

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Medizinischen
Fakultät Charité der Humboldt-Universität zu Berlin

“Systemische Mykosen bei Patienten nach Knochenmarktransplantation und unter Intensivtherapie”

Zur Erlangung des akademischen Grades doctor medicinae (Dr. med.)
vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité der Humboldt-Universität zu Berlin

Kerstin Hahlweg, geb. Hofmann

Prof. Dr. Joachim Dudenhausen

Gutachter: 1. Fr. Prof. Dr. med. I. Tausch
2. Prof. Dr. med. H.- J. Tietz
3. Priv. Doz. Dr. med. habil. W. Schultze

eingereicht: Mai 2002

Datum der Promotion: 09.10.2002

Zusammenfassung

Invasive Pilzinfektionen stellen ein großes Problem bei Transplantatempfängern dar. *Candida* und *Aspergillus* spp. sind die häufigsten pathogenen Pilze bei Patienten nach KMT und Organtransplantationen. Diese Infektionen sind durch eine hohe Morbidität und Mortalität gekennzeichnet, insbesondere bei Patienten mit persistierender Granulozytopenie und damit jene nach allogener KMT. Die Mortalitätsrate kann durch eine Frühdiagnostik und durch Gabe einer geeigneten Therapie wesentlich reduziert werden. Die Symptome und Zeichen einer systemischen Pilzinfektion sind bei Transplantatempfängern untypisch. Die serologische Diagnostik von invasiven Candidosen oder Aspergillosen stellt eine zusätzliche Möglichkeit zur klinischen Untersuchung und anderen diagnostischen Maßnahmen dar. Diese Untersuchung umfasste 252 Patienten (17 Patienten nach KMT) und 235 Patienten von Intensivtherapiestationen (z. B. nach Organtransplantationen) in den Jahren 1991-1994 von der Humboldt-Universität zu Berlin (Charite). Die Patientenserum wurden routinemäßig auf das Vorkommen einer *Candida*- und *Aspergillus* Antigenämie geprüft. Zum Nachweis von zirkulierendem Galactomannan wurde ein Latex Agglutinationstest- Pastorex *Candida* und *Aspergillus*, Sanofi Diagnostics Pasteur, genutzt. Invasive *Aspergillus*-Pilzinfektionen wurden bei acht von 235 Patienten unter Intensivtherapie gefunden. Alle acht Patienten mit invasiver Aspergillose hatten einen positiven *Aspergillus*-Antigen-Test. Der direkte Nachweis von Antigenbestandteilen von *Candida* oder *Aspergillus* spp. erwies sich als vielversprechender frühdiagnostischer Test bei kritisch kranken und immunsupprimierten Patienten.

Abstract

Invasive fungal infections are a major problem in transplant recipients. *Candida* and *Aspergillus* spp. are the most common fungal pathogens causing infection in patients undergoing BMT or solid organ transplantation. These infections are characterised by high morbidity and mortality, especially in patients with persistent granulocytopenia and in those receiving allogeneic bone marrow transplant. The mortality rate can be substantially reduced if an early diagnosis is made and the proper therapy given. The symptoms and signs of deep fungal infection in the transplant recipients are unreliable and often absent regardless of the type of organism or the site of infection. Laboratory tests are essential to establish the diagnosis of invasive fungal infection. The serological diagnosis of invasive candidosis or aspergillosis is at best an adjunct to clinical evaluation and other diagnostic procedures. The study comprises 252 patients undergoing allogeneic bone marrow transplantation (17 patients) and 235 patients from intensive care units (for instance after solid organ transplantation) in the years 1991-1994 at the Humboldt-University of Berlin (Charité). The serum of the patients were routinely screened for the occurrence of *Candida* and *Aspergillus* antigenemia (circulating galactomannan was detected using a latex agglutination test-Pastorex *Candida* and *Aspergillus*, Sanofi Diagnostics Pasteur). Invasive *Aspergillus* fungal infection was found in eight of the 235 intensive care patients. All these eight patients with invasive aspergillosis had an positive *Aspergillus* antigen test. The direct detection of antigenic components of *Aspergillus* and *Candida* spp. in serum appears promising as an early diagnostic test in critical ill and immunocompromised patients.

Schlagwörter:

Invasive Mykosen, *Aspergillus*, *Candida*, Knochenmarktansplantation

Keywords:

Invasive mycoses, Aspergillosis, Candidosis, Bone marrow transplantation

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|-------|---|----|
| 1 | EINLEITUNG | 5 |
| 1.1 | Problematik systemischer Mykosen bei Patienten mit Knochenmarktransplantation | 5 |
| 1.2 | Ziel der vorliegenden Arbeit | 8 |
| 2 | MATERIAL UND METHODEN | 9 |
| 2.1 | Patientenkollektiv | 9 |
| 2.2 | Labortechnische Methoden | 11 |
| 2.2.1 | Kulturelle Verfahren..... | 11 |
| 2.2.2 | Serologische Verfahren..... | 12 |
| 2.3 | Methodenmanagement | 14 |
| 3 | ERGEBNISSE | 15 |
| 3.1 | Allgemeines | 15 |
| 3.2 | Kulturelle bakterielle Befunde bei KMT-Patienten | 16 |
| 3.2.1 | Materialverteilung..... | 16 |
| 3.2.2 | Speziesverteilung..... | 17 |
| 3.2.3 | Prophylaxe und Therapie bakterieller Infektionen..... | 18 |
| 3.3 | Kulturelle mykologische Befunde bei KMT-Patienten | 19 |
| 3.3.1 | Materialverteilung..... | 19 |
| 3.3.2 | Speziesverteilung..... | 22 |
| 3.4 | Serologische Ergebnisse | 24 |
| 3.4.1 | Candida Antikörper- und -Antigenbefunde..... | 24 |
| 3.4.2 | Aspergillus Antikörper- und -Antigenbefunde..... | 25 |
| 3.4.3 | KMT- und ITS-Patienten im Vergleich..... | 26 |
| 3.5 | Prophylaxe und Therapie mykotischer Infektionen | 32 |
| 3.6 | Korrelation zu Ausmaß der Neutropenie und klinischer Symptomatik | 35 |
| 3.6.1 | Der Einfluß des Ausmaßes der Neutropenie auf den Krankheitsverlauf..... | 35 |
| 3.6.2 | Fieber als Leitsymptom bei Patienten nach der KMT..... | 37 |
| 3.7 | Infektiöse Komplikationen | 39 |
| 3.8 | Letalität nach einer KMT | 41 |
| 3.9 | Aspergillusinfektionen und Kasuistiken | 47 |
| 4 | DISKUSSION | 51 |
| 5 | ZUSAMMENFASSUNG | 70 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-------|---|
| Ag | Antigen |
| Ak | Antikörper |
| ALL | Akute Lymphatische Leukämie |
| AML | Akute Myeloische Leukämie |
| BAL | Bronchoalveoläre Lavage |
| C. | Candida |
| CLL | Chronische Lymphatische Leukämie |
| CML | Chronische Myeloische Leukämie |
| CMV | Cytomegalievirus |
| ELISA | enzyme-linked immunosorbent assay |
| FUO | fever of unknown origin |
| G-CSF | Granulozyten-Koloniestimulierender Faktor |
| HAT | Hämagglutinationstest |
| HTX | Herztransplantation |
| HWZ | Halbwertszeit |
| IFT | Immunfluoreszenztest |
| IGA | Immunglobulin A |
| IGG | Immunglobulin G |
| IGM | Immunglobulin M |
| ITS | Intensivstation |
| KMT | Knochenmarktransplantation |
| LTX | Lebertransplantation |
| MHK | Minimale Hemmkonzentration |
| MRT | Magnetresonanztomografie |
| NV | Nierenversagen |
| PCR | Polymerasekettenreaktion |
| PEG | Paul-Ehrlich-Gesellschaft |
| VZV | Varizella-zoster-Virus |
| ZNS | Zentrales Nervensystem |

1 EINLEITUNG

1.1 Problematik systemischer Mykosen bei Patienten mit Knochenmarktransplantation

Organ- und Knochenmarktransplantationen sind für viele Patienten die letzte Hoffnung, wieder ein normales Leben führen zu können. Dank ärztlicher Kunst und hochspezialisierter Medizintechnik gibt es heute kaum noch technische Schranken. Zu oft wird aber die Freude über die gelungene Operation gebremst, eine Infektion stellt sich ein, nicht selten mit tödlichem Ausgang (Horn et al. 1996). Fakultativ pathogene Pilze gehören zu den Erregern, die im Anschluß an bakteriell oder virusbedingte Infektionen schwer zu diagnostizieren sind und septische Krankheitsbilder verursachen können, ohne daß sich das klinische Erscheinungsbild spezifisch ändern muß (Bach et al. 1973, von Beahr et al. 1990, Bodey 1988, von Eiff et al. 1988, Gentry und Zeluff 1988, Heidemann 1988, Höffken 1989, Schwenke 1992, Scroggs et al. 1987).

Unter „**Endomykosen**“ (Gemeinhardt 1989) werden hier die in Mitteleuropa häufigsten, tieflokalisierten, lebensbedrohlichen Mykosen verstanden, die überwiegend durch *Candida*-Arten, durch *Cryptococcus neoformans* und durch *Aspergillus*-Arten hervorgerufen werden (Gemeinhardt 1989). Sie sind fast immer opportunistische Infektionen, die prädisponierender Faktoren bedürfen (Denning 1994, Glasmacher et al. 1998, Lortholary und Dupont 1997, Schwenke 1992, Wegmann 1986).

Erhebungen über die **Epidemiologie** von tieflokalisierten Mykosen in Deutschland durch Müller et al. (1987) haben ergeben, daß jährlich mit 600 Organmykosen pro Million Einwohner zu rechnen ist. Das heißt, in Deutschland-West (Stand 1987) wird mit ca. 36.000 Endomykoseerkrankungen pro Jahr gerechnet, von denen 7.000 an oder mit einer Mykose sterben.

Die häufigsten **Erreger von Systemmykosen** sind die Hefen der Gattung *Candida* (mit einem Anteil von 80 %) und hier vor allem *Candida albicans* (Bernhardt et al. 1986, Bodey 1988, Hammarstrom 1995, Hibberd und Rubin 1994, Hoppe et al. 1997, Momin und Chandrasekar 1995, Müller et al. 1987, Patel et al. 1996, Rüchel 1995, Tietz und Tausch 1993, Weber und Romig 1982). In zunehmenden Maße werden jedoch auch andere Spezies, wie *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, sowie *Aspergillus* als Erreger beschrieben (Denning 1994, Fegeler 1982, Hammarstrom 1995, Hibberd und Rubin 1994, Jandrlic et al. 1995, Tietz et al. 1994).

Durch Studien sind verschiedene **Infektionswege der Pilzerreger** nachgewiesen worden (Höffken 1989). Das Hauptreservoir von *Candida*-Spezies ist im Oropharynx sowie im gesamten Gastrointestinaltrakt lokalisiert. Von hier aus kommt es, beim Versagen lokaler Abwehrmechanismen, zu den am häufigsten auftretenden endogenen Infektionen (Bernhardt et al. 1986, Bodey 1988, Denning 1994, Gemeinhardt 1989, Hantschke 1989, Kaben et al. 1986, Momin und Chandrasekar 1995). Mittels Persorption (Eindringen ungelöster Partikel durch die intakte Darmwand) durchwandern lebende Pilzzellen die unverletzte und erst recht die geschädigte Darmwand. Dies führt zu einer sekundären systemischen Mykose. Nach Brandl et al. (1984) wird die Persorption von *C. albicans* aus dem Darm als wichtigster Faktor bei der Entstehung von Organmykosen angesehen. Neben dem endogenen Infektionsmodus ist grundsätzlich aber auch eine Pilzinfektion des Organismus auf dem exogenen Weg möglich. Die Erregerinvasion kann über Venen- oder Arterienkatheter bzw. percutan, bei ausgedehnten Verbrennungswunden erfolgen (Berger et al. 1986, Wegmann 1988). Eine weitere Übertragungsmöglichkeit stellen Schmierinfektionen und Nahrungsmittel dar (Schwenke 1992).

Exogen aerogen werden *Aspergillus*spezies übertragen, sie kommen ubiquitär in Erde, Staub, Luft und verrottetem Pflanzenmaterial vor (Ansorg et al. 1996, Arning 1994, Baron et al. 1998, Hadley und Karchmer 1995, Lajonchere und Feuilhade de Chauvin 1994). Aber auch Klimaanlage und Isoliermaterialien in Krankenhäusern müssen als Infektionsquelle angesehen werden. Auf der

anderen Seite ist lange bekannt, daß Umbauarbeiten im Krankenhaus mit Freisetzung von Aspergillussporen in der Umgebung von Patienten das Risiko von Aspergillusinfektionen erhöhen (Arning 1994). Durch Luftzirkulation gelangen Sporen in die Atemluft und können so Risikopatienten infizieren (Hibberd und Rubin 1994). Die meisten Aspergilloser weisen folglich eine bronchopulmonale Primärlokalisation auf (Ansorg et al. 1996, Arning und Aul 1994, Beyer et al. 1994, Hibberd und Rubin 1994, Quabeck et al. 1990, Rath et al. 1996, Roth et al. 1996).

Klinische Symptome mykologisch bedingter Infektionen können sehr uncharakteristisch sein und werden vom betroffenen Organ bestimmt. Mykoseverdacht besteht bei einem Status febrilis zweifelhafter Genese, der weder bakteriologisch noch virologisch abgeklärt werden kann. Fieber stellt oft das erste und das einzige Symptom dar, das für eine Infektion spricht. Häufig werden nur unklare Fieberzustände angetroffen, die trotz optimaler Antibiotikatherapie unbeeinflusst bleiben (Denning 1994, Günther 1985, Jandrlic et al. 1995, Klingspor et al. 1996, Villalba et al. 1993, Warnock 1995).

Candida-Mykosen manifestieren sich bevorzugt in der Mundhöhle (Mundsoor) bzw. im Magen-Darm-Trakt. Von hier aus kommt es durch Persorption oder Invasion zur Dissemination der Hefezellen und einer möglichen Absiedlung in anderen Organen (z. B. Auge, Endokard, Peritoneum, Urogenitaltrakt, ZNS, Skelett, Muskulatur, Lungen). Jedoch spielen septische Krankheitsbilder, mit oft letalem Ausgang, die bedeutendste Rolle. Das klinische Bild einer Candida-Sepsis weist damit ein außerordentlich großes Spektrum auf (Burnie und Williams 1985, Denning 1994, De Witt und Clumbeck 1989, Schwenke 1992, Wegmann 1986).

Aufgrund des aerogenen Infektionsweges von Aspergilluspezies ist die Lunge das am häufigsten betroffene Organ (Arning 1994, Beyer et al. 1994, Costabel et al. 1987, Hadley und Karchmer 1995, Quabeck et al. 1990, Selby et al. 1997, Wegmann 1988). Es können dabei drei Krankheitsbilder unterschieden werden: die allergische Aspergillose, das Aspergillom der Lunge und die invasive Aspergillose. Bei invasiver Aspergillose ist der Pilz bei 90 % der Patienten in der Lunge lokalisiert, eine hämatogene Streuung beobachtet man in 15-20 % der Fälle (Wegmann 1988). Bei einer Dissemination der Erreger kommt es zum Befall anderer Organe, insbesondere des Gehirns. Andere seltener Organmanifestationen können der Gastrointestinaltrakt, Herz, Leber, Haut, Schilddrüse und sehr selten die Milz sein (Berger et al. 1986, Lajonchere und Feuilhade de Chauvin 1994, Wegmann 1986).

Viel diskutiert ist die Frage, was die Ursachen für das gehäufte Auftreten von Pilzinfektionen bei Patienten nach Organ- und KMT sind, weil die o. g. Pilzarten nur fakultativ pathogen sind. Die Manifestation einer Systemmykose ist an verschiedene Bedingungen geknüpft. Das heißt, es bedarf **prädisponierender Faktoren** (Denning 1994, Glasmacher et al. 1998, Wegmann 1986).

Eine Organmykose wird in erster Linie dann auftreten, wenn ein beim gesunden Menschen saprophytärer Pilz durch Reduzierung der Abwehrkräfte oder durch Terrainänderung zum virulenten Erreger wird (Wegmann 1986, Wegmann 1988). Dazu gehören z. B. eine breit und lang andauernde antibakterielle Therapie, Behandlung mit Zytostatika, Kortikoiden, Immunsuppressiva, ionisierende Strahlen, große operative Eingriffe, Transplantationen, konsumierende Erkrankungen (u. a. Verbrennungen), Neoplasmen (besonders hämatologische), Immundefekte und iatrogene Maßnahmen (Anderson et al. 1996, Castagnola et al. 1996, Denning 1994, Glasmacher et al. 1998, Hibberd und Rubin 1994, Jantunen et al. 1997, Krisch und Scernow 1990, Mazumdar und Marks 1975, Myervitz et al. 1977, Seeling 1966, Warnock 1995, Wegmann 1986, Wegmann 1988).

Der entscheidende Parameter für die hohe Infektanfälligkeit bei Patienten nach einer KMT ist die Neutropenie (Carlisle et al. 1993, Castagnola et al. 1996, De Bock 1994, Fortun et al. 1997, Hopwood et al. 1995, Jantunen et al. 1997, Lortholary und Dupont 1997, Momin und Chandrasekar 1995, Morrison et al. 1994, Ruchel und Kern 1997, Warnock 1995). Die Granulozytenzahl und insbesondere der Granulozytenverlauf sind Funktionen der Knochenmarkreserve, die von der Grundkrankheit und den vorausgegangenen Therapien beeinflusst werden (Denning 1994). Das heißt, Patienten nach einer KMT können durch ihre Grundkrankheit und eine vorhergehende Konditionierungsbehandlung, einen viel besseren

Angriffspunkt für Infektionen bieten. Die Granulozytopenie erklärt nicht nur den Beginn einer Infektion, sondern auch die Besonderheiten in ihrem weiteren Verlauf.

Die therapiebedingte Granulozytopenie stellt mit Werten ab 1,0 Gpt/l Neutrophilen ein deutlich erhöhtes Risiko für Infektionen dar, das in dem Maße steigt, in dem die Neutrophilenzahl weiter sinkt (Schwenke 1992). Seit den Arbeiten von Bodey et al. (1989) ist die Syntropie zwischen granulozytopenischen Zuständen und mikrobiell bedingten Komplikationen bekannt. In Relation zu Ausmaß und Dauer der Granulozytopenie weisen die Infektionsentwicklung, der Infektionstyp sowie der Ausgang der Infektion bestimmte Gesetzmäßigkeiten auf. Bei Granulozytenzahlen <1.000/ml steigt das Infektionsrisiko sprunghaft an. Bei Werten um 100/ml haben 54 % der Patienten bereits eine Infektion und von diesen sterben 80 % innerhalb der ersten Wochen, trotz des Einsatzes von bakteriziden Antibiotika-Kombinationen, wenn es nicht zu einem Anstieg der Granulozytenzahlen während dieser Therapie kommt (Bodey et al. 1966, Bodey et al. 1982).

Nicht nur das Ausmaß der Neutropenie ist im Infektionsgeschehen ein bedeutender Faktor, ebenso große Aufmerksamkeit ist der Dauer der Neutropenie zu widmen. Meyers und Atkinson (1983) beschrieben, daß 21 % der Patienten nach einer KMT an einer Pilzinfektion (in der 3. Woche) und 57 % der Patienten bei einer Neutropenie von sechs Wochen und länger erkrankten. Ein lang dauernder Abfall der Granulozytenzahl stellt ebenso einen entscheidenden Schrittmacher für die Reihenfolge des Auftretens der Infektursachen dar. Etwa ab der ersten Neutropeniewoche nach einer KMT stehen Bakterien als Erreger von Infektionen im Vordergrund, in der zweiten Woche nehmen Infektionen durch Pilze, Viren und Parasiten deutlich zu (Gaya et al. 1973, Hammarstrom 1995, Schwenke 1992).

Eine zentrale Stellung in den Abwehrleistungen bei Pilzinfektionen haben neben der Phagozytose die zellvermittelten Immunmechanismen (Fegeler 1982). Das Verschwinden von HLA-DR positiven Monozyten ist ein Hinweis dafür, daß die Antigen-Präsentation durch diese Zellen nicht mehr möglich ist, und damit die gesamte Kooperation zwischen T-Zellen und mononukleären Zellen nicht mehr funktioniert. Durch von Baehr et al. (1990) wurde so der Begriff der „Immunparalyse“ bei Septikämien geprägt. In ihren Untersuchungen zeigten sie, daß eine Immunparalyse durch den Abfall der HLA-DR positiven Monozyten im peripheren Blut auf Werte unter 20 % einsetzt (Normalwert 70-90 %). Das Immunozytogramm bei Septikämie-Patienten gibt somit Auskunft über die aktuelle Situation der systemischen Infektionsabwehr, die Effektivität des gewählten Therapieregimes und die Prognose des Patienten. Bei Berücksichtigung der Immunparameter findet man in vielen Fällen eine Übereinstimmung zwischen der Intensität der Candida-Antigen-Zirkulation im Blut, dem kritischen Absinken der HLA-DR Werte der Monozyten und der klinischen Prognose.

Für die Therapiefindung besitzen synchrone Bestimmungen von Infektions- und Immunparametern einen besonderen Stellenwert. Die Immunparalyse ist dabei ein Zeichen für einen absolut lebensbedrohlichen Zustand und Indikation für eine engmaschige mikrobiologische, mykologische und virologische Diagnostik mit gegebenenfalls grundlegender Revision der Therapie.

Auch in der heutigen Zeit sind opportunistische Pilzinfektionen bei immunsupprimierten und granulozytopenischen Patienten schwer zu diagnostizieren, unbefriedigend zu behandeln und verlaufen oft letal (De Bock 1994).

Bei hämatologischen Neoplasien einschließlich knochenmarktransplantierten Patienten werden in 30-50 % der Obduktionen Mykosen gefunden. In über 50 % dieser Fälle wurde die Erkrankung intra vitam nicht erkannt (Höffken 1989). Ihre hohe Letalität macht sie für die Medizin unserer Zeit zu einer diagnostischen und therapeutischen Herausforderung erster Ordnung (Rüchel et al. 1988).

1.2 Ziel der vorliegenden Arbeit

Die Zahl der Patienten, die eine Knochenmarktransplantation erhalten, hat in den letzten Jahren dank umfangreicher Datenbanken für potentielle Spender zugenommen. Damit rückt das Problem mykologischer Infektionen zunehmend in den Vordergrund. Um die Letalität dieser Hochrisikopatienten zu senken, ist eine möglichst frühzeitige Diagnostik und damit eine früh einsetzende Therapie wünschenswert.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte der Zeitpunkt und die Häufigkeit des Auftretens systemischer Mykosen bei Knochenmarktransplantierten Patienten untersucht und analysiert werden. Die so ermittelten Befunde bei diesen Hochrisikopatienten sollten mit entsprechenden Ergebnissen bei Organtransplantierten Patienten und mit Patienten unter Intensivtherapie verglichen werden. Insbesondere interessierten die Fragen, wie sich die Antigen- und Antikörperbefunde darstellten, sowie die klinische Symptomatik. Die durchgeführten Therapien und die aufgetretenen Komplikationen sollten dokumentiert und verglichen werden. Schließlich sollte die Letalität eruiert werden.

Dazu wurde die infektiologische Gesamtsituation bei 252 Patienten der Charité näher analysiert. Die Patienten stammen aus zwei unterschiedlichen Risikobereichen, die für das Auftreten von Systemmykosen prädisponiert sind. Die erste Gruppe umfaßt 17 Patienten, die eine KMT erhielten. Aufgrund der durch die Transplantation vorausgegangenen Konditionierungsbehandlung und der damit hochgradig eingeschränkten Immunabwehr, sind diese Patienten besonders großen infektiösen Risiken ausgesetzt. Die gewählte Vergleichsgruppe umfaßt 235 Patienten nach Organtransplantation und aus dem Intensivtherapiebereich. Die Verbindung zwischen den beiden Patientengruppen ergibt sich aus der Risikosituation und dem in beiden Gruppen zeitgleich eingeführten Aspergillus-Antigen-Test.

Ein umfassendes Monitoring mit kulturellen, serologischen und immunologischen Untersuchungen sowie eine exakte klinische Verlaufsbeobachtung bei abwehrgeschwächten Patienten und Patienten aus Intensivtherapiebereichen sollte obligat sein (Müller 1990, Schwenke 1992). Die enge Zusammenarbeit zwischen Klinik und Labor für die Bearbeitung der Problematik „Pilzinfektion“ erwies sich als unabdingbar, da die Diagnose nur aus der Synopsis aller klinischen und labordiagnostischen Befunde zu stellen ist. Im Ergebnis dieses Zusammenspiels wurde im Verdachtsfall „Mykose“ die Frequenz der Untersuchungen erhöht, bzw. das antimykotische Regime sofort angepaßt.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Patientenkollektiv

Von 1990 bis 1992 wurde bei 252 Patienten ein umfassendes kulturelles und serologisches Monitoring zur Erfassung von Lokal- und Systemmykosen durchgeführt. Die 252 Patienten stammen aus zwei verschiedenen Hochrisikobereichen, die für das Auftreten von Systemmykosen prädisponiert sind (Abbildung 1)

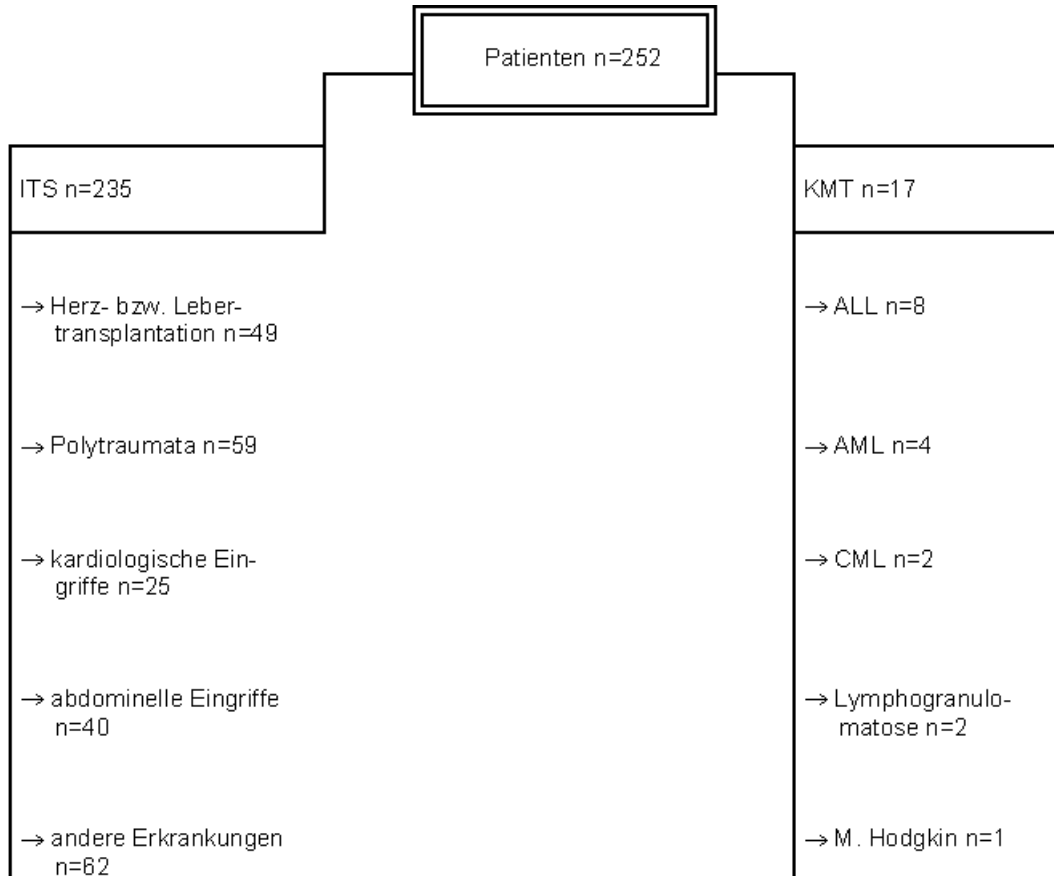


Abb. 1: Aufteilung der Patienten nach einer KMT- und der ITS-Patienten entsprechend ihrer Grundkrankheit

Die erste Gruppe umfaßt 17 Patienten aus der Haematologischen Abteilung der Klinik für Innere Medizin der Charité Berlin nach Knochenmarktransplantationen. Es handelt sich um 9 Frauen, 8 Männer (mittleres Alter 33 ± 15 Jahre) mit folgenden Grunderkrankungen:

- 12 Patienten mit akuter Leukämie:
 - 4 Patienten mit myeloischer Leukämie
 - 8 Patienten mit lymphatischer Leukämie
- 2 Patienten mit chronisch myeloischer Leukämie
- 2 Patienten mit Lymphogranulomatose
- 1 Patient mit M. Hodgkin

Die Verweildauer der Patienten auf der Station betrug durchschnittlich 52 Tage.

Ein anderer Risikobereich für systemische Mykosen ergibt sich für Patienten aus unterschiedlichen Intensivtherapiebereichen. Untersucht wurden 235 Patienten der Charité Berlin nach chirurgischen Eingriffen, die auf Grund schwerwiegender Erkrankungen notwendig waren, darunter 59 nach Polytrauma, Leber- bzw. Herztransplantation (49), abdominellen (40 Patienten) und kardiologischen (25 Patienten) Operationen sowie 62 Patienten mit anderen unterschiedlichen Grunderkrankungen. Die stationäre Verweildauer der Patienten betrug mindestens eine Woche.

Beide Patientengruppen unterlagen einem umfassenden Monitoring zur Erfassung von Systemmykosen. Von den jeweiligen Stationen wurden bei der Aufnahme und weiterhin 1-3 mal/Woche Proben zur kulturellen und serologischen Diagnostik auf Pilze (Candida, Aspergillus, Cryptococcus) an das Mykologische Labor der Hautklinik der Charité Berlin eingesandt.

Im Rahmen der eigenen Laborarbeit wurden Antigennachweisverfahren durchgeführt. Der Candida-Antigen-Nachweis in den Seren erfolgte mittels zweier verschiedener Nachweisverfahren, zum einen mit dem Candida-Ramco[®]- und zum anderen mit den Candida-Pastorex[®]-Verfahren. Parallel zu den vorgenannten Verfahren wurden die selben Seren mit dem neu eingeführten Aspergillus-Pastorex[®]-Test simultan untersucht.

Zunächst wurden durch das Labor folgende Daten handschriftlich erfaßt:

- Patientename
- Geburtsdatum
- Grunddiagnose
- kulturelle- und serologische mykologische Ergebnisse.

Ab 1992 wurde das EDV-Programm „MYKODAT“ zur Datenerfassung eingesetzt, was die Datenverwaltung und -auswertung wesentlich erleichterte.

Alle bakteriologischen und immunologischen Daten wurden freundlicherweise im Rahmen der Routineüberwachung der Patienten vom Institut für Mikrobiologie und Hygiene und dem Institut für Medizinische Immunologie der Charité Berlin bereitgestellt.

Zusätzlich wurden eigens die o. g. Patientenakten der 17 KMT-Patienten umfassend ausgewertet. Retrospektiv erfolgte die Sichtung der Krankenunterlagen aller ITS-Patienten, bei denen gesicherte Erkenntnisse auf eine Aspergillusinfektion vorlagen.

2.2 Labortechnische Methoden

2.2.1 Kulturelle Verfahren

Für die kulturelle Diagnostik wurden Untersuchungsmaterialien, wie Stuhl-, Urin- und Sputumproben, Rachenabstriche, Bronchial- und Trachealsekret, Vaginalabstriche oder auch Biopsiematerial, ins mykologische Labor der Dermatologischen Klinik eingesandt.

Die Auswertung der Materialien erfolgte mit den in der mykologischen Diagnostik üblichen Verfahren: Mikroskopie, Erregeranzucht, Keimzahlbestimmung und der biochemischen Differenzierung (Blaschke-Hellmessen 1990, Müller 1990, Rieth 1987, Rieth 1986).

Bei der Hefe-Differenzierung ist die alleinige Anzucht auf Sabaraud- oder Kimmig-Agar nicht ausreichend. Die Koloniekonfiguration auf diesen Nährböden ist meist uncharakteristisch. Den Schlüssel zur Differenzierung stellen Reiskulturen und biochemische Prüfungen dar. Die Identifizierung der Hefe-Spezies erfolgt im ersten Schritt durch Überimpfung der Hefekolonien auf Reisagar, bei dem es sich um ein Mangelmedium handelt, das die Ausbildung von Pseudomycel und Chlamydosporen fördert. Anhand der Mycelausbildung gelingt eine Vordifferenzierung, die dokumentiert wird. *Candida albicans* bildet als einzige Spezies Chlamydosporen aus und ist diesbezüglich von allen anderen Hefen abgrenzbar.

In einem zweiten Schritt kann man die Nicht-*Candida albicans*-Hefen mit Hilfe des API-ID 32 C (biomerieux) und anderen vergleichbaren Systemen (auxacolor, sanofi Pasteur) anhand von standardisierten und miniaturisierten Assimilations- und Fermentationsreaktionen und einer speziellen Datenbasis verifizieren. Das API-System 32 C bietet das derzeit größtmögliche Spektrum an Differenzierungsmöglichkeiten innerhalb der Gattungen *Candida*, *Cryptococcus* und *Trichosporon*. Die Beurteilung der Ergebnisse des API-Systems erfolgt unter Berücksichtigung der vorherigen morphologischen Begutachtung des Mycels. In Zweifelsfällen kann die Diagnosefindung durch Einsatz der PCR-Technik ergänzt werden (Kostiala et al. 1986, Schönian et al. 1993, Tietz et al. 1994). Ein Beispiel ist die mangelnde Differenzierungsfähigkeit der biochemischen Verfahren im Falle von *C. famata* und *C. guilliermondii*.

Mittels PCR erhobene DNA-Polymorphismen werden zur Differenzierung von klinischen *Candida*-Isolaten eingesetzt. Die PCR ist in den meisten Fällen leichter und schneller durchführbar als andere bereits etablierte genetische Verfahren für die Typisierung von Krankheitserregern.

2.2.2 Serologische Verfahren

Bei der serologischen Diagnostik nutzt man die Möglichkeit des Nachweises von zirkulierenden Antigenen oder Antikörpern im Serum, Liquor cerebrospinalis und Urin. Der Wert dieser Verfahren liegt in der Schnelligkeit dieser Bestimmungsmethode und einer höheren Empfindlichkeit gegenüber kulturellen Nachweisverfahren. Die Möglichkeit der Quantifizierung bei den serologischen Tests ist ein weiterer Vorteil, da sie somit auch als Therapieverlaufsparameter genutzt werden können.

Candida-Antigen-Nachweisverfahren

Zum Nachweis zirkulierender Antigene haben sich zwei verschiedene Nachweisverfahren etabliert:

Cand-Tec (Ramco Laboratories Inc., MT. Vernon, Houston, Texas, USA)

Beim Ramco[®]-Test ist das nachzuweisende Antigen ein unbekannter, thermolabiler, Candidose assoziierter Komplex (Jandrljic et al. 1995). Beim Vorliegen dieses Antigens reagiert es mit Latex-Partikeln, die mit spezifischen Anti-Candida-Antikörpern beladen sind (Müller 1990, Philips et al. 1990, Wegmann 1988). Das Ergebnis ist eine gut sichtbare Agglutinationsreaktion zwischen Antigen und Antikörper.

Testdurchführung:

- Herstellen einer 1:2 Verdünnung von jedem Patientenserum durch Mischen von 50 µl Patientenserum und 50 µl Verdünnungspuffer;
- Auf die Agglutinationsplatte werden jeweils 20 µl der Positiv- und Negativkontrolle und des verdünnten Patientensersums gegeben;
- Zugabe von jeweils 20 µl der candidaempfindlichen Latexsuspension und mischen mit je einem Stäbchen;
- Schütteln der Agglutinationsplatten 10 min mittels Horizontalschüttler;
- Ablesen der Ergebnisse;
Proben, die eine Agglutination herbeiführen, werden als positiv bewertet und sollten geometrisch weiterverdünnt werden, um den höchsten Titer zu bestimmen, der eine Agglutination bewirkt.
- Bei der Interpretation der Ergebnisse wird der Titer angegeben, bei dem eine Agglutinationsreaktion noch gut sichtbar ist (entspricht höchster Serumverdünnung).

