

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik III
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München
(Direktor: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Michael von Bergwelt)
(Ehemals Prof. Dr. Wolfgang Hiddemann)
Schwerpunkt Infektiologie
(Prof. Dr. med. Christina Rieger)

**Wertigkeit des Aspergillus-Antigens zur Diagnose
invasiver Pilzinfektionen bei Patienten nach allogener
hämatopoetischer Stammzelltransplantation**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Florian Hans Lienert
aus Fürstfeldbruck

2019

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichtersteller: Prof. Dr. med. Christina Rieger

Mitberichtersteller: Prof. Dr. Rudolf Pihusch

Mitbetreuung durch die promovierten Mitarbeiter/-innen:

Prof. Dr. med. Christina Theresa Rieger

Dr. med. Roland Reibke

Dr. med. Lisa Peterson

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 28.03.2019

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

1. Die Invasive Aspergillose	
1.1. Vorkommen der Invasiven Aspergillose	1
1.2. Diagnose der Invasiven Aspergillose	2
2. Patienten und Methoden	4
2.1. Patientenkollektiv	4
2.1.1. Auswertzeitraum und Einschlusskriterien	4
2.1.1.2 EORTC-Kriterien und Modifikation in unserer Patientenkohorte	4
2.1.2. Grunderkrankungen der eingeschlossenen Patienten	6
2.1.3. Stammzellquelle und Spendereigenschaften	7
2.1.4. Konditionierungsschemata	7
2.1.5. Immunsuppressive Therapie	8
2.1.6. Antimykotische Prophylaxe und Therapie	10
2.1.7. Graff-versus-Host Disease und deren Therapie	11
2.1.8. Verstorbene Patienten und Todesursachen	11
2.2. Datenerfassung	12
2.2.1. Statistik und Auswertesoftware	12
2.2.2. Laborwerte und mikrobiologische Testverfahren	12
2.2.2.1 Aspergillus-Galactomannan-Antigen-Test	12
2.2.2.2. Leukozyten und C-reaktives Protein	13
2.2.3. Radiologie	13
2.2.3.1. Computertomographie versus Röntgen	13
2.2.4. Weitere Histologie	17
3. Ergebnisse	18
3.1. Mikrobiologische und laborbezogene Befunde im zeitlichen Verlauf	18
3.1.2. Leukozytenzahl zum Zeitpunkt des ersten positiven Aspergillus-Antigens	19
3.2. Diagnostische Befunde	19

3.2.1. Ergebnisse der CT Befunde	19
3.2.2. Mikrobiologische Auswertung von BAL, Liquor und Pleurapunktat	19
3.3. Patienten mit vorbestehendem positivem Aspergillus-Antigen-Wert	19
3.4. Anwendung der EORTC-Kriterien auf unser Patientenkollektiv	20
3.5. Vergleich der unterschiedlichen Patientengruppen	20
3.5.1. Alter bei Transplantation	21
3.5.2. Transplantation bis Leukozyten-Take und Krankenhausentlassung	21
3.5.3. Erfasste Anzahl positiver Aspergillus-Antigene	21
3.5.4. Verstorbene Patienten	21
4. Diskussion	23
4.1. Anhaltende schwere Neutropenie als Risikofaktor für invasive Aspergillosen	23
4.2. Diagnostische Grenzen der Laborparameter	27
4.2.1. Stellenwert des Aspergillus-Galactomannan-Immunoassays	27
4.2.2. Sensitivität unter antimykotischer Therapie	27
4.2.3. Einsatz von Breitspektrum-Antibiotika auf Kosten der Spezifität	27
4.2.4. Störung der Darmmukosa als Ursache positiver Elisa-Ergebnisse	28
4.2.5. Überlegenheit bei Untersuchung von Bronchoalveolärer Lavage?	29
5. Zusammenfassung	31
6. Literaturverzeichnis	33
7. Verzeichnis der Abkürzungen und Akronyme	41
8. Danksagung	42
9. Lebenslauf	43

1 Die Invasive Aspergillose

1.1. Epidemiologie der Invasiven Aspergillose

In Deutschland erkranken jährlich etwa 39 000 Patienten an malignen hämatologischen Grunderkrankungen wie akuten oder chronischen Leukämien, Lymphomen oder dem Multiplen Myelom. Jährlich sterben beinahe 19 000 Patienten an diesen Erkrankungen [1]. Für viele Patienten stellt die hämatopoetische Stammzelltransplantation (SZT) häufig die einzige kurative Behandlungsoption dar. So kann ein Langzeitüberleben von 20-30% erreicht werden [2].

Patienten nach SZT zählen zum Hochrisikoklientel für eine invasive Pilzinfektion [3-6]. Bei mehr als 90% der letal verlaufenden Pilzinfektionen handelt es sich um Candida-, Cryptococcus-, Pneumocystis carinii-Infektionen und invasive Aspergillosen. Wobei die Invasive Aspergillose (IA) bei stammzelltransplantierten Patienten etwa 50% der Fälle ausmacht. Aspergillen sind somit die dominierenden Erreger für lebensgefährliche Infektionen unter stammzelltransplantierten Patienten, mit steigendem Trend [3, 4].

Invasive Aspergillosen (IA) mit Affektionen des Zentralen Nervensystems, des Hals-Nasen-Ohren-Traktes, der Lunge oder des gastrointestinalen Traktes sind speziell bei Patienten unter Immunsuppression, so auch nach allogener hämatopoetischer Stammzelltransplantation (HSZT) mit beträchtlichen Mortalitätsraten bis zu 46% assoziiert [7].

Wird eine IA überlebt, so ist das zum einen mit hoher Morbidität für den Patienten und zum anderen wegen des verlängerten (intensivmedizinischen) Krankenhausaufenthaltes mit entsprechend gesteigerten Behandlungskosten für das Gesundheitssystem verbunden [7].

Etwa 40 der in unserer Umwelt ubiquitär vorkommenden Aspergillussporen werden täglich eingeatmet, wovon es knapp ein Viertel bis in die Alveolen schafft. Während die unspezifische Immunabwehr beim immunkompetenten Patienten dieser Herr wird, so klingt die Zahl von 12,7% Invasiver Aspergillosen – mehrheitlich mit pulmonaler Manifestation - unter Leukämiepatienten zwar zunächst hoch, aber sicherlich nicht übertrieben. Im Vergleich sind es etwa 7% der Intensivpatienten mit selbem Krankheitsbild, die primär unter keiner malignen Erkrankung leiden [7]. Chronologisch findet sich der Peak pulmonaler Manifestation

etwa zwei Wochen nach Beginn der Neutropenie und entsprechender Immunsuppression.[8]

1.2. Diagnose der Invasiven Aspergillose

Wie kann die Diagnose einer IA gestellt werden?

Um die klinische Diagnosestellung zu vereinfachen wurde die Definition Invasiver Pilzinfektionen (IFI) 2008 von der *European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group* – kurz (EORTC/MSG) - *Consensus Group* überarbeitet.

Anhand sogenannter Wirtsfaktoren, klinischen Haupt- und Neben-, sowie mikrobiologischer Kriterien führt die jeweilige Konstellation zu einer Einteilung des Patienten in eine der drei Wahrscheinlichkeitskategorien für eine invasive Aspergillose: „possible“ „probable“ oder „proven“.[9]

Problematisch ist, dass auch ohne klinischen, serologischen oder radiologischen Anhalt für eine invasive Pilzinfektion bei Patienten nach HSZT, diese nicht sicher ausgeschlossen werden kann. Häufig ist durch den meist schlechten gesundheitlichen Allgemeinzustand, bedingt durch die Grunderkrankung und die zusätzliche Therapie mit Zytostatika und anderen nebenwirkungsreichen Medikamenten, die Diagnostik erschwert. So kann die Differenzierung zwischen neu auftretenden Krankheitssymptomen einer IA und bereits bestehenden Beschwerden trotz multimodaler Diagnostik nicht immer gelingen [10, 11].

So kann etwa ein beginnender Hirndruck bei zerebraler Manifestation durch bereits vorbestehende Vigilanzminderung oder Emesis als weiteres Hirndruckzeichen durch den Einsatz von hoch-emetogenen Substanzen kaschiert werden[5]. Da der frühzeitige Therapiebeginn stark mit einem guten Behandlungsergebnis korreliert, kann der verspätete Medikamenteneinsatz als Folge verzögerter Diagnostik gravierende, unter Umständen tödliche Folgen haben [12-14].

Die routinemäßige Serumbestimmung des Aspergillus-Antigens ist ein fest implementiertes Screeningtool, um das High-Risk-Patientenklientel frisch stammzelltransplantierte Patienten zu überwachen. So empfiehlt die Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und medizinische Onkologie mindestens zweimal wöchentliche Aspergillus-Galactomannan-Tests [15].

Doch sind die gemessenen Aspergillus-Antigenwerte auch bei Patienten in tiefer Leukopenie valide? Kann man in diesem Stadium sich anbahnende Aspergillose anhand des genannten Serumtests erkennen und hat womöglich das Erreichen eines stabilen Leukozytenwertes von 1000/ μ l (Leukozyten-Take) Einfluss auf das Ergebnis des Serumtests?

Abb. 1: Mikroskopisches Bild einer Aspergillushyphe.



<https://commons.wikimedia.org/wiki/File%3AAspergillus.jpg>

By US Department of Health and Human Services.

[Public domain], via Wikimedia Commons

Abb. 2: Lichtmikroskopisches Bild in 1000-facher Vergrößerung einer *Asp. fumigatus*-Kultur auf einer Agarplatte nach vier Tagen.

2 Patienten und Methoden

2.1. Patientenkollektiv

2.1.1 Auswertzeitraum und Einschlusskriterien

Im Zeitraum Januar 2011 bis Oktober 2013 wurden jene 265 Patienten untersucht, die sich in der Medizinischen Klinik III am Klinikum Großhadern einer allogenen Stammzelltransplantation (SZT) unterzogen.

