergillosis using a galactomannan assay: A meta-analysis, Clin Infect Dis., 2006, 42:1417-1427.
[Popova et al., 2012]	Popova MO, Zubarovskaia LS, Klimko NN et al., Invasive mycoses during hematopoietic stem cell transplantation, Ter Arkh., 2012, 84(7):50-7.
[Post et al., 2007]	Post MJ, Lass- Flörl C, Gastl G et al., Invasive fungal infections in allogeneic and autologous stem cell transplant recipients: a single-center study of 166 transplanted patients, Transplant Infectious Disease, 2007 Sept, 9(3):189–195.
[Psychologie Freiburg, 2009]	<a href="http://www.psychologie.uni-freiburg.de/abteilungen/Sozialpsychologie.Methodenlehre/courses/ws09/leonhart/handout-t-test-unabhangigegstichproben">http://www.psychologie.uni-freiburg.de/abteilungen/Sozialpsychologie.Methodenlehre/courses/ws09/leonhart/handout-t-test-unabhangigegstichproben</a>
[Rabagliati et al., 2009]	Rabagliati BR, Fuentes LG, Guzmán DAM et al., Invasive fungal disease in hemato-oncological and hematopoietic stem cell transplantation patients from Hospital Clinico Universidad Católica, Santiago-Chile using revised EORTC/MSG diagnostic criteria, Rev Chilena Infectol., 2009 Jun, 26(3):212-219.
[Racil et al., 2007]	Racil Z, Kocmanova I, Lengerova M et al., Intravenous PLASMA-LYTE as a major cause of false-positive results of platelia <i>Aspergillus</i> test for galactomannan detection in serum, J Clin Microbiol, 2007, 45:3141-2.
[Reinwald et al., 2012]	Reinwald M, Spiess B, Heinz WJ et al., Diagnosing pulmonary aspergillosis in patients with hematological malignancies: a multicenter prospective evaluation of an <i>Aspergillus</i> PCR assay and a galactomannan ELISA in bronchoalveolar lavage samples, Eur J Haematol., 2012, 89:120–127.
[Rocchi et al., 2014]	Rocchi S, Reboux G, Larosa F et al., Evaluation of invasive aspergillosis risk for immunocompromised patients alternatively hospitalized in hematology intensive care unit and at home, Indoor Air., 2014 Mar 13.
[Sei et al., 2012]	Sei Y et al., 2006 epidemiological survey of dermatomycoses in Japan, Med. Mycol. J., 2012, 53(3): 185-192.
[Senn et al., 2008]	Senn L, Robinson JO, Schmidt S et al., 1,3-beta-d-Glucan antigenemia for early diagnosis of invasive fungal infections in neutropenic patients with acute leukemia, Clin Infect Dis., 2008, 46:878–885.
[Stevens et al., 2002]	Stevens DA, et al., Diagnosis of fungal infections; current status, J Antimicrob Chemother., 2002, 49(1):11–19.
[Storek et al., 2001]	Storek J, Dawson MA, Storer B et al., Immune reconstitution after allogeneic marrow transplantation compared with blood stem cell transplantation, blood, 2001, 97:3380- 3389.