Bewertung der Ergebnisse:

- Positiv: Deutlich sichtbare Agglutination;
 - 1:2 -Testung weiterer Verdünnung sollte erfolgen
 - 1:4 oder höher- vereinbar mit systemischer Candidose
- Negativ: Keine sichtbare Agglutination der Latexpartikel.

Pastorex® Candida (Diagnostics Pasteur, Marnes-La-Coguette, France)

Der Pastorex®-Test basiert ebenfalls auf einer Agglutinationsreaktion. Das nachzuweisende Antigen ist Mannan, ein Polysaccharid, welches von der Candida-Zelloberfläche, beim Vorliegen einer systemischen Mykose, in erheblichem Maße freigesetzt wird (van Cutsem et al. 1990, Kostiala et al. 1986, Müller 1978, Tietz et al. 1994).

Testdurchführung:

- Vorbehandlung der Seren:
 - 300 µl Serum in ein Eppendorf-Röhrchen pipettieren;
 - 100 µl Behandlungslösung zugeben;
 - 3 min im Wasserbad bei 100 °C erhitzen;
 - 10 min bei 1000 g zentrifugieren;
 - weitere Testung nur des Überstandes;
- Agglutinationsreaktion
 - je 40 µl Überstand, Positiv- und Negativkontrolle (Puffer) auf die Agglutinationskarte geben;
 - je 10 µl der aufgeschüttelten Latexsuspension hinzugeben;
 - mit jeweils einem neuen Stäbchen verrühren;
 - 10 min mittels Horizontalschüttler schütteln;
 - Ablesen der Ergebnisse;
 - Proben, die eine Agglutination herbeiführen, werden als positiv bewertet und sollten geometrisch weiterverdünnt werden um den höchsten Titer zu bestimmen, der eine Agglutination bewirkt.

Bewertung der Ergebnisse:

- Positiv: Agglutination der Latexpartikel
- Negativ: Keine Agglutination sichtbar

Aspergillus-Antigen-Nachweisverfahren

Pastorex® Aspergillus (Diagnostics Pasteur, Marnes-La-Coquette, France)

Die Durchführung des Tests entspricht den Erläuterungen zum o. g. Nachweis von Candida-Antigen.

Antikörper-Nachweisverfahren

- a) Candida-HAT von LD Labor Diagnostica
- b) Candida-ELISA von Virion Institut Würzburg
- c) Aspergillus-HAT von LD Labor Diagnostica

Auf die Erläuterung der Tests soll hier verzichtet werden. Bei der Ausführung der Tests wurde sich im Wesentlichen an die Vorgabe der Hersteller, unter Berücksichtigung der Erfahrungen anderer Anwender, gehalten. Die Darstellung der Vor- und Nachteile, sowie die Zuverlässigkeit der einzelnen Tests wird in der Diskussion näher betrachtet.

2.3 Methodenmanagement

Die Gefahr falsch positiver Ergebnisse durch Kontamination der Patientenproben besteht auf allen Ebenen der Diagnostik: Von der Probenentnahme auf der Station bis zur Verarbeitung im mykologischen Labor. Um Fehlerquellen diesbezüglich auszuschalten, werden im Pilzlabor der Charité alle benötigten Geräte sterilisiert und die Antigentests unter sterilen Kautelen durchgeführt. Es sind kurze Transportwege der Materialien insbesondere bei den Mannanantigentests zu sichern, weil diese Moleküle eine starke Bindungsaktivität an Lektinrezeptoren der Zelloberflächen und an Transportgefäßen besitzen. Weiterhin haben diese Mannanantigenmoleküle eine geringe HWZ von 2-4 Stunden. Die Nichtbeachtung der vorgenannten Bedingung kann zu falsch negativen Ergebnissen führen. Eintreffenes Material für die Antigentestung muß unverzüglich verarbeitet und ausgewertet werden.

Soll die Auswertung zu einem späteren Zeitpunkt erfolgen, insbesondere ist dies bei differenzierenden Antikörpertests möglich, so kann das entsprechende Patientenserum bei 2-8 °C für 14 Tage, bzw. tiefgefroren für acht Monate, aufbewahrt werden.

3 ERGEBNISSE

3.1 Allgemeines

Von 1990 bis 1992 wurden 17 Patienten nach einer KMT aus der Haematologischen Abteilung der Klinik für Innere Medizin der Charité Berlin (mittleres Alter 33 ± 15 Jahre) im Hinblick auf das Vorliegen bakteriell und/ oder mykologisch bedingter Infektionen überwacht. Die durchschnittliche Verweildauer auf der Station betrug 52 Tage. Es wurden zur Aufnahme und mindestens 1-3 mal/ Woche Proben zur kulturellen Diagnostik angelegt. In gleicher Frequenz erfolgte die Einsendung von Blutproben zum serologischen Monitoring um Systemmykosen, hervorgerufen durch Candida- und Aspergillusarten, zu erfassen. Daraus ergibt sich, daß im Untersuchungszeitraum 479 mykologische Kulturen angelegt und 167 Serumproben auf Candida-Antikörper (HAT-Test), 157 auf Candida-Antigen (157 Candida-Ramco[®]-Tests, davon 123 Serumproben zusätzlich mit dem Pastorex[®]-Test), 57 Seren auf Aspergillus-Antikörper (HAT-Test) und Aspergillus-Antigen (32 Proben mit dem Aspergillus-Pastorex[®]-Test) untersucht wurden. Zusätzlich zu den 17 komplex ausgewerteten Patientendaten nach einer KMT wurden die Ergebnisse aller, zwischen 1992 (n=34 Patienten) und 1993 (n=37 Patienten) knochenmarktransplantierten Patienten, mit herangezogen. Diese Ergebnisse wurden einem anderen Patientenkollektiv (n=235 Patienten), nämlich dem aus dem Intensivtherapiebereich, gegenübergestellt.

3.2 Kulturelle bakterielle Befunde bei KMT-Patienten

3.2.1 Materialverteilung

Wie oben angeführt, wurden bei den 17 Patienten vor und nach der KMT 1-3 mal/ Woche Kulturen im Hinblick auf das Vorliegen bakterieller Infektionen von verschiedene Materialproben angelegt. Nach den zur Verfügung gestellten Unterlagen der Charité Berlin wiesen 198 Proben einen positiven Erregernachweis mit nachfolgender Verteilung auf:

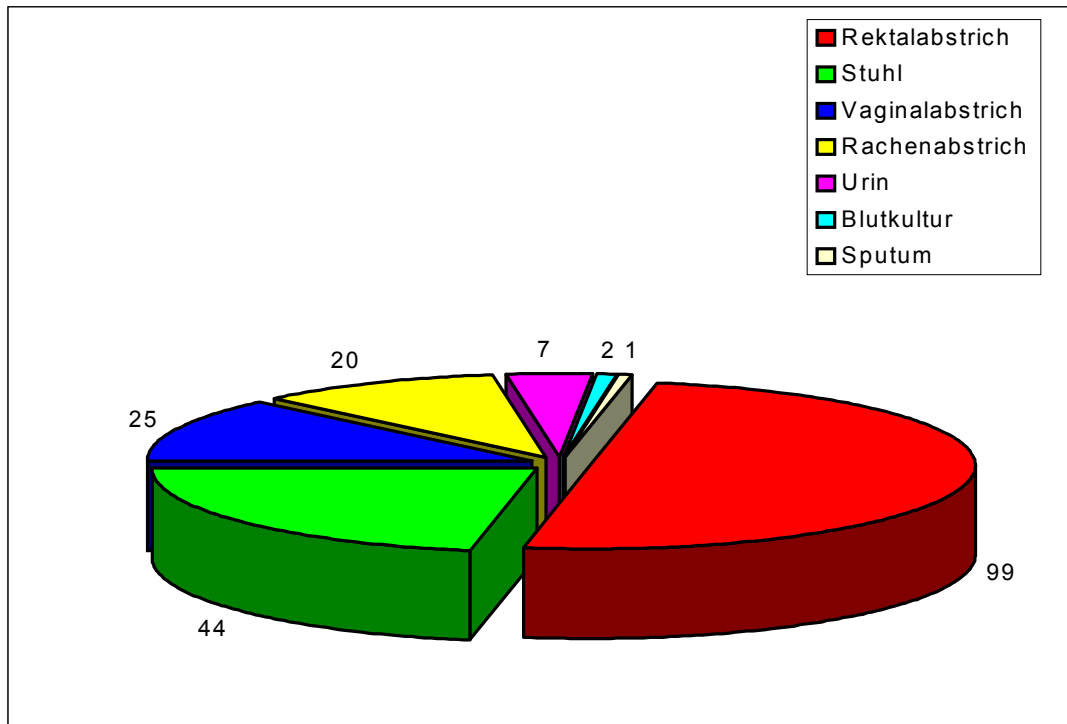


Abb. 2: Anzahl und Verteilung positiver bakterieller Kulturen von 17 KMT-Patienten im gesamten Untersuchungszeitraum

3.2.2 Speziesverteilung

In der Tabelle 1 werden die nachgewiesenen Erregerspezies nach der Häufigkeit des Auftretens in der Kultur unterschieden. Eine Gegenüberstellung der Erregergruppen (differenziert in Gram-positiv und -negativ) belegt, daß aus 95 % der eingesandten Materialien Gram-positive Erreger (188 Proben), und nur aus 5 % Gram-negative Erreger (zehn Proben) isoliert wurden.

Die am häufigsten vorgefundenen Gram-positiven Bakterien waren Koagulase negative Staphylokokken mit 70,2 % (139 Proben). Aus beiden positiven Blutkulturen wurde Staphylokokkus aureus identifiziert. Ein Nachweis von haemolysierenden Streptokokken gelang aus 46 Proben (23,2 %), gefolgt von Corynebakterien aus drei Proben (1,5 %).

Im Vergleich dazu waren Gram-negative Bakterien nur in zehn Proben mit folgender Verteilung nachweisbar: Escherichia coli mit acht positiven Proben (4 %) und zwei Proben der Gattung Pseudomonas aeruginosa (1 %).

Tab. 1: Differenzierung der isolierten Bakterien in der Kultur nach den Erregergruppen, -spezies und Angabe in %, von 17 KMT-Patienten im gesamten Untersuchungszeitraum

| Gram-positiv=95 % (188 Proben) | Gram-negativ=5 % (10 Proben) |
|--|---|
| Staphylokokken -Koagulase negative Staphylokokken =139 Proben (70,2 %) | Enterobakterien -Escherichia coli =8 Proben (4 %) |
| Streptokokken Haemolysierende Streptokokken =46 Proben (23,2 %) davon: <u>Enterokokkus</u> - S. faecialis (26 Proben) - S. faecium (10 Proben) <u>Pyogene Streptokokken</u> - vergrünende Streptok. (10 Proben) | Pseudomonas - Pseudomonas aeruginosa =2 Proben (1 %) |
| Corynebakterien =3 Proben (1,5 %) | |

Auch wenn eine deutliche Dominanz der Gram-positiven Erreger ersichtlich ist, verliefen diese Infektionen harmlos. Dramatisch stellte sich dagegen der Ausgang einer durch Pseudomonas aeruginosa verursachten Infektion dar. Diese Patientin verstarb 15 Tage nach ihrer KMT. Die mikrobiologische Diagnostik des septischen Geschehens gelang zu Lebzeiten nicht mehr. Die Diagnosestellung erfolgte autoptisch, durch den Erregernachweis aus der Lunge, Milz und Herzblut. Aus einer, zwei Tage vor dem Tod abgenommenen Sputumprobe konnten die gleichen Pseudomonas-Spezies isoliert werden.

3.2.3 Prophylaxe und Therapie bakterieller Infektionen

Als Initialtherapie und zur Prophylaxe bakterieller Infektionen erfolgte vor der KMT bei allen 17 Patienten eine Antibiotikagabe von Ciprofloxacin (Ciprobay[®]) und Metronidazol (Clont[®] oder Vagimid[®]). Bei fünf Patienten erfolgte der zusätzliche Einsatz von Vancomycin, Piperacillin (Pipril[®]) oder Sulbactam (Combactam[®]). Nach einigen KMTs kam es, bedingt durch das Auftreten weiterer Infektparameter (z. B. Fieber, Erhöhung vom C-reaktivem Protein und Blutsenkungsgeschwindigkeit), oder bei positivem bakteriellen Erregernachweis in der Kultur, zu einer zusätzlichen Applikation von Ceftazidim (Fortum[®]), einem Cephalosporin der zweiten Generation. Somit erhielten 15 Patienten die Kombination zweier Betalaktam-Antibiotika mit Vancomycin oder einem Aminoglycosid (Gentamicin). Nach der Initialtherapie mit Ciprofloxacin und Metronidazol war der Einsatz weiterer Antibiotika bei zwei Patienten nicht notwendig (Tabelle 2).

Tab. 2: Antibakterielle Prophylaxe und Therapie bei 17 Patienten vor und nach einer KMT
(Ciprofl.=Ciprofloxacin, Certom.=Certomycin, Gentam.=Gentamicin, Metron.=Metronidazol, Piperac.=Piperacillin, Vancom.=Vancomycin)

| | |
|---|------------------|
| Vor KMT | |
| Ciprofl. + Metron. | 12 Pat. = 70,6 % |
| Ciprofl. + Metron. + Vancom. | 3 Pat. = 17,6 % |
| Ciprofl. + Metron. + Piperac. | 1 Pat. = 5,9 % |
| Ciprofl. + Metron. + Sulbactam | 1 Pat. = 5,9 % |
| Nach KMT (Ciprofl. + Metron. + s.u.) | |
| Ceftazidim | 5 Pat. = 33,3 % |
| Ceftazidim + Vancom. | 3 Pat. = 20,0 % |
| Ceftazidim + Gentam. | 2 Pat. = 13,3 % |
| Ceftazidim + Certom. | 1 Pat. = 6,6 % |
| Ceftazidim + Gentam. + Fluxapril | 1 Pat. = 6,6 % |
| Ceftazidim + Ciprofl. | 1 Pat. = 6,6 % |
| Piperac. + Vancom. | 1 Pat. = 6,6 % |
| Cefotiam + Gentam. | 1 Pat. = 6,6 % |

3.3 Kulturelle mykologische Befunde bei KMT-Patienten

3.3.1 Materialverteilung

Innerhalb des Untersuchungszeitraumes wurden bei allen 17 Patienten kulturelle und serologische Bestimmungen mindestens 1-3 mal/ Woche auf das Vorliegen von Pilzinfektionen durchgeführt.

In der Kultur steht ein breites Spektrum von Materialien zur Untersuchung an, dies jedoch auch mit unterschiedlicher Häufigkeit. Insgesamt sind 479 Proben kulturell auf die Existenz von Pilzen überprüft worden, das entspricht einer durchschnittlichen Zahl von 29 Kulturen pro Patient. Von den untersuchten Materialien konnten aus 73 Proben positive Pilzkulturen gewonnen werden. Tabelle 3 gibt einen Überblick über die Anzahl eingesandter Materialproben und die Häufigkeit eines positiven Ergebnisses. Setzt man die Anzahl positiver Proben ins Verhältnis zur Anzahl eingesandter Proben (in %), so ergibt sich eine Verteilung entsprechend dem ubiquitären Vorkommen von *Candida albicans* im Verdauungstrakt (Rektum, Stuhl, Anus, Rachen). Ein prozentual hoher Anteil an positiven Kulturen existiert ebenfalls bei Vaginalabstrichen (30 %) und Urinproben (10,6 %). Zur Diagnostik einer Pilzinfektion im Routinebetrieb sind sie, auch wegen der einfachen Materialgewinnung, unentbehrlich. An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, daß eine Pilzanzucht aus Liquor- bzw. Hautproben (Unterschenkel und Füße) nur bei klinischer Symptomatik sinnvoll ist.

Bezogen auf die 17 mykologisch überwachten Patienten mit einer KMT resultierten bei 70 % der Patienten (entspricht 12 Patienten) ein- oder mehrmalig *Candida*-Spezies bzw. Hefen in der Kultur und dies, unter Einbeziehung intestinaler Befunde. Eine Auswertung nur extraintestinaler kultureller Befunde reduziert die positiven Befundzahlen auf 35 % (das entspricht 6 Patienten).

Tab. 3: Anzahl eingesandter und positiver mykologischer Kulturen je Materialart, sowie Angabe in Prozent im Untersuchungszeitraum von 17 Patienten mit einer KMT

| Material | Anzahl der Proben | Anzahl der positiven Proben | % positiv (je Material) |
|------------------|-------------------|-----------------------------|-------------------------|
| Rektum | 8 | 3 | 37,5 |
| Vagina | 40 | 12 | 30,0 |
| Stuhl | 30 | 7 | 23,3 |
| Anus | 64 | 16 | 25,0 |
| Rachenabstrich | 54 | 7 | 12,9 |
| Urin | 160 | 17 | 10,6 |
| Rachenspülwasser | 72 | 5 | 6,9 |
| Mundschleimhaut | 36 | 3 | 8,3 |
| Sputum | 5 | 3 | |
| Nasenschleimhaut | 4 | | |
| Präputium | 2 | | |
| Füße | 1 | | |
| Liquor | 1 | | |
| Zunge | 1 | | |
| Unterschenkel | 1 | | |
| | <u>479</u> | <u>73</u> | |

Nachfolgend sollen die mykologischen Kulturen unterteilt nach oralen-, intestinalen- und Urinbefunden, im wöchentlichen Intervall, dargestellt werden. Innerhalb dieses Untersuchungszeitraumes (erste bis vierte Woche nach einer KMT) fielen 282 Proben zur kulturellen Diagnostik an, davon zeigten 36 ein positives Ergebnis. In den Abbildungen 3-6 wird die Verteilung für die intestinalen- und Urinbefunde grafisch dargestellt. Zum anderen wird der Anteil der Patienten (in %) mit positivem mykologischem Ergebnis/ Woche nach der KMT demonstriert. Aufgrund einer nur geringen Anzahl positiver Ergebnisse bei den oral gewonnenen Materialproben, wurde auf eine differenziertere Darstellung verzichtet (insgesamt 94 Proben, davon 2 Proben in der ersten Woche positiv).

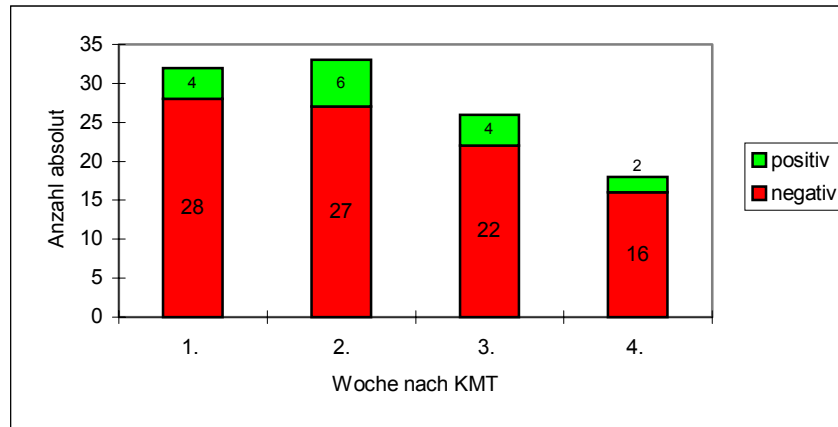


Abb. 3: Anteil Urinkulturen/ Woche nach einer KMT, sowie Angabe des positiven und negativen Befundanteils

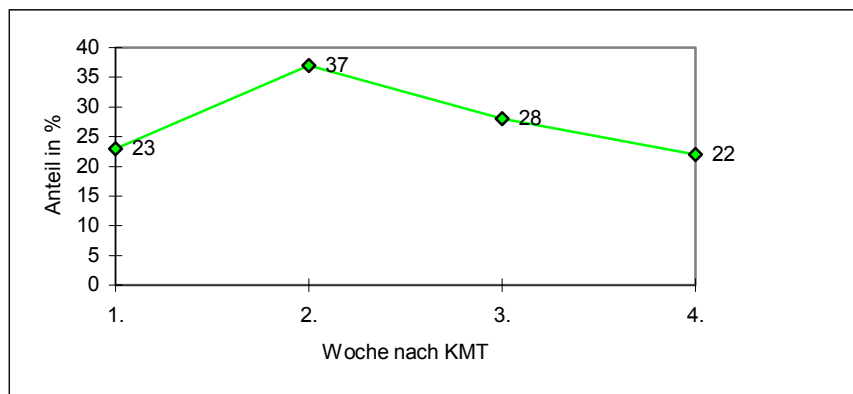


Abb. 4: Anteil der Patienten (in %)/ Woche nach einer KMT, die ein positives Ergebnis in den Urinkultur zeigten

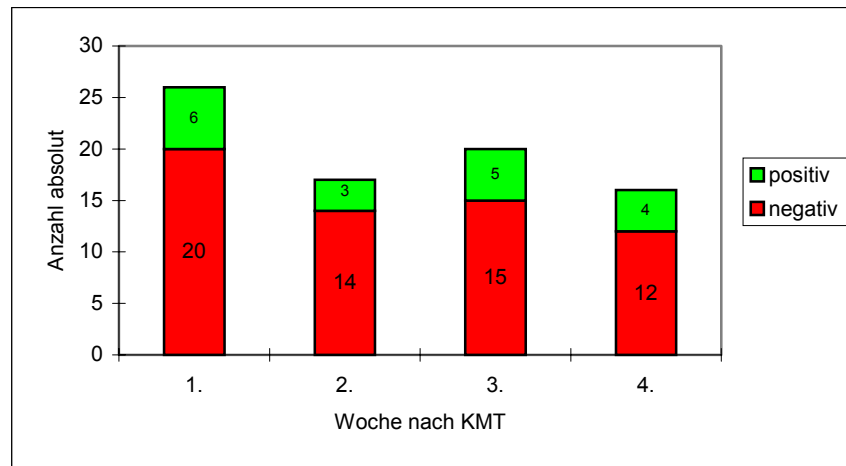


Abb. 5: Anteil intestinaler Kulturen/ Woche nach einer KMT, sowie Angabe des positiven und negativen Befundanteils

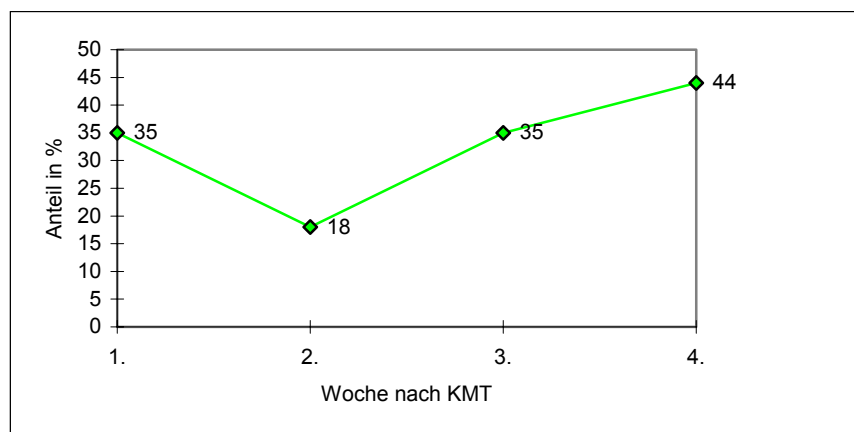


Abb. 6: Anteil der Patienten (in %)/ Woche nach einer KMT, die ein positives Ergebnis in den intestinalen Kulturen zeigten

In der zweiten Woche nach einer KMT konnte bei 37 % der Patienten eine positive Urinkultur gewonnen werden. Dagegen ergibt sich bei den intestinal erhobenen Befunden ein Maximum in der vierten Woche nach einer KMT (44 % der Patienten positiv).

3.3.2 Speziesverteilung

Von September 1992 bis Dezember 1993 wurde bei insgesamt 38 Patienten nach den KMTs (d. h., zusätzlich zu den 17 Patienten wurden die Daten von 21 weiteren KMT-Patienten ausgewertet) die Spezifik des Candida-Spektrums ermittelt. Untersucht wurden 915 Materialien. Die durchschnittliche Anzahl der kulturellen Einsendungen pro Patient lag bei $n=24$. In 107 Untersuchungen (11,7 %) gelang der direkte Erregernachweis. Abbildung 7 zeigt die Speziesverteilung bei 26 positiven Patienten (68,4 %) nach einer KMT. Bei 12 Patienten (31,6 %) wurden keine Sproßpilze nachgewiesen. Zur Gruppe mit positivem Pilznachweis gehören acht Patienten mit mehr als fünf Stammisolationen (5 mal *C. albicans*, 2 mal *C. glabrata*, 1 mal *C. albicans* + *C. glabrata*). Die Struktur des Candida-Spektrums in Abhängigkeit von der Isolationsfrequenz ist auf Abbildung 8 dargestellt. Erwartungsgemäß dominiert im Erregerspektrum *C. albicans* (62,6 %), gefolgt von *C. glabrata* mit 33,7 %. Andere Candida-Spezies sind demgegenüber bedeutungslos. Ungeachtet des Selektionsvorteils von *C. krusei*, aufgrund sehr hoher minimaler Hemmkonzentrationen gegenüber dem bei diesen Patienten zur Prophylaxe von Pilzinfektionen oft eingesetzten Fluconazol, ist diese Art kein einziges mal nachgewiesen worden. Der ungewöhnlich hohe Anteil von *C. glabrata* weist jedoch auf die Wirkung solcher Mechanismen hin, da auch dieser Erreger eine im Vergleich zu *C. albicans* eine etwa 10-fach höhere minimale Hemmkonzentration gegenüber Fluconazol besitzt.

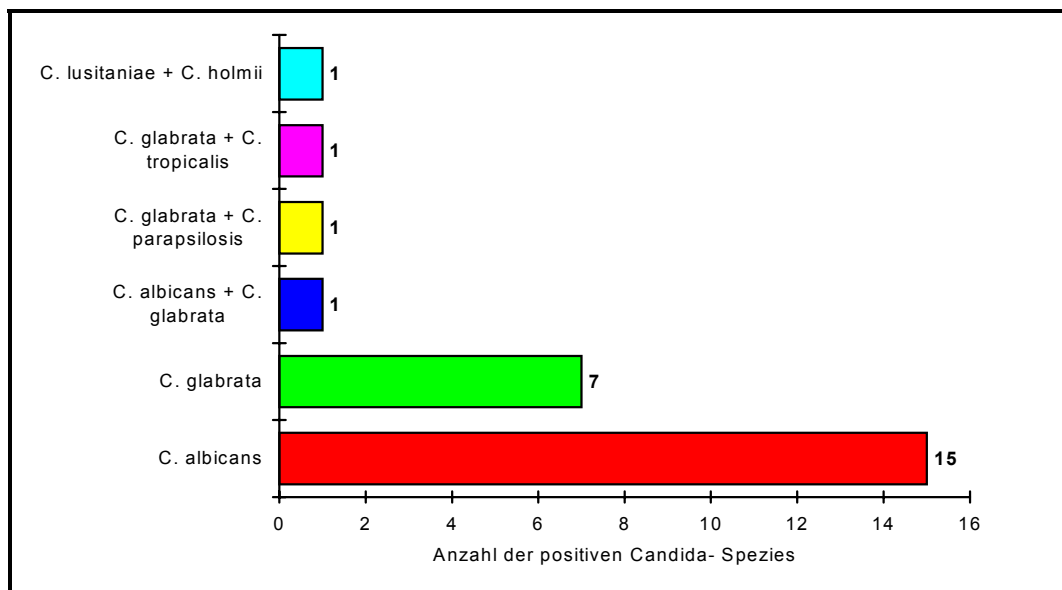


Abb. 7: Speziesverteilung bei 26 Patienten (von 38 untersuchten Patienten) nach den KMTs von September 1992 bis Dezember 1993

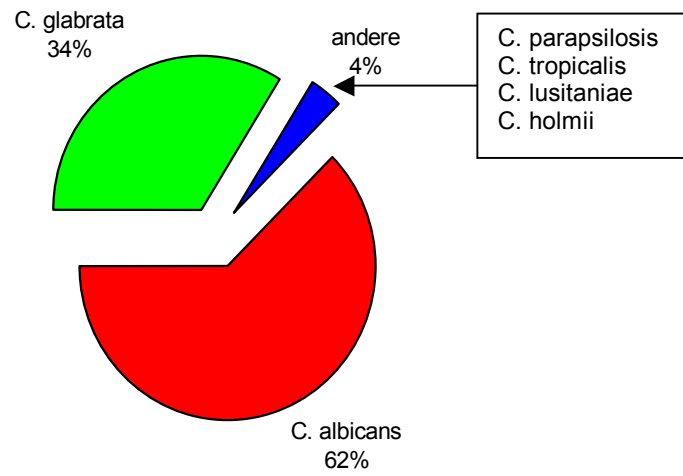


Abb. 8: Darstellung des Candida-Spektrums in Abhängigkeit von der Isolationsfrequenz (in %)

3.4 Serologische Ergebnisse

3.4.1 *Candida* Antikörper- und -Antigenbefunde

Candida-Antikörpernachweis (Candida-HAT-Test)

Der Verlauf der Antikörpertiter der einzelnen Patienten im Beobachtungszeitraum wurde mit dem indirekten Hämagglutinationstest festgestellt. Als positiv wurden alle Patienten eingeordnet, die entweder eine Serokonversion oder einmalig einen Antikörpertiter von $\geq 1:640$ im HAT aufwiesen. Als Serokonversion wird die Umwandlung einer negativen in eine positive Antikörperreaktion, das heißt ein signifikanter Titeranstieg um mindestens drei Stufen, bezeichnet. Von 167 Seren wiesen 35 % der Proben einen erhöhten Antikörpertiter bzw. eine Serokonversion auf (Abbildung 9).

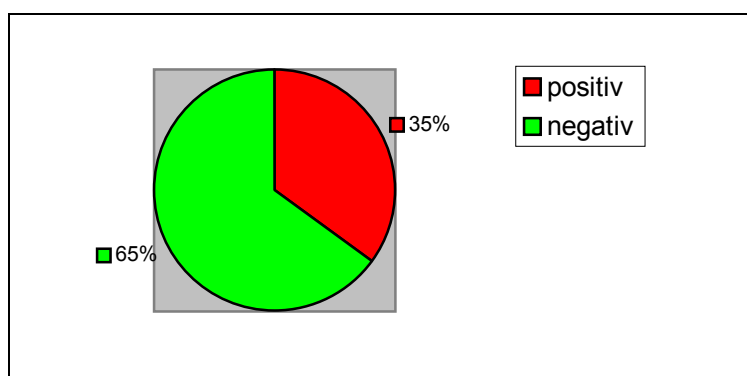


Abb. 9: Nachweis *Candida*-spezifischer Antikörper mittels HAT bei 17 Patienten nach den KMTs, positiv entspricht einer Serokonversion (Titeranstieg um drei Stufen) oder einem HAT $\geq 1:640$

Candida- Antigennachweisverfahren (Candida-Ramco[®]-Test)

Von 157 untersuchten Seren der 17 KMT-Patienten konnten in 19 Seren (12 %) Antigene im Ramco[®]-Test nachgewiesen werden. Als positiv wurden Seren bewertet, die in einer Verdünnung von $\geq 1:4$ eine Agglutination bewirkten (Abbildung 10). Titerstufen von 1:4 stellen noch keine eindeutige Pilzinfektion dar, müssen aber als Grenztiter betrachtet werden und fordern weitere Untersuchungen im kurzfristigen Intervall. Vier der 17 Patienten (23,5 %) zeigten im Verlauf ein- oder mehrmalig einen positiven Antigennachweis, gewertet ab einer Titerstufe von $\geq 1:8$ (4 Proben 1:8, 2 Proben 1:16).

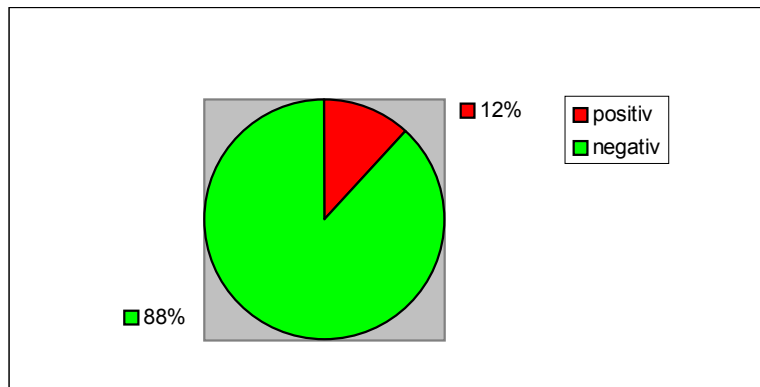


Abb. 10: Antigennachweis mittels Candida-Ramco®-Test in 157 untersuchten Seren bei 17 Patienten nach einer KMT, als positiv wurden Titerstufen ab 1:4 gewertet

Als weiteres Candida-Antigen-Nachweisverfahren wurde der Pastorex®-Test zusätzlich herangezogen. So wurden im Untersuchungszeitraum 123 Seren simultan mit beiden Nachweisverfahren getestet.

Bei fünf der 17 untersuchten Patienten war übereinstimmend mindestens einmalig im Verlauf Candida-Antigen sowohl mittels Candida-Ramco®-Test als auch Candida-Pastorex®-Test nachweisbar (Wertung ab einer Titerstufe $\geq 1:4$). Jeweils drei Patienten zeigten im Verlauf einen positiven Antigennachweis ausschließlich im Pastorex®-Test ab einer Titerstufe $\geq 1:8$ (3 Proben 1:8, 2 Proben 1:16). In diesen Verläufen zeigte der Ramco®-Test nur eine Agglutination in der Titerstufe von 1:4 an.

3.4.2 *Aspergillus* Antikörper- und -Antigenbefunde

Aspergillus-Antikörpernachweisverfahren (Aspergillus-HAT-Test)

Im Beobachtungszeitraum der KMT-Patienten wurden insgesamt 57 Seren auf das Vorliegen Aspergillus-spezifischer Antikörper untersucht. Als Nachweisverfahren wurde der indirekte Hämagglutinationstest genutzt. Während des Untersuchungszeitraumes wies kein Patient ein positives Ergebnis auf, das heißt es konnte weder ein Antikörpertiter von $\geq 1:640$ bzw. eine Serokonversion (entspricht einem signifikantem Titeranstieg um mindestens drei Stufen) verzeichnet werden.

Aspergillus-Antigennachweisverfahren (Aspergillus-Pastorex®)

Der neu eingeführte Aspergillus-Pastorex®-Test kam bei den Patienten nach einer KMT nur in Stichproben zur Anwendung, so daß sich nur relativ wenige Untersuchungszahlen ergeben. Von den 32 untersuchten Seren wiesen alle ein negatives Ergebnis, auch unter Beachtung von Grenztitern von 1:4, auf.

3.4.3 KMT- und ITS-Patienten im Vergleich

Zusätzlich zu den 17 komplex ausgewerteten Patienten mit hämatologischer Grundkrankheit und anschließender KMT wurden die serologischen Daten der Jahre 1992 und 1993 aller Patienten nach den KMTs analysiert. Daraus ergibt sich, daß als Basis für die serologischen Auswertungen 34 Patienten nach den KMTs im Jahr 1992 und 37 Patienten im Jahr 1993 zur Verfügung standen. Als Vergleichsgruppe wurden Patienten aus einem anderen Risikobereich für systemische Mykosen gewählt, der Intensivmedizin (n=365 im Jahr 1992, n=475 im Jahr 1993).

In der Abbildung 11 werden die Antigen- bzw. Antikörperbelastungen beider Patientengruppen gegenübergestellt. Die Patienten nach den KMTs zeigen deutlich weniger positive Befunde im Candida-Ramco[®]-Test (Titer $\geq 1:8$) gegenüber den ITS-Patienten. Das bedeutet, die Antigenbelastung der KMT-Patienten ist gegenüber der Vergleichsgruppe nur halb so hoch, trotz höherer Untersuchungszahlen. Dagegen gibt es bei den Antikörpertests kaum nennenswerte Differenzen zwischen beiden Patientengruppen. Bemerkenswert ist der Unterschied in den Jahrgängen 1992 und 1993, der sich im deutlichen Rückgang der positiven Antikörpertests beider Jahre zeigt.