Einschlusskriterium war ein zumindest einmalig positives Aspergillus-Antigen im Serum. Die ist der Fall ab einem Optischen Dichte-Index $\geq 0,5$.

Der Beobachtungszeitraum wurde etwas vor den Auswertzeitraum verschoben, um die Patientenhistorie besser beurteilen zu können:

So wurde dieser für Laborwerte auf 14 Tage vor Transplantation gelegt (sechs Patienten wurden erst später aufgenommen), mindestens drei Aspergillus-Antigen-Bestimmungen wurden vor Transplantation bei jedem Patienten durchgeführt. Für bildgebende Verfahren wurde unser klinikeigener Server vier Wochen vor Transplantation überprüft.

Der Auswertzeitraum begann mit dem Tag der SZT bis 25 Tage nach Leukozyten-Take.

Insgesamt waren 19 weibliche und 33 männliche Patienten mit einem medianen Alter von 51 Jahren (Range 20-67 Jahre) auswertbar (s. Tab 1). Alle folgenden Patienteneigenschaften, Laborwerte sowie weitere Untersuchungen wurden in einer Excel 2007 - Tabelle (Microsoft Office) festgehalten.

2.1.1.2 EORTC-Kriterien und Modifikation in unserer Patientenkohorte

Im Jahr 2008 veröffentlichten De Pauw et al das überarbeitete Schriftstück zur Definition Invasiver Pilzinfektionen. Diese tragen durch niedrige Schwellenkriterien eher Studienzwecken Rechnung, wodurch mehr potenziell pilzinfizierte Patienten detektiert werden können.

Wir modifizierten die Kriterien, um die praktische Relevanz im klinischen Alltag an unserer Klinik zu konstatieren: gefordert wurden zwei positive Aspergillus-Galactomannan-Antigene im Serum, um die Kategorie possible zu erfüllen. Zudem

wurde als possible kategorisiert, wer neben einem Wirtsfaktor wahlweise ein klinisches oder mikrobiologisches Kriterium erfüllt.

Zur Veranschaulichung wird die Einteilung in die drei Wahrscheinlichkeitskategorien *possible*, *probable*, *proven* grafisch dargestellt[9]:

Abb. 3 mod. EORTC-Kriterien	possible	probable	proven
<u>Wirtsfaktor*</u> Neutropenie oder Immunsuppression	+	+	(+)
<u>Klinisches Kriterium*</u> am Bsp. CT-Thorax: mind. 1 der radiologischen Zeichen: - abgrenzbare Verdichtung +/- Halo - Air-crescent-Zeichen - Kavernenbildung	+	+	(+)
<u>Mikrobiolog. Kriterium*</u> Indirekter Nachweis: - 2 x pos. AspAg im Serum, BAL, Liquor Direkter Nachweis: - Aspergillus in Sputum, BAL - Kulturanzucht aus Sputum, BAL	oder +	und +	(+)
<u>Mikroskopischer Nachweis*</u> - aus steriler Flüssigkeit (Nadelbiopsie aus infiziertem Gewebe) - Kultur aus steriler Körperflüssigkeit (Blut)	-	-	+

*Gekürzte Fassung

2.1.2 Grunderkrankungen der eingeschlossenen Patienten

Die für die SZT zugrundeliegende Erkrankung war bei diesen 52 Patienten in 50% der Fälle eine Akute Myeloische Leukämie (AML), die andere Hälfte der hämatologischen Erkrankungen teilte sich in Akute Lymphatische (ALL), sowie Chronisch Myeloische Leukämie (CML), als auch Multiple Myelome (MM), Osteomyelofibrosen (OMF) und zu guter Letzt Lymphome auf, s. Tab.1.

Tab. 1 Patienteneigenschaften	
	Anz. (% / range)
Gesamtzahl Patienten	52
Geschlecht ♀ / ♂	19 (37)/33 (63)
Medianes Alter (Jahre)	51 (20-67)
Mediane Observationszeit* (Tage)	50 (28-224)
Grunderkrankung	
AML	26 (50)
ALL	8 (13,2)
CML	4 (7,6)
MM	5 (9,6)
Lymphom	2 (3,8)
OMF	3 (5,8)
Andere	4 (7,7)
ALL: Akute lymph. Leukämie; AML: Akute myeloische Leukämie; CML: Chron. myeloische Leukämie; MM: Multiples Myelom ; OMF: Osteomyelofibrose; Andere: Akute biphänotypische Leukämie, CLL : Chron. Lymphatische Leukämie, MDS: Myelodisplastisches Syndrom, sehr schwere aplast. Anämie;* Tag d. Transplantation bis Entlassung/Tod	

2.1.3 Stammzellquelle und Spendereigenschaften

Üblicherweise werden heutzutage 75% der benötigten Stammzellpräparate mittels peripherer Stammzellapherese gewonnen, was eine deutlich weniger invasive Gewinnung der benötigten Stammzellen bei gleicher Qualität darstellt. Die Entnahme von Knochenmark für die originäre Knochenmarktransplantation wird weiterhin für bestimmte Indikationen durchgeführt [16].

Das gängige Verhältnis von Verwendung peripherer Blutstammzellen zu Knochenmark findet sich auch in unserem Patientenkollektiv: so war bei 39 Patienten die periphere Blutstammzelltransplantation (PBSZT) angezeigt, im Median wurden $8,8 \times 10^6$ CD 34+ - Zellen (Range $4,2 \times 10^6 - 16 \times 10^6$) pro Kilogramm Körpergewicht transplantiert. Bei den übrigen 25% war das Knochenmark mit einer im Median transplantierten CD34+ - Zellzahl von $3,44 \times 10^8$ (Range $2,21 \times 10^8 - 4,41 \times 10^8$) die Stammzellquelle.

Männliche Spender waren mit 63% dominierendes Geschlecht, das mediane Alter lag bei 41 Jahren (Range 18 – 72).

Bezüglich der HLA-Eigenschaften handelte es sich in 30% der Fälle um Matched related (passende verwandte) Spender (MRD), in 29% um Matched unrelated (passende unverwandte) Spender (MUD). 23% hatten haploidente Eigenschaften, sprich es stimmte nur die Hälfte der HLA-Eigenschaften überein. Nur 17% waren nicht übereinstimmende, unverwandte Spender (MMURD), s. Tab 3.

2.1.4 Konditionierungsschemata

Ist die Indikation für eine SZT gestellt, werden die Patienten mit unterschiedlichen Konditionierungsschemata zur Transplantation vorbereitet [2]. Dabei wird durch eine Kombination unterschiedlicher Zytostatika ggf. mit zusätzlicher Ganzkörperbestrahlung (Total Body Irradiation=TBI) in streng festgelegten Zeitabständen die Knochenmarkaktivität des Patienten minimiert. Dies resultiert in einer vorübergehenden, aber stark ausgeprägten Panzytopenie des Knochenmarks und konsekutive des peripheren Blutes [17].

25% der hier untersuchten Patienten wurden mit dem FLAMSA-Protokoll (Gy) konditioniert (Fludarabin $30\text{mg}/\text{m}^2$, Cytosin-Arabinosid $2\text{g}/\text{m}^2$, Amsacrin

100mg/m²)[17]. Dies besteht neben o.g. Zytostatika auch aus einer Ganzkörperbestrahlung mit nachfolgender umfassender Immunsuppression (z.B. Antithymozytenglobulin = ATG).

Zur Veranschaulichung der zeitlichen Abfolge s. Abb. 4 [18]

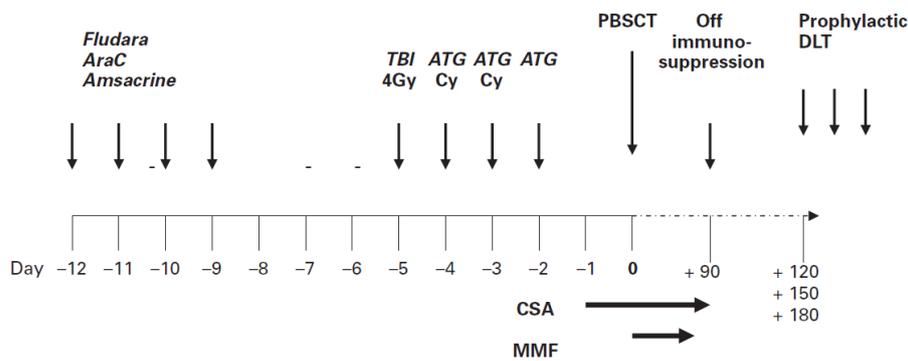


Abb. 4: chronolog. Reihenfolge des FLAMSA-Protokolls bei AML-Patienten. Quelle: Helmholtz-Zentrum MUC, Jahresbericht 2005, Neue Ansätze in der Stammzelltrans-

plantation, S. 72

Zehn Patienten (19%) wurden mit Fludarabin, Melphalan und Cyclophosphamid (CyP) behandelt[19]. Je sechs (12%) mit den Kombinationen:

- Fludarabin, Melphalan, Carmustin[20]
- FLAMSA, Busulfan (intravenös)
- TBI mit 12Gy, gefolgt von CyP

Sechs Prozent wurden dem Schema Fludarabin, Busulfan, CyP unterzogen.

2.1.5. Immunsuppressive Therapie

Durch zusätzliche weitere Immunsuppression soll das Risiko einer Reaktion der gespendeten T-Zellen gegen den Empfänger (Graft-versus-Host Disease) so gering wie möglich gehalten werden. Ferner gibt es sog. adoptive Therapieansätze bei denen im Anschluss an die Konditionierung T-Zellen des Spenders appliziert werden. Die Ergebnisse für geringere Komplikationsraten sind vielversprechend und weiter Gegenstand aktueller Forschung [21, 22].

