

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II
der Universität Würzburg
Direktor: Prof. Dr. med. Hermann Einsele

**Prospektive Untersuchung zur Evaluation von Risikofaktoren und
Inzidenzen invasiver Pilzinfektionen, sowie der konsekutiven
antimykotischen Therapie bei Hochrisikopatienten mit akuter Leukämie
und Langzeitaplasie nach Chemotherapie unter besonderer
Berücksichtigung der Polymerasekettenreaktion zur Verbesserung der
diagnostischen Optionen**

Inaugural – Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von
Sabine Verena Scheuermann
aus Bühlertann

Würzburg, Februar 2009

Referent: Prof. Dr. H. Einsele

Koreferent: Prof. Dr. Dr. M. Abele-Horn

Dekan: Prof. Dr. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 02.07.2009

Die Promovendin ist Ärztin.

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

Titel

Widmung

1	Einleitung	1
1.1	Invasive Mykosen	1
1.1.1	Biologische Grundlagen der medizinischen Mykologie	1
1.1.2	Epidemiologie systemischer Mykosen	2
1.1.3	Erwartetes Erregerspektrum bei organischen Mykosen	2
1.1.3.1	Candida-Infektionen	3
1.1.3.2	Aspergillosen	5
1.1.3.3	Andere Pilzinfektionen	6
1.1.4	Risikofaktoren für systemische Mykosen	6
1.2	Hämatologische Patienten	8
1.2.1	Patientenspektrum bei Pilzinfektionen	8
1.2.2	Fieber in der Neutropenie	9
1.3	Diagnostik von Mykosen	9
1.3.1	Materialien	10
1.3.2	Definitionen	11
1.3.3	Molekulare und mikrobiologische Diagnostik	15
1.3.3.1	Serologie	15
1.3.3.2	GM	15
1.3.4	Pilzspezifische PCR	16
1.3.4.1	Light Cycler mediated PCR assay	17
1.3.4.2	Kontamination von Proben während der Amplifikation	19
1.4	Weitere Untersuchungen	19
1.4.1	Radiologische Bildgebung	19
1.5	Antimykotische Therapiestrategien	20
2	Aufgabenstellung und Ziele der Studie	21
3	Material und Methode	26

3.1	Patientenkollektiv, Dauer und Umfang der Untersuchung	26
3.1.1	Ein- und Ausschlusskriterien	27
3.2	Datenerfassung der Studienpatienten	28
3.2.1	Untersuchungen/Erhebungen	29
3.2.2	Chemotherapieprotokolle	30
3.2.3	Klinische Diagnosestellung der IPI	33
3.3	PCR Diagnostik	34
3.4	Literatursuche	34
3.5	Statistische Auswertung	35
3.5.1	Definitionen	35
3.5.2	Chi-Quadrat-Test nach Pearson und Exakter Test nach Fisher	36
3.5.3	T-Test	36
3.5.4	Konfidenzintervalle	36
4	Ergebnisse	38
4.1	Patienten	38
4.2	Grunderkrankung und Chemotherapie	38
4.2.1	Grunderkrankung	38
4.2.2	Chemotherapie-Protokoll und Chemotherapie-Zyklus	41
4.3	Klinische Entwicklung der Patienten	43
4.3.1	Verlauf der Grunderkrankung und der Letalität	43
4.3.2	Inzidenz der IPI und IPI bezogene Letalität	44
4.4	PCR-Untersuchungen und Ergebnisse	44
4.4.1	Statistische Berechnungen bezüglich der klinischen Entwicklung der Patienten	44
4.4.1.1	Arithmetisches Mittel des Zeitraumes der ersten positiven PCR bis zur Diagnosestellung	45
4.4.1.2	Korrelation von PCR-Untersuchungen mit dem Auftreten einer IPI im Zeitraum der Datenerhebung	47
4.4.2	Verlauf der PCR-Untersuchungen	48
4.4.3	Korrelation PCR-Ergebnisse mit Infiltrat-Nachweis und klinischer Diagnose einer IPI	53

4.4.4	Korrelation von PCR-Ergebnis mit sonstigen mykologischen Nachweisverfahren	56
4.4.4.1	Statistische Auswertung: T-Test	59
4.5	Antimykotische Therapie	59
4.5.1	Formen der antimykotischen Therapie	59
4.5.2	Statistische Auswertung	65
4.6	Jahreszeit als möglicher Risikofaktor für die Entwicklung einer invasiven Mykose	65
4.6.1	Diagnosestellung einer IPI in Korrelation zu den Jahreszeiten	65
4.6.2	Statistische Auswertung	66
4.6.3	Literatursuche zur Saisonalität von invasiven Pilzinfektionen	67
4.7	Weitere Risikofaktoren für die Entwicklung einer invasiven Mykose	69
4.7.1	Chemotherapie als möglicher Risikofaktor für die Entwicklung einer invasiven Mykose	69
4.7.2	Sonstige Risikofaktoren	71
4.8	Betrachtung des Zeitraums 14 Tage nach Beginn der Neutropenie	76
4.8.1	Statistik: Konfidenzintervalle für die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Infiltraten, Fieber oder IPI	79
4.8.2	Statistik: Korrelation von positivem PCR-Nachweis mit dem Auftreten einer IPI	79
5	Diskussion	81
5.1	Inzidenz der IPI im Hochrisikokollektiv der akuten Leukämie	81
5.2	PCR-Untersuchung im Verlauf	82
5.2.1	Korrelation der PCR-Untersuchung und IPI mit anderen mykologischen Nachweisverfahren	88
5.3	Antimykotika	89
5.4	Risikofaktoren für die Entwicklung einer IPI	90
5.4.1	Risikofaktor Chemotherapie-Zyklus	91
5.4.2	Risikofaktor Chemotherapie-Protokoll und Grunderkrankung	91
5.4.3	Risikofaktor Jahreszeit	92

6	Zusammenfassung	95
7	Literaturverzeichnis	97
8	Anhang	103
8.1	Erfassungstabelle	103
8.2	Statistik-Tabellen	104
8.2.1	Zeitraum von der ersten positiven PCR bis zur Diagnose der IPI	104
8.2.2	Korrelation von positivem PCR-Ergebnis und IPI	104
8.2.3	Korrelation von PCR-Ergebnis mit dem Nachweis von GM	105
8.2.4	Zeitraum des radiologischen Nachweises von pulmonalen Infiltraten	105
8.2.5	Korrelation einer Therapie mit einem Antimykotikum und einer IPI	106
8.2.6	Risikofaktoren für die Entwicklung einer invasiven Mykose	106
8.2.6.1	Risikofaktor Jahreszeiten allgemein	106
8.2.6.2	Risikofaktor Frühling	106
	Risikofaktor Sommer	107
8.2.6.3	107	
8.2.6.4	Risikofaktor Herbst	107
8.2.6.5	Risikofaktor Winter	107
8.2.6.6	Risikofaktor Chemotherapie-Protokoll	108
8.2.6.7	Risikofaktor Chemotherapie-Zyklus	109
8.2.7	Konfidenzintervalle für Wahrscheinlichkeiten im Zeitraum von 14 Tagen nach Beginn der Aplasie	111
8.2.8	Korrelation von positivem PCR-Ergebnis und IPI in einem Zeitraum von 14 Tagen nach Beginn der Aplasie	112
8.3	Abkürzungsverzeichnis	113

Danksagung

Curriculum vitae

1 Einleitung

1.1 Invasive Mykosen

Invasive Organmykosen gewinnen, insbesondere als opportunistische Erkrankungen bei Patienten unter Immunsuppression, zunehmend an Bedeutung. Einerseits ist dies auf die Etablierung neuer Strategien in der Behandlung hämatologischer Erkrankungen zurückzuführen, was zu einer Steigerung der Rate an partiellen und kompletten Remissionen der Grunderkrankung führt. Andererseits kommt es durch die zum Teil deutlich toxischer wirkenden Therapien zu länger anhaltenden Neutropenien. Hierbei sind insbesondere die stetige Weiterentwicklung der antineoplastischen Chemotherapie und Stammzelltransplantation (Einsele and Hebart 2002) zu nennen, deren Indikationsstellung sich zunehmend ausweiten (Pannuti, Gingrich et al. 1992; Andriole 1993; Vartivarian, Anaissie et al. 1993; Denning 1998). Hinsichtlich seiner Grunderkrankung stellt sich dies als eine positive medizinische Entwicklung für den Patienten dar, bedeutet auf der anderen Seite aber auch ein erhöhtes Risiko, an einer Pilzinfektion zu erkranken (Loeffler, Hebart et al. 2001).

1.1.1 Biologische Grundlagen der medizinischen Mykologie

Pilze sind eukaryote Lebewesen, die im Aufbau ihrer Zellen wesentliche Unterschiede zur Pflanzen- und Tierzelle aufweisen. So besteht der Hauptlipidkörper der Biomembran einer Pilzzelle anstelle des Cholesterins aus dem Steroid Ergosterin. Des Weiteren besitzt die Pilzzelle eine Zellwand (Margulis, Dolan et al. 2000), welche im Wesentlichen aus β -1,3- und β -1,6-verknüpften Glukanen, Mannanen und Chitin, sowie aus Proteinen und Lipiden aufgebaut ist (Chaffin, Lopez-Ribot et al. 1998; Lipke and Ovalle 1998; Smits, Kapteyn et al. 1999).

Das β -1,3-Glucan der Zellwand, sowie das Ergosterol der Zellmembran und die Lanosteroldemethylase, ein Schlüsselenzym der Ergosterolsynthese, stellen die zentralen Zielstrukturen der heutigen antimykotischen Therapie dar. Die Lanosteroldemethylase ist homolog zu den humanen Isoenzymen des Cytochromsystems P450, welche von zentraler Bedeutung für die hepatische Metabolisierung sind.

1.1.2 Epidemiologie systemischer Mykosen

Die Inzidenz von Pilzinfektionen nahm in den letzten 2 Jahrzehnten um 207 % zu (Martin, Mannino et al. 2003), was insbesondere bei Patienten mit hämatologisch-onkologischen Neoplasien beobachtet werden konnte (Warnock 2007). Zwar lässt sich Fieber bei erstem Auftreten, nur in 5 % kausal auf einen pathogenen mykologischen Keim zurückführen, jedoch steigt diese Rate bei persistierendem Fieber über fünf Tage auf bis zu 50 % an (Karthaus and Cornely 2003). Bei Mykosen mit disseminierendem Organbefall zeigen sich insbesondere Lunge, Leber, Nieren oder Gehirn als Hauptlokalisationsorte, wobei auch Manifestationen von Pilzinfektionen an anderen Organen und Organsystemen bekannt sind. Hierbei besteht eine erregerassoziierte Gesamtlealität von durchschnittlich über 50 % (Petri, König et al. 1997). Bei Denning et al. 1998 liegt die Letalität sogar bei bis zu 90 %. Die frühzeitige Diagnose einer invasiven Mykose gelingt häufig nicht (Denning 1998; Hope and Denning 2004).

1.1.3 Erwartetes Erregerspektrum bei organischen Mykosen

Obwohl die mykologische Klassifizierung im Allgemeinen nach Phyla, Gattung und Ordnung erfolgt, hat für die Medizin insbesondere die Differenzierung zwischen Hefe- und Sprosspilzen als humanpathogene Erreger Relevanz.

Nachdem es kaum Studien über das Vorkommen von Organmykosen gibt, wurde am Klinikum Charité in Berlin-Mitte und am Humaine-Klinikum in Bad Saarow in dem Zeitraum von 1970 bis 2001 das Obduktionsgut von insgesamt 18188 Patienten auf das Vorkommen invasiver Mykosen untersucht. Es wurden

post mortem insgesamt 140 Organmykosen nachgewiesen, darunter konnten 75 Candidosen, 52 Aspergillosen, 6 Kryptokokkosen und 10 weitere Infektionen diagnostiziert werden (Groll, Shah et al. 1996; Tietz, Martin et al. 2001; Koch, Hohne et al. 2004). Dieses Ergebnis differiert mit Analysen lebender Patienten, wobei die Candidosen mit einem Anteil von 80 – 90 % gegenüber den Aspergillosen mit 5 – 10 % deutlich überwiegen. Diese intravitale Statistik lässt folgern, dass Aspergillosen eine besonders hohe Letalität aufweisen und zu Lebzeiten wohl unterdiagnostiziert werden. Hierbei ist hervorzuheben, dass invasive Aspergillusinfektionen nahezu ausnahmslos bei immunsupprimierten Patienten auftreten (Seyfarth, Nenoff et al. 2001). Bei den gesicherten Erkrankungen der Patienten in Neutropenie entfallen etwa 50 – 70 % auf *Candida spp.* und 30 – 40 % auf *Aspergillus spp.* (Samonis and Bafaloukos 1992; Jarvis 1995). Die durch Schimmelpilze bedingten Mykosen gingen in über 90 % der Fälle auf *Aspergillus fumigatus* zurück, wobei unter anderem auch *Aspergillus terreus*, *Aspergillus niger* und *Aspergillus flavus* eine gewisse Häufigkeit aufwiesen. *Candida albicans* konnte bei den durch Hefepilze verursachten Infektionen in über 80 % nachgewiesen werden. Aber auch Candida-non-albicans-Hefen wie *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata* und *Candida krusei* gewinnen als Erreger einer solchen Mykose zunehmend an Bedeutung (Ruhnke, Bohme et al. 2003; Bohme, Ruhnke et al. 2009). Problematisch ist hierbei, dass Non-albicans-Erreger gegenüber bestimmten Antimykotika eine geringere Empfindlichkeit aufweisen als es bei *Candida albicans* beobachtet werden kann. So wirken Azole nur eingeschränkt auf *Candida glabrata*, und *Candida krusei*, welche eine intrinsische Resistenz gegenüber Fluconazol besitzen (Marr, Lyons et al. 2001)

1.1.3.1 Candida-Infektionen

Candida Hefen kolonisieren den Gastrointestinaltrakt und werden überwiegend der physiologischen Standortflora zugeordnet. Als opportunistische Erreger können sie sich hier in Form einer Candida-Stomatitis manifestieren. Diese weist typischerweise Schleimhautrötungen und abstreifbare, weiße Beläge im Rachenbereich auf und kann durch Geschmacksstörungen, Brennen und

Schmerzen im Mund symptomatisch werden. Die vaginale Candidose stellt eine weitere häufige lokale Krankheitsmanifestation dar. Eine Unterteilung der systemischen Candidose wird in folgende Formen vorgeschlagen:

Die Candidämie, welche in Katheter-assoziiert oder nicht-Katheter-assoziiert differenziert wird. Des Weiteren die akut disseminierte Candidose, die sich als eine hämatogen entstandene Organinfektion manifestiert. Schließlich wird die chronisch disseminierte Form, welche beispielsweise in einer hepatolienalen Candidose opponieren kann, beschrieben (Bodey 1993). Bei Patienten mit Fieber unklarer Genese in Neutropenie stellt diese Infektion eine lebensbedrohliche Komplikation dar (Ascioglu, Rex et al. 2002). Diese invasive Mykose äußert sich typischerweise in persistierendem Fiebert Verlauf bis über das Neutropenieende hinaus, wobei die Diagnosestellung durch sonographischen oder histologischen Nachweis und durch die typischerweise ansteigenden Transaminasen häufig erst bei einsetzender Immunreaktion erfolgen kann, auch eine Nierenbeteiligung wurde beschrieben. Die häufigste Präsentationsform der systemischen Candidose ist die Candidämie, welche in etwa 55 % der Fälle durch *Candida albicans* hervorgerufen wird (Ascioglu, Rex et al. 2002). Die Candidämie stellt, trotz des verbreiteten Einsatzes von Antimykotika in der Prophylaxe bei Risikopatienten, eine sehr häufig auftretende lebensbedrohliche Pilzkrankung dar. Bei der europäischen prospektiven Untersuchung von 1997 - 1999 mit Beteiligung von 106 Zentren wurden 2098 Candidämien registriert. Hiervon entfielen 12,3 % auf Patienten mit hämatoloogischer Grunderkrankung (Tortorano, Kibbler et al. 2006). Ein zentraler Venenverweilkatheter stellt hierbei einen spezifischen Risikofaktor zur Entwicklung einer Candidämie dar. Dieser konnte bei 74 % der erkrankten Patienten als Fokus nachgewiesen werden (Velasco, Byington et al. 2006). Daten bezüglich der Inzidenz der Candidämie in der Hämatookologie liegen nach derzeitiger Studienlage nicht vor.

Problematisch ist die Diagnostik der Candidose, da *Candida*-Pilze auch physiologische Kommensale der Normalflora von Haut und Schleimhäuten darstellen, und die Gefahr der Kontamination von Proben besteht.

1.1.3.2 Aspergillosen

Schimmelpilzinfektionen betreffen in erster Linie Patienten in Neutropenie oder unter dauerhafter Immunsuppression.

Aspergillussporen kommen ubiquitär vor, insbesondere in der Luft und im Erdreich. Schimmelpilze spielen eine wesentliche Rolle bei der Zersetzung organischer Substanzen und finden sich daher in hohen Konzentrationen in Kompost, aber ebenso in ungefilterter Luft aus Belüftungssystemen und Staub, an Vorhängen, Teppichböden, Topfpflanzen und in geringem Maße auf bestimmten Speisen, wie Nüssen oder ungeschältem Obst, vermehrt auch bei Umbaumassnahmen. Die Sporen aber auch Konidien sind in der Luft nachweisbar und ermöglichen eine rasche Verbreitung. Der Krankheitserreger wird exogen durch Inhalation aufgenommen und befällt folglich primär den Respirationstrakt, wobei keine spezifischen Krankheitszeichen auftreten müssen. Nur selten kommt es zur Aufnahme über geschädigte mukokutane Oberflächen.

Es wird unterschieden zwischen akuter Aspergillose und chronisch-invasiver Aspergillose bei granulozytopenischen Patienten, die eine Letalität von bis zu 50 % trotz antimykotischer Therapie aufweist (Lin, Schranz et al. 2001). Unspezifische Symptome sind akut einsetzender Pleuraschmerz, Husten, Dyspnoe, auskultatorisch Rasselgeräusche und selten auch Hämoptysen (Gerson, Talbot et al. 1985). Häufig ist bei neutropenischen Patienten aber auch Antibiotika-refraktäres Fieber ein erstes Anzeichen für eine invasive Mykose (Bodey and Vartivarian 1989).

Die Aspergillose ist die Fadenpilzinfektion mit der höchsten Inzidenz. Laut der Datenerfassung des multizentrischen Registers Transnet, welche im Zeitraum des Jahres 2000 bis 2003 Patienten mit invasiven Mykosen erfasste, konnten 39,6 % der Pilzkrankungen auf Aspergillen zurückgeführt werden (Glöckner, Vehreschild et al. 2007). In einer Studie von 1993 bis 1998 im Fred Hutchinson Cancer Research Center in Seattle konnte gezeigt werden, dass eine Aspergillose in den meisten Fällen, 1998 waren dies 66,3 %, durch *Aspergillus fumigatus* bedingt ist (Marr, Carter et al. 2002).

1.1.3.3 Andere Pilzinfektionen

In den letzten Jahren gewinnen seltene Pilzinfektionen an Bedeutung, was zum Einen durch eine zunehmende Inzidenz bei Selektionsdruck unter antimykotischer Therapie erklärbar wäre oder aber Folge einer verbesserten Diagnostik sein kann (Glöckner, Vehreschild et al. 2007). Zygomycosen können häufig, aufgrund von Therapieresistenzen, ernsthafte Komplikationen hervorrufen und gehen sowohl mit einer erhöhten Rate an Morbidität als auch erhöhter Mortalität bei immunkomprimierten Patienten einher. Infektionen, die durch seltene Schimmelpilze bedingt sind, kommen insbesondere bei ausgeprägt neutropenischen Patienten, beispielsweise nach Stammzelltransplantation, aber auch bei langfristig schlecht eingestelltem Diabetes mellitus vor (Walsh, Groll et al. 2004). Bei der bereits erwähnten Untersuchung durch Glöckner und seine Mitarbeiter 2007 konnte gezeigt werden, dass 4,6 % der invasiven Mykosen durch Zygomyceten verursacht wurden. Trotz ansteigender Inzidenz, insbesondere bei stammzelltransplantierten Patienten, bleibt die Zahl der Krankheitsfälle im Vergleich zur Aspergillose deutlich niedriger.

1.1.4 Risikofaktoren für systemische Mykosen

Wesentliche Risikofaktoren für invasive Mykosen bei hämatoonkologischen Patienten sind prolongierte Neutropenie (Cornely, Ullmann et al. 2003), allogene Stammzelltransplantation (Loeffler, Hebart et al. 2000) und intensive Chemotherapien (Idemyor 2003), wobei insbesondere eine Hochdosis-Behandlung mit Cytarabin für Infektionen prädisponiert. So konnte bei einer Studie festgestellt werden, dass Patienten mit akuter myeloischer Leukämie mit einer durchgemachten intrapulmonalen Pilzinfektion ein Risiko von 15,7 % für eine invasive Infektion haben und dass die Dauer der Neutropenie, die Gabe von Hochdosis-AraC (Cytosinarabinosid), die Anzahl der eingesetzten Antibiotika und die Therapie der ersten gesicherten oder wahrscheinlichen intrapulmonalen Aspergillose mit Itraconazol zum erhöhten Risiko beitragen (Maschmeyer and Ruhnke 2004).

Basierend auf der Gesamtdauer der Neutropenie lässt sich ein ungefähres Risiko für die infektionsbedingte Morbidität und Letalität abschätzen, wobei unterschiedliche zeitliche Grenzwerte publiziert wurden. Im Folgenden soll entsprechend der Arbeitsgemeinschaft Infektiologie in der Hämatologie und Onkologie der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie (AGIHO/DGHO) bei einer Dauer der Neutropenie von lediglich 5 Tagen oder weniger ein niedriges Risiko definiert werden, während die Dauer von 6 bis 9 Tagen für ein Standardrisiko steht (Kern, Beyer et al. 2000). Liegt die Anzahl der Neutrophilen Granulozyten für mehr als 9 Tage unter $500/\mu\text{l}$, so spricht man von einem hohen Infektionsrisiko. Neben dem bereits erwähnten zentralen Venenkatheter ist als Fokus auch eine Kolonisation des Gastrointestinaltraktes bei Patienten nach abdominalchirurgischen Eingriffen oder bei Durchwanderungsperitonitis möglich (Link 2003; Ruhnke 2004). Weiterhin spielen, wie bereits erwähnt, eine breite Antibiose, aber auch die Therapie mit Kortikosteroiden oder Immunsuppressiva eine Rolle bei der Krankheitsentstehung (Tab. 1).

Tabelle 1. Risikofaktoren für Mykosen in der Neutropenie (Fätkenheuer, Salzberger et al. 2003; modifiziert nach Böhme, Karthaus et al. 1999).

Risiko	
Standardrisiko	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Neutropenie $< 500/\mu\text{l} \leq 10$ Tage
Hochrisiko	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Neutropenie $< 500/\mu\text{l} > 10$ Tage ▪ Allogene Knochenmarkstransplantation / Stammzelltransplantation ▪ Frühere systemische Pilzinfektion ▪ Langdauernde Glukokortikoidmedikation
Zusätzliche Faktoren	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Staubexposition (Schimmelpilze) ▪ Zentralvenöse Katheter (Hefen) ▪ Schwere Mukosaschäden ▪ Ausgedehnte Kolonisation ▪ Diabetes mellitus ▪ Neue Purinanaloga ▪ Deferoxamin Therapie ▪ Parenterale Ernährung ▪ Breitspektrumantibiotika

Von besonderer Bedeutung ist die Entstehung einer invasiven Mykose in Assoziation mit persistierenden oder reaktivierten viralen Infektionen wie Cytomegalie-Virus-Infektionen, ein erhöhtes Risiko eines Rezidivs bei vorangegangener invasiver Pilzinfektion, wie auch die erhöhte Inzidenz bei Patienten mit einer Graft-versus-Host-Reaktion.

Zusammenfassend betrachtet sind vor allem stark abwehrgeschwächte Patienten, insbesondere mit supprimierter T-Lymphozyten-vermittelter Immunität gefährdet (Maertens, Theunissen et al. 2005).

1.2 Hämatologische Patienten

1.2.1 Patientenspektrum bei Pilzinfektionen

Das bedeutendste Risiko der Entwicklung einer invasiven Mykose stellt sicherlich die Neutropenie infolge der Grunderkrankung Leukämie dar. Hierbei spielt insbesondere die Akute Myeloische Leukämie eine große Rolle, aber auch infolge einer Akuten Lymphatischen Leukämie oder eines Myelodysplastischen Syndroms im Blastenschub kommt es gehäuft zu Infektionen. Die Gefahr einer Infektion steigt mit der Dauer der Neutropenie an, weshalb Patienten nach allogener Stammzelltransplantation einem deutlich erhöhten Risiko ausgesetzt sind (Walsh, Hiemenz et al. 1994). Bis zum Anwachsen der transplantierten Stammzellen besteht im Zeitraum der Neutropenie ein erhöhtes Risiko für Candida-Infektion. Das Risiko einer invasiven Aspergillose steigt insbesondere danach, bis zur Bildung einer funktionellen Immunität, an (Einsele and Hebart 2002).

Vergleichsweise selten kommt es zu einer invasiven Mykose unter der Therapie eines soliden Tumors. Auch bei Lymphomen, sowohl bei Hodgkin- als auch bei Non-Hodgkin-Lymphomen, und nach autologer Stammzelltransplantation ist das Risiko wesentlich geringer, hier sind auch die Neutropeniephasen deutlich reduziert.

1.2.2 Fieber in der Neutropenie

Fieber wird durch die AGIHO als einmalige Temperaturerhöhung über oder gleich 38,3°C oder als Temperaturanstieg über oder gleich 38,0°C für mindestens eine Stunde andauernd beziehungsweise zweimal innerhalb von 12 Stunden definiert. Wenn dem Temperaturanstieg kein eindeutiger klinischer oder mikrobiologischer Befund zuzuordnen ist, spricht man von Fieber unklarer Genese, bzw. „fever of unknown origin“ (FUO). Es kann viele Ursachen für Fieber während der Phase der Neutropenie geben. Eine infektiöse Genese ist zu betonen und abzuklären, da Fieber auf eine entzündliche Genese hinweist. Aber auch Medikamente, die neoplastische Grunderkrankung, eine Graft-versus-Host-Erkrankung oder die Erholung des Immunsystems können ursächlich sein (Maertens, Theunissen et al. 2005). Primär ist neu aufgetretenes Fieber bei neutropenischen Patienten oftmals das erste und einzige Zeichen einer bestehenden Infektion. Aufgrund des hohen Risikos durch die fortgeschrittene Immunsuppression ist die umgehende Einleitung einer antibiotischen Therapie ohne zeitliche Verzögerung durch die mikrobiologische und weitere Diagnostik international Standard. Bei Hinweis auf den Erreger und anhaltendem Fieber sollte auf eine gezielte Therapie umgestellt werden. Laut AGIHO spricht man von Fieberpersistenz bei einer Körpertemperatur von über 38°C über mehr als 72 Stunden andauernd. Hier sollte eine erneute und gegebenenfalls erweiterte Diagnostik eingeleitet werden. Entsprechend der Risikostratifizierung und des individuellen Risikos und der Klinik des Patienten wird ein Wechsel beziehungsweise eine Erweiterung der antimikrobiellen Therapie empfohlen.

Der Verdacht auf eine Pilzinfektion erhärtet sich, wenn es, trotz adäquater antibakterieller Therapie, nach 72 bis 96 Stunden zu keiner Entfieberung kommt (Ascioglu, Rex et al. 2002).

1.3 Diagnostik von Mykosen

Mykosen werden in Studien insbesondere in Hinblick auf die Diagnostik eingeteilt. Eine mögliche Infektion (possible) besteht bei klinischen

Infektionszeichen, wobei kein Erreger ausreichend valide nachgewiesen werden konnte. Die wahrscheinliche Infektion (probable) ist gekennzeichnet durch klinische Infektionszeichen bei bekanntem Fokus und positivem Erregernachweis, wobei, im Gegensatz zur nachgewiesenen Erkrankung (proven), keine Kausalität besteht (Ascioglu, Rex et al. 2002).

Obwohl sich in Bezug auf die Diagnostik der Invasiven Pilzinfektion (IPI) Standardverfahren etabliert haben, beinhalten diese meist invasive Eingriffe, um Gewebeproben für Kultur und Mikroskopie zu erhalten, die möglichst aus sterilem Material gewonnen werden sollten. Allerdings ist ein solcher Eingriff nicht immer möglich, weshalb in der Praxis oft nur auf Laborbefunde, klinische und radiologische Daten zurückgegriffen werden kann (Hunder 1998). Problematisch ist hierbei, dass eine invasive Infektion nur als bewiesen gilt, wennman in sterilen Proben, die beispielsweise durch Nadelaspiration oder Biopsie gewonnen werden, durch mikrobiologische, histo- oder zytopathologische Verfahren, Hyphen oder Zellen des Erregers nachweisen kann. Wenn auch nicht unbedingt notwendig, so doch hilfreich ist ein kultureller oder histologischer Nachweis, um zwischen den Spezies Schimmel- oder Hefepilzen differieren und dementsprechend therapeutisch eingreifen zu können.