Die Antigenverläufe beider Patientengruppen sollen noch detaillierter untersucht werden. In der Abbildung 12 werden die positiven Candida-Antigen-Tests (Ramco[®]) beider Patientengruppen in die Titerstufen von 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 und 1:64 aufgegliedert. Fast kein KMT-Patient hatte eine Antigenbelastung von $>1:32$, bis auf einen Patienten (entspricht 2 %) im Jahr 1993. Titer von 1:64 wurden von dieser Patientengruppe dagegen niemals erreicht. In den Diagrammen 15 und 16 wurden auch Grenztiter von 1:4 mit berücksichtigt. In dieser Titerstufe liegen die KMT-Patienten prozentual deutlich höher, bedingt durch eine eindeutige Verlagerung zu Gunsten niedrigerer Titerstufen. Durch Differenzen in der Anzahl durchgeführter Tests (ca. 20 Tests/ KMT-Patient, gegenüber ca. 9 Tests/ ITS-Patient), muß es zwangsläufig auch zu einer Zunahme positiver Ergebnisse kommen. Grenztiter von 1:4 stellen noch keine eindeutige Pilzinfektion dar, gaben aber Anlaß dazu den Abstand der Serumkontrollen zu verkürzen.

Eine geringere Pilzbelastung existiert bei den KMT-Patienten ebenfalls bei den kulturell erhobenen Daten. Der Anteil positiver Kulturen liegt bei den ITS-Patienten bei ca. 80,3 % (ohne intestinale Befunde), dagegen bei KMT-Patienten nur bei ca. 35 %. Selbst bei Berücksichtigung intestinaler Befunde, sind nur 70 % aller Kulturen bei den KMT-Patienten positiv.

Nachfolgend sollen die mykologischen Kulturen unterteilt nach oralen-, intestinalen- und Urinbefunden, im wöchentlichen Intervall, dargestellt werden. Innerhalb dieses Untersuchungszeitraumes (erste bis vierte Woche nach einer KMT) fielen 282 Proben zur kulturellen Diagnostik an, davon zeigten 36 ein positives Ergebnis. In den Abbildungen 3-6 wird die Verteilung für die intestinalen- und Urinbefunde grafisch dargestellt. Zum anderen wird der Anteil der Patienten (in %) mit positivem mykologischem Ergebnis/ Woche nach der KMT demonstriert. Aufgrund einer nur geringen Anzahl positiver Ergebnisse bei den oral gewonnenen Materialproben, wurde auf eine differenziertere Darstellung verzichtet (insgesamt 94 Proben, davon 2 Proben in der ersten Woche positiv).

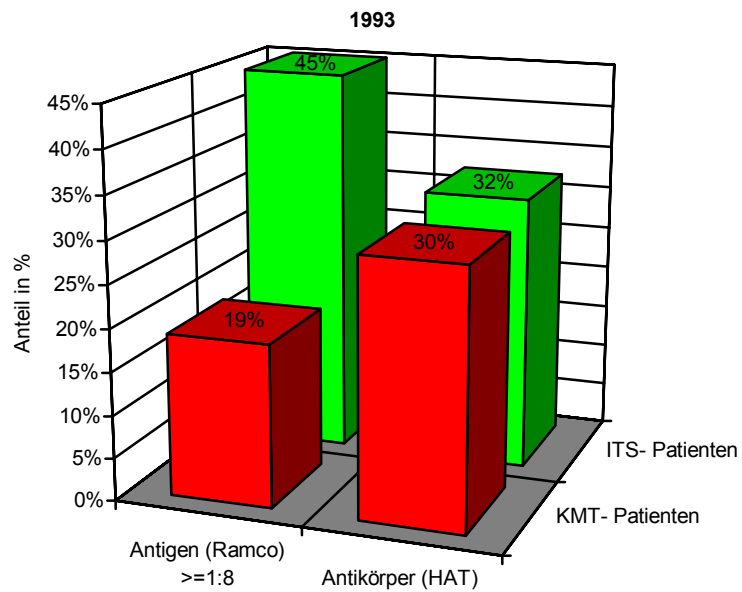
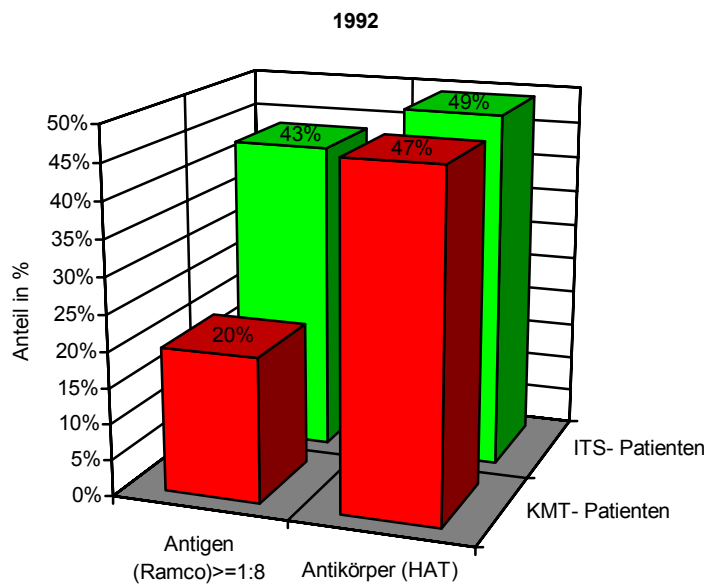


Abb. 11: Anteil der Patienten (in Prozent), die einen positiven Antigen- oder Antikörperbefund zeigen (ein positiver Antikörperbefund wird ab einer Titerstufe von 1:160 oder ein Anstieg um drei Stufen gewertet), für die Jahre 1992 (KMT-Patienten n=34, ITS-Patienten n=365) und 1993 (KMT-Patienten n=37, ITS-Patienten n=475)

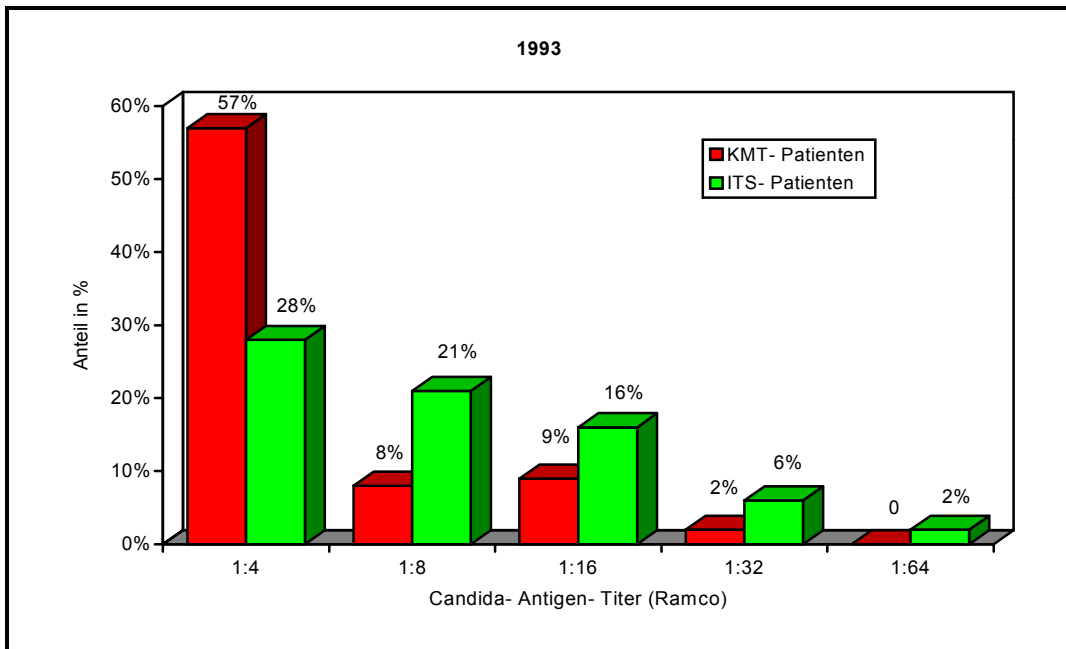
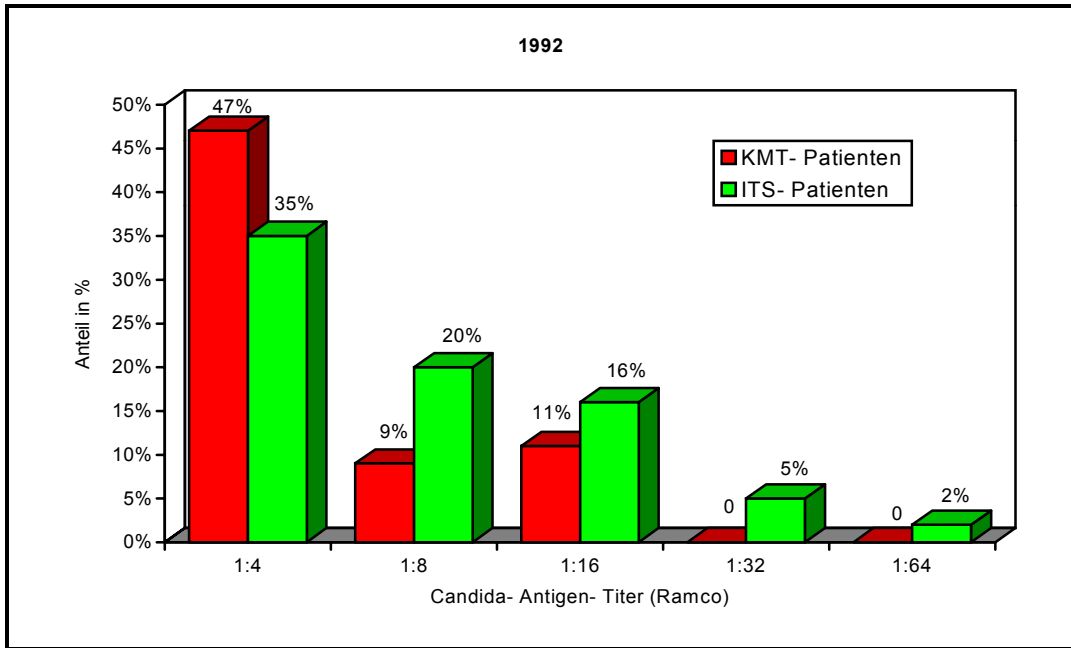


Abb. 12: Anteil der Patienten (in %), die als Maximaltiter im Candida-Ramco®-Test Titerstufen zwischen 1:4 und 1:64 erreichten, für die Jahre 1992 (KMT-Patienten n=34, ITS-Patienten n=365) und 1993 (KMT-Patienten n=37, ITS-Patienten n=475)

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß KMT-Patienten, trotz Reduzierung ihrer Immunabwehr, gegenüber der Vergleichsgruppe aus dem Intensivtherapiebereich eine viel geringere Pilzbelastung aufwiesen. Das wurde sowohl serologisch durch den Antigennachweis, als auch durch kulturelle Untersuchungen festgestellt. Die wichtigsten Instrumente zur Verhinderung von systemischen Mykosen sind ein umfangreiches Antipilzregime, was zum einen eine antimykotische Prophylaxe und Therapie beinhaltet, zum anderen ein konsequentes diagnostisches Monitoring fordert.

In der Abbildung 13 werden die Inanspruchnahmen der Candida- und Aspergillus-HAT-Tests (Antikörpertests) der Patienten nach den KMTs für die Jahre 1992 und 1993 demonstriert. Aus den Diagrammen läßt sich die Notwendigkeit der Diagnostik einer Aspergillusinfektion bereits im Vorfeld, an Hand der rasanten Zunahme der durchgeführten Aspergillus-HAT-Tests, ablesen. Die Anzahl der angeforderten Untersuchungen wurde auf fast das 10-fache bis 1993 gesteigert. Gleichzeitig kam es zu einer Verdoppelung der Aspergillus-Antigen-Tests (Abbildung 14). Der erhöhte Einsatz dieser Tests läßt sich wie folgt erklären: 1992 wurden nur bei Verdacht auf eine Aspergillusinfektion Proben gezielt untersucht. Im weiteren Verlauf wurde die Dringlichkeit einer frühzeitigen Diagnostik mehr und mehr erkannt, u. a. wurde der neu entwickelte Aspergillus-Antigen-Test zunehmend in die Laborroutine aufgenommen.

Dieses veränderte Management zur Feststellung einer Pilzinfektion ist besonders bei Risikopatienten, und hier vor allem Patienten mit reduzierter Infektabwehr zu fordern.

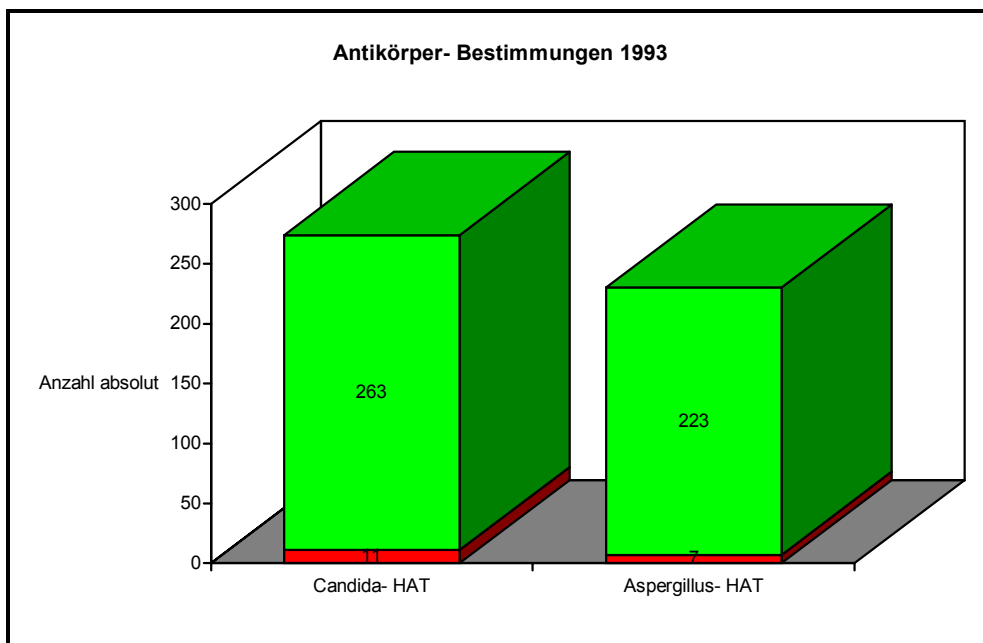
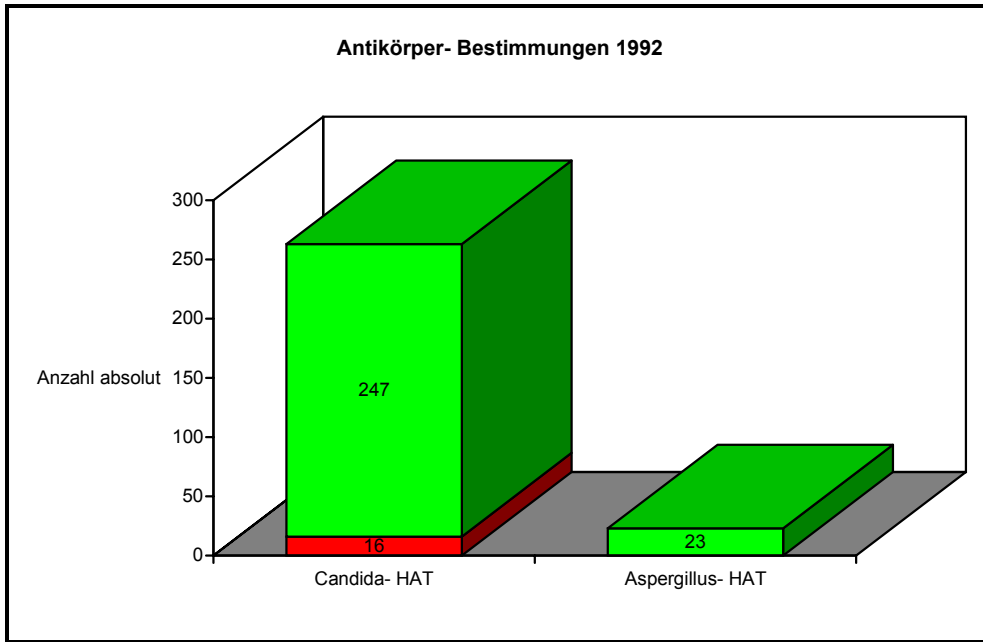


Abb. 13: Anzahl der Antikörperbestimmungen mit Darstellung des positiven Anteils (hier rot dargestellt) bei Patienten nach einer KMT, für das Jahr 1992 (n=34), und 1993 (n=37). Ein positiver Antikörperbefund wurde ab einer Titerstufe von 1:160 oder ein Anstieg um drei Stufen gewertet

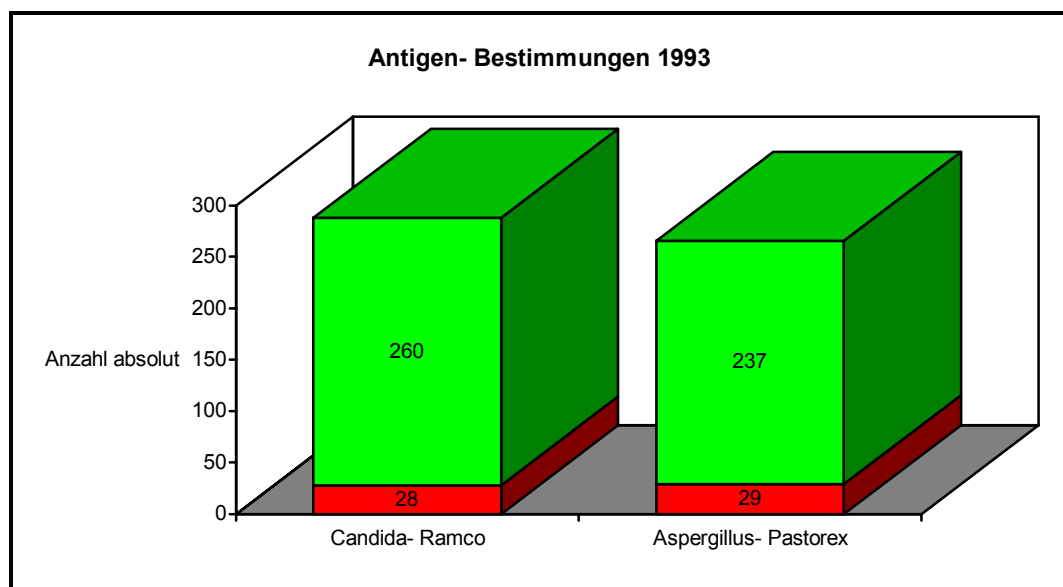
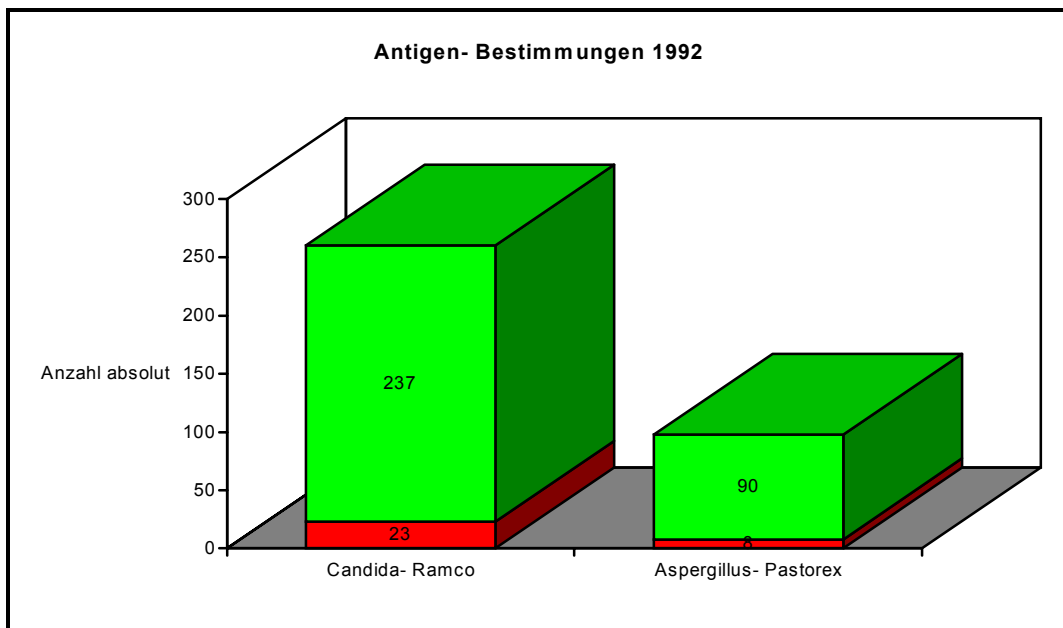


Abb. 14: Anzahl der Antigenbestimmungen mit Darstellung des positiven Anteils (hier rot dargestellt) bei Patienten nach einer KMT für die Jahre 1992 (n=34) und 1993 (n=37). Ein positiver Antigenbefund wurde ab einer Titerstufe von 1:4 gewertet

3.5 Prophylaxe und Therapie mykotischer Infektionen

Vom ersten Tag der stationärer Aufnahme an, erhielten alle 17 Patienten vor geplanter KMT, zur Prophylaxe mykotischer Infektionen, Amphotericin B Tabletten (Ampho-Moronal®).

Danach stellte sich eine Dreiteilung der Patienten im Hinblick auf die weitere antimykotische Prophylaxe und Therapie ein.

Fünf Patienten, die alle 1991 knochenmarktransplantiert wurden, erhielten vor der KMT eine Umstellung der Medikation von Ampho-Moronal® auf Fluconazol (Diflucan®). Nach der KMT erfolgte eine antimykotische Prophylaxe und Therapie nur mit Diflucan®. Eine zusätzliche Therapie mit Amphotericin B parenteral in hoher Dosierung war bei zwei Patienten (B. Ch.; K. S.) unumgänglich, da der Verdacht auf eine tief lokalisierte Mykose bestand. Beide Patienten verstarben, trotz dieser hoch dosierten antimykotischen Therapie (Tabelle 4 a).

Sechs Patienten erhielten zur Prophylaxe nur Ampho-Moronal®, bis zum Tag der KMT. Bei drei Patienten wurde nach der KMT auf Diflucan® umgestellt und die anderen drei Patienten bekamen Ampho-Moronal® und Diflucan® in Kombination (Tabelle 4 b). Bei diesen Patienten zeigten sich vor und nach ihrer KMT relativ niedrige Candida-Ramco®- und HAT-Titer und auch eine geringe Besiedelung der eingesandten Materialien, zur kulturellen Diagnostik, mit Pilzen. Ein Patient (T. H.-J.) aus dieser Therapiegruppe verstarb bereits kurze Zeit nach seiner KMT an einem akuten Nierenversagen. Zeichen einer Infektion boten sich weder klinisch, noch kulturell oder serologisch.

Eine Kombinationstherapie von Ampho-Moronal® und Diflucan® bekamen sechs Patienten vor und nach ihrer KMT. Ampho-Moronal® wurde zwischen dem zweiten und 16. Tag nach der KMT bei drei Patienten abgesetzt, so daß die weitere Therapie nur mit Diflucan® fortgesetzt wurde. Bei diesen Patienten traten bereits vor der KMT hohe Candida-Ramco®, Candida-HAT-Titer und eine Vielzahl positiver Pilzkulturen auf (sogenannte high risk Patienten). Aus diesem Grund entschloß man sich zu einem Einsatz von Diflucan® bereits vor der KMT (Tabelle 4 c). Trotz dieser schlechten Ausgangsbedingungen konnte man bei diesen Patienten einen relativ günstigen Verlauf beobachten. Der Einsatz von Amphotericin B parenteral wurde bei einer Patientin, bei klinischem und radiologischem Verdacht auf eine interstitielle Pneumonie mit positivem Candida-Nachweis in der Kultur und Serologie (Candida-Ramco®-Titer von 1:8), zusätzlich notwendig (I. F.). Eine Patientin verstarb an einer autoptisch bestätigten intrazerebralen Blutung (K. K.).

In der Tabelle 4 a- c sind die drei verschiedenen Therapieformen mit Antimykotika, der Ausgang der Infektion und die Besiedelung des Anorektums mit Pilzen nach den KMTs dargestellt. Auffällig ist die Hefebesiedelung des Anorektums bei den Patienten, die bereits vor einer KMT eine Pilzprophylaxe mit Amphotericin (oral) und Diflucan® benötigten. Bei vier von fünf Patienten wurden noch drei bis fünf Wochen nach ihrer KMT positive Pilzkulturen im Stuhl oder Anus nachgewiesen.

Interessant sind die Krankheitsverläufe der Patientengruppe, die vor ihrer KMT nur mit Ampho-Moronal® behandelt wurden.

Ihre gute Ausgangslage (fast ausschließlich negativer Pilzstatus in der Kultur und Serologie) spiegelte sich auch nach den KMT's wieder. Ein positiver kultureller Pilznachweis, später als drei Wochen nach ihrer KMT, gelang nicht.

Tab. 4: a- c Antimykotische Prophylaxe und Therapie vor und nach einer KMT; (Ampho-M.=Ampho-Moronal[®], Amphot. B=Amphotericin B parenterale Gabe, Fluc.= Fluconazol), die Angaben in Klammern entsprechen der Dauer der Behandlung (in Tagen);

* verstorbene Patienten

| Patient | Vor KMT | Nach KMT | Pilzkultur |
|---|---|---|--|
| a) W. D. Sch. I. R. A. B. Chr.* K. S.* | Ampho-M. (8) → Fluc. (11) Ampho-M. (2) → Fluc. (5) Ampho-M. (3) → Fluc. (5) Ampho-M. (4) → Fluc. (4) Ampho-M. (3) → Fluc. (11) | Fluc. (27) Fluc. (17) Fluc. (45) Fluc. (14) + Amphot. B (2) Fluc. (19) + Amphot. B (11) | 3. Woche Hefen Rektum 3. Woche Candida Anus |
| b) T. R.- D. T. C. S. M. T. H.-J.* H. I. M. F. | Ampho-M. (8) Ampho-M. (11) Ampho-M. (10) Ampho-M. (9) Ampho-M. (14) Ampho-M. (10) | Ampho-M. (31) + Fluc. (12) Ampho-M. (38) + Fluc. (28) Ampho-M. (21) + Fluc. (40) Ampho-M. (4) → Fluc. (4) Ampho-M. (15) → Fluc. (31) Ampho-M. (2) → Fluc. (10) | |
| c) K. K.* K. M. D. A. B. P. S. F. I. F. | Ampho-M. (8) + Fluc. (5) Ampho-M. (10) + Fluc. (7) Ampho-M. (8) + Fluc. (3) Ampho-M. (11) + Fluc. (10) Ampho-M. (9) + Fluc. (6) Ampho-M. (8) + Fluc. (5) | Ampho-M. (9) + Fluc. (21) Ampho-M. (28) + Fluc. (28) Ampho-M. (2) + Fluc. (15) Ampho-M. (33) + Fluc. (33) Ampho-M. (16) + Fluc. (24) Ampho-M. (40) + Fluc. (21) + Amphot. B (8) | 5. Woche Candida Stuhl 3. Woche Candida Anus 5. Woche Hefen Anus 4. Woche Candida Stuhl |

In der Tabelle 5 sind die Indikationen der parenteralen Amphotericin B Therapie für drei Patienten zusammenfassend dargestellt. Der Verlauf der Infektion endete bei zwei Patienten letal (zu den klinischen und autoptischen Todesursachen siehe Kapitel 3.8.).

Tab. 5: Indikationen der parenteralen Amphotericin B Therapie, Bestätigung einer Pilzinfektion durch die Kultur oder Serologie, sowie Ausgang der Infektion
+ positiver Befund

| Patient | Fieber | Indikation | Bestätigung durch Tests | Ausgang |
|---------|--------|---|--|-------------|
| K. S. | + | Verdacht auf interstitielle Pneumonie | Candida-HAT 1:160 | letal |
| B. C. | + | Schlechter Allgemeinzustand, rechte Lunge abgeschwächtes Atemgeräusch, blutiger Auswurf | Candida albicans im Stuhl, Vaginal- und Rektalabstrich | letal |
| I. F. | + | Verdacht auf interstitielle Pneumonie | Candida-Ramco® 1:8 Candida albicans im Stuhl, Vaginalabstrich, Urin | nicht letal |

3.6 Korrelation zu Ausmaß der Neutropenie und klinischer Symptomatik

3.6.1 Der Einfluß des Ausmaßes der Neutropenie auf den Krankheitsverlauf

Vergleicht man die Anzahl neutrophiler Granulozyten der Patienten nach ihrer KMT in Abhängigkeit vom Verlauf, zeigen sich deutliche Unterschiede. Bei der Ermittlung der durchschnittlichen Werte der Granulozyten der verstorbenen (n=4) und nicht verstorbenen Patienten (n=13)/ Woche nach ihrer KMT, liegt die Anzahl der Granulozyten der verstorbenen Patienten zu jedem Zeitpunkt deutlich niedriger (Tabelle 6).

Tab. 6: Verlauf der neutrophilen Granulozyten der verstorbenen und nicht verstorbenen Patienten/ Woche nach ihrer KMT

| | Granulozyten [Gpt/l] | | | | |
|------------------------------------|----------------------|----------|----------|----------|----------|
| | 1. Woche | 2. Woche | 3. Woche | 4. Woche | 5. Woche |
| Nicht verstorbene Patienten (n=13) | 0,36 | 0,50 | 0,60 | 1,20 | 1,55 |
| Verstorbene Patienten (n=4) | 0,19 | 0,20 | 0,36 | - | - |

Eine zweite Besonderheit ergibt sich aus dem Verlauf der Granulozyten der verstorbenen Patienten. Drei der vier verstorbenen Patienten hatten eine stark ausgeprägte Neutropenie. Bei ihnen ging die Anzahl der neutrophilen Granulozyten im peripheren Blut bis auf null zurück. Alle anderen Patienten wiesen ebenfalls einen starken Rückgang dieser Blutzellen auf, ein Absinken bis auf null wurde hier jedoch nicht verzeichnet (Abbildung 15).

Bei zwei der nicht verstorbenen Patienten, beide hatten länger als drei Wochen Fieber, kam es nach der KMT nur zu einem zögerlichen Anstieg der neutrophilen Granulozyten auf über 0,5 Gpt/l. Zeitgleich bestand der Verdacht auf eine Pilzinfektion, da ein Candida-Ramco[®]-Titer von 1:4 bzw. 1:8 in Kombination mit Fieber vorlag.

Patient S. F.: Ramco[®]-Titer 1:4, Fieber bis 40 °C (2.-5. Woche nach der KMT), durchschnittliche Zahl der Granulozyten 0,4 Gpt/l in der vierten Woche nach seiner KMT.

Patientin I. F.: Ramco[®]-Titer 1:8, Fieber bis 40 °C (1.-4. Woche nach der KMT), durchschnittliche Zahl der Granulozyten 0,26 Gpt/l in der vierten Woche nach ihrer KMT.

Bei allen anderen Patienten kam es innerhalb der zweiten und dritten Woche nach den KMTs zu einem Anstieg der Granulozyten mit durchschnittlichen Werten von 0,5 Gpt/l. Spätestens in der vierten Woche nach den KMTs lag die Zahl der Granulozyten über 1,0 Gpt/l (Abbildung 15).

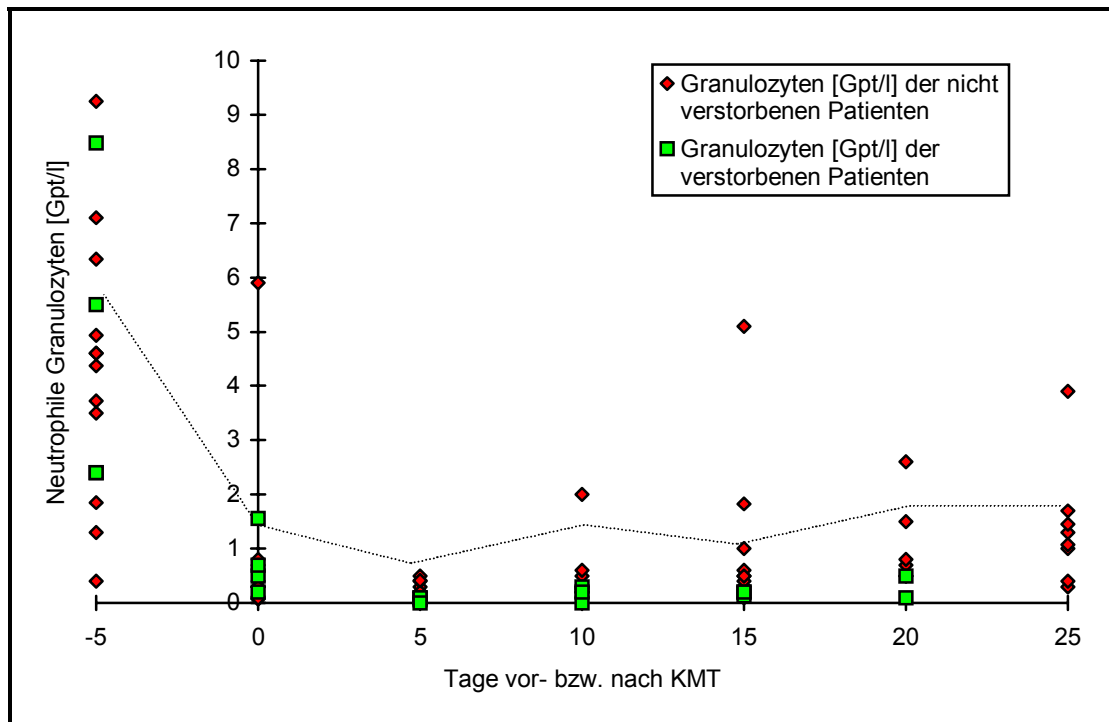


Abb. 15: Verlauf der neutrophilen Granulozyten vor und nach den KMTs der verstorbenen und nicht verstorbenen Patienten, die Linie gibt die Mittelwerte der neutrophilen Granulozyten aller Patienten/ Woche nach den KMTs an

3.6.2 Fieber als Leitsymptom bei Patienten nach der KMT

Fieber ist häufig das erste und wichtigste Symptom, das für eine Infektion spricht. Zwischen dem ersten und siebten Tag (im Durchschnitt nach vier Tagen) nach einer KMT wiesen 14 von 17 Patienten Temperaturen $>38,5$ °C auf. Die Fieberepisoden dauerten durchschnittlich sieben Tage (Minimum ein Tag, Maximum 19 Tage) an. Die beobachteten Fieberepisoden von acht Patienten traten nur in der ersten Woche nach ihrer KMT auf und verliefen nur sehr kurz und teilweise sehr heftig (Temperaturen bis 40 °C).

Bei den anderen sechs Patienten waren die Fieberverläufe wie folgt:

Eine Patientin (I. F.) hatte konstant, von der ersten bis zur vierten Woche nach der KMT, ein zweiter Patient (S. F.) von der zweiten bis zur fünften Woche nach der KMT Fieber, zeitgleich wurden Candida-Ramco[®]-Titer zwischen 1:4 und 1:8 nachgewiesen. Bei beiden Patienten kam es zu einem sehr langsamen Anstieg der neutrophilen Granulozyten im peripheren Blut auf über 0,5 Gpt/l (siehe auch Abs. 3.6.).

Bei den übrigen vier Patienten kam es zu einem Fieberanstieg bereits kurze Zeit nach ihrer KMT (Abbildung 16). Bemerkenswert ist hier der Temperaturverlauf vor Todeseintritt. Vor dem Tode sank das Fieber unter 38,5 °C bei drei Patienten. Der vierte Patient (I. H.-J.) verstarb eine Woche nach der KMT und der weitere Verlauf konnte bei ihm nicht mehr verfolgt werden. Nur seine Temperatur blieb bis zum Tode relativ konstant hoch.