Der Großteil unserer Patienten (58%) erhielt zur Prophylaxe einer GvHD Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA) in Kombination mit Mycophenolat-Mofetil (MMF), 25% erhielten Tacrolimus und MMF, 15% CyA kombiniert mit Methotrexat.

Die genannten Medikamente wurden bei 73% aller Patienten mit Antithymozytenglobulin (ATG) kombiniert, Details s. Tab. 2.

Tab. 2	
Konditionierungsschema	Anzahl (% / range)
Gesamtzahl d. Patienten	52
FLAMSA + TBI 4 Gy	13 (25)
Flud.+Melphalan + CyP	10 (19)
Flud. +Melphalan + Carmustin	6 (12)
FLAMSA + i.v. Busulfan	6 (12)
TBI 12 Gy + CyP	6 (12)
Flud.+ Busulfan + CyP	3 (6)
Andere	8 (15)
Stammzellquelle	
PBSZT	39 (75)
KMT	13 (25)
Transplantierte CD34 positive - Zellen/kg KG	Median (Range)
PBSZT	8,8 x 10 ⁶ (4,2x10 ⁶ – 16x10 ⁶)*
KMT	3,44 x 10 ⁸ (2,21x10 ⁸ – 4,41x10 ⁸)
PBSZT oder KMT zuvor	6
Spendereigenschaften	
MRD (%)	16 (30)
MUD (%)	15 (29)
Haploident (%)	12 (23)*
MMURD (%)	9 (17)
Med. Spenderalter (J)	41 (18-72)
Spendergeschlecht ♂/♀ (%)	33/19 (63/37)
Immunsuppression	
CyA + MMF	30 (58)
CyA + MTX	8 (15)
Tacrolimus + MMF	13 (25)
ATG (in untersch. Kombination)	38 (73)
ATG: Antithymozyten Globulin; Busulfan: i.v. Busulfan 0,8mg/kg KG; CyA: Cyclosporin A; CyP: Cyclophosphamid; FLAMSA: Fludarabin 30mg/ m ² , Amsacrine 100mg/m ² , Cytarabin 2g/m ² ; Flud.=Fludarabin; Melph.: Melphalan; MMF: Mycophenolat Mofetil; MTX: Methotrexat; TBI: Total Body Irradiation;	Andere: Fludarabin, Carmustin, Melphalan (FBM) MMRD :Mismatch related Donor; MMURD: Mismatch unrelated Donor; MRD: Match related Donor; MUD: Match unrelated Donor; *eine haploidente Transplantation mit 2,9x10 ⁶ Zellen

2.1.6. Antimykotische Prophylaxe und Therapie

Bisher liegen keine eindeutigen Empfehlungen zur Durchführung einer antimykotischen Prophylaxe bereits bei Durchführung der Konditionierungstherapie oder der prä-Transplantationsimmunsuppression vor. Bestehende deutsche bzw. internationale Leitlinien empfehlen die Durchführung einer antimykotischen Prophylaxe vor allem bei Patienten, die sich einer SZT unterziehen, nach individueller Nutzen-Risiko-Stratifizierung [23]. Ausnahme stellt eine manifeste GvHD nach dem Anwachsen des Transplantates (Engraftment) dar:

hier ist eine Prophylaxe mit Posaconazol angezeigt.

Dagegen wird in sämtlichen Empfehlungen eine frühzeitige zielgerichtete Therapie bereits beim klinischen Verdacht auf Aspergillose empfohlen [24].

In unserem Patientenkollektel erhielten lediglich drei Patienten keine antimykotische Medikation. Bei 20% der Behandelten wurde im Verlauf von Prophylaxe auf antimykotische Therapie umgestellt, ein Patient erhielt ausschließlich Prophylaxe. Die verwendeten Antimykotika sind in Tab. 3 dargestellt.

Tab. 3			
Antimykotika	Anzahl (%)	Eingesetzte Antimykotika	Anzahl (%)
Gesamte Patienten	52	Ambisome	39 (75)
Antimykot. Behandlungen	49 (94)	Voriconazol	35 (67)
Therapie	48 (92)	Caspofungin	18 (35)
Prophylaxe	10 (19)	Posaconazol	11 (21)
Prophylaxe + später Therapie	9 (17)	Micafungin	5 (10)
Prophylaxe, keine Therapie	1 (2)	Flucytosin	1 (2)
Keine Prophylaxe, keine Th.	3 (6)	Itraconazol	1 (2)
		Fluconazol	1 (2)

2.1.7. Graft-versus-Host Disease und deren Therapie

Die Graft-versus-Host Disease (GvHD) bedroht die Gesundheit der Patienten nach allogener Stammzelltransplantation massiv [25, 26].

Bei 28 unserer 52 eingeschlossenen Patienten kam es zu einer systemisch behandlungsbedürftigen GvHD. Dem Großteil konnte mit der kombinierten Therapie aus intravenösen Immunglobulinen und Prednisolon geholfen werden. Weitere Behandlungsstrategien waren die im folgenden genannten Medikamente als Solotherapie oder Prednisolon in Verbindung mit Etanercept*, Tacrolimus*, Basiliximab* oder mit extrakorporalen Verfahren*.

Tab. 4	
Syst. Behandlung einer GvHD	n=28 (%)
Nur intravenöse Immunglobuline	5 (18)
Nur Prednisolon	8 (28)
Intravenöse Immunglobuline + Prednisolon	10 (36)
Prednisolon + Andere*	5 (18)

2.1.8 Verstorbene Patienten und Todesursachen

Mehr als ein Viertel der Patienten (14/52) sind bis Ende der Datenerhebung verstorben. Davon verstarb ein Patient bereits im Beobachtungszeitraum, fünf Patienten während des Klinikaufenthalts im Rahmen der SZT, aber außerhalb des Beobachtungszeitraums und weitere acht nach Entlassung vom Transplantationsaufenthalt. Die Todesursache konnte nur in acht Fällen anhand von Arztbriefen benannt werden, die Sektionsquote lag in unserem beobachteten Patientenkollektiv bei 0%. Es handelte sich nach Einschätzung der zuletzt behandelnden Ärzte dreimal um ein Rezidiv der Grunderkrankung, zweimal um eine schwere Graft-versus-Host-Reaktion, zweimal um eine Sepsis mit nicht näher bezeichnetem Fokus und einmal um einen Ileus.

Tab. 5 Tod	Anzahl (%)
Gesamtanzahl Patienten	52
Dokumentierter Tod*	14 (27)
Tod im Beobachtungszeitraum	1 (2)
Tod vor Entlassung/Verlegung	5 (10)
Tod nach Entlassung/Verlegung	8 (15)
Todesursache	
Rezidiv	3 (6)
Sepsis	2 (4)
GvHD	2 (4)
Ileus	1 (2)
Keine Angaben	6 (11)
*Bis 10/2013 in der Klinikdatenbank erfasst	

2.2. Datenerfassung

2.2.1. Statistik und Auswertesoftware

Sämtliche Analysen wurden mittels Excel® aus dem Softwarepaket Microsoft-Office 2007®, Datenanalyse und -verarbeitung erfolgte mit IBM SPSS Statistics 22.0. Die Datenakquise erfolgte über strukturierte Patientenaktenauswertung (sowohl über die Originaldateien als auch über die elektronische Patientenakte im klinikeigenen Softwaresystem). Verwendet wurden letztendlich nur Ergebnisse aus Microsoft-Excel®.

2.2.2. Laborwerte und mikrobiologische Testverfahren

2.2.2.1 Aspergillus-Galactomannan-Antigen-Test

Die Aspergillus-Antigen-Bestimmung erfolgte im Institut für klinische Chemie des Klinikums der Universität München mit Hilfe des kommerziellen Platelia™ Aspergillus EIA der Firma Bio-Rad. Dieser sogenannte "Sandwich"-Mikroplatten-Enzymimmunoassay dient zum Nachweis von Aspergillus-Galaktomannan-Antigen in

humanen Serumproben. Dabei kommt es mithilfe von Antikörpern zu einer enzymatisch vermittelten Reaktion und entsprechender Änderung der Lichtdurchlässigkeit. Dargestellt wird das Ergebnis des Testes als Quotient aus optischer Dichte des Patienten- und einem Kontrollserum [27]. Ein optischer Dichte (OD)-Index über 0,5 gilt dabei als positives Testergebnis.

Der Beobachtungszeitraum für das Auftreten eines positiven Aspergillus-Antigens umfasste 14 Tage vor Transplantation bis 25 Tage nach Leukozyten-Take (definiert als ein Leukozytenwert $\geq 1000/\mu\text{l}$ an mindestens drei aufeinanderfolgenden Tagen). Der frühe Beginn des Beobachtungszeitraums diente zum Erkennen von Patienten, die mit möglicherweise bereits vorbestehender Aspergillose in die Transplantation gingen.

Ab Beginn der Immunsuppression, wurde gemäß den aktuellen DGHO-Leitlinien bei den Patienten mindestens zweimal wöchentlich das Aspergillus-Antigen bestimmt. Als Neutropenie-Kriterium galt bei Patienten ohne verfügbares Differentialblutbild ein Leukozytenwert unter $1000/\mu\text{l}$ als Neutropenie [15].

2.2.2.2. Leukozyten und C-reaktives Protein

Für die Tage der Aspergillus-Antigen-Erhebung wurden die Patientenlaborwerte Leukozyten, sowie C-reaktives Protein (CRP) erhoben und chronologisch in eine Excel-Tabelle eingefügt (bei Mehrfachbestimmung wurde das erste Morgenlabor herangezogen, Leukozyten wurden bei Werten $< 1000/\mu\text{l}$ im Labor per Hand gezählt).