[Tong et al., 2009]	Tong KB, Lau CJ, Murtagh K et al., The economic impact of aspergillosis: analysis of hospital expenditures across patient subgroups, <i>Int J Infect Dis.</i> , 2009 Jan, 13(1):24-36.
[Tsitsikas et al., 2012]	Tsitsikas DA, Morin A, Araf S et al., Impact of the revised (2008) EORTC/MSG definitions for invasive fungal disease on the rates of diagnosis of invasive aspergillosis, <i>Medical Mycology</i> , 2012, 50(5):538-542.
[UKW, 2005]	<a href="http://www.ukw.de/aktuelles/news-detail/article/fuenf-jahre-wuerzburger-stammzell-transplantationszentrum-hochleistungsmedizin-hat-sich-etabliert.html">http://www.ukw.de/aktuelles/news-detail/article/fuenf-jahre-wuerzburger-stammzell-transplantationszentrum-hochleistungsmedizin-hat-sich-etabliert.html</a>
[Walsh et al., 2004]	Walsh TJ, Teppler H, Donowitz GR et al., Caspofungin versus liposomal Amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with persistent fever and neutropenia, <i>N Engl J Med</i> , 2004 Sep, 351(14):1391-1401.
[Wheat et al., 2006]	Wheat LJ et al., Antigen detection, serology, and molecular diagnosis of invasive mycoses in the immunocompromised host, <i>Transpl Infect Dis.</i> , 2006 Sep, 8(3):128-139.
[Wheat et al., 2008]	Wheat LJ, Walsh TJ, Diagnosis of invasive aspergillosis by galactomannan antigenemia detection using an enzyme immunoassay, <i>Eur J Clin Microbiol Infect Dis.</i> , 2008, 27:245–251.
[Wingard et al., 2008]	Wingard JR, Ribaud P, Schlamm HT et al., Changes in causes of death over time after treatment for invasive aspergillosis, <i>Cancer.</i> , 2008 May 15, 112(10):2309-12.
[Xu et al., 2012]	Xu S, Qiu L, Liu W et al., Initial computed tomography findings of invasive pulmonary aspergillosis in non-hematological patients, <i>Chinese Medical Journal</i> , 2012, 125(17):2979-2985.
[Yong et al., 2013]	Yong L, Min C, Hartmann T et al., Epidemiology of opportunistic invasive fungal infections in China: review of literature, <i>Chinese Medical Journal</i> , 2013, 126(2):361-368.
[Zhang et al., 2010]	Zhang P, Jiang EL, Yang DL et al., Risk factors and prognosis of invasive fungal infections in allogeneic stem cell transplantation recipients: a single-institution experience, <i>Transpl Infect Dis.</i> , 2010 Aug, 12(4):316-321.
[Zhang et al., 2014]	Zhang J, Gong Y, Wang K et al., Caspofungin versus liposomal amphotericin B for treatment of invasive fungal infections or febrile neutropenia, <i>Chin Med J (Engl).</i> , 2014 Feb, 127(4):753-757.
[Ziakas et al., 2014]	Ziakas PD, Kourbeti IS, Mylonakis E et al., Systemic Antifungal Prophylaxis After Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Meta-Analysis, <i>Clin Ther.</i> , 2014 Feb 1, 36(2):292-306.
[Zirkel et al., 2012]	Zirkel J, Klinker H, Kuhn A et al., Epidemiology of <i>Candida</i> blood stream infections in patients with hematological malignancies or solid tumors, <i>Medical Mycology</i> , 2012 Jan, 50(1):50-55
[Zou et al., 2012]	Zou M, Tang L, Zhao S et al., Systematic review and meta-analysis of detecting galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosing invasive aspergillosis, <i>PLoS One</i> . 2012;7.

## 8 Tabellenverzeichnis

TABELLE 1-1: EORTC-MSG KRITERIEN EINER GESICHERTEN INVASIVEN PILZINFEKTION (AUSGENOMMEN ENDEMISCHE MYKOSEN), [DE PAUW ET AL., 2008] .....	14
TABELLE 1-2: EORTC-MSG KRITERIEN EINER WAHRSCHEINLICHEN INVASIVEN PILZINFEKTION (AUSGENOMMEN ENDEMISCHE MYKOSEN), [DE PAUW ET AL., 2008] .....	15
TABELLE 1-3: EMPFEHLUNGSGRADE DER THERAPIE SOWIE EVIDENZGRADE, AUF DENEN DIE EMPFEHLUNGEN BERUHEN [BÖHME ET AL., 2009] .....	20
TABELLE 1-4: AGIHO LEITLINIENEMPFEHLUNG ZUR THERAPIE VON INVASIVEN ASPERGILLOSEN BEI HÄMATOLOGISCHEN UND ONKOLOGISCHEN PATIENTEN ZUM ZEITPUNKT DER STUDIE [BÖHME ET AL., 2009] .....	20
TABELLE 1-5: AGIHO LEITLINIENEMPFEHLUNGEN ZUR THERAPIE VON INVASIVEN CANDIDOSEN BEI HÄMATOLOGISCHEN UND ONKOLOGISCHEN PATIENTEN ZUM ZEITPUNKT DER STUDIE [BÖHME ET AL., 2009] .....	21
TABELLE 3-1: EINGESCHLOSSENE VARIABLEN IN DER REGRESSIONSANALYSE .....	31
TABELLE 4-1: KONDITIONIERUNGS-PROTOKOLLE IN ABHÄNGIGKEIT VON DER GRUNDERKRANKUNG.....	38
TABELLE 4-2: RISIKO FÜR EINE INVASIVE PILZINFEKTION IN ABHÄNGIGKEIT VOM HLA-MATCHING .....	57
TABELLE 4-3: CMV-STATUS ALS RISIKOFAKTOR FÜR INVASIVE MYKOSEN .....	59
TABELLE 4-4: AKUTE GvHD UND WAHRSCHEINLICHKEIT FÜR EINE INVASIVE MYKOSE .....	65
TABELLE 4-5: CHRONISCHE GvHD UND WAHRSCHEINLICHKEIT FÜR EINE INVASIVE MYKOSE.....	65