Zusammenfassend betrachtet zeigten die Temperaturverläufe alle möglichen Profile: Milde Verläufe, sehr kurze Episoden erhöhter Temperatur und rezidivierende oder hartnäckige persistierende Fieberschübe.

Damit kann Fieber als alleiniges Kriterium zur Beurteilung der aktuellen infektiologischen Situation nicht ausreichen, da die Krankheitsverläufe der hier untersuchten Patienten heterogen sind. Eine genaue Identifizierung der Infektionsursachen mittels Erregernachweis und einer klinischen Verlaufsbeobachtung sind, wie in den vorhergehenden Kapiteln beschrieben, um so wichtiger. Dies wird dadurch bestätigt, daß bei 12 Patienten mit Fieber zeitgleich ein positiver mykologischer Erregernachweis erbracht wurde. Das gelang zu 50 % durch kulturelle Verfahren und zu 25 % mit serologischen Tests (Antigen- bzw. Antikörperrnachweise). Bei 25 % der Patienten wiesen die klinischen Symptome auf eine Pilzbesiedlung hin. Nur bei zwei Patienten gelang der übereinstimmende Nachweis einer Pilzinfektion durch die Klinik, Kultur und Serologie. Aus den vorgenannten Fakten entsteht die Forderung nach einer konsequenten antimykotischen und antibakteriellen Prophylaxe und Therapie.

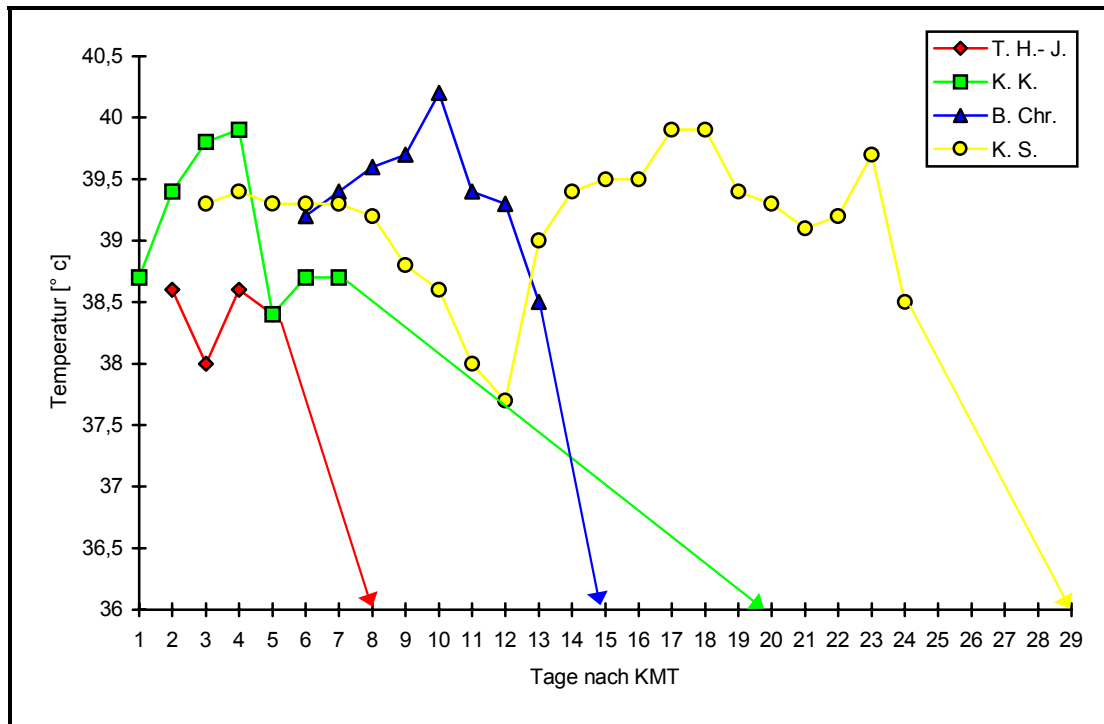


Abb. 16: Verlauf der Körpertemperatur von vier verstorbenen Patienten nach einer KMT, die Pfeile deuten auf ein starkes Absinken der Temperatur vor dem Todeseintritt hin

3.7 Infektiöse Komplikationen

Eine wichtige und häufige Komplikation nach einer KMT ist die pulmonale Manifestation von Candida- und Aspergillus-erregern und zwar in Form einer interstitiellen Pneumonie. Von den insgesamt 17 untersuchten Patienten kam es bei 12 Patienten nach ihrer KMT zur Ausbildung eines klinischen- und/ oder röntgenologischen pneumonischen Befundes. Zehn Patienten wiesen klinische Hinweise wie Dyspnoe, trockenen Husten, atemabhängige Schmerzen oder ein pathologischen Auskultationsbefund (verschärftes Atemgeräusch oder Rasselgeräusche) auf. Bei acht Patienten wurde der Verdacht auf eine Pneumonie durch typische bzw. vereinbare Veränderungen im konventionellen Röntgen-Thorax-Befund untermauert. Die röntgenologischen Lungenbefunde wechselten zwischen interstitiellen Infiltraten und ausgedehnten Verschattungen (6 Patienten hatten Infiltrate, davon hatten 2 Patienten später eine Verschattung, 2 Patienten wiesen eine primäre Verschattung auf).

Die spät nach einer KMT diagnostizierten Lungeninfiltrate gestalteten die weitere Prognose sehr ungünstig. Es traten bei zwei Patienten erst am 18. und am 23. Tag nach ihrer KMT Lungeninfiltrate auf. Der weitere Krankheitsverlauf war bei einer Patientin besonders dramatisch (K. S.). Etwa zwei Wochen nach ihrer KMT kam es zu Husten und einer Ruhedyspnoe in Verbindung mit Fieber $>39\text{ }^{\circ}\text{C}$. Im Röntgen-Thorax-Befund wurde ein Infiltrat rechts lateral diagnostiziert, so daß daraus der Verdacht auf eine interstitielle Pneumonie abgeleitet wurde. Zeitgleich konnte serologisch ein Candida-Antikörper-Nachweis (HAT) mit einem Titer von 1:640 (bereits vor ihrer KMT lag ein Candida-HAT-Titer von 1:1280 vor) erbracht werden. In den kulturellen Untersuchungen ergab sich ein positiver Candida-Nachweis aus dem vaginal- und Analabstrich. Das Vorliegen einer bakteriologisch bedingten Infektion konnte nicht belegt werden. Letztlich verstarb die Patientin 29 Tage nach ihrer KMT, trotz antimykotischer Kombinationstherapie mit Fluconazol und Amphotericin B. Von klinischer Seite diagnostiziert, verstarb die Patientin an einer Hypoxämie und Zeichen des Herz-Kreislauf-Versagens, jedoch liegt eine autopsische Bestätigung nicht vor.

In Verbindung mit einem reduziertem Allgemeinzustand kamen bei dem Patienten S. F. 23 Tage nach seiner KMT Lungeninfiltrate radiologisch zur Abbildung. Im serologischen Untersuchungsverfahren (Candida-Ramco[®]) lag ein Titer von 1:4 und dies an drei aufeinanderfolgenden Tagen vor. Gleichzeitig konnte ein Candida-HAT-Titer von 1:160 verifiziert werden. Beide Parameter fielen danach auf negative Werte ab. Aus dem Rektalabstrich gelang ein Hefenachweis. Hinweise für eine durch Bakterien induzierte Erkrankung lagen nicht vor. Der Nachweis einer Aspergillusinfektion gelang zu keinem Zeitpunkt. Als antimykotische Therapie wurde Ampho-Moronal[®] und Fluconazol gewählt. Der weitere Krankheitsverlauf war dann komplikationslos, die Lungeninfiltrate bildeten sich zurück und der Allgemeinzustand des Patienten besserte sich.

Bei fünf Patienten wurde eine Infektion mit Cytomegalie-Viren aufgezeigt, welche einen bedeutenden Einfluß auf die Entstehung der interstitiellen Pneumonie hat.

Von den 12 Patienten mit dem Verdacht auf eine pulmonale Infektion erhielten vier Patienten eine Konditionierungsbehandlung vor ihrer KMT mit Cyclophosphamid.

Alle vier Patienten zeigten klinische Hinweise auf eine pulmonale Mitbeteiligung, bei zwei Patienten ließen sich zusätzlich radiologisch Veränderungen diagnostizieren. Im Gegensatz dazu resultierte bei fünf Patienten eine Konditionierung vor den KMTs mit Cyclophosphamid in Kombination mit Bestrahlung. Alle fünf Patienten wiesen eine pulmonale Symptomatik auf, bei vier Patienten mußte ein pathologischer röntgenologischer Befund beschrieben werden. Drei Patienten erhielten entsprechend ihrer Grundkrankheit eine spezielle Konditionierungsbehandlung, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann. Bei einem Patienten bestätigte sich ein Infiltrat, gefolgt von einer Verschattung, je ein weiterer Patient wies nur ein Infiltrat oder klinische Symptome in Bezug auf eine pulmonale Infektion auf (Tabelle 7).

Tab. 7: Überblick über die Konditionierungsbehandlung, die Klinik und den Röntgen-Thoraxbefund von 12 KMT-Patienten, bei denen der Verdacht auf eine interstitielle Pneumonie vorlag, (B=Bestahlung, C=Cyclophosphamid, Ag=Atemgeräusch, RG=Rasselgeräusch, Infiltr.=Infiltrat, Versch.=Verschattung; L.G.=Lymphogranulomatose, M.H.=Morbus Hodgkin),
* besondere Konditionierungsbehandlungen, die nicht in dieser Abhandlung enthalten sind
+ positiver Befund

| Patient | Grundkrankheit | Konditionierung | Röntgen-Thoraxbefund | | Klinische Symptome | | | | | |
|----------|----------------|-----------------|-----------------------|----------------------|--------------------|---------|--------|----|---------------|-------|
| | | | Infiltr. (d nach KMT) | Versch. (d nach KMT) | Ag verschärft | Dyspnoe | Husten | RG | CMV-Infektion | letal |
| K. S. | L. G. | * | +(18) | +(18) | + | + | + | | + | + |
| I. F. | ALL | B + C | +(11) | | + | + | + | + | + | |
| S. F. | ALL | C | +(23) | +(48) | | | | + | | |
| S. M. | CML | * | +(34) | | | | | | | |
| T. C. | ALL | C | +(52) | | | + | | | | |
| B. K. | ALL | B + C | +(13) | | + | | | | | |
| Sch. I. | ALL | B + C | | +(8) | | | | | + | |
| H. I. | AML | B + C | | +(25) | | | | + | + | |
| T. H.-J. | ALL | C | | | | | | + | | + |
| M. F. | M. H. | * | | | | | | + | | |
| K. M. | AML | C | | | | | | + | | |
| K. K. | ALL | B + C | | | | | | + | + | + |

3.8 Letalität nach einer KMT

Innerhalb des Untersuchungszeitraumes verstarben vier, von den 17 untersuchten Patienten, zwischen dem achten und 29. Tag nach der KMT.

Der Patient T. H.-J. verstarb bereits acht Tage nach seiner KMT an einer hämorrhagischen Diathese. Bei ihm kam es ab dem sechsten Tag nach der KMT zu einer Zunahme des Bauchumfanges, zu Schmerzen in der Nierengegend, zu klein- bis mittelblasigen Rasselgeräuschen über der Pulmo und zur Oligurie. In der Urinkultur konnten Candida-Hefen nachgewiesen werden. Bei einer anderen Patientin (K. K.) trat der Tod 20 Tage nach ihrer KMT ein. Ein kultureller Nachweis von Hefen gelang auch hier aus vaginal-, Rektalabstrichen und Urinproben. Weiterhin konnten Ramco[®]-Antigen-Titer von 1:8 (zwei Tage vor dem Tod) und von 1:4 (ein Tag vor dem Tod) ermittelt werden. Die Candida-HAT-Titer schwankten zwischen 1:40 bis zu 1:160 von der ersten Woche nach der KMT bis zum Tod. Ebenfalls in der ersten Woche wurde eine CMV- und VZV-Infektion nachgewiesen. In der zweiten Woche nach der KMT war das CMV-Antigen nicht mehr nachweisbar. Die Patientin verstarb an einer cerebralen Blutung.

An einer Pseudomonas-aeruginosa-Sepsis und hämorrhagischen Diathese verstarb die Patientin B. Chr. 15 Tage nach ihrer KMT. Der Nachweis der Sepsis gelang erst autoptisch, indem die Erreger aus der Lunge, Milz, und Herzblut isoliert wurden. Zu Lebzeiten wurden einmalig Pseudomonas-Spezies aus dem Sputum abgegrenzt (zwei Tage vor dem Tod). Bereits drei Tage vor Todeseintritt stellten sich Blutungen aus der Nase und aus dem Darm ein. Als zusätzliche Komplikationen trat vor dem Tod ein akutes Nierenversagen ein, was nachfolgend zu einem Lungenödem führte.

Vor dem Tod der vierten Patientin (K. S.), stand ein pathologischer pulmonaler Befund klinisch im Vordergrund. In der dritten Woche nach ihrer KMT kam es zu Husten mit Temperaturen bis 39,9 °C über eine Woche. Röntgenologisch erschien rechts lateral und parakardial eine Verschattung, mit Anzeichen für ein Infiltrat. Daraus leitete sich der dringende Verdacht auf eine interstitielle Pneumonie ab. Nach ihrer KMT konnten dreimalig Candida-HAT-Titer von 1:640 ermittelt werden. Besonders erwähnt sei hier, daß die Patientin bereits vor der KMT Candida-HAT-Titer von 1:1280 aufwies. Eine Aufstellung über die klinischen und autoptischen Todesursachen gibt die Tabelle 8. Im Kontrast mit den vorgenannten kulturellen und serologischen Pilznachweisen, gelang ein autoptischer Beweis von Mykosen post mortem nicht.

Die grafische Darstellung der Candida Antigen- und Antikörpertiter verdeutlicht bei allen vier Patienten eine unterschiedlich intensive Auseinandersetzung mit Hefepilzen bis zum letalen Ausgang.

Tab. 8: Klinische und autoptische Todesursachen von vier verstorbenen Patienten nach den KMTs

| Patient | Tod (Tage nach KMT) | Todesursache | |
|----------|---------------------|--|--|
| | | klinisch | autoptisch |
| T. H.-J. | 8 | - akutes NV - generalisierte hämorrhagische Diathese - ALL | - Sinusknotenhämatom - hämorrhagische Diathese - ALL |
| K. K. | 20 | - Hirnblutung - Thrombozytopenie - ALL | - zerebrale Blutung - ALL |
| B. Chr. | 15 | - Lungenödem - akutes NV - akute undifferenzierte Leukämie | - hämorrhagische Diathese bei massiver Darmblutung - Pseudomonas-aeruginosa-Sepsis - akute undifferenzierte Leukämie |
| K. S. | 29 | - Hypoxämie - Zeichen des Herz-Kreislauf-Versagens - Lymphogranulomatose | - Daten waren nicht verfügbar |

In den Abbildungen 17-20 sind die Temperaturverläufe, Zahl der neutrophilen Granulozyten und Candida-Titer (HAT und Ramco[®]) für jeden verstorbenen Patienten dargestellt.

Wie bereits in den Kapiteln 3.1.1. und 3.2.1. erwähnt, zeigen die Verläufe von Temperatur und Granulozyten einige Besonderheiten.

- Die Granulozyten erreichen sehr niedrige Werte, die bis auf null zurückgehen.
- Ein Abfall der Fieberkurve auf <38,5 °C oder das Erreichen von Normalwerten vor dem Tod.

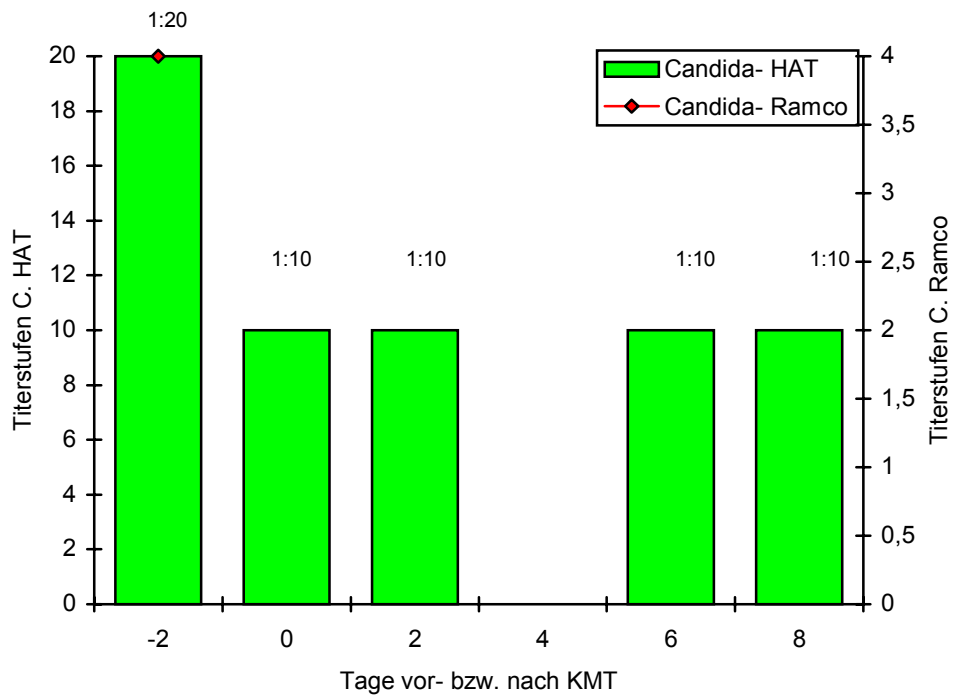
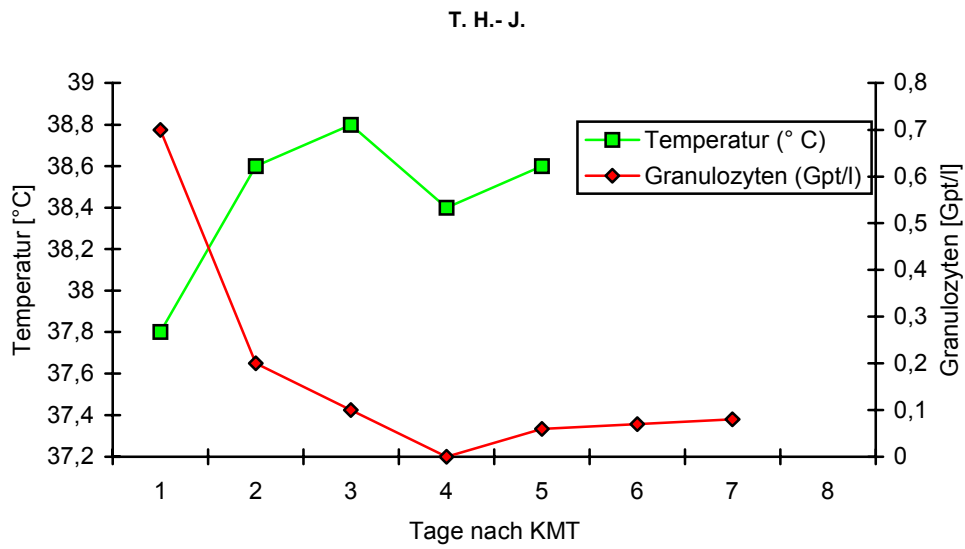


Abb. 17: Temperatur- und Granulozytenverlauf sowie Dynamik der Candida-Serologie des Patienten T. H.-J.

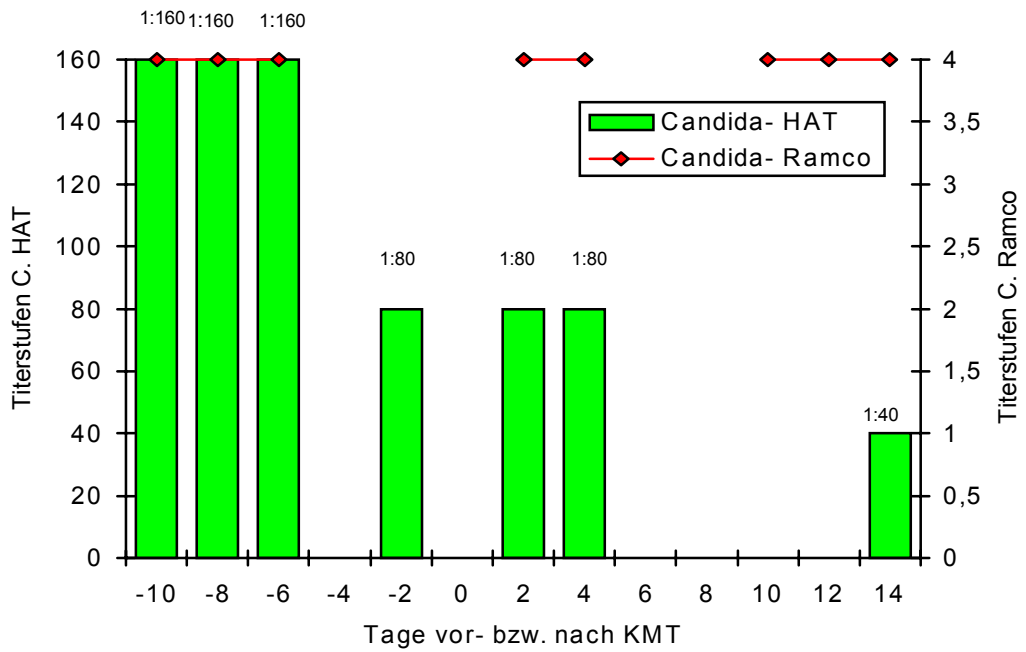
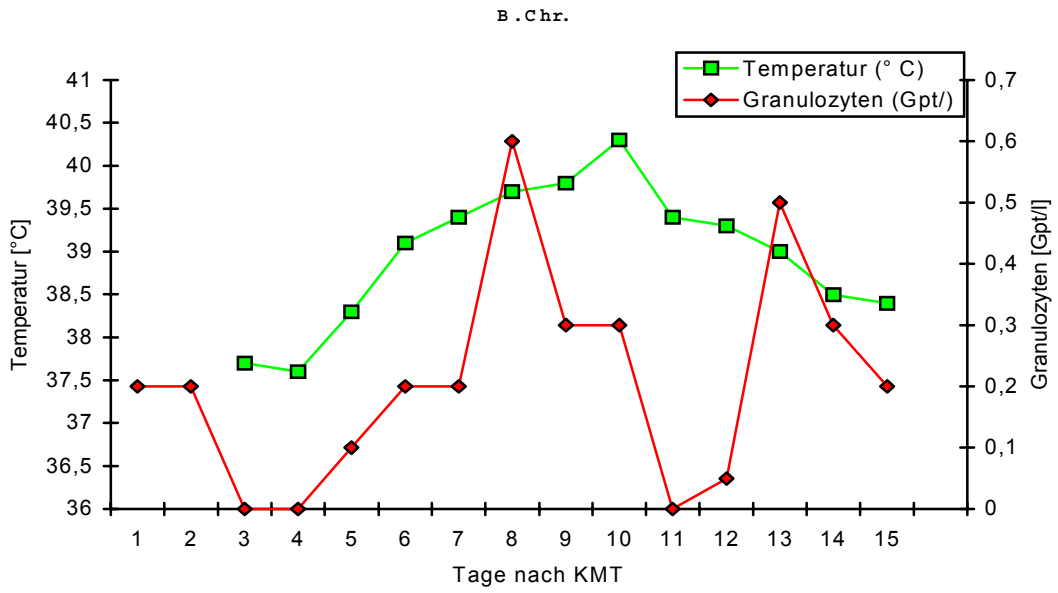


Abb. 18: Temperatur- und Granulozytenverlauf sowie Dynamik der Candida-Serologie der Patientin B. Chr.

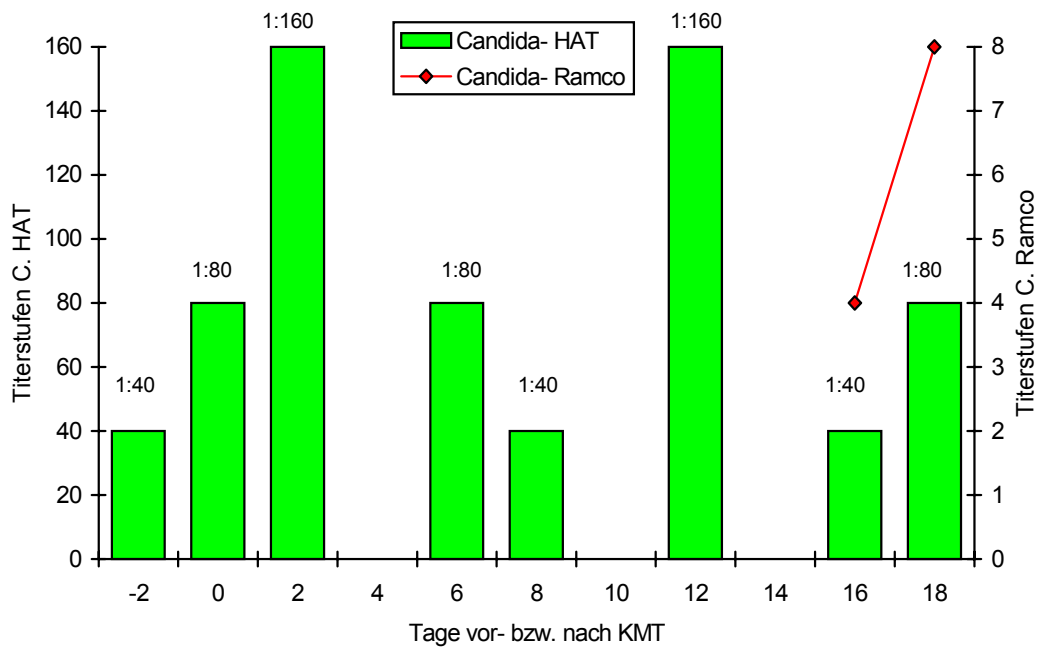
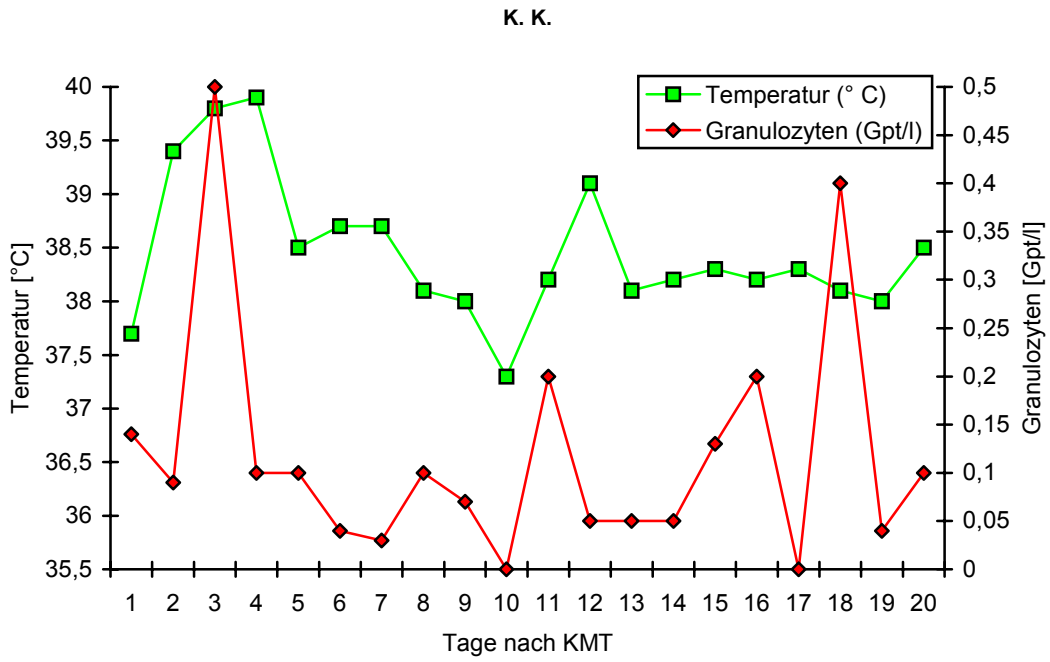


Abb. 19: Temperatur- und Granulozytenverlauf sowie Dynamik der Candida-Serologie der Patientin K. K.

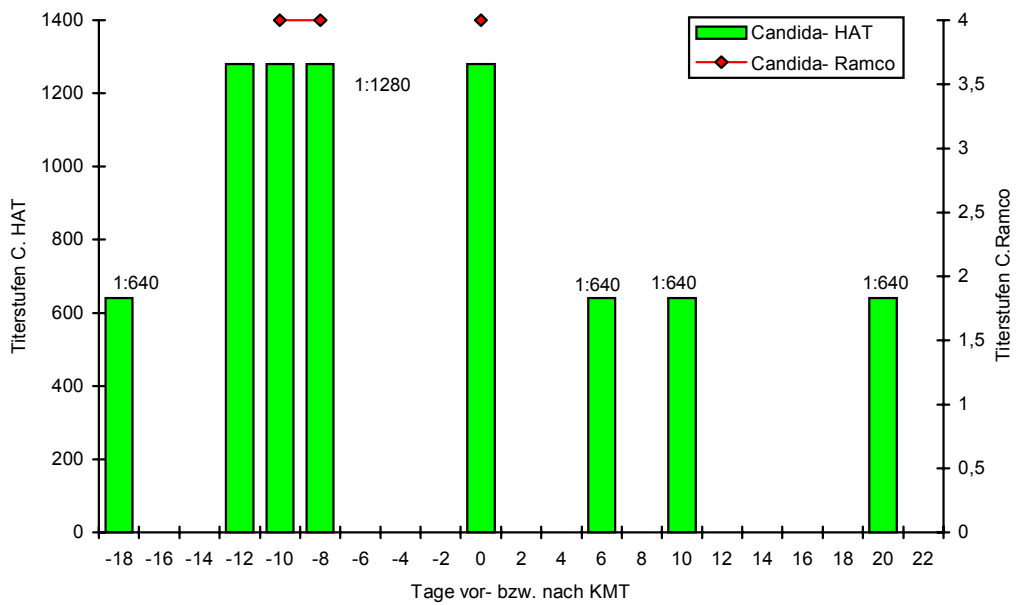
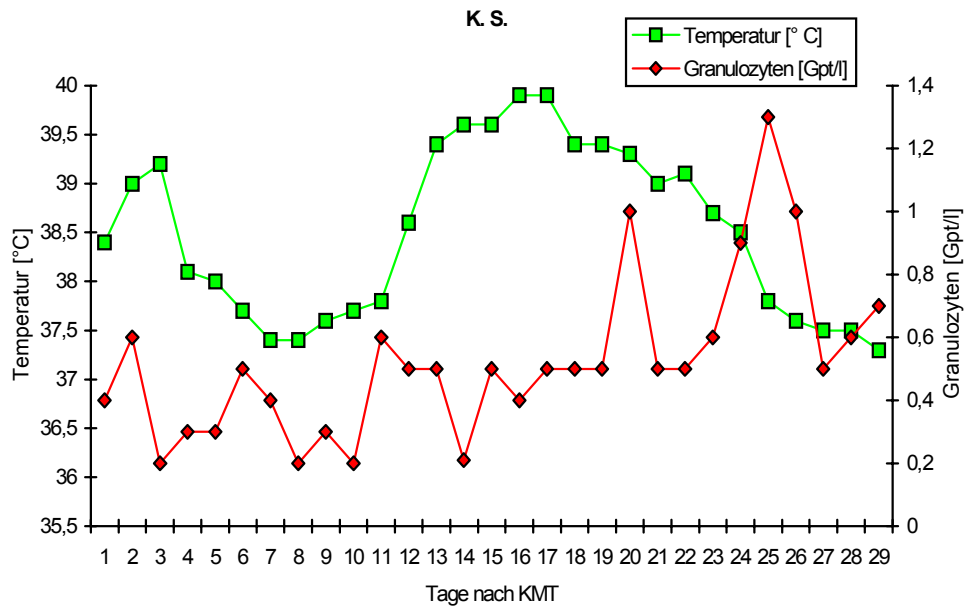


Abb. 20: Temperatur- und Granulozytenverlauf sowie Dynamik der Candida-Serologie der Patientin K. S.

3.9 Aspergillusinfektionen und Kasuistiken

Während dieser Untersuchungen gab es bei den 17 KMT-Patienten keine Hinweise für Aspergillusinfektionen. Parallel dazu wurde eine Vergleichsgruppe aus dem Intensivtherapiebereich gewählt, um bei ihnen die Genese und den Verlauf von Aspergillusinfektionen näher zu betrachten. Im Zeitraum von 20 Monaten zeigten acht von 235 Patienten eine manifeste Aspergillusinfektion. Bedingt durch ihre schweren Grundleiden, war bei diesen Patienten eine umfassende medikamentöse und chirurgische Therapie notwendig, unter anderem zwei erneute Lebertransplantationen.

Die Tabelle 9 enthält eine chronologische Zusammenstellung der Einzelfälle mit Angabe ausgewählter Infektionsparameter. Bei fünf Patienten endete der Verlauf einer Aspergillusinfektion letal. Vier Patienten entwickelten eine Immunparalyse mit Abfall der HLA-DR positiven Monozyten auf <30 %, in Kombination mit positiven Candida-Antigen-Titern im Blut zwischen 1:16 und 1:128. Der Nachweis einer Aspergillusinfektion durch die Kultur gelang nur in drei Fällen, dem gegenüber wiesen alle Patienten mehrfach positive Aspergillus-Antigen-Titer (Aspergillus-Pastorex®-Test) auf. Eine rechtzeitig angeforderte Antigensuche hätte in jedem Einzelfall wertvolle Indizien für das Vorliegen einer Aspergillusinfektion liefern können. Nicht so in den Krankheitsverläufen der Patienten eins und zwei, in denen die Befunde nur retrospektiv erhoben werden konnten, durch die histopathologische Expertise.

Tab. 9: Aspergillusinfektionen in einem intensivtherapeutisch betreuten Patientenkollektiv (n=235): 8 Erkrankungsfälle im Zeitraum zwischen Januar 1991- August 1992; Auswahl wichtiger Verlaufsparemer: IP=Immunparalyse, entspricht einem Abfall der HLA-DR positive Monozyten unter 30 %; HTX: Herztransplantation, LTX: Lebertransplantation, BAL: bronchoalveoläre Lavage;
* Untersuchungen retrospektiv
+ positiver Aspergillus-Antigen-Titer im Pastorex®-Test

| Diagnose | Aspergillus-Antigen | Aspergillus-Kultur | Verdacht | Candida-Antigen | IP | Exitus let. |
|--------------|---------------------|--------------------|------------|-----------------|----|-------------|
| HELLP | + (1:16)* | - | Pathologie | 1:64 | * | * |
| HTX | +* | Herz | Pathologie | 1:16 | * | * |
| Trauma | + (1:8) | - | Mykologie | 1:8 | | |
| Encephalitis | + (1:32) | - | Mykologie | - | | |
| LTX | + (1:2) | BAL | Mykologie | 1:16 | * | |
| LTX | + | - | Mykologie | 1:8 | | * |
| LTX | + (1:8) | - | Mykologie | 1:128 | * | * |
| HTX | + (1:64) | Liquor | Mykologie | 1:4 | | * |

a) Kasuistik 1: **Patientin B. P.**

Im ersten Fall handelt es sich um eine 22-jährige Patientin die an einem äußerst seltenen HELLP-Syndrom erkrankte. Tragischerweise verstarb die Patientin an einer, zu Lebzeiten nicht erkannten, granulomatösen Lungenaspergillose. Der Nachweis des Aspergillus-Antigens erfolgte also retrospektiv. Das pathologische Substrat der Erkrankung ist auf Abbildung 21 dargestellt.