1.3.1 Materialien

Bei Verdacht auf eine invasive Mykose sollte Diagnostik in Form einer Blutuntersuchung erfolgen. Nach der Blutabnahme gilt grundsätzlich, bei fieberhaften Infektionen jeweils 2 Blutkulturpärchen zur Kultur aerober und anaerober Keime wie auch für Pilze anzusetzen. Des Weiteren können Untersuchungen von Blutproben in Form von molekularer Diagnostik erfolgen. Ein Problem der histologischen oder kulturellen Diagnostik stellt die Differenzierung zwischen Erkrankung, Kolonisation oder Kontamination dar (Maertens, Vrebos et al. 2001). Hier sind zur Bewertung des Befundes das Material und die Gewinnung dessen zu berücksichtigen. Zunehmend wird im Rahmen einer Bronchoskopie auch Material durch eine Bronchoalveoläre Lavage gewonnen. Das gewonnene Material wird zytologisch untersucht, wobei

sich in der Lösung für gewöhnlich Zellen des respiratorischen Epithels und des Immunsystems befinden, sowie im Idealfall der Krankheitserreger selbst. Aus den Proben sollten Kulturen auf Bakterien, Pilze, Mykobakterien und Legionellen angesetzt werden (Maertens, Theunissen et al. 2005). Zusätzlich wurde die Bestimmung von Galactomannan (GM) in der Lavage beschrieben, bisher jedoch nicht standardisiert. Zur weiteren Erregerdiagnostik können direkte DNA-Nachweisverfahren erfolgen. Diese sind für die Diagnostik von Mykobakterien, insbesondere des TB-Komplexes, weit verbreitet, eine Vielzahl weiterer DNA-Nachweise wird z. B. für Chlamydien, Mykoplasmen, Legionellen, aber auch Pneumocystis von Mikrobiologischen Laboratorien angeboten. Eine Methode zur Diagnostik einer invasiven pulmonalen Mykose, insbesondere in Kombination mit der Detektion von GM, könnte auch die Anwendung der Polymerasekettenreaktion (PCR) zum Erregernachweis in Proben, die durch Bronchoalveoläre Lavage gewonnen werden, sein. Im Zeitraum von 2001 bis 2002 wurden 44 Patienten mit hämatoonkologischer Grunderkrankung bronchoskopiert, woraus 44 Proben gewonnen werden konnten. Die Untersuchung dieser zum Nachweis einer invasiven Aspergillose ergab einen positiven prädiktiven Wert von 100 % für den ELISA. Die Sensitivität der PCR ergab 90 %, die Spezifität 100 %, der positive prädiktive Wert von 100 % und der negative prädiktive Wert 92 % (Sanguinetti, Posteraro et al. 2003).

1.3.2 Definitionen

Kriterien zur Definition invasiver Pilzinfektionen wurden erstmals 2002 publiziert (ASCIUGLU et al. 2002). Eine aktualisierte Version folgte im Juni 2008 (De Pauw, Walsh et al. 2008) nach Ende der hier vorliegenden Untersuchung, daher wird auf diese nicht weiter eingegangen.

Die Definitionen wurden von einer Arbeitsgruppe gemeinsam für die beiden großen Gesellschaften, die europäische EORTC (European Organisation for Research and Treatment of Cancer) und die nordamerikanische MSG (Mycoses Study Group) verabschiedet. Sie wurden erstellt, um Pilzinfektionen einteilbar zu machen und somit einen einheitlichen Gebrauch in klinischen Studien zu

ermöglichen, primär jedoch nicht für die klinische Routine außerhalb von Studien.

Die Kriterien von 2002 werden in der Tabelle 2 bis Tabelle 5 wiedergegeben, wobei man vereinfacht feststellen kann, dass bei vorhandenen klinischen Zeichen einer Infektion, einer zugrunde liegenden Immunsuppression und zusätzlichen typischen radiologischen Zeichen, sowie der kulturellen Sicherung eines Pilzerregers aus sterilen Körperflüssigkeiten oder dem histologischen beziehungsweise kulturellen Nachweis aus Gewebeproben eine gesicherte Pilzinfektion vorliegt. Bei indirektem Erregernachweis (GM) oder in nicht sterilen Materialien handelt es sich um eine wahrscheinliche Infektion.

Tabelle 2. Definitionen von Invasiven Pilzinfektionen bei Patienten mit Neoplasien und geplanter Stammzelltransplantation (Fätkenheuer, Salzberger et al. 2003) nach (Ascioglu, Rex et al. 2002).

Kategorie, Art der Infektion	Beschreibung
Gesicherte invasive Pilzinfektion	Positive Histologie aus primär sterilem Material oder steril gewonnene positive Kultur (nicht aus Urin, Sinus, Schleimhaut) oder Fungämie mit klinischer Symptomatik
Hochwahrscheinliche invasive Pilzinfektion	1 anamnestisches Kriterium plus 1 mikrobiologisches Kriterium plus 1 klinisches Hauptkriterium oder 2 klinische Nebenkriterien
Mögliche invasive Pilzinfektion	1 anamnestisches Kriterium plus 1 mikrobiologisches Kriterium oder 1 klinisches Hauptkriterium oder 2 klinische Nebenkriterien

Tabelle 3. Hauptkriterien einer invasiven Pilzinfektion bei Patienten mit Neoplasien und geplanter Stammzelltransplantation (Fätkenheuer, Salzberger et al. 2003) nach (Ascioglu, Rex et al. 2002).

Kriterium	
Anamnestiche Kriterien	<p>Neutropenie < 500 Neutrophile/μl für mehr als 10 Tage</p> <p>Antibiotika-refraktäres Fieber länger als 96 h</p> <p>Körpertemperatur von > 38°C oder < 36°C plus eine der folgenden Konditionen:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Neutropenie über > 10 Tage in den vergangenen 60 Tagen ▪ Therapie mit Immunsuppressiva in den vergangenen 30 Tagen ▪ frühere invasive Pilzinfektion ▪ Begleitdiagnose AIDS <p>Zeichen einer Graft-versus-Host-Reaktion</p> <p>Kortikosteroiden für mehr als 3 der letzten 8 Wochen</p>

Tabelle 4. Mikrobiologische Kriterien für invasive Pilzinfektionen bei Patienten mit Neoplasien und Empfängern einer Stammzelltransplantation (Fätkenheuer, Salzberger et al. 2003) nach (Ascioglu, Rex et al. 2002).

Kriterium	
Mikrobiologische Kriterien	<p>Schimmelpilzkultur aus Sputum oder bronchoalveolärer Lavage (BAL)</p> <p>Zytologischer oder mikroskopischer Nachweis im Sinusaspirat</p> <p>Aspergillus-Antigen in BAL, Liquor oder zweimal in Blut</p> <p>Zytologischer oder mikroskopischer Nachweis in nicht primär steriler Körperflüssigkeit</p> <p>Nachweis von Hefen in 2 Urinkulturen (nicht bei Blasenkatheter)</p> <p>Candidazyylinder im Urin (nicht bei Blasenkatheter)</p>

Tabelle 5. Klinische Kriterien für invasive Pilzinfektionen bei Patienten mit Neoplasien und Empfängern einer Stammzelltransplantation (Fätkenheuer, Salzberger et al. 2003) nach (Ascioglu, Rex et al. 2002).

Kriterium	
Klinische Kriterien	Es sollte eine Verbindung zu den mikrobiologischen Kriterien bestehen und eine Assoziation zu der klinischen Krankheitsphase
Infektion des Unteren Respirationstrakts	
Hauptkriterien	In der Computertomographie des Thorax neu aufgetreten: Halo-Zeichen, Luftsichel oder Lufteinschluss in sich konsolidierendem Bezirk
Nebenkriterien	Symptome einer Infektion des unteren Respirationstrakts: Husten, Thoraxschmerz, Hämoptyse, Dyspnoe, Pleurareiben Neues Infiltrat, das kein Hauptkriterium erfüllt
Infektion der Nasennebenhöhlen	
Hauptkriterien	Radiologisch: Erosion einer Sinuswand oder infiltrierende Infektion oder Schädelbasisdestruktion
Nebenkriterien	Rhinorrhoe, neu aufgetretene Behinderung der Nasenatmung, Nasenulkus, Eschar der Nasenmukosa, Epistaxis, periorbitale Schwellung, Maxillaschmerz, Nekrose oder Perforation des harten Gaumens
Infektion des Zentralen Nervensystems	
Hauptkriterien	Meningitis ausgehend von perinasal, aurikulär oder vertebral oder intrazerebrale Abszesse oder Infarkte
Nebenkriterien	Fokale neurologische Zeichen bei sterilem Liquor, meningeale Reizung, Liquorpleozytose
Disseminierende Pilzinfektion	
Hauptkriterien	Kutane Papulae oder Nodi ohne andere Erklärung Augenspiegelung: Chorioretinitis oder Endophthalmitis
Chronisch disseminierende Candidiasis	
Hauptkriterien	Kokardenförmige Leber- oder Milzabszesse („bull’s eye“) in Computertomographie, Magnetresonanztomographie oder Sonographie
Fungämie	Klinische Kriterien sind für die Diagnose einer wahrscheinlichen Candidämie nicht erforderlich

In der folgenden Untersuchung sind die Kriterien für die Erfassung von Pilzinfektionen relevant.

1.3.3 Molekulare und mikrobiologische Diagnostik

1.3.3.1 Serologie

Die Bildung spezifischer Antikörper wird durch die Chemotherapie induzierte Neutropenie gestört. Zum primären Infektionszeitpunkt liegen folglich noch keine der Antikörper vor, so dass der Nachweis dieser lediglich bei chronischen Verläufen hilfreich sein kann. Die serologische Detektion eines akuten Infektionsgeschehens hat daher bei der Diagnostik des hämatoonkologischen Patienten keinen Stellenwert.

1.3.3.2 GM

Neuere diagnostische Untersuchungsverfahren verfolgen nicht den kulturellen Erregernachweis, sondern das Detektieren von Markern, die im Serum des Patienten zirkulieren und durch molekulargenetische Untersuchungen schnell, genau, aber wenig invasiv nachgewiesen werden können. Zu erwähnen ist hierbei das GM, was einen bestimmten Bestandteil der Zellwand von *Aspergillus* Spezies darstellt. Bei dem Nachweis des Antigens mittels ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) macht man sich immunologische Reaktionen zunutze. Spezifische Antikörper binden an die 1-5- β -D-Galactofuranosid-Seitenkette des GM-Moleküls, wodurch eine Nachweisgrenze von 1 ng/ml ermöglicht wird. Eingeschränkt wird die klinische Bedeutung der GM-Test durch eine studienabhängige starke Schwankung der Sensitivität zwischen 50 % und 90 %. Es wurde der Grenzwert für die optische Dichte von initial 1,5 in 2 Proben auf zuletzt 0,5 in einer Probe gesenkt, ohne dass für letzteres ausreichend große prospektive Studien vorliegen. In einer prospektiven Untersuchung zur diagnostischen Wertigkeit des GM im Vergleich zu regelmäßigen CT-Untersuchungen einmal wöchentlich an 107 Patienten mit 161 Infektionsepisoden konnte durch den GM-Test keine frühere Diagnosestellung oder Indikation der antimykotischen Therapie erzielt werden (Weisser, Rausch et al. 2005). Falsch positive GM-Werte wurden bei Einsatz des Antibiotikums Piperacillin in Kombination mit dem Betalactamase-Inhibitor Tazobactam gefunden (Singh, Obman et al. 2004; Weisser, Rausch et al. 2005;

Machetti, Majabo et al. 2006; Ozkalemkas, Ozcelik et al. 2007). Abzuklären sind auch die Krankheitsgenese durch Erreger, wie zum Beispiel *Alternaria*, *Fusarium*, *Mucorales* oder auch Co-Infektionen mit *Candida*, die ein ähnliches klinisches Bild ausbilden können, jedoch nicht durch den GM-Test detektiert werden, der lediglich auf dem Erkennen von *Aspergillus*-Infektionen basiert (Maertens, Verhaegen et al. 2001).

1.3.4 Pilzspezifische PCR

Eine weitere Möglichkeit des Nachweises von Pilzerregern bietet die Polymerasekettenreaktion (PCR), welche eine hochsensitive Methode auf Basis einer spezifischen Vervielfältigung von DNA *in vitro* darstellt (Buchheidt and Hummel 2005). Die PCR erfolgt unter Verwendung einer hitzeresistenten DNA-Polymerase wie Taq, Pwo und Pfu, welche mit Hilfe von erregerspezifischen Gensequenzen einen Genomabschnitt vervielfältigt und somit eine Detektion durch beispielsweise Gelelektrophorese oder spezifische Sonden ermöglicht.

Der Prozess wird in dem von Perkin-Elmer beschriebenen Thermocycler durchgeführt. Er besteht aus ca. 25 bis 50 Zyklen, wobei jeder Zyklus 3 Schritte beinhaltet: Die Denaturierung bei 94 – 96 °C, die Primerhybridisierung (Annealing), welche die Anlagerung der Primer beinhaltet und die Polymerisation, welche das Auffüllen der Stränge mit freien Nukleotiden durch die DNA-Polymerase beschreibt (Mullis and Faloona 1987). Es gibt universell einsetzbare Pilz-spezifische Primer-Systeme, die auf sämtliche medizinisch relevanten Hefe-, Schimmelpilze wie auch Dermatophyten, getestet wurden (Kappe, Fauser et al. 1996; Kappe, Okeke et al. 1998). Die meist gewählte Zielstruktur zum Nachweis fungaler DNA bei immunkomprimierten Patienten basiert auf Sequenzen zur Kodierung des 18S rRNA-Gens (Melchers, Verweij et al. 1994). Es kann eine Amplifikation aller klinisch relevanten Pilze wie beispielsweise *Aspergillus spp.* oder *Candida spp.* erfolgen (White, Linton et al. 2006).

Ein spezifisches Vorgehen erlaubt die von Einsele und seinen Mitarbeitern 1997 entwickelte PCR-Technik, die im ersten Schritt auf der Detektion der ribosomalen Gen-Sequenz basiert, welchem dann eine Spezies-spezifische

Hybridisierung folgt. Es wurden im Universitätskrankenhaus Tübingen im Zeitraum Januar 1992 bis Dezember 1994 601 Proben von 86 fiebernden Patienten in Neutropenie auf das Vorkommen von Schimmel- oder Hefepilz-DNA untersucht. Die Sensitivität der Amplifikationsrate lag bei 100 %, ebenso die Sensitivität des PCR-Nachweises bei Patienten mit IPI. Die Spezifität lag bei 98 % (Einsele, Hebart et al. 1997).

Mit einer Sensitivität von 100 % und einer Spezifität von 89 % wurde ein weiterer spezieller Aspergillus-Nachweistest auf Basis einer Two-Step-PCR von Skladny et al. (1999) entwickelt. Hierbei wurden 93 Patienten mit einem hohen Risiko für die Entwicklung einer IPI untersucht (Skladny, Buchheidt et al. 1999). In einer Studie von Donnelly (2006) wurden 203 Patienten mit einer Risikokonstellation für die Entwicklung einer invasiven Mykose mittels PCR gescreent. Es konnte eine Sensitivität von 92,3 % und Spezifität von 94,6 % erreicht werden. Außerdem wurde eine Korrelationshöhe zwischen GM-ELISA und PCR von 76,7 % eruiert (Donnelly 2006). Bei Lass-Flörl et al. (2001) konnten bei einem Monitoring von 121 Patienten mit hämato-onkologischer Grunderkrankung eine Sensitivität des PCR-Nachweises von 75% und eine Spezifität von 96 % erreicht werden (Lass-Flörl, Aigner et al. 2001). In einem prospektiven Screening zur frühzeitigen Diagnosestellung einer invasiven Mykose mittels PCR bei Patienten mit einer Hochdosis-Chemotherapie und Stammzelltransplantation wurden 1193 Proben von 84 Patienten auf Pilz-DNA untersucht. Die Sensitivität lag bei 100 % bei einer Spezifität von 65 %. Keiner der PCR-negativen Patienten entwickelte eine IPI (Einsele, Hebart et al. 2000). Momentan wird in mehreren Studien die Wertigkeit einer PCR-Untersuchung zum Nachweis einer invasiven Infektion bereits vor den ersten klinischen Zeichen untersucht.

1.3.4.1 Light Cyler mediated PCR assay

Die Real-time PCR ist eine Weiterentwicklung und auch Verbesserung der originalen Polymerasekettenreaktion, welche sich Mitte der achtziger Jahre durch die Arbeitsgruppe um Kary Mullis etablieren konnte (Saiki, Scharf et al. 1985). Er hatte die Idee der Amplifikation einer speziellen DNA-Zielsequenz

mittels DNA-Polymerase 1983 und bekam hierfür zehn Jahre später den Nobelpreis für Chemie. Das Verfahren ist orientiert am natürlichen DNA-Replikations-Prozess (Saiki, Scharf et al. 1985). Sie wurde seit ihrer Einführung in den frühen neunziger Jahren durch Wissenschaftler wie beispielsweise Higuchi und Holland kontinuierlich weiterentwickelt und hat die konventionelle PCR in einigen Bereichen ersetzt (Holland, Abramson et al. 1991; Higuchi, Dollinger et al. 1992). Die fluorescence resonance energy transfer-based Technik der Real-time-PCR ermöglicht die Analyse des PCR-Produktes bereits während des Prozesses. Es ist nun möglich, Rückschlüsse auf die ursprüngliche Anzahl der DNA-Moleküle in der Probe zu ziehen und somit nicht nur eine qualitative, sondern auch eine quantitative Aussage zu machen (Kubista, Andrade et al. 2006).

1997 kam es zu einem weiteren Fortschritt durch die Einführung der Light-Cycler-PCR. Die Vorteile bestehen in Bezug auf Geschwindigkeit der Untersuchung bei Nutzung kleinerer Proben, der Verbesserung der Analyse-Software, was die Durchführung selbst erleichtert, und der verminderten Kontaminationsraten (Mackay 2007).

Es konnte gezeigt werden, dass eine invasive Aspergillose mittels dieses diagnostischen Verfahrens bereits zwei Tage vor den ersten klinischen Zeichen und neun Tage vor der klinischen Diagnose zu erkennen ist. Dies macht die Wertigkeit als frühen Indikator einer Mykose deutlich. Hierbei konnte für die tatsächliche Entwicklung einer nachgewiesenen oder wahrscheinlichen invasiven Mykose bei Screening von 92 Patienten eine Sensitivität von 100 %, bei einer Spezifität von 73 % erreicht werden (Hebart, Löffler et al. 2000). Untersuchungen zur Aspergillus-PCR werden in einer Reihe von Laboratorien und Kliniken mit unterschiedlichen Primern, Extraktions- und Amplifikationsverfahren durchgeführt. Dieses methodisch wie auch in den Ergebnissen nicht einheitliche Vorgehen stellt ein wesentliches Problem für die Etablierung der PCR als diagnostischen Standard dar. 2006 wurde nun für das United Kingdom und Irland eine einheitliche Methodik vorgeschlagen. Auf europäischer Ebene wurde im selben Jahr ebenfalls ein Standardisierungsprozess unter der

Gesamtleitung von Peter Donnelly mit der Laborarbeitsgruppe unter Jürgen Löffler begonnen.

1.3.4.2 Kontamination von Proben während der Amplifikation

Ein Problem des nicht-invasiven Nachweises einer invasiven Pilzinfektion mittels PCR ist die Kontamination der Proben, welche zu falsch positiven Ergebnissen führt.

Allerdings konnte gezeigt werden, dass nur einige wenige Pilzspezies, insbesondere *Aspergillus fumigatus*, *Saccharomyces cerevisiae*, und *Acremonium spp.*, für eine Kontamination während der DNA-Extraktion und Amplifikation ursächlich waren und diese insbesondere durch Inokulation ubiquitär vorkommender Sporen entstand. Außerdem gab es Auffälligkeiten bei handelsüblichen Reagenzien wie beispielsweise den zur Verarbeitung notwendigen Lyseenzymen, die häufig positiv bei der Untersuchung auf Pilz-DNA waren.

Obwohl Pilzsporen ubiquitär in der Umwelt verbreitet sind, konnte gezeigt werden, dass die Rate an Kontaminationen bei der Durchführung einer PCR-Untersuchung auf fungale DNA nicht höher lag, als bei PCR-Verfahren in anderen mikrobiologischen Bereichen (Loeffler, Hebart et al. 1999).

Ein Fortschritt konnte hierbei durch die Einführung des Thermocyclers und der Real-time PCR-Methode erreicht werden, da das verwendete Gerät ein abgeschlossenes System darstellt, welches die Möglichkeit einer Kontamination deutlich vermindert (Mackay 2007).

1.4 Weitere Untersuchungen

1.4.1 Radiologische Bildgebung

Wichtig zur Detektion und Lokalisation von Pilzinfektionen sind spezifische radiologische Zeichen, die für ein Auftreten einer invasiven Mykose sprechen. Eine konventionelle Röntgen-Thorax-Übersichtsaufnahme ist nach Ansicht der

Experten heute nicht mehr ausreichend, um eine frühe pulmonale Manifestation einer Mykose zu diagnostizieren (Greene, Schlamm et al. 2007). Zur umfassenden Diagnostik ist eine Spiral-Computertomographie oder eine low-dose Computertomographie (CT) mit möglicher HR-Schichtung der Infiltrate erforderlich (Heussel, Kauczor et al. 1999).

1.5 Antimykotische Therapiestrategien

In der antimykotischen Therapie der Hämatonkologie gibt es vier grundlegende Behandlungsstrategien. Die prophylaktische Therapie zur Reduktion der Infektionsrate bei Patienten mit erhöhtem Infektionsrisiko ohne Symptome einer bestehenden Infektion. Von empirischer antimykotischer Therapie spricht man bei Einleitung einer Pilztherapie bei symptomatischen Patienten mit hohem Infektionsrisiko ohne Hinweis auf Erreger oder Fokus. Entsprechend der Leitlinien erfolgt diese bei neutropenischen Patienten bei persistierendem Fieber über mindestens 96 Stunden trotz antibiotischer Therapie. Das Intervall bis zur Einleitung dieser Therapie hat sich in den letzten Jahren von zunächst 3 Tagen (72 Stunden) verlängert. Grundsätzlich sollten auch hier die Risikofaktoren in Betracht gezogen und eine individuelle Therapiestrategie erarbeitet werden (Maertens, Vreboos et al. 2001). Die gezielte Therapie ist bei Patienten mit mikrobiologisch oder histologisch gesicherter Mykose möglich. Von praeemptiver Therapie spricht man im deutschen Sprachraum, wenn die Genese der Infektion nicht sicher zugeordnet werden kann, aber im Gegensatz zu Fieber unklarer Genese Hinweise für einen Fokus oder einen möglichen Erreger existieren. Beispiele hierfür sind der zu Fieber und allgemeinen Infektionszeichen zusätzliche Nachweis von unspezifischen Lungeninfiltraten oder, bei fehlendem Fokus, ein einzelner positiver GM-Test. Bei fiebernden Patienten in Neutropenie, die verdächtige Lungen- oder Leberinfiltrate aufweisen und gegebenenfalls ein positiver Aspergillus-GM-Test durchgeführt werden konnte, sollte eine allgemein vorbeugende praeemptive Therapie erfolgen.

2 Aufgabenstellung und Ziele der Studie

Um bei Patienten mit persistierendem Fieber während der Phase der Neutropenie und wahrscheinlicher oder nachgewiesener invasiver Pilzinfektion eine erfolgreiche Therapie zu gewährleisten, ist ein frühzeitiger Behandlungsbeginn mit einem adäquaten Antimykotikum notwendig. Der Vorteil eines schnellen Einsatzes adäquater Therapeutika ist erwiesen, womit die Notwendigkeit der frühzeitigen Diagnostik deutlich wird (Pizzo, Robichaud et al. 1982; Prentice, Hann et al. 1997; Walsh, Finberg et al. 1999; Boogaerts, Winston et al. 2001; Walsh, Pappas et al. 2002; Walsh, Teppler et al. 2004). Dies ist allerdings noch immer schwierig, da es weder charakteristische klinische noch laborchemische Symptome für die invasive Mykose gibt, histologische oder Biopsie-getragene Untersuchungen bei stark reduziertem Allgemeinbefinden und häufig fortgeschrittener Thrombopenie häufig nicht möglich sind, und der direkte kulturelle Erregernachweis oftmals nicht gelingt beziehungsweise gewonnene Proben häufig nicht hinreichend beweisend, sondern nur beim Ausschluss anderer Infektionen oder bei Ausbleiben einer Besserung auf eine Breitspektrumantibiose richtungsweisend sind. Serologische Nachweisverfahren einer Pilzinfektion sind sehr eingeschränkt zu werten, da spezifische Antikörper erst im Verlauf der Erkrankung gebildet werden und somit lediglich bei chronischen Verläufen oder bei signifikantem Titeranstieg von mehreren Titerstufen hinweisend sein können. Die praeemptive Therapie auf Basis des GM-Nachweises in Kombination mit einer computertomographischen Bildgebung werteten Maertens et al. 2006 als effektives antimykotisches Nachweisverfahren, wie auch als Möglichkeit der Verlaufskontrolle (Maertens, Deeren et al. 2006), was eine Reduktion der Anwendung von nebenwirkungsreichen Arzneimitteln ermöglicht. Allerdings schwankt die Sensitivität des GM-Nachweises zur Detektion einer invasiver Aspergillose in unterschiedlichen Studien stark. Die Ursache hierfür könnte in der Schwierigkeit liegen, eine invasive Aspergillose definitiv zu diagnostizieren. Auch die Spezifität hat eine verminderte Wertigkeit, da zum Einen die Freisetzung von GM aus Speisen, bei Patienten mit Hochdosischemotherapie

aber auch eine unkontrollierte Resorption von GM aus dem Darm bei begleitender Mukositis falsch positive Werte erzeugen kann. Weitere Ursachen hierfür wären die Begleitmedikation wie eine Antibiose (beispielsweise Beta-Lactam-Antibiotika) oder Cyclophosphamid, aber auch eine Laborkontamination. Der radiologische Nachweis ist eingeschränkt auf den Bereich der Organmanifestation. So wird die Diagnose der pulmonalen Aspergillose meist auf Basis eines CT-Thorax gestellt. Mit Ausnahme des Halo-Zeichens gibt es jedoch keine spezifischen radiologischen Befunde und somit ist das Verfahren in seiner Bedeutung durch eine geringe Spezifität beziehungsweise Sensitivität eingeschränkt.

Bei Patienten mit hohem Risiko für das Auftreten einer invasiven Mykose erscheint die Diagnosestellung, die auf dem molekularbiologischen Erregernachweis der PCR basiert, möglicherweise zukünftig ein sensitives Verfahren darzustellen (Loeffler, Hebart et al. 2001). Es könnte einen wesentlichen Schritt zur Optimierung von Prophylaxe und frühzeitiger Therapie invasiver Mykosen bei Patienten in Neutropenie bedeuten. Wichtig sind insbesondere die durch Studien bereits positiven Ergebnisse für den sinnvollen Einsatz als ersten Indikator für eine Erkrankung durch Detektion des Erregers noch vor den ersten klinischen Symptomen. Somit besteht die Möglichkeit des therapeutischen Eingreifens mit einem adäquaten Antimykotikum bei Auftreten von Fieber und positivem PCR-Nachweis mit verbessertem Monitoring einer Aspergillose während der Therapie wie auch die Option des Ausschlusses einer Infektion bei negativem Ergebnis.

Allerdings ist das Verfahren noch immer experimentell und in der klinischen Praxis wenig umgesetzt.

Es besteht, trotz steter Weiterentwicklung des Amplifikationsverfahrens während der letzten zwei Dekaden, eine deutliche Diskrepanz der Werte bezüglich der Spezifität und Sensitivität (Tab. 7) (Einsele, Hebart et al. 1997; Skladny, Buchheidt et al. 1999; Hebart, Löffler et al. 2000; Hebart, Löffler et al. 2000; Lass-Flörl, Aigner et al. 2001; Buchheidt, Hummel et al. 2004; Katakai, Chiabchalard et al. 2004; Kawazu, Kanda et al. 2004; Donnelly 2006). Weiterhin

sind noch keine Daten bezüglich der Reduktion von Mortalität und Morbidität unter Screening durch PCR bekannt.

Tabelle 7. Sensitivität und Spezifität der PCR aus Veröffentlichungen verschiedener Autoren.

Erstautor	Jahr	Anzahl Patienten	PCR Sensitivität, %	PCR Spezifität, %
Einsele	1997	86	100	98
Skladny	1999	93	100	89
Hebart	2000	84	100	65
Hebart	2000	92	100	73
Buchheidt	2004	165	64	64
Kawazu	2004	96	64	87
Lass-Flörl	2001	121	75	96
Donnelly	2006	203	92,3	94,6

Ein wesentliches Problem in der Vergleichbarkeit der Verfahren und Ergebnisse liegt an dem unterschiedlichen Vorgehen bei der Extraktion und Amplifikation und an den verwendeten Primern. Die Differenzen können jedoch auch durch die unterschiedlichen Patientenkollektive und somit Risikosituationen, die Inzidenz der IPI und den Zeitraum der Untersuchung bedingt sein.

Ein weiteres Augenmerk gilt dem optimalen Zeitpunkt für den Beginn der Blutabnahmen und somit des Screenings.

In den bisherigen Studien wurde zur Evaluation der PCR-Technik diese mit einer optimierten Diagnostik auf Basis der bekannten Verfahren verglichen. Da hier die Funktionalität, entsprechend der oben aufgeführten Ergebnisse, bestätigt werden konnte, soll nun in der vorliegenden Untersuchung die Bedeutung der PCR Diagnostik in der klinischen Routine geprüft werden, ohne dass eine alternative Methodik geändert oder im Protokoll festgelegt wurde. Dies berücksichtigt insbesondere die häufig unzureichende oder nicht optimale diagnostische Situation, wie sie auch in vielen hämatologischen Zentren außerhalb von Studien zu finden ist. So erfolgt selten eine Testung von Aspergillus Antigen täglich oder dreimal wöchentlich, wie dies von (Maertens,

Aufgabenstellung und Ziele

Theunissen et al. 2005) geprüft und empfohlen wurde. Um die praediktive Bedeutung der Diagnostik zu betonen und zu prüfen, sollte die PCR-Untersuchung nur bis zum Eintreten des ersten Fiebers in Neutropenie erfolgen. Da der Zeitpunkt einer detektierbaren möglichen Pilzinfektion jedoch nicht bekannt ist, wurden 2 Zeiträume betrachtet. Zum einen die ersten 14 Tage nach Einschluss der Patienten in die Studie, und somit der unmittelbar gescreente Zeitraum. Zum anderen wurden zur Prüfung der langfristigen Bedeutung die gesamten folgenden 6 Monate betrachtet.