## 9 Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 4-1: ALTERSVERTEILUNG DER PATIENTEN BEI STUDIENEINSCHLUSS .....	34
ABBILDUNG 4-2: HÄUFIGKEITSVERTEILUNG DER GRUNDERKRANKUNGEN .....	34
ABBILDUNG 4-3: STADIUM DER GRUNDERKRANKUNG VOR DER KONDITIONIERUNG ENTSPRECHEND DER ERKRANKUNGSBEZOGENEN KLASSIFIKATION (SD: STABLE DISEASE, PD: PROGRESSIVE DISEASE, CR: COMPLETE RESOLUTION, PR: PARTIAL REMISSION, VGPR: VERY GOOD PARTIAL REMISSION, MRD: MINIMAL RESIDUAL DISEASE) .....	35
ABBILDUNG 4-4: HLA-STATUS VOM SPENDER ZUM EMPFÄNGER .....	37
ABBILDUNG 4-5: KLASSIFIKATION INVASIVER MYKOSEN 100 TAGE NACH DER KONDITIONIERUNG .....	41
ABBILDUNG 4-6: KLASSIFIKATION INVASIVER MYKOSEN 6 MONATE NACH DER KONDITIONIERUNG .....	41
ABBILDUNG 4-7: WAHRSCHEINLICHE INVASIVE MYKOSEN IN ABHÄNGIGKEIT VON DER ZEIT NACH DER STAMMZELLTRANSPLANTATION .....	42
ABBILDUNG 4-8: DURCHSCHNITTLICHE ANZAHL VERSCHIEDENER UNTERSUCHUNGSTECHNIKEN IN DEN 100 TAGEN BEOBACHTUNGSZEITRAUM PRO PATIENT .....	44
ABBILDUNG 4-9: AUSSAGEKRAFT DER PCR-UNTERSUCHUNG .....	45
ABBILDUNG 4-10: AUSSAGEKRAFT DER GALACTOMANNAN-BESTIMMUNG IM SERUM .....	47
ABBILDUNG 4-11: ANTIMYKOTISCHE PROPHYLAXE .....	50
ABBILDUNG 4-12: PRÄEMPTIVE ANTIMYKOTISCHE THERAPIE .....	51
ABBILDUNG 4-13: ANTIMYKOTISCHE THERAPIE AUF GRUND EINER WAHRSCHEINLICHEN PILZINFEKTION (ASPERGILLOSE ODER FUSARIOSE) .....	52
ABBILDUNG 4-14: KLASSIFIKATION INVASIVER MYKOSEN IN ABHÄNGIGKEIT VON DER GRUNDERKRANKUNG NACH 6 MONATEN I .....	54
ABBILDUNG 4-15: KLASSIFIKATION INVASIVER MYKOSEN IN ABHÄNGIGKEIT VON DER GRUNDERKRANKUNG NACH 6 MONATEN II .....	54
ABBILDUNG 4-16: RISIKO FÜR EINE INVASIVE PILZINFEKTION IN ABHÄNGIGKEIT VOM GESCHLECHT .....	56
ABBILDUNG 4-17: CMV-REAKTIVIERUNG UND INVASIVE MYKOSEN .....	60
ABBILDUNG 4-18: MITTELWERTE DER MAXIMALEN ANZAHL NEUTROPENER TAGE (<100 NEUTROPHILE GRANULOZYTEN/ $\mu$ L) IM STUDIENKOLLEKTIV .....	62
ABBILDUNG 4-19: PERSISTIERENDES NEUTROPENES FIEBER .....	63
ABBILDUNG 4-20: DURCHSCHNITTLICHE VERWEILDAUER IM KRANKENHAUS VON DER STATIONÄREN AUFNAHME BIS 100 TAGE NACH DER KONDITIONIERUNG .....	67
ABBILDUNG 4-21: ÜBERLEBEN NACH 6 MONATEN STUDIENLAUFZEIT.....	

# Danksagung

Besonderer Dank gilt meinem fachärztlichen Betreuer Priv.-Doz. Dr. med. Werner Heinz für die kompetente und geduldige Begleitung während der Ausarbeitungsphase sowie meiner Familie und meinem Freund für die sehr gute, moralische Unterstützung.

# Lebenslauf

## Zur Person

---

Name: Anne-Katrin Möller

## Schulische Ausbildung

---

1995 – 1999 Grundschule Ludwig-Chronegk, Meiningen

1999 – 2007 Henfling-Gymnasium Meiningen  
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife, Note: 1,3

## Freiwilliges Soziales Jahr

---

09/2007 - 08/2008 Freiwilliges Soziales Jahr, Diakonie Mitteldeutschland,  
Heilpädagogische Kindertagesstätte in Meiningen

## Studium

---

10/2008 – 11/2014 Studium der Humanmedizin an der J.-M.-Universität Würzburg

- 08/2010 erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung, Note: 1,5
- 11/2014 zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung, Note: 1,0

## Studentische Nebentätigkeiten

---

05/2010 - 07/2010 Institut für Anatomie und Zellbiologie, Universität Würzburg

- Betreuung des studentischen Mikroskopier-Kurses (14h/Monat)

05/2012 - 06/2013 Infektiologisches Institut, Universitätsklinikum Würzburg

- Mitarbeit an klinischen Studien (35h/Monat)

## Berufserfahrung

---

01/2015 – 07/2015 Medizinische Klinik, Diakonie-Klinikum Stuttgart  
Notaufnahme

Seit 07/2015 Medizinische Klinik I, Klinikum am Gesundbrunnen, Heilbronn

Stuttgart, April 2015

Anne-Katrin Möller

# Anhang

Anhang A: Patientenaufklärung Mutterstudie PIMDA

## **PIMDA-Beobachtungsstudie**

### **Patienteninformation und Einwilligungserklärung**

Wir möchten Sie einladen, an der Beobachtungsstudie mit dem Titel **„Beobachtungsstudie zur Ermittlung der Häufigkeit invasiver Schimmelpilzinfektionen und der Behandlungsergebnisse bei Risikopatienten: eine europäische prospektive Überprüfung der invasiven Schimmelpilzinfektion (PIMDA)“** teilzunehmen.

### **Zweck der Studie**

Der Zweck dieser Studie besteht in der Hauptsache darin, zu einer verlässlicheren Einschätzung der Häufigkeit invasiver Schimmelpilzinfektionen bei Patienten zu gelangen, die wie Sie aufgrund einer Leukämiebehandlung oder Stammzelltransplantation einer Risikogruppe angehören.

### **Begründung für die Beobachtungsstudie**

Schimmelpilz- bzw. Pilzsporen sind überall in der Umwelt anzutreffen und führen dem Menschen unter normalen Umständen keinerlei Schaden zu. Bei Patienten, die sich einer Leukämiebehandlung oder Stammzelltransplantation unterziehen, können diese Schimmelpilze jedoch invasive Erkrankungen verursachen. Obwohl alles Mögliche getan wird, kann das Auftreten dieser Erkrankungen nicht gänzlich verhindert werden. Je früher jedoch die entsprechende Diagnose gestellt und eine Behandlung eingeleitet wird, desto günstiger ist der Ausgang. Um einen Beitrag zu diesem Ziel leisten zu können, benötigen Ärzte unter anderem Informationen, die ihnen einen besseren Einblick in die Häufigkeit des Auftretens von invasiven Schimmelpilzinfektionen liefern.

### **Was wird von Ihnen im Rahmen dieser Studie gefordert?**

Sie werden gebeten, der Aufzeichnung Ihrer Behandlungsdaten über die 6-monatige Studiendauer zuzustimmen.