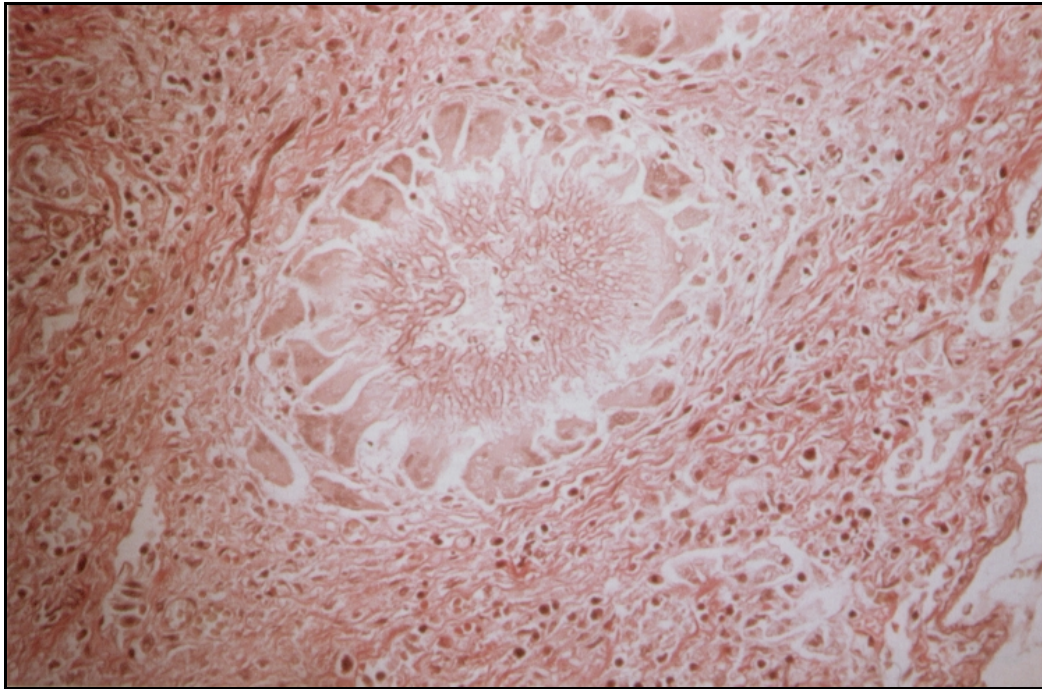


Abb. 21: Patientin mit HELLP-Syndrom (Exitus let.):
Pseudomonassepsis, Candidasepsis, Immunparalyse. Darstellung
der granulomatösen Aspergillose der Lunge

Nahezu exemplarisch ist das an drei Meßpunkten zusätzlich festgehaltene Wechselspiel zwischen gleichzeitiger Candida-Infektion und der HLA-DR-Expression der Monozyten (Abbildung 22). Etwa zeitgleich resultierten hohe Candida-Antigen-Titer bei einem Abfall der HLA-DR positiven Monozyten auf fast 20 %. Interessant ist die HLA-DR-Unabhängigkeit der Aspergillus-Titer-Dynamik. Das heißt, bei dieser Patientin war das Aspergillus-Antigen unabhängig vom HLA-DR permanent positiv.

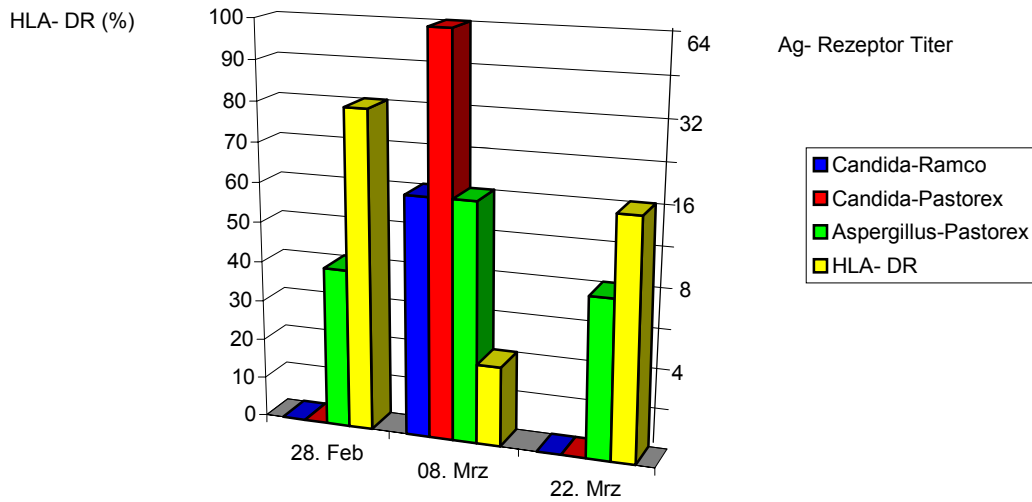


Abb. 22: HLA-DR-Expression und Antigenzirkulation der Patientin B. P.

b) Kasuistik 2: Patient H. B.

Bei einem 39-jährigem Mann wurde am 17.10.1991, wegen einer dilatativen Cardiomyopathie, die allogene Herztransplantation durchgeführt. Der Nachweis einer Aspergillusinfektion konnte auch hier erst retrospektiv erbracht werden. Zum einen durch die Serologie (positiver Aspergillus-Pastorex[®]-Test), zum anderen durch die Kultur (Herzblut, Milz). Bereits zwei Tage nach der Herztransplantation wies der Patient Zeichen einer bakteriell- mykotisch bedingten Infektion auf. Zeichen dafür waren: Koagulase-negative Staphylokokken in der Blutkultur, eine orale Candidose, mehrfach positive Candida-Antigen-Titer und Candida-HAT-Titer. Während man in der Antibiotikatherapie kaum Lücken erkennt (Tabelle 10), wurde die antimykotische Therapie eher mit Zurückhaltung eingesetzt.

Tab. 10: Angewandte Antibiotika bei dem Patienten H. B. und Dauer der Anwendung in Tagen

| | |
|---------------|----|
| Oxacillin | 17 |
| Azlocillin | 14 |
| Sulbactam | 7 |
| Ciprofloxacin | 7 |
| Netilmicin | 3 |
| Cefotiam | 2 |
| Vancomycin | 1 |
| Cefotaxim | 1 |

Es war eine antimykotische Prophylaxe mit Ampho-Moronal[®] angesetzt, eine Umstellung auf Fluconazol erfolgte erst nach 30 Tagen, zwei Tage bevor der Patient verstarb.

c) Kasuistik 3: Patient W. W.

Unbedingt erwähnenswert ist der zuletzt diagnostizierte Fall einer Aspergillusinfektion. Ein 46-jähriger Patient entwickelte nach einer Herztransplantation eine Aspergillose des Zentralnervensystems. Bereits zu Lebzeiten stellten sich frontal und occipital multiple Hirnabszesse dar. Jedoch erst nach dem überraschenden kulturellen Befund einer Reinkultur von Aspergillus fumigatus aus dem Liquor des Patienten, konnten diese Aspergillome mit dem cerebralen Computertomogramm zur bildlichen Darstellung gebracht werden. Im weiteren waren die Antigen-Titer im Aspergillus-Pastorex[®]-Test von 1:32, 1:64 und 1:2 positiv (16 Tage nach Diagnostik der Abszesse durch das o. g. bildgebende Verfahren). Ein kultureller Nachweis gelang zu diesem Zeitpunkt nicht mehr, da der Patient W. W. hochdosiert und anhaltend mit Amphotericin B behandelt wurde. Bei diesem Patienten stützte sich die Diagnosefindung auf die immer noch seltene, klassische Übereinstimmung zwischen kulturellen, klinischen, serologischen und histopathologischen Befunden. Auch wenn diagnostiziert, so mußte jede medikamentöse und chirurgische Therapie, wegen des massiven Befalls des ZNS mit Aspergillomen scheitern.

4 DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit wurden zwischen September 1992 und Dezember 1993, 252 Patienten im Hinblick auf das Vorliegen systemischer Mykosen (Synonym: Endomykosen) untersucht. Alle Patienten stammen aus zwei unterschiedlichen Hochrisikobereichen, die für das Auftreten von Pilzinfektionen prädisponiert sind. Zum einen sind es 17 Patienten nach KMT. Diese Patientengruppe erhielt, unter Beachtung einer höchst eingeschränkten Immunabwehr, ein umfangreiches Antipilzregime, sowohl die Prophylaxe, als auch das diagnostische Monitoring betreffend. Zum anderen wurde eine Vergleichsgruppe gewählt, die 235 Patienten nach Organtransplantation und dem Intensivtherapiebereich umfaßt. Der Vergleich mit einer anderen, und im Stichprobenumfang größeren Patientengruppe wurde erforderlich, weil ein neues Aspergillus-Monitoring eingeführt wurde. Die Entwicklung neuer Tests und deren Anwendung, besonders von immunologischen Reaktionen des Patienten unabhängige Nachweisverfahren sind unbedingt erforderlich, da die Zahl der Todesopfer, die an einer Mykose versterben, in der Bundesrepublik Deutschland nach Müller et al. (1987) auf ca. 7.000/ Jahr geschätzt wird.

Pilze sind eukaryontische, Kohlenstoff-heterotrophe Mikroorganismen, die phylogenetisch zwischen Bakterien und Pflanzen anzusiedeln sind. Von mehr als 200.000 bekannten Arten sind nur etwa 200 humanpathogen. Für klinische und therapeutische Zwecke hat sich die Einteilung in Dermatophyten (z. B. Trichophyton), Hefen (z. B. Candida spp.) und Schimmelpilze (z. B. Aspergillus spp.) bewährt (Glasmacher et al. 1998). Die häufigsten Erreger von Systemmykosen gehören der Gattung Candida mit einem Anteil von 80 % an und hier vor allem C. albicans (Bernhardt et al. 1986, Bodey 1988, Hammarstrom 1995, Hibberd und Rubin 1994, Hoppe et al. 1997, Momin und Chandrasekar 1995, Müller et al. 1987, Patel et al. 1996, Rüchel 1995, Tietz und Tausch 1993, Weber und Romig 1982). In zunehmenden Maße werden jedoch auch andere Spezies, wie C. glabrata, C. tropicalis, C. krusei sowie Aspergillus als Erreger von Endomykosen beschrieben (Anderson et al. 1996, Denning 1994, Fegeler 1989, Fortun et al. 1997, Hammarstrom 1995, Hibberd und Rubin 1994, Jandrlic et al. 1995, Schwartz et al. 1997, Tietz et al. 1993, Verweij et al. 1997). Invasive Pilzinfektionen und vor allem die invasive Aspergillose galten vor 10 Jahren noch als selten und traten überwiegend bei Leukämiepatienten auf. Heute sieht man diese Erkrankungen bei den unterschiedlichsten disponierenden Grunderkrankungen und auch infolge von immunsuppressiven Therapien (Jandrlic et al. 1995). Das heißt, die normalerweise nur fakultativ pathogenen Pilzarten bedürfen immer **prädisponierender Faktoren** um eine Mykose auszulösen. Zu den Risikobedingungen zählen Erkrankungen mit konsumierendem Charakter wie z. B. hämatologische Erkrankungen, besonders maligne Lymphome, solide maligne Tumore, Verbrennungen, chronische Infekte, Viruserkrankungen, insbesondere AIDS sowie Endokrinopathien, iatrogene Maßnahmen (u. a. Polychemotherapie, Immunsuppressiva, der obligate Gebrauch von zentralvenösen Kathetern, ein hoher Transfusionsbedarf, Verletzungen von Haut- und Schleimhaut, Breitbandantibiotika) gehören ebenfalls zu den Risikofaktoren für invasive Mykosen (Anderson et al. 1996, Castagnola et al. 1996, Denning 1994, Glasmacher et al. 1998, Hibberd

und Rubin 1994, Jantunen et al. 1997, Krisch und Scernow 1990, Mazumdar und Marks 1975, Myervitz et al. 1977, Seeling 1966, Warnock 1995, Wegmann 1986, Wegmann 1988).

Einige der wichtigsten prädisponierenden Faktoren sind in der Tabelle 11 dargestellt (Fegeler et al. 1990).

Tab. 11: Prädisponierende Faktoren für Mykosen (Auswahl)

| | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Hormonelle Erkrankungen - insbesondere Diabetes mellitus • Hämatologische Erkrankungen • Immundefekte (u. a. AIDS) • Maligne Tumoren • Infektionskrankheiten • Verbrennungen • Polytrauma • Frühgeborene/ Neugeborene • Patienten im Senium | <ul style="list-style-type: none"> • Intensivtherapie • „große“ Chirurgie - Transplantationschirurgie - Herzchirurgie - Abdominalchirurgie • Therapie mit: - Kortikosteroiden - Immunsuppressiva - Zytostatika - Antibiotika • Strahlentherapie • Verweilkatheter |
|---|--|

Da das Mykoserisiko bei Vorliegen mehrerer prädisponierender Faktoren zunimmt, gelten Patienten nach Organ- oder Knochenmarktransplantation und unter Intensivtherapie als besonders gefährdet (Giamarellou und Antoniadou 1996, Gotzinger et al. 1996, Kehrer und Brandt 1979, Shah 1989). Unter diesen besonders gefährdeten Patienten ist das Infektionsrisiko nach einer KMT am höchsten. Die wichtigste Ursache für die hohe Infektanfälligkeit dieser Patientengruppe ist die krankheitsassoziierte und/ oder chemotherapieinduzierte **Neutropenie** (Carlisle et al. 1993, Castagnola et al. 1996, De Bock 1994, Fortun et al. 1997, Hopwood et al. 1995, Jantunen et al. 1997, Lortholary und Dupont 1997, Momin und Chandrasekar 1995, Morrison et al. 1994, Ruchel und Kern 1997, Warnock 1995). Seit den Arbeiten von Bodey et al. (1966) ist die Syntropie zwischen granulozytopenischen Zuständen und mikrobiell bedingten Komplikationen bekannt. In Relation zu Ausmaß und Dauer der Granulozytopenie weisen die Infektionsentwicklung, der Infektionstyp sowie der Ausgang der Infektion bestimmte Gesetzmäßigkeiten auf. Die Granulozytopenie stellt mit Werten ab 1,0 Gpt/l Neutrophilen ein deutlich erhöhtes Risiko für Infektionen dar, das in dem Maße steigt, in dem die Neutrophilenzahl weiter sinkt (Schwenke 1992). Bei Werten um 0,1 Gpt/l haben 54 % der Patienten bereits eine Infektion und von diesen sterben 80 % innerhalb der ersten Wochen, trotz des Einsatzes von bakteriziden Antibiotika-Kombinationen, wenn es nicht zu einem Anstieg der Granulozytenzahlen während dieser Therapie kommt (Bodey et al. 1966, Bodey et al. 1982). Eine extreme Neutropenie stellt damit eine wichtige Determinante für eine ungünstige Prognose einer behandelten Infektion dar.

Bei der Ermittlung der durchschnittlichen Werte der neutrophilen Granulozyten, differenziert nach verstorbenen- (vier Patienten) und nicht verstorbenen Patienten (13 Patienten), nach ihren KMTs wird deutlich, daß die Anzahl der Granulozyten im peripheren Blut den Ausgang einer Infektion stark beeinflußt. Bei der Betrachtung der Einzelverläufe der Patienten mit letalem Ausgang, wies diese Patientengruppe eine stark ausgeprägte Neutropenie auf, mit einem Absinken dieser Blutzellen bis auf null.

Auch bei der Ermittlung der durchschnittlichen Anzahl der neutrophilen Granulozyten/ Woche nach den KMTs lagen die Werte der verstorbenen Patienten deutlich unter denen der nicht verstorbenen. Während die Granulozytenzahl der nicht verstorbenen Patienten in der dritten Woche nach ihrer KMT bei 0,6 Gpt/l lag, hatten die Verstorbenen zum gleichen Zeitpunkt nur Werte von 0,36 Gpt/l. Spätestens in der vierten Woche nach ihrer KMT wurden die Granulozytenwerte von größer als 1,0 Gpt/l bei den nicht verstorbenen Patienten erreicht. Bei zwei

Patienten ließ sich ein verzögerter Anstieg der neutrophilen Granulozyten messen. Sie hatten gegenüber den anderen elf nicht verstorbenen Patienten eine viel ungünstigere Ausgangslage. Diese Patienten wiesen Candida-Ramco[®]-Titer von 1:4 bzw. 1:8 in Kombination mit Fieber bis 40 °C auf, so daß eine Pilzinfektion in Betracht gezogen wurde. Die durchschnittliche Granulozytenzahl stieg nicht über 1,0 Gpt/l in der vierten Woche nach ihrer KMT, sie lagen auf einem Niveau von 0,26 bis 0,4 Gpt/l.

Nicht nur das Ausmaß der Neutropenie ist im Infektionsgeschehen ein bedeutender Faktor, sondern genauso viel Aufmerksamkeit ist der Dauer zu widmen. Meyers und Atkinson (1983) beschrieben, daß 21 % der Patienten in der dritten Woche nach einer KMT und 57 % der Patienten bei einer Neutropenie von sechs Wochen und länger an einer Pilzinfektion erkrankten (Warnock 1995). Die Granulozytopenie kann nicht nur den Beginn einer Infektion erklären, sondern auch die Besonderheiten in ihrem weiteren Verlauf. Etwa ab der ersten Neutropeniewoche nach einer KMT stehen Bakterien als Erreger von Infektionen im Vordergrund, ab der zweiten Woche nehmen Infektionen durch Pilze, Parasiten und Viren deutlich zu (Gaya et al. 1973, Hammarstrom 1995).

Zur Vermeidung dieser hochgradigen myzetischen Infektionsgefahr muß der **Prophylaxe und Therapie bakterieller und mykotischer Infektionen** bei granulozytopenischen Patienten immer mehr Beachtung geschenkt werden. Bereits Pizzo et al. (1982) fordern, daß unabhängig von der zugrundeliegenden malignen Erkrankung jeder granulozytopenische Patient, der Fieber entwickelt, einer empirischen Antibiotikatherapie zugeführt werden muß. Auch Schimpff et. al. (1971) schlugen eine empirische Behandlung von granulozytopenischen Patienten mit Breitspektrumantibiotika vor, sobald der Verdacht auf eine Infektion auf-tauchte, das heißt, sobald sich Fieber einstellte. Dabei wird unbedingt gefordert, daß Substanzen bei Patienten mit Granulozytopenie einen bakteriziden Wirkmechanismus haben sollen (Klustersky et al. 1988, Schattenberg et al. 1988). Verschiedene Studien beschäftigten sich in den letzten Jahren zunehmend mit der Problematik der Infektverhütung.

So wurde im Rahmen der European Organization of Research and Treatment of Cancer (EORTC) im Jahre 1973 eine International Antimicrobial Therapy Cooperative Group gegründet, die dieses Problem multizentrisch angehen sollte (Klustersky et al. 1988). In der Studiengruppe der Paul-Ehrlich-Gesellschaft (PEG) war es 1985 ebenfalls das Ziel, eine derartige antimikrobielle Interventionsstrategie zu etablieren (Maschmeyer et al. 1990). In beiden Studien waren die Patienten neutropenisch und hatten Fieber, meist unbekanntes Ursprungs (FUO). Ziel der Studien war es, eine geeignete Antibiotikaprophylaxe und Therapie bei Patienten mit Neutropenie und Fieber zu entwickeln. Bei der empirischen, antimikrobiellen Chemotherapie neutropenischer Patienten können verschiedene Konzepte angewendet werden. Eine antimikrobielle Therapie kann sowohl als Mono- bzw. Kombinationstherapie erfolgen. Ziel der Kombinationstherapie war es, günstige Antibiotikakombinationen mit niedriger Toxizität herauszufinden (besonders aminoglykosidbedingte Nephrotoxizität zu vermeiden), z. B. die Kombination eines Betalaktam-Antibiotikums (Penicillin- bzw. Cephalosporin-Derivat) mit einem niedrig dosiertem Aminoglykosid. Die Kombination von zwei Betalaktam-Antibiotika (Penicillin- und Cephalosporinderivat) wird zur Zeit favorisiert.

Bei den unterschiedlich getesteten Antibiotika-Therapien zeigten die EORTC- und PEG-Studie ähnliche Ergebnisse:

1. Alle Antibiotikakombinationen zeigten eine gute Ansprechrate bei Fieber unklarer Ursache bis zu 90 %.
2. Eine sehr schlechte Ansprechrate der Antibiotikakombinationen bei Patienten mit Pneumonie (kumulative Ansprechrate von 61,5 %).

In den letzten Jahren zeigten verschiedene Untersuchungen durch Pizzo et al. (1984), daß eine Monotherapie mit einem modernen Breitspektrum-Antibiotikum wie Ceftazidim identische

Erfolgsraten aufweisen kann, wie die herkömmlichen Kombinationsregime. Grundlage ist das breite antibiotische Spektrum neuer Betalaktam-Antibiotika wie Ceftazidim oder Imipenem. Ein weiterer Vorteil ist eine geringe Substanzbelastung für den Patienten. Eine Monotherapie neutropenischer Patienten gilt nur als Initialtherapie. Bei persistierendem Fieber länger als drei Tage sollte immer auf eine Kombinationsbehandlung gewechselt werden.

Bei dieser Arbeit erhielten alle 17 Patienten vor ihrer KMT eine antibiotische Prophylaxe mit Ciprofloxacin und Metronidazol. Ciprofloxacin gehört zur Gruppe der Chinolone und zeichnet sich durch eine lange HWZ und ein großes Verteilungsvolumen aus. Ciprofloxacin eignet sich hervorragend zur selektiven Darmdekontamination bei immunsuppressiv behandelten Patienten. Verschiedene Studien haben ergeben, daß mit den Chinolonen eine wirksame Prophylaxe Gram-negativer Infektionen möglich ist; die Zielkeime sind vor allem Gram-negative Stäbchenbakterien (Momin und Chandrasekar 1995, Peters 1991). Ihre Wirksamkeit im Gram-positiven Bereich war bisher jedoch nicht überzeugend (Klastersky et al. 1988, Momin und Chandrasekar 1995). Das Problem der zunehmenden Gram-positiven Infektionen wird mit diesem Antibiotikum wahrscheinlich nicht gelöst (95% Gram-positive Erreger wurden isoliert bei Patienten nach einer KMT). In verschiedenen medizinischen Zentren wird bei Nachweis von Gram-positiven Kokken mit Vancomycin oder Penicillin therapiert (Momin und Chandrasekar 1995).

Nach Untersuchungen von Giamarellou und Antoniadou (1996) stellt die Applikation von Imipenem und Vancomycin bei Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie ein Risikofaktor für eine Candiämie dar.

Nach einer KMT wurde der Einsatz weiterer Antibiotika bzw. Antibiotikakombinationen, zur Erweiterung des antibakteriellen Wirkungsspektrums erforderlich. Beim Auftreten von Fieber (oft unbekannter Ursache) erhielten 13 Patienten zusätzlich Ceftazidim (Fortum[®]). Ceftazidim ist ein Cephalosporin der zweiten Generation, mit einer sehr guten Wirkung gegen Pseudomonas-Spezies. Bei einigen Patienten wurde zusätzlich der Einsatz eines Aminoglykosids (Gentamicin) oder Glykopeptid-Antibiotikums (Vancomycin) bei länger anhaltendem Fieber notwendig, bzw. wurden zwei Betalaktam-Antibiotika mit Vancomycin oder Gentamicin, entsprechend einem Stufenplan kombiniert.

Bakteriell bedingte Infektionen werden zunehmend durch Gram-positive Erreger verursacht, wobei Staphylokokken am häufigsten isoliert werden können (Giamarellou und Antoniadou 1996, Momin und Chandrasekar 1995, Peters 1991). Bakterielle Kulturen von Stuhl, Urin und Rachen wurden routinemäßig mindestens 1-3 mal/ Woche angelegt.

Von den 199 positiven bakteriologischen Kulturen der Patienten nach einer KMT, konnten aus 95% der untersuchten Materialien Gram-positive Erreger isoliert werden. Dabei stehen Staphylokokken mit 70,2% an erster Stelle der Gram-positiven Erreger, gefolgt von Streptokokken mit 23,2% und Corynebakterien mit 1,5%. Eine Dominanz der Gram-positiven muß hier hervorgehoben werden (Carlisle et al. 1993, Giamarellou und Antoniadou 1996). In einer Untersuchung durch die Paul-Ehrlich-Gesellschaft wurde das Keimspektrum von 577 abwehrgeschwächten Patienten erfaßt. Die Gram-positiven Bakterien dominieren mit rund der Hälfte (50,3%) der Infektionen. Davon erreichen die Staphylokokken rund ein Drittel und ca. 18% die Streptokokken (Ruckdeschel 1990). Ähnliche Ergebnisse weisen andere Studien auf (Carlisle et al. 1993). Ein Anstieg der Staphylokokkeninfektionen läßt sich wie folgt erklären: Staphylokokken sind Bestandteil der menschlichen Haut- und Schleimhautflora, sie kommen demzufolge ubiquitär vor. Die Pathogenität ist jedoch nicht obligat, denn bei 15% bis 40% der erwachsenen Bevölkerung kommt Staphylokokkus aureus als Kommensal vor (Peters 1991). Etwa 80 % der Infektionserreger bei Malignom-Patienten entstammen der Mikroflora vom Patienten und es werden wiederum 50% während des stationären Aufenthaltes aus der Umgebung akquiriert (Schimpff 1971). Prädisponiert für Infektionen mit fakultativ pathogenen Erregern sind Patienten mit Abwehrschwächen. Gefährdet sind demnach, wie vor angeführt, immunsupprimierte- und/ oder operierte Patienten bzw. solche mit angeborenen- oder erworbenen Immundefekten (Peters 1991, Voss 1991). Die

Zahl der onkologisch/ hämatologischen oder transplantierten Patienten und diejenigen mit erworbener Immunschwäche (u. a. durch AIDS) nehmen jährlich zu. Ein weiterer Grund ist der immer häufigere Gebrauch von Einwegmaterialien aus Plastik. Staphylokokken haften nicht nur bevorzugt an organischen Materialien (z. B. Zellen des Respirationstraktes), sie haben vielmehr auch eine ausgeprägte irreversible Affinität zu polymeren Kunststoffoberflächen (Peters 1991, Voss 1991).

Die Möglichkeit einer zunehmenden Resistenzentwicklung der Gram-positiven Erreger wird in der Literatur allerdings unterschiedlich diskutiert.

Einige Autoren gehen davon aus, daß durch eine ständig verbesserte antibiotische Therapie, die gegen Gram-negative Erreger gerichtet ist, die Anzahl Gram-negativer Infektionen drastisch abnimmt, die Gram-positiven Erreger jedoch eine therapeutische Lücke gefunden haben, um bei der Infektausbreitung in den Vordergrund zu treten. Die gewählte antibakterielle Prophylaxe mit Ciprofloxacin bei Patienten vor einer KMT könnte diese Vermutung bestätigen. Ciprofloxacin wirkt im Gram-negativen Bereich hervorragend, zur Prophylaxe und Therapie Gram-positiver Infektionen ist diese Substanz aber ungeeignet. Deshalb erhielten alle KMT-Patienten der Charité bereits vor der KMT eine antibakterielle Prophylaxe mit Ofloxacin. Beim Auftreten von Fieber wurde Vancomycin nicht nur sporadisch eingesetzt, sondern obligatorisch, da es sich um eine antibakterielle Substanz mit hervorragender Wirkung gegen Staphylokokkeninfektionen handelt.

Bei den Gram-negativen Erregern wurde eine geringe Anzahl von 5% ermittelt. Escherichia bildete den Hauptanteil mit acht positiven Proben. Bei zwei Proben gelang ein Nachweis von Pseudomonas-Spezies. Wenn auch nur 5% der Infektionen bei den KMT-Patienten durch Gram-negative Erreger verursacht wurden, so führten Gram-negative Keime häufiger zu einem tödlichen Verlauf. Eine Patientin verstarb an einer durch Pseudomonas aeruginosa verursachten Sepsis. Die Erregerisolierung erfolgte primär durch die Pathologie, mit einem Erregernachweis aus Herzblut, Milz und Lunge. Aus einer Sputumprobe, zwei Tage vor dem Tod abgenommen, gelang retrospektiv eine kulturelle Bestätigung.

In einer von der PEG präsentierten Studie beträgt die Letalität an grampositiven Erregern 7,9%, dagegen liegt die Letalität bei Gram-negativen Keimen bei 16,5% (De Witt und Clumbeck 1989).

Angesichts der zunehmenden Gefahr von Pilzinfektionen ergeben sich für den Kliniker zwei Konsequenzen; eine **Pilzprophylaxe** (Arning und Aul 1994, Brown et al. 1996, Castagnola et al. 1996, Epstein et al. 1996, Giamarellou und Antoniadou 1996, Hadley und Karchmer 1995, Hammarstrom 1995, Milliken und Powles 1990, Momin und Chandrasekar 1995, Patel et al. 1996) und ein frühzeitiger Beginn einer empirischen **antimykotischen Therapie** (De Bock 1994, De Witt und Clumbeck 1989, Jandrlc et al. 1995). Am wichtigsten ist die konsequente Prophylaxe, und zwar die Elimination der Pilze im Vorfeld. Dazu gehören als allgemeine Voraussetzungen die persönliche und eine optimale Krankenhaushygiene. Darüber hinaus umfaßt eine konsequente Pilzprophylaxe bei neutropenischen Patienten eine lokale und eine systemische Chemoprophylaxe (Höffken 1989).

Alle 17 KMT-Patienten erhielten ab dem ersten Tag der stationären Aufnahme Amphotericin B Lutschtabletten (Ampho-Moronal[®]) mit lokalem Wirkmechanismus vorwiegend gegen Candida-Arten. Danach stellt sich eine Dreiteilung der Patienten im Hinblick auf die weitere antimykotische Prophylaxe dar. Von den 17 untersuchten Patienten erhielten sechs Patienten eine antimykotische Prophylaxe mit Amphotericin oral, sechs Patienten die Kombination von Amphotericin oral und Fluconazol (Diflucan[®]) und bei fünf Patienten erfolgte vor ihrer KMT eine Umstellung von Amphotericin oral auf Diflucan[®]. Wie im Ergebnisteil bereits angeführt, wurde 1991 die Prophylaxe allein mit Fluconazol vor einer KMT durchgeführt.

Für die systemische Applikation hat sich wohl nun endgültig das Fluconazol durchgesetzt, das eine hohe Effizienz für die Prävention invasiver Pilzkrankungen hat (Quabeck et al. 1990). Es gehört zur Gruppe der Triazole und wurde im Juni 1990 für die Behandlung von Pilzinfektionen,

verursacht durch *Candida* und *Cryptococcus* (Chandrasekar und Gatny 1994, De Witt und Clumbeck 1989, Galgiani 1990, Hammarstrom 1995, Hibberd und Rubin 1994, Jantunen et al. 1997, Lam und Althaus 1995, Milliken und Powles 1990, Robinson et al. 1990) zugelassen. In der Prophylaxe von Aspergillusinfektionen hat es allerdings keinen Wert (Arning und Aul 1994, Castagnola et al. 1996, von Eiff et al. 1988, Hammarstrom 1995, Lam und Althaus 1995, Quabeck et al. 1990). Von Vorteil sind vor allem die geringen Nebenwirkungen, so daß es auch bei Patienten mit schweren Leber- und Nierenfunktionsstörungen einsetzbar ist (Hantschke und Olbricht 1989, Müller 1976, Rieth 1987, Tausch et al. 1990). Manche Autoren beschreiben, daß auf Amphotericin (oral) zur Prophylaxe mykotischer Infektionen, seit der Existenz von Fluconazol ganz verzichtet werden kann (Schwenke 1992). Bei der alleinigen Prophylaxe mit Ampho-Moronal[®] kam es häufiger zu *Candida*-Antikörper-Titer-Anstiegen als unter der Therapie mit Fluconazol. Das wird wie folgt interpretiert: Amphotericin vermag zwar die Hefekeimzahl im Intestinaltrakt des Risikopatienten zu 38 % zu vermindern, macht jedoch bei der überwiegenden Zahl der Patienten den Darmtrakt nicht hefefrei (Quabeck et al. 1990) und verhindert gleichwohl nicht den Durchtritt lebender *Candida*-Zellen vom Darmlumen in den Kreislauf (Bodey et al. 1982). Dieser Interpretation kann nach den ermittelten Ergebnissen nicht zugestimmt werden. Alle Patienten, bei denen auf Ampho-Moronal[®] zur Prophylaxe verzichtet wurde, zeigte sich trotz guter Ausgangslage (primär geringe Pilzbelastung in der Kultur und Serologie), einen viel ungünstigeren Verlauf gegenüber den anderen Patientengruppen. Bei zwei Patienten wurde der Einsatz von Amphotericin parenteral notwendig. Es bestand der klinische Verdacht auf eine interstitielle Pneumonie. Zusätzlich konnten *Candida*-Spezies in der Kultur angezüchtet werden bzw. resultierte eine positive *Candida*-Serologie. Ein letaler Ausgang konnte leider nicht verhindert werden.

Welche Rolle Fluconazol für das gehäufte Auftreten von *Candida glabrata* in der Pilzkultur spielt (33,7% aller *Candida*-Isolate), ist noch nicht endgültig geklärt. Wahrscheinlich wird dieses Phänomen durch eine zunehmende Selektion, bedingt durch eine höhere natürliche MHK von *C. glabrata*, ebenso wie *C. krusei* verursacht. Eine Resistenzentwicklung ist zu erwarten durch die Applikation von Fluconazol in relativ niedriger und langer Dosierung (Edwards et al. 1997, Giamairellou und Antoniadou 1996, Hammarstrom 1995, Hoppe et al. 1994, Lam und Althaus 1995, Mariott und Richardson 1987, Marr et al. 1997, Tietz et al. 1994, Troke et al. 1990, Wingard 1993). Ein ähnliches Ergebnis zeigten die Untersuchungen von Quabeck et al. (1990). 31 Patienten, bei denen eine KMT durchgeführt wurde, erhielten nach einer offenen Studie Fluconazol zur Prophylaxe oder Therapie von Pilzinfektionen. Die Effektivität dieser Substanz, bei einer *C. albicans*-Infektion, lag bei 70%. Dagegen wurde bei zwei von vier Infektionen mit *C. glabrata* ein primäres oder sekundäres Therapieversagen beobachtet. Dies wurde als Hinweis auf eine Resistenzentwicklung bzw. für eine im Einzelfall unzureichende Dosis gewertet.

Daraus ergeben sich wichtige Schlußfolgerungen für die Anwendung von Fluconazol: vor einer Fluconazol-Prophylaxe ist unbedingt der Pilzstatus zu erheben. Beim Nachweis von *C. glabrata* muß eine Dosisanpassung erfolgen. Weitere Schlußfolgerungen ergeben sich aus den unterschiedlichen MHK der *Candida*-Spezies. Die Bestimmung der *Candida*-Spezies muß exakt erfolgen, da dies therapeutische Konsequenzen nach sich ziehen muß.

Von dem Befund „Sproßpilze“, der immer eine gewisse Bagatellisierung dieser Erreger nahelegt, muß unbedingt abgegangen werden.

Schwieriger stellt sich die Prophylaxe der Aspergillose dar. Eine wirksame Prophylaxe gibt es unter stationären Bedingungen bisher nur in Form von Laminar air flow (LAF) (Anderson et al. 1996, Conneally et al. 1990, Schwenke 1992), weil die Aspergillen aerogen mit Klimaanlage und ähnlichen Einrichtungen verbreitet werden (Bodey et al. 1989, Jehn 1990, Wums et al. 1987). Eine Inhalation von Aspergillussporen über Blumentopferde wurde ebenfalls beschrieben, das schließt das Prinzip ein, keine Topfpflanzen in der Umgebung des Patienten zu halten (De Witt und Clumbeck 1989). Ebenso erhöhen Umbaumaßnahmen extrem das Aspergillus-Erkrankungsrisiko (Arning und Aul 1994). Andere Eintrittspforten, wie der Magen-Darm-Trakt spielen dagegen eine untergeordnete Rolle. Eine ebenfalls wirksame Prävention soll die Verabreichung von

Amphotericin B mittels Nasenspray bzw. die Druckvernebelung bei Beatmungspatienten sein (Roth et al. 1996, Schwenke 1992). Die Therapie einer manifesten Pilzinfektion bleibt oft erfolglos, zum einen wegen der Toxizität der verfügbaren Medikamente, zum anderen wegen deren mangelhafter Effektivität bei hochgradig immunsupprimierten Patienten (Milliken und Powles 1990). Ein frühzeitiger Beginn einer empirischen antimykotischen Therapie ist äußerst sinnvoll. Das haben Studien der PEG, als auch der EORTC bewiesen (Klastersky et al. 1988, Maschmeyer et al. 1990). Spätestens am vierten bis fünften Tag ist mit einer empirischen Therapie zu beginnen, insbesondere wenn keine Entfieberung trotz breiter Antibiotika-Therapie eintritt. Indikation ist vor allem auch der klinische Verdacht auf das Vorliegen einer Pilzinfektion.