Im Mittelpunkt des Interesses der Studie stand die Frage nach der Korrelation eines positiven PCR-Nachweises mit Schlüsselkriterien oder der klinischen Diagnose einer IPI. Hierbei wurde das Augenmerk insbesondere auf die tatsächliche Entwicklung einer invasiven Mykose bei positiver PCR gerichtet und dem Nichtauftreten einer invasiven Pilzinfektion bei durchgehend negativer PCR. Ein weiterer Punkt war die Überprüfung einer Korrelation von GM-Nachweisen mit den Ergebnissen der PCR-Untersuchungen.

Um das Risikoprofil der Patienten besser zu charakterisieren und eventuell besonders relevante und neue Faktoren und Situationen zu erfassen, sollte darüber hinaus eine Korrelation der Pilzinfektionen und des Überlebens von Patienten mit individuellen Risikofaktoren, der Jahreszeit, der Chemotherapie und dem jeweiligen Zyklus geprüft werden. Auch Zusammenhänge des Zeitraums von positivem Erregernachweis bis zur Entwicklung einer invasiven Infektion oder bis zum Auftreten von Fieber wurden betrachtet.

Die Untersuchung wurde auf Patienten mit hohem Risiko für die Entwicklung einer invasiven Pilzinfektion beschränkt. Daher konnten alle Patienten mit akuter Leukämie und geplanter oder erfolgter Chemotherapie und zu erwartender Neutropeniedauer von mindestens 10 Tagen eingeschlossen werden. Ab Einleitung der Chemotherapie wurde bei den Patienten zweimal die Woche eine pilzspezifische PCR durchgeführt. Diese erfasst, über universelle Primer, ein breites Spektrum mykologischer Erreger und kann spezifische

Aufgabenstellung und Ziele

Aspergillus spp. und *Candida spp.* differenzieren. Die PCR-Diagnostik endete mit dem Auftreten von Fieber oder dem Einsatz einer Aspergillus-effektiven antimykotischen Therapie. Die klinischen (Fieber, Neutropenie), radiologischen (Infiltratnachweis) und mikrobiologischen (GM) Untersuchungsbefunde wurden mit den Ergebnissen des DNA-Amplifikationsverfahrens in Korrelation gebracht, um folgende Fragen beantworten zu können:

1. Ist die PCR-Diagnostik eine sinnvolle Ergänzung der klinischen Verlaufsbeurteilung bei Patienten mit Akuter Leukämie und Neutropenie unter Chemotherapie hinsichtlich der Entwicklung einer invasiven Mykose?
2. Wie häufig kommt es zur Entwicklung einer invasiven Mykose bei durchgehend negativer PCR?
3. In welchem Zeitfenster ist die Durchführung von PCR-Untersuchungen sinnvoll?
4. Gibt es signifikante Korrelationen der klinischen Verläufe der Patienten mit individuellen Risikofaktoren, der Jahreszeit, dem Chemotherapie-Protokoll und dem jeweiligen Chemotherapie-Zyklus?
5. Gibt es signifikante Korrelationen zwischen den Ergebnissen von GM-Nachweisen mit den PCR-Untersuchungen?
6. Mit welcher Wahrscheinlichkeit kommt es zu klinischen Symptomen einer invasiven Mykose innerhalb von 14 Tagen nach Beginn der Aplasie-Phase?

3 Material und Methode

3.1 Patientenkollektiv, Dauer und Umfang der Untersuchung

Es wurden von November 2005 bis September 2007 prospektiv alle Patienten, welche zur Behandlung einer akuten Leukämie stationär in der Medizinischen Klinik und Poliklinik II der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg aufgenommen wurden, oder bei welchen sich im Rahmen des stationären Aufenthaltes die Indikation zur zytostatischen Therapie einer akuten Leukose stellte, überprüft. Für die vorliegende Untersuchung wurden alle Patienten ausgewertet, welche in die IDEA Studie eingeschlossen wurden. Hierbei handelt es sich um eine deutsche, multizentrische, klinische Studie zum Vergleich eines sofortigen oder späteren Beginns einer empirischen antimykotischen Behandlung mit Voriconazol bei neutropenischen Hochrisikopatienten mit Fieber und positiver pilzspezifischer PCR („Immmediate vs. Deferred Empirical Antifungal treatment with voriconazol in high-risk neutropenic patients with fever and a positive panfungal polymerase chain reaction assay” – IDEA). In die Untersuchung konnten Patienten mit einer akuten lymphatischen oder myeloischen Leukämie oder einem malignen Lymphom eingeschlossen werden, wenn die erwartete neutropenische Phase (< 500 neutrophile Granulozyten/ μ l) nach der erfolgenden oder geplanten Chemotherapie mindestens 10 Tage betrug. Zum Einschluss in die Studie war der Zeitraum von 5 Tagen vor bis 2 Tagen nach Beginn der zytostatischen Therapie zulässig.

Die PCR-Untersuchungen erfolgten ab Einschluss der Patienten und endeten mit dem Einsetzen von Fieber, sofern eine empirische Antibiotikatherapie initiiert war und der Temperaturanstieg nicht durch eine nicht infektiöse Ursache wie eine Arzneimittelreaktion zu erklären war, oder mit dem Wiederanstieg der Leukozytenzahl auf > 1000/ μ l beziehungsweise der Neutrophilenzahl auf > 500/ μ l. Von Beginn der Studie an wurde wöchentlich jeweils montags und donnerstags \pm 1 Tag Blut (5 ml) für eine pilzspezifische PCR abgenommen und an ein entsprechendes Labor geschickt. Die

Gewinnung des Materials erfolgte bei Routineblutabnahmen. Die Ergebnisse der PCR wurden am folgenden Tag, in der Regel am Dienstag beziehungsweise Freitag, per Fax oder per E-Mail, der Klinik übermittelt.

Zur Beurteilung der klinischen Bedeutung und diagnostischen Relevanz der Untersuchungsergebnisse, wurden die Befunde und der klinische Verlauf der Patienten für einen Zeitraum von 6 Monaten nach Einschluß beobachtet.

3.1.1 Ein- und Ausschlusskriterien

Patienten wurden anhand der Kriterien der IDEA-Studie ausgewählt. Diese waren im Einzelnen:

Einschlusskriterien:

- Stationäre Patienten und Patientinnen im Alter von mindestens 18 Jahren
- Patienten mit einer akuten Leukämie oder Lymphom und geplanter Induktions- oder Konsolidierungs I-Chemotherapie
- Voraussichtliche Dauer der Neutropenie (< 500 neutrophile Granulozyten/ μl) mindestens 10 Tage

Ausschlusskriterien:

- Nachgewiesene oder wahrscheinliche invasive Mykose in der Anamnese
- Lungeninfiltrat
- Venenkatheter-assoziierte Infektion
- Dokumentierte bakterielle Infektion
- Fungämie oder dokumentierte invasive Mykose
- Körpergewicht < 40 kg
- Schwangerschaft oder Stillzeit
- Anamnestisch bekannte Überempfindlichkeit gegenüber Antimykotika aus der Azolgruppe
- Patienten, die eine Therapie mit einer der folgenden Substanzen erhalten:

- Terfenadin, Astemizol, Cisaprid, Pimozid, Chinidin (wegen möglicher QT-Verlängerung)
- Ergotalkaloide, Sirolimus, Vinca-Alkaloide (da es durch Voriconazol zu einer Erhöhung der Plasmaspiegel dieser Substanzen kommen kann), Statine (wegen eines erhöhten Risikos einer Myopathie oder einer Rhabdomyolyse bei gleichzeitiger Anwendung von manchen Statinen und manchen Antimykotika)
- Patienten, die 14 Tagen vor Einschuss eine Behandlung mit einer der folgenden Substanzen erhalten haben:
 - Rifampicin, Rifabutin, Carbamazepin, Phenobarbital, Ritonavir, Efavirenz, Phenytoin (da sie sehr wirksame Induktoren von Leberenzymen sind und eine Erniedrigung der Voriconazol-Konzentrationen bewirken)
- Teilnahme an einer anderen klinischen Prüfung mit einem nicht zugelassenen Präparat
- ASAT, ALAT oder Alkalische Phosphatase > 5 x oberer Normalwert
- Serumkreatinin > 2,5 mg/dl
- Lebenserwartung unter 72 Stunden
- Frühere Therapie mit Voriconazol beziehungsweise Placebo im Rahmen der IDEA-Studie
- Vorliegen von Erkrankungen, bei denen nach Einschätzung des Prüfarztes die Sicherheit des Patienten gefährdet, die Beurteilung der Studie erschwert oder die plangemäße Durchführung des vorgesehenen Studienprotokolls nicht wahrscheinlich ist

3.2 Datenerfassung der Studienpatienten

Die Patienten wurden im Zeitraum Februar 2005 bis September 2006 stationär aufgrund einer hämatoonkologischen Grunderkrankung behandelt. Aus der Krankheitsgeschichte der Patienten wurden folgende Daten erhoben: Alter, Beginn des Beobachtungszeitraumes, Zeitraum der Durchführung von PCR-

Untersuchungen, PCR-Ergebnis und Datierung der positiven Nachweise, Grunderkrankung, Primärdiagnose einer IPI, neu aufgetretene Infiltrate in der Bildgebung und Datierung dieser, ergänzende Diagnostik in Form von Bronchoskopie, Serologie, Blutkultur und Aspergillus Antigen (Galactomannan – GM), Chemotherapie-Protokoll mit Therapieverlauf und Zyklusnummer, Dauer der Neutropenie, wie auch aufgetretenes Fieber während der Phase der Aplasie, Risikofaktoren für das Auftreten einer IPI, sowie Besonderheiten im Verlauf des Screenings und der klinische Verlauf der Patienten.

3.2.1 Untersuchungen/Erhebungen

Folgende Untersuchungen erfolgten bei jedem eingeschlossenen Patienten:

- Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien
- Bis zum Ende des stationären Aufenthalts des Patienten wurde mindestens alle 8 Stunden die Körpertemperatur oral oder aurikulär gemessen
- Bis zum Anstieg der Neutrophilenzahl über 1000/ μ l sollte mindestens dreimal wöchentlich, soweit möglich montags, mittwochs und freitags, ein Blutbild erstellt werden. Dabei wurde bei einem Anstieg der Leukozytenzahl auf über 500/ μ l ein Differentialblutbild erstellt; bei einer Leukozytenzahl unter 500/ μ l war ein einfaches Blutbild ausreichend
- Zweimal wöchentlich (montags und donnerstags \pm 1 Tag) wurde Blut für eine pilzspezifische PCR entnommen
- Die PCR Untersuchungsphase der Studie endete bei Auftreten eines oder mehrerer Ausschlusskriterien beziehungsweise beim Anstieg der Leukozyten auf $> 1000/\mu$ l oder der Neutrophilen Granulozyten auf $> 500/\mu$ l oder aber beim Einschluss in die Behandlungsphase der IDEA Studie
- Dokumentation der folgenden Chemotherapien, der antimykotischen Behandlungen und der klinisch diagnostizierten IPI bis zu einem halben Jahr nach Studieneinschluss.

Die Untersuchungen und Datendokumentation endete bei Erreichen einer der folgenden Endpunkte:

- Diagnose einer Pilzinfektion
- Tod des Patienten
- 6 Monate nach Einschluss des Patienten

3.2.2 Chemotherapieprotokolle

Die Protokolle der Chemotherapien zur Behandlung der Patienten wurden entsprechend der Grunderkrankungen und zugrundeliegenden Studien erfasst. Die einzelnen Protokolle sind in der folgenden Tabelle aufgelistet:

Tabelle 8. Chemotherapien hinsichtlich verschiedener Protokolle, Grunderkrankung, Studien und Zyklen.

Grunderkrankung	Protokoll	Chemotherapie			Zyklus
AML -M3	AIDA ¹	ATRA Idarubicin	45 mg/m ² /d 12 mg/m ² /d	Tag 1-28 Tag 2, 4, 6, 8 (Leukozyten initial ≤ 5 GPT/l) Tag 1, 3, 5, 7 (Leukozyten initial > 5 GPT/l)	Induktion I
AML -M3	AIDA ¹	Daunorubicin Ara-C	60 mg/m ² 200 mg/m ²	Tag 1 - 3 Tag 1 - 7 (Leukozyten > 10 GPT/l)	Konsolidierung I
AML Rezidiv	AML Vion	Ara-C Placebo/Chloretazine	1,5 g/m ² 600 mg/m ²	Tag 1 - 3 Tag 2	Induktion
AML	Ara-C ¹ AML 2003	Ara-C	2 x 3g/m ²	Tag 1, 3, 5 *	Konsolidierung I
AML	DA ¹ AML 2003	Ara-C Daunorubicin	100 mg/m ² 60 mg/m ²	Tag 1 - 7 Tag 3 - 5	Induktion I + II
AML	DA (>60) ²	Ara-C Daunorubicin	100 mg/m ² 45 mg/m ²	Tag 1 - 7 Tag 3 - 5	Induktion I
AML	IMA (> 60) ²	Mitoxantron Ara C	10 mg/m ² 2 x1 g/m ²	Tag 1 – 3 Tag 1, 3, 5, 7	Induktion I
AML	MAC(> 60) ²	Mitoxantron Ara C	10 mg/m ² 1 g/m ²	Tag 4 – 6 Tag 1 - 6	Induktion I + II
AML	Bergmann	Mitoxantron Ara-C Topotecan	12 mg/m ² 1 g/m ² 1,5 mg/m ²	Tag 1 – 2 Tag 3 - 7 Tag 3 - 7	Induktion I

Material und Methode

Grunderkrankung	Protokoll	Chemotherapie			Zyklus
AML / ALL	Individuell	bei Variationen oder Änderungen im Verlauf findet sich keine ausreichende Ähnlichkeit zu einem am Zentrum üblichen Chemoprotokoll bzw. individuelles Konditionierungsprotokoll.			
ALL	GMALL	Methotrexat	15 mg abs.	Tag 1	Vorphase (Tag 1 – 5)
		Dexamethason	10 mg/m ²	Tag 1 – 5	
		Cyclophosphamid	200 mg/m ²	Tag 3 - 5	
ALL	GMALL	Dexamethason	10 mg/m ²	Tag 6 – 7 und 13 – 16	Induktion I (Tag 6 – 20)
		Vincristin	2 mg abs.	Tag 6, 13, 20	
		Daunorubicin > 55 Jahre	45 mg/m ² 30 mg/m ²	Tag 6 - 7, 13 - 14	
		PEG-Asparaginase > 55 Jahre	2000 U/m ² 1000 U/m ²	Tag 20	
ALL	GMALL	Methotrexat	15 mg abs.	Tag 28, 35, 42	Induktion II (Tag 26 – 46)
		Cyclophosphamid	1000 mg/m ²	Tag 26, 46	
		Cytarabin	75 mg/m ²	Tag 28 – 31, 35 – 38, 42 – 45	
		6-MP	60 mg/m ²	Tag 26 – 46	
		G-CSF	5 µg/kg	ab Tag 26	
ALL	GMALL	ZNS-Bestrahlung	24 Gy		Konsolidierung I (ab Tag 71)
		Dexamethason	10 mg/m ²	Tag 1 – 5	
		Vindestin	3 mg/m ² (maximal 5 mg)	Tag 1	
		HD-Methotrexat > 55 Jahre	1,5 g/m ² 1 g/m ²	Tag 1	
		VP16 (Etoposid)	250 mg/m ²	Tag 4 - 5	
		HD-Cytarabin > 55 Jahre	2 x 2 g/m ² 2 x 1 g/m ²	Tag 5	
		G-CSF	5 µg/kg	ab Tag 7	
		Triple-Prophylaxe	s. u.	Tag 12	

¹ Protokolle der Studie AML 2003, Studienzentrale Dresden, Prof. Ehninger

² (> 60) Protokolle der Studie AML 2003 empfohlen für Patienten mit einem Alter größer 60 Jahren.

AraC = CytosinArabinosid = Cytarabin

3.2.3 Klinische Diagnosestellung der IPI

Eine IPI wurde entsprechend der klinisch relevanten Entscheidungswege nach Einschätzung und Diagnose der behandelnden Ärzte erfasst. Hierfür wurden folgende Kriterien berücksichtigt: Die Verschlüsselung im Diagnose Related Groups-System (DRG), radiologische Nachweise wie pilztypische Infiltrate in der CT, positive mikrobiologische Nachweise wie GM-Test oder Kultur, Durchführung einer antimykotischen Therapie, fehlendes Ansprechen auf Antibiotika bei empirischem Fieber oder anderen Infektionszeichen einschließlich einer Pneumonie.

War hierbei im DRG-System eine IPI verschlüsselt worden, wurde in Krankenakte, Kurve und Arztbriefen nach klinischen Kriterien gesucht und die Plausibilität überprüft. So war mindestens eines der folgenden Kriterien erforderlich: Pilztypische oder mit einer Pilzinfektion vereinbare pulmonale Infiltrate in einem low-dose oder HR-CT, mikrobiologischer Erregernachweis in der Kultur oder Antigen-Nachweis oder unspezifische radiologische Infiltrate und antimykotische Therapie nach fehlendem Ansprechen auf antibiotische Behandlung über mindestens 5 Tage (Präemptive Indikation).

Wurde keine IPI verschlüsselt, wurde in der Patientenkurve die Durchführung einer antimykotischen Therapie und die radiologischen Befunde nach pilztypischen oder mit einer Pilzinfektion vereinbaren pulmonalen Infiltraten in einem low-dose oder HR-CT geprüft. Bei einem positiven Befund erfolgte die Suche nach weiteren klinischen Kriterien. Bei Vorliegen von mindestens 2 Kriterien, z. B. pulmonale Infiltrate und antimykotische Therapie über mindestens 5 Tage wurde dies als klinische Diagnose einer invasiven Mykose erfasst.

3.3 PCR Diagnostik

Zum Nachweis von Pilz-DNA mittels PCR wurde den Patienten zweimal wöchentlich 4 - 5 ml EDTA-Vollblut entnommen und direkt in das Labor, unter Leitung von PD Dr. J. Löffler, verschickt. Der erste essentielle Schritt zum Nachweis von Aspergillus- und Candida-DNA aus Blut ist die Extraktion der Pilz-DNA. Hierfür wird das EDTA-Vollblut durch Erythrozytenlyse in hypotonem Medium und Leukozytenlyse mittels Proteinase K weiterverarbeitet. Zur Generierung von Pilz-Sphaeroplasten kommt es durch Inkubation mit Lyticase. Nach Fällung und Aufreinigung mittels kommerziell erhältlichen Qiamp DNA Mini Kits der Firma Qiagen kann die eluierte DNA sofort weiterverarbeitet oder bei -80 °C gelagert werden. Die PCR-Diagnostik wurde mittels LightCycler assay durchgeführt. Dieser ermöglicht eine schnelle in-vitro-Amplifikation von DNA in Glaskapillaren mit anschließender Real-time Detektion und Quantifikation der DNA. Durch die Verwendung eines geschlossenen Systems bei der Amplifikation kann das Risiko einer Kontamination minimiert werden. Eine Amplifikation erfolgte zunächst mit generellen Primern, eine Differenzierung von einzelnen Pilzspezies konnte durch Verwendung spezies- oder gattungsspezifischer Sonden erreicht werden. Hierbei konnte bereits eine hohe Sensitivität mit 1 bis 10 Pilzzellen pro ml dokumentiert werden. Während Extraktion, Amplifikation und Detektion der Amplifikate wurden Positiv- und Negativkontrollen mitgeführt.

3.4 Literatursuche

Es erfolgte eine selektive Literaturrecherche über die Internetdatenbank MEDLINE, PubMed version (www.pubmed.com). Berücksichtigung fanden deutsch- und englischsprachige Veröffentlichungen im Zeitraum von 1982 bis 2008, wobei unter anderem die Schlüsselwörter „polymerase chain reaction“, „aspergillosis“, „neutropenic patient“ und „invasive fungal infection“ gewählt wurden. Ausserdem wurde eine gezielte Suche und Prüfung nach randomisierten, prospektiven multizentrischen Studien zur antimykotischen

Therapie der Aspergillose und bei persistierendem Fieber in Neutropenie des Zeitraumes 2000 bis 2008 durchgeführt. Besondere Berücksichtigung fanden ferner nationale und internationale Leitlinien und Konsensusstatements, insbesondere die Publikationen der Arbeitsgemeinschaft für Infektionen in der Hämatologie und Onkologie (AGIHO). Zusätzlich erfolgte eine gezielte Analyse der Pubmed Datenbank zur Frage der Saisonalität von invasiven Pilzinfektionen. Hierfür wurde mit Enddatum Juni 2008 nach folgenden Wörtern und Kombinationen gesucht: „seasonal“ und „aspergillus“ und „invasive“ oder „seasonal“ und „fungal“ und „invasive“ und „infection“ oder „seasonal“ und „aspergillus“ und „infection“ oder „seasonal“ und „yeast“ und „invasive“ und „infection“ oder „seasonal“ und „candida“ und „invasive“ und „infection“.

Wichtige Kriterien stellten hierbei die Aktualität und Evidenz der Artikel dar, wobei das Ziel bestand, die Entwicklung im Bereich der Mykologie allgemein und der Diagnostik von invasiven Pilzinfektionen zu erörtern und neueste Ergebnisse und Richtlinien zu erfassen. Ausgeschlossen wurden Artikel, die auf pädiatrischen Studien basieren oder eine wenig repräsentative Patientenzahl aufweisen.

3.5 Statistische Auswertung

Die Erfassung und Auswertung der Daten erfolgte über die Programme Microsoft Excel, Microsoft Word und SPSS für Windows.

3.5.1 Definitionen

Sensitivität: $\frac{\text{Anzahl richtig positive Ergebnisse}}{\text{Anzahl richtig positive Ergebnisse} + \text{Anzahl falsch negative Ergebnisse}}$

Spezifität: $\frac{\text{Anzahl richtig negative Ergebnisse}}{\text{Anzahl richtig negative Ergebnisse} + \text{Anzahl falsch positive Ergebnisse}}$

Positiv prädiktiver Wert: $\frac{\text{Anzahl richtig positive Ergebnisse}}{\text{Anzahl richtig positive Ergebnisse} + \text{Anzahl falsch positive Ergebnisse}}$

Negativ prädiktiver Wert: $\frac{\text{Anzahl richtig negative Ergebnisse}}{\text{Anzahl richtig negative Ergebnisse} + \text{Anzahl falsch negative Ergebnisse}}$

3.5.2 Chi-Quadrat-Test nach Pearson und Exakter Test nach Fisher

Die Korrelation von klinischem Verlauf der Patienten mit klinischen Faktoren, wobei hier insbesondere Augenmerk auf die Jahreszeit bei Untersuchungsbeginn, das Chemotherapie-Protokoll, und den Chemotherapie-Zyklus gelegt wurde, des Weiteren auf eine Therapie mit einem Antimykotikum und Entwicklung einer IPI, wie auch auf ein positives PCR-Ergebnis und klinischer Verlauf, wurde anhand des Chi-Quadrat-Tests ausgewertet. Es wurde jeweils eine H0-, und eine H1-These aufgestellt, die dann geprüft und verifiziert beziehungsweise verworfen wurde. Das Signifikanzniveau α wurde mit 5 % festgelegt, eine statistische Signifikanz besteht somit bei einem p-Wert von $< 0,05$. Bei einseitigen Tests oder Tests wo die erwartete Häufigkeit < 5 ist, wurde der exakte Fisher-Test gemacht, da dieser robuster ist.

3.5.3 T-Test

Um eine Korrelation zwischen GM-Nachweis und PCR-Ergebnis bezüglich der Entwicklung einer IPI zu prüfen, wurde ein T-Test durchgeführt. Es sollte hierbei ein spezieller Mindestwert für den GM-Nachweis ermittelt werden, welcher, wenn nachgewiesen, mit einem positiven PCR-Ergebnis korreliert. Ein p-Wert von $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen.

3.5.4 Konfidenzintervalle

Zur Berechnung der Wahrscheinlichkeiten des Auftretens von pulmonalen Infiltraten, Fieber oder einer IPI während der ersten 14 Tagen nach Beginn der

Aplasia-Phase, wurde eine statistische Berechnung der 95 %-Konfidenzintervalle der Rationes durchgeführt. Diese entsprechen der Vertrauenswahrscheinlichkeit.

4 Ergebnisse

4.1 Patienten

Im Rahmen der Studie wurden 62 Patienten mit hämatonkologischer Grunderkrankung ausgewertet. Es handelt sich um 33 männliche und 29 weibliche Patienten mit einer Altersverteilung von 18 bis 82 Jahren. Die wesentlichen Patientencharakteristika sind in Tabelle 9 aufgeführt. Der Altersdurchschnitt bei Studieneinschluss beträgt 50,9 Jahre und die Dauer der Durchführung von PCR-Untersuchungen im Durchschnitt 12,5 Tage, wobei der weitere Verlauf der Patienten über insgesamt 6 Monate nach Einschluss weiter dokumentiert wurde.

4.2 Grunderkrankung und Chemotherapie

4.2.1 Grunderkrankung

Als Grunderkrankung hatten 43 Patienten eine Akute Myeloische Leukämie (AML), dies entspricht 69 %. Morphologisch wurde bei 4 dieser Patienten eine AML FAB M3 diagnostiziert, welche separat dargestellt wird, da sich diese Form therapeutisch und prognostisch deutlich von den anderen AML-Formen unterscheidet. 29 % der Patienten litten an einer Akuten Lymphatischen Leukämie (ALL), und bei einem Patienten (2 %) wurde initial ein T-lymphoblastisches Lymphom (NHL) diagnostiziert, wobei sich histologisch im Verlauf eine Blasteninfiltration des Knochenmarks von 20 % zeigte, so dass eine Induktionschemotherapie entsprechend dem Standard ALL Protokoll (GMALL) erfolgte. Bei dem Patienten wird folgend die Erkrankung ALL dokumentiert.

Ergebnisse

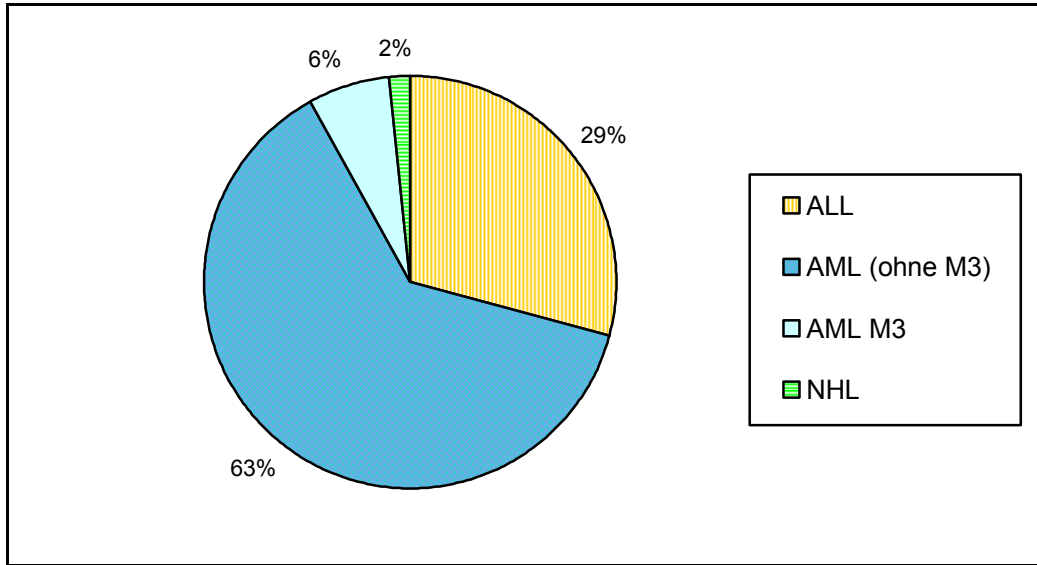


Diagramm 1. Prozentuale Verteilung der Patienten bezüglich ihrer Grunderkrankung, wobei die AML unterteilt wird in AML FAB M3 und AML (ohne FAB-Klassifikation M3).

Die Chemotherapien der Patienten sind in der folgenden Tabelle aufgeführt:

Tabelle 9. Geschlecht, Alter, Durchschnittsalter, Grunderkrankung der Studienpatienten, Dauer der Durchführung von PCRs in Tagen und durchschnittliche Dauer des Untersuchungszeitraumes, Chemotherapie-Protokoll und Zyklus, nach dem die einzelnen Patienten zum Zeitpunkt der Datenerhebung behandelt werden.