2.2.3. Radiologie

2.2.3.1. Computertomographie versus Röntgen

Die Computertomographie (CT) hat das konventionelle Röntgenbild als Werkzeug zur Diagnosefindung bei febrilen, neutropenen Patienten abgelöst [7, 12, 15, 28-30]. Die invasive pulmonale Aspergillose (IPA) kann in eine broncho- und angioinvasive Form unterteilt werden. Während sich bei der bronchoinvasiven Form der Pilz am Bronchialbaum manifestiert und radiologisch durch Konsolidie-

nung und Ummauerung einer Bronchopneumonie ähnelt, gibt es bei der angioinvasiven Form radiologisch pathognomonische Erscheinungen der Pilzinfektionen:

- Das Halo-Zeichen: ein milchglasartiger Rundherd mit umgebendem Saum, was in vivo einer Nekrose mit zentralen hämorrhagischen Anteilen entspricht [6, 8, 30].
- Air-crescent-Zeichen: Bei dieser "Luftsichel" handelt es sich um eine Abkapselung des Pilzherdes. Es kann ein Anhalt für eine adäquate Immunreaktion sein [6, 8, 30].

Es wurden alle bei unseren Patienten durchgeführten CT-Untersuchungen ab dem Zeitraum vier Wochen vor SZT bis Ende des Beobachtungszeitraums auf deren radiologische Beurteilungen überprüft. Insgesamt wurden somit 248 CT-Befunde erfasst und auf pilzsuspekte Ergebnisse hin untersucht.

Ein anschauliches Beispiel eines pilztypischen Infiltrates in der High-Resolution-Computertomographie des Thorax eines unserer Patienten zeigen Abb. 5 und 6 auf den folgenden Seiten.

Abb. 5 CT-Thorax Koronarschnitt

CT-Thorax einer 52-jährigen Patientin mit großem Aspergillus-typisch rundlichem, überwiegend unscharf begrenzten Infiltrat im rechten Mittellappen (Pfeil).

Abb. 6 CT-Thorax Axialschnitt

CT-Thorax einer 52-jährigen Patientin mit großem Aspergillus-typisch rundlichem, überwiegend unscharf begrenzten Infiltrat im rechten Mittellappen (Pfeil).

In Abb. 7 ist ein histologisches Bild der Infiltration von gesundem Lungenparenchym im Rahmen einer Invasiven Pulmonalen Aspergillose zu sehen.

Abb. 7 Mikroskopisches Bild einer Pulmonalen Aspergillose

Copyright © 2007, The Fungal Infection Trust. All rights reserved.

http://www.aspergillus.org.uk/#slide-0-field_image_inline-8 Stand 03.10.2017

2.2.4. Weitere Histologie

Zur histologischen Untersuchung wurden Proben von elf Patienten aus Bronchoalveolärer Lavage, ein Pleuraerguß-Punktat, sowie eine Liquorprobe im Labor untersucht.

3 Ergebnisse

3.1. Mikrobiologische und laborbezogene Befunde

Insgesamt wurden 1022 Aspergillus-Antigen-Messungen im Beobachtungszeitraum erfasst. Weitere Ergebnisse unserer Messungen sind in Tab. 6 zu finden.

17,5 Tage dauerte es im Median bis zum Anwachsen des Transplantates (Engraftment).

Weitere zeitliche Verläufe siehe Tab. 7.

Tab. 6	
Aspergillus-Antigen bezogene Messungen	Tage
Gesamtanzahl d. AspAg ¹ - Messungen	1022
Anzahl Pat. mit nur einmalig pos. AspAg ²	7
	Range
AspAg -Messungen / Pat.	7-35 (median 18)
Positives AspAg/ Patient	1-32 (median 6)
Absoluter Wert des pos. AspAg	0,5-8,6 (median 0,9)
¹ AspAg: Aspergillus-Galactomannan-Antigen; ² pos. AspAg = Opt. Index $\geq 0,5$	

Tab. 7	
Dauer bis Ereignis	Range der Zeitdauer in Tagen
Tag der Transplantation bis Leukozyten-Take	10-34 (median 17,5)
Tag der Transplantation bis 100 Leukozyten/ μ l	3-25 (median 12)
Tag der Transplantation bis 50 Leukozyten/ μ l	1-22 (median 10)
Tag der Transplantation bis Entlassung	28-224 (median 50)
Tag des Leukozyten-Takes bis Entlassung	9-211 (median 30,5)

3.1.2. Leukozytenzahl zum Zeitpunkt des ersten positiven Aspergillus-Antigens

Wir untersuchten die Höhe des Leukozytenwertes zum Zeitpunkt des ersten positiven Aspergillus-Antigenwertes:

In der Gruppe der Patienten (n=47), die zumindest die Wahrscheinlichkeitskategorie „possible“ erfüllten, lag die mediane Leukozytenzahl bei diesem Ereignis bei 60/ μ l.

Hingegen betragen die Leukozyten in der *gesunden* Gruppe (n=5), die weiter nicht als „possible“, *probable*“ oder gar „proven“ gewertet werden konnte, bei 2700/ μ l.

3.2. Diagnostische Befunde

3.2.1. Ergebnisse der CT Befunde

248 CTs wurden im besagten Zeitraum angefertigt, Pathologien wurden durch die Radiologen in 74 Fällen entdeckt. Dabei handelte es sich bei 26 Patienten um suspekta Befunde im Thorax-CT, in einem Fall um einen verdächtigen Fokus in den Nasennebenhöhlen und in einem Fall um den v.a. eine cerebrale Absiedelung.

3.2.2. Mikrobiologische Auswertung von BAL, Liquor und Pleurapunktat

Alle eingesandten Patientenproben aus Bronchoalveolärer Lavage, Liquor cerebrospinalis und Pleurapunktat wurden im Institut für Mikrobiologie auf den Nachweis von Aspergillus-Galactomannan-Antigen gescreent – alle mit negativem Ergebnis (Optischer Dichte Index < 0,5).

3.3. Patienten mit vorbestehendem positivem Aspergillus-Antigen-Wert

Fünf Patienten, welche im Auswertzeitraum bereits positive Aspergillus-Antigen-Serologie vor oder während der Konditionierung boten, erfüllten alle im

Verlauf die Wahrscheinlichkeitskategorie probable. Bei dreien war bereits bei früheren Aufenthalten eine Aspergilluspneumonie diagnostiziert worden. Lediglich ein Patient wurde wegen eines Rezidivs behandelt.

Drei Patienten verstarben innerhalb eines Jahres post transplantationem: nach zwei, fünf und acht Monaten (Multiorganversagen nach GvHD / Rezidiv/ einmal nicht eruierbar).

3.4. Anwendung der EORTC-Kriterien auf unser Patientenkollektiv

Von im Beobachtungszeitraum 265 allogenen stammzelltransplantierten Patienten an unserer Klinik, erfüllten 52 unsere geforderten Kriterien und wurden eingeschlossen. Angenommen werden konnte eine Infektion mit Aspergillen bei 90% unserer Kohorte. Allerdings waren fünf Patienten trotz einmalig positivem Aspergillus-Antigen letztendlich keiner Wahrscheinlichkeitskategorie zuzuordnen.

Weiteres siehe Tab. 8.

Tab. 8	
Anwendung EORTC-Kriterien¹ auf unser Patientenkollektiv	
	Absolute Zahlen
Anzahl der Patienten mit allogener HSZT	265
Eingeschlossene Patienten	52 (20%)
Possible	24 (46%)
Probable	23 (44%)
Keine Kriterien erfüllt	5 (10%)
¹ modifizierte EORTC-Kriterien	

3.5. Vergleich der unterschiedlichen Patientengruppen

Der Einfachheit halber wird im Folgenden die Kohorte, welche nach modifizierten EORTC-Kriterien possible und probable zuzuordnen ist und bei denen somit eine Aspergillusinfektion angenommen werden kann, als *Erkrankte* und diejenige, bei der eine Infektion als unwahrscheinlich einzustufen ist, als *Gesunde* benannt.

3.5.1. Alter bei Transplantation

Vergleicht man das Alter zum Zeitpunkt der allogenen Stammzelltransplantation in der gesunden mit dem in der erkrankten Gruppe, so fällt das um sechs Jahre deutlich niedrigere Durchschnittsalter in der erkrankten Gruppe auf (56 versus 50 Jahre).

3.5.2. Transplantation bis Leukozyten-Take und Krankenhausentlassung

War der Zeitraum von Transplantation bis zum Erreichen von 1000 Leukozyten/ μ l im median zwei Tage länger in der erkrankten Gruppe (19 versus 17 Tage) und zudem die Dauer von diesem Zeitpunkt bis zur Entlassung mehr als doppelt so lange, so erklärt sich die deutlich längere Krankenhausverweildauer – das Maximum erreichte ein Patient mit 294 Tagen.

3.5.3. Erfasste Anzahl positiver Aspergillus-Antigene

Bis zu 32 positive Serumergebnisse pro Patient fanden sich in der erkrankten Gruppe, demgegenüber hatten definitionsgemäß alle Patienten in der gesunden Gruppe maximal ein positives Aspergillus-Antigen.

3.5.4. Verstorbene Patienten

Im Beobachtungszeitraum waren 86% der Verstorbenen aus der erkrankten Gruppe. Unter allen untersuchten Patienten starben lediglich zwei Patienten ohne eine als möglich angenommene Pilzinfektion. Die Todesursache wurde bei allen Patienten anhand der klinischen Einschätzung des behandelnden Arztes bestätigt, eine Obduktion fand nie statt.

Weitere Unterschiede der beiden Gruppen siehe Tab. 9 auf der folgenden Seite.