Die kombinierte Anwendung von Amphotericin B und Flucytosin bzw. Fluconazol gelten derzeit als Mittel der Wahl für die Therapie systemischer Mykosen. Amphotericin bleibt im Vergleich mit den „neuen“ Präparaten das wirksamste Mittel, allerdings auch das toxischste (Jehn 1990). Die Inzidenz nephrotoxischer Nebeneffekte ist besonders hoch (Rex et al. 1994, Wegmann 1986). Eine gute Wirksamkeit des Medikaments, auch gegen Aspergillusinfektionen, wurde mehrfach bestätigt und es ist damit unverzichtbar in der Therapie manifester Mykosen (Bodey 1989, Rousey et al. 1991). Günstig erweist sich die Kombination mit einem liquorgängigen Präparat, z. B. Flucytosin oder Fluconazol bei granulozytopenischen Patienten (Jehn 1990, Schwartz et al. 1997). Fluconazol wird im Gastrointestinaltrakt vollständig resorbiert und ist in hoher Konzentration in praktisch allen Körperflüssigkeiten und auch im Liquor cerebrospinalis nachweisbar (Galgiani 1990).

Neuere Studien zeigen eine geringere Toxizität von Amphotericin durch Kopplung der Substanz an Liposomen (Bowden et al. 1996, Hadley und Karchmer 1995, Momin und Chandrasekar 1995). Damit wurde eine weniger toxische, allerdings sehr kostenintensive Applikationsvariante entwickelt (Schwenke 1992). Bedingt durch die verminderte Nephrotoxizität sind keine großen Dosisbeschränkungen auferlegt. Insgesamt ist jedoch anzumerken, daß es bis heute kein universell geeignetes Medikament zur Pilzprophylaxe bei neutropenischen Patienten existiert (Arning und Aul 1994). Als primärer Angriffspunkt zur Infektverhütung im Sinne einer Verkürzung der Neutropeniephase erlangt die Gabe von Wachstumsfaktoren (G-CSF) eine zunehmende Bedeutung (Morrison et al. 1994).

In der Tabelle 12 wird die aktuelle Prophylaxe und Therapie bakterieller und mykotischer Infektionen bei KMT-Patienten der Charité zusammenfassend dargestellt.

Tab. 12: Aktuelle Prophylaxe und Therapie bakterieller- und mykotischer Infektionen bei KMT-Patienten an der Charité Berlin

| | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> - Unterbringung in Air-flow-Zimmern - Bakterielle und mykologische Kulturen (Stuhl, Urin, Rachen): - Virologie: - Serologie: | <p>3 mal/ Woche</p> <p>2 mal/ Woche</p> <p>2 mal/ Woche</p> |
| <p>Antibiotika</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>vor KMT:</u> - <u>nach KMT:</u> <ul style="list-style-type: none"> - bei Fieber - keine Entfieberung, Verdacht auf interstitielle Pneumonie oder Pilzinfektion | <p>Ofloxacin</p> <p>Tazobactam+Netilmicin</p> <p>Imipenem+Vancomycin</p> <p>Imipenem+Antimykotikum Amphotericin B 0,3mg/kg KG + Flucytosin 4x2,5g</p> |
| <p>Antimykotika</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>vor KMT und nach KMT:</u> - keine Entfieberung, Verdacht auf interstitielle Pneumonie oder Pilzinfektion | <p>Ampho-Moronal[®], 4x100mg oral + Ampho-Moronal[®] inhalativ + Fluconazol, 1x200mg-2x400mg</p> <p>Amphotericin B 0,3mg/kg KG + Flucytosin 4x2,5g</p> |

Mittlerweile gibt es gute Erfahrungen mit einigen neuen Therapeutika. So berichten Schwartz et al. (1997) über ein neues Triazol (Voriconazol). Die Autoren behandelten einen Patienten mit akuter Leukämie, der einen Aspergillus-Hirnabszess entwickelt hatte, erfolgreich mit Voriconazol in einer Dosierung von 900 mg i.v. am ersten Tag, gefolgt von 450 mg i.v. an den folgenden Tagen. In der zerebro-spinalen Flüssigkeit konnten Medikamentenspiegel oberhalb der minimalen fungiziden Konzentration für Aspergilluspezies nachgewiesen werden.

Williamson et al. (1999) setzten erfolgreich Itraconazol zur Prophylaxe invasiver Pilzinfektionen bei Knochenmarktransplantierten Patienten ein. Jantunen et al. (2000) berichteten über 20 Knochenmarktransplantierte Patienten, die initial mit Amphotericin B behandelt wurden. Fünf Patienten erhielten ebenfalls Itraconazol und drei wurden operiert. Von 19 auswertbaren Patienten waren zwei komplette Responder und ein teilweises Ansprechen auf die Therapie wurde bei fünf Patienten beobachtet. Damit lag die Responderate bei 37%. Die mediane Überlebenszeit betrug 37 Tage nach Diagnosestellung der invasiven Aspergillose. Lediglich zwei Patienten (10%) wurden geheilt. Nucci et al. (2000) testeten die Effizienz von Itraconazol bezüglich der Prophylaxe von Pilzinfektion bei Patienten mit Neutropenie im Rahmen einer prospektiven, placebokontrollierten,

randomisierten Doppelblindstudie. Die Patienten hatten entweder hämatologische maligne Erkrankungen oder waren Knochenmarktransplantatempfänger. Sie erhielten entweder ein Regime von 100 mg Itraconazol oral zweimal täglich (n=104) oder Placebo (n=106). In der Placebogruppe kam es häufiger zu Pilzinfektionen (15% versus 6%). Der Unterschied war signifikant. Bei Patienten mit deutlicher Neutropenie (weniger als 100 Neutrophile/mm³) und die mindestens sieben Tage andauerte, musste bei den Patienten, die Itraconazol erhalten hatten, deutlich seltener empirisch Amphotericin B gegeben werden als in der Placebogruppe (22% versus 61%). Der Unterschied war auch hier signifikant. Auch entwickelten die Itraconazol-Patienten weniger häufig systemische Pilzinfektionen (6% versus 19%) und auch hier war der Unterschied signifikant. Gegenüber Fluconazol verfügt Itraconazol über ein breiteres Wirkungsspektrum, das auch Schimmelpilze und Fluconazol-resistente Candidaspezies einschließt (Kroschinsky et al. 1999). Inzwischen ist auch eine intravenöse Darreichungsform verfügbar, die insbesondere für knochenmarktransplantierte Patienten interessant ist, da jene oft eine verschlechtere gastrointestinale Absorption von Medikamenten zeigen. Durch die intravenöse Applikation können ausreichend hohe Itraconazol-Plasmaspiegel erreicht werden (Willems et al. 2001). Dadurch ergeben sich für die neuen Therapeutika wie Voriconazol und Itraconazol interessante Alternativen in der Behandlung und Prophylaxe von systemischen Pilzkrankungen von knochenmarktransplantierten Patienten.

Mit dem semisynthetischen Pneumocandin-Derivat Caspofungin befindet sich ein weiteres interessantes Medikament derzeit in Phase III-Studien (Doctor Fungus 2002). Das parenteral verabreichte antifungale Mittel wirkt gegen Candida- und Aspergilluspezies (Balani et al. 2000). Der antifungale Effekt gegen Candidaspezies wird mit mehr als 12 Stunden angegeben, wenn eine Dosis oberhalb der MIC verabreicht wurde (Ernst et al. 2000). Mit dem menschlichen Serum wurde eine synergistische Wirkung gegen *Aspergillus fumigatus* unter Caspofungingabe beschrieben (Chiller et al. 2000). Es liegen allerdings noch keine Erfahrungen mit Caspofungin bei knochenmarktransplantierten Patienten vor.

Fakultativ pathogene Pilze der Gattungen *Candida*, *Aspergillus* und *Cryptococcus* gehören zu den Erregern, die im Anschluß an bakterielle oder virusbedingte Infektionen schwer zu diagnostizierende, septische Krankheiten verursachen können, ohne das sich das klinische Erscheinungsbild spezifisch ändern muß (Bach et al. 1973, von Beahr et al. 1990, Bodey 1988, von Eiff et al. 1988, Gentry und Zeluff 1988, Heidemann 1988, Höffken 1989, Schwenke 1992, Scroggs et al. 1987).

Bei der Aspergillose, der Mucormykose und der Cryptococcosis handelt es sich um Inhalationsmykosen (Ansorg et al. 1996, Arning und Aul 1994, Baron et al. 1998, Costabel et al. 1987, Hadley und Karchmer 1995, Lajonchere und Feuillade de Chauvin 1994), wogegen bei den Hefen (*Candida*) eine Schmierinfektion vorliegt, sei es vom Patienten selbst (endogen) oder aus seiner Umgebung (exogen) (Berger et al. 1986, Bernhardt et al. 1986, Bodey 1988, Denning 1994, Gemeinhardt 1989, Hantschke 1989, Kaben et al. 1986, Momin und Chandrasekar 1995, Wegmann 1988).

Eine Studie am Klinikum Großhadern, bei Patienten mit akuten Leukämien, befaßte sich mit dem zeitlichen Trend von Infektionen zwischen den Jahren 1982 und 1989. Diese Untersuchung zeigte drei Dinge: die deutliche Abnahme von Gram-negativen Keimen, die Zunahme der Gram-positiven Erreger und eine Verdoppelung von Pilzinfektionen (Jehn 1990). Von den autopsisch nachgewiesenen Todesfällen durch Infektionen waren fast 60% durch Pilze hervorgerufen, vorwiegend handelte es sich um *Candida*, aber auch um *Aspergillus* bzw. die Kombination von beiden. Die von der EORTC durchgeführte Studie über zwei Jahre (Januar 1993 bis Dezember 1994) an 800 Patienten nach KMT lieferte folgende Ergebnisse: bei 60 Patienten konnte eine invasive Pilzinfektion diagnostiziert werden, zu 80% handelte es sich um Aspergillusinfektionen und in 20% konnte *Candida* als Erreger ermittelt werden.

Interessant ist jedoch nicht nur die Zunahme von Pilzinfektionen insgesamt, sondern auch die Entwicklung der *Candida*-Speziesverteilung bei den von der Haut-klinik der Charité Berlin

untersuchten Materialien zur kulturellen Diagnostik. Betrachtet man die Struktur des Candida-Spektrums in Abhängigkeit von der Isolationsfrequenz näher, so dominiert zwar erwartungsgemäß *C. albicans* mit 62,6%. Bemerkenswert ist der hohe Anteil von *C. glabrata*, denn 33,7% der identifizierten Candida-Isolate gehören zu dieser Art. Andere Candida-Arten wie *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. lusitanae* und *C. holmii* wurden insgesamt nur vier mal isoliert und sind damit bedeutungslos. Ein Nachweis von *C. krusei* konnte nicht ein einziges mal erbracht werden. Eine mögliche Ursache für diese Verschiebung in der Zahl der Candida-Spezies könnte in den unterschiedlichen minimalen Hemmkonzentrationen für Fluconazol liegen. *C. glabrata* weist gegenüber *C. albicans* eine ca. zehnfach höhere MHK auf (*C. albicans* 1,5 µg/ml, *C. glabrata* 12,5 µg/ml, *C. krusei* 50,0 µg/ml), was einen Selektionsvorteil für *C. glabrata* erbringen könnte (Troke et al. 1990).

Klinische Symptome mykotisch bedingter Infektionen können sehr uncharakteristisch sein und werden vom betroffenen Organ bestimmt. Fieber ist häufig das erste und oft das einzige Symptom, das auf eine Infektion schließen läßt. Oft werden nur unklare Fieberzustände angetroffen (Denning 1994, Günther 1985, Kaiser und Rochat 1996, Villalba et al. 1993, Warnock 1995). Das heißt, 14 von 17 Patienten hatten zwischen dem ersten und siebten Tag nach ihrer KMT Temperaturen über 38°C, mit einer durchschnittlichen Dauer von sieben Tagen. Zwei Patienten wurden durch besonders lange Fieberepisoden, in Zusammenhang mit sehr niedrigen Neutropeniewerten auffällig.

Bei beiden bestand der Verdacht auf eine Pilzinfektion mit Candida-Ramco[®]-Titern zwischen 1:4 bzw. 1:8. Insgesamt gelang bei 12 Patienten mit Fieber zeitgleich ein positiver mykologischer Erregernachweis. Dies gelang zu 50 % durch kulturelle und zu 25 % durch serologische Verfahren (Antigen- bzw. Antikörperrnachweise). Bei ca. 25 % der Patienten verwiesen die klinischen Symptome auf eine Pilzbesiedlung.

Nur bei zwei Patienten gelang der übereinstimmende Nachweis einer Pilzinfektion durch die Klinik, Kultur und Serologie. Daraus ergeben sich auch therapeutische Konsequenzen. Bei Fieber, auch ungeklärter Ätiologie, muß auf eine kombinierte Antibiotikatherapie und systemische Behandlung mit Antimykotika übergegangen werden.

Vom Organbefall her findet man gehäuft eine gastrointestinale Candidose, die bei 11-25 % aller onkologischen Patienten erst autoptisch diagnostiziert wird (Schwenke 1992). Die Candida-Pneumonie stellt eine seltene Manifestation dar. Dagegen ist die Candida-Sepsis bei finalen Tumorpatienten oder bei Neutropeniepatienten häufiger. Ein metastatischer Organbefall mit Absiedlungen in Nieren, Lunge, Herz, Leber und Augen sind nicht selten. Neuerdings werden auch Knochenbeteiligungen beobachtet (Schwenke 1992).

Bedingt durch den aerogenen Infektionsweg der Aspergillus-erreger ist die Lunge das am häufigsten betroffene Organ und zwar in Form der interstitiellen Pneumonie (Ansorg et al. 1996, Arning und Aul 1994, Beyer et al. 1994, Costabel et al. 1987, Hibberd und Rubin 1994, Quabeck 1994, Rath et al. 1996, Roth et al. 1996, Sulahian et al. 1996). Die Diagnostik dieser Komplikation basiert auf unspezifischen klinischen Symptomen und dem Röntgen-Thorax-Befund der Lunge. Häufig geht ein Hustenreiz mit pleuritischen Schmerz oft dem Auftreten von Fieber und konventionell nachweisbaren Lungeninfiltraten voraus (Schwenke 1992). Interstitielle Pneumonien entwickeln sich bei ca. 10% bis 40% der Patienten nach allogener KMT und stellen die Komplikation mit der höchsten Therapie-assoziierten Mortalität dar (Bretagne et al. 1997). In einer Untersuchungen von De Bock (1994) an granulozytopenischen Patienten und invasiver pulmonaler Aspergillose betrug die Mortalität >95%. Das Auftreten dieser Komplikation wird entscheidend durch die der Transplantation vorausgehenden Konditionierungsbehandlung determiniert, wobei die pathogenetischen Vorgänge bei der Entstehung noch ungeklärt sind. Sie wird durch die Toxizität von Ganzkörperbestrahlung und Chemotherapie mit bedingt (Castagnola et al. 1996). Während sich interstitielle Pneumonien bei ca. 10% der Patienten mit aplastischen Anämien entwickeln, die

ausschließlich mit Cyclophosphamid vorbehandelt werden, wird die Häufigkeit für Leukämiepatienten nach Ganzkörperbestrahlung international mit 30-40% angegeben.

Innerhalb des Untersuchungszeitraumes bestand bei 12 von 17 Patienten nach einer KMT der Verdacht auf eine interstitielle Pneumonie. Von den insgesamt 17 untersuchten Patienten wiesen zehn eine klinische Symptomatik, wie Dyspnoe, trockenen Husten, bzw. auskultatorisch ein verschärftes Atemgeräusch oder Rasselgeräusche auf. Bei acht Patienten wurde der Verdacht auf eine interstitielle Pneumonie durch den Röntgen-Thorax-Befund erbracht (sechs Patienten hatten ein Infiltrat, davon zwei Patienten mit anschließender Verschattung, zwei Patienten mit einer primären Verschattung). Betrachtet man nur die Patienten, die ein Infiltrat, bzw. eine Verschattung im Röntgen-Thorax-Bild hatten, so ist die Zahl zu Ungunsten der Patienten verschoben, die zusätzlich eine Bestrahlung erhielten.

Zwei von vier Patienten nach Cyclophosphamidkonditionierung zeigten ein Infiltrat bzw. Verschattung. Im Kontrast dazu zeigten vier von fünf Patienten einen pathologischen Röntgen-Thorax-Befund, die eine Konditionierung in Kombination mit Bestrahlung erhielten. Zum anderen ist die Entwicklung interstitieller Pneumonien teils viraler Genese (Castagnola et al. 1996, Hibberd und Rubin 1994). Ein positiver CMV-Serostatus ist ein signifikanter Risikofaktor für Pilzinfektionen (De Bock 1994, Lemieux et al. 1990, Patel et al. 1996). Bei fünf Patienten konnte dies zusätzlich dokumentiert werden.

In einer Studie der PEG waren unter 382 klinisch und mikrobiologisch dokumentierten Infektionen ca. 50% Pneumonien. Interessant ist der Anstieg der Inzidenz der Pneumonien von 38% innerhalb der ersten ein bis fünf Tage nach KMT, auf 50% nach Tag sechs (Maschmeyer et al. 1990). Der typische Zeitraum, in dem interstitielle Pneumonien auftreten, liegt zwischen dem 30. und 100. Tag nach Transplantation. Ca. 80% aller interstitiellen Pneumonien fallen in diesen Zeitraum.

Es traten bei zwei Patienten erst am 16. und am 23. Tag nach ihrer KMT Lungeninfiltrate auf. Der weitere Verlauf gestaltete sich bei einer Patientin besonders dramatisch. Etwa zwei Wochen nach ihrer KMT kam es zu Husten, einer Ruhedyspnoe, in Verbindung mit Fieber über 39°C. Ein Candida-HAT-Titer von 1:160 wurde zeitgleich ermittelt. Im Röntgen-Thoraxbefund wurde ein Infiltrat rechts lateral diagnostiziert, mit Verdacht auf eine interstitielle Pneumonie. Im weiteren Verlauf kam es zu einer Progredienz der Verschattung, zu einer Hypoxämie und letztlich verstarb die Patientin 29 Tage nach ihrer KMT.

In Verbindung mit einem schlechten Allgemeinzustand konnte man bei einem zweiten Patienten Lungeninfiltrate erst am 23. Tag nach seiner KMT beobachten. Hier traten Grenztiter im Candida-Ramco[®]-Test von 1:4 über drei Tage auf. Zeitgleich konnte ein Candida-HAT-Titer von 1:160 verifiziert werden. Beide Parameter fielen anschließend auf negative Werte ab. Danach war der Verlauf komplikationslos, die Lungeninfiltrate bildeten sich zurück und der Allgemeinzustand des Patienten besserte sich.

Durch hämatogene Streuung der Aspergillusereger kommt es zum Befall anderer Organe, die Dissemination zum Gehirn ist nicht selten (Costabel et al. 1987, Schwartz et al. 1997, Selby et al. 1997). Retrospektive Untersuchungen an der Universität von Pittsburgh zeigten, daß bei Patienten nach Organtransplantationen 9% der Patienten autoptisch eine Besiedlung des ZNS mit Aspergillus aufwiesen (Hadley und Karchmer 1995). Die Mortalität bei einer ZNS Beteiligung beträgt nahezu 100 % (Glasmacher et al. 1998).

Ein auf der Intensivstation betreuter, 46-jähriger Patient (W. W.), entwickelte nach einer Herztransplantation eine Aspergillose des Zentralnervensystems. Bereits zu Lebzeiten stellten sich computertomografisch frontal und occipital multiple Hirnabszesse dar. Im weiteren Verlauf lieferten die kulturellen und serologischen Untersuchungen einen Aspergillus-Erreger-Nachweis. Auch eine hochdosierte und langanhaltende Therapie mit Amphotericin B konnte den letalen Ausgang nicht verhindern.

Andere seltene Organmanifestationen können der Gastrointestinaltrakt, Herz, Leber, Haut, Schilddrüse und die Milz sein (Schwenke 1992).

Infektionen sind somit die häufigste Komplikation und Todesursache bei Patienten mit eingeschränkter Abwehrleistung. In einer Untersuchung von Klastersky et al. 1988 aus dem Jahre 1984 war bei 55 Patienten, bei denen eine Granulozytopenie und Fieber vorlagen, in 35% der Fälle eine Infektion die alleinige Todesursache, in 27% eine hämatologische Komplikation und lediglich in 18% die Tumorprogression.

Bei den, von September 1992 bis Dezember 1993, auf das Vorliegen einer systemischen Pilzinfektion untersuchten 17 Patienten nach einer KMT verstarben vier Patienten zwischen dem achten und 29. Tag. Bei drei Patienten gelang vor dem Tod ein- oder mehrmalig der Nachweis von Candida-Hefen in den Kulturen oder Serologien (Antigen-Grenztiter zwischen 1:4 und 1:8, Antikörper-Titer zwischen 1:160 und 1:640). Zwei Patienten boten zusätzlich klinische Symptome einer interstitiellen Pneumonie. Bei der autoptischen Untersuchung der vier verstorbenen Patienten gelang ein Pilznachweis nicht. Jedoch kann der Pathologe eine Organmykose makroskopisch nur schwer nachweisen. Die Oberfläche des Organs ist glatt; die Läsionen wirken wie kleine Abszesse; und erst histologisch, nach Spezialfärbung kommen die Erreger zur Darstellung. Die Quantität spielt ebenfalls eine große Rolle. Um einen Kubikzentimeter Gewebe vollständig zu untersuchen, müssen 2000 histologische Schnitte angefertigt werden. Das heißt, auch wenn der Pathologe keine Pilze in den Schnittpräparaten nachweisen kann, ist eine Candida-Sepsis nicht immer auszuschließen (Lortholary und Dupont 1997).

Eine Patientin verstarb an einer durch *Pseudomonas aeruginosa* verursachten Sepsis. Hier gelang eine Diagnosesicherung erst durch die Pathologie, mit Erregerisolierung aus Herzblut, Lunge und Milz.

Bei keinem dieser Patienten lagen Hinweise für eine Aspergillusinfektion vor (weder klinisch, kulturell, serologisch, noch autoptisch).

Im Vergleich dazu, kam es bei acht von 235 intensivmedizinisch betreuten Patienten zur manifesten Aspergillusinfektion. Allerdings waren diese Patienten durch ihr Grundleiden einer hohen medizinischen Belastung ausgesetzt und waren somit prädestiniert, an systemischen Mykosen zu erkranken. Zum Teil wurden wiederholte chirurgische Eingriffe notwendig, unter anderem zwei erneute Lebertransplantationen. Der kulturelle Nachweis einer Aspergillusinfektion gelang nur in drei Fällen. Jedoch zeigten alle Patienten mehrfach positive Aspergillus-Antigen-Titer (Aspergillus-Pastorex[®]-Test). Bei zwei Patienten wurde der kulturelle bzw. serologische Nachweis erst retrospektiv, nach der histopathologischen Expertise erbracht. Bei fünf Patienten verlief die Aspergillusinfektion letal. Vier Patienten entwickelten eine Immunparalyse mit Abfall der HLA-DR positiven Monozyten auf unter 30 %, in Kombination mit positiven Candida-Antigen-Titern im peripheren Blut zwischen 1:16 und 1:128.

Von Baehr et al. (1990) prägten den Begriff „Immunparalyse“ bei Septikämien. In ihren Untersuchungen zeigten sie, daß eine Immunparalyse durch den Sturz der HLA-DR positiven Monozyten im peripheren Blut auf Werte unter 20% angezeigt wird (Normalwerte 70-90%). Hält dieser Zustand länger als drei Tage an, ist die Prognose als infaust anzusehen. Das Immunzytogramm bei Septikämie-Patienten gibt Auskunft über die aktuelle Situation der systemischen Immun-Infektionsabwehr, die Effektivität des gewählten Therapieregimes und die Prognose des Patienten.

Bei Berücksichtigung der Immunparameter fanden wir in vielen Fällen eine Übereinstimmung zwischen der Intensität der Candida-Antigenzirkulation im Blut, dem kritischen Absinken der HLA-DR-Werte der Monozyten und der klinischen Prognose. Eine zentrale Stellung in den Abwehrleistungen bei Pilzinfektionen haben neben der Phagozytose die zellvermittelten Immunmechanismen (van Cutsem et al. 1990, Fegeler et al. 1987, Kappe und Müller 1987, Müller 1990). Das Verschwinden von HLA-DR positiven Monozyten ist ein Hinweis darauf, daß die Antigenpräsentation durch diese Zellen nicht mehr möglich ist, und damit die gesamte Kooperation zwischen T-Zellen und mononukleären Phagozyten nicht mehr funktioniert (von Baehr 1990). Für die Therapiefindung besitzen synchrone Vorlagen von Infektions- und Immunparametern besonderen Stellenwert. Die Immunparalyse ist dabei ein Zeichen für einen

absolut lebensbedrohlichen Zustand und dringende Indikation für eine gründliche Revision der Therapie.

Konsequenzen müssen eine antibiotische bzw. antimykotische Therapie adäquat der mikrobiologischen Befunde oder ein Reduzieren der Immunsuppression bei immunsupprimierten Patienten (z. B. Transplantatempfänger) sein.

Die Pilzbelastung beider Patientengruppen, das heißt von KMT- und Patienten aus dem Intensivtherapiebereich, wurde vergleichend untersucht. Zusätzlich zu den 17 komplex ausgewerteten Patienten mit hämatologischer Grundkrankheit und anschließender KMT wurden die serologischen Daten der Jahre 1992 und 1993 aller Patienten nach einer KMT und dem Intensivtherapiebereich analysiert. Daraus ergibt sich als Basis für die serologischen Auswertungen 34 KMT- und 365 ITS-Patienten im Jahr 1992 sowie 37 KMT- und 475 ITS-Patienten im Jahr 1993. Bei KMT-Patienten existiert eine geringere Pilzbelastung gegenüber den ITS-Patienten. Die Patienten nach einer KMT zeigen deutlich weniger positive Befunde im Candida-Ramco[®]-Test (Titer $\geq 1:8$) und die Antigenbelastung ist nur halb so hoch wie bei den Patienten aus dem Intensivtherapiebereich (KMT-Patienten ca. 20%, ITS-Patienten ca. 40 % positiv). Die Antigenverläufe beider Patientengruppen wurden detailliert untersucht. Es erfolgte eine Differenzierung der Candida-Ramco[®]-Titer ab einem Grenztiter von 1:4 beginnend. Kein KMT-Patient zeigte eine Antigenbelastung von $>1:32$, bzw. nur einmal ein Patient im Jahr 1993. Titer von 1:64 wurden von dieser Patientengruppe niemals erreicht. Bei der Auswertung wurden auch Grenztiter von 1:4 mit berücksichtigt. In diesen Titerstufen liegen die KMT-Patienten zahlenmäßig deutlich höher, bedingt durch eine Verlagerung zu Gunsten niedriger Titerstufen.

Inwieweit diese Titerstufe schon pathognomisch ist, ist fraglich. Nach Angaben des Herstellers wird ein Titer von $\geq 1:4$ als Hinweis für eine Systemcandidose angesehen. Viele Autoren halten Titer von $\geq 1:4$ im Cand-Tec als spezifisch für eine systemische Candidose (Cabezudo et al. 1989, De Lozier et al. 1987, Fung et al. 1986, Hantschke und Olbricht 1989, Kahn und Jones 1986, Müller und Hanschke 1978, Price und Gentry 1986, Schönian et al. 1993). So stellen Gentry et al. 1983 bei gesunden Personen und Patienten mit Schleimhautbesiedlung oder -infektionen nach Ausschluß von Rheumafaktoren keine Titer im Ramco[®]-Test von $>1:2$ fest. Andere Autoren fanden Titer von 1:4 auch bei Schleimhautinfektionen und forderten als Kriterium zur Unterscheidung einer invasiven Candidose einen Titer im Cand-Tec von $\geq 1:8$ (Burnie und Williams 1985, Cabezudo et al. 1989, Gentry et al. 1983, Lemieux et al. 1990, Müller 1976).

Auf alle Fälle sollte ein Titer von 1:4 Anlaß dazu geben, kurzfristig erneut serologische Tests durchzuführen, um gegebenenfalls eine Titerbewegung zu erfassen, unter Mitberücksichtigung klinischer Symptome und kultureller Befunde.

Bei der Betrachtung der Antikörperverläufe beider Patientengruppen existieren kaum zahlenmäßige Unterschiede. Bemerkenswert ist der Unterschied in den Jahrgängen 1992 und 1993 und zwar in Form eines deutlichen Rückgangs der positiven Antikörpertests innerhalb beider Jahre. Für diese Befunde gibt es derzeit noch keine Erklärung.

Eine geringere Pilzbelastung existiert bei den KMT-Patienten ebenfalls bei den kulturell erhobenen Daten. Die Anzahl positiver Kulturen liegt bei den Patienten aus dem Intensivtherapiebereich bei ca. 80,3% (unberücksichtigt sind hier intestinale Befunde), dagegen bei den KMT-Patienten nur bei ca. 35%. Selbst bei Berücksichtigung intestinaler Befunde, sind nur 70% aller Kulturen positiv.

Trotz hochgradig reduzierter Immunabwehr zeigten die Patienten nach den KMTs gegenüber der Vergleichsgruppe aus dem Intensivtherapiebereich eine viel geringere Pilzbelastung hinsichtlich der ausgewerteten serologischen Daten (Antigen-belastung) und die kulturellen Befunde betreffend. Das wichtigste Überwachungsinstrument dazu ist ein umfangreiches Antipilzregime, was zum einen eine antimykotische Prophylaxe und Therapie beinhaltet, und zum anderen ein konsequentes diagnostisches Monitoring fordert.

Die Labordiagnostik von Candida-Mykosen erfolgt mittels mikroskopischem- und kulturellem Erregernachweis sowie mit immunserologischen Methoden (Blaschke-Hellmessen 1990, De Lozier et al. 1987, Fortun et al. 1997, Jackson et al. 1994, Klingspor et al. 1996, Momin und Chandrasekar

1995, Morrison et al. 1994, Müller 1990, Price und Gentry 1986, Rieth 1986, Vogeser et al. 1997, Warnock 1995).

Falsch positive oder falsch negative Befunde aus Stuhlproben, Sputum, Bronchial- und Trachealsekreten und Urin müssen berücksichtigt werden (Wegmann 1986). Der Gastrointestinaltrakt ist bei schätzungsweise 75% der Mitteleuropäer mit Candida-Hefen besiedelt. Diese Hefeflora steht im Gleichgewicht mit den Eliminations-mechanismen des infektabwehrkompetenten Wirtes. Isolate aus Stuhlproben repräsentieren daher zunächst die kommensale Hefeflora des Dickdarmes (Müller 1990). Erst bei Keimzahlen von $>10^6$ Hefezellen/g Stuhl kann eine ätiologische Beteiligung bei intestinalen Syndromen in Betracht gezogen werden (Höffken 1989, Müller 1976). Bei infektabwehrgeschwächten, insbesondere granulozytopenischen Risikopatienten, können auch geringere Hefekonzentrationen eine Per-sorptionsgefahr darstellen.

Einen Überblick zur Wertigkeit des quantitativen Erregernachweises gibt Tabelle 13 (Bernhardt et al. 1986).

Tab. 13: Diagnostische Wertigkeit der Quantität pathogenverdächtiger Sproßpilze (nach Bernhardt et al. 1986)
Mengenangaben je ml bzw. g;

*Ausdehnung des Befalls muß vom Endoskopiker eingeschätzt werden

| Material | Unbedeutend | Kontrollbereich | Hinweise auf Sytemmykosen |
|--------------------------|-------------|-----------------|---------------------------|
| Mundhöhlenabstrich | vereinzelt | mäßig | stark |
| Sputum | $\leq 10^3$ | $10^4 - 10^6$ | $\geq 10^6$ |
| Endoskopischer Abstrich* | | | |
| Magensaft | $\leq 10^2$ | $10^2 - 10^4$ | $\geq 10^4$ |
| Dünndarmsaft | $\leq 10^2$ | $10^2 - 10^4$ | $\geq 10^4$ |
| Stuhl | $\leq 10^4$ | $10^4 - 10^6$ | $\geq 10^6$ |
| Urin | $\leq 10^2$ | $10^2 - 10^3$ | $\geq 10^3$ |
| Blut | | | positiver Befund |
| Liquor | | | positiver Befund |
| Punktate | | | positiver Befund |

Die angegebenen Daten stellen nur Richtwerte dar. Welches Quantum letztlich pathogen ist, hängt in entscheidendem Maße von der Abwehrlage des Patienten ab. Bei Patienten nach einer KMT muß jedem positivem Pilznachweis Aufmerksamkeit geschenkt werden.

Hefen in Sputumproben, Bronchial- und Trachealsekreten können Kontaminationen darstellen, da Sputum durch die Rachen-Mund-Passage, Sekrete durch die Gewinnungsprozedur kommensal verunreinigt werden können.

Urin, der meist als Mittelstrahl- oder Katheterurin gewonnen wird, spielt in der Pilzdiagnostik eine große Rolle, da bei Fungämien und Septikämien Hefen regelhaft über die Harnwege ausgeschieden werden. Es besteht jedoch die Gefahr der Kontamination von hefebesiedelten Genitalbereichen her. Bei hefepositiven Urinproben ist also eine etwaige Kontamination durch Genitalinspektion, sorgfältige Gewinnung und schnellmögliche kulturelle Untersuchung auszuschließen.

Untersuchungen zum Hefenachweis können auch falsch negativ ausfallen, insbesondere bei Blut- und Liquorproben. Bei Verdacht auf eine cerebrale Mykose sollte dem mykologischen Labor immer eine gesonderte Liquorprobe übersandt werden, wenn möglich mehrmals. Bei cerebralen Mykosen enthält eine Liquorprobe nicht immer vermehrungsfähige Pilzzellen, es besteht also ein Stichproben- bzw. Verteilungsproblem.

Auch bei Blutkulturen enthält die eingepfropfte Blutprobe nicht immer ein vermehrungsfähiges Pilzelement. Zirkulierende Pilzzellen werden in den peripheren Blutkapillaren zu einem großen Teil abgefangen (Müller 1990). Der überwiegend falsch negative Kulturbefund bei Blutproben läßt sich durch Anlegen einer Mehrzahl von Blutkulturen im Fieberanstieg ausgleichen (Fegeler et al. 1987). Zweimalig positive Blutkulturen innerhalb von 48 Stunden sind pathognomonisch für eine Candida-Sepsis (Müller und Hanschke 1978). Eine negative Blutkultur schließt weder eine Sepsis noch eine Organ- oder Systemmykose aus (Fegeler 1989).

Serologische Untersuchungen beinhalten Antigen- und Antikörpernachweise und vermögen falsch negative Blutkulturbefunde teilweise auszugleichen (Cabezudo et al. 1989, De Lozier et al. 1987, Giamarellou und Antoniadou 1996, Hoppe et al. 1995, Hopwood et al. 1995, Klingspor et al. 1996, Rath et al. 1996, Sulahian et al. 1996, Troke et al. 1990, Villalba et al. 1993).

Der Candida-Ramco[®]-Test weist einen thermolabilen, Candidose-assoziierten Komplex unbekannter Natur nach, der bei ca. 50% aller Candidose-Patienten nachzuweisen ist (Fung et al. 1986, Klingspor et al. 1996, Müller 1990, Price und Gentry 1986, Wegmann 1986). Falsch positive Resultate kommen bei Rheumafaktor positiven Patientenserum vor. Vor Interpretation der Ergebnisse sind sie vorher unbedingt auszuschließen (Kahn und Jones 1986, Klingspor et al. 1996, Müller 1990, Röchel 1995).

Der Candida-Pastorex[®]-Test vermag noch 1 ng Mannan/ml nachzuweisen (Bretagne et al. 1997, Röchel et al. 1988). Mannan kann von der Candida-Zelloberfläche in erheblichem Maß in das Infektionsmilieu freigesetzt werden (Gentry et al. 1983, Müller 1990). Allerdings wird das Candida-Mannan-Antigen sehr rasch, mit einer Halbwertszeit von zwei Stunden aus der Zirkulation eliminiert. Nachweisbare Mannan-Konzentrationen werden aus diesem Grund nur selten und sehr kurzfristig erreicht. Ein weiteres Problem ist die Bindung von Mannan an Transportgefäße, was durch einen schnellen Probentransport ins Labor und sofortige Materialverarbeitung ausgeglichen werden kann.

Der Aspergillus-Pastorex[®]-Test entspricht im Testablauf und -prinzip dem des Candida-Pastorex[®]. Die Empfindlichkeitsgrenze des Tests liegt bei 15 ng/ml, er ist damit durch eine hohe Spezifität gekennzeichnet. Wie in der vorliegenden Arbeit dargelegt werden konnte, ist durch den transitorischen Charakter der Antigenämie, jedoch nur ein Test je 100 positiv (Tietz et al. 1993). Das bedeutet, ein negativer Test schließt die Diagnose einer invasiven Aspergillose nicht aus. Kontaminationen verschiedener Art bereichern die positiven Ergebnisse noch um etwa 3%. So gering die Sensitivität auch sein mag, die quasi 50%-ige Erfolgsrate in den Proben der Erkrankten ist ein klares Votum für den Test und dessen Stellenwert im mykologischen Routinebetrieb. Anzuraten ist allerdings ein engmaschiges Befundkonzept (Seibold 1991), weitgehender Kontaminationsschutz auf allen Ebenen der Diagnostik sowie eine sofortige Materialverarbeitung im Labor.

Unter Umständen können aber auch Nachuntersuchungen positive Ergebnisse liefern, ungeachtet der Zweifel an der Nachweisfähigkeit mutmaßlich alterierter oder durch Bindung „verlorengegangener“ Antigene.

So haben sich alle Erwartungen an den Test erfüllt. Alle histopathologisch gesicherten Fälle wiesen zu Lebzeiten positive Antigennachweise aus. Beweis genug sind die Verläufe bei drei Patienten, bei denen der Nachweis der Aspergillusinfektionen erst retrospektiv erbracht wurde, also nach dem Tod.

Der indirekte HAT weist Antikörper gegen Candida albicans nach. Es können Antikörper der Klassen IgM, IgG, und IgA erfaßt werden, die gegen die Zellwand-Mannan-Antigene gerichtet sind (Müller 1990, Sulahian et al. 1996, Tietz und Tausch 1993, Villalba et al. 1993). Zum Teil werden auch Antigen-Antikörper-Komplexe gebunden. Zunächst kommt es zu einem Anstieg der Antikörper vom IgM-Typ, mit einer zeitlichen Verzögerung von einer Woche werden dann auch Antikörper vom IgG-Typ gebildet, während es wieder zu einer Abnahme des IgM-Anteils kommt (Müller 1976, Wegmann 1986). Dies erklärt seine hohe Empfindlichkeit und er bietet die Möglichkeit der Früherkennung eines Antigenkontaktes. Candida-Pilze findet man auch im

Gastrointestinaltrakt gesunder Erwachsener (z. B. zu 50% im Mundspülwasser und zu 90% im Stuhl). Bei der Besiedlung des Darmes mit Candida-Hefen kommt dem Vorgang der Persorption besondere Bedeutung zu. Hierunter versteht man die Aufnahme korpuskulärer Bestandteile in einer Größe von bis zu 70 µm durch die intakte Darmschleimhaut in den Pfortaderkreislauf, so daß es auch beim infektabwehrkompetenten Menschen zu einer ständigen geringgradigen Immunisierung kommt (Blechsmidt und Meinhof 1989). Diese transitorischen Fungämien spiegeln sich in dem Grundtiter des Candida-HAT von $\leq 1:160$ wieder (Müller 1976, Müller 1990, Müller et al. 1987, Rüchel 1995). Titeranstiege bei diesen Tests belegen stets eine aktuelle immunologische Wirt-Erreger-Auseinandersetzung. Der Kliniker bekommt daher vom Labor nicht selten hohe Candida-HAT-Titer mitgeteilt. Das macht verständlich, daß bei ITS- Patienten erst sehr hohe HAT-Titer von $>1:640$ als positiv bewertet werden. Anders verhält es sich bei Patienten nach einer KMT. Durch eine starke Immunsuppression werden diese Patienten kaum HAT-Titer von 1:640 erreichen. Hier müssen auch niedrigere HAT-Titer berücksichtigt werden. Ein Titeranstieg um drei Stufen (von 1:10 auf 1:80) ist bereits pathognomonisch und weist auf das Vorliegen einer Auseinandersetzung zwischen Antigen und immunkompetenten Zellen hin. Es ist zu betonen, daß positive Befunde in der Candida- und Aspergillus-Erregerisolierung und Serologie stets nur auf dem Hintergrund klinischer Manifestationen und unter Einbeziehung der klinischen Symptomatik zu bewerten sind (Kappe und Müller 1987, Rüchel et al. 1988). Eine Ausnahme stellen histologische und kulturelle Nachweise aus Sterilkompartimenten dar (Müller et al. 1987) sowie wiederholte hochtitrige Antigennachweis-Befunde unter Ausschluß von Fehlermöglichkeiten. Zusätzlich sollten apparative Untersuchungsverfahren wie Röntgen-Thorax, Sonografie, Computertomografie, MRT, zur Diagnosefindung mit herangezogen werden (Schwartz et al. 1997).

Interessant ist mittlerweile auch der Einsatz neuerer diagnostischer Verfahren wie dem Platelia-Antigennachweis und der PCR-Technik. Machetti et al. (1998) verglichen einen Sandwich-Enzym-Immuno-Assay (ELISA), nämlich den Platelia-Aspergillus-Test mit dem Latexagglutinationstest zur Diagnose invasiver Aspergillosen. Insgesamt wurden 364 Serumproben von 22 Knochenmarkstransplantatempfängern untersucht. Die Sensitivität und Spezifität für den Platelia-Antigentest betragen 60% bzw. 82% versus 40% und 94% für den Latexantigentest. Bei zwei Patienten, die mit beiden Methoden positiv detektiert wurden, wurde der ELISA-Test früher als der Latexagglutinationstest positiv bzw. er blieb länger positiv, wenn auch schon der Latexagglutinationstest bereits wieder negativ wurde. Fortun et al. (2001) untersuchten ebenfalls den diagnostischen Wert des Nachweises von Galaktomannan-Aspergillusantigen im Serum mittels Sandwich-ELISA-Test (Platelia). Insgesamt wurden bei 240 lebertransplantierten Patienten 14 Fälle von invasiver Aspergillose nachgewiesen. 13 Patienten verstarben. Die Sensitivität des Plateliatests betrug 55,6%, die Spezifität 93,9%. Der positive Vorhersagewert lag bei 71,4% und der negative Vorhersagewert bei 88,6%. Damit zeigt sich dieser Test als wertvolles diagnostisches Hilfsmittel zur Frühdiagnose invasiver Aspergillosen bei diesen Hochrisikopatienten. Nach Maertens et al. (1998) erbrachte der Platelia-Antigentest im Rahmen einer prospektiven und Autopsie-kontrollierten Studie an 2.172 Sera eine Sensitivität von 92,5% und eine Spezifität von 95,4%. Der positive Vorhersagewert betrug in dieser Studie 92,6%, der negative Vorhersagewert 95,5%. Viscoli et al. (1998) berichteten sogar über eine Spezifität von 100% des Plateliatests. Verweij et al. (1995) konnten zeigen, daß der Platelia-Antigentest bei einer Sensitivität von 90% und einer Spezifität von 84% im Vergleich zum Latexagglutinationstest mit einer Sensitivität von 70% und einer Spezifität von 86% nicht nur besser abschnitt, sondern auch früher im Verlauf der Infektion positive Ergebnisse nachweist. Nach Marmorat-Khuong et al. (1995) wurde mittels Platelia-Antigennachweis sogar eine Spezifität von 100% und eine Sensitivität von 92% nachgewiesen und zwar an 226 Serumproben von 50 Patienten. Poirot et al. (1996) untersuchten 2.391 Serumproben von 182 Patienten. Die Sera von 153 Patienten ohne klinische Zeichen einer invasiven Aspergillose waren im ELISA-Test negativ. 14 Patienten ohne Aspergillosezeichen zeigten isolierte, positive Seren im Rahmen einer Serie von negativen Ergebnissen. Auf diese Art wurde ein Patient als positiv angesehen, wenn mindestens zwei aufeinanderfolgende Seren positiv waren. Unter

Verwendung solcher Kriterien konnten sechs Patienten ohne klinische Zeichen und neun Patienten mit klinisch nachgewiesener invasiver Aspergillose im Assay positiv getestet werden. Sulahian et al. (1996) verglichen den Latexagglutinationstest mit dem Platelia-Antigennachweis. Bei 31 von 169 Knochenmarktransplantierten Patienten ohne klinische Zeichen einer Aspergillose war der Platelia-Antigennachweis zwischenzeitlich positiv innerhalb des ersten Monats nach der Transplantation. Es zeigte sich bei diesen Patienten eine Spezifität von 81%. Bei Patienten ohne Knochenmarktransplantation, die an anderen Erkrankungen litten (n=77) lag die Spezifität bei 98,7%. Swanink et al. (1997) konnten zeigen, daß beim Platelia-Antigennachweis eine Kreuzreaktivität mit *Penicillium crysogenum*, *Penicillium digitatum* und *Paecilomyces variotii* bestand. Eine Kreuzreaktivität mit Bakterien war hingegen nicht nachweisbar. Anhand von sieben Patienten, die an einer histologisch gesicherten, invasiven Aspergillose nach allogener Knochenmarktransplantation verstorben waren, überprüften Gugel et al. (1998) retrospektiv, ob das Ergebnis des sensitiven Aspergillus-Antigen-ELISA (Platelia-Aspergillus) hilfreich bei der Interpretation der üblichen klinisch-laborchemischen Verlaufsparemeter gewesen wäre und einen Einfluss auf die Indikation zur Amphoptericin B-Therapie gehabt hätte. Hierzu wurden 109 konservierte Plasmen dieser Patienten mittels des Tests untersucht. Als Hinweis auf eine beginnende, invasive Aspergillose wurden grenzwertige und positive Testergebnisse gewertet. Parallel dazu wurden anhand der Krankenakten die Verläufe von CRP und Körpertemperatur, Röntgenthorax, CT-Thorax und der Beginn der Amphoptericin B-Therapie dokumentiert. Es zeigte sich, daß der Anstieg des CRP und der Körpertemperatur mit einem positiven bzw. grenzwertigen ELISA-Ergebnis korrelierten. Allerdings trat bei zwei Patienten keine Temperaturerhöhung auf. Interessanterweise kam es in fünf Fällen im Verlauf der Erkrankung wieder zu einer Normalisierung des CRP und/ oder der Temperatur bei fortbestehenden positiven ELISA-Werten, so daß diese Parameter für die Therapiekontrolle nicht aussagefähig erschienen. Der Abstand zwischen positiven bzw. grenzwertigen ELISA- und Röntgenthoraxuntersuchungen betrug durchschnittlich 7,6 Tage. In sieben der sechs Fälle fanden sich Veränderungen, die jedoch nicht immer typisch für eine Aspergillose waren. Eine Therapie mit Amphoptericin B erfolgte im Schnitt acht Tage nach dem positiven ELISA-Ergebnis. Kombiniert man ein positives bzw. grenzwertiges Ergebnis im Aspergillus-Antigen-ELISA mit einem CRP- oder Temperaturanstieg, so hätte die Indikation zur Amphoptericin B-Therapie im Schnitt 5,4 Tage früher erfolgen können. Die Autoren schließen daraus, daß der Aspergillus-Antigen-ELISA eine sinnvolle Interpretation der unspezifischen Entzündungszeichen, Temperatur- und CRP-Anstieg bei neutropenischen Patienten mit Verdacht auf invasive Aspergillose ermöglicht. Die sich hieraus ergebende frühzeitigere antimykotische Therapie könnte die Prognose für die Patienten verbessern.

Eine weitere interessante therapeutische Option bietet die PCR-Technik. Die DNA-Amplifikation mithilfe der Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) ermöglicht, zwischen individuellen *Candida albicans*-Isolaten zu unterscheiden. Van Belkum et al. (1994) benutzten die PCR-Technik zum Monitoring bei immunsupprimierten leukämischen Patienten, die eine Knochenmarktransplantation erhalten hatten. Es zeigte sich, daß die Patienten unterschiedliche *C. albicans*-Stämme aufwiesen, was darauf hindeutet, daß in der Klinik sauber gearbeitet wurde und die Erreger nicht von einem Patienten zum anderen übertragen wurden. Einsele et al. (1998) untersuchten 134 Patienten vor einer Knochenmarktransplantation. Bei sieben dieser Patienten waren Lavage-Proben Aspergillus-positiv, wenn sie mittels PCR-Technik untersucht wurden. In allen diesen Fällen waren die Mikroskopie und die Kulturen negativ. Fünf dieser sieben Patienten entwickelten eine invasive pulmonale Aspergillose im Durchschnitt 64 Tage nach der Transplantation. Die Sensitivität und Spezifität lag in diesem Fall bei 63% bzw. 98%. Williamson et al. (2000) untersuchten retrospektiv 175 Serumproben von 37 Knochenmarktransplantierten Patienten. Sechs dieser Patienten hatten erwiesenermaßen eine invasive Aspergillose und bei 10 weiteren bestand ein Infektionsverdacht. Diese 16 Patienten waren sämtlich PCR-positiv (57 von 93 getesteten Serumproben). Zwei zusätzliche Patienten, die klinisch unauffällig waren, waren ebenfalls PCR-positiv (5 von 9 Proben). Die Sensitivität der PCR lag in dieser Studie bei 100% und

die Spezifität bei 79% und der positive Vorhersagewert betrug 80%. Unter der Vorgabe des Vorliegens zwei aufeinanderfolgender positiver Ergebnisse betrug die Sensitivität 81% und die Spezifität 100% und der positive Vorhersagewert ebenfalls 100%. Auch nach Hebart et al. (2000) ist ein prospektives PCR-Screening sehr gut geeignet, Hochrisikopatienten für invasive Aspergillusinfektion zu ermitteln. Die Autoren fanden eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 65%. Rimek et al. (1998) evaluierten einen PCR-Assay an klinischen Untersuchungsmaterialien. Insgesamt wurden 77 Proben (52 Bronchiallavagen, 5 Trachealsekrete, 10 Sputen, 8 Biopsien und 2 Glaskörperaspirate) von 42 Patienten mikroskopisch, kulturell und mittels PCR untersucht. Bei 19 Patienten lag sicher bzw. mit großer Wahrscheinlichkeit eine invasive Aspergillose vor. 23 Patienten hatten keine therapiewürdige Mykose. Vier der 19 Patienten mit invasiver Aspergillose waren mikroskopisch positiv mit echtem Myzel. 16 von 19 Patienten waren kulturell positiv und ebenfalls 16 von 19 Patienten waren PCR-positiv. Durch die Kombination von Mikroskopie und Kultur wurden 18 von 19 Patienten diagnostiziert. Durch die Kombination von Mikroskopie und PCR waren dies 16 von 19 Patienten und durch die Kombination von Kultur und PCR wurden alle 19 Patienten diagnostiziert. Bei drei der 19 Patienten brachte die PCR entscheidende diagnostische Hinweise. In einer Leber- und einer Kieferhöhlenbiopsie wurden die histologisch gesehenen Pilzelemente als Aspergillus identifiziert und bei einer 36-jährigen Frau mit einer akuten myeloischen Leukämie war in drei Bronchiallavagen nur die PCR positiv bei gleichzeitig negativer Mikroskopie und Kultur. Kultur und PCR zeigten mehrere falsch-positive Ergebnisse. Vier der 23 Patienten ohne invasive Mykose waren kulturell positiv, sechs waren PCR-positiv. Rimek et al. (1998) schließen aus ihrer Arbeit, daß der Pilz-PCR-Assay als Ergänzung zu konventionellen Methoden bei der Diagnostik der invasiven Aspergillose eingesetzt werden kann.

Verweij et al. (1995) und Verweij et al. (1997) verglichen die PCR-Methode mit dem Platelia-Antigen-Nachweis. Die Aspergillusarten wurden durch PCR oder ELISA bei 5 von 7 Proben von radiologisch gesicherten invasiven Aspergillosepatienten nachgewiesen. Die ELISA-Resultate im Serum waren bei allen Patienten, die ELISA-positive bronchoalveoläre Lavageproben hatten, ebenfalls positiv. Bei fünf dieser Patienten war der Serum-ELISA sogar zu einem früheren Zeitpunkt positiv als der ELISA in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit. PCR und ELISA waren bei zwei Serum- und einer bronchoalveolären Lavageprobe positiv bei Patienten ohne radiologische Zeichen einer invasiven pulmonalen Aspergillose. Bei den nicht neutropenischen Patienten waren 5 Serum- und 2 bronchoalveoläre Lavageproben positiv. Es zeigte sich, daß mittels Platelia-Antigentest in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit die Aspergillose bei Hochrisikopatienten zwar nachgewiesen werden kann, daß aber die Serumproben eine frühere Diagnostik ermöglichen. Verweij et al. (1997) konnten ebenfalls nachweisen, daß der Platelia-ELISA früher zu positiven Ergebnissen führt als die PCR-Technik. Auch Becker et al. (2000) stellten fest, daß der Platelia-Antigennachweis bezüglich Diagnose und Monitoring invasiver pulmonaler Aspergillosen der PCR überlegen ist. Am Rattenmodell untersuchten die Autoren Blutproben und bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit mittels PCR und mittels Platelia-ELISA. Die Sensitivität des ELISA war an sämtlichen Messtagen höher als jene der PCR und zwar sowohl im Blut als auch in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit.

Eine Möglichkeit zur besseren Erfassung von Mykosen ist durch eine Erhöhung der Einsendefrequenz der Untersuchungsmaterialien gegeben. In der Abbildung 23 ist die durchschnittliche Anzahl der Materialeinsendungen/ Patient sowie Anzahl der Tests/ Patient differenziert nach KMT- und ITS-Patienten dargestellt.

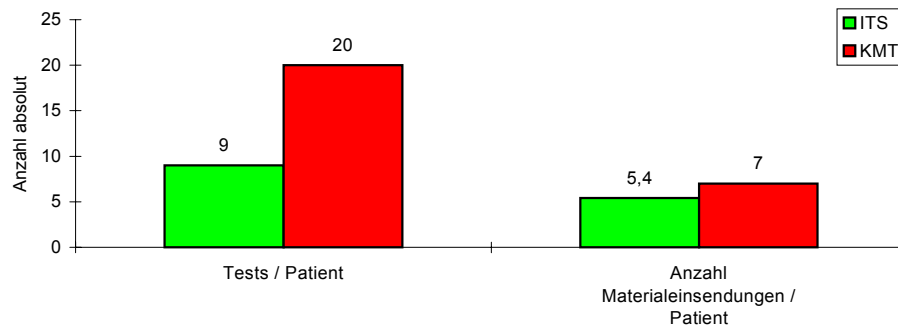


Abb. 23: Anzahl der Materialeinsendungen und Tests/ Patient differenziert nach KMT- und ITS-Patienten

Bemerkenswert ist, daß bei KMT-Patienten die Einsendefrequenz der Untersuchungsmaterialien deutlich höher ist gegenüber Patienten aus dem Intensivtherapiebereich. Noch größere Differenzen ergeben sich bei der Anzahl der durchgeführten Tests/ Patient.

Beachtlich ist ebenfalls die Inanspruchnahme der Aspergillus-Antigen- und Antikörpertests der Patienten nach einer KMT der Jahre 1992 und 1993. Wie notwendig die Diagnostik einer Aspergillusinfektion bereits im Vorfeld ist, wird durch die rasante Zunahme der durchgeführten Aspergillus-HAT-Tests deutlich (die Anzahl der Tests ist auf fast das Zehnfache bis 1993 erhöht worden). Parallel dazu kam es zu einer Verdoppelung der durchgeführten Aspergillus-Antigen-Tests.

Die routinemäßige Einsendung von Materialien zur kulturellen und serologischen Diagnostik ist ein bedeutender, da einziger Schritt, eine Pilzinfektion im Vorfeld zu diagnostizieren, um anschließend eine Abnahme der Letalität herbeizuführen. Beweis dafür sind die Verläufe bei den Patienten nach einer KMT.

Trotz hochgradig eingeschränkter Immunabwehr zeigte diese Patientengruppe gegenüber den ITS-Patienten eine viel geringere Pilzbelastung. Zum anderen traten innerhalb des Untersuchungszeitraumes keine Aspergillusinfektionen auf. Ursache dafür ist das hervorragend ausgeführte Antipilzregime bei dieser Patientengruppe. Neben einer konsequenten antimykotischen Prophylaxe und -therapie herrschte ein optimales diagnostisches Monitoring. Antigennachweise, und hier vor allem Aspergillus-Antigentests stellen sich hier als ein wichtiges Instrument dar. Diese Arbeit belegt, daß mit Pilzinfektionen, insbesondere bei Patienten mit eingeschränkter Abwehr, gerechnet werden muß.

Das Wissen um den gefährdeten Personenkreis, um den Infektionsweg und die hohe Komplikations- und Letalitätsrate sollten Anlaß geben, häufiger und früher an generalisierte Mykosen zu denken, um ihnen wirksam entgegenzutreten zu können (Fegeler 1982).

5 ZUSAMMENFASSUNG

Infektionen können für Patienten nach einer Knochenmark- und Organtransplantation lebensbedrohliche Komplikationen bedeuten, die nur durch eine frühzeitige Diagnostik und optimalen Therapiebeginn zu beherrschen sind.

Im Untersuchungszeitraum von September 1992 bis Dezember 1993 wurden 17 KMT-Patienten einem umfassenden Candida- und Aspergillusmonitoring unterzogen. Das heißt, es wurden regelmäßig Kulturen angelegt und 1-3 mal/ Woche serologische Untersuchungen auf Pilze ausgeführt. Vom Tag der stationären Aufnahme an, erhielten alle Patienten eine medikamentöse antimykotische und antibakterielle Prophylaxe. Die Patientenzimmer waren mit Air flow Anlagen ausgestattet. Nach den KMTs wurden Antibiotikakombinationen verabreicht. Bei Fieber länger als drei Tage, bzw. einer zweiten Fieberepisode oder beim Verdacht auf eine interstitielle Pneumonie erfolgte die parenterale Gabe eines Antimykotikums.

Ein entscheidender Parameter für die hohe Infektanfälligkeit von Patienten nach einer KMT ist der, durch die Konditionierungsbehandlung bedingte, Abfall der neutrophilen Granulozyten. Diesbezüglich ist der Verlauf dieser Zellzahlen bei drei von vier verstorbenen Patienten nach ihrer KMT betrachtenwert, denn deren Werte gingen bis auf null zurück. Bei den anderen KMT-Patienten wurde ein Abfall ebenfalls beobachtet, ein Absinken bis auf null wurde nicht verzeichnet. Spätestens in der vierten Woche nach ihrer KMT lag die durchschnittliche Zahl der Granulozyten über 1,0 Gpt/l. Bei den bakteriell bedingten Infektionen zeigte sich eine deutliche Präsenz der Gram-positiven Bakterien. Von 199 positiven bakteriellen Kulturen konnten aus 95% Gram-positive Keime isoliert werden (davon 139 Proben Staphylokokken entspricht 70,2%). Im Vergleich dazu belegen Gram-negative Keime einen verschwindend geringen Anteil von nur 5%, jedoch mit hoher letaler Potenz, denn eine Patientin verstarb an einer durch *Pseudomonas aeruginosa* verursachten Sepsis.

Die durch Pilze verursachten Infektionen rücken jedoch immer mehr in den Vordergrund. Die Erreger stammen im wesentlichen aus zwei Gattungen: Candida- sowie Aspergillusarten. In den meisten Fällen handelt es sich um *Candida albicans* (62,6 %). Die Isolationsfrequenz von *C. glabrata* nahm in hohem Maße zu, denn immerhin 33,7% der Stammissolate gehörten dieser Spezies an. Eine mögliche Ursache könnte in der zehnfach höheren MHK für Fluconazol von *C. glabrata* gegenüber *C. albicans* liegen. Daraus leiteten sich zwei Konsequenzen ab: eine Dosisanpassung bei Applikation von Fluconazol und die Notwendigkeit einer genauen Hefedifferenzierung.

Vier Patienten verstarben zwischen dem 8. und 29. Tag nach ihrer KMT. Vermutlich starben drei Patienten an einer systemischen Candidainfektion. Bei ihnen zeigten sich mehrfach positive serologische Nachweise im Candida Ramco[®]- und HAT-Test bis zum Tod. Die autopsische Todesursache blieb fraglich.

Zum Vergleich wurden Daten von 252 Patienten aus den Intensivtherapiebereich, Patienten nach Organtransplantationen oder Polytraumata analysiert. Wichtig ist hierbei, daß alle Patienten auf verschiedenen Stationen betreut wurden und dadurch keine einheitliche antiinfektiöse Prophylaxe und Therapie existierte.

Im Untersuchungszeitraum traten acht Aspergillusinfektionen auf, fünf mit letalem Ausgang. Vier Patienten entwickelten eine Immunparalyse mit Abfall der HLA-DR positiven Monozyten auf <30%, zusammen mit positiven Candida-Antigen-Titern im peripheren Blut zwischen 1:16 und 1:128. Der kulturelle Nachweis einer Aspergillusinfektion gelang nur in drei Fällen, dem gegenüber zeigten alle Patienten mehrfach positive Aspergillus-Antigen-Titer (Aspergillus-Pastorex[®]-Test). Bei zwei Patienten wurde der kulturelle oder serologische Nachweis einer Aspergillusinfektion erst retrospektiv, nach dem Tod, erbracht. Die Pilzbelastung beider Patientengruppen wurde differenziert untersucht. Die Patienten nach einer KMT zeigten deutlich weniger positive Befunde im Candida-Ramco[®]-Test (Titer $\geq 1:8$) gegenüber den ITS-Patienten. Das bedeutet, die Antigenbelastung der KMT-Patienten ist gegenüber der Vergleichsgruppe nur halb so hoch (ca. 40% der ITS- gegenüber ca. 20% der KMT-Patienten positiv). Die Antigenverläufe beider

Patientengruppen wurden noch detaillierter untersucht. Dafür erfolgte eine Differenzierung aller Candida-Antigen-Titer (Ramco[®]), mit einer Titerstufe ab 1:4 beginnend. Fast kein KMT-Patient hatte eine Antigenbelastung von >1:32, außer einmalig ein Patient 1993. Titerstufen von 1:64 wurden von dieser Patientengruppe dagegen niemals erreicht. Bei dieser Auswertung wurden auch Grenztiter von 1:4 mit berücksichtigt. In dieser Titerstufe lagen die KMT-Patienten prozentual deutlich höher, bedingt durch eine Verlagerung zu Gunsten niedriger Titerstufen. Durch Differenzen in der Anzahl durchgeführter Tests (ca. 20 Tests/ KMT-Patient, gegenüber ca. 9 Tests/ ITS-Patient), muß es zwangsläufig auch zu einer Zunahme positiver Ergebnisse kommen. Grenztiter von 1:4 stellen noch keine eindeutige Pilzinfektion dar, gaben aber Anlaß dazu, kurzfristige Serumkontrollen durchzuführen. Eine geringere Pilzbelastung existierte bei den KMT-Patienten ebenfalls bei den kulturell erhobenen Daten. Der Anteil positiver Kulturen liegt bei den ITS-Patienten bei ca. 80,3% (ohne intestinale Befunde), dagegen liegt der prozentuale Anteil bei den Patienten nach einer KMT bei 35 %. Selbst bei Berücksichtigung intestinaler Befunde, sind nur 70% aller Kulturen positiv.

Die Ergebnisse der Arbeit belegen, daß bei Patienten mit geringer Abwehr zwingend mit Pilzinfektionen gerechnet werden muß. Nur eine frühzeitig eingeleitete antimykotische Therapie kann das Risiko eines letalen Ausgangs einer systemischen Mykose abschwächen. Voraussetzung dafür ist die Diagnostik einer Pilzinfektion im Vorfeld, die aus der Synopsis von Klinik, kulturellen und serologischen Untersuchungen erbracht wird. Besondere Aufmerksamkeit wird seit den 80-er Jahren Antigennachweisverfahren gewidmet. Der Wert dieser Verfahren liegt in der Schnelligkeit der Bestimmungsmethode, einer höheren Empfindlichkeit gegenüber kulturellen Nachweisverfahren und der Möglichkeit der Quantifizierung. Antigentests eignen sich damit hervorragend als ein Screening- und Therapieverlaufparameter. Bedingt durch die schnelle Elimination der Antigene aus der Blutzirkulation stellt sich die Antigenämie als ein kurzfristiges oder intermittierendes Phänomen dar. Diese Tatsache begrenzt die diagnostische Sensitivität von Candida- und Aspergillus-Antigenverfahren. In der Regel ist nur ein Aspergillus-Antigen-Test je 100 Proben positiv.

Eine quasi 50%-ige Erfolgsrate in den Proben der Erkrankten ist jedoch ein klares Votum für den Test und dessen Stellenwert im mykologischen Routinebetrieb. Anzuraten ist allerdings ein engmaschiges Befundkonzept, weitgehender Kontaminationsschutz auf allen Ebenen der Diagnostik sowie eine sofortige Material-verarbeitung im Labor.

6 Literaturverzeichnis

1. Anderson, K.; Morris, G.; Kennedy, H.; Croall, J.; Michie, J.; Richardson, M. D.; Gibson, B.: Aspergillosis in immunocompromised paediatric patients: associations with building hygiene, design, and indoor air.. *Thorax*. 1996, *51*, S.256-261,
2. Ansorg, R.; van den Boom, R.; von Heinegg, E. H.; Rath, P. M.: Association between Incidence of Aspergillus Antigenemia and Exposure to Construction Works at a Hospital Site. *Zentralbl Bakteriol*. 1996, *284*, S.146-152,
3. Arning, M.; Aul, C.: Mycose-Prophylaxe bei neutropenischen Patienten.. *Mycoses*. 1994, *37*, Suppl. 2, S.70-76,
4. Bach, M. C.; Adler, J. L.; Breman, J.; Peng, F.; Sahyoun, A.; Schlesinger, R. M.; Madras, P.: Influence of rejection therapy on fungal and nocardial infections in renal transplant recipients.. *Lancet*. 1973, *1*, S.180-184,
5. Balani, S. K.: Metabolites of Caspofungin acetate, a potent antifungal agent, in human plasma and urine.. *Drug Metab Dis*. 2000, *28*, S.1274-1278,
6. Baron, O.; Guillaume, B.; Moreau, P.; Germaud, P.; Despins, P.; De Lajartre, A. Y.; Michaud, J. L.: Aggressive surgical management in localized pulmonary mycotic and nonmycotic infections for neutropenic patients with acute leucemia: report of eighteen cases.. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1998, *115*, No. 1, S.63-68,
7. Becker, M. J., de Marie, S., Willemsse, D., Verbrugh, H. A., Bakker-Woudenberg, I. A. J. M.: Quantitative galactomannan detection is superior to PCR in diagnosing and monitoring invasive pulmonary aspergillosis in an experimental rat model.. *J Clin Microbiol*. 2000, *38*, S.434-438,
8. Berger, U.; Bertozzi-Süssmann, B.; Hässner, K.; Rüchel, R.; Zimmermann, O.: Tödliche pulmonale Mischinfektion mit Aspergillus species und Candida tropicalis.. *Mykosen*. 1986, *30*, Suppl. 2, S.39-46,
9. Bernhardt, H.; Knoke, M.; Seebacher, C.: Systemmykosen-Definition, Pathogenese und Diagnostik.. *Z Klin Med (Berlin)*. 1986, *41*, Suppl. 8, S.585-588,
10. Beyer, J.; Schwartz, G.; Barzen, G.; Risse, G.; Dullenkopf, K.; Weyer, C.; Siegert, W.: Use of amphotericin B aerosols for prevention of pulmonary aspergillosis.. *Infection*. 1994, *22*, No. 2, S.143-147,
11. Blaschke-Hellmessen, R.: Empfehlungen für die mykologische Diagnostik.. *Arbeitsmappe*. 1990 S.S. 14 ff.,
12. Blechschmidt, J.; Meinhof, W.: Candida-Mykosen in der Praxis. Diagnostik und Therapie.. *Diebach Verlag, Berlin*, 1989 S.69,
13. Bodey, G. P.: The emergence of fungi as major hospital pathogens. *J. Hosp.. Infect..* 1988, *11*, S.411-426,
14. Bodey, G. P.; Vartivarian, S.: Aspergillosis.. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1989, *8*, Suppl. 5, S.413-437,
15. Bodey, G. P.; Buckley, M.; Sathe, Y. S. et al.: Quantitative relationships between circulating leucocytes and infections in patients with akute leukemia.. *Ann Internal Med*. 1966, *64*, S.328-340,

16. Bodey, G. P.; Bolivar, R.; Fainstein, V.: Infectious complications in leucemic patients.. *Hematologia*. 1982, *19*, S.193-226,
17. Bowden, R. A.; Cays, M.; Gooley, T.; Mamelok, R. D.; van Burik, J. A.: Phase I study of amphotericin B colloidal dispersion for the treatment of invasive fungal infections after marrow transplant.. *J Infect Dis*. 1996, *173*, S.1208-1215,
18. Brandl, M.; Rettig, M.; Seibt, J.: Bedeutung einheimischer Mykosen für die Intensivmedizin.. *Z Diagnost Ther Pflege*. 1984, *1*, S.27-35,
19. Bretagne, S.; Bart-Delabesse, E.; Wechsler, J.; Kuentz, M.; Dhedin, N.; Cordonnier, C.: Fatal primary cutaneous aspergillosis in a bone marrow transplant recipient: nosocomial acquisition in a laminar-air flow room.. *J Hosp Infect*. 1997, *36*, S.235-239,
20. Bretagne, S.; Marmorat-Khuong, A.; Kuentz, M.; Latge, J. P.; Bart-Delabesse, E.; Cordonnier, C.: Serum Aspergillus galactomannan antigen testing by sandwich ELISA: practical use in neutropenic patients.. *J Infect*. 1997, *35*, Suppl. 1, S.7-15,
21. Brown, R. S. Jr.; Lake, J. R.; Katzmann, B. A.; Ascher, N. L.; Somberg, K. A.; Emond, J. C.; Roberts, J. P.: Incidence and significance of Aspergillus cultures following liver and kidney transplantation.. *Transplantation*. 1996, *61*, No. 4
22. Burnie, J. P.; Williams, J. D.: Evaluation of the Ramco latex agglutination test in the early diagnosis of systemic candidiasis.. *Eur J Clin Microbiol*. 1985, *4*, 2, S.98-102,
23. Cabezudo, I.; Pfaller, M.; Gerarden, T.; Koontz, F.; Wenzel, R.; Gingrich, R.; Heckmann, K.; Burns, C. P.: Value of the Cand-Tec Candida antigen assay in the diagnosis and therapy of systemic candidiasis in high-risk patients.. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1989, *8*, S.770-777,
24. Carlisle, P. S.; Gucalp, R.; Wiernik, P. H.: : Nosocomial infections in neutropenic cancer patients.. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1993, *14*, S.320-324,
25. Castagnola, E.; Bucci, B.; Montinaro, E.; Viscoli, C.: : Fungal infections in patients undergoing bone marrow transplantation: an approach to a rational management protocol.. *Bone Marrow Transplant*. 1996, *18*, Suppl. 2, S.97-106,
26. Chandrasekar, P. H.; Gatny, C. M.: : The effect of fluconazole prophylaxis on fungal colonization in neutropenic cancer patients.. *J Antimicrob Chemother*. 1994, *33*, Suppl. 2, S.309-318,
27. Chiller, T., Farrokhsad, K., Brummer, E., Stevens, D. A.: : Influence of human sera on the in vitro activity of the Echinocandin Caspofungin (MK-0991) against Aspergillus fumigatus.. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000, *44*, S.3302-3305,
28. Conneally, E.; Cafferkey, M. T.; Daly, P. A.; Keane, C. T.; Mc Cann, S. R.: Nebulized amphotericin B as prophylaxis against invasive aspergillosis in granulocytopenic patients.. *Bone Marrow Transplant*. 1990, *5*, Suppl. 6, S.403-406,
29. Costabel, U.; Billmann, P.; Schaefer, H.-E.; Guzman, J.; Kappe, R.; Müller, J.: : Invasive und granulomatöse Aspergillus-Pneumonie mit zerebralen Streuherden.. *Mykosen*. *30*, Suppl. 2, S.29-38,
30. De Bock, R.: Epidemiology of invasive fungal infections in bone marrow transplantation.. *Bone Marrow Transplantation*. 1994, *14*, Suppl. 5, S.1-2,

31. De Lozier, J. B.: Rapid diagnosis of Candida sepsis in surgical patients.. *Am Surg.* 1987, *53*, 10, S.600-602,
32. De Witt, S.; Clumbeck, N.: Fluconazole in the treatment of fungal infections assoziated with AIDS.. *Infection.* 1989, *17*, S.121-123,
33. Denning, D. W.: *Handbuch der opportunistischen Pilzinfektionen.* Science Press. 1994, S.1-71,
34. Caspofungin. <http://www.doctorfungus.org/thedrugs/Caspo-fungin.htm>.
35. Edwards, J. E.; Bodey, G. P.; Bowden, R. A.; Buchner, T.; de Pauw, B. E.; Filler, S. G.: : International Conference for the Development of a Consensus on the Management and Prevention of Severe Candidal Infections.. *Clin Infect Dis.* 1997, Suppl. 1, S.43-59,
36. Einsele, H., Quabeck, K., Müller, K.-D., Hebart, H., Rotenhöfer, I., Löffler, J., Schaefer, U. W.: Prediction of invasive colonisation of lower respiratory tract before marrow transplantation.. *Lancet.* 1998, *352*, S.1443,
37. Epstein, J. B.; Ransier, A.; Lunn, R.; Chin, E.; Jacobson, J. J.; Le, N.; Reece, D.: Prophylaxis of candidiasis in patients with leucemia and bone marrow transplants.. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1996, *8*, S.291-295,
38. Ernst, E. J., Klepser, M. E., Pfaller, M. A.: Postfunginal effects of Echino-candin, Azole and polyene antifungal agents against *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans*.. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000, *44*, S.1108-1111,
39. Fegeler, W.: Epidemiologie und Pathogenese generalisierter einheimischer Mykosen; in: *Systemische Mykosen.* Editiones Roche, S.pp. 19-35,,
40. Fegeler, W.: Diagnostik und Frühdiagnostik von System- und Organmykosen.. In: *Organmykosen. Aktuelles zur Klinik, Diagnostik und Therapie.* Verlag Stuttgart, 1989 S.4-8,
41. Fegeler, W.; Macher, W.; Nolting, S.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Immunität bei der Infektion mit *Candida albicans*.. *Mykosen.* 1987, *21*, S.201-222,
42. Fegeler, W.; Kappe, R.; Müller, J.; Müller, H.-L.: Diagnostisches Vorgehen bei Verdacht auf Endomykosen.. Editiones „Roche“. 1990 S.3-27,
43. Fortun, J., Martin-Davila, P., Alvarez, M. E., Sanchez-Sousa, A., Quereda, C., Navas, E., Barcena, R., Vicente, E., Candelas, A., Honrubia, A., Nuno, J., Pintado, V., Moreno, S.: *Aspergillus* antigenemia sandwich-enzyme immunoassay test as a serodiagnostic method for invasive aspergillosis in liver transplant recipients.. *Transplantation.* 2001, *71*, S.145-149,
44. Fortun, J.; Lopez-San Roman, A.; Velasco, J. J.; Sanchez-Sousa, A.; de Vicente, E.; Nuno, J.; Quereda, C.; Barcena, R.; Monge, G.; Candela, A.; Honrubia, A.; Guerrero, A.: Selection of *Candida glabrata* strains with reduced susceptibility to azoles in four liver transplant patients with invasive candidiasis.. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1997, *16*, S.314-318,
45. Fung, J. C.; Donta, S. T.; Tilton, R. C.: Candida detection system (CAND-TEC) to differentiate between *Candida albicans* colonization and disease.. *J Clin Microbiol.* 1986, *24*, 4, S.542-547,
46. Galgiani, J. N.: Fluconazole, a new antifungal agent.. *Ann Int Med.* 1990, *113*, S.177-179,
47. Gaya, H.; Tattersall, H. N.; Hutchinson, R. M.; Spiers, A. S.: Changing patterns of infection in cancer patients.. *Eur J Cancer.* 1973, *9*, S.401-404,

48. Gemeinhardt, H.: Endomykosen: Schleimhaut-, Organ- und Systemmykosen.. Jena, Gustav Fischer Verlag,, 1989 S.510 S.,
49. Gentry, L. O.; Wilkinson, I. D.; Lea, A. S.; Price, M. F.: Latex agglutination test for detection of Candida antigen in patients with disseminated disease.. Eur J Clin Microbiol. 1983, 2, 2, S.122-128,
50. Gentry, L. O.; Zeluff, B. J.: Nosocomial and other difficult infections in the immunocompromised cardiac transplant patient.. J Hosp Infect. 1988, 11, Suppl. A, S.21-28,
51. Giamarellou, H.; Antoniadou, A.: Epidemiology, diagnosis, and therapy of fungal infections in surgery.. Infect Control Hosp Epidemiol. 1996, 17, Suppl. 8, S.558-564,
52. Glasmacher, A.; Marklein, G.; Just-Nübling, G.; Leutner, C.; Ewig, S.: Diagnostik invasiver Mykosen bei neutropenischen Patienten mit hämatologischen Systemerkrankungen.. DMW. 1998, Nr. 6,, S.157-160,
53. Gotzinger, P.; Sautner, T.; Wamser, P.; Gebhard, B.; Barlan, M.; Steininger, R.; Fugger, R.; Muhlbacher, F.: Frühe postoperative Infektionen nach Lebertransplantation- Keimspektrum und Risikofaktoren.. Klin Wochenschr. 1996, 108, No. 23, S.795-801,
54. Gugel, A., Finke, J., Bertz, H., Herrmann, J.: Aspergillus-Antigen ELISA im Vergleich mit klinisch-laborchemischen Verlaufsparametern bei Patienten mit invasiver Aspergillose.. 50. Kongreß der DGHM und 25. Jahrestagung der DGI,. Berlin, 4.-9. Oktober 1998,
55. Günther, I.: Ergebnisse der selektiven Dekontamination des Verdauungstraktes.. Dissertationsschrift. Universität Rostock, 1985
56. Hadley, S.; Karchmer, A. W.: Fungal infections in solid organ transplant recipients.. Infect Dis Clin North Am. 1995, 9, S.1045-1074,
57. Hammarstrom, L.: Prophylaxis of Candida infections in transplanted patients.. Acta Paediatr. 1995, 84, Suppl. 4, S.463-464,
58. Hantschke, D.: Die Bedeutung zentraler Venenkatheter bei der Entstehung von Candida-Endomykosen.. Mycoses Berlin (W.). 1989, 32, S.235-238,
59. Hantschke, D.; Olbricht, I.: Häufigkeit des Sproßpilznachweises im Urin in Abhängigkeit von der Sproßpilzkeimzahl im Stuhl bei antibakteriell und nicht antibakteriell behandelten Kindern.. Mykosen-Berlin (W.). 1989, 19, S.12-18,
60. Hebart, H., Löffler, J., Meisner, C., Serey, F., Schmidt, D., Böhme, A., Martin, H., Engel, A., Bunjes, D., Kern W. V., Schumacher, U., Kanz, L., Einsele, H.: Early detection of Aspergillus infection after allogeneic stem cell transplantation by polymerase chain reaction screening.. J Infect Dis. 2000, 181, S.1713-1719,
61. Heidemann, H.: Prevention of amphotericin B nephrotoxicity; The effects of salt loading and flucytosine.. Mycoses. 1988, 31, Suppl. 2, S.39-44,
62. Hibberd, P. L.; Rubin, R. H.: Clinical aspects of fungal infection in organ transplant recipients.. Clin Infect Dis. 1994, 19, Suppl. 1, S.33-40,
63. Höffken, G.: Fungal infections during neutropenia; The role of prophylaxis.. mycoses. 1989, 32, Suppl. 1, S.88-95,
64. Hoppe, J. E.; Klingebiel, M. D.; Niethammer, D.: Selection of Candida glabrata in paediatric bone marrow transplant recipients receiving Fluconazole.. Paediatr Hematol Oncol. 1994, 11, S.207-210,

65. Hoppe, J. E.; Klingebiel, T.; Niethammer, D.: Orointestinale Sproßpilzbesiedelung bei pädiatrischen Knochenmarktransplantationspatienten: Überwachung mittels quantitativer Kultur und Serologie.. *Mycoses*. 1995, *38*, S.51-57,
66. Hoppe, J. E.; Klausner, M.; Klingebiel, T.; Niethammer, D.: Retrospective analysis of yeast colonization and infections in paediatric bone marrow transplant recipients.. *Mycoses*. 1997, *40*, Suppl. 1-2, S.47-54,
67. Hopwood, V.; Johnson, E. M.; Cornish, J. M.; Food, A. B.; Evans, E. G.; Warnock, D. W.: Use of the *Pastorex aspergillus* antigen latex agglutination test for the diagnosis of invasive aspergillosis.. *J Clin Pathol*. 1995, *48*, S.210-213,
68. Horn, L. C.; Nenoff, P.; Mierzwa, M.; Schwenke, H.; Friedrich, T.; Haustein, U. F.: Epidemiologie und Diagnostik invasiver Schimmelpilzinfektionen bei immunsupprimierten Patienten: Ergebnisse einer 3-Jahres-Studie der Leipziger Universität.. *Verh Dtsch Ges Pathol*. 1996, *80*, S.337,
69. Jackson, A., C; Pharm. D.; William, E.: Oral azole drugs as systemic antifungal therapy.. *N Engl J Med*. 1994, *330*, S.263-270,
70. Jandrlic, M.; Kalenic, S.; Labar, B.; Nemet, D.; Jakic-Razumovic, J.; Mrcic, M.; Plecko, V.; Bogdanic, V.: An autopsy study of systemic fungal infections in patients with hematologic malignancies.. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1995, *14*, S.768-774,
71. Jantunen, E., Ruutu, P., Piilonen, A., Volin, L., Parkkali, T., Ruutu, T.: Treatment and outcome of invasive *Aspergillus* infections in allogenic BMT recipients.. *Bone Marrow Transplant*. 2000, *26*, S.759-762,
72. Jantunen, E.; Ruutu, P.; Niskanen, L.; Volin, L.; Parkkali, T.; Koukila-Kahkola, P.; Ruutu, T.: Incidence and risk factors for invasive fungal infections in allogeneic BMT recipients.. *Bone Marrow Transplant*. 1997, *19*, Suppl. 8, S.801-808,
73. Jehn, U.: Antiinfektiöse Therapie in der Hämatologie und Onkologie. Antimykotische Therapie.. *Symposium*,. 1990 S.55-61,
74. Kaben, U.; Westphal, H.-J.; Günther, I.: Mykologische Probleme bei Patienten mit reduzierter Infektabwehr.. *Z Klin Med*. 1986, *41*, Suppl. 10, S.739-742,
75. Kahn, F. W.; Jones, J. M.: Latex agglutination tests for detection of *Candida* antigens in sera of patients with invasive candidiasis.. *Infect Dis*. 1986, *153*, S.579-583,
76. Kaiser, L.; Rochat, T.: *Aspergillus* lung pathology in transplant patients.. *Rev Mal Respir*. 1996, *13*, Suppl. 5, S.93-101,
77. Kappe, R.; Müller, J.: Tieflokalisierte Mykosen- Klinik, Pathologie, Labordiagnostik und Therapie in Falldarstellungen.. *Mycoses*. 1987, *30*, Suppl. 2, S.1-108,
78. Kehrer, E.; Brandt, G.: Mykosen im Autopsiematerial: Häufigkeit, Lokalisationen und Ursachenspektrum.. *Mykosen*. 1979, *22*, Suppl. 8, S.280-288,
79. Klastersky, J.; Zinner, S. H.; Calandra, T.: Empiric Antimicrobial Therapy for Febrile Granulocytopenic Cancer Patients: Lessons from Four EORTC Trials *Oncol. Suppl*. 1, 1988 S.535-545,
80. Klingspor, L.; Stintzing, G.; Fath, A.; Tollemar, J.: Deep *Candida* infection in children receiving allogeneic bone marrow transplants: incidence, risk factors and diagnosis.. *Bone Marrow Transplant*. 1996, *17*, Suppl. 6, S.1043-1049,

81. Kostiala, I.; Elonen, E.; Ylipaavalniemi, P.: Prospective study on humoral immune response induced by fungal infection in patients with hematologic malignancies.. *Infection*. 1986, *14*, S.255-260,
82. Krisch, H.; Scernow, E.: Sammlungen von Kasuistiken im Rahmen der klinischen Erprobung von Fluconazol in Deutschland.. *Mycoses*. 1990, *33*, Suppl. 1, S.14-18,
83. Kroschinsky, F., Naumann, R., Ehninger, G.: Candida-Mykosen in der Hämatologie/Onkologie, Aspekte zur Epidemiologie, Diagnostik, Prophylaxe und Therapie.. *Mycoses*. 1999, *42*, Suppl.1 S.53-59,
84. Lajonchere, J. P.; Feuilhade de Chauvin, M.: Contamination by aspergillosis: evaluation of preventive measures and monitoring of the environment.. *Path Biol*. 1994, *42*, No. 7, S.718-729,
85. Lam, H. H.; Althaus, B. L.: Antifungal prophylaxis in bone marrow transplant.. *The Annals of Pharmacotherapy*. 1995, *Vol. 29*, S.921-924,
86. Lemieux, C.; St- Germain, G.; Vincelette, J.; Kaufmann, L.; de Repentigny, L.: Collaborative evaluation of antigen detection by a commercial latex agglutination test and enzyme immunoassay in the diagnosis of invasive candidiasis.. *J Clin Microbiol*. 1990, *28*, S.249-253,
87. Lortholary, O; Dupont, B.: Antifungal prophylaxis during neutropenia and immunodeficiency.. *Clin Microbiol Rev*. 1997, *10*, S.477-504,
88. Machetti, M., Feasi, M., Mordini, N., van Lint, M. T., Bacigalupo, A., Latge, J. P., Sarfati, J., Viscoli, C.: Comparison of an enzyme immunoassay and a latex agglutination system for the diagnosis of invasive aspergillosis in bone marrow transplant recipients.. *Bone Marrow Transplant*. 1998, *21*, S.917-921,
89. Maertens, J., Verhaegen, J., Demuynck, H., van Eldere, J., Verbist, L., Boogaerts, M.: Serial monitoring of circulating galactomannan in the early diagnosis of invasive aspergillosis: results of a prospective, autopsy-control-led study in haematological patients. Abstracts (J-43) of the 38th ICAAC, September 24-27., San Diego, California. Annual Meeting of the Ame-rican Society of Microbiology., 1998
90. Mariott, S. M.; Richardson, K.: The discovery and mode of action of fluconazole.. In: Fromtling, R. A. (ed) *Recent Trends in the Discovery, Development and Evaluation of Antifungal Agents*.. Barcelona, : J. R. Prous Science Publishers, 1987 S.pp. 81-92,
91. Marmorat-Khuong, A, Bretagne S, Cordonnier, C., Houin, R.: Detection of Aspergillus galactomannan by ELISA.. Abstract, 2nd meeting of the European Confederation of Medical Mycology (ECMM),. Congress Centre Brussels, Belgium, 1995
92. Marr, K. A.; White, T. C.; van Burik, J. A.; Bowden, R. A.: Development of fluconazole resistance in *Candida albicans* causing disseminated infection in a patient undergoing marrow transplantation.. *Clin Infect Dis*. 1997, *25*, Suppl. 4, S.908-910,
93. Maschmeyer, G.; Link, H.; Hiddemann, W.; Meyer, P.; Helmerking, M.; Adam, D.: For the International Antimicrobial Strategy Study Group of the Paul Ehrlich Society for Chemotherapy; *Interventional Antimicrobial Strategy in Febrile Neutropenic Patients-Results of a Multicenter Study in 1260 Patients with Hematological Malignancies*.. *Onkologie*. 1990, *13*, S.38-42,
94. Mazumdar, P. K., Marks, M. I.: *Candida albicans* infections in hospitalized children. A survey of predisposing factors.. *Clin Pediatr*. 1975, *14*, S.123-129,

95. Meyers, J. D., Atkinson, K.: Infection in bone marrow transplantation.. *Clin Haematol.* 1983, *12*, S.791-811,
96. Milliken, S. T.; Powles, R. L.: Antifungal prophylaxis in bone marrow transplantation.. *Rev Infect Dis.* 1990, *12*, Suppl. 3, S.374-379,
97. Momin, F.; Chandrasekar, P. H.: Antimicrobial prophylaxis in bone marrow transplantation.. *Ann Intern Med.* *123*, Wayne State University, Detroit, Michigan, USA, 1995 S.205-215,
98. Morrison, V. A.; Haake, R. J.; Weisdorf, D. J.: Non-Candida fungal infections after bone marrow transplantation: risk factors and outcome.. *The American Journal of Medicine.* 1994, *96*, S.497-502,
99. Müller, H.-L.: Serologische Diagnostik der Mykosen.. *Chemotherapie.* 1976, *22*, Suppl. 1, S.87-102,
100. Müller, J.: Die Erregerdiagnostik der systemischen Pilzkrankungen mit besonderer Berücksichtigung quantitativer Methoden.. *Chemotherapie.* 1976, *22*, S.53-86,
101. Müller, J.: Immunbiological aspects of Candida mycoses- a review of electronmicroscopic studies.. *Mycoses.* 1978, *21*, Suppl. 1, S.289-297,
102. Müller, J.: Die Labordiagnose der tieflokalisierten Candidose.. *Mycoses.* 1990, *33*, Suppl. 1, S.7-13,
103. Müller, J.; Kappe, R.; Kubitza, D.; Feßler, R.; Scheidecker, I.: The incidence of deep-seated mycoses in Freiburg i. Br. (Federal Republic of Germany).. *Mycoses.* 1987, *30*, Suppl. 2, S.9-28,
104. Müller, J.; Hanschke, D.: Diagnostische Wertigkeit der Keimzahl von Candida- und Torulopsis Arten in klinischen Untersuchungsmaterialien.. *Mycoses.* 1978, *21*, S.122-124,
105. Myervitz, R. L.; Razin, G. J.; Allen, C. M.: Disseminated candidiasis; changes in incidence, underlying diseases and pathology.. *Am J Med.* 1977, *40*, S.887-8,
106. Nucci, M., Biasoli, I., Akiti, T., Silveira, F., Solza, C., Barreiros, G., Spector, N., Derossi, A., Pulcheri, W.: A double-blind, randomized, placebo-control-led trial of itraconazole capsules as antifungal prophylaxis for neutropenic patients.. *Clin Infect Dis.* 2000, *30*, S.300-305,
107. Patel, R.; Portela, D.; Badley, A. D.; Harmsen, W. S.; Larson- Keller, J. J.; Ilstrup, D. M.; Keating, M. R.; Wiesner, R. H.; Krom, R. A.; Paya, C. V.: Risk factors of invasive Candida and non-Candida fungal infections after liver transplantation.. *Transplantation.* 1996, *62*, S.926-934,
108. Peters: Staphylokokken- eine Keimgattung kehrt zurück.. *Physis.* 1991, S.2-4,
109. Philips, P.; Dowd, A.; Jewesson, P.; Radigan, G.; Tweeddale, M. G.; Clarke, A.; Geere, I.; Kelly, M.: Nonvalue of antigen detection immunoassays for diagnosis of candidemia.. *J Clin Microbiol.* 1990, *28*, S.2320-2326,
110. Pizzo, P. A.; Robichaud, J.; Wesley, R.; Commers, J. R.: Fever in the Pediatric and Young Adult Patients with Cancer.. *Medicine.* 1982, *61*, Suppl. 3, S.153-165,
111. Pizzo, P. A.; Commers, J.; Cotton, D.; Gress, J.; Hathorn, J.; Hiemenz, J.; Longo, D.; Marschall, D.; Robichaud, K. J.: Approaching the controversies in antibacterial management of cancer patients.. *Am J Med.* 1984, *76*, S.436-449,
112. Poirot, J. L., Isnard, F., Lesage, S., Leluan, P., Tabouret, M.: Detection by ELISA of aspergillus galactomannan in sera from hematological patients.. Lisboa,, 1996

113. Price, M. F.; Gentry, L. O.: Incidence and significance of *Candida* antigen in low-risk and high-risk patient populations.. *Eur J Clin Microbiol.* 1986, 5, S.416-419,
114. Quabeck, K.: The lung as a critical organ in marrow transplantation.. *Bone Marrow Transplant.* 1994, 14, Suppl. 4, S.19-28,
115. Quabeck, K.; Müller, K. D.; Beelen, D. W.; Dermoumi, H.; Kölbl, M.; Kraft, J.; Schaefer, U. W.: Prophylaxe und Therapie von Pilz-infektionen mit Fluconazol bei Patienten nach KMT.. *Mycoses.* 1990, 33, Suppl. 1, S.19-25,
116. Rath, P. M.; Oeffelke, R.; Müller, K. D.; Ansorg, R.: Fragliche Aussagekraft des Nachweises von *Aspergillus*-Antigen in bronchoalveolären Lavagen bei Patienten nach Knochenmarktransplantation.. *Mycoses.* 1996, 39, S.367-370,
117. Rex, J., H.; Bennett, J. E.; Sugar, A. M.; Peter, M. D.: A randomized trial comparing fluconazole with amphotericin B for the treatment of candidemia in patients without neutropenia.. *N Engl J Med.* 1994, 331, S.1325-1330,
118. Rieth, H.: *Pilzdiagnostik- Mykotherapie.*, 7. Auflage Melsungen, notamed Verlag,, 1986
119. Rieth, H.: Handmykose durch Hefepilze.. *Pilzdialog.* 2, 1987 S.30,
120. Rimek, D., Kappe, R., Garg, A. P., Sonntag, H.-G.: PCR-Assay zur Diagnostik invasiver Aspergillosen.. vom 4.-9. Oktober 1998,
121. Robinson, P. A.; Knirsch, A. K.; Joseph, J. A.: Fluconazole for life-threatening fungal infections in patients who cannot be treated with conventional antifungal agents.. *Rev Infect Dis.* 1990, 12, Suppl. 3, S.349-363,
122. Roth, C.; Gebhart, J.; Just-Nübling, G.; von Eisenhart-Rothe, B.; Beinhauer-Reeb, I.: Characterization of Amphotericin B Aerosols for Inhalation Treatment of Pulmonary Aspergillosis.. *Infection.* 1996, 24, No. 5, S.354-360,
123. Rousey, S. R.; Russler, S.; Gottlieb, M.; Ash, R. C.: Low-dose amphotericin B prophylaxis against invasive *Aspergillus* infections in allogeneic marrow transplantation.. *Am J Med.* 1991, 91, Suppl. 5, S.484-492,
124. Rüchel, R.: Diagnostik der Candidamykosen.. *Internist.* 1995, 36, S.125-127,
125. Rüchel, R.; Böning-Stutzer, B.; Mari, A.: A synoptical approach to the diagnosis of candidosis, relying on serological antigen and antibody tests, on culture, and on clinical data.. *Mycoses.* 1988, 31, S.87-106,
126. Ruchel, R.; Kern, W.: Chronic systemic aspergillosis.. *Mycoses.* 1997, 40, Suppl. 1, S.1,
127. Ruckdeschel, G.: Wichtige Erreger-Epidemiologie, Resistenzlage. . *Antinfektiöse Therapie in der Hämatologie und Onkologie.* Symposium, Klinikum Großhadern. 1990 S.6-14,
128. Schattenberg, A.; De Vries, F.; De Witt, T.; Cohen, O.; Donnelly, J. P.: Allogeneic bone marrow transplantation after partial lobectomy for aspergillosis of the lung.. *Bone Marrow Transplant.* 1988, 3, Suppl. 5, S.509-522,
129. Schimpff, S. C., Satterlee, W., Young, V., Serpick, A.: Empiric therapy with carbenicillin and gentamicin for febrile patients with cancer and granulocytopenia.. *N Engl J Med.* 1971, 284, S.1061,
130. Schönian, G.; Meusel, O.; Tietz, H.-J.; Meyer, W.; Gräser, Y.; Tausch, I.; Presber, W.; Mitchell, T. G.: Identification of clinical strains of *Candida albicans* by DNA fingerprinting with the polymerase chain reaction.. *Mycoses.* 1993, 36, S.171-179,

131. Schwartz, S.; Milatovic, D.; Thiel, E.: Successful treatment of cerebral aspergillosis with a novel triazole (voriconazole) in a patient with acute leucaemia.. *Br J Haematol.* 1997, Suppl. 3, S.663-665,
132. Schwenke, H.: Pilzinfektionen bei granulozytopenischen und immunsupprimierten Patienten.. *Z gesamte Inn Med.* 1992, 47, S.423-437,
133. Scroggs, M. W.; Wolfe, J. A.; Bollinger, R. R.; Sanfilippo, F.: Causes of death in renal transplant recipients: a review of autopsy findings from 1966 through 1985.. *Arch Pathol Lab Med.* 1987, 111, S.983-987,
134. Seeling, M. S.: The role of antibiotics in the pathogenesis of Candida infections.. *Am J Med.* 1966, 40, S.887-917,
135. Seibold, M.: Labordiagnostik der Aspergillose beim abwehrgeschwächten Patienten.. In: Staib, F., Huhn, D. (Hrsg.) *Pilzinfektionen bei abwehrgeschwächten Patienten.. Springer Verlag,* 1991 S.17-25,
136. Selby, R.; Ramirez, C. B; Singh, R.; Kleopoulos, I.; Kusne, S.; Starzl, T. E.; Fung, J.: Brain abscess in solid organ transplant recipients receiving cyclosporine- based immunosuppression.. *Arch Surg.* 1997, Suppl. 3, S.304-310,
137. Shah, P. M.: Pilzinfektionen bei Organtransplantationen.. *pilzdialog-München.* 1989, 3, S.45-46,
138. Sulahian, A.; Tabouret, M.; Ribaud, P.; Sarfati, J.; Gluckman, E.; Latge, J. P.; Derouin, F.: Comparison of an enzyme immunoassay and latex agglutination test for detection of galactomannan in the diagnosis of invasive aspergillosis.. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1996, 15, S.139-145,
139. Swanink, C. M. A., Meis, J. F. G. M., Rijs, A. J. M. M., Donnelly, J. P., Verweij, P. E.: Specificity of a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for detecting aspergillus galactomannan.. *J Clin Microbiol.* 1997, 35, S.257-260,
140. Tausch, I.; Pertschy, J.; Reinke, P.; Ziegler- Böhme, H.: Systemische Candidose bei Patienten nach Nieren- und Herztransplantation.. *mycoses.* 1990, 33, Suppl. 1, S.27-31,
141. Tietz, H.-J.; Schönian, G.; Schweynoch, C.: Candida glabrata: Ein Erreger im Aufwind?. *hautnah dermatol.* 1994, 10, S.552-558,
142. Tietz, H.-J.; Tausch, I.: Differenzierte Candidaserologie auf dem Prüfstand.. *pilzdialog.* 1993, 4, S.55-56,
143. Tietz, H.-J.; Tausch, I.; Engelmann, W.; Jänisch, W.; Döcke, W.- D.; Klug, R.: Aspergillusinfektionen in der Intensivmedizin.. *hautnah mykologie-Hamburg.* 1993, 3, S.58-61,
144. Troke, P. F.; Andrews, R. J.; Pye, G. W.; Richardson, K.: Fluconazole and other azoles: translation of in vitro activity to in vivo and clinical efficacy.. *Rev. Infect. Dis.* 1990, . 12, Suppl. 3, S.276-280,
145. van Belkum, A., Mol, W., van Saene, R., Ball, L. M., van Velzen, D., Quint, W.: PCR-mediated genotyping of Candida albicans strains from bone marrow transplant patients.. *Bone Marrow Transpl.* 1994, 13, S.811-815,
146. Van Cutsem, J.; Meulemans, L.; Van Gerven, F.; Stynen, D.: : Detection of circulating galactomannan by Pastorex Aspergillus in experimental invasive aspergillosis.. *Mycoses.* 1990, 33, Suppl. 2, S.61-69,

147. Verweij, P. E., Latge, J.-P., Rijs, A. J. M. M., Melchers, W. J. G., de Pauw, B. E., Hoogkamp-Korstanje, J. A. A., Meis, J. F. G. M.: Comparison of anti-gen detection of PCR assay using bronchoalveolar lavage fluid for diagnosing invasive pulmonary aspergillosis in patients receiving treatment for hematological malignancies.. *J Clin Microbiol.* 1995, *33*, S.3150-3153,
148. Verweij, P. E., Stynen, D., Rijs, A. J. M. M., De Pauw, B. E., Hoogkamp-Korstanje, J. A. A., Meis, J. F. G. M.: Sandwich enzyme-linked immunosorbent assay compared with pastorex latex agglutination test for diagnosing invasive aspergillosis in immunocompromised patients.. *J Clin Microbiol.* 1995, *33*, S.1912-1914,
149. Verweij, P. E.; Dompeling, E. C.; Donnelly, J. P.; Schattenberg, A. V.; Meis, J. F.: Serial monitoring of Aspergillus antigen in the early diagnosis of invasive aspergillosis.. *Infection.* 1997, *25*, Suppl. 2, S.86-89,
150. Villalba, R.; Gonzalez, A. I.; Linares, M. J.; Casal, M.; Torres, A.: Detection of antibodies to *Candida albicans* germ tube as a possible aid in diagnosing systemic candidiasis in bone marrow transplant patients.. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1993, *12*, S.347-349,
151. Viscoli, C., Machetti, M., Gazzola, P., Ricco, E., Paola, D., van Lint, M. T., Gualandi, F., Bacigalupo, A.: ELISA galactomannan antigen detection in CSF of patients with and without CNS aspergillosis.. Abstracts (J-45) of the 38th ICAAC., San Diego, California., September 24-27, 1998
152. Vogeser, M.; Haas, A.; Aust, D.; Ruckdeschel, G.: Postmortem analysis of invasive aspergillosis in a tertiary care hospital.. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1997, *16*, S.1-6,
153. von Beahr, R.; Lohmann, T.; Heym, S.; Reinke, P.; Tausch, W.; & Volk, H.- D.: Immunparalyse bei Septikämien- Labordiagnostischer Nachweis und klinische Konsequenzen.. *Z Klin Med.* 1990, *45*, S.1133-1137,
154. von Eiff, M.; Essink, M.; Fegeler, W.; Schellong, S.; Schmidt, H.; Hiddemann, W.; Büchner, Th.; Van de Loo, J.: Klinischer Verlauf und Risikofaktoren bei Patienten mit generalisierten Mycosen.. *Schweiz Med Wochenschr.* 1988, *118*, S.584-591,
155. Voss, A.: Eine Keimgattung kehrt zurück - Staphylokokken.. *Physis spezial.* 1991, *Nr. 6*, Suppl. 6, S.6,
156. Warnock, D. W.: Fungal complications of transplantation: diagnosis, treatment and prevention.. *J Antimicrob Chemother.* 1995, *36*, Suppl. B, S.73-90,
157. Weber, A.; Romig, D.: Vergleichende histologische und kulturelle Untersuchungen zum Vorkommen von Sproßpilzen in einem Obduktionsgut.. *mykosen-Berlin (W.)*. 1982, *25*, Suppl. 2, S.82-88,
158. Wegmann, T.: Rundtischdiskussion über Diagnostik und Therapie von Organmykosen., Symposium Organmykosen., Erlangen, 1986
159. Wegmann, T.: Medizinische Mykologie - ein praktischer Leitfaden.. Basel, Editiones ROCHE., 1988 S.260 S.,
160. Willems, L., van der Gesst, R., de Beule, K.: Itraconazole oral solution and intravenous formulations: a review of pharmacokinetics and pharmacodynamics.. *J Clin Pharm Ther.* 2001, *26*, S.159-169,
161. Williamson E. C., Millar, M. R., Steward, C. G., Cornish, J. M., Foot, A. B. M., Oakhill, A., Pamphilon, D. H., Reeves, B., Caul, E. O., Warnock, D. W., Marks, D. I.: Infections in adults undergoing unrelated donor bone marrow transplantation.. *Br J Haematol.* 1999, *104*,

S.560-568,

162. Williamson, E. C., Leeming, J. P., Palmer, H. M., Steward, C. G., Warnock, D., Marks, D. I., Millar, M. R.: Diagnosis of invasive aspergillosis in bone marrow transplant recipients by polymerase chain reaction.. *Br J Haematol.* 2000, *108*, S.132-139,
163. Wingard, J. R.; Merz, W. G.; Rinaldi, M. G.; Miller, C. B.; Karp, J. E., Saral, R.: Association of *Turulopsis glabrata* infections with fluconazole prophylaxis in neutropenic bone marrow transplant patients.. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1993, *37*, S.1847-1849,
164. Wums, J. J. Jr.; Andremont, A.; Davis, B. J.; Tancrede, C. H.; Guiguet, M.; Padhyl, A. A.; Squinazi, F.; Martone, W. J.: Pseudoepidemic of aspergillosis after development of pulmonary infiltrates in a group of bone marrow transplant patients.. *J Clin Microbiol.* 1987, *25*, Suppl. 8, S.1459-1462,

Danksagung

Ich bedanke mich sehr herzlich bei Frau Prof. Dr. med. Irene Tausch für die Überlassung des Themas und die fachliche Betreuung bei der Erarbeitung dieser Dissertation.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Hans-Jürgen Tietz für die Unterstützung bei der Einarbeitung in die Laborarbeit, die vielen kritischen Hinweise bei der Versuchsauswertung, sowie die immer wieder neu geweckte Begeisterung für dieses Thema.

Weiterhin möchte ich mich bei den Leitern der Inneren- und Chirurgischen Klinik der Charité zu Berlin für das entgegengebrachte Vertrauen bei der Bereitstellung und Einsicht der Krankenunterlagen und Auswertung der Befunde bedanken.

Den Laborantinnen Frau Melle und Frau Meyer danke ich für die Bereitstellung der kulturellen und serologischen Daten, ohne die eine Auswertung der Befunde nicht möglich gewesen wäre.

Meinem Ehemann danke ich für die Hilfe bei den ersten Schritten der Computerarbeit, sowie das mir entgegengebrachte Verständnis besonders an Wochenenden und Feiertagen.

Lebenslauf

Persönliche Angaben

Kerstin Hahlweg, geb. Hofmann

Saarstraße 41

16225 Eberswalde

geboren am 22.12.1964 in Merseburg

Familienstand: verheiratet, 1 Sohn

Staatsangehörigkeit: BRD

| | |
|-------------------|--|
| 1971- 1981 | Zehnklassige allgemeinbildende polytechnische Oberschule, Eberswalde |
| 1981- 1984 | Medizinische Fachschule, Eberswalde |
| 1986- 1987 | Fachschule für Gesundheits- und Sozialwesen Prof. Dr. Gelbke, Potsdam |
| 1984- 1986 | Tätigkeit als Krankenschwester am Werner- Forßmann- Krankenhaus Eberswalde im Intensivtherapiebereich |
| 1987- 1994 | Studium der Humanmedizin, Bereich Medizin (Charité) der Humboldt-Universität und Teilapprobation als Ärztin |
| 10/ 1994- 4/ 1996 | Tätigkeit als Ärztin im Praktikum am Werner- Forßmann- Krankenhaus Eberswalde auf der Inneren Abteilung und Vollapprobation als Ärztin |
| 4/ 96- 4/ 2002 | Ärztin in Weiterbildung zum Facharzt für Innere Medizin am Werner-Forßmann- Krankenhaus Eberswalde |
| seit 4/ 2002 | Fachärztin für Innere Medizin am Werner- Forßmann- Krankenhaus Eberswalde |

Eidstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides Statt, die vorliegende Dissertation selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel angefertigt zu haben.

Eberswalde, Mai 2002