Nr.	Geschlecht	Alter	PCR ⁵	Grunderkrankung	Chemoprotokolle	Zyklus
1001	w	46	5	AML	DA	Induktion II
1002	m	52	5	AML	DA	Induktion I
1003	w	77	4	AML	AIDA	Induktion I
1004	m	33	16	ALL	GMALL	Induktion I
1005	w	23	10	AML ⁶	AIDA	Induktion I
1006	m	50	7	ALL	GMALL	Induktion I
1007	m	70	7	AML	DA	Induktion I
1008	w	23	14	AML ⁶	AIDA	Konsolidierung I
1009	m	33	13	ALL	GMALL	Konsolidierung I
1010	m	61	2	ALL 60 ⁷	GMALL ³	Induktion II
1011	m	45	9	AML	DA	Induktion I

Ergebnisse

Nr.	Ge- schlecht	Alter	PCR ⁵	Grunder- krankung	Chemoprotokolle	Zyklus
1012	m	75	21	AML	DA	Induktion I
1013	w	64	8	AML	DA	Induktion II
1014	m	24	16	ALL	GMALL	Konsolidierung I
1015	m	54	20	AML	DA	Induktion I
1016	w	51	15	AML	DA	Induktion II
1017	w	47	15	ALL	GMALL	Induktion I
1018	m	62	15	AML	Bergmann	Induktion I
1019	w	75	9	AML	IMA (> 60)	Induktion I
1020	m	75	12	AML	DA	Induktion II
1021	m	54	21	AML	DA	Induktion II
1022	m	22	9	ALL	Individuell ² : 12 Gy TBI (d-6 bis-4) plus Endoxan 60 mg/kg (d-3 bis -2)	Konditionierung vor allogener SZTI
1023	w	42	24	ALL	GMALL	Induktion I
1024	w	56	2	ALL	GMALL	Induktion I
1025	m	40	12	AML	DA	Induktion I
1026	m	75	20	AML	Ara-C	Konsolidierung I
1027	w	66	11	AML	AIDA + Ara-C	Induktion I
1028	w	42	15	ALL	GMALL	Induktion II
1029	m	43	8	ALL	GMALL	Induktion I
1030	m	43	21	ALL	GMALL	Induktion II
1031	m	69	11	AML	DA	Induktion I
1032	w	66	12	AML	AIDA	Konsolidierung I
1033	w	55	13	AML ¹	DA	Induktion I
1034	w	47	10	ALL	GMALL	Induktion I
1035	m	66	7	AML	DA	Induktion I
1036	w	28	22	AML ⁶	Individuell ² : Etoposid 100 mg/m ² (d1) Cytarabin 100 mg/m ² (d 8-15) Gemtuzumab 9 mg/m ² (d16)	Induktion I
1037	w	66	2	AML	Individuell ² : Ara-C 2 x 1000 mg/m ² (d1-4) Mitoxantron 10mg/m ² (d2-4)	Induktion I
1038	m	75	12	AML	Bergmann	Induktion II
1039	w	42	8	AML	DA	Induktion I
1040	w	58	8	AML	DA	Induktion I

Ergebnisse

Nr.	Ge- schlecht	Alter	PCR ⁵	Grunder- krankung	Chemoprotokolle	Zyklus
1041	w	62	15	AML	Bergmann	Induktion I
1042	m	82	16	AML	DA	Induktion I
1043	m	75	7	AML	DA	Induktion I
1044	m	39	6	AML	DA	Induktion I
1045	m	18	9	ALL	GMALL	Konsolidierung I
1046	m	43	15	AML ⁶	AIDA	Induktion I
1047	w	57	21	AML	DA	Induktion I
1048	w	63	7	AML	MAC	Induktion I
1049	m	39	11	AML	DA	Induktion II
1050	m	29	12	ALL	GMALL	Induktion I
1051	w	63	13	AML	MAC	Induktion II
1052	w	68	10	AML	AML Vion	Induktion I
1053	w	41	14	AML	DA	Induktion I
1054	w	64	7	AML	DA (> 60)	Induktion I
1055	m	55	2	AML	AML Vion Abbruch ⁴	Induktion I
1056	w	64	10	AML	DA	Induktion I
1057	w	51	19	AML	DA	Induktion I
1058	m	23	22	ALL	GMALL	Induktion II
1059	m	29	18	ALL	GMALL	Induktion I
1060	m	20	27	ALL	GMALL	Induktion I
1061	w	56	19	AML	Ara-C	Konsolidierung I
1062	m	20	16	ALL	GMALL	Induktion II

Die Chemoprotokolle sind detailliert im Material und Methode Abschnitt 3.2.2. beschrieben.

¹ zunächst als AML diagnostiziert

² individuell: bei Variationen oder Änderungen im Verlauf findet sich keine ausreichende Ähnlichkeit zu einem am Zentrum üblichen Chemoprotokoll bzw. individuelles Konditionierungsprotokoll.

³ Reduzierte Dosis: MTX 1,5 g/m², Ifosfamid 75%, Cytarabin 75%, Etoposid 75% vom 14.06.2005 - 17.06.2005

⁴ Abbruch bei Infektion

⁵ Zeitraum in Tagen von der ersten bis zur letzten durchgeführten PCR

⁶ AML FAB M3

⁷ initial NHL

4.2.2 Chemotherapie-Protokoll und Chemotherapie-Zyklus

Alle Patienten wurden zur Behandlung ihrer akuten Leukose mit Chemotherapie stationär aufgenommen, wobei die Patienten in 41 Fällen den ersten Induktionzyklus (67 %) erhielten, 13 mal den zweiten Induktionszyklus (21 %),

Ergebnisse

Patienten wurden 6 mal zur Gabe der Konsolidierung I aufgenommen (10 %) und bei einem Patienten wurde die Konditionierung für die allogene Stammzelltransplantation appliziert (2 %).

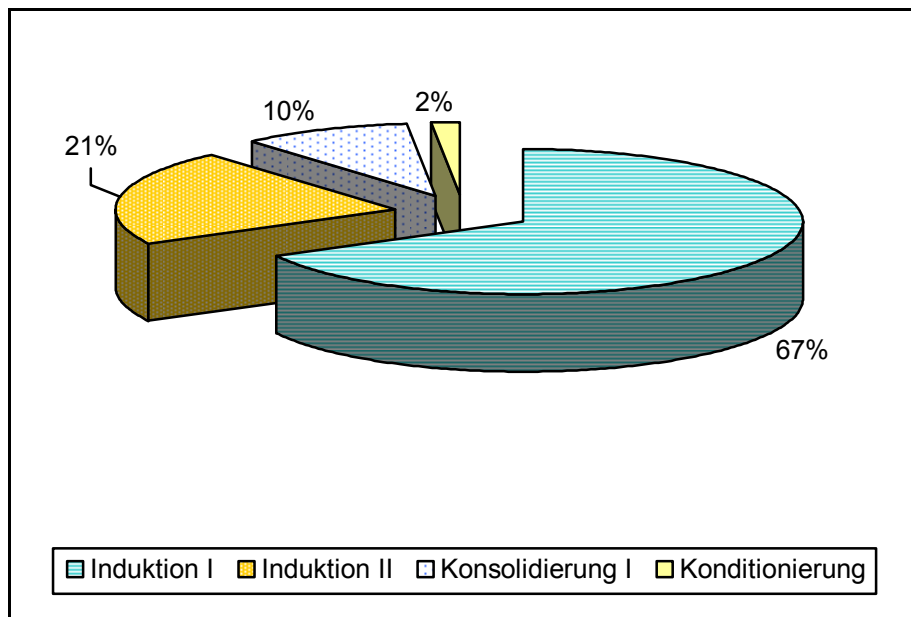


Diagramm 2. Prozentuale Verteilung der Patienten bezüglich des Chemotherapie-Zyklus.

Als Chemotherapien wurden hierbei DA (24 mal), DA für Ältere (> 60 Jahre) (1 mal), AIDA Induktion I (3 mal), AIDA Induktion plus ARA-C (1 mal), AIDA Konsolidierung I (2 mal), GMALL Induktion I (10 mal), GMALL Induktion II (5 mal), GMALL Konsolidierung I (3 mal), Bergmann-Protokoll (3 mal), IMA (> 60) (1 mal), MAC (2 mal) und 3 mal ein individuelles Protokoll verwendet. AML Vion wurde bei zwei Patienten zur Therapie eingesetzt, wobei bei diesem Protokoll die Therapie bei einem Patienten abgebrochen wurde. Ein Regime, welches als Chemotherapeutikum HD-ARA-C enthielt, wurde bei insgesamt 5 Patienten eingesetzt. Bei 2 dieser Patienten wurde mit HD-ARA-C therapiert, bei 1 Patienten wurde zusätzlich zum AIDA-Protokoll HD-ARA-C eingesetzt und bei 2 Patienten war ARA-C Teil des individuellen Therapie-Schemas (Tab. 8). Die Chemotherapieprotokolle sind im Abschnitt 3.2.2 beschrieben und erläutert.

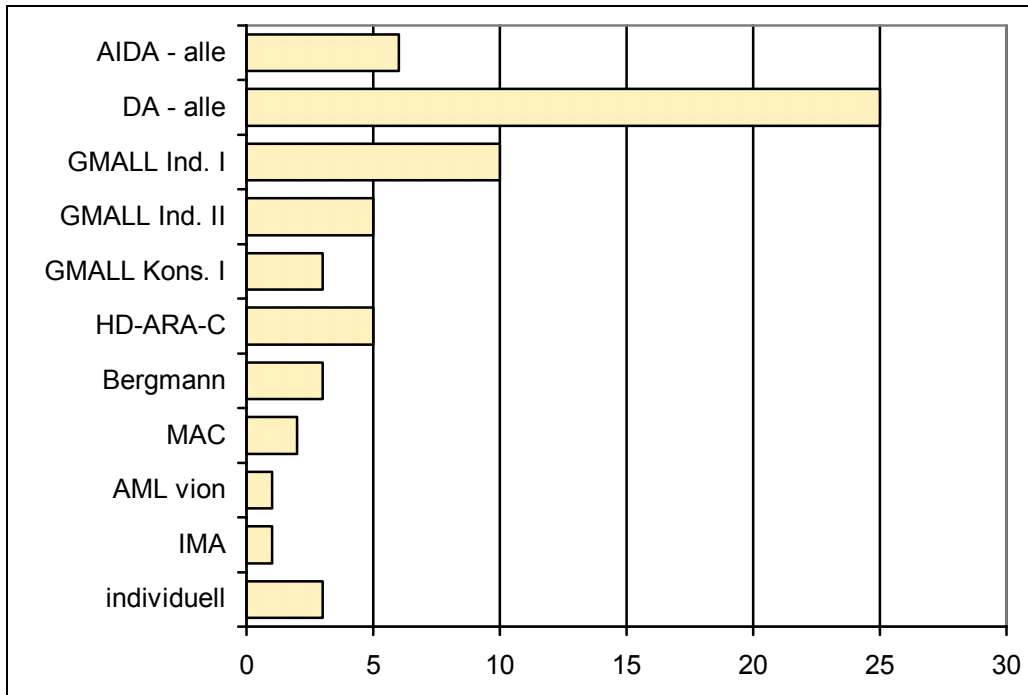


Diagramm 3. Verteilung nach Anzahl der Patienten bezüglich des applizierten Chemotherapie-Protokolls.

4.3 Klinische Entwicklung der Patienten

4.3.1 Verlauf der Grunderkrankung und der Letalität

Bei 26 Patienten konnte im Verlauf eine allogene Stammzelltransplantation durchgeführt werden. 8 Patienten waren zum Ende des Zeitraumes der Datenerfassung in kompletter Remission, für weitere 13 Patienten war zu diesem Zeitpunkt die Fortführung der Chemotherapie vorgesehen. 9 Patienten wurden bei therapierefraktärer Leukämie und Einstellung einer potentiell kurativen Therapie aus der stationären Behandlung entlassen. Für diese liegen keine klinischen Informationen zum Ende des Beobachtungszeitraums vor. Bei Abschluss der Datenerhebung waren 13 Patienten, entsprechend einer Gesamt-Letalität von 21 %, verstorben.

4.3.2 Inzidenz der IPI und IPI bezogene Letalität

Bei 27 der 62 untersuchten Patienten, entsprechend 43 %, wurde klinisch die Diagnose einer IPI gestellt. Genauer betrachtet waren es 19 der 39 Patienten mit der Grunderkrankung AML (ohne AML FAB M3), entsprechend 49 %, und 8 der 19 Patienten mit der Diagnose ALL (42 %). Bei den Patienten mit der Grunderkrankung AML M3 kam es zu keiner invasiven Mykose.

Insgesamt entwickelten 42 Patienten im Laufe der aplastischen Phase Fieber. 39 Patienten entwickelten im Verlauf radiologisch nachweisbare pulmonale Infiltrate. Die Standard-Untersuchung war hierbei die low-dose Computertomographie mit Lungenfeld. Bei 20 Patienten mit der klinischen Diagnose einer IPI konnten Infiltrate der Lunge nachgewiesen werden. Dies entspricht 51 % der Patienten mit pulmonalen Infiltraten (Tab. 13).

Von den 27 Mykosen war eine IPI durch *Pneumocystis carinii* bedingt, eine Spezies, die nicht durch den PCR-Nachweis detektiert wird.

Es konnte bei 7 Patienten ein Erreger detektiert werden, ohne dass eine invasive Mykose nachgewiesen wurde. 9 Patienten verstarben aufgrund einer IPI, somit ergibt sich eine IPI-bezogene Letalität von 14,5 % (Tab. 10). Bei den zugrunde liegenden Manifestationen handelte es sich bei 8 Patienten um eine Pneumonie, bei einem Patienten um eine hepatolienale Candidiasis. Manifestation.

4.4 PCR-Untersuchungen und Ergebnisse

4.4.1 Statistische Berechnungen bezüglich der klinischen Entwicklung der Patienten

Anzahl und Zeitpunkt der ersten positiven PCR, sowie Diagnose einer invasiven Pilzinfektion und klinischer Verlauf jedes Patienten sind in Tabelle 10 wiedergegeben.

Ergebnisse

4.4.1.1 Arithmetisches Mittel des Zeitraumes der ersten positiven PCR bis zur Diagnosestellung

Der Zeitraum von der ersten positiven PCR bis zur Diagnose der IPI betrug im Durchschnitt 15,3 Tage (Tab. 10). Hierbei wurden diejenigen Patienten eingeschlossen, die eine positive PCR vor Diagnosestellung hatten. Lediglich zwei Patienten hatten einen positiven PCR-Nachweis erst nach dem Diagnostizieren einer invasiven Mykose, wobei es sich in einem Fall um 2 Tage handelte, im anderen Fall um 7 Tage.

Tabelle 10. Klinische Entwicklung der Patienten in Bezug auf die erste positive PCR und Zeitraum von dieser bis zur klinischen Diagnose der invasiven Mykose.

Nr.	Anzahl positiver PCRs	Klinische Entwicklung	Klinische Diagnose: IPI	1. positive PCR bis IPI, d
1001	-	Tod	-	-
1002	2	Tod	+	32
1003	-	cR	+	-
1004	-	SZT	+	-
1005	-	cR	-	-
1006	1	SZT	+	26
1007	-	P	-	-
1008	-	cR	-	-
1009	-	SZT	-	-
1010	-	SZT P	-	-
1011	-	cR	-	-
1012	1	P	+	-
1013	-	P	-	-
1014	1	SZT	-	-
1015	2	SZT Tod	-	-
1016	2	cR	-	-
1017	-	SZT	-	-
1018	-	P	-	-

Ergebnisse

Nr.	Anzahl positive PCR	Klinische Entwicklung	Klinische Diagnose: IPI	1. positive PCR bis IPI, d
1019	1	Tod	-	8
1020	2	P	-	-
1021	-	SZT Tod	+	-
1022	-	SZT	+	-
1023	1	SZT Tod	-	32
1024	-	SZT	-	-
1025	2	SZT	+	11
1026	1	P	+	-
1027	1	Ch	+	34
1028	-	SZT Tod	+	-
1029	1	SZT Tod	+	-
1030	1	SZT Tod	+	-
1031	1	P	+	4
1032	1	cR	+	-2
1033	2	SZT	+	19
1034	2	SZT	+	-
1035	3	Tod	+	1
1036	-	SZT	-	-
1037	1	Ch	+	-7
1038	-	P	+	-
1039	-	SZT	+	-
1040	-	SZT	+	-
1041	-	SZT	-	-
1042	-	Ch	-	-
1043	-	Ch	-	-
1044	-	Ch	-	-
1045	-	SZT	-	-
1046	-	Ch	-	-
1047	-	SZT	-	-
1048	-	cR	-	-
1049	-	SZT	+	-
1050	1	Ch	-	1
1051	-	cR	-	-

Ergebnisse

Nr.	Anzahl positive PCR	Klinische Entwicklung	Klinische Diagnose: IPI	1. positive PCR bis IPI, d
1052	-	Ch	+	-
1053	1	SZT	-	20
1054	-	Tod	-	-
1055	-	Tod	+	-
1056	-	Tod	-	-
1057	3	SZT	+	37
1058	-	Ch	-	-
1059	1	Ch	+	13
1060	2	Ch	-	-
1061	1	Ch	-	-
1062	-	Ch	-	-

* cR komplette Remission; SZT allogene Stammzelltransplantation; P palliative Therapie; Ch Weiterführung der bzw. Wiedervorstellung zur Chemotherapie.

4.4.1.2 Korrelation von PCR-Untersuchungen mit dem Auftreten einer IPI im Zeitraum der Datenerhebung

Für die Korrelation von positivem PCR-Ergebnis und der klinischen Diagnose einer IPI ergibt sich eine Spezifität von 71,4 % bei einer Sensitivität von 59,3 %. Bei der Berechnung des positiv prädiktiven Wertes konnte ein Wert von 61,5 eruiert werden und ein negativ prädiktiver Wert von 69,4 (Tab. 11).

Im Exakten Test nach Fisher wurde die Signifikanz der Korrelation von positivem PCR-Nachweis mit der Entwicklung einer IPI untersucht. Hierbei stellte sich die Frage, ob die Hypothese, dass es signifikant häufiger zur Entwicklung einer IPI kommt, wenn ein positiver PCR-Test erfolgt war, bestätigt werden kann. Es konnte ein signifikantes Ergebnis eruiert werden (p-Wert: 0,015).

Ergebnisse

Tabelle 11: Sensitivität, Spezifität und prädiktive Werte der PCR für den Zeitraum von 6 Monaten nach Studieneinschluss.

		Test			
		PCR +	PCR -		
Infektion	IPI +	16	11	59,3	Sensitivität Spezifität
	IPI -	10	25	71,4	
		61,5	69,4		
		positiver	negativer		
		prädiktiver Wert			

4.4.2 Verlauf der PCR-Untersuchungen

Im Zeitraum der Untersuchung wurden insgesamt 260 PCRs durchgeführt, was einem durchschnittlichen Wert von 4,2 PCR-Untersuchungen pro Patient gleich kommt. Davon waren in 15 % der Untersuchungen, einer Anzahl von 38 entsprechend, die PCR Ergebnisse positiv. 219 PCRs, folglich 84 %, waren negativ und 3 PCRs (1 %) konnten molekularbiologisch nicht beurteilt werden.

Insgesamt hatten 26 Patienten mindestens einmal einen positiven PCR-Nachweis. 10 der 26 Patienten mit positiver PCR hatten mehr als eine positive PCR. Bei 50 % der Patienten mit mehrfach positivem PCR-Ergebnis wurde im Verlauf eine IPI diagnostiziert.

Bei 11 Patienten waren bereits die ersten PCR-Untersuchungen positiv. Bezugnehmend auf die Anzahl der durchgeführten PCRs entspricht dies 18 %. Bei 10 % der Patienten, bei denen eine zweite PCR durchgeführt wurde (6 Patienten) war der zweite Erregernachweis positiv. Die anschließend dritte und vierte PCR führten bei 9 Patienten zu einem positivem Ergebnis. Dies entspricht 18 % bei PCR 3 und 26 % bei PCR 4. Die fünfte PCR fiel bei 12 % der durchgeführten Untersuchungen positiv aus, und bei 13 % des sechsten Nachweises konnte ein positives Ergebnis nachgewiesen werden. Bei wenigen

Ergebnisse

Patienten wurde auch ein siebter bis elfter PCR-Nachweis durchgeführt, wobei keine PCR positiv war (Tab. 12).

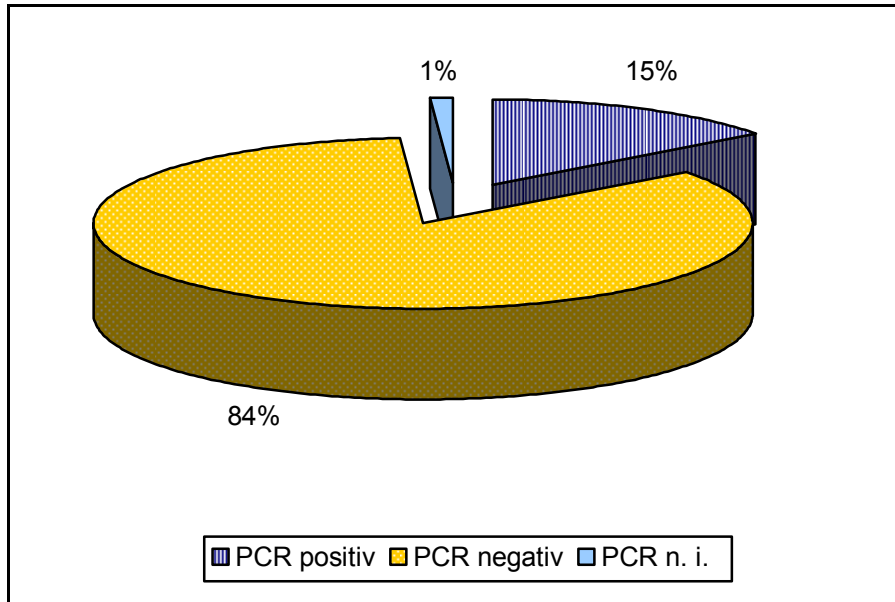


Diagramm 4. Prozentuale Verteilung der PCR-Ergebnisse.

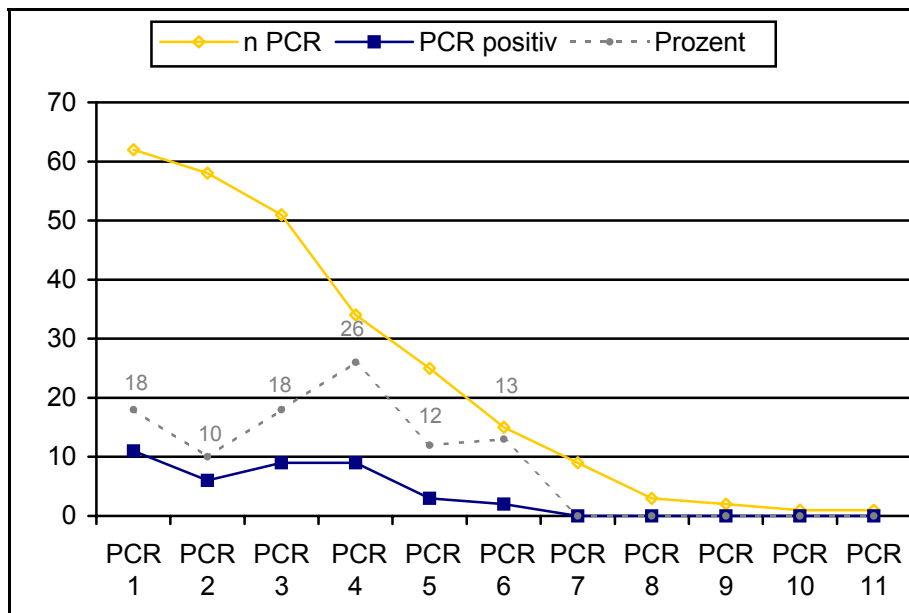


Diagramm 5. Verteilung der positiven PCR-Untersuchungen bezugnehmend auf die Anzahl der durchgeführten PCRs.

Ergebnisse

Tabelle 12. Verlauf und Ergebnisse der PCR-Untersuchungen.

PCR-Tabelle														
Nr.	PCR 1	PCR 2	PCR 3	PCR 4	PCR 5	PCR 6	PCR 7	PCR 8	PCR 9	PCR 10	PCR 11	Positiv	Negativ	n. i.
1001	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	2	0
1002	positiv	negativ	positiv	n. i.	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	-	-	2	5	1
1003	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	2	0
1004	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	0	5	0
1005	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	0	3	0
1006	positiv	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	0
1007	negativ	negativ	n. i.	-	-	-	-	-	-	-	-	0	2	1
1008	negativ	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	0	4	0
1009	negativ	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	0	4	0
1010	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1	0
1011	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	0	3	0
1012	negativ	positiv	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	1	6	0
1013	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	0	3	0
1014	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ	-	-	-	-	-	-	1	4	0
1015	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv	negativ	-	-	-	-	-	2	4	0
1016	negativ	negativ	positiv	positiv	negativ	-	-	-	-	-	-	2	3	0
1017	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	0	5	0
1018	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	0	5	0
1019	negativ	positiv	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	0
1020	positiv	positiv	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	2	2	0
1021	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	0	7	0

Ergebnisse

Nr.	PCR 1	PCR 2	PCR 3	PCR 4	PCR 5	PCR 6	PCR 7	PCR 8	PCR 9	PCR 10	PCR 11	Positiv	Negativ	n. i.
1022	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	0	3	0
1023	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ	-	-	-	-	1	6	0
1024	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1	0
1025	negativ	positiv	positiv	negativ	-	-	-	-	-	-	-	2	2	0
1026	negativ	negativ	positiv	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	1	5	0
1027	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ	-	-	-	-	-	-	1	4	0
1028	negativ	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	0	4	0
1029	positiv	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	0
1030	negativ	negativ	positiv	negativ	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	1	6	0
1031	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	1	6	0
1032	negativ	negativ	negativ	positiv	-	-	-	-	-	-	-	1	3	0
1033	positiv	negativ	positiv	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	2	9	0
1034	positiv	negativ	positiv	negativ	-	-	-	-	-	-	-	2	2	0
1035	positiv	positiv	positiv	-	-	-	-	-	-	-	-	3	0	0
1036	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	0	5	0
1037	negativ	positiv	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	0
1038	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	2	0
1039	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	2	0
1040	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	2	0
1041	negativ	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	0	4	0
1042	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	0	3	0
1043	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	0	3	0
1044	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1	0

Ergebnisse

Nr.	PCR 1	PCR 2	PCR 3	PCR 4	PCR 5	PCR 6	PCR 7	PCR 8	PCR 9	PCR 10	PCR 11	Positiv	Negativ	n. i.
1045	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	0	3	0
1046	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	0	5	0
1047	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	0	6	0
1048	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	0	3	0
1049	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	0	3	0
1050	negativ	negativ	positiv	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	0
1051	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	0	5	0
1052	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	0	3	0
1053	negativ	n. i.	negativ	positiv	-	-	-	-	-	-	-	1	2	1
1054	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	0	3	0
1055	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1	0
1056	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-	0	3	0
1057	negativ	negativ	positiv	negativ	positiv	positiv	-	-	-	-	-	3	3	0
1058	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	-	-	-	0	8	0
1059	positiv	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	1	5	0
1060	positiv	negativ	negativ	positiv	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	2	5	0
1061	positiv	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	1	5	0
1062	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	-	-	-	-	-	-	0	5	0
n PCR	62	58	51	34	25	15	9	3	2	1	1			3
n PCR +	11	6	9	9	3	2	0	0	0	0	0	38		
%	18	10	18	26	12	13	0	0	0	0	0	15	84	-

n Summe

* n.i. nicht interpretierbar

4.4.3 Korrelation PCR-Ergebnisse mit Infiltrat-Nachweis und klinischer Diagnose einer IPI

Bei Patienten mit positivem Infiltrat-Nachweis wurden durchschnittlich 0,5 positive PCRs gemacht und 3,4 mit negativem Ergebnis. Bei den 39 Patienten, bei denen eine positive PCR nachgewiesen werden konnte, dauerte es im arithmetischen Mittel 13,08 Tage von deren Nachweis bis zum radiologischen Nachweis von Infiltraten (Tab. 15). Es wurden Patienten betrachtet, die eine positive PCR vor dem Nachweis der Infiltrate hatten.

Patienten mit der klinischen Diagnose der IPI hatten im arithmetischen Mittel 0,9 positive und 3,5 negative PCR-Untersuchungen. Bei 11 Patienten wurde mindestens eine positive PCR nachgewiesen, obwohl keine invasive Mykose im definierten Zeitraum diagnostiziert wurde. Bei Patienten mit Infiltraten und der klinischen Diagnose einer IPI wurden im Durchschnitt 0,8 positive PCR-Nachweise bei 3,3 negativen gemacht.

Bei Nachweis genau einer positiven PCR, welches 16mal der Fall war, wurde bei 10 Patienten die klinische Diagnose einer IPI gestellt, 63 % entsprechend. Bei 6 Patienten konnte trotz einmalig positiver PCR keine invasive Mykose diagnostiziert werden (38 %). In 10 Fällen erfolgte mehr als ein positiver PCR-Nachweis. Bei 6 dieser Patienten wurde die Diagnose IPI gestellt (60 %). 40 % der Patienten wiederum hatten mehrfach positive PCRs, wobei sie an keiner invasiven Mykose erkrankten (Tab. 13).

Ergebnisse

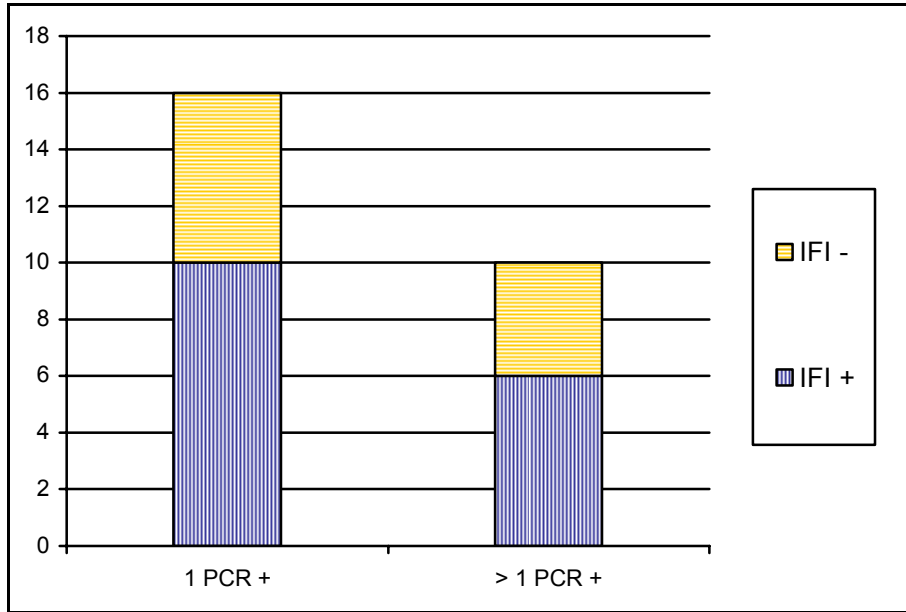


Diagramm 6. Säulendiagramm zur Darstellung der Verhältnisse von einmalig positiver PCR und der Korrelation zur Diagnosestellung IPI und mehrfach positivem Pilz-DNA-Nachweis.

Tabelle 13. PCR-Ergebnisse in Korrelation zu Infiltrat-Nachweis und klinischem Verlauf.