Tab. 9		
„Vergleich der Patientengruppen“	possible/probable (n=47)	keine EORTC-Krit. (n=5)
Demographie		
Patientengeschlecht m (%)	25 (53%)	3 (60%)
Patientengeschlecht w (%)	22 (47%)	2 (40%)
Dauer bis Ereignis		
	Range in Tagen	Range in Tagen
Transplantation bis Leukozyten-Take	10 - 34 (median 19)	10 – 18 (median 17)
Transplantation bis Entlassung	28 - 224(median 53)	30 – 73 (median 34)
Leukozyten-Take bis Entlassung	9 - 211(median 36)	13 – 55 (median 17)
KH-Aufenthalt	42 - 294(median 69)	39 - 81 (median 47)

4 Diskussion

4.1. Anhaltende schwere Neutropenie als Risikofaktor für invasive Aspergillosen

Im Zeitraum von Januar 2011 bis Oktober 2013 untersuchten wir an einer großen Kohorte von 265 allogenen stammzelltransplantierten Patienten den Zusammenhang zwischen Auftreten einer invasiven Aspergillusinfektion und der Dauer bzw. dem Tief der durchlebten Post-Transplantations-Neutropenie. Hierbei war unser Hauptaugenmerk auf einen möglichen Zusammenhang zwischen Dauer und Tiefe der Neutropenie und dem Beginn des Auftretens einer möglichen Aspergillose gelegt.

Im Hochrisikokollektiv von Patienten nach allogener Stammzelltransplantation ist das Risiko für eine Aspergillusinfektion hoch [3-6]. Es ist außerdem bekannt, dass das Erkrankungsrisiko mit der Dauer und Tiefe der schweren Neutropenie assoziiert ist [7, 28, 31]. In den meisten Fällen manifestiert sich eine invasive Aspergillusinfektion bei diesen Patienten als invasive pulmonale Aspergillose (IPA) [3, 8].

Dies konnten wir auch an dem bei uns untersuchten Patientenkollektiv bestätigen. Bei 52 Patienten (19,6%) zeigte sich ein Hinweis für das Vorliegen einer systemischen Aspergillusinfektion, wobei sich nur in zwei Fällen ein anderer Manifestationsort als die Lunge zeigte:

ein Patient mit Beteiligung der Nasennebenhöhlen und ein weiterer Patient mit cerebralem Einwachsen von Pilzhyphen, was sich mit der gängigen Annahme über die Hauptmanifestationen in Expertenkreisen stimmig zeigt [3, 5, 32].

Im weiteren Verlauf der Auswertung konzentrierten wir uns auf diejenigen 52 Patienten, die eine andauernde schwere Neutropenie durchliefen und mindestens einmal ein positives Aspergillus-Antigen im Serum aufwiesen. Fünf von ihnen zeigten jedoch im weiteren Verlauf des beobachteten stationären Aufenthalts keine weiteren klinischen oder mikrobiologischen Kriterien für eine Aspergillose und waren somit im Verlauf unserer Untersuchung nicht mehr verdächtig auf das Vorliegen einer Infektion. Diese fünf bezeichneten wir der Einfachheit halber weiter als *gesund*, die anderen 47 Patienten als *erkrankt*.

Hervorzuheben ist in der als *gesund* bezeichneten Gruppe das deutlich höhere Durchschnittsalter der Patienten (56 versus 50 Jahre). Das ist möglicherweise zum Teil durch die in der jüngeren Altersgruppe häufig eingesetzten intensiveren Chemotherapieschemata bedingt. Andererseits wird eine allogene Stammzelltransplantation bei Patienten im höheren Lebensalter (>65 Jahre) nur nach sorgfältiger Abwägung der individuellen Transplantationsrisiken durchgeführt [33-35].

Dadurch soll dem häufigeren Vorkommen von limitierenden Faktoren, wie Co-Morbiditäten, bei älteren Patienten Rechnung getragen werden; dies erklärt ggf. den geringeren Anteil an invasiven Pilzkrankungen in der „älteren“ Patientengruppe: an unserem Zentrum wurden nur biologisch fitte Patienten über 65 Jahre für eine allogene Stammzelltransplantation qualifiziert.

In der Geschlechterverteilung beider Gruppen ergab sich kein signifikanter Unterschied bezüglich der Entwicklung einer invasiven Aspergillusinfektion.

Um Patienten bezüglich der Auswertung einer invasiven Pilzinfektion besser kategorisieren und statistisch vergleichen zu können, hat sich im Rahmen von Studien der Einsatz von bestimmten Kriterien etabliert (sog. EORTC-/ MSG-Kriterien) [9, 36]. Der Gebrauch dieser Einteilungsmethode ist bislang nur für Studien etabliert. In den vergangenen Jahren jedoch wurden auch klinische Untersuchungen mit solchen Kriterien durchgeführt. Hier hat sich der Einsatz modifizierter EORTC-Kriterien als leichter anwendbar und valide gezeigt [37]. Obwohl diese Einteilung nie für die klinische Arbeit gedacht war, kann man durch ihren Einsatz eine höhere Spezifität in der Zusammenschau der Untersuchungsergebnisse erreichen.

Wendet man die oben genannten Kriterien für unser untersuchtes Patientenkollektiv an, so zeigt sich in unserer Kohorte in 90% der Fälle eine mögliche Aspergillusinfektion (Kategorie „*possible*“), der klinische Nachweis einer invasiven Pilzinfektion (Kategorie „*proven*“) gelang jedoch nicht. Der Nachweis einer Infektion (Kategorie „*proven*“) würde ein hartes mikrobiologisches Kriterium verlangen: dies ist häufig durch die histologische Sicherung aus Patientenmaterial durchzuführen. Da die hier beobachtete Kohorte aufgrund der intensiven Behandlung jedoch in nahezu allen Fällen eine substitutionsbedürftige Thrombozytopenie aufwies, wurden aufgrund dieser klinischen Gegebenheiten keine invasiven Di-

agnostikmodalitäten ausgeschöpft. Möglicherweise ist daher die geringe Ausbeute an „proven“ Fällen in dieser Auswertung der geringen Biopsierate geschuldet. Hierzu kann die vorliegende Arbeit keinen weiteren Aufschluss geben.

Grundsätzlich ist zu bemerken, dass durch stetig zunehmenden Einsatz neuer Behandlungsmethoden für hämatologische und onkologische Erkrankungen mit Chemotherapeutika oder immuntherapeutischen Ansätzen (wie z. B. der allogenen Stammzelltransplantation oder immunmodulatorischer Therapie) es immer häufiger zu schwerwiegenden infektiösen und immunologischen Komplikationen kommt [23, 31, 38, 39].

So steigt auf der einen Seite gewollt das Behandlungsalter und damit die Lebenserwartung unserer Patienten, auf der anderen kommt es konsekutive zu einer wachsenden Zahl an dauerhaft immunsupprimierten Patienten, die das größte Risiko für die Entwicklung einer invasiven Pilzinfektion haben [40, 41].

In autopsiekontrollierten Studien mit großen Fallzahlen mit im Rahmen hämato-onkologischer Grunderkrankung oder HSZT verstorbener Patienten, wies etwa ein Drittel eine invasive Pilzerkrankung auf [10, 11].

Bei den post mortem als infiziert diagnostizierten Patienten wurde jedoch in 75% der Fälle ante mortem keine entsprechende Diagnose gestellt. Weiter konnte beobachtet werden, dass der Anteil Invasiver Aspergillosen unter den Pilzinfektionen um die Jahrtausendwende signifikant anstieg. Hier scheinen sowohl epidemiologische Faktoren, als auch Behandlungsspezifika eine Rolle zu spielen [11].

Leider ist trotz steigender pilzbedingter Infektionen und assoziierter Todesfälle die Rate der Obduktionen in den letzten Jahrzehnten stetig rückläufig [42, 43]: d.h. dass eine definitive Sicherung der Kausalität zwischen Infektion und Tod des Patienten in vielen Fällen nicht möglich ist.

Dies zeigt sich auch an unserem Patientenkollektiv und der gelebten Praxis an unserer Klinik wider: keiner der 14 Verstorbenen wurde einer klinischen Obduktion unterzogen. Nicht zuletzt aus krankenhauses-epidemiologischen Gründen wäre eine weiterführende Todesursachenuntersuchung in diesem Hochrisikokollektiv sehr wünschenswert.

Wir möchten auch anhand der von uns erhobenen Daten darauf hinweisen, dass diese Entwicklung sehr kritisch beurteilt werden sollte.

Hervorzuheben ist, dass wir zeigen konnten, dass bei unseren als *erkrankt* gewerteten Patienten die Leukozytenzahl im Moment des ersten positiven Aspergillus-Antigens (Optischer Dichte-Index $\geq 0,5$) im median bei nur $60/\mu\text{l}$ lag. Diese frisch transplantierten Patienten befanden sich somit in ausgeprägter Immunsuppression. Handelt es sich bei unserer Untersuchung zwar nur um eine geringe Patientenzahl, so halten wir es anhand dieser Beobachtung für mehr als denkbar, dass der gängige Aspergillus-Galactomannan-Test - selbst für Patienten in tiefer Leukopenie - eine gute Verlässlichkeit für die Diagnosestellung und somit frühzeitigen Therapieeinleitung einer Invasiven Aspergillose bietet.

Jedoch konnte bei unseren Patienten trotz langer Zytopenie und schwerer Grunderkrankung nie die Kategorie „proven“ erreicht werden. Bei fünf unserer als gesund deklarierten Patienten war sogar, abgesehen von einem einmalig positiven Aspergillus-Antigen, kein weiteres mikrobiologisches oder klinisches Kriterium zu finden. Im Vergleich mit publizierten Studien, die die Inzidenz von invasiven Pilzinfektionen (insbesondere Invasive Aspergillosen) an ähnlichen Patientenkollektiven untersuchten, scheint die Nachweisrate bei uns deutlich schlechter zu sein [4, 44].

Wir stellten uns daher die Frage, wie unsere Ergebnisse zu interpretieren sind.

Insbesondere wollten wir prüfen, ob die Testsensitivität ausreichend ist oder ob es sich in unserem Kollektiv häufig um falsch negative Testergebnisse handeln könnte?