Dabei werden alle Anzeichen und Symptome, die mit einer invasiven Schimmelpilzinfektion im Zusammenhang stehen könnten, und die Ergebnisse bestimmter Untersuchungen erfasst, die im Rahmen Ihrer normalen medizinischen Versorgung durchgeführt werden. Zudem werden alle Antimykotika (Medikamente zur Behandlung einer Pilzinfektion) dokumentiert, die Sie gemäß der Standardtherapie in Ihrem Krankenhaus unter Umständen erhalten. Diese Daten werden anonym verarbeitet und Ihre Identität wird umfassend geschützt. Lediglich Ihr Alter und Ihr Geschlecht werden zusammen mit den studienrelevanten Informationen erfasst.

### **Nutzen und Risiken**

Die Teilnahme an der vorliegenden Studie ist mit keinem direkten Nutzen für Sie verbunden. Indem Sie uns jedoch gestatten, die erhobenen Daten zu verwenden, könnten Sie dazu beitragen, dass weitere Erkenntnisse zur Häufigkeit, Diagnose und Behandlung der invasiven Schimmelpilzinfektion gewonnen werden. Unabhängig davon, ob Sie sich für oder gegen eine Studienteilnahme entscheiden, werden Sie die gleiche Behandlung erhalten.

## **Vertraulichkeit**

Nur das beauftragte Personal der/des [*Name der klinischen Einrichtung*] wird Zugriff auf Ihre Krankenakte haben, und zwar um die Daten in den elektronischen Fallberichtsbogen zu übertragen.

Zugriff auf die Datenbank wird nur den Mitgliedern des Lenkungsausschusses der Studie sowie dem Auftraggeber der Studie – der European Confederation of Medical Mycology (ECMM) – gewährt. Für die Analyse und Nachkontrolle werden die Studienaufzeichnungen zeitlich unbefristet aufbewahrt. Die Daten werden in gesicherter Form gespeichert, wobei die Datenbank ähnlichen Sicherheitsstandards entspricht, die für Transaktionen im Onlinebanking gelten.

## **Recht auf Widerruf**

Die Entscheidung, uns Ihre medizinischen Daten im Rahmen dieser Studie zur Verwendung zur Verfügung zu stellen, erfolgt auf freiwilliger Basis. Sie können Ihre Einwilligung zur Studienteilnahme jederzeit, aus einem beliebigen Grund und ohne Beachtung einer Frist zurückziehen. Dies wird Ihre reguläre medizinische Versorgung in keinerlei Weise beeinträchtigen. In diesem Fall werden Ihre Daten aus dem Datensatz entfernt.

## **Freiwillige Einwilligung**

Ehe Sie dieses Formular unterschreiben, stellen Sie bitte alle Fragen, die Sie eventuell im Zusammenhang mit der Studie oder Ihren Rechten als Proband in einer klinischen Studie haben. Ein speziell beauftragtes Mitglied des Studienteams wird Ihnen zur Verfügung stehen und Ihre Fragen beantworten, bevor Sie die vorliegende Einwilligungserklärung unterzeichnen.

## **Erklärung des Prüfarztes**

Ich habe das vorgenannte Forschungsprogramm in einem Aufklärungsgespräch dargelegt. Der Teilnehmer hatte die Möglichkeit, die Maßnahmen, einschließlich möglicher Alternativen, zu besprechen und weitere Fragen zu stellen. Der Teilnehmer hat ein unterschriebenes Exemplar dieser Einwilligungserklärung erhalten.

---

**Unterschrift des leitenden Prüfarztes oder Beauftragten**

Datum

Name in Druckbuchstaben

---

## **Erklärung des Teilnehmers**

Ich bestätige, dass ich die Erläuterungen zum Zweck und die Beschreibung der vorliegenden Beobachtungsstudie gelesen habe bzw. mir diese vorgelesen wurden und ich diese verstanden habe. Ich habe Antworten auf alle meine Fragen erhalten und mir ist bekannt, dass ich jederzeit weitere Fragen stellen kann. Zudem erhalte ich ein Exemplar dieser unterschriebenen Einwilligungserklärung für meine Unterlagen. Ich hatte ausreichend Gelegenheit, die Einwilligungserklärung sorgfältig durchzusehen und mir ist bekannt, dass ich meine Einwilligung zur Teilnahme zu jeder Zeit zurückziehen



kann. Ich stimme der Sammlung, Speicherung und Analyse meiner spezifischen medizinischen Daten im Rahmen dieser Studie freiwillig zu.

---

**Unterschrift des Teilnehmers**

Datum

Name in Druckbuchstaben

---

---

**Unterschrift des Zeugen**

Datum

Name in Druckbuchstaben

---