Nr.	Positiv	Negativ	n. i.	Infiltrate	Klinische Diagnose: IPI	Tod
1001	0	2	0	+	-	+
1002	2	5	1	-	+	+
1003	0	2	0	+	+	-
1004	0	5	0	+	+	-
1005	0	3	0	+	-	-
1006	1	1	0	+	+	-
1007	0	2	1	-	-	-
1008	0	4	0	-	-	-
1009	0	4	0	-	-	-
1010	0	1	0	-	-	-
1011	0	3	0	-	-	-
1012	1	6	0	+	+	-
1013	0	3	0	-	-	-
1014	1	4	0	-	-	-
1015	2	4	0	-	-	+

Ergebnisse

Nr.	Positiv	Negativ	n. i.	Infiltrate	Klinische Diagnose: IPI	Tod
1016	2	3	0	+	-	-
1017	0	5	0	+	-	-
1018	0	5	0	-	-	-
1019	1	2	0	+	-	+
1020	2	2	0	-	-	-
1021	0	7	0	-	+	+
1022	0	3	0	+	+	-
1023	1	6	0	+	-	+
1024	0	1	0	+	-	-
1025	2	2	0	+	+	-
1026	1	5	0	-	+	-
1027	1	4	0	+	+	-
1028	0	4	0	+	+	+
1029	1	2	0	-	+	+
1030	1	6	0	-	+	+
1031	1	6	0	+	+	-
1032	1	3	0	+	+	-
1033	2	9	0	+	+	-
1034	2	2	0	-	+	-
1035	3	0	0	+	+	+
1036	0	5	0	+	-	-
1037	1	1	0	-	+	-
1038	0	2	0	+	+	-
1039	0	2	0	+	+	-
1040	0	2	0	+	+	-
1041	0	4	0	+	-	-
1042	0	3	0	+	-	-
1043	0	3	0	+	-	-
1044	0	1	0	+	-	-
1045	0	3	0	-	-	-
1046	0	5	0	-	-	-
1047	0	6	0	+	-	-
1048	0	3	0	+	-	-
1049	0	3	0	+	+	-
1050	1	2	0	-	-	-
1051	0	5	0	+	-	-

Ergebnisse

Nr.	Positiv	Negativ	n. i.	Infiltrate	Klinische Diagnose: IPI	Tod
1052	0	3	0	+	+	-
1053	1	2	1	+	-	-
1054	0	3	0	+	-	+
1055	0	1	0	+	+	+
1056	0	3	0	+	-	+
1057	3	3	0	+	+	-
1058	0	8	0	+	-	-
1059	1	5	0	+	+	-
1060	2	5	0	-	-	-
1061	1	5	0	-	-	-
1062	0	5	0	-	-	-
n				39	27	13

n Summe; + pulmonales Infiltrat

4.4.4 Korrelation von PCR-Ergebnis mit sonstigen mykologischen Nachweisverfahren

Um Korrelationen von positivem PCR-Nachweis und anderen mykologischen diagnostischen Verfahren abzuklären, wurden GM-Nachweise, Blutkulturen, Rachenabstriche, Sputumkultur, Biopsien und BAL nach Bronchoskopie in Assoziation damit gebracht.

Insgesamt wurden bei 30 Patienten GM-Untersuchungen gemacht, wobei bei 5 Patienten das GM mindestens einmal über 0,5 lag. Lediglich bei zweien dieser Patienten konnte zusätzlich ein positiver PCR-Nachweis erfolgen, 40 % entsprechend. Bei 14 Patienten erfolgte der Versuch eines mykologischen Nachweises über Blutkulturen, welche jedoch durchgehend negativ ausfielen.

Bei 3 Patienten wurde zusätzliche Diagnostik durchgeführt: Der einzelne durchgeführte Rachenabstrich und 2 Sputumkulturen fielen ebenfalls negativ aus, ebenso wie 2 Biopsien der Leber. Eine Ösophagus-Biopsie konnte einen positiven Erregernachweis erbringen, welche auch mit dem positiven PCR-Ergebnis korrelierte. Die Korrelationsrate von Biopsie und positiver PCR liegt

Ergebnisse

somit bei 33 %, wobei dies durch die niedrige Gesamtzahl der Biopsien als wenig repräsentativ angesehen werden kann.

Eine Bronchoskopie mit BAL wurde bei 6 Patienten angestrebt, allerdings musste eine Untersuchung aufgrund einer Aspiration abgebrochen werden. Von den 5 verwertbaren Lungenspiegelungen fielen 4 positiv aus, wovon wiederum 3 mit einem positiven PCR-Nachweis einhergingen, welches einer Korrelation von 60 % entspricht (Tab. 14).

Tabelle 14. Korrelation von positiver PCR mit anderen diagnostischen Verfahren zur Detektion einer IPI.

Nr.	Positive PCR	GM-Wert ab Beginn der Untersuchung plus 14 Tage	GM > 0,5	Piperacillin	Blutkultur	Sonstige Kultur / Biopsie	Bronchoskopie / BAL
1001	-	-	-	-	-	-	-
1002	+	-	-	+	-	-	-
1003	-	-	-	-	-	-	-
1004	-	-	-	-	-	-	-
1005	-	-	-	-	-	-	-
1006	+	-	-	-	-	-	-
1007	-	-	-	-	-	-	-
1008	-	-	-	-	-	-	-
1009	-	-	-	-	-	-	-
1010	-	0,02	-	-	-	-	-
1011	-	-	-	-	-	-	-
1012	+	-	-	+	-	-	-
1013	-	-	-	-	-	-	-
1014	+	-	-	-	-	-	-
1015	+	-	-	-	-	-	-
1016	+	-	-	-	-	-	-
1017	-	-	-	-	-	-	-
1018	-	-	-	+	-	-	-
1019	+	-	-	-	-	-	-
1020	+	-	-	-	-	-	-
1021	-	-	-	+	-	-	-

Ergebnisse

Nr.	Positive PCR	GM-Wert ab Beginn der Untersuchung plus 14 Tage	GM > 0,5	Piperacillin	Blutkultur	Sonstige Kultur / Biopsie	Bronchoskopie / BAL
1022	-	0,04, 0,32, 0,6, 0,18, 0,78, 1,26, 1,0, 0,74, 0,31, 0,38, 0,4	+	+	-	-	-
1023	+	-	-	-	-	-	positiv
1024	-	0,53	+	-	-	-	-
1025	+	-	-	-	-	-	Abbruch der Untersuchung nach Aspiration
1026	+	-	-	-	-	-	-
1027	+	-	-	-	-	-	-
1028	-	-	-	-	-	-	positiv
1029	+	0.06	-	-	negativ	-	-
1030	+	0.06	-	-	negativ	-	-
1031	+	negativ	-	+	-	-	-
1032	+	-	-	-	-	-	-
1033	+	2.29	+	-	-	-	positiv
1034	+	-	-	-	-	-	-
1035	+	negativ	-	+	negativ	positiv	-
1036	-	-	-	-	-	-	-
1037	+	-	-	+	-	-	-
1038	-	-	-	-	-	-	-
1039	-	0,09, 0,04, 0,04, 0,12	-	+	negativ	negativ	-
1040	-	5,41	+	-	-	-	-
1041	-	0,05, 0,08, 0,05	-	-	negativ	-	-
1042	-	-	-	+	-	-	-
1043	-	-	-	+	-	-	-
1044	-	0,03	-	-	negativ	-	-
1045	-	-	-	-	-	-	-
1046	-	0,27, 0,02, 0,02, 0,05, 0,27, 0,31	-	-	negativ	-	-
1047	-	0,06, 0,05	-	-	negativ	-	-
1048	-	0,18, 0,03	-	-	negativ	-	-
1049	-	0,03, 0,05, 0,21, 0,17	-	-	-	-	-
1050	ja	0,06	-	+	negativ	negativ	-
1051	-	0,03, 0,05	-	-	negativ	-	-
1052	-	-	-	-	-	-	-

Ergebnisse

Nr.	Positive PCR	GM-Wert ab Beginn der Untersuchung plus 14 Tage	GM > 0,5	Piperacillin	Blutkultur	Sonstige Kultur / Biopsie	Bronchoskopie / BAL
1053	ja	0,04, 0,06	-	-	negativ	-	-
1054	-	0,01	-	-	-	-	-
1055	-	0,05, 0,05, 0,08	-	-	-	-	-
1056	-	negativ	-	+	negativ	-	-
1057	ja	0,40, 0,04	-	-	-	-	positiv
1058	-	-	-	+	-	-	-
1059	ja	0,04, 0,07, 0,04, 0,04, 0,62, 0,6, 0,16, 0,64, 0,71, 0,40, 0,14, 0,03	+	-	negativ	-	negativ
1060	ja	0,05, 0,07	-	-	-	-	-
1061	ja	0,06	-	+	-	-	-
1062	-	0,07	-	-	-	-	-

- keine Testung erfolgt;
negativ negativer GM-Nachweis

4.4.4.1 Statistische Auswertung: T-Test

Es sollte nachgewiesen werden, ob es zu einer signifikanten Korrelation von GM-ELISA und positivem PCR-Test kommt, wenn ein bestimmter GM-Wert eruiert werden kann. Das Ergebnis zeigt eine signifikante Korrelation von GM-ELISA und PCR-Nachweis bei nachgewiesenen GM-Werten von über 0,76. Dies bedeutet, dass es bei einem GM-Wert von über 0,76 signifikant häufig auch zu einem positiven PCR-Nachweis kommt.

4.5 Antimykotische Therapie

4.5.1 Formen der antimykotischen Therapie

Bei 45 Patienten der Studiengruppe kam es zum Einsatz von antimykotischen Therapeutika. 2 Patienten wurden im Rahmen der IDEA-Studie mit Voriconazol versus Placebo behandelt. Welcher der beiden verblindeten Studienteile zum Einsatz kam, ist zum Zeitpunkt der Auswertung dieser Arbeit noch nicht bekannt

Ergebnisse

gegeben, weshalb die Patienten in dieser Auswertung nicht berücksichtigt wurden. Es erhielten 24 Patienten, also 39 % der Studienteilnehmer, eine präemptive und 27 % eine empirische Therapie. Des Weiteren wurden 4 Patienten zunächst empirisch therapiert, wobei 3 dieser Patienten in der Folge präemptiv weiter behandelt (5 %) und bei einem Patienten eine gezielte Therapie begonnen (2 %) wurde. 1 Patient wurde von Beginn an gezielt mit einem Antimykotikum behandelt (2 %) und 15 Patienten erhielten keine antimykotische Therapie (25 %) (Tab. 15).

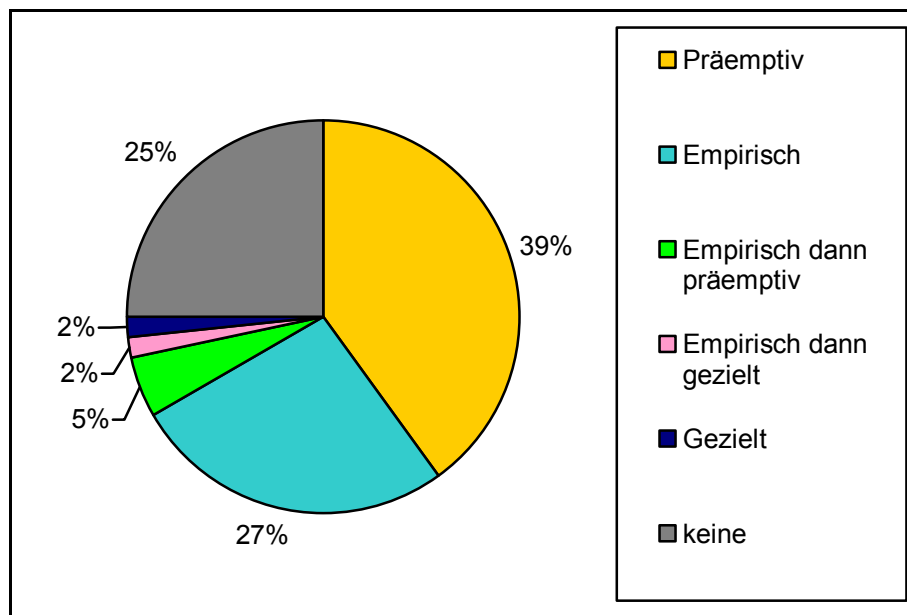


Diagramm 7. Prozentuelle Aufteilung der Indikationen einer antimykotischen Therapie.

Ergebnisse

Tabelle 15. Empirischer, präemptiver oder gezielter Einsatz von Antimykotika, Zeitpunkt der antimykotischen Therapie und korrelierender Befunde.

Nr.	1. positive PCR	Infiltrate	PCR bis Infiltrat, d	Fieber in Aplasie	Therapie-Beginn Antimykotikum	Sonstige Diagnostik	GM > 0,5	Bronchoskopie / BAL	Einsatz des Antimykotikums
1001	-	14.02.05	0	+	18.02.05	-	-	-	präemptiv
1002	24.02.05	-	-	+	-	-	-	-	Studienmedikation
1003	-	25.03.05	7	+	29.03.05	-	-	-	präemptiv
1004	-	25.04.05	24	+	10.04.05	-	-	-	empirisch
1005	-	07.04.05	0	+	12.04.05	-	-	-	präemptiv
1006	01.04.05	04.04.05	-3	+	05.04.05	-	-	-	präemptiv
1007	-	-	-	+	-	-	-	-	-
1008	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1009	-	-	-	+	04.10.05	-	-	-	empirisch
1010	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1011	-	-	-	+	29.06.05	-	-	-	empirisch
1012	01.07.05	15.07.05	-4	-	-	-	-	-	-
1013	-	-	-	+	07.07.05	-	-	-	empirisch
1014	18.07.05	-	-	-	-	-	-	-	-
1015	18.07.05	-	-	-	-	-	-	-	-
1016	14.07.05	18.08.05	27	+	26.08.05	-	-	-	präemptiv
1017	-	26.07.05		+	-	-	-	-	-
1018	-	-	-	-	12.07.05	-	-	-	empirisch
1019	04.08.05	01.08.05	3	+	12.08.05	-	-	-	präemptiv

Ergebnisse

Nr.	1. positive PCR	Infiltrate	PCR bis Infiltrat, d	Fieber in Aplasie	Therapie-Beginn Antimykotikum	Sonstige Diagnostik	GM > 0,5	Bronchoskopie / BAL	Einsatz des Antimykotikums
1020	02.08.05	-	-	-	13.01.06 15.01.05	-	-	-	empirisch
1021	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1022	-	25.08.05	-5	+	19.11.05	-	+	-	präemptiv
1023	15.09.05	11.10.05	20	+	11.10.05	-	-	positiv	präemptiv
1024	-	16.09.05	17	+	19.09.05	-	+	-	präemptiv
1025	05.09.05	16.09.05	3	+	12.09.05	-	-	Abbruch der Untersuchung nach Aspiration	präemptiv
1026	29.09.05	-	-	-	13.01.06	-	-	-	empirisch
1027	06.10.05	03.10.05	-3	+	24.09.05	-	-	-	präemptiv
1028	-	11.10.05	20	+	11.10.05	-	-	positiv	präemptiv
1029	27.09.05	-	-	+	-	negativ	-	-	-
1030	24.10.05	-	-	-	-	negativ	-	-	-
1031	31.10.05	04.11.05	-6	+	04.11.05	-	-	-	präemptiv
1032	10.11.05	09.11.05	-2	+	09.11.05	-	-	-	präemptiv
1033	17.11.05	06.12.05	18	+	-	-	+	positiv	Studienmedikation
1034	17.11.05	-	-	-	-	-	-	-	-
1035	17.11.05	18.11.05	-5	+	22.11.05	positiv	-	-	-
1036	-	11.12.05	-5	-	30.11.05	-	-	-	empirisch
1037	15.12.05	-	-	+	09.12.05	-	-	-	empirisch
1038	-	11.01.06	1	-	13.01.06	-	-	-	präemptiv
1039	-	16.01.06	3	+	16.01.06	negativ	-	-	präemptiv

Ergebnisse

Nr.	1. positive PCR	Infiltrate	PCR bis Infiltrat, d	Fieber in Aplasie	Therapie-Beginn Antimykotikum	Sonstige Diagnostik	GM > 0,5	Bronchoskopie / BAL	Einsatz des Antimykotikums
1040	-	09.01.06	-8	-	16.01.06	-	+	-	präemptiv
1041	-	28.02.06	26	+	01.02.06	negativ	-	-	empirisch
1042	-	16.03.06	27	+	15.02.06	-	-	-	empirisch
1043	-	28.02.06	20	+	01.03.06	-	-	-	präemptiv
1044	-	24.02.06	9	+	16.02.06	negativ	-	-	empirisch
1045	-	-	-	-	22.02.06 13.02.06	-	-	-	empirisch
1046	-	-	-	+	-	negativ	-	-	-
1047	-	24.03.06	1	+	20.03.06 27.03.06	negativ	-	-	empirisch
1048	-	08.03.06	-5	+	02.05.06	negativ	-	-	präemptiv
1049	-	29.03.06	6	-	30.03.06	-	-	-	präemptiv
1050	03.04.06	-	-	+	31.03.06	negativ	-	-	empirisch
1051	-	29.05.06	-5	+	30.05.06	negativ	-	-	präemptiv
1052	-	19.04.06	4	-	19.04.06	-	-	-	präemptiv
1053	20.04.06	10.05.06	21	-	19.04.06 11.05.06	negativ	-	-	empirisch, dann präemptiv
1054	-	12.05.06	24	+	17.04.06	-	-	-	empirisch, dann präemptiv
1055	-	19.04.06	-2	+	20.04.06 01.06.06	-	-	-	präemptiv
1056	-	08.05.06	1	+	16.05.06	negativ	-	-	präemptiv
1057	16.06.06	23.07.06	26	+	27.06.06	-	-	positiv	gezielt
1058	-	04.07.06	4	+	29.06.06 03.07.06	-	-	-	empirisch, dann präemptiv

Ergebnisse

Nr.	1. positive PCR	Infiltrate	PCR bis Infiltrat, d	Fieber in Aplasie	Therapie-Beginn Antimykotikum	Sonstige Diagnostik	GM > 0,5	Bronchoskopie / BAL	Einsatz des Antimykotikums
1059	07.07.06	26.07.06	2	+	15.07.06 27.07.06	negativ	+	negativ	empirisch, dann gezielt
1060	27.07.06	-	-	-	-	-	-	-	-
1061	28.08.06	-	-	+	-	-	-	-	-
1062	-	-	-	+	16.09.06	-	-	-	empirisch

4.5.2 Statistische Auswertung

Im Chi-Quadrat-Test wurde untersucht, ob die Hypothese, dass signifikant seltener eine IPI diagnostiziert werden kann, wenn mit einem Antimykotikum behandelt wurde, bestätigt werden kann. Es wurden Patienten mit Fieber betrachtet, die ein Antimykotikum erhielten. Der ermittelte p-Wert liegt bei 0,180, ein nicht signifikanter Wert und somit kann die Hypothese nicht bestätigt werden. Es macht keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Diagnosestellung einer IPI, ob bei Auftreten von Fieber mit einem Antimykotikum therapiert wurde oder nicht.

4.6 Jahreszeit als möglicher Risikofaktor für die Entwicklung einer invasiven Mykose

4.6.1 Diagnosestellung einer IPI in Korrelation zu den Jahreszeiten

Zur Prüfung einer Abhängigkeit der Inzidenz invasiver Pilzinfektionen vom Jahresablauf, wurde der Anteil der diagnostizierten Infektionen aller Patienten, die in einer Jahreszeit in die Untersuchung eingeschlossen wurden, bestimmt und zueinander in Relation gesetzt. Es wurden 16 Patienten im Frühjahr, definiert als Beginn der Durchführung der PCRs im Zeitraum März bis Mai, untersucht. Bei 6 dieser Patienten wurde eine IPI diagnostiziert, entsprechend 38 %.

Im Sommer, also dem Zeitraum Juni bis August, wurden 22 Patienten in die Studie eingeschlossen, von welchen 23 %, also 5 Patienten, die klinische Diagnose einer IPI hatten. Während der Monate September bis November wurden 12 Patienten untersucht. Bei 11 Patienten wurde eine IPI klinisch diagnostiziert, welches 92 % entspricht. 43 %, 5 Patienten entsprechend, der in den Wintermonaten Dezember bis einschließlich Februar eingeschlossenen 12 Patienten, entwickelten eine IPI (Tab. 18).

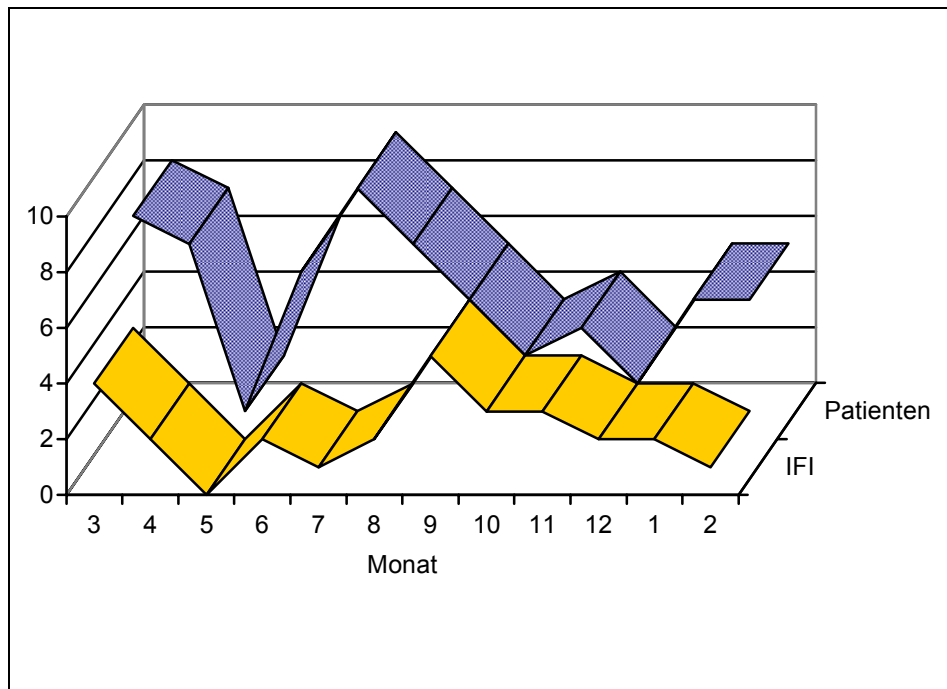


Diagramm 8. Verteilung der Patienten hinsichtlich des Monats, in dem sie in die Studie eingeschlossen wurden, und der IPI, die bei diesen diagnostiziert wurde.

4.6.2 Statistische Auswertung

Als erster Schritt wurde geprüft, ob hinsichtlich der Jahreszeiten Frühling, Sommer, Herbst und Winter ein signifikanter Unterschied in Bezug auf das Risiko des Auftretens einer IPI ermittelt werden kann. Der aus dem Chi-Quadrat-Test resultierende p-Wert von 0,002 macht deutlich, dass es in der vorliegenden Untersuchung einen signifikanten Unterschied der Inzidenz invasiver Pilzinfektionen in ihrer jahreszeitlichen Häufung gibt.

Daher wurden die Jahreszeiten einzeln betrachtet und Wahrscheinlichkeiten einer IPI separat mittels Exaktem Test nach Fisher berechnet. Im Sommer kommt es mit einem p-Wert von 0,048 signifikant seltener zu einer IPI und im Herbst hochsignifikant ($p < 0,001$) häufiger zur Diagnosestellung einer invasiven Mykose.

Ergebnisse

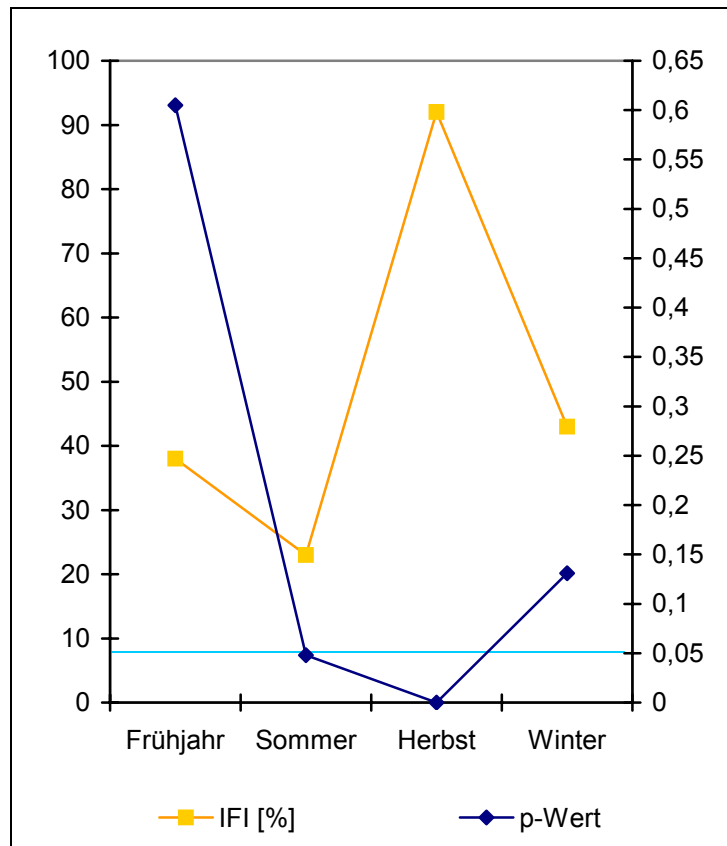


Diagramm 9. Anteil der Patienten mit IPI in Prozent und Signifikanz (p-Wert) pro Jahreszeit.

4.6.3 Literatursuche zur Saisonalität von invasiven Pilzinfektionen

Die strukturierte Literatursuche nach Publikationen zur Saisonalität von invasiven Pilzinfektionen erbrachte mit den gewählten Suchkriterien und Kombinationen (siehe Kap. 3.4.) insgesamt 33 Artikel. Davon wurden 22 Veröffentlichungen ausgeschlossen, da diese andere bakterielle, parasitäre oder virale Erreger behandelten, eine lokale Infektion (Keratitis, Otitis/Auge) oder intestinale Fehlbesiedlung vorlag, nicht humane Infektionen, allergische Erkrankungen oder allergische Symptomatik bei Zystischer Fibrose beschrieben wurden. Von den verbliebenen 11 Artikeln berichten 2 eine Häufung von Mucormykosen im Sommer und Herbst (insgesamt 16 und 19 Fälle) in Beirut und TelAviv (Talmi, Goldschmied-Reouven et al. 2002; Al-Ajam, Bizri et al.

Ergebnisse

2006). Ein russischer Artikel mit Fortschreibung 2 Jahre später berichtet über eine jahreszeitliche Dynamik mit höchsten Konzentrationen von Aspergillussporen in der Luft (31%, 11,9 CFU/m³) und parallel der Detektion des Erregers bei Patienten (34%) im Herbst über einen Zeitraum von 4 Jahren (Petrova, Kliasova et al. 2003; Petrova and Kliasova 2005). Ein Bericht beschreibt einen höheren Anteil an Candidämien bei Neonaten in den Monaten September bis Februar (Edi-Osagie and Emmerson 2005). Bereits 1990 wurde eine jahreszeitliche Abhängigkeit der Inzidenz bei nur 9 Patienten mit cerebraler Aspergillose nach Lebertransplantation beobachtet, da hier alle betroffenen Transplantationen kurz vorher in den Monaten Dezember bis April erfolgte (Boon, Adams et al. 1990).

In Bethesda, USA, hingegen konnte über 54 Wochen keine relevante Änderung weder der Dichte von Aspergillus in der Raumluft noch bei der Rate an IPI in Obduktionen festgestellt werden (Hospenthal, Kwon-Chung et al. 1998).

Weitere Publikationen behandeln nur die Keimkonzentration der Umgebung. So detektierten Anaissie und Mitarbeiter in einer 3jährigen prospektiven Untersuchung der Universität of Arkansas, Little Rock USA, die höchste Pilzkonzentration in der Luft außerhalb der Klinik im Sommer und Herbst (173 bzw. 168 CFU/m³) und die niedrigsten im Winter (46 CFU/m³), ohne Korrelation zur deutlich geringeren Konzentration innerhalb einer luftgefilterten Stammzelltransplantationseinheit (Anaissie, Stratton et al. 2003). Ähnliche Ergebnisse mit hohen Konzentrationen von Schimmelpilzsporen im Herbst und den niedrigsten im Winter werden in Minnesota, USA, beschrieben (Rhame 1991). In Rotterdam, Niederlanden, fand sich in der Luft hingegen eine höhere Konzentration von Pilzkonidien im Sommer und niedrigere im Herbst und Winter (Leenders, van Belkum et al. 1999).

Aufgrund der sehr geringen Datenlage, ist eine weitere Literaturanalyse nach geographischen, klimatischen Kriterien oder eine Metaanalyse nicht möglich.

4.7 Weitere Risikofaktoren für die Entwicklung einer invasiven Mykose

4.7.1 Chemotherapie als möglicher Risikofaktor für die Entwicklung einer invasiven Mykose

Die Betrachtung des Chemotherapie-Protokolls als möglichen Risikofaktor zur Entwicklung einer IPI ergab folgende Ergebnisse:

50 % der Patienten, die nach Schema AIDA therapiert wurden, entwickelten eine IPI. Des Weiteren 40 % der Patienten bei Therapie mit DA. Bei 6 der 10 Patienten, die mit GMALL Induktion I therapiert wurden, was 60 % entspricht, wurde eine IPI diagnostiziert, jedoch lediglich bei 2 der 5 Patienten, die mit dem GMALL-Induktion II therapiert wurden. Bei den Patienten, die mit der GMALL Konsolidierung oder dem MAC-Schema behandelt wurden, konnte keine IPI diagnostiziert werden. Allerdings entwickelten 4 der 5 Patienten, die eine Therapie mit HD-ARA-C hatten, eine IPI. Das Bergmann-Protokoll wurde bei 3 Patienten angewandt, wovon bei einem Patienten eine IPI diagnostiziert wurde. Sowohl der Patient, der eine Therapie mit AML vion, als auch derjenige mit Behandlung nach dem IMA-Protokoll entwickelte im Verlauf eine IPI. Bei zwei der drei Patienten mit individuellem Therapie-Protokoll konnte eine IPI diagnostiziert werden, wobei beide das Therapieschema HD-ARA-C beinhalten (Tab. 16).