Zuletzt sollte die Frage beantwortet werden, ob ein regelmäßiges Screening des Serums der Patienten eine ausreichend verlässliche Strategie bei allogenen Stammzelltransplantierten ist oder ob andere Untersuchungsmedien nicht bessere Diagnostik zulassen würde.

4.2. Diagnostische Grenzen der Laborparameter

4.2.1. Stellenwert des Aspergillus-Galactomannan-Immunoassays

Mit einer Sensitivität und Spezifität von über 80% bzw. 90% ist das Aspergillus-Galactomannan-Immunoassay ein mittlerweile nicht mehr wegdenkbares klinisches Werkzeug [45, 46].

Jedoch kann es durch den Einsatz gewisser Medikamente und Behandlungen zu einer Abwertung des Tests kommen.

4.2.2. Sensitivität des Aspergillus-Galactomannan-Tests unter antimykotischer Therapie

Wenn Patienten im Rahmen der Behandlung entweder eine antimykotische Prophylaxe oder bei entsprechender klinischer Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Pilzinfektion eine zielgerichtete antimykotische Therapie erhalten, so ist die Sensitivität des Aspergillus-Galactomannan-Tests eingeschränkt und die diagnostische Verwertbarkeit im klinischen Setting nicht mehr zuverlässig. Dabei bringt auch das Absenken des Schwellenwertes (üblich ist der Optische Dichte-Index $\geq 0,5$) keinen Zugewinn der Aussagekraft [47, 48].

Dies kann eine Erklärung für unseren Patienten sein, der nur einmalig ein Aspergillus-Antigen von 0,7 zeigte, bei dem sich allerdings in der Computertomografie der Verdacht auf eine invasive Pilzinfektion verhärtete und somit in die Kategorie „*probable*“ eingeordnet wurde. In diesem Fall wurden zunächst Echinocandine (Micafungin und Caspofungin), sowie in der Folge bei nicht ausreichendem klinischen Erfolg auch liposomales Amphotericin B als antimykotische Medikation eingesetzt [49, 50]. Bei vier (80%) der als gesund eingestuftten Patienten fand ebenso eine (kalkulierte) Behandlung mit Antimykotika statt – ein weiteres Kriterium für eine Aspergillose konnte bei ihnen jedoch nicht gefunden werden.

4.2.3 Einsatz von Breitspektrum-Antibiotika auf Kosten der Spezifität

Patienten aus dem hier untersuchten Kollektiv, die mindestens zweimal ein positives Aspergillus-Antigen im Serum zeigten, haben wir gemäß der EORTC- /MSG-Kriterien als „*possible*“ eingestuft. Im weiteren Verlauf wurden diese Patienten

häufig empirisch mit Antimykotika behandelt, obwohl eine höhere Nachweissicherheit bezüglich der Pilzinfektion nicht gelang.

Grundsätzlich wird bei Patienten in Neutropenie zur Abklärung des Verdachtes auf eine invasive (Pilz-)Infektion (unabhängig davon, welche Zeichen einer solchen Infektion vorliegen (z.B. Fieber ($\geq 38^{\circ}\text{C}$), Husten, Dyspnoe, etc.) der in unseren Diagnostikleitlinien angegebene Untersuchungsablauf durchgeführt:

Zunächst erfolgt eine Asservierung von Blutkulturen, anschließend soll die sofortige kalkulierte Antibiotikatherapie eingeleitet werden, um dem potenziellen Fortschreiten der Infektion und der überschießenden Immunreaktion im Rahmen einer Sepsis entgegenzuwirken [51, 52]. Da sich auch die invasiven Pilzinfektionen mit den o. g. allgemeinen Entzündungssymptomen äußern, kann die initiale Diagnostik und eingeleitete kalkulierte Antibiotikatherapie die Detektion einer invasiven Aspergillusinfektion verschleiern. So konnten verschiedene Autoren zeigen, dass die antibiotische Therapie mit Breitspektrum-Antibiotika wie Piperacillin in Kombination mit dem Betalaktamasehemmer Tazobactam oder dem oral verfügbaren Amoxicillin-Clavulansäure-Derivat, zu Fehlmessungen und somit zu einem falsch positiven Resultat des Aspergillus-Galactomannan-Tests führen kann [53-55].

Mögliche Gründe sind Gemeinsamkeiten in der Zellwandstruktur von Aspergilluspezies und Penicillin, welche zu einer ähnlichen optischen Dichte im Immunoassay (ELISA) führen können. Weiter sind auch potenzielle Kontaminationen von einzelnen Medikamentenchargen durch die ubiquitär vorkommenden Pilzsporen ein möglicher Grund [55].

4.2.4 Störung der Darmmukosa als Ursache positiver Elisa-Ergebnisse

Weiter scheinen falsch positive Ergebnisse bei Patienten mit gestörter oder noch unausgereifter Darmmukosa möglich zu sein. Hierbei scheint es nach Aufnahme von verunreinigten Lebensmitteln zu einem Übertritt in die Blutbahn zu kommen. Das würde falsch positive Elisa-Ergebnisse bei Patienten mit entsprechender Schleimhautschädigung durch Chemotherapie oder bei Neugeborenen, sowie bei Patienten mit ausgeprägter Graft-versus-Host-Reaktion des Darms erklären [53].

4.2.5. Überlegenheit bei Untersuchung von Bronchoalveolärer Lavage

Nach der Auffassung mehrerer Autoren liegt die mit Abstand höchste Sensitivität in der Aspergillus-Galactomannan-Antigen-Bestimmung aus Bronchoalveolärer Lavage (BAL)[56-58]:

in einer prospektiven Studie war die Sensitivität mit 90% deutlich höher als die im Serum gemessene und das bei fast ebenso hoher Spezifität. Ebenso zeigt sich zudem eine Überlegenheit gegenüber dem Goldstandard der Kulturanzucht.

Abb. 8 gibt einen Überblick zu Sensitivität von Aspergillus-Antigen in Serum und BAL, sowie der BAL-Kultur [57].

TABLE 4. CLINICAL CHARACTERISTICS OF NEUTROPENIC AND NONNEUTROPENIC PATIENTS WITH PROVEN INVASIVE ASPERGILLOSIS

Characteristics	Neutropenic Patients (n = 10)	Nonneutropenic Patients (n = 16)	All Proven IA Cases (n = 26)
No. of males (%)	4 (40)	10 (63)	14 (54)
Age, mean yr	62	62	62
Clinical characteristics			
Fever, no. of patients (%)	8 (80)	10 (63)	18 (69)
Respiratory failure requiring MV, no. (%)	10 (100)	15 (94)	25 (96)
length of stay, no. of days (range)	7 (4–21)	13 (3–68)	13 (3–68)
Macroscopic lesions,* no. of patients (%)	4 (40)	3 (19)	7 (27)
CT rate, no. of patients (%)	6 (60)	9 (56)	15 (58)
Necrotizing pneumonia on CT scan† (%)	1 (17)	6 (67)	7 (47)
Halo sign on CT scan (%)	0 (0)	13 (81)	13 (50)
Steroids, no. of patients (%)	2 (20)	3 (19)	5 (19)
Cirrhosis (%)	0 (0)	5 (31)	5 (19)
SAPS II‡	60	55	57
Predicted mortality, %	71	62	66
Outcome			
Survival, no. of patients (%)	0 (0)	2 (12)	2 (8)
Lung autopsy (n = 25) and/or biopsy results			
Strong inflammation, low fungal burden	1/10 (10)	13/16 (81)	14/26 (54)
Scant inflammation, high fungal burden	9/10 (90)	3/16 (19)	12/26 (46)
Sensitivity of test, n/N (%)‡			
BAL culture or direct examination positive	5/10 (50)	10/16 (63)	15/26 (60)
Aspergillus GM BAL	9/10 (90)	14/16 (88)	23/26 (88)
Aspergillus GM serum	7/10 (70)	4/16 (25)	11/26 (42)
Median GM value in BAL Day 1 (range)	5.5 0.1–7.9	4.0 0.1–8.0	4.3 0.1–8.0
Median GM value in serum Day 1 (range)	0.7 0.1–5.0	0.1 0.0–7.5	0.3 0.0–7.5

Definition of abbreviations: BAL = bronchoalveolar lavage; CT = computed tomography; GM = galactomannan; IA = invasive aspergillosis; MV = mechanical ventilation; SAPS II = Simplified Acute Physiology Score II.

* Macroscopic lesions were defined as ulcerative or pseudomembranous lesions in the trachea or the bronchi visible during the bronchoscopy.

† See online supplement for CT and chest X-ray illustrations of some studied patients.

‡ SAPS II is a score of severity of illness in critically ill patients (range between 12 and 163, with predicted mortalities between 1.3 and 100%, respectively).

§ Applying an optical density index cut off = 0.5.

Abb. 8 aus Am J Respir Crit Care Med. 2008 Jan 1;177(1):27-34. Epub 2007 Sep

Der Vorteil des Serumtests liegt durch die mit Abstand pragmatischere Gewinnung, vor allem beim spontan atmenden Patienten, auf der Hand. So ist die BAL-Gewinnung bei nicht kontrolliert beatmeten Patienten aufgrund der notwendigen Sedierung immer mit einem Risiko verbunden. Mit zunehmender Schwere der Erkrankung und Morbidität (z.B. Thrombopenie) des Patienten steigt zudem das Risiko für Komplikationen des Eingriffs und das bei nicht sicherem Erfolg für die Gewinnung von verwertbarem Material aus der BAL [59].

Allerdings ist die Testung auf Aspergillus-Antigen von gewonnenem Material aus der BAL nicht absolut sensitiv, was wir an einem Pat demonstrieren konnten:

Einer unserer Patienten hatte einen optischen Index von 0,3 und somit ein negatives indirektes Ergebnis des Pleurapunktats, jedoch folgende diskrepante mikroskopische Beurteilung der gewonnenen Histologie:

„...in größerer Anzahl kommen Pilzhyphen vor, teilweise mit Nachweis einzelner Fruchtköpfe und vereinzelter dichotomer Hyphenverzweigung, nach Form und Größe vereinbar mit Aspergillus.“ Der Patient erfüllte somit ein mikrobiologisches Kriterium und rutschte letztendlich in die Kategorie probable.