Bei der statistischen Auswertung mittels Chi-Quadrat-Test und Exaktem Test nach Fisher konnten keine signifikanten Werte bezüglich eines erhöhten Risikos der Entwicklung einer invasiven Mykose bei Durchführung eines bestimmten Chemotherapie-Protokolls eruiert werden. Kriterium für die Durchführung des Tests war eine Patientenanzahl von mindestens 5 Patienten, die das jeweilige Protokoll als Therapieschema erhielten.

Weiterhin wurde der Zyklus der Therapie betrachtet. In Induktion I (Ind I) befanden sich zum Zeitpunkt der Durchführung der PCRs 41 Patienten, von denen 21 Patienten (51 %) eine IPI entwickelten. Bei Patienten in Induktion II (Ind II) konnte bei lediglich 38 % die klinische Diagnose IPI gestellt werden.

Ergebnisse

17 % der Patienten, die sich im Zyklus der Konsolidierung I (Kons) befanden, entwickelten eine IPI. In Konditionierung I befand sich lediglich ein Patient, bei dem jedoch keine invasive Mykose diagnostiziert wurde.

Wiederum wurde ein Signifikanzniveau mit Hilfe des Exakten Tests nach Fisher überprüft. Trotz Häufung der Entwicklung einer IPI in den frühen Behandlungen, konnte hier kein signifikanter Unterschied bei einem bestimmten Chemotherapie-Zyklus nachgewiesen werden (Tab. 17).

Tabelle 16. Betrachtung des Chemotherapie-Protokolls als Risikofaktor.

Chemotherapie-Protokoll als Risikofaktor				
	IPI			
	ja	nein	n	p-Wert **
AIDA -alle	3	3	6	0,602
DA -alle	10	15	25	0,266
GMALL Ind I	6	4	10	0,287
GMALL Ind II	2	3	5	0,624
GMALL Kons	0	3	3	-
Hd Ara-C*	4	1	5	0,141
Bergmann	1	2	3	-
MAC	0	2	2	-
AML vion	1	0	1	-
IMA	1	0	1	-
individuell	2	1	3	-

n Summe

* alle Regime welche eine Hochdosisgabe von Ara-C enthalten (ARA-C, AIDA plus ARA-C, individuelle Schemata), deshalb Summe der Protokolle > 62

** Chi-Quadrat-Test, einseitig: Signifikanzniveau $\alpha = 5 \% = 0,05$

Tabelle 17. Betrachtung des Chemotherapie-Zykluses als Risikofaktor.

Chemotherapie-Zyklus als Risikofaktor				
	Induktion I	Induktion II	Konsolidierung I	Konditionierung I
n	41	13	6	1
plus IPI	21	5	1	0
p-Wert*	0,075	0,360	0,169	0,565

n Summe

* Chi-Quadrat-Test, zweiseitig: Signifikanzniveau $\alpha = 5 \% = 0,05$

Ergebnisse

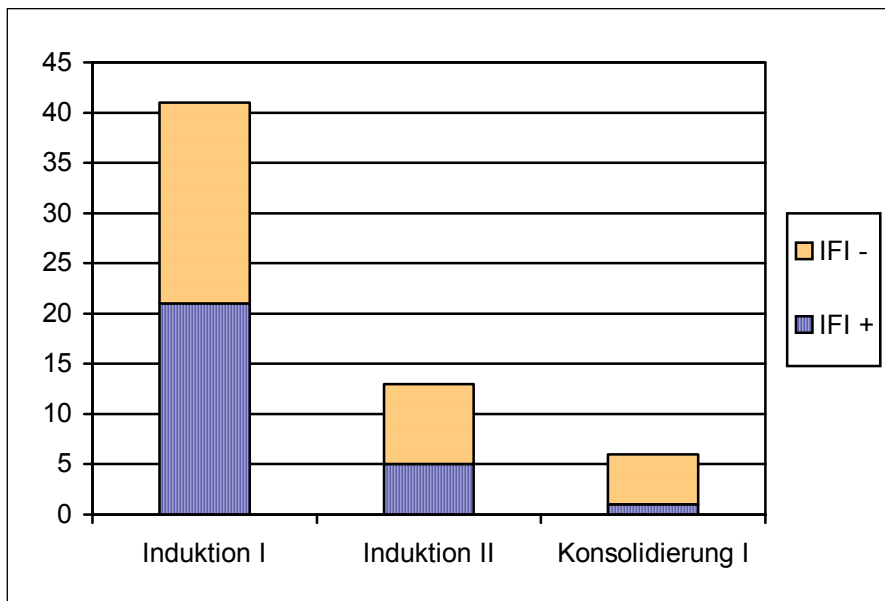


Diagramm 10. Korrelation von Chemotherapie-Zyklus und IPI.

4.7.2 Sonstige Risikofaktoren

Des Weiteren wurden potentielle Risikofaktoren wie der Zentrale Venenverweilkatheter (ZVK), eine parallel verabreichte Antibiotika-Therapie oder eine Stammzelltransplantation (SZT) betrachtet. Einen ZVK hatten alle 62 Patienten, womit man sagen kann, dass 44 % aller Patienten mit ZVK eine IPI entwickeln.

Eine Antibiose erhielten 48 Patienten. Bei 22 dieser 48 Patienten wurde die klinische Diagnose einer IPI gestellt, was 46 % entspricht.

Eine SZT wiederum wurde bei einem Patienten bei Beginn der Untersuchung und bei 28 Patienten zu einem späteren Zeitpunkt der Therapie durchgeführt. Hierbei entwickelten 48 % der Patienten, was 14 Personen entspricht, eine IPI (Tab. 18).

Ergebnisse

Tabelle 18. Risikofaktoren für die Entwicklung einer IPI.

Nr.	Jahreszeit bei Studieneinschluss				Chemotherapie- Protokoll	Zyklus	Risikofaktoren		Klinische Diagnose: IPI
	Frühling	Sommer	Herbst	Winter			ZVK	SZT	
1001	-	-	-	+	DA	Induktion II	+	-	-
1002	-	-	-	+	DA	Induktion I	+	-	+
1003	+	-	-	-	AIDA	Induktion I	+	-	+
1004	+	-	-	-	GMALL	Induktion I	+	+	+
1005	+	-	-	-	AIDA	Induktion I	+	-	-
1006	+	-	-	-	GMALL	Induktion I	+	+	+
1007	+	-	-	-	DA	Induktion I	+	-	-
1008	+	-	-	-	AIDA	Konsolidierung I	+	-	-
1009	-	+	-	-	GMALL	Konsolidierung I	+	+	-
1010	-	+	-	-	GMALL ³	Induktion II	+	+	-
1011	-	+	-	-	DA	Induktion I	+	-	-
1012	-	+	-	-	DA	Induktion I	+	-	+
1013	-	+	-	-	DA	Induktion II	+	-	-
1014	-	+	-	-	GMALL	Konsolidierung I	+	+	-
1015	-	+	-	-	DA	Induktion I	+	+	-
1016	-	+	-	-	DA	Induktion II	+	-	-
1017	-	+	-	-	GMALL	Induktion I	+	+	-
1018	-	+	-	-	Bergmann	Induktion I	+	-	-
1019	-	+	-	-	IMA (> 60)	Induktion I	+	-	-

Ergebnisse

Nr.	Jahreszeit bei Studieneinschluss				Chemotherapie- Protokoll	Zyklus	Risikofaktoren		Klinische Diagnose: IPI
	Frühling	Sommer	Herbst	Winter			ZVK	SZT	
1020	-	+	-	-	DA	Induktion II	+	-	-
1021	-	+	-	-	DA	Induktion II	+	+	+
1022	-	+	-	-	Individuell ¹	Konditionierung I vor allogener SZT	+	+	+
1023	-	+	-	-	GMALL	Induktion I	+	+	-
1024	-	+	-	-	GMALL	Induktion I	+	+	-
1025	-	-	+	-	DA	Induktion I	+	+	+
1026	-	-	+	-	Ara-C	Konsolidierung I	+	-	+
1027	-	-	+	-	AIDA + Ara-C	Induktion I	+	-	+
1028	-	-	+	-	GMALL	Induktion II	+	+	+
1029	-	-	+	-	GMALL	Induktion I	+	+	+
1030	-	-	+	-	GMALL	Induktion II	+	+	+
1031	-	-	+	-	DA	Induktion I	+	-	+
1032	-	-	+	-	AIDA	Konsolidierung I	+	-	+
1033	-	-	+	-	DA	Induktion I	+	+	+
1034	-	-	+	-	GMALL	Induktion I	+	+	+
1035	-	-	+	-	DA	Induktion I	+	-	+
1036	-	-	+	-	Individuell ¹	Induktion I	+	+	-
1037	-	-	-	+	Individuell ¹	Induktion I	+	-	+
1038	-	-	-	+	Bergmann	Induktion II	+	-	+
1039	-	-	-	+	DA	Induktion I	+	+	+
1040	-	-	-	+	DA	Induktion I	+	+	+

Ergebnisse

Nr.	Jahreszeit bei Studieneinschluss				Chemotherapie- Protokoll	Zyklus	Risikofaktoren		Klinische Diagnose: IPI
	Frühling	Sommer	Herbst	Winter			ZVK	SZT	
1041	-	-	-	+	Bergmann	Induktion I	+	+	-
1042	-	-	-	+	DA	Induktion I	+	-	-
1043	-	-	-	+	DA	Induktion I	+	-	-
1044	-	-	-	+	DA	Induktion I	+	+	-
1045	-	-	-	+	GMALL	Konsolidierung I	+	+	-
1046	-	-	-	+	AIDA	Induktion I	+	-	-
1047	+	-	-	-	DA	Induktion I	+	+	-
1048	+	-	-	-	MAC	Induktion I	+	-	-
1049	+	-	-	-	DA	Induktion II	+	+	+
1050	+	-	-	-	GMALL	Induktion I	+	-	-
1051	+	-	-	-	MAC	Induktion II	+	-	-
1052	+	-	-	-	AML Vion	Induktion I	+	-	+
1053	+	-	-	-	DA	Induktion I	+	+	-
1054	+	-	-	-	DA (> 60)	Induktion I	+	-	-
1055	+	-	-	-	AML Vion Abbruch ²	Induktion I	+	+	+
1056	+	-	-	-	DA	Induktion I	+	-	-
1057	-	+	-	-	DA	Induktion I	+	+	+
1058	-	+	-	-	GMALL	Induktion II	+	-	-
1059	-	+	-	-	GMALL	Induktion I	+	-	+
1060	-	+	-	-	GMALL	Induktion I	+	+	-
1061	-	+	-	-	Ara-C	Konsolidierung I	+	-	-

Ergebnisse

Nr.	Jahreszeit bei Studieneinschluss				Chemotherapie- Protokoll	Zyklus	Risikofaktoren		Klinische Diagnose: IPI
	Frühling	Sommer	Herbst	Winter			ZVK	SZT	
1062	-	+	-	-	GMALL	Induktion II	+	-	-
p-Wert*	0,002								
p-Wert**	0,605	0,048	< 0,001	0,131					

Die Chemoprotokolle sind detailliert im Material und Methode Abschnitt 3.2.2. beschrieben.

¹ Individuell: bei Variationen oder Änderungen im Verlauf findet sich keine ausreichende Ähnlichkeit zu einem am Zentrum üblichen Chemoprotokoll bzw. individuelles Konditionierungsprotokoll.

² Abbruch bei Infektion

³ Reduzierte Dosis: MTX 1,5 g/m², Ifosfamid 75%, Cytarabin 75%, Etoposid 75% vom 14.06.2005 - 17.06.2005

4.8 Betrachtung des Zeitraums 14 Tage nach Beginn der Neutropenie

In Tabelle 19 wurde der Zeitraum von 14 Tagen nach Beginn der Aplasie-Phase hinsichtlich des klinischen Verlaufs der Patienten betrachtet. Hierbei wurde das Augenmerk auf die Anzahl der positiven PCRs, des Nachweises von pulmonalen Infiltraten, von Fieber und der klinischen Diagnose einer invasiven Mykose gelegt. Bei insgesamt 26 Patienten erfolgte innerhalb dieser 2 Wochen ein positiver PCR-Nachweis, entsprechend 42 %. Des Weiteren kam es bei 40 % der Patienten zu einem radiologischen Nachweis von Infiltraten der Lunge. 69 % der Patienten entwickelten Fieber und bei 18 % wurde innerhalb von 14 Tagen nach Beginn der Neutropenie die klinische Diagnose einer IPI gestellt, wobei bei 8 dieser Patienten eine positive PCR nachgewiesen werden konnte. Lediglich bei 3 Patienten kam es trotz negativer PCR zu der Diagnosestellung invasive Mykose (Tab. 19).

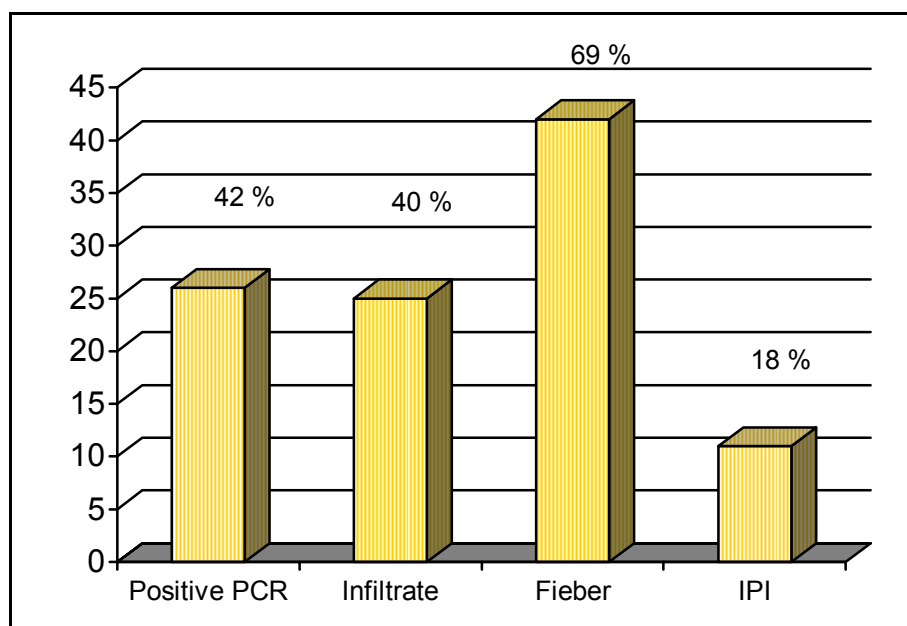


Diagramm 11. Klinischer Verlauf der Patienten im Zeitraum von 14 Tagen nach Beginn der Aplasie-Phase: Summe und Prozentzahl des Nachweises von positiver PCR, pulmonalen Infiltraten, Fieber und der klinischen Diagnose einer IPI.

Ergebnisse

Tabelle 19. Klinische Entwicklung der Patienten hinsichtlich des PCR-Ergebnisses, des Nachweises von pulmonalen Infiltraten, der Entwicklung von Fieber und der klinischen Diagnose einer IPI 14 Tage nach Beginn der Neutropenie.

		14 Tage nach Beginn der Neutropenie			
Nr.	Neutropenie	Positive PCR	Infiltrate	Fieber	Klinische Diagnose: IPI
1001	10.02.05 - 24.02.05	-	+	+	-
1002	27.02.05 - 16.03.05	+	-	+	-
1003	16.03.05 - 18.03.05	-	+	+	+
1004	17.03.05 - 01.04.05	-	-	+	-
1005	29.03.05 - 22.04.05	-	+	+	-
1006	01.04.05 - 07.04.05	+	+	+	+
1007	03.05.05 – 08.05.05	-	-	+	-
1008	11.05.05 - 23.05.05	-	-	-	-
1009	27.06.05 - 29.06.05	-	-	+	-
1010	20.06.05 - 29.06.05	-	-	-	-
1011	20.06.05 - 28.06.05	-	-	+	-
1012	28.06.05 - 19.07.05	+	-	-	-
1013	05.07.05 - 12.07.05	-	-	+	-
1014	18.07.05 - 23.07.05	+	-	-	-
1015	19.07.05 - 27.07.05	+	-	-	-
1016	08.07.05 - 22.07.05	+	-	+	-
1017	13.07.05 - 22.07.05	-	+	+	-
1018	12.07.05 - 17.08.05	-	-	-	-
1019	01.08.05 - 09.08.05	+	+	+	-
1020	01.08.05 - 12.08.05	+	-	-	-
1021	04.08.05 - 24.08.05	-	-	-	-
1022	22.08.05 - 30.08.05	-	+	+	-
1023	03.09.05 - 21.09.05	+	-	+	-
1024	04.09.05 - 24.10.05	-	+	+	-
1025	02.09.05 - 12.09.05	+	+	+	+
1026	23.09.05 - 12.10.05	+	-	-	-
1027	26.09.05 - 06.10.05	+	+	+	-
1028	28.09.05 - 10.10.05	-	+	+	-
1029	27.09.05 - 04.10.05	+	-	+	-
1030	18.10.05 - 07.11.05	+	-	-	-
1031	22.10.05 - 30.10.05	+	+	+	+

Ergebnisse

		14 Tage nach Beginn der Neutropenie			
Nr.	Neutropenie	Positive PCR	Infiltrate	Fieber	Klinische Diagnose: IPI
1032	31.10.05 - 11.11.05	+	+	+	+
1033	22.11.05 - 29.11.05	+	+	+	+
1034	17.11.05 - 26.11.05	+	-	-	-
1035	17.11.05 - 13.12.05	+	+	+	+
1036	25.11.05 - 16.12.05	-	-	-	-
1037	08.12.05 - 19.12.05	+	-	+	+
1038	30.12.05 - 10.01.06	-	+	-	-
1039	06.01.06 - 13.01.06	-	+	+	-
1040	10.01.06 - 17.01.06	-	+	-	-
1041	24.01.06 - 07.02.06	-	-	+	-
1042	02.02.06 - 17.02.06	-	-	+	-
1043	04.02.06 - 18.02.06	-	-	+	-
1044	07.02.06 - 28.02.06	-	-	+	-
1045	16.02.06 - 27.02.06	-	-	-	-
1046	21.02.06 - 26.03.06	-	-	+	-
1047	17.03.06 - 05.04.06	-	+	+	-
1048	07.03.06 - 18.03.06	-	+	+	-
1049	16.03.06 - 23.03.06	-	+	+	+
1050	30.03.06 - 12.04.06	+	-	+	-
1051	06.04.06 - 18.04.06	-	-	+	-
1052	06.04.06 - 15.04.06	-	+	-	-
1053	06.04.06 - 19.04.06	+	-	-	-
1054	12.04.06 - 28.04.06	-	-	+	-
1055	19.04.06 - 30.04.06	-	+	+	+
1056	28.04.06 - 07.05.06	-	+	+	-
1057	09.06.06 - 27.06.06	+	-	+	-
1058	15.06.06 - 30.06.06	-	-	+	-
1059	13.07.06 - 24.07.06	+	+	+	+
1060	07.08.06 - 09.08.06 14.08.06 - 20.08.06	+	-	-	-
1061	30.08.06 - 15.09.06	+	-	+	-
1062	02.09.06 - 17.09.06	-	-	+	-
Summe		26	25	43	11

4.8.1 Statistik: Konfidenzintervalle für die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Infiltraten, Fieber oder IPI

In 25 Fällen der hier untersuchten 62 Therapiezyklen bei akuter Leukose wurde innerhalb von 14 Tagen nach Chemotherapie ein pulmonales Infiltrat in der radiologischen Bildgebung nachgewiesen, dies entspricht 40,3 %. Somit ist eine Rate an Infiltraten bei diesen Patienten zwischen 28,1% und 53,6 % mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % zu erwarten (Konfidenzintervall).

Mit 95 %iger Wahrscheinlichkeit kommt es innerhalb der ersten 14 Tage nach Beginn der Neutropenie-Phase bei 54,7 % bis 79,1 % der Patienten zum Auftreten von Fieber.

Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % wird bei 9,2 % bis 29,5 % der Patienten innerhalb der ersten beiden Wochen nach Beginn der Aplasie-Phase die klinische Diagnose einer IPI gestellt.

4.8.2 Statistik: Korrelation von positivem PCR-Nachweis mit dem Auftreten einer IPI

In der statistischen Auswertung zur Untersuchung einer Korrelation von mindestens einem positiven PCR-Ergebnis und der klinischen Diagnose einer IPI im Zeitraum von 14 Tagen nach Beginn der Aplasie ergibt sich eine Spezifität von 64,7 % bei einer Sensitivität von 72,2 %. Für die prädiktiven Berechnungen ergeben sich ein Wert von 30,8 für den positiv prädiktiven Wert und 91,7 für den negativ prädiktiven Wert (Tab. 20).

Des Weiteren wurde die Signifikanz der Korrelation von positivem PCR-Nachweis mit der Entwicklung einer invasiven Mykose in diesem Zeitraum mittels Exaktem Test nach Fisher untersucht. Die Hypothese, dass es, bei mindestens einem positivem Ergebnis im PCR-Test, signifikant häufiger zur Entwicklung einer IPI innerhalb 2 Wochen nach Beginn der Neutropenie kommt, wurde geprüft und kann mit einem Signifikanzniveau von 0,026 (p-Wert) bestätigt werden!

Ergebnisse

Tabelle 20. Spezifität, Sensitivität und prädiktive Werte der PCR-Untersuchungen im Zeitraum von 14 Tagen nach Beginn der Neutropenie.

	Test			
		PCR +	PCR -	
Infektion	IPI +	8	3	72,7
	IPI -	18	33	64,7
		30,8	91,7	
positiver negativer prädiktiver Wert				

5 Diskussion

5.1 Inzidenz der IPI im Hochrisikokollektiv der akuten Leukämie

In der vorliegenden Untersuchung wurden Patienten mit akuter Leukämie und einer zu erwartenden Neutropenie von mindestens 10 Tage nach Chemotherapie eingeschlossen und bis zu 6 Monaten beobachtet. Dieses Patientenkollektiv hat, wie eine Reihe von Untersuchungen zeigte (Pagano, Caira et al. 2006), ein sehr hohes Risiko für invasive Pilzinfektionen. Es wurden die festgestellten invasiven Mykosen und ebenso deren Risikofaktoren, die erfolgte antimykotische Therapie und der klinische Verlauf der Patienten erfasst. Ein besonderes Augenmerk verdiente dabei die Berücksichtigung der jahreszeitlichen Verteilung von Infektionen, ein Kriterium welches in vorangegangenen Studien kaum beachtet wurde.

Die klinische Diagnose einer IPI erfolgte bei 27 der untersuchten 62 Patienten, mit einer Letalität bei diagnostizierter oder vermuteter Pilzinfektion von 14,5 %. Die Wahrscheinlichkeit der Diagnosestellung einer IPI im Zeitraum von 14 Tagen nach Beginn der Neutropeniephase liegt hierbei bei fast einem Drittel (29,5 %). Relevant zu erwähnen ist, dass in dieser Studie die Diagnose der IPI nicht basierend auf den von der EORTC definierten Kriterien gestellt wurde. Ein wesentliches Ziel dieser Studie war die Prüfung der PCR unter typischen Klinikbedingungen und der hier entsprechenden Diagnostik. Entgegen anderer Untersuchungen erfolgte nicht zeitgleich eine intensivierete Diagnostik von Pilzinfektionen zur Verifizierung der Alternativmethode. Einschränkend muss aber festgestellt werden, dass dies sicherlich zu einer Reduktion der gesicherten Infektionen und einem erhöhten Bereich an wahrscheinlichen oder möglichen Infektionen führt. Es zeigte sich im Verlauf, dass die Untersuchung des Aspergillus-Antigen GM, obwohl zweimal wöchentlich auch in der Klinik empfohlen und in den internen Standards angegeben, nur zu einem vernachlässigend kleinen Anteil erfolgte. Gerade dieser Test stellt jedoch in den neuesten Studien das wichtigste mikrobiologische Kriterium zur Verifizierung

der Diagnose dar. Andererseits wurde die radiologische Untersuchung mit Hilfe der Computertomographie intensiv und frühzeitig genutzt. Ein direkter kultureller oder histologischer Erregernachweis aus sterilem Körpergewebe beziehungsweise sterilen Körperflüssigkeiten konnte in den meisten Fällen nicht gewonnen werden. Durch die dargestellte Diagnostik ist der Anteil nicht gesicherter Infektionen und insbesondere nicht mikrobiologisch gesicherter oder wahrscheinlicher Pilzinfektionen höher als in anderen Studien. Dieses erklärt sicherlich auch die im Vergleich zu anderen Untersuchungen deutlich höhere Inzidenz. Doch sollte nicht eine künstliche Studiensituation sondern die Diagnose und Therapie einer Mykose auf dem Boden klinischer Kriterien, wie sie sicher in vielen deutschen Zentren zu finden ist, erfasst werden.

Als zentraler Punkt der Studie wurden, neben der Inzidenz von invasiven Pilzinfektionen im Hochrisikokollektiv, die PCR-Untersuchungen und deren Verlauf betrachtet. Zusätzlich wurde spezielles Augenmerk auf die Korrelation der Ergebnisse mit Faktoren wie radiologisch nachgewiesenen pulmonalen Infiltraten oder Entwicklung von Fieber und der Vergleich mit anderen mykologischen Nachweisverfahren gelegt.

Es wurde in einer retrospektiven Betrachtung auf individuelle oder auch kollektiv wirksame Risikofaktoren geschlossen, wie auch Wahrscheinlichkeiten für das Auftreten von klinischen Infektionszeichen 14 Tage nach Beginn der neutropenischen Phase der Patienten berechnet, ebenso eine Korrelation von positivem PCR-Nachweis mit dem Auftreten einer invasiven Mykose in diesem Zeitrahmen.

5.2 PCR-Untersuchung im Verlauf

Im Zeitraum dieser Studie wurden je Patient innerhalb einer Woche zwei PCR-Untersuchungen zum molekularbiologischen Nachweis von *Aspergillus spp.* aus Blut durchgeführt. Bereits 1996 wurde die Untersuchung von Blutproben auf *Aspergillus*-DNS mittels PCR vorgeschlagen (Yamakami, Hashimoto et al. 1996). Der Vorteil des Nachweises aus Blut ist zum einen die einfache

Gewinnung und die Möglichkeit der multiplen Untersuchbarkeit in der Sequenz. Außerdem ist Blut relativ unabhängig von der Kolonisierung im Organismus, welches beispielsweise die Untersuchung von Körperflüssigkeiten aus einer BAL einschränkt, da diese eine Kolonisierung der Atemwege voraussetzt. Es sollte gezeigt werden, dass die Panfungus-PCR ein schnelles und zuverlässiges Verfahren zum Nachweis einer Pilzinfektion ist.

Hebart und seine Mitarbeiter beschreiben 2000 die Wertigkeit der PCR-Untersuchung als einen frühen Indikator einer sich entwickelnden IPI bei Patienten nach Stammzelltransplantation. Sie konnten bei 84 Patienten einen medianen Zeitraum von 9 Tagen vom Erregernachweis mittels PCR bis zur Diagnosestellung der Pilzinfektion eruieren, wobei der Zeitraum zwischen 2 und 34 Tagen schwankte. Dieselbe Arbeitsgruppe um Professor Einsele führte im gleichen Jahr bei Patienten in Neutropenie während Therapie einer akuten Leukämie oder nach Knochenmarkstransplantation einmal pro Woche eine PCR zum prospektiven Screening eines möglichen Erregernachweises durch (Hebart, Loffler et al. 2000). Hier konnte durchschnittlich eine positive PCR 5,75 Tage vor klinischer Diagnosestellung erzielt werden. Der Bereich schwankte zwischen 0 und 14 Tagen. Eine Möglichkeit, die starken Schwankungen im Bereich des Nachweiszeitraums zu erklären, ist das lediglich einmal wöchentlich durchgeführte Screening.

In dieser Studie konnte bei 19 der 27 Patienten mit IPI vor Diagnosestellung mindestens eine positive PCR durchgeführt werden und im arithmetischen Mittel ein Zeitraum von 15,3 Tagen von positiver PCR bis hin zur klinischen Diagnose der IPI ermittelt werden. Die Bedeutung für die frühzeitige Diagnostik konnte also nachdrücklich bestätigt werden. Dieses ist besonders wertvoll, da eine frühzeitige Therapieeinleitung prognostisch wichtig ist und bei ausreichender diagnostischer Sicherheit auch eine kausale Therapie ohne Infektionsnachweis als sinnvoll erachtet werden kann. Dies sollte jedoch weiterhin in prospektiven Studien geprüft werden.

In verschiedenen Studien fällt eine nicht minder große Differenz der Werte hinsichtlich der Sensitivität und Spezifität von PCR-Untersuchungen auf (Tab. 7). So lag die Sensitivität des PCR-Nachweises bei Patienten mit IPI bei Einsele und seinen Mitarbeitern 1997 bei 100 % und die Spezifität bei 98 %. Ähnliche erfolgsversprechende Ergebnisse auf Basis einer Two-Step-PCR konnte das Team um Skladny 1999 mit einer Sensitivität von 100 % und einer Spezifität von 89 % erreichen (Skladny, Buchheidt et al. 1999). 2000 wurde in einer prospektiven Studie nach PCR-Screening während 92 aplastischen Episoden eine Sensitivität von 100 % bei einer Spezifität von 65 % ermittelt, was bedeutet, dass jeder Diagnosestellung einer IPI der Nachweis einer positiven PCR voraus ging (Loeffler, Hebart et al. 2000). In Innsbruck konnten Lass-Flörl und ihre Mitarbeiter 2001 wiederum eine Sensitivität des PCR-Nachweises von 75 % und eine Spezifität von 96 % nachweisen. In einer Studie von Donnelly konnte 2006 eine Sensitivität von 92,3 % und eine Spezifität von 94,6 % erreicht werden. Hingegen lag die Sensitivität in 2 publizierten Untersuchungen von 2004 nur bei 64 % bei einer Spezifität von 63,5 % respektive 87 %. Die Inzidenz an IPI in diesen letzteren Untersuchungen war ebenfalls vergleichsweise niedrig (7 % bzw 11 %) (Buchheidt, Hummel et al. 2004; Kawazu, Kanda et al. 2004). Somit differieren die Ergebnisse in Bezug auf die Werte der Sensitivität in einem Bereich von 64 % bis 100 %. Bezüglich der Spezifität konnten Werte zwischen 63,5 % und 98 % erzielt werden.

Bei Verwendung einer Panfungalen PCR mit Erfassung von Candida- und Aspergillus-Spezies und breitem hämatoonkologischen Patientenkollektiv konnten hier in dieser Untersuchung die Ergebnisse vorangegangener PCR-Untersuchungen bestätigt werden. Insgesamt wurden 260 PCRs durchgeführt, welches einem durchschnittlichen Wert von 4,2 PCR-Untersuchungen pro Patient gleich kommt. Davon waren 15 % der PCRs positiv und 84 % negativ. Hinsichtlich des DNS-Nachweises bei diagnostizierter IPI kam es im Median zu einem positiven PCR-Ergebnis je Erkrankung.

Zunächst wurde die Korrelation des positiven PCR-Nachweises mit der Diagnose einer invasiven Mykose im Zeitrahmen von 14 Tagen nach Beginn

der Aplasie betrachtet. Hierbei konnte eine Sensitivität von 72,7 % und Spezifität von 64,7 % eruiert werden.

Um festzustellen, ob der positive PCR-Nachweis in dem eingeschränkten Zeitraum von 14 Tagen ab dem Zeitpunkt des Beginns der Aplasie signifikant häufiger mit einer IPI assoziiert ist, wurde der Exakte Test nach Fisher durchgeführt. Die signifikant höhere Rate an IPIs nach positivem PCR-Nachweis konnte für diesen Zeitraum von 2 Wochen nach Neutropenie-Beginn bestätigt werden (p-Wert: 0,026). Der Wert der PCR zur Diagnostik in Neutropenie wird nochmals verdeutlicht durch den hohen negativ prädiktiven Wert von 91,7. Eine invasive Mykose bei Patienten mit mehrfach negativer PCR ist somit sehr unwahrscheinlich.

Die Resultate für Sensitivität und Spezifität befinden sich im unteren Drittel der zuvor in der Literatur beschriebenen Werte. Dies bedeutet, dass die Rate sowohl der falsch negativen als auch der falsch positiven Ergebnisse in dieser Studie zwar im Bereich vorangegangener Untersuchungen mit dieser Thematik liegen, jedoch höher sind als in der Mehrzahl der Studien, die fast maximale Sensitivität und Spezifität ermitteln konnten. Allerdings sollte berücksichtigt werden, dass die Spezifität und Sensitivität der Studien abhängig vom jeweiligen Patientenkollektiv sind. So konnte die Sensitivität der PCR-Untersuchung von 100 % bei Patienten nach Stammzelltransplantation mit einer relativ hohen Inzidenz an klinisch gesicherten invasiven Mykosen (bis 24 %) oder kleinerem Kollektiv bzw. Untersuchungszeitraum erzielt werden.

Desweiteren wurde die Korrelation des positiven PCR-Nachweises mit der Diagnose einer invasiven Mykose für den gesamten Beobachtungszeitraum von 6 Monaten untersucht. Für die Sensitivität wurde hier ein geringfügig niedrigerer Wert von 59,3 % ermittelt, der einhergeht mit einer Spezifität von 71,4 %. Dies bedeutet, dass es im Vergleich zu den Berechnungen bezüglich des definierten Zeitraumes der ersten 2 Wochen der Datenerhebung zu mehr falsch-negativen Ergebnissen kommt, die Spezifität im Vergleich jedoch zunimmt.

Die Hypothese hinsichtlich des Exakten Tests nach Fisher, dass es bei positiver PCR-Untersuchung signifikant häufiger zur Entwicklung einer IPI als zu keiner Krankheit kommt, konnte bestätigt werden. Somit zeigt sich selbst für diese

langfristige Nachbeobachtung eines kurzen diagnostischen Zeitintervalls eine signifikante positive Korrelation der PCR Diagnostik mit einer invasiven Mykose (p-Wert: 0,015), was für den Wert als Indikator einer Pilzinfektion spricht und ebenso die Thesen von Einsele, Skladny und ihren Mitarbeitern unterstreicht.

Lass-Flöhl et al. diskutierten 2001 die Problematik des oftmals nur einmaligen Aspergillus-DNS-Nachweises durch eine Panfungus-PCR-Untersuchungen und beschreiben keine signifikante Korrelation des Nachweises mit den klinischen Befunden. Hinsichtlich der Fragestellung nach der Aussagekraft eines mehrfachen positiven PCR-Nachweises zeigte sich, dass bei 60 % der 10 Patienten mit mehr als einem positiven Aspergillus-DNS-Nachweis im Verlauf eine invasive Mykose diagnostiziert wurde. Bei Patienten mit min. einfach positiver PCR kam es in 63 % der Fälle zu einer Diagnosestellung (Tab. 13). Eine höhere Aussagekraft des mehrfachen positiven Aspergillus-DNS-Nachweis bei einem Patienten in dieser Studie konnte somit nicht nachgewiesen werden, vielmehr hat bereits der einfache Aspergillus DNA-Nachweis signifikante klinische Bedeutung für die Entwicklung einer IPI im kompletten Zeitraum der Datenerhebung. Trotz weniger hoher Werte von Sensitivität und Spezifität konnte also auch in dieser Studie mit deutlich anderer Begleitdiagnostik und häufig frühzeitiger antimykotischer Therapie eine signifikante Aussagekraft der positiven PCR-Untersuchung für den gesamten folgenden Untersuchungszeitraum von 6 Monaten belegt werden.

Im Vergleich zu den vorangegangenen Publikationen zeigt diese Studie eine Reihe relevanter Unterschiede, welche gerade für die Sensitivität und Spezifität wichtig sind und kritisch beleuchtet werden müssen. So wurde hier nur ein Patient direkt vor Stammzelltransplantation eingeschlossen, aber zusätzlich neben Patienten mit AML auch die ALL berücksichtigt. Letztere hat sicherlich ein erhöhtes Pilzinfektionsrisiko doch ist dieses niedriger als bei den anderen beiden Patientengruppen. Gerade nach allogener SZT ist dieses besonders hoch und so konnten die besten Korrelationen der PCR mit einer Aspergillose auch bei diesen Patienten nachgewiesen werden. Die PCR Untersuchung

erfolgte in dieser Untersuchung nicht bis zum Ende der Aplasie, sondern bis zum Auftreten des ersten Fiebers, also einer vermuteten ersten Infektion. Bei sequentieller, mehrfacher Infektion oder unspezifischem ersten Fieber wurde die Diagnostik vorzeitig, zum Beispiel bei einer ersten bakteriellen Infektion, beendet und konnte eine spätere mykologische Genese nicht mehr detektieren. Im Kontrast zum kurzen Untersuchungszeitraum wurde jedoch die klinische Bedeutung für einen langen Beobachtungszeitraum geprüft und nicht nur die aktuelle Chemotherapie und Aplasiephase, sondern das folgende halbe Jahr betrachtet, um gerade auch die langfristige klinische Bedeutung zu erfassen. Zusätzlich wurden im Gegensatz zu vorangegangenen Untersuchungen nicht nur Aspergillus-spezifische, sondern, nach einer Panfungalen PCR, auch Candida-Spezies-erfassende Primer verwendet. Die Diagnose der IPI wurde dominierend durch die klinischen Kriterien, welche ohne Studienintervention erfolgte, gestellt. Trotz dieser mehrfachen ungünstigen Voraussetzungen bestätigt jedoch die PCR Untersuchung gerade ihre Alltagstauglichkeit und Bedeutung für die tägliche Praxis.

Ein kritischer Punkt ist, dass im Verlauf 84 % aller PCR-Untersuchungen negativ ausfielen. Somit stellt sich die Frage, wie häufig und über welchen Zeitraum die Untersuchungen durchgeführt werden sollten.

In dieser Studie wurden die PCR-Untersuchungen in dem Zeitfenster von 5 Tagen vor und 2 Tagen nach Beginn der zytostatischen Therapie begonnen. Es hat sich herausgestellt, dass bei 11 der Patienten bereits die erste durchgeführte PCR positiv war, was 18 % entspricht. Bezugnehmend auf die Anzahl der jeweils durchgeführten PCR-Untersuchungen war auch die zweite bis sechste durchgeführte PCR in über 10 % der Fälle positiv. Bei den anschließenden Untersuchungen, also nach der dritten Woche des Beobachtungszeitraumes, konnte keine Aspergillus-DNA mehr nachgewiesen werden (Tab. 12). Somit kann man hinterfragen, ob eine Fortführung der PCR Diagnostik über mehr als 3 Wochen sinnvoll ist. Andererseits ist gerade bei Patienten mit AML und prolongierter Neutropenie eine hohe Infektionsgefahr und damit auch eine entsprechende diagnostische Wertigkeit anzunehmen.

Diese spezifische Situation kann jedoch nicht anhand der vorliegenden Daten beurteilt werden.

5.2.1 Korrelation der PCR-Untersuchung und IPI mit anderen mykologischen Nachweisverfahren

2006 wurde von Donnelly eine Korrelationshöhe von 76,7 % zwischen GM-ELISA-Nachweis und PCR-Untersuchung beschrieben. In dieser Studie wurden bei 30 Patienten begleitend zur und 14 Tage nach Beendigung der PCR-Diagnostik GM-Untersuchungen gemacht, wobei lediglich bei 5 Patienten ein positives GM-Ergebnis (festgelegt als Wert von $GM > 0,5$) erzielt werden konnte. Von diesen 5 Patienten hatten 40 % ebenfalls eine positive PCR, was deutlich unter dem Wert von Donnelly liegt. Um eine Korrelation von GM-ELISA und positivem PCR-Nachweis zu überprüfen, wurde ein T-Test durchgeführt. Bei GM-Werten von über 0,76 kommt es signifikant häufig auch zum Nachweis einer positiven PCR. Nun stellt sich die Frage nach der Korrelation von positivem GM-Nachweis und der Entwicklung einer IPI. Weisser und seine Mitarbeiter konnten 2005 keine diagnostische Wertigkeit des GM-Tests zur früheren Diagnosestellung beziehungsweise zur Indikationsstellung einer antimykotischen Therapie eruieren. In dieser Studie konnte hinsichtlich einer Korrelation eine Rate von 80 % nachgewiesen werden. Der Nachweis eines positiven GM-Nachweises und einer positiven PCR bei Diagnosestellung einer invasiven Mykose wiederum gelang lediglich in zwei Fällen. Kritisch betrachtet werden muss jedoch die geringe Patientenzahl, wodurch die Untersuchung als eher wenig repräsentativ anzusehen ist.

Blutkulturen wie auch Kulturen von Rachenabstrichen und Sputum, welche durchgehend negativ ausfielen, hatten in der Studie keine Wertigkeit. Dies unterstreicht die 2001 getroffene Aussage von (Girmenia, Nucci et al. 2001), der bei 107 diagnostizierten Aspergillus-Infektionen in nur 10 Fällen eine positive Blutkultur nachweisen konnte, wobei die positiven Kulturen durchgehend erst nach Diagnosestellung durch andere Nachweisverfahren

detektiert werden konnten und somit das Wachstum und der Nachweis durch die Kultur keinen Vorteil bezüglich des Krankheitsverlaufes erbrachte.

5.3 Antimykotika

Es bestehen in der Hämatonkologie noch immer kontroverse Ansichten bezüglich des optimalen Zeitpunktes zum Einsatz von Antimykotika. In mehreren Studien konnte eine empirische antimykotische Therapie bei persistierendem Fieber in Neutropenie etabliert werden (Walsh, Finberg et al. 1999; Walsh, Pappas et al. 2002; Walsh, Teppler et al. 2004). Der mögliche Vorteil einer früheren adäquaten empirischen antimykotischen Therapie, in diesem Fall mit Voriconazol, bei neutropenischen Hochrisikopatienten mit Fieber und positiver pilzspezifischer PCR wird aktuell in der multizentrischen, randomisierten und doppelverblindeten IDEA-Studie untersucht. Die Ergebnisse stehen aus.

In der Literatur wird zwischen empirischer und präemptiver Therapie in den seltensten Fällen unterschieden. Somit wird die präemptive Therapie, welche das häufigste Therapieschema in dieser Studie darstellt, im Folgenden in die empirische Therapiestrategie eingegliedert. In dieser Studie können keine Aussagen über Vor- oder Nachteile einer prophylaktischen Therapie getroffen werden, da bei keinem Patienten in dieser Indikation ein Antimykotikum appliziert wurde. Ausgeschlossen in dieser Auswertung wurden 2 Patienten, welche eine verblindete empirische oder frühempirische antimykotische Behandlung erhielten, wobei noch keine Aufschlüsselung hinsichtlich Verum- oder Placebo-Medikament erfolgte. Es erhielten 70 % der Patienten mit persistierendem Fieber ohne Erregernachweis eine antimykotische Therapie. Daher wurde untersucht, wie häufig es zur Diagnosestellung einer IPI bei bereits begonnener Therapie mit einem Antimykotikum kommt. Die Hypothese, dass es signifikant seltener zur klinischen Diagnosestellung einer IPI bei Therapie mit einem Antimykotikum aufgrund einer Verdachtsdiagnose kommt, konnte nicht bestätigt werden. Man kann schlussfolgern, dass es häufig trotz bereits begonnener Therapie zur Entwicklung des vollen klinischen Bildes einer

IPI kommt. Aus einer anderen Perspektive wiederum könnte man behaupten, dass sich in den meisten Fällen der Verdacht einer IPI, auf den hin mit der antimykotischen Therapie begonnen wurde, bestätigt hat und somit der frühzeitige Therapiebeginn im Nachhinein begründet wurde. Es kann jedoch in der vorliegenden unverblindeten Untersuchung nicht ausgeschlossen werden, dass die Gabe eines Antimykotikums die Etablierung einer Pilzdiagnose direkt beeinflusste.

Es wurde nicht differenziert, welches Antimykotikum eingesetzt wurde.

5.4 Risikofaktoren für die Entwicklung einer IPI

Fätkenheuer et al. konnten 2003 beobachten, dass es bei Faktoren wie Zentralvenöser Katheter (ZVK), Diabetes mellitus und Breitspektrumantibiose zu einem erhöhten Erkrankungsrisiko kommt. Bei Velasco et al. (2006) konnten bei 74% der Patienten mit nachgewiesener Candidämie ein zentraler Venenverweilkatheter als Fokus für die Infektion nachgewiesen werden. Das Stadium nach allogener Knochenmarktransplantation beschreibt das Team um Fätkenheuer als Hochrisikozeit für die Entstehung einer IPI. Einsele und Hebart differenzierten bereits 2002, dass insbesondere die Zeit nach der neutropenischen Phase, in der eine funktionelle Immunität ausgebildet wird, als risikoreiche Zeit für die Entstehung einer Aspergillose gilt, wohingegen Infektionen während der Neutropenie eher Ursprung bei Candida Spezies finden. Im Laufe dieser Untersuchung konnte bei 48 % der Patienten, welche im Beobachtungszeitraum eine allogene Stammzelltransplantation erhielten, auch eine Mykose diagnostiziert werden. Bei Patienten ohne Stammzelltransplantation kam es in 28 % der Fälle zu einer Diagnosestellung. Ein erhöhtes Risiko für die Erkrankung nach Knochenmarktransplantation wird deutlich.

Die Wertigkeit einer diabetischen Erkrankung kann nicht nachgewiesen werden, da lediglich einer der untersuchten Patienten an Diabetes mellitus litt. Einen ZVK hatten wiederum alle Patienten, wobei es in 44 % der Fälle zur Diagnosestellung einer IPI kam.

5.4.1 Risikofaktor Chemotherapie-Zyklus

Bezüglich des erhöhten Risikos einer Krankheitsentstehung abhängig vom Chemotherapie-Zyklus wurden Induktion I, Induktion II, Konsolidierung I und Konditionierung I betrachtet. Der Zyklus Konsolidierung II war Ausschlusskriterium in der Studie. Im Vergleich der verschiedenen Zyklen im Chi-Quadrat-Test und Exakten Test nach Fisher konnten keine signifikanten Unterschiede in Hinblick auf die Häufigkeit von invasiven Mykosen eruiert werden. Mit 51 % IPI für Patienten, welche zum Therapiezyklus Induktion I eingeschlossen wurden, 38 % bei Beginn mit Induktion II und 17 % bei Konsolidierung zeigt sich jedoch ein deutlicher Trend zur frühen bzw. ersten Chemotherapie. Dieses kann zum Einen bedingt sein durch eine höhere Anzahl folgender Therapien und Aplasiephasen im Sinne eines Summationseffektes, zum Anderen mehrten sich Hinweise, dass das Infektionsrisiko zu Beginn der zytostatischen Therapie am höchsten ist. So konnte O. Cornely in seiner Studie zur Prophylaxe bei Hochrisikopatienten mit akuter Leukämie (Cornely, Maertens et al. 2007) zeigen, dass die deutlichste Reduktion einer Pilzinfektion in den ersten 20 Tagen nach Einleitung einer zytostatischen Therapie erzielt wird. Eine mögliche Ursache hierfür ist eine Kolonisation mit Aspergillen im Bereich der oberen Atemwege, insbesondere der Nasennebenhöhlen, welche sich bereits im Rahmen der ersten Aplasie zur manifesten Erkrankung entwickelt.

5.4.2 Risikofaktor Chemotherapie-Protokoll und Grunderkrankung

Maschmeyer und Ruhnke beschrieben 2004 ein erhöhtes Risiko für die Krankheitsentstehung einer invasiven Mykose bei Gabe des Chemotherapeutikums Cytosinarabinosid. Die erfassten 5 Patienten mit hochdosierter Gabe von ARA-C reichen nicht aus, um einen Unterschied zu belegen, doch findet sich bereits hier, mit 80%, ein Trend zu häufigeren Infektionen. Auch im Vergleich anderer Chemotherapie-Protokolle zeigte sich kein signifikanter Unterschied für die Häufigkeit einer invasiven Mykose.

In der SEIFEM Arbeit konnte retrospektiv eine reduzierte Rate an klinisch diagnostizierten Pilzinfektionen bei Patienten mit ALL im Vergleich zur AML dargestellt werden. Hier war die Rate an invasiven Pilzinfektionen bei Patienten mit AML (12 %) fast doppelt so hoch verglichen mit Patienten mit ALL (6,8 %) (Pagano, Caira et al. 2006). Wenn man die Grunderkrankung der Patienten in dieser Studie berücksichtigt, so konnte bei 19 der 39 Patienten mit AML und bei 8 der 19 Patienten mit ALL eine IPI diagnostiziert werden. Dies entspricht 49 % bzw 42 % der Patienten. Der Unterschied zwischen den akuten Leukämien ist somit deutlich geringer als in der großen italienischen Kohortenanalyse, bei welcher die Inzidenz für die AML annähernd doppelt so hoch war wie für die ALL. Dies unterstreicht die Bedeutung, welche invasive Pilzinfektionen auch bei der lymphatischen Form haben.

Die akute myeloische Leukämie der FAB-Klassifikation M3 wird mit einer spezifischen eigenen Chemotherapie behandelt. Insbesondere durch die Ausreifung der Blasten nach Gabe von Alltransretinolsäure, ist dieser Subtyp durch eine kürzere Neutropeniedauer, eine reduzierte Infektionsrate und deutlich bessere Ansprech- und Gesamtüberlebensrate gekennzeichnet. Hierzu passend entwickelte keiner der 4 Patienten mit AML M3 eine IPI.

5.4.3 Risikofaktor Jahreszeit

In Hinblick auf Risikofaktoren für die Entstehung einer IPI wurde bisher kaum Augenmerk auf eine jahreszeitliche Abhängigkeit beziehungsweise Häufung der Erkrankung gelegt. In Russland wurden 2003 und 2005 Daten in Hinblick auf erhöhte Konzentrationen von Aspergillussporen in der Luft im Herbst und der parallelen Detektion des Erregers bei Patienten überprüft (Petrova, Kliasova et al. 2003; Petrova and Kliasova 2005). Auch im Libanon und in Israel gab es 2002 und 2006 Untersuchungen hinsichtlich einer Häufung von invasiven Mykosen im Sommer und Herbst (Talmi, Goldschmied-Reouven et al. 2002; Al-Ajam, Bizri et al. 2006). Letztere bezog sich jedoch lediglich auf Mukormykosen. Weiterhin sind die Daten aus Vorderasien und Russland, aufgrund anderer klimatischer Bedingungen, auf unsere Breitengrade schlecht übertragbar. Eine

westliche Studie gab es zum Einen hinsichtlich zerebraler Aspergillosen nach Lebertransplantation (Boon, Adams et al. 1990). Des Weiteren wurden Auffälligkeiten bezüglich erhöhter Konzentrationen von Pilzsporen in der Raumluft untersucht. Untersuchungen in unterschiedlichen US amerikanischen Regionen zeigten höchste Werte im Herbst oder keinen Unterschied (Rhame 1991; Anaissie, Stratton et al. 2003). Dies sind jedoch die einzigen Patientenbezogenen Untersuchungen in Hinblick auf invasive Mykosen bei Erwachsenen. In den Niederlanden wurde eine Studie veröffentlicht, welche sich zwar mit der Konzentration von Aspergillussporen in der Luft befasste, jedoch keine Korrelation bezüglich einer invasiven Mykose überprüfte (Leenders, van Belkum et al. 1999).

Bei der hier vorgelegten Studie handelt es sich somit um die erste Untersuchung in Mitteleuropa zur möglichen Korrelation der Jahreszeiten mit einer invasiven Pilzinfektion.

Die Patienten, die im Sommer in die Studie eingeschlossen wurden, entwickelten zu 27 % eine IPI. Dies ist signifikant weniger als in den anderen Monaten. Somit kommt es zu einer signifikant niedrigeren Krankheitshäufigkeit in den Monaten Juni, Juli und August.

Erfolgte ein Studieneinschluss im Herbst, wurde bei 92% eine invasive Mykose diagnostiziert. Dies ist ein hochsignifikant höherer Wert im Vergleich zu den anderen drei Jahreszeiten. In den Monaten September, Oktober und November hat ein Patient mit Akuter Leukämie und Neutropenie ein hochsignifikant gesteigertes Risiko für die Entstehung einer IPI.

Es stellt sich die Frage nach den Ursachen und Konsequenzen dieser Ergebnisse. Aufgrund des relativ kurzen Untersuchungszeitraums können lokale und temporäre Einflussfaktoren nicht sicher ausgeschlossen werden. Die Bedeutung klimatischer Bedingungen für die Entstehung von Pilzinfektionen liegt jedoch nahe. Heiße und trockene Monate bedeuten ein niedriges Risiko für eine mykologische Erkrankung. Warme und feuchte Monate jedoch bergen eine hohe Inzidenz für invasive Pilzerkrankungen. Verrottung von Laub im Herbst wurde bereits von anderer Seite als eine Ursache der erhöhten Dichte an Pilzsporen diskutiert (Rhame 1991). Als Folge dieser neuen Daten erscheinen

Diskussion

eine engmaschige Diagnostik und möglicherweise eine prophylaktische antimykotische Therapie besonders in den Herbstmonaten sinnvoll. Dieses, wie auch die Fortführung der Untersuchung über weitere Jahre, um eine Bestätigung der Daten hinsichtlich der jahreszeitlichen Trends zu erhalten, sollte Inhalt weiterer Studien sein.

6 Zusammenfassung

In der Hämatonkologie nimmt die Inzidenz von Pilzinfektionen in den letzten 2 Jahrzehnten deutlich zu, wobei eine frühzeitige Diagnostik und adäquate Therapie hinsichtlich einer hohen Komplikationsrate wichtig ist. Umso deutlicher wird die Notwendigkeit einer Intensivierung und Verbesserung der Diagnostik, beispielsweise durch PCR. Es soll die Wertigkeit der routinemässigen PCR-Untersuchung als frühen Indikator einer Erkrankung in einer nicht durch Studiendiagnostik verfälschten klinischen Routine untersucht werden. Ein weiterer zentraler Punkt dieser Studie ist, ein Risikoprofil für neutropenische Patienten mit Chemotherapie bei Akuter Leukämie zu erstellen. Grundlegende Zusammenhänge zwischen individuellen wie auch generellen Risikofaktoren und Diagnosestellung einer IPI sollen durch die Untersuchung von 62 Patienten geklärt werden.

Nur bei einem kleinen Teil der Patienten konnte hier ein Pilz als Erreger bei Infektion isoliert werden, wodurch überwiegend eine empirische oder präemptive Therapie erfolgte.

Die PCR-Untersuchung ist ein schnelles und sensitives Verfahren zum Nachweis von Pilz-DNS. Es werden für die Sensitivität einer PCR, hinsichtlich der Diagnosestellung einer IPI im Zeitraum der Datenerhebung, ein Wert von 59,3 % und eine Spezifität von 71,4 % ermittelt. Betrachtet man den Zeitrahmen von 14 Tagen nach Beginn der Aplasie, so kann eine höhere Sensitivität von 72,7 % eruiert werden, wie auch ein hoher negativ prädiktiver Wert von 91,7. Eine invasive Mykose bei Patienten mit mehrfach negativem PCR-Nachweis kann somit als unwahrscheinlich angesehen werden. Die Daten liegen im Bereich vorangegangener Studien. Bei positivem PCR-Nachweis kommt es sowohl im gesamten Zeitraum der Datenerhebung wie auch bei einem definierten Zeitrahmen von 14 Tagen nach Beginn der Neutropenie signifikant häufig zu einer invasiven Mykose, wobei eine mehrmals positive Panfungus-PCR keine höhere Aussagekraft hat als der lediglich einmalig positive Erregernachweis. Bei Betrachtung des Zeitfensters, in dem das Monitoring durch Panfungus-PCR als sinnvoll anzusehen ist, zeigt sich eine hohe

Zusammenfassung

Aussagekraft der Untersuchung in den ersten drei Wochen nach Beginn der Neutropenie. Somit können die Ergebnisse vorangegangener Studien auch in dieser erweiterten Patientengruppe und für den längeren Beobachtungszeitraum bestätigt werden. Der PCR-Nachweis kann als früher Indikator für eine beginnende Mykose beschrieben werden und der diagnostische Einsatz einer PCR-Untersuchung bei Patienten in Neutropenie erscheint sinnvoll.

Besonderes Augenmerk wird in der Studie auch auf das Erstellen eines Risikoprofils für die Patienten hinsichtlich einer invasiven Mykose gelegt. In Hinblick auf die Chemotherapie-Protokolle und -Zyklen wird ein Trend zur frühen Chemotherapie, insbesondere Induktion I, wie auch zu Therapieschemata mit ARA-C deutlich.

Bei der Überprüfung der epidemiologischen Verteilung für Deutschland kann erstmals eine signifikant unterschiedliche jahreszeitliche Verteilung an IPI nachgewiesen werden. So kommt es im Sommer signifikant seltener zu einer invasiven Mykose. Hingegen ist das Risiko der Krankheitsentstehung in den Monaten September, Oktober und November hochsignifikant gesteigert. Dieses sollte bei zukünftigen epidemiologischen Untersuchungen aber eventuell auch zur engmaschigen Diagnostik und Indikation prophylaktischer und empirischer Therapien berücksichtigt werden.

7 Literaturverzeichnis

- Al-Ajam, M. R., A. R. Bizri, et al. (2006). "Mucormycosis in the Eastern Mediterranean: a seasonal disease." Epidemiol Infect **134**(2): 341-6.
- Anaissie, E. J., S. L. Stratton, et al. (2003). "Pathogenic molds (including *Aspergillus* species) in hospital water distribution systems: a 3-year prospective study and clinical implications for patients with hematologic malignancies." Blood **101**(7): 2542-6.
- Andriole, V. T. (1993). "Infections with *Aspergillus* species." Clin Infect Dis **17 Suppl 2**: S481-6.
- Ascioglu, S., J. H. Rex, et al. (2002). "Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus." Clin Infect Dis **34**(1): 7-14.
- Bodey, G. P. (1993). "What's new in fungal infection in leukemic patients." Leuk Lymphoma **11 Suppl 2**: 127-35.
- Bodey, G. P. and S. Vartivarian (1989). "Aspergillosis." Eur J Clin Microbiol Infect Dis **8**(5): 413-37.
- Bohme, A., M. Ruhnke, et al. (2009). "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)." Ann Hematol **88**(2): 97-110.
- Boogaerts, M., D. J. Winston, et al. (2001). "Intravenous and oral itraconazole versus intravenous amphotericin B deoxycholate as empirical antifungal therapy for persistent fever in neutropenic patients with cancer who are receiving broad-spectrum antibacterial therapy. A randomized, controlled trial." Ann Intern Med **135**(6): 412-22.
- Boon, A. P., D. H. Adams, et al. (1990). "Cerebral aspergillosis in liver transplantation." J Clin Pathol **43**(2): 114-8.
- Buchheidt, D. and M. Hummel (2005). "Aspergillus polymerase chain reaction (PCR) diagnosis." Med Mycol **43 Suppl 1**: S139-45.
- Buchheidt, D., M. Hummel, et al. (2004). "Prospective clinical evaluation of a LightCycler-mediated polymerase chain reaction assay, a nested-PCR assay and a galactomannan enzyme-linked immunosorbent assay for detection of invasive aspergillosis in neutropenic cancer patients and haematological stem cell transplant recipients." Br J Haematol **125**(2): 196-202.
- Chaffin, W. L., J. L. Lopez-Ribot, et al. (1998). "Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*: identification, function, and expression." Microbiol Mol Biol Rev **62**(1): 130-80.
- Cornely, O. A., J. Maertens, et al. (2007). "Posaconazole vs. fluconazole or itraconazole prophylaxis in patients with neutropenia." N Engl J Med **356**(4): 348-59.
- Cornely, O. A., A. J. Ullmann, et al. (2003). "Evidence-based assessment of primary antifungal prophylaxis in patients with hematologic malignancies." Blood **101**(9): 3365-72.