Auch anhand der vorliegenden Untersuchung an einem speziellen Hochrisikokollektiv wird offensichtlich, dass trotz aller Bemühungen der verschiedensten nationalen und internationalen Arbeitsgemeinschaften in den letzten Jahrzehnten, bis heute Uneinigkeit über das beste Konzept in Bezug auf einzusetzende Diagnosewerkzeuge und -stellung vorherrscht. Dies birgt das Risiko, das ein möglichst früher Therapiebeginn, welcher in direkter Verbindung mit besserer Prognose unserer Patienten steht, verzögert wird [12-14].

Die bisherigen Anstrengungen im Kampf gegen invasive Aspergillose gilt es daher sowohl auf diagnostischer als auch auf therapeutischer Seite weiter voranzutreiben. Trotz Untersuchung und Behandlung nach den aktuellen Goldstandards sind die Mortalitätsraten invasiver Aspergillusinfektionen im hämatologischen Patientenkollektiv und insbesondere bei allogenen Stammzelltransplantierten Patienten weiterhin fatal [23, 31, 38, 39].

Um in Zukunft ein besseres Outcome in diesem Hochrisiko-Patientenkollektiv zu ermöglichen, müssen diagnostische Methoden und verfügbare Therapieoptionen weiter optimiert werden.

5 Zusammenfassung

Untersucht wurden insgesamt 265 Patienten, die sich aufgrund einer hämatologischen Grunderkrankung, im Zeitraum Januar 2011 bis Oktober 2013 in der Medizinischen Klinik III der LMU München einer allogenen Stammzelltransplantation unterzogen haben.

Bei 52 dieser stark immunsupprimierten Patienten war im Rahmen des üblichen Serum-Screenings auf Aspergillus-Antigen ein mindestens einmalig positives Ergebnis zu finden.

Wir untersuchten die Patienten in Hinblick auf ihre Eigenschaften und Grunderkrankungen, sowie deren Therapie und Verläufe.

Dabei konnte gezeigt werden, dass bei der Mehrzahl unserer Patienten mit der Wahrscheinlichkeitskategorie „possible“ und „probable“ das erste positive Aspergillus-Antigen in tiefer Neutropenie keine falsch-positive Messung war und sich bei diesen Patienten im weiteren Verlauf des stationären Aufenthaltes weitere Anhaltspunkte für eine Aspergillose ergaben. Wir halten somit an der *Wertigkeit der Aspergillus-Antigens zur Diagnose invasiver Pilzinfektionen bei Patienten nach allogener hämatopoetischer Stammzelltransplantation* fest.

Die stetige technische Weiterentwicklung bildgebender Verfahren (HR-CT) ist nur eine der bedeutenden Entwicklungen für den Fortschritt in der Diagnosestellung der Invasiven Pilzinfektionen.

Die invasive Aspergillose, bleibt trotz aller Bemühungen, nach wie vor eine bedrohliche Komplikation im hier untersuchten Hochrisiko-Patientenkollektiv. Daran konnten leider auch die oben genannten Verbesserungen in apparativer Diagnostik und neue Antimykotika nichts grundsätzlich verbessern, weil die Sterberaten bei Auftreten dieser Infektionen weiterhin sehr hoch sind.

Wir untersuchten daher an einem homogenen Patientenkollektiv die klinisch-verwertbare diagnostische Aussagekraft des Serumparameters Aspergillus-Antigen. Wir konnten so die Daten anderer internationaler Arbeitsgruppen bestätigen:

das Aspergillus-Antigen kann – falls positiv – bereits bei sehr geringen Leukozytenwerten eine invasive Aspergillose anzeigen. Allerdings ist die Test-Sensitivität in unserem Studienkollektiv nicht ausreichend hoch, um bei negativen Testergebnissen, eine Erkrankung definitiv auszuschließen. Ob diese Beobachtung durch eine Vergrößerung der untersuchten Patientengruppe anders ausfallen würde, soll Teil einer nächsten Untersuchung sein.

Als weiterer klinisch nicht ausreichend untersuchter Aspekt bei Hochrisiko-Patienten ist eine große Dunkelziffer an Todesfällen durch invasive Pilzinfektionen anzunehmen, da sich die verfügbaren Zahlen in Todesursachenstatistiken lediglich auf Hochrechnungen beziehen. Auch deshalb möchten wir nochmals auf die ernstzunehmende Entwicklung in Bezug auf die Obduktionsraten bei in der Klinik verstorbenen (immunsupprimierten) Patienten aufmerksam machen:

wir halten die Obduktion - trotz aller mittlerweile implementierten Diagnostikmöglichkeiten ante mortem - für eine extrem wichtige, aber leider wenig umgesetzte Untersuchung, die aktuell gängigen Behandlungsregime unserer Patienten zu überprüfen bzw. zu hinterfragen. Darüber hinaus wäre ggf. durch das pathologische Feedback auch eine Optimierung in der Behandlung der stetig wachsenden Anzahl an immunsupprimierten Patienten zu erreichen.

Insgesamt sehen wir durch die hier vorgelegte Zentrums-Untersuchung unser bisheriges diagnostisches Vorgehen bei Verdacht auf eine invasive Pilzinfektion als klinisch gut vertretbar.

Das Aspergillus-Antigen im Serum hat bei Patienten nach allogener hämatopoetischer Stammzelltransplantation in der Diagnostik von invasiven Pilzerkrankungen bis auf weiteres einen hohen Stellenwert.

6 Literaturverzeichnis

1. Zentrum für Krebsregisterdaten im Robert Koch-Institut (Hrsg), B., *Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016* 2016: p. 44.
2. Sureda, A., et al., *Indications for allo- and auto-SCT for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe*, 2015. *Bone Marrow Transplant*, 2015. **50**(8): p. 1037-56.
3. Schmiedel, Y. and S. Zimmerli, *Common invasive fungal diseases: an overview of invasive candidiasis, aspergillosis, cryptococcosis, and Pneumocystis pneumonia*. *Swiss Med Wkly*, 2016. **146**: p. w14281.
4. Kontoyiannis, D.P., et al., *Prospective Surveillance for Invasive Fungal Infections in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients, 2001–2006: Overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database*. *Clinical Infectious Diseases*, 2010. **50**(8): p. 1091-1100.
5. Schmidt-Hieber, M., et al., *CNS infections in patients with hematological disorders (including allogeneic stem-cell transplantation)-Guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Medical Oncology (DGHO)*. *Ann Oncol*, 2016. **27**(7): p. 1207-25.
6. Greene, R.E., et al., *Imaging findings in acute invasive pulmonary aspergillosis: clinical significance of the halo sign*. *Clin Infect Dis*, 2007. **44**(3): p. 373-9.

-
7. Borys, M., et al., *Early diagnosis and treatment of invasive aspergillosis as a main determinant of outcome - review of literature according to the presented case report*. *Ann Agric Environ Med*, 2017. **24**(1): p. 100-103.
 8. Solyanik, O., et al., *[Pneumonia in immunosuppressed patients]*. *Radiologe*, 2017. **57**(1): p. 22-28.
 9. De Pauw, B., et al., *Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group*. *Clin Infect Dis*, 2008. **46**(12): p. 1813-21.
 10. Sinko, J., et al., *Invasive fungal disease in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients: an autopsy-driven survey*. *Transpl Infect Dis*, 2008. **10**(2): p. 106-9.
 11. Chamilos, G., et al., *Invasive fungal infections in patients with hematologic malignancies in a tertiary care cancer center: an autopsy study over a 15-year period (1989-2003)*. *Haematologica*, 2006. **91**(7): p. 986-9.
 12. von Eiff, M., et al., *Pulmonary aspergillosis: early diagnosis improves survival*. *Respiration*, 1995. **62**(6): p. 341-7.
 13. Maschmeyer, G., A. Haas, and O.A. Cornely, *Invasive aspergillosis: epidemiology, diagnosis and management in immunocompromised patients*. *Drugs*, 2007. **67**(11): p. 1567-601.

-
14. Karthaus, M. and D. Buchheidt, *Invasive aspergillosis: new insights into disease, diagnostic and treatment*. *Curr Pharm Des*, 2013. **19**(20): p. 3569-94.
 15. Ruhnke, M., et al., *Diagnosis of invasive fungal infections in hematology and oncology--guidelines from the Infectious Diseases Working Party in Haematology and Oncology of the German Society for Haematology and Oncology (AGIHO)*. *Ann Oncol*, 2012. **23**(4): p. 823-33.
 16. Dr. Georg Ledderose, D.J.T., *Blutstammzelltranspl. Knochenmarktransplant. Informationen für Angehörige und Betroffene.pdf*. 2011. **4**: p. 6-58.
 17. Schmid, C., et al., *High antileukemic efficacy of an intermediate intensity conditioning regimen for allogeneic stem cell transplantation in patients with high-risk acute myeloid leukemia in first complete remission*. *Bone Marrow Transplant*, 2008. **41**(8): p. 721-7.
 18. Kolb H.J., S.C., *Neue Ansätze in der Stammzelltransplantation FLAMSA 2005.pdf*. 2005.
 19. Luznik, L., et al., *HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2008. **14**(6): p. 641-50.
 20. Marks, R., et al., *Reduced-toxicity conditioning with fludarabine, BCNU, and melphalan in allogeneic hematopoietic cell transplantation: particular activity against advanced hematologic malignancies*. *Blood*, 2008. **112**(2): p. 415-25.