- De Pauw, B., T. J. Walsh, et al. (2008). "Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group." Clin Infect Dis **46**(12): 1813-21.
- Denning, D. W. (1998). "Invasive aspergillosis." Clin Infect Dis **26**(4): 781-803; quiz 804-5.
- Donnelly, J. P. (2006). "Polymerase chain reaction for diagnosing invasive aspergillosis: getting closer but still a ways to go." Clin Infect Dis **42**(4): 487-9.
- Edi-Osagie, N. E. and A. J. Emmerson (2005). "Seasonality of invasive Candida infection in neonates." Acta Paediatr **94**(1): 72-4.
- Einsele, H. and H. Hebart (2002). "Cellular immunity to viral and fungal antigens after stem cell transplantation." Curr Opin Hematol **9**(6): 485-9.
- Einsele, H., H. Hebart, et al. (2000). "Risk factors for treatment failures in patients receiving PCR-based preemptive therapy for CMV infection." Bone Marrow Transplant **25**(7): 757-63.
- Einsele, H., H. Hebart, et al. (1997). "Detection and identification of fungal pathogens in blood by using molecular probes." J Clin Microbiol **35**(6): 1353-60.
- Gerson, S. L., G. H. Talbot, et al. (1985). "Invasive pulmonary aspergillosis in adult acute leukemia: clinical clues to its diagnosis." J Clin Oncol **3**(8): 1109-16.
- Girmania, C., M. Nucci, et al. (2001). "Clinical significance of Aspergillus fungaemia in patients with haematological malignancies and invasive aspergillosis." Br J Haematol **114**(1): 93-8.
- Greene, R. E., H. T. Schlamm, et al. (2007). "Imaging findings in acute invasive pulmonary aspergillosis: clinical significance of the halo sign." Clin Infect Dis **44**(3): 373-9.
- Groll, A. H., P. M. Shah, et al. (1996). "Trends in the postmortem epidemiology of invasive fungal infections at a university hospital." J Infect **33**(1): 23-32.
- Hebart, H., J. Löffler, et al. (2000). "Prospective screening by a panfungal polymerase chain reaction assay in patients at risk for fungal infections: implications for the management of febrile neutropenia." Br J Haematol **111**(2): 635-40.
- Heussel, C. P., H. U. Kauczor, et al. (1999). "Pneumonia in febrile neutropenic patients and in bone marrow and blood stem-cell transplant recipients: use of high-resolution computed tomography." J Clin Oncol **17**(3): 796-805.
- Higuchi, R., G. Dollinger, et al. (1992). "Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences." Biotechnology (N Y) **10**(4): 413-7.
- Holland, P. M., R. D. Abramson, et al. (1991). "Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'----3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase." Proc Natl Acad Sci U S A **88**(16): 7276-80.

- Hope, W. W. and D. W. Denning (2004). "Invasive aspergillosis: current and future challenges in diagnosis and therapy." Clin Microbiol Infect **10**(1): 2-4.
- Hospenthal, D. R., K. J. Kwon-Chung, et al. (1998). "Concentrations of airborne *Aspergillus* compared to the incidence of invasive aspergillosis: lack of correlation." Med Mycol **36**(3): 165-8.
- Hunder, G. G. (1998). "The use and misuse of classification and diagnostic criteria for complex diseases." Ann Intern Med **129**(5): 417-8.
- Jarvis, W. R. (1995). "Epidemiology of nosocomial fungal infections, with emphasis on *Candida* species." Clin Infect Dis **20**(6): 1526-30.
- Kappe, R., C. Fauser, et al. (1996). "Universal fungus-specific primer systems and group-specific hybridization oligonucleotides for 18S rDNA." Mycoses **39**(1-2): 25-30.
- Kappe, R., C. N. Okeke, et al. (1998). "Molecular probes for the detection of pathogenic fungi in the presence of human tissue." J Med Microbiol **47**(9): 811-20.
- Karthaus, M. and O. A. Cornely (2003). "Ceftriaxone in febrile neutropenia." J Chemother **15**(3): 211-9.
- Kawazu, M., Y. Kanda, et al. (2004). "Prospective comparison of the diagnostic potential of real-time PCR, double-sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for galactomannan, and a (1-->3)-beta-D-glucan test in weekly screening for invasive aspergillosis in patients with hematological disorders." J Clin Microbiol **42**(6): 2733-41.
- Kern, W. V., J. Beyer, et al. (2000). "[Prophylaxis of infection in neutropenic patients. Guidelines of the Working Party on Infections in Hematology and Oncology]." Dtsch Med Wochenschr **125**(51-52): 1582-8.
- Koch, S., F. M. Hohne, et al. (2004). "Incidence of systemic mycoses in autopsy material." Mycoses **47**(1-2): 40-6.
- Kubista, M., J. M. Andrade, et al. (2006). "The real-time polymerase chain reaction." Mol Aspects Med **27**(2-3): 95-125.
- Lass-Florl, C., J. Aigner, et al. (2001). "Screening for *Aspergillus* spp. using polymerase chain reaction of whole blood samples from patients with haematological malignancies." Br J Haematol **113**(1): 180-4.
- Leenders, A. C., A. van Belkum, et al. (1999). "Density and molecular epidemiology of *Aspergillus* in air and relationship to outbreaks of *Aspergillus* infection." J Clin Microbiol **37**(6): 1752-7.
- Lin, S. J., J. Schranz, et al. (2001). "Aspergillosis case-fatality rate: systematic review of the literature." Clin Infect Dis **32**(3): 358-66.
- Link, H. (2003). "[Antimicrobial prophylaxis and therapy in neutropenia]." Mycoses **46 Suppl 2**: 21-32.
- Lipke, P. N. and R. Ovalle (1998). "Cell wall architecture in yeast: new structure and new challenges." J Bacteriol **180**(15): 3735-40.
- Loeffler, J., H. Hebart, et al. (1999). "Contaminations occurring in fungal PCR assays." J Clin Microbiol **37**(4): 1200-2.
- Loeffler, J., H. Hebart, et al. (2000). "Comparison between plasma and whole blood specimens for detection of *Aspergillus* DNA by PCR." J Clin Microbiol **38**(10): 3830-3.

- Loeffler, J., H. Hebart, et al. (2001). "Nucleic acid sequence-based amplification of *Aspergillus* RNA in blood samples." J Clin Microbiol **39**(4): 1626-9.
- Machetti, M., M. J. Majabo, et al. (2006). "Kinetics of galactomannan in surgical patients receiving perioperative piperacillin/tazobactam prophylaxis." J Antimicrob Chemother **58**(4): 806-10.
- Mackay, J. (2007). "Introduction to kinetic (real-time) PCR." Methods Mol Biol **353**: 167-76.
- Maertens, J., D. Deeren, et al. (2006). "Preemptive antifungal therapy: still a way to go." Curr Opin Infect Dis **19**(6): 551-6.
- Maertens, J., K. Theunissen, et al. (2005). "Galactomannan and computed tomography-based preemptive antifungal therapy in neutropenic patients at high risk for invasive fungal infection: a prospective feasibility study." Clin Infect Dis **41**(9): 1242-50.
- Maertens, J., J. Verhaegen, et al. (2001). "Screening for circulating galactomannan as a noninvasive diagnostic tool for invasive aspergillosis in prolonged neutropenic patients and stem cell transplantation recipients: a prospective validation." Blood **97**(6): 1604-10.
- Maertens, J., M. Vrebo, et al. (2001). "Assessing risk factors for systemic fungal infections." Eur J Cancer Care (Engl) **10**(1): 56-62.
- Margulis, L., M. F. Dolan, et al. (2000). "The chimeric eukaryote: origin of the nucleus from the karyomastigont in amitochondriate protists." Proc Natl Acad Sci U S A **97**(13): 6954-9.
- Marr, K. A., R. A. Carter, et al. (2002). "Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients." Clin Infect Dis **34**(7): 909-17.
- Marr, K. A., C. N. Lyons, et al. (2001). "Inducible azole resistance associated with a heterogeneous phenotype in *Candida albicans*." Antimicrob Agents Chemother **45**(1): 52-9.
- Martin, G. S., D. M. Mannino, et al. (2003). "The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000." N Engl J Med **348**(16): 1546-54.
- Maschmeyer, G. and M. Ruhnke (2004). "Update on antifungal treatment of invasive *Candida* and *Aspergillus* infections." Mycoses **47**(7): 263-76.
- Melchers, W. J., P. E. Verweij, et al. (1994). "General primer-mediated PCR for detection of *Aspergillus* species." J Clin Microbiol **32**(7): 1710-7.
- Mullis, K. B. and F. A. Faloona (1987). "Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction." Methods Enzymol **155**: 335-50.
- Ozkalemkas, F., T. Ozcelik, et al. (2007). "Treatment with piperacillin-tazobactam and *Aspergillus* galactomannan test results for patients with hematological malignancies." Eur J Intern Med **18**(1): 79.
- Pagano, L., M. Caira, et al. (2006). "The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM-2004 study." Haematologica **91**(8): 1068-75.
- Pannuti, C., R. Gingrich, et al. (1992). "Nosocomial pneumonia in patients having bone marrow transplant. Attributable mortality and risk factors." Cancer **69**(11): 2653-62.
- Petri, M. G., J. Konig, et al. (1997). "Epidemiology of invasive mycosis in ICU patients: a prospective multicenter study in 435 non-neutropenic patients.

- Paul-Ehrlich Society for Chemotherapy, Divisions of Mycology and Pneumonia Research." Intensive Care Med **23**(3): 317-25.
- Petrova, N. A. and G. A. Kliasova (2005). "[Possible sources of aspergilla infection in a hematological hospital]." Ter Arkh **77**(7): 71-7.
- Petrova, N. A., G. A. Kliasova, et al. (2003). "[Prevalence of mycelial fungi in hematological hospital]." Ter Arkh **75**(7): 58-63.
- Pizzo, P. A., K. J. Robichaud, et al. (1982). "Empiric antibiotic and antifungal therapy for cancer patients with prolonged fever and granulocytopenia." Am J Med **72**(1): 101-11.
- Prentice, H. G., I. M. Hann, et al. (1997). "A randomized comparison of liposomal versus conventional amphotericin B for the treatment of pyrexia of unknown origin in neutropenic patients." Br J Haematol **98**(3): 711-8.
- Rhame, F. S. (1991). "Prevention of nosocomial aspergillosis." J Hosp Infect **18 Suppl A**: 466-72.
- Ruhnke, M. (2004). "Mucosal and systemic fungal infections in patients with AIDS: prophylaxis and treatment." Drugs **64**(11): 1163-80.
- Ruhnke, M., A. Bohme, et al. (2003). "Diagnosis of invasive fungal infections in hematology and oncology--guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO)." Ann Hematol **82 Suppl 2**: S141-8.
- Saiki, R. K., S. Scharf, et al. (1985). "Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia." Science **230**(4732): 1350-4.
- Samonis, G. and D. Bafaloukos (1992). "Fungal infections in cancer patients: an escalating problem." In Vivo **6**(2): 183-93.
- Sanguinetti, M., B. Posteraro, et al. (2003). "Comparison of real-time PCR, conventional PCR, and galactomannan antigen detection by enzyme-linked immunosorbent assay using bronchoalveolar lavage fluid samples from hematology patients for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis." J Clin Microbiol **41**(8): 3922-5.
- Seyfarth, H. J., P. Nenoff, et al. (2001). "Aspergillus detection in bronchoscopically acquired material. Significance and interpretation." Mycoses **44**(9-10): 356-60.
- Singh, N., A. Obman, et al. (2004). "Reactivity of platelia Aspergillus galactomannan antigen with piperacillin-tazobactam: clinical implications based on achievable concentrations in serum." Antimicrob Agents Chemother **48**(6): 1989-92.
- Skladny, H., D. Buchheidt, et al. (1999). "Specific detection of Aspergillus species in blood and bronchoalveolar lavage samples of immunocompromised patients by two-step PCR." J Clin Microbiol **37**(12): 3865-71.
- Smits, G. J., J. C. Kapteyn, et al. (1999). "Cell wall dynamics in yeast." Curr Opin Microbiol **2**(4): 348-52.
- Talmi, Y., A. Goldschmied-Reouven, et al. (2002). "Rhino-orbital and rhino-orbito-cerebral mucormycosis." Otolaryngol Head Neck Surg **127**: 22-31.
- Tietz, H. J., H. Martin, et al. (2001). "Incidence of endomycoses in autopsy material." Mycoses **44**(11-12): 450-4.

- Tortorano, A. M., C. Kibbler, et al. (2006). "Candidaemia in Europe: epidemiology and resistance." Int J Antimicrob Agents **27**(5): 359-66.
- Vartivarian, S. E., E. J. Anaissie, et al. (1993). "Emerging fungal pathogens in immunocompromised patients: classification, diagnosis, and management." Clin Infect Dis **17 Suppl 2**: S487-91.
- Velasco, E., R. Byington, et al. (2006). "Comparative study of clinical characteristics of neutropenic and non-neutropenic adult cancer patients with bloodstream infections." Eur J Clin Microbiol Infect Dis **25**(1): 1-7.
- Walsh, T. J., R. W. Finberg, et al. (1999). "Liposomal amphotericin B for empirical therapy in patients with persistent fever and neutropenia. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group." N Engl J Med **340**(10): 764-71.
- Walsh, T. J., A. Groll, et al. (2004). "Infections due to emerging and uncommon medically important fungal pathogens." Clin Microbiol Infect **10 Suppl 1**: 48-66.
- Walsh, T. J., J. Hiemenz, et al. (1994). "Evolving risk factors for invasive fungal infections--all neutropenic patients are not the same." Clin Infect Dis **18**(5): 793-8.
- Walsh, T. J., P. Pappas, et al. (2002). "Voriconazole compared with liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with neutropenia and persistent fever." N Engl J Med **346**(4): 225-34.
- Walsh, T. J., H. Teppler, et al. (2004). "Caspofungin versus liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with persistent fever and neutropenia." N Engl J Med **351**(14): 1391-402.
- Warnock, D. W. (2007). "Trends in the epidemiology of invasive fungal infections." Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi **48**(1): 1-12.
- Weisser, M., C. Rausch, et al. (2005). "Galactomannan does not precede major signs on a pulmonary computerized tomographic scan suggestive of invasive aspergillosis in patients with hematological malignancies." Clin Infect Dis **41**(8): 1143-9.
- White, P. L., C. J. Linton, et al. (2006). "The evolution and evaluation of a whole blood polymerase chain reaction assay for the detection of invasive aspergillosis in hematology patients in a routine clinical setting." Clin Infect Dis **42**(4): 479-86.
- Yamakami, Y., A. Hashimoto, et al. (1996). "PCR detection of DNA specific for *Aspergillus* species in serum of patients with invasive aspergillosis." J Clin Microbiol **34**(10): 2464-8.

8 Anhang

8.1 Erfassungstabelle

Patienten-Nr.	Patient	Geb. Datum	Alter	Einschluß IDEA-Studie	Durchführung PCRs, d	Dauer Screening,d	Station	positive PCR
1. positive PCR	Randomisierung IDEA-Studie	Ausschluss IDEA-Studie	Therapie von	bis	D28	Erkrankung / PD	Infiltrate	Zeitabstand Screeningbeginn - Infiltrate, d
Radiol. Bildgebung	Charaterisierung der Infiltrate	Diagnostik	Galactomannan	Bronchoergebnis	Chemo-Protokoll	Therapieverlauf	Zyklusnummer	Vorherige Therapie
Neutropenie	Fieber in Aplasie	Risikofaktoren	Besonderes	Antimykotika	Zeitraum	Outcome	Grund	Invasive Mykose

8.2 Statistik-Tabellen

8.2.1 Zeitraum von der ersten positiven PCR bis zur Diagnose der IPI

Arithmetisches Mittel:

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
Tage	12	1	37	18,75	13,4646
Gültige Werte (Listenweise)	12				

8.2.2 Korrelation von positivem PCR-Ergebnis und IPI

	Fälle					
	Gültig		Fehlend		Gesamt	
	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent
PCR * IPI	62	100,00%	0	0,00%	62	100,00%

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	5,895 ^a	1	0,015		
Kontinuitätskorrektur ^b	4,702	1	0,03		
Likelihood-Quotient	5,953	1	0,015		
Exakter Test nach Fisher				0,02	0,015
Zusammenhang linear-mit-linear	5,8	1	0,016		
Anzahl der gültigen Fälle	62				

a. 0 Zellen (,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 11,32.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

			IPI		
			ja	nein	Gesamt
PCR	ja	Anzahl	16	10	26
		Erwartete Anzahl	11,3	14,7	26
		% von PCR	61,50%	38,50%	100,00%
		% von IPI	59,30%	28,60%	41,90%
	nein	Anzahl	11	25	36
		Erwartete Anzahl	15,7	20,3	36
		% von PCR	30,60%	69,40%	100,00%
		% von IPI	40,70%	71,40%	58,10%
	Gesamt	Anzahl	27	35	62
		Erwartete Anzahl	27	35	62
		% von PCR	43,50%	56,50%	100,00%
		% von IPI	100,00%	100,00%	100,00%

8.2.3 Korrelation von PCR-Ergebnis mit dem Nachweis von GM

		T-Test für die Mittelwertgleichheit							
		T	df	Signifikanz (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz		
		Untere	Obere	Untere	Obere	Untere	Obere	Untere	
GM	Varianzen sind gleich	0,268	22	0,791	0,133333	0,497794	-	0,899029	1,165695
	Varianzen sind nicht gleich	0,31	21,837	0,76	0,133333	0,430373	-	0,759594	1,02626

8.2.4 Zeitraum des radiologischen Nachweises von pulmonalen Infiltraten

Arithmetisches Mittel:

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
Tage	24	1	27	13,0833	10,08622
Gültige Werte (Listenweise)	24				

8.2.5 Korrelation einer Therapie mit einem Antimykotikum und einer IPI

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	1,493(b)	1	0,222		
Kontinuitätskorrektur(a)	0,84	1	0,359		
Likelihood-Quotient	1,552	1	0,213		
Exakter Test nach Fisher				0,36	0,18
Zusammenhang linear-mit-linear	1,467	1	0,226		
Anzahl der gültigen Fälle	56				

8.2.6 Risikofaktoren für die Entwicklung einer invasiven Mykose

8.2.6.1 Risikofaktor Jahreszeiten allgemein

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	15,352 a	3	0,002
Likelihood-Quotient	16,823	3	0,001
Zusammenhang linear-mit-linear	0,096	1	0,757
Anzahl der gültigen Fälle	62		

a 0 Zellen haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 5,23.

8.2.6.2 Risikofaktor Frühling

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	,000 b	1	0,985		
Kontinuitätskorrektur a	0	1	1		
Likelihood-Quotient	0	1	0,985		
Exakter Test nach Fisher				1	0,605
Zusammenhang linear-mit-linear	0	1	0,985		
Anzahl der gültigen Fälle	62				

a Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

b 0 Zellen (,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 6,97.

8.2.6.3 Risikofaktor Sommer

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	3,674(b)	1	0,055		
Kontinuitätskorrektur(a)	2,72	1	0,099		
Likelihood-Quotient	3,781	1	0,052		
Exakter Test nach Fisher				0,066	0,048
Zusammenhang linear-mit-linear	3,615	1	0,057		
Anzahl der gültigen Fälle	62				

a Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

b 0 Zellen haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 9,58.

8.2.6.4 Risikofaktor Herbst

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	14,014(b)	1	0		
Kontinuitätskorrektur(a)	11,692	1	0,001		
Likelihood-Quotient	15,344	1	0		
Exakter Test nach Fisher				0	0
Zusammenhang linear-mit-linear	13,788	1	0		
Anzahl der gültigen Fälle	62				

a Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

b 0 Zellen haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 5,23.

8.2.6.5 Risikofaktor Winter

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	2,082(b)	1	0,149		
Kontinuitätskorrektur(a)	1,252	1	0,263		
Likelihood-Quotient	2,184	1	0,139		
Exakter Test nach Fisher				0,202	0,131
Zusammenhang linear-mit-linear	2,049	1	0,152		
Anzahl der gültigen Fälle	62				

a Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

b 0 Zellen haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 5,23.

8.2.6.6 Risikofaktor Chemotherapie-Protokoll

Chemo * IPI_ Kreuztabelle					
			IPI		
			nein	ja	Gesamt
Chemo	AIDA	Anzahl	3	1	4
		Erwartete Anzahl	2,3	1,7	4
		% von Chemo	75,00%	25,00%	100,00%
	ALL	Anzahl	3	0	3
		Erwartete Anzahl	1,7	1,3	3
		% von Chemo	100,00%	0,00%	100,00%
	AML 2003	Anzahl	7	4	11
		Erwartete Anzahl	6,2	4,8	11
		% von Chemo	63,60%	36,40%	100,00%
	AML eld.	Anzahl	2	0	2
		Erwartete Anzahl	1,1	0,9	2
		% von Chemo	100,00%	0,00%	100,00%
	ARA-C	Anzahl	0	4	4
		Erwartete Anzahl	2,3	1,7	4
		% von Chemo	0,00%	100,00%	100,00%
	C-ALL Rez.	Anzahl	1	0	1
		Erwartete Anzahl	0,6	0,4	1
		% von Chemo	100,00%	0,00%	100,00%
	Bergmann	Anzahl	2	1	3
		Erwartete Anzahl	1,7	1,3	3
		% von Chemo	66,70%	33,30%	100,00%
	DA	Anzahl	8	9	17
		Erwartete Anzahl	9,6	7,4	17
		% von Chemo	47,10%	52,90%	100,00%

Chemo * IPI_ Kreuztabelle					
			IPI		
			nein	ja	Gesamt
Chemo	GMALL	Anzahl	7	8	15
		Erwartete Anzahl	8,5	6,5	15
		% von Chemo	46,70%	53,30%	100,00%
	MAC	Anzahl	2	0	2
		Erwartete Anzahl	1,1	0,9	2
		% von Chemo	100,00%	0,00%	100,00%
	Gesamt	Anzahl	35	27	62
		Erwartete Anzahl	35	27	62
		% von Chemo	56,50%	43,50%	100,00%

8.2.6.7 Risikofaktor Chemotherapie-Zyklus

	Fälle					
	Gültig		Fehlend		Gesamt	
	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent
IPI * Induktion_I	62	100,00%	0	0,00%	62	100,00%
IPI * Induktion_II	62	100,00%	0	0,00%	62	100,00%
IPI * Konsolidierung_I	62	100,00%	0	0,00%	62	100,00%
IPI * Konditionierung_I	62	100,00%	0	0,00%	62	100,00%

Risikofaktor Zyklus Induktion I

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	2,898(b)	1	0,089		
Kontinuitätskorrektur(a)	2,049	1	0,152		
Likelihood-Quotient	2,974	1	0,085		
Exakter Test nach Fisher				0,11	0,075
Zusammenhang linear-mit-linear	2,851	1	0,091		
Anzahl der gültigen Fälle	62				

a Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

b 0 Zellen (,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 9,15.

Risikofaktor Zyklus Induktion II

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	,451(b)	1	0,502		
Kontinuitätskorrektur(a)	0,134	1	0,715		
Likelihood-Quotient	0,458	1	0,499		
Exakter Test nach Fisher				0,555	0,36
Zusammenhang linear-mit-linear	0,444	1	0,505		
Anzahl der gültigen Fälle	62				

a Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

b 0 Zellen haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 6,10.

Risikofaktor Zyklus Konsolidierung I

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	1,953(b)	1	0,162		
Kontinuitätskorrektur(a)	0,93	1	0,335		
Likelihood-Quotient	2,162	1	0,141		
Exakter Test nach Fisher				0,22	0,169
Zusammenhang linear-mit-linear	1,921	1	0,166		
Anzahl der gültigen Fälle	62				

a Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

b 2 Zellen (50,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 2,61.

Risikofaktor Zyklus Konditionierung I

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	,784(b)	1	0,376		
Kontinuitätskorrektur(a)	0	1	1		
Likelihood-Quotient	1,156	1	0,282		
Exakter Test nach Fisher				1	0,565
Zusammenhang linear-mit-linear	0,771	1	0,38		
Anzahl der gültigen Fälle	62				

a Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

b 2 Zellen (50,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist ,44.

8.2.7 Konfidenzintervalle für Wahrscheinlichkeiten im Zeitraum von 14 Tagen nach Beginn der Aphasie

Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Infiltraten

Anzahl der speziellen Ereignisse	25			
Anzahl aller Ereignisse	62			
Wahrscheinlichkeit : $\alpha/2$	95%	0,025		
exakte untere Grenze des KI	28,10%		appr. untere Grenze des KI	28,00%
Anteil / Ratio	40,30%			
exakte obere Grenze des KI	53,60%		appr. obere Grenze des KI	53,60%

Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Fieber

Anzahl der speziellen Ereignisse	42			
Anzahl aller Ereignisse	62			
Wahrscheinlichkeit : $\alpha/2$	95%	0,025		
exakte untere Grenze des KI	54,70%		appr. untere Grenze des KI	54,70%
Anteil / Ratio	67,70%			
exakte obere Grenze des KI	79,10%		appr. obere Grenze des KI	79,10%

Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer IPI

Anzahl der speziellen Ereignisse	11			
Anzahl aller Ereignisse	62			
Wahrscheinlichkeit : $\alpha/2$	95%	0,025		
exakte untere Grenze des KI	9,20%		appr. untere Grenze des KI	9,20%
Anteil / Ratio	17,70%			
exakte obere Grenze des KI	29,50%		appr. obere Grenze des KI	29,50%

8.2.8 Korrelation von positivem PCR-Ergebnis und IPI in einem Zeitraum von 14 Tagen nach Beginn der Aplasie

Chi-Quadrat-Tests					
	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	5,207 ^a	1	0,022		
Kontinuitätskorrektur ^b	3,783	1	0,052		
Likelihood-Quotient	5,216	1	0,022		
Exakter Test nach Fisher				0,04	0,026
Zusammenhang linear-mit-linear	5,123	1	0,024		
Anzahl der gültigen Fälle	62				

a. 1 Zellen (25,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 4,61.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

8.3 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AGIHO	Arbeitsgemeinschaft Infektionen in der Hämatologie und Onkologie
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
ALAT	Alanin-Aminotransferase
ALL	Akute lymphatische Leukämie
AML	Akute myeloische Leukämie
ASAT	Aspartat-Amino-Transferase
BAL	Bronchioalveoläre Lavage
Bsp.	Beispiel
bzgl.	Bezüglich
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CFU	Colony-Forming-Units
CT	Computertomographie
DGHO	Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DRG	Diagnose Related Groups
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
EORTC	European Organisation for Research and Treatment of Cancer
FAB-Klassifikation	French-American-British
FUO	fever of unknown origin
GM	Galactomannan
h	Stunde / Stunden
HD	Hochdosis
IA	Invasive Aspergillose
ICI	Invasive Candida Infektion

IDEA	Immediate vs. Deferred Empirical Antifungal treatment
IPI	invasive Pilzinfektion
kg	Kilogramm
kR	komplette Remission
mg	Milligramm
MSG	Mycoses Study Group
n	Summe
NHL	Non-Hodgkin Lymphom
n. i.	nicht interpretierbar
PCR	Polymerase Chain Reaction
spp.	Spezies
SZT	Stammzelltransplantation
v.a.	vor allem
z. B.	zum Beispiel

Danksagung

Für die freundliche Bereitstellung des Themas sowie die Möglichkeit, Einrichtungen und Ressourcen der Medizinischen Klinik jederzeit nutzen zu dürfen, möchte ich mich bei Herrn Professor Dr. Hermann Einsele bedanken.

Ein großes Dankeschön gilt Herrn Dr. Werner Heinz, der meine Studie stets mit viel Enthusiasmus förderte. Darüber hinaus bedanke ich mich für die zahlreichen konstruktiven Diskussionen und Anregungen, die Korrekturen sämtlicher Manuskripte und natürlich alle Bemühungen und Zeit für die Betreuung meiner Arbeit. Deine Unterstützung war aufgrund Deiner immensen Erfahrung immer eine unverzichtbare Hilfe für mich. Vielen Dank für die Zusammenarbeit.

Mein Dank gilt weiterhin Frau Anna Kuhn, die hilfsbereit und stets geduldig durch wertvolle Ratschläge und Ideen zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Herrn PD Dr. Jürgen Löffler und seinem Laborteam danke ich für die freundliche Kooperation und die fachliche Unterstützung.

Meine liebe Familie: Euch widme ich diese Arbeit in großer Dankbarkeit und Liebe.

Für inspirierende Gespräche und ehrliche Freundschaft bedanke ich mich bei Stephan Killermann, Marie-Christine Seit und Stefan Scheuermann.

Curriculum Vitae

Persönliche Daten

Name Sabine Verena Scheuermann
Geburtsdatum 15. Juni 1981, Schwäbisch Hall
Familienstand ledig

Schulische Ausbildung und Studium

07/1988 – 06/1992 • Grundschule GHRS Bühlertann
07/1992 – 06/2001 • Gymnasium bei St. Michael, Schwäbisch Hall
10/2001 – 03/2002 • Studium der Kunst und Mediengestaltung,
University Of Applied Sciences, Schwäbisch Hall
04/2002 – 11/2008 • Studium der Humanmedizin,
Julius Maximilians-Universität, Würzburg
03/2004 *Physikum*
08/2007 – 07/2008 • Praktisches Jahr: Chirurgie, Schwerpunktspital des
rechten Zürichseeufers, Männedorf, Schweiz
Innere Medizin & Gynäkologie und Geburtshilfe,
Missionsärztliches Klinikum Würzburg
10/2008 – 11/2008 *Staatsexamen Humanmedizin*

Veröffentlichungen

Postervorstellung ECCMID 2007:

“Comparison of plasma trough concentrations of voriconazole in patients with or without comedication of ranitidine or pantoprazole”

W. Heinz, C. Kloeser, A. Helle, C. Guhl, S. Scheuermann, H. Einsele, H. Klinker

Abstract und Postervorstellung DMYK 2008:

“Higher incidence of invasive fungal infections (IFI) in the months September to November in patients suffering from acute leukaemia, a single center evaluation”

S. Scheuermann, A. Helle, H. Klinker, H. Einsele, W. J. Heinz