-
21. Strober, S., *Protective conditioning against GVHD and graft rejection after combined organ and hematopoietic cell transplantation*. *Blood Cells Mol Dis*, 2008. **40**(1): p. 48-54.
 22. Norkin, M. and J.R. Wingard, *Recent advances in hematopoietic stem cell transplantation*. *F1000Res*, 2017. **6**: p. 870.
 23. Ullmann, A.J., et al., *Infectious diseases in allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: prevention and prophylaxis strategy guidelines 2016*. *Ann Hematol*, 2016. **95**(9): p. 1435-55.
 24. Tacke, D., et al., *Primary prophylaxis of invasive fungal infections in patients with haematologic malignancies. 2014 update of the recommendations of the Infectious Diseases Working Party of the German Society for Haematology and Oncology*. *Ann Hematol*, 2014. **93**(9): p. 1449-56.
 25. Penack, O., et al., *Influence of pre-existing invasive aspergillosis on allo-HSCT outcome: a retrospective EBMT analysis by the Infectious Diseases and Acute Leukemia Working Parties*. *Bone Marrow Transplant*, 2016. **51**(3): p. 418-23.
 26. Marr, K.A., et al., *Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients*. *Clin Infect Dis*, 2002. **34**(7): p. 909-17.
 27. Bio-Rad, *Der Platelia™ Aspergillus EIA ist ein "Sandwich"- Mikroplatten-Enzymimmunoassay zum Nachweis von Aspergillus-Galaktomannan-antigen im Serum*. 2006: p. 51 - 67.

-
28. Maschmeyer, G., et al., *Diagnosis and antimicrobial therapy of lung infiltrates in febrile neutropenic patients (allogeneic SCT excluded): updated guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Medical Oncology (DGHO)*. *Ann Oncol*, 2015. **26**(1): p. 21-33.
 29. Penack, O., et al., *Management of sepsis in neutropenic patients: 2014 updated guidelines from the Infectious Diseases Working Party of the German Society of Hematology and Medical Oncology (AGIHO)*. *Ann Hematol*, 2014. **93**(7): p. 1083-95.
 30. Haber, J. and J. Cervenkova, *[Invasive pulmonary aspergillosis--imaging and invasive potential of diagnosis]*. *Klin Mikrobiol Infekc Lek*, 2007. **13**(5): p. 190-4.
 31. Low, C.-Y. and C. Rotstein, *Emerging fungal infections in immunocompromised patients*. *F1000 Medicine Reports*, 2011. **3**: p. 14.
 32. Pagano, L., L. Fianchi, and G. Leone, *Fungal Pneumonia Due to Molds in Patients with Hematological Malignancies*. *Journal of Chemotherapy*, 2006. **18**(4): p. 339-352.
 33. Lahoud, O.B., et al., *High-Dose Chemotherapy and Autologous Stem Cell Transplant in Older Patients with Lymphoma*. *Current oncology reports*, 2015. **17**(9): p. 42-42.
 34. Facon, T., et al., *Melphalan and prednisone plus thalidomide versus melphalan and prednisone alone or reduced-intensity autologous stem*

-
- cell transplantation in elderly patients with multiple myeloma (IFM 99-06): a randomised trial.* Lancet, 2007. **370**(9594): p. 1209-18.
35. Badros, A., et al., *Autologous stem cell transplantation in elderly multiple myeloma patients over the age of 70 years.* British Journal of Haematology, 2001. **114**(3): p. 600-607.
36. Ascioglu, S., et al., *Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus.* Clin Infect Dis, 2002. **34**(1): p. 7-14.
37. Rieger, C.T., et al., *Classification of invasive fungal disease in patients with acute myeloid leukaemia.* Mycoses, 2011. **54**(4): p. e92-8.
38. Kousha, M., R. Tadi, and A.O. Soubani, *Pulmonary aspergillosis: a clinical review.* European Respiratory Review, 2011. **20**(121): p. 156-174.
39. Mellinshoff, S.C., et al., *Primary prophylaxis of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies: 2017 update of the recommendations of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society for Haematology and Medical Oncology (DGHO).* Ann Hematol, 2018. **97**(2): p. 197-207.
40. Campitelli, M., et al., *Combination Antifungal Therapy: A Review of Current Data.* J Clin Med Res, 2017. **9**(6): p. 451-456.
41. Lamoth, F. and T. Calandra, *Early diagnosis of invasive mould infections and disease.* Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2017. **72**(suppl_1): p. i19-i28.

-
42. Ayoub, T. and J. Chow, *The conventional autopsy in modern medicine*. J R Soc Med, 2008. **101**(4): p. 177-81.
43. van den Tweel, J.G. and C. Wittekind, *The medical autopsy as quality assurance tool in clinical medicine: dreams and realities*. Virchows Archiv, 2016. **468**: p. 75-81.
44. Marr, K.A., et al., *Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: changes in epidemiology and risk factors*. Blood, 2002. **100**(13): p. 4358-66.
45. Pfeiffer, C.D., J.P. Fine, and N. Safdar, *Diagnosis of Invasive Aspergillosis Using a Galactomannan Assay: A Meta-Analysis*. Clinical Infectious Diseases, 2006. **42**(10): p. 1417-1727.
46. White, P.L., et al., *Aspergillus Polymerase Chain Reaction: Systematic Review of Evidence for Clinical Use in Comparison With Antigen Testing*. Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America, 2015. **61**(8): p. 1293-1303.
47. Marr, K.A., et al., *Antifungal therapy decreases sensitivity of the Aspergillus galactomannan enzyme immunoassay*. Clin Infect Dis, 2005. **40**(12): p. 1762-9.
48. Maertens, J., et al., *Prospective clinical evaluation of lower cut-offs for galactomannan detection in adult neutropenic cancer patients and haematological stem cell transplant recipients*. Br J Haematol, 2004. **126**(6): p. 852-60.

-
49. Enoch, D.A., et al., *Micafungin for the treatment of invasive aspergillosis*. *J Infect*, 2014. **68**(6): p. 507-26.

 50. Patil, A. and S. Majumdar, *Echinocandins in antifungal pharmacotherapy*. *J Pharm Pharmacol*, 2017. **69**(12): p. 1635-1660.

 51. Rhodes, A., et al., *Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016*. *Intensive Care Medicine*, 2017. **43**(3): p. 304-377.

 52. Heinz, W.J., et al., *Diagnosis and empirical treatment of fever of unknown origin (FUO) in adult neutropenic patients: guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Medical Oncology (DGHO)*. *Annals of Hematology*, 2017. **96**(11): p. 1775-1792.

 53. Mennink-Kersten, M.A., J.P. Donnelly, and P.E. Verweij, *Detection of circulating galactomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis*. *Lancet Infect Dis*, 2004. **4**(6): p. 349-57.

 54. Metan, G., M. Durusu*, and O. Uzun, *False Positivity for Aspergillus Antigenemia with Amoxicillin-Clavulonic Acid*. *Journal of Clinical Microbiology*, 2005. **43**(5): p. 2548-2549.

 55. Gerlinger, M.P., et al., *False positive galactomannan Platelia due to piperacillin-tazobactam*. *Med Mal Infect*, 2012. **42**(1): p. 10-4.

 56. Boch, T., et al., *Direct comparison of galactomannan performance in concurrent serum and bronchoalveolar lavage samples in immunocompromised patients at risk for invasive pulmonary aspergillosis*. *Mycoses*, 2016. **59**(2): p. 80-85.

57. Meersseman, W., et al. *Galactomannan in Bronchoalveolar Lavage Fluid*. 2008 [cited 177 1]; 27-34]. Available from: <http://https://doi.org/10.1164/rccm.200704-606OC>.
58. Torelli, R., et al., *Diagnosis of Invasive Aspergillosis by a Commercial Real-Time PCR Assay for Aspergillus DNA in Bronchoalveolar Lavage Fluid Samples from High-Risk Patients Compared to a Galactomannan Enzyme Immunoassay*. *Journal of Clinical Microbiology*, 2011. **49**(12): p. 4273-4278.
59. Schnabel, R.M., et al., *Clinical course and complications following diagnostic bronchoalveolar lavage in critically ill mechanically ventilated patients*. *BMC Pulmonary Medicine*, 2015. **15**: p. 107.

7 Verzeichnis der Abkürzungen und Akronyme

ATG	Antithymozytenglobulin
bspw.	beispielsweise
CD	Clusters of Differentiation
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
CyA	Cyclosporin A
CyP	Cyclophosphamid
DGHO	Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und medizinische Onkologie
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EORTC	European Organisation for Research and Treatment of Cancer
Ggf.	Gegebenenfalls
GvHD	Graft-versus-Host Disease
Gy	Gray
HLA	Human Leukocyte Antigen
HSZT	Hämatopoetische Stammzelltransplantation
IA	Invasive Aspergillose
IFD	Invasive Fungal Disease
IPA	Invasive Pulmonale Aspergillose
MMF	Mycophenolat-Mofetil
MMURD	Mismatched Unrelated Donor
MRD	Matched Related Donor
MUD	Matched Unrelated Donor
PBSZT	Periphere Blutstammzelltransplantation
SZT	Stammzelltransplantation
TBI	Total Body Irradiation

8 Danksagung

Vielen Dank an meine liebe Frau und meinen tollen Sohn – Timmi, es tut mir leid, dass Du so oft an meine Tür klopfen musstest, wenn ich in meiner freien Zeit am Schreibtisch saß.

Vielen Dank für Euren Rückhalt und Eure Geduld.
Wir haben es geschafft.

Liebe Christina, herzlichen Dank für die anhaltende Begleitung, Deine viele Zeit und Unterstützung!

Danke Lisa und Roland für Eure Hilfe!



LUDWIG-
MAXIMILIANS-
UNIVERSITÄT
MÜNCHEN

Promotionsbüro
Medizinische Fakultät



Eidesstattliche Versicherung

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Florian Lienert

Ort, Datum

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand