

**Stellenwert von (1-3)- β -D-Glucan zur
Vorhersage einer invasiven Pilzinfektion
und Assoziation mit dem Schweregrad der
Organdysfunktion bei kritisch kranken
Patienten mit und ohne Sepsis**

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von **Katrin Ludewig**

geboren am 19. Dezember 1976 in Pößneck

Gutachter:

- 1. Prof. Dr. med. M. Bauer, Jena**
- 2. Prof. Dr. med. F. M. Brunkhorst, Jena**
- 3. Prof. Dr. med. A. Markewitz, Koblenz**

Tag der öffentlichen Verteidigung: 08.05.2018

Aus der
Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

Direktor: Prof. Dr. med. Michael Bauer

Betreuer: Prof. Dr. med. Frank Martin Brunkhorst

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	6
1. ZUSAMMENFASSUNG.....	9
2. EINLEITUNG	11
2.1. DAS KRANKHEITSBILD DER SEPSIS UND DEFINITION	11
2.1.1. <i>Historischer Überblick.....</i>	<i>11</i>
2.1.2. <i>Definition, Diagnosekriterien und Einteilung</i>	<i>12</i>
2.1.3. <i>Epidemiologische Bedeutung</i>	<i>15</i>
2.2. PILZE UND IHRE BEDEUTUNG BEI KRITISCH KRANKEN PATIENTEN	17
2.2.1. <i>Kolonisation und Infektionen mit Pilzen</i>	<i>17</i>
2.2.2. <i>Epidemiologische Bedeutung</i>	<i>18</i>
2.2.3. <i>Risikofaktoren und -stratifizierung.....</i>	<i>20</i>
2.2.4. <i>Mykologische Diagnostik</i>	<i>23</i>
2.2.5. <i>β-Glucane.....</i>	<i>32</i>
3. ZIELE DER ARBEIT	41
4. MATERIAL UND METHODEN	42
4.1. PLANUNG UND DURCHFÜHRUNG DER STUDIE.....	42
4.1.1. <i>Studiendesign</i>	<i>42</i>
4.1.2. <i>Ein- und Ausschlusskriterien.....</i>	<i>42</i>
4.1.3. <i>Studiendurchführung.....</i>	<i>44</i>
4.1.4. <i>Patientendatenerhebung.....</i>	<i>45</i>
4.2. ETHISCHE UND RECHTLICHE VORAUSSETZUNGEN	48
4.3. (1-3)-B-D-GLUCAN-MESSUNGEN	48
4.4. STATISTISCHE AUSWERTUNG	50
5. ERGEBNISSE	53
5.1. POPULATION	53
5.1.1. <i>Screening und Einschluss.....</i>	<i>53</i>
5.1.1. <i>Probenanzahl</i>	<i>54</i>
5.2. KARDIOCHIRURGISCHE PATIENTEN VERSUS SEPSIS-PATIENTEN.....	54
5.2.1. <i>Demografie und Baseline-Charakteristik bei kardiochirurgischen und Sepsis-Patienten</i>	<i>54</i>
5.2.2. <i>Infektionsdaten beider Patientengruppen.....</i>	<i>56</i>
5.2.3. <i>Risikofaktoren und Candida-Score beider Patientengruppen.....</i>	<i>59</i>

5.2.4.	<i>Demografie bei Sepsis-Patienten mit und ohne IFI</i>	61
5.2.5.	<i>Invasive Candida-Infektionen bei Sepsis-Patienten</i>	64
5.2.6.	<i>BDG-Verlauf kardiochirurgischer und Sepsis-Patienten</i>	66
5.2.7.	<i>Einflussfaktoren auf die BDG-Werte</i>	71
5.2.8.	<i>SOFA-Score</i>	74
5.3.	KINETISCHE UNTERSUCHUNGEN	78
5.3.1.	<i>Kalkulation der terminalen Halbwertszeit</i>	78
5.3.2.	<i>Kalkulation der AUC aller Patienten</i>	79
5.4.	PROGNOSTISCHE KAPAZITÄT	80
5.4.1.	<i>Gruppen Überlebende und Verstorbene</i>	80
5.5.	DIAGNOSTISCHER STELLENWERT	82
5.5.1.	<i>Sensitivität und Spezifität bei Sepsis-Patienten</i>	82
6.	DISKUSSION	85
6.1.	ZUSAMMENFASSUNG UND DISKUSSION WESENTLICHER ERGEBNISSE	85
6.1.1.	<i>BDG bei Patienten mit schwerer Sepsis</i>	85
6.1.2.	<i>BDG bei Patienten nach kardiochirurgischer Operation</i>	86
6.1.3.	<i>SOFA-Score</i>	87
6.1.4.	<i>Kinetische Untersuchung</i>	88
6.1.5.	<i>Prognostische Kapazität</i>	89
6.1.6.	<i>Diagnostischer Stellenwert</i>	89
6.2.	STÄRKEN UND SCHWÄCHEN DER STUDIE	92
6.3.	MÖGLICHER STELLENWERT VON BDG IN DER KLINISCHEN PRAXIS	94
7.	SCHLUSSFOLGERUNG	96
8.	LITERATUR- UND QUELLENVERZEICHNIS	97
ANHANG		110
I.	SOFA-SCORE	110
II.	DANKSAGUNG	111
III.	EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG	113

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ACCP	American College of Chest Physicians
AML	Akute myeloische Leukämie
APACHE	Acute Physiology And Chronic Health Evaluation
Asp.	Aspergillus
AUC	Area under the curve
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BE	Blutentnahme
BDG	(1-3)- β -D-Glucan
BMI	Body-Mass-Index
bzw.	Beziehungsweise
C	Konzentration
Cand.	Candida
CCI	Corrected colonisation index
CI	Colonisation index
CI	Confidence interval
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease
CS	Candida Score
d	Tage
DHS	Dermatophyten, Hefen, Schimmelpilze
DNA	Deoxyribonucleic acid
DNR	Do not resuscitate
DRG	Diagnosis-Related Groups
EDV	Elektronische Datenverarbeitung
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EORTC/MSG	European Organization of the Research and Treatment of Cancer / Mycoses Study Group
et al.	et alia
FUP	Follow up
GCP	Good clinical practice
h	Stunden
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HLM	Herz-Lungen-Maschine

IA	Invasive Aspergillose
IAI	Intraabdominelle Infektion
IBM	International Business Machines
IFI	Invasive fungale Infektion
IQR	Interquartile range
ITS	Intensivtherapiestation
KBE	Koloniebildende Einheit
KH	Krankenhaus
KOH	Kaliumhydroxid
LAL	Limulus amebocyte lysate
ln	Natürlicher Logarithmus
MALDI-TOF MS	Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry
MAP	Mean arterial pressure
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
Med	Median
Min	Minuten
mind.	mindestens
MSG	Mycoses Study Group
MW	Mittelwert
n	Anzahl
nd	Not done
NPV	Negative predictive value
OP	Operation
OPCAB	Off-pump-coronary-artery-bypass
PAMPs	Pathogen associated molecular patterns
PCR	Polymerase chain reaction
PCT	Procalcitonin
PIRO	Predisposition, infection, response, organ dysfunction
PNA FISH	Peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridization
PPV	Positive predictive value
RES	Retikuloendotheliales System
ROC	Receiver operating characteristic
SAPS	Simplified Acute Physiology Score

SCCM	Society of Critical Care Medicine
SD	Standard deviation
SIRS	Systemic inflammatory response syndrome
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment
spp.	Subspezies
SPSS	Statistical program for social science
ST	Studientag
TTP	Time to positivity
ULN	Upper limit of normal
vs.	Versus
z. B.	Zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem
ZVK	Zentralvenöser Katheter

1. Zusammenfassung

Hintergrund: Invasive fungale Infektionen (IFI) gewinnen bei der Behandlung multimorbider Patienten auf der Intensivstation zunehmend an Bedeutung. Epidemiologische Studien deuten auf einen Anstieg der Inzidenz dieser Infektionen hin. Nach wie vor ist die Diagnostik solcher Infektionen schwierig. Kulturelle Verfahren sind zeitaufwendig und gehen mit einer niedrigen Sensitivität einher. Wichtig ist aber eine frühzeitige Diagnose zur Einleitung einer prompten und adäquaten antifungalen Therapie, um die Mortalitätsrate zu senken. Deshalb wurden nicht-kulturelle Verfahren entwickelt, die jedoch bisher als alleiniges Diagnostikum noch nicht Einzug in die Praxis gehalten haben.

Fragestellung: Diese Arbeit untersucht prospektiv und monozentrisch den Stellenwert von (1-3)- β -D-Glucan (BDG) für den Nachweis einer invasiven Pilzinfektion und stellt Assoziationen mit dem Schweregrad der Organdysfunktion bei kritisch kranken Patienten mit und ohne Sepsis her.

Methode Im Zeitraum von Januar 2005 bis September 2008 wurden dafür Blutproben von 61 Patienten nach kardiochirurgischer Operation und von 57 Patienten mit schwerer Sepsis oder septischem Schock kontinuierlich über sieben Tage und dann wöchentlich bis Tag 28 untersucht. Die Bestimmung der BDG-Konzentration im Serum erfolgte kolorimetrisch mit dem MARUHA®-Testkit der Firma WAKO (WAKO Pure Chemical Industries Co. Ltd. Osaka). Die Ergebnisse wurden durch Vergleich mit dem Goldstandard zur Diagnostik einer IFI, dem kulturellen Candida-Nachweis in der Blutkultur oder primär sterilen Materialien, bewertet.

Ergebnisse und Schlussfolgerung Die Analyse der Seren ergab, dass bei Patienten mit Sepsis die BDG-Werte in der ersten Woche um den vom Hersteller angegebenen Cut-Off-Wert von 11 pg/ml für eine invasive fungale Infektion lagen, während Patienten nach kardiochirurgischer Operation über fünf Tage signifikant höhere BDG-Werte aufwiesen als die Vergleichsgruppe. Am ersten Studientag war ihr BDG-Wert im Median zehnfach höher als der von Sepsis-Patienten. In der Gruppe der kardiochirurgischen Patienten lagen jedoch keine invasiven fungalen Infektionen vor, während bei neun Patienten in der Gruppe mit schwerer Sepsis/

septischen Schock eine invasive fungale Infektion nachweisbar war. Sensitivität und Spezifität von BDG für den Nachweis einer IFI betragen in dieser Gruppe zum Einschlusszeitpunkt 66 % bzw. 52 %, am Tag der maximalen Infektion (Tag des höchsten BDG-Wertes) 77 % bzw. 33 % bei ähnlichen positiven und negativen prädiktiven Werten (24 % bzw. 90 %). Folglich schließt ein negativer BDG-Wert eine IFI nahezu aus. Die BDG-Spiegel über 28 Tage zeigten weder die Schwere der Infektion noch das Outcome an. Sowohl der Gesamt-SOFA-Score als auch die Subscores korrelierten nur sehr schwach mit den BDG-Spiegeln (Korrelationskoeffizient 0,22). Erklärbar könnte dieses Ergebnis dadurch sein, dass der SOFA-Score keine IFI-relevanten Parameter enthält. BDG-Werte von überlebenden und verstorbenen Patienten waren nicht signifikant unterschiedlich. Eine vorsichtige Interpretation des BDG-Ergebnisses sollte bei Patienten mit Blutkontakt zu Fremdoberflächen wie HLM erfolgen, da diese zu hohen BDG-Werten führen können, ohne dass eine IFI vorliegt.

2. Einleitung

2.1. Das Krankheitsbild der Sepsis und Definition

2.1.1. Historischer Überblick

Bei dem Begriff Sepsis handelt es sich um einen sehr alten medizinischen Terminus. Der erste schriftliche Nachweis einer Fieberdiagnose datiert etwa 5000 Jahre zurück und stammt von dem chinesischen Kaiser Sheng Nung (Schilke 2005). Auch im antiken Ägypten war das Krankheitsbild bekannt. Auf einem Papyrus, entdeckt durch Edwin Smith 1842 in Luxor, wird über Sepsis in Assoziation mit Wunden berichtet (Botero 2012).

Zweieinhalb Jahrtausende später berichtete Hippokrates von Kos (ca. 460-370 v. Chr.) von einem Fieber, das von einer faulenden Materie ausgelöst wird. So wurde das Wort Sepsis eingeführt, es leitet sich vom griechischen σήπειν („faul machen“, verderben) ab (Geroulanos und Douka 2006). Hippokrates erkannte den Unterschied zwischen lokaler und generalisierter Entzündung und identifizierte Fieber als ein Hauptmerkmal der generalisierten Entzündung (Botero 2012). Auch Ibn Sina (979-1037) beobachtete, dass die Fäulnis des Blutes (Septikämie) mit Fieber einhergeht (Kreymann und Wolf 1996).

Pathophysiologisch postulierte der Leydener Arzt Herman Boerhaave (1668-1738), dass die Sepsis durch schädliche Substanzen aus der Luft verursacht würde (Kreymann und Wolf 1996). Der Chemiker Justus von Liebig (1803-1873) entwickelte diese Theorie am Anfang des 19. Jahrhunderts weiter, indem er den Kontakt von Sauerstoff mit der Wunde für die Entwicklung einer Sepsis verantwortlich machte (Oakes 2007).

Der Begründer der Antisepsis war Ignaz Semmelweis (1818-1865), der als „Retter der Mütter“ in die Geschichte der Medizin eingegangen ist. Ihm gelang es, durch Einführung einer Händewaschung mit einer Chlorkalklösung vor der gynäkologischen Untersuchung der Wöchnerinnen die Sterblichkeit von 18 % auf 2,5 % zu senken (Semmelweis 1861). Robert Koch (1843-1910) und Louis Pasteur (1822-1895)

etablierten die moderne Mikrobiologie, aus der sich die Endotoxinforschung entwickelte.

Dem britischen Chirurgen Joseph Lister (1827-1912) gelang es, die Beobachtungen von Semmelweis und die Entdeckungen von Pasteur mit den Todesfällen in seiner Klinik in Verbindung zu bringen. Er untersuchte die Auswirkungen von Haut- und Gerätedesinfektion mit Karbolsäure (sog. antiseptische Verfahren), die er an Tieren und danach am Menschen testete (Strecker 2014).

Der Internist Hermann Lenhartz (1854-1910) setzte in Deutschland den Verständniswechsel von Sepsis als Fäulnis zu einer bakteriellen Erkrankung durch (Lenhartz 1903). Sein Schüler Hugo Schottmüller (1867-1936) legte 1914 den Grundstein für eine moderne Sepsisdefinition (Schottmüller 1914).

In der Gegenwart wurde der gestiegenen klinischen Bedeutung der Sepsiserkrankung 2005 durch die Erarbeitung der ersten Sepsisleitlinie Rechnung getragen. Diese wurde 2010 revidiert und Aspekte der Diagnostik und Therapie sowie Präventions- und Nachsorgemaßnahmen berücksichtigt. 2016 wurde die Leitlinie der *Surviving Sepsis Campaign* durch ein Konsensuskomitee von 55 internationalen Experten aktualisiert (Rhodes *et al.* 2017).

2.1.2. Definition, Diagnosekriterien und Einteilung

Die Begriffsbestimmung der Sepsis hat im zeitlichen Verlauf Variationen erfahren.

Anfang des letzten Jahrhunderts hat der Chirurg Hugo Schottmüller eine infektiologisch-klinische Definition der Sepsis vorgenommen: „Eine Sepsis liegt dann vor, wenn sich innerhalb des Körpers ein Herd gebildet hat, von dem konstant oder periodisch pathogene Bakterien in den Blutkreislauf gelangen, und zwar derart, dass durch diese Invasion subjektive und objektive Krankheitserscheinungen ausgelöst werden.“ (Schottmüller 1914).

Diese klassische Definition mit dem strengen Postulat des Sepsisherdes und der von dort ausgehenden hämatogenen Streuung sowie des Bakteriennachweises ist verlassen worden. Eine Bakteriämie fand sich in klinischen Studien, in denen die Abnahme von Blutkulturen im Protokoll vorgeschrieben waren, nur bei etwa 30 % der Patienten mit schwerer Sepsis/ septischem Schock (Bates *et al.* 1990, Bates *et al.*

1997, Martin *et al.* 2003, Crowe *et al.* 1998). Im klinischen Alltag beträgt diese Rate sogar oft nur 10 % (Engel *et al.* 2007). Gegenwärtig wird die Sepsis als eine komplexe systemische inflammatorische Reaktion des Organismus auf eine Infektion durch Bakterien, deren Toxine oder Pilze angesehen. Eine moderne Definition lautet: „Sepsis ist die Gesamtheit der lebensbedrohlichen klinischen Krankheitserscheinungen und pathophysiologischen Veränderungen als Reaktion auf die Aktion pathogener Keime und ihrer Produkte, die aus einem Infektionsherd in den Blutstrom eindringen, die großen biologischen Kaskadensysteme und spezielle Zellsysteme aktivieren und die Bildung und Freisetzung humoraler und zellulärer Mediatoren auslösen“ (Schuster und Müller-Werdan 2005).

Die Definition der Sepsis inklusive der klinischen Kriterien (Tabelle 1) wurde erstmals in der Konsensuskonferenz des *American College of Chest Physicians* (ACCP) und der *Society of Critical Care Medicine* (SCCM) 1991 entwickelt (Bone *et al.* 1992).

Tabelle 1: Definition der Sepsis und klinischer Kriterien nach den ACCP/SCCM-Kriterien

Begriff	Definition
Sepsis	<p>Eine systemische Reaktion auf eine Infektion, die durch zwei oder mehr der folgenden Symptome gekennzeichnet ist</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Hypo- (≤ 36 °C) oder Hyperthermie (≥ 38 °C) ▪ Tachykardie (≥ 90 /min) ▪ Tachypnoe (≥ 20 /min) und/oder arterieller $pCO_2 \leq 4,3$ kPa (32 mmHg) und/oder maschinelle Beatmung ▪ Leukozytose (≥ 12.000 /μl) oder Leukopenie (≤ 4.000 /μl) und/oder unreife neutrophile Granulozyten ≥ 10 %
Schwere Sepsis	<p>Sepsis, assoziiert mit Organdysfunktion, Minderperfusion oder Hypotonie. Die Hypoperfusion kann sich z. B. als Hypoxämie, Oligurie, Laktatazidose oder akute Verwirrtheit präsentieren.</p>
Septischer Schock	<p>Schwere Sepsis und arterielle Hypotension trotz adäquater Flüssigkeitszufuhr</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Systolischer Druck ≤ 90 mmHg, ▪ Mittlerer arterieller Druck ≤ 60 mmHg oder ▪ Abfall des systolischen Drucks > 40 mmHg des Ausgangswertes

Abzugrenzen vom Begriff der Sepsis ist der des SIRS (*Systemic inflammatory response syndrome*). Unter SIRS versteht man eine unspezifische inflammatorische Abwehrreaktion des Organismus ohne Infektion. Ursachen für ein SIRS können immunologische oder chemische Gründe sein (z. B. akute Pankreatitis), aber auch Schockzustände, Verbrennungen, große Operationen (vor allem Operationen mit extrakorporalem Kreislauf), schwere Traumata oder Gewebeschäden bei Durchblutungsstörungen.

2001 wurde versucht, die Grenzen dieser zwar sehr sensitiven, aber nicht sehr spezifischen Definition zu beheben. Man erweiterte die Liste diagnostischer Kriterien im PIRO-Ansatz (*predisposition, infection, response, organ dysfunction*) um klinische Symptome und Biomarker (Levy *et al.* 2003). Alternativen konnten aufgrund mangelnder Evidenz nicht angeboten werden.

2016 wurde die von einem internationalen Expertengremium nach neuen pathophysiologischen Erkenntnissen erarbeitete „Sepsis-3“ – Definition vorgestellt. Sie definiert Sepsis als „lebensbedrohliche Organdysfunktion aufgrund einer fehlregulierten Körperantwort auf eine Infektion“ (Singer *et al.* 2016) und verzichtet auf die Entität „SIRS“ als Kriterium. Der septische Schock wird als besonders schwere Störung der Zirkulation und des Stoffwechsels definiert. Der Terminus „schwere Sepsis“ wurde durch den Begriff Sepsis ersetzt (Tabelle 2).

Tabelle 2: Sepsis-3-Definition

Begriff	Definition
Sepsis	Lebensbedrohliche Organdysfunktion aufgrund einer dysregulierten Wirtsantwort auf eine Infektion <ul style="list-style-type: none"> ▪ Organdysfunktion: akute Veränderung im SOFA-Score ≥ 2 Punkte
Septischer Schock	Untergruppe der Sepsis, bei der die Kreislaufreaktion und die zellulären sowie die metabolischen Veränderungen so tiefgreifend sind, dass das Sterberisiko deutlich erhöht ist. <ul style="list-style-type: none"> ▪ Notwendigkeit von Vasopressoren, um einen MAP von 65 mmHg zu erreichen, ▪ Laktat von 2 mmol/l (18 mg/dl) trotz Ausgleich eines Volumendefizits

MAP: mittlerer arterieller Druck; SOFA-Score: Sequential Organ Failure Assessment-Score

2.1.3. Epidemiologische Bedeutung

Sepsis ist ungeachtet aller Fortschritte bei Impfungen, antiinfektiver Therapie und intensivmedizinischen Verfahren die Haupttodesursache bei Infektionskrankheiten.

Die Prävalenz der schweren Sepsis und des septischen Schocks bei erwachsenen Intensivpatienten wird in der Literatur zwischen 11 % (Engel et al. 2007, SepNet Critical Care Trials 2016) und 17 % (Ponce de Leon-Rosales *et al.* 2000) angegeben. In einem systematischen Review von 20 Studien wurde geschätzt, dass global 31,5 Millionen Fälle einer Sepsis und 19,4 Millionen Fälle einer schweren Sepsis pro Jahr im Krankenhaus behandelt werden (Fleischmann *et al.* 2016b). Ein Drittel bis die Hälfte aller Patienten stirbt an einer Sepsis (Angus *et al.* 2001, Alberti *et al.* 2002).

Die Inzidenzrate der schweren Sepsis liegt weltweit zwischen 25 Fällen pro 100.000 Einwohner und Jahr (Blanco *et al.* 2008) und 300 Fällen pro 100.000 Einwohner und Jahr (Angus *et al.* 2001). Nach aktuellen Zahlen des *National Center for Health Statistics* stieg die Inzidenz der Sepsis in den USA jährlich um sieben bis acht Prozent von 221/100.000 Einwohner im Jahr 2000 auf 377/100.000 Einwohner im Jahr 2008 an (Hall *et al.* 2011). Abbildung 1, adaptiert von (Moerer und Quintel 2009), zeigt die Inzidenzrate und die Krankenhausmortalität der schweren Sepsis verschiedener Länder. Aufgeführt sind Studien seit 1995, die Angaben zur Inzidenz machten.

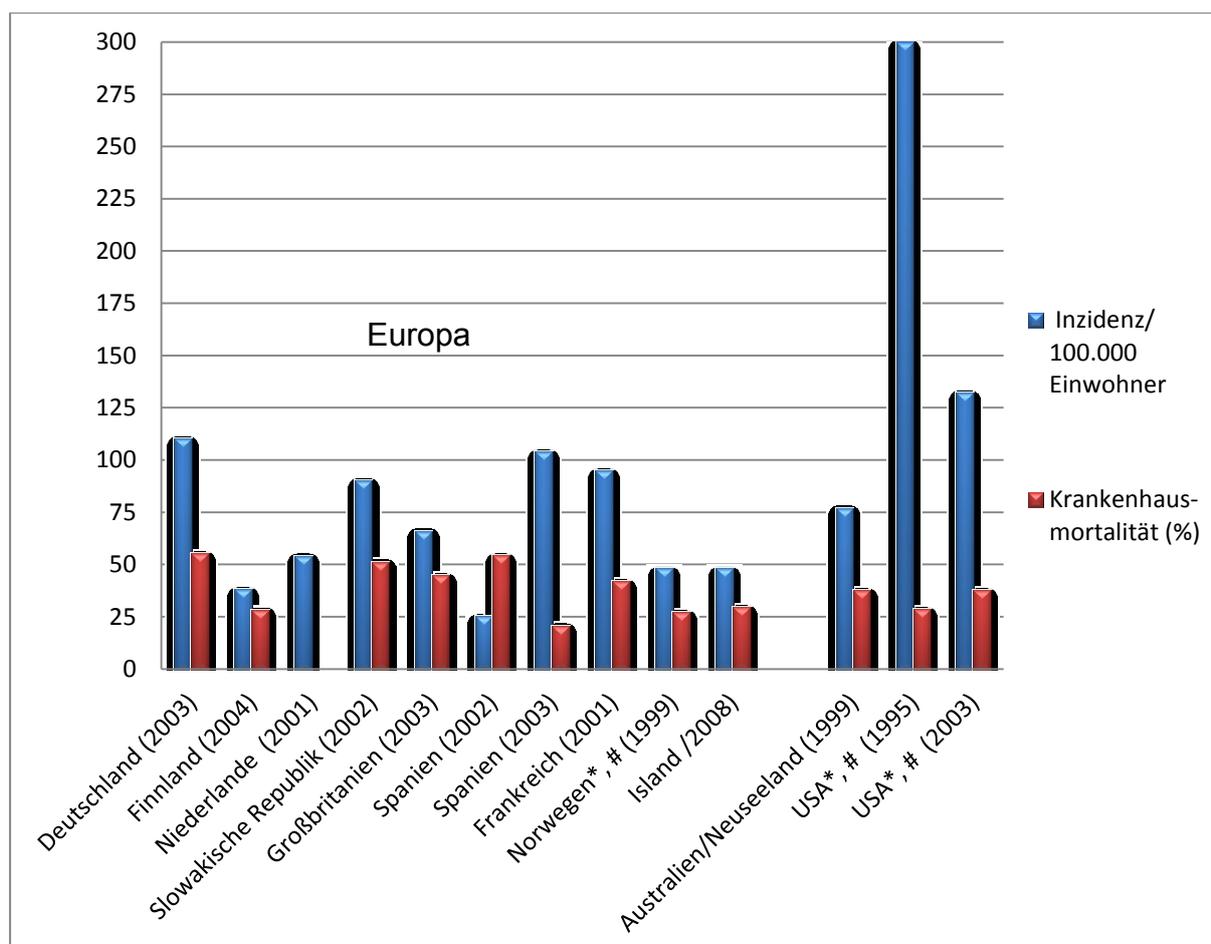


Abbildung 1: Inzidenzrate und Mortalität der schweren Sepsis in Studien der letzten 15 Jahre. In den Niederlanden wurden keine Angaben zur Mortalität gemacht. (*): retrospektive Untersuchungen, (#): Erfassung anhand von ICD-9-CM und ICD-10

Europäische Untersuchungen zeigten überwiegend niedrigere Inzidenzraten, die länderabhängig zwischen 25 und 110 Fällen pro 100.000 Einwohner lagen. Die Schwankungsbreite erklärte sich zum Teil durch Unterschiede im Studiendesign (z. B. prospektiv oder retrospektiv), der zugrundeliegenden Populationen und der Datenerfassung (direkte Erhebung oder Ermittlung aus Routedaten).

Betrachtet man die Haupttodesursachen von 2010 (Bundesamt 2010) und fügt die Ergebnisse der SepNet-Prävalenz-Studie mit 60.000 Todesfällen pro Jahr ein (Engel *et al.* 2007), nimmt die Sepsis/ schwere Sepsis/ septischer Schock den zweiten Platz nach der chronisch ischämischen Herzkrankheit, aber vor dem akuten Myokardinfarkt ein. Eine Analyse deutschlandweiter, DRG-bezogener Krankenhausstatistik-Daten zur Diagnose Sepsis (R65.0), schwerer Sepsis (R65.1) und septischem Schock (R57.2) von 2007 bis 2013 ergab eine sinkende Krankenhausletalität bei Patienten mit Sepsis um 2,7 Prozentpunkte auf 24,3 % und

bei Patienten mit schwerer Sepsis von 49,5 % auf 43,6 % (Fleischmann *et al.* 2016a). Auch andere Arbeiten bestätigten eine Abnahme der Letalität (Martin *et al.* 2003, Brun-Buisson *et al.* 2004, Dombrovskiy *et al.* 2007).

2.2. Pilze und ihre Bedeutung bei kritisch kranken Patienten

2.2.1. Kolonisation und Infektionen mit Pilzen

Bisher sind erst etwa 80.000 von geschätzten 1,5 Millionen Pilzarten bekannt. 150 bis 400 Arten sind humanpathogene Erreger (Hawksworth 1991, Blackwell 2011). In der Medizin wird eine Einteilung der Pilze entsprechend dem DHS-System (Dermatophyten, Hefen und Schimmelpilze) nach klinisch-therapeutischen Aspekten vorgenommen.

Die meisten Hefe- (*Candida*-Spezies, *Cryptococcus*) und Schimmelpilze (*Aspergillus*-, *Zygomyceten*, *Fusarium*-, *Scedosporium*- und *Alternaria*-Spezies) haben ihr natürliches Reservoir in der Umwelt und besiedeln Menschen oder Säugetiere nicht. Die Gattung *Candida* gilt als fakultativ pathogener Erreger. Von den 150 bis 200 bekannten *Candida*-Arten hat lediglich die Spezies *Cand. albicans* ihren (bevorzugten) primären Standort beim Menschen und bei warmblütigen Tieren (Blaschke-Hellmessen 1999). Diese Art ist für 70 bis 90 Prozent aller systemischen Pilzinfektionen beim Menschen verantwortlich (Delaloye und Calandra 2014). In der Umwelt kommt diese Art nur sporadisch vor. *Cand. albicans* ist ein opportunistischer Keim der nasopharyngealen, urogenitalen und intestinalen Schleimhaut, der im Allgemeinen ohne pathogene Wirksamkeit bleibt. Schätzungen gehen davon aus, dass etwa 75 % der Menschen diesen Keim tragen.

Andere Spezies wie *Cand. glabrata*, *Cand. tropicalis*, *Cand. parapsilosis* und *Cand. krusei* findet man hauptsächlich auf Früchten, Lebensmitteln, im Boden, Streu, Schlamm, Süßwasser und der Luft (BGVV 2001, Blaschke-Hellmessen 1999). Daneben treten sie auch auf Insekten und technischen Anlagen auf.

Infektionen aufgrund pathogener Pilze reichen von einer milden Irritation der Schleimhaut bis hin zu schweren, invasiven Infektionen. Eine Herabsetzung der Wirtsabwehr und Störungen der Haut-/ Schleimhautbarriere begünstigen die

Entwicklung einer invasiven Pilzinfektion (Ruhnke 2004). Mit einer invasiven fungalen Infektion (IFI) beschreiben Kliniker eine schwere, systemische, generalisierte, tief sitzende Infektion mit Hefe- oder Schimmelpilzen (De Pauw *et al.* 2008, Badiee *et al.* 2009) – eigentlich eine Fehlbezeichnung, da nicht-invasive fungale Infektionen nicht existieren (Hof 2010). Candidiasis, Candidosis, Candidamycolosis werden synonym für die Bezeichnung einer Candidainfektion verwendet. Als tief sitzende Infektionen werden Gewebeinfektionen bezeichnet, die nicht auf die Schleimhaut beschränkt sind.

Invasive Candida-Infektionen umfassen drei Entitäten (Clancy und Nguyen 2013):

1. Candidämie in Abwesenheit einer tief sitzenden Candidiasis
2. Candidämie assoziiert mit einer tief sitzenden Candidiasis
3. Tief sitzende Candidiasis ohne Assoziation zur Candidämie

Etwa 1/3 der Patienten mit invasiver Candida-Infektion fällt in jede Gruppe (Leroy *et al.* 2009).

Bisher sind drei Übertragungswege für Pilzinfektionen bekannt. Sehr selten findet eine Übertragung von Mensch zu Mensch statt (z. B. *Trichophyton* und *Cand. parapsilosis*). Die Übertragung aus der Umwelt über die Inhalation kann bei *Aspergillus fumigatus*, *Zygomycosis*, *Cryptococcus*, *Histoplasma* und *Paracoccidioides* auftreten. Am häufigsten tritt die endogene Übertragung bei bestehender Kolonisation von Haut und Schleimhäuten auf (Reagan *et al.* 1990). Als Ausgangspunkt der Infektion gilt zumeist eine Invasion über den Oropharynx, den Darmtrakt bei Störung seiner Barrierefunktion oder entlang (zentral-) venöser Zugänge direkt in die Blutbahn (Lichtenstern *et al.* 2010, Kumamoto 2008). Die invasive fungale Infektion ist oft nosokomial erworben (Asmundsdottir *et al.* 2002).

2.2.2. Epidemiologische Bedeutung

Mittlerweile ist die invasive Candidiasis eine ernste Pilzinfektion bei kritisch kranken Patienten im intensivmedizinischen Umfeld (Pfaller und Diekema 2007, Pfaller und Diekema 2010). Die Inzidenz von systemischen Pilzinfektionen ist seit den 1980er Jahren kontinuierlich angestiegen (Fridkin und Jarvis 1996, Wisplinghoff *et al.* 2004). Hauptgründe sind die ansteigende Zahl an multimorbiden Patienten mit ausgedehnten Operationen und supportiven invasiven Eingriffen (Kratzer *et al.* 2011). Pilze sind in Europa in bis zu 20 % der Fälle an einer im Intensivbereich erworbenen Sepsis beteiligt (Engel *et al.* 2007, Vincent *et al.* 2006). Im Krankenhaus

machen Candidämien bis zu 10 % aller Septikämien (schwere Allgemeininfektion mit nachgewiesenen Bakterien oder Toxinen im Blut) aus und liegen damit an vierter Stelle bezüglich der auslösenden Mikroorganismen (Wisplinghoff *et al.* 2004). Mit 0,31 bis 0,44 Candidämien auf 10.000 Patiententage (Tortorano *et al.* 2006) liegt die Inzidenzrate in Europa niedriger als in den USA (1,5/10.000 Patiententage). Das mittlere Intervall von der Aufnahme des Patienten bis zum Beginn der Candidämie lag bei 22 Tagen (Wisplinghoff *et al.* 2004). Nachgewiesen ist, dass eine invasive Candida-Infektion den Intensiv- und Krankenhausaufenthalt dieser Patienten verlängert (Ostrosky-Zeichner und Pappas 2006, Blot *et al.* 2002, Eggimann *et al.* 2003a, Morgan *et al.* 2005).

Infektionen durch Candida-Spezies treten etwa sieben- bis zehnmal häufiger auf als invasive Aspergillosen (Vincent *et al.* 2009, Tortorano *et al.* 2004, Pfaller und Diekema 2007). *Non-albicans*-Spezies wie *Cand. glabrata* (5-26 %), *Cand. tropicalis* (5-26 %), *Cand. parapsilosis* (4-26 %), *Cand. krusei*, *Cand. lusitaniae* oder *Cand. guilliermondii* folgen mit einer geringeren Häufigkeit (Lichtenstern *et al.* 2010, Eggimann *et al.* 2011). Die relative Erregerhäufigkeit variiert topografisch.

Die Mortalität der Candidämie bei hospitalisierten Patienten wird mit über 40 % angegeben (Zaoutis *et al.* 2005), während die der Bakteriämie bei ca. 30 % liegt (Kett *et al.* 2011). Weltweit sterben mindestens so viele Menschen an den zehn häufigsten invasiven Pilzinfektionen (Tabelle 3) wie an Tuberkulose oder Malaria (Brown *et al.* 2012). Eine Verzögerung in der Einleitung einer antimykotischen Therapie ist einer der Hauptgründe für ein schlechteres klinisches Ergebnis (Dupont *et al.* 2002, Garey *et al.* 2006).

Tabelle 3: Statistik der zehn häufigsten, signifikanten invasiven Pilzinfektionen

Erkrankung (meist gemeinsame Spezies)	Lokalisation	Geschätzte lebensbedrohende Infektionen /Jahr	Mortalitätsraten (% der infizierten Population)
Opportunistische invasive Mykosen			
Aspergillose (<i>Aspergillus fumigatus</i>)	weltweit	> 200.000	30 – 95
Candidiasis (<i>Cand. albicans</i>)	weltweit	> 400.000	46 – 75
Cryptococcosis (<i>Cryptococcus neoformans</i>)	weltweit	> 1.000.000	20 – 70
Mucormycosis (<i>Rhizopus oryzae</i>)	weltweit	> 10.000	30 – 90
Pneumocystis (<i>Pneumocystis jirovecii</i>)	weltweit	> 400.000	20 – 80
Endemische dimorphe Mykosen			
Blastomycosis (<i>Blastomyces dermatitidis</i>)	Mittelwesten und atlantische USA	~ 3.000	< 2 – 68
Coccidioidomycosis (<i>Coccidioides immitis</i>)	Südwestliche USA	~ 25.000	< 1 – 70
Histoplasmosis (<i>Histoplasma capsulatum</i>)	Mittelwesten USA	~ 25.000	28 – 50
Paracoccidioidomycosis (<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>)	Brasilien	~ 4.000	5 – 27
Penicilliosis (<i>Penicillium marneffeii</i>)	Südostasien	> 8.000	2 – 75

2.2.3. Risikofaktoren und -stratifizierung

Von opportunistischen Pilzinfektionen besonders betroffen sind immungeschwächte und schwerkranke Patienten. Bei kritisch kranken Patienten liegen komplexe Veränderungen der Immunfunktion vor, die durch eine Funktionseinschränkung der zellulären Immunität gekennzeichnet sind. Der Aufenthalt auf einer Intensivstation ist ein unabhängiger Risikofaktor für eine nosokomiale *Cand. albicans*- oder *Cand. glabrata*-Infektion, wobei der Blutkreislauf und die Harnwege die beiden häufigsten Lokalisationen einer Candida-Infektion sind (Trick *et al.* 2002). Für den Intensivpatienten sind Infektionen durch Candida- und Aspergillus-Spezies am bedeutsamsten. In Tabelle 4 sind die für eine invasive Candida-Infektion nachgewiesenen prädisponierenden Faktoren (Ruhnke 2004) zusammengefasst.

Tabelle 4: Risikofaktoren für die Entwicklung einer invasiven Candida-Infektion

- Dauer des stationären Aufenthaltes
- Antibiotikatherapie über mehrere Tage
- Zentralvenöse Katheter (z. B. Dialysekatheter, ZVK)
- Parenterale Ernährung (z. B. hochprozentige Glukoselösung, Fettlösungen)
- Hämodialyse
- Abdominalchirurgische Operationen
- Abdominelles Trauma (z. B. mit Perforation im Bereich des Intestinaltraktes)
- Verbrennungen Grad II oder III
- Frühgeborene und Säuglinge
- Diabetes mellitus
- Tumorerkrankungen
- Ausmaß und Dauer einer Neutropenie (neutrophile Granulozyten < 500 / μ l)
- Ausmaß und Dauer einer immunsuppressiven Therapie
- Störungen der T-Zell-vermittelten Immunabwehr (z. B. HIV-Infektion)
- Kolonisation mit Candida
- Frühere systemische Mykose

Bei den meisten Intensivpatienten liegen mehrere Risikofaktoren für eine invasive Candida-Infektion vor, aber nur ein kleiner Teil entwickelt tatsächlich eine Infektion (Kratzer *et al.* 2011). Aus diesem Grund wurden unterschiedliche Candida-Scores entwickelt, mit denen das Risiko für das Vorliegen einer invasiven Candida-Infektion geschätzt werden kann. Zu den wichtigsten Scores zählen folgende (Kratzer *et al.* 2011):

1. Pittet-Index oder Candida-Kolonisationsindex (CI)

$$CI = \frac{\text{Anzahl der mit } \textit{Candida spp.} \text{ kolonisierten Regionen}}{\text{Anzahl der getesteten Körperregionen pro Patient}}$$

- In einer 1994 durchgeführten Kohortenstudie identifizierte ein Kolonisationsindex von $\geq 0,5$ alle infizierten Patienten sechs Tage vor der Infektion; der positive prädiktive Wert (PPV) lag bei 66 %, der negative prädiktive Wert (NPV) bei 100 % (Pittet *et al.* 1994).
- Mehrere Publikationen bei kritisch Kranken konnten zeigen, dass eine Kolonisierung mit *Candida* an mehr als einer Körperregion das

Infektionsrisiko erhöht (Pittet *et al.* 1994, Solomkin 1996, Eggimann *et al.* 2003b, Playford *et al.* 2009).

- Eine höhere Aussagekraft hat die semiquantitative Bestimmung der Kolonisation: korrigierter Kolonisationsindex CCI (Pittet *et al.* 1994).

$$CCI = CI \times \frac{\text{Anzahl unterschiedlicher Körperregionen mit starkem Wachstum von } Candida \text{ spp.}^*}{\text{Anzahl der Körperregion pro Patient, die mit } Candida \text{ kolonisiert sind}}$$

* starkes Wachstum ist definiert mit $> 10^5$ KBE/ml

- Wenn ein Candida-Nachweis in nur zwei Körperregionen (Urin oder Stuhl) vorlag, wurde jedoch kein erhöhtes Risiko für eine Candidämie beobachtet (Blumberg *et al.* 2001). Patienten mit fehlender Kolonisation haben ein geringes Risiko für eine invasive Candidiasis.

2. Candida-Score nach Leon (CS)

- Der risikobasierte Score wurde in einer prospektiven Kohorte entwickelt.

Multifokale Candida-Kolonisierung	= 1 Punkt
Parenterale Ernährung	= 1 Punkt
Operation	= 1 Punkt
Schwere Sepsis	= 2 Punkt

- Bei einem Cut-Off-Wert von 2,5 wurden Patienten mit bestehender oder zukünftiger invasiver Candida-Infektion mit einer Sensitivität von 81 % und einer Spezifität von 74 % identifiziert (Leon *et al.* 2006).
- In einer Folgestudie validierte Leon die Wertigkeit des Scores im Vergleich zum Kolonisationsindex. Dabei war ein Candida-Score ≥ 3 einem Kolonisationsindex $\geq 0,5$ in allen Parametern (Fläche unter der ROC-Kurve, Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV) zur frühen Diagnose einer invasiven Candida-Infektion überlegen (Leon *et al.* 2009).

3. klinischer Score von Ostrosky-Zeichner und Pappas

- Anhand einer retrospektiven Multizenterstudie wurden Major- und Minorkriterien evaluiert, um Patienten mit hohem Risiko für eine invasive

Candidiasis zu identifizieren.

- Intensivaufenthalt von zumindest vier Tagen
- Antibiotikatherapie oder Vorliegen eines ZVK
- Vorhandensein von mindestens zwei der folgenden Minor-Kriterien:
 - parenterale Ernährung
 - Dialyse
 - große Operation
 - Pankreatitis
 - Kortikosteroide
 - Immunsuppressiva

- Bei niedriger Spezifität (34 %) und hoher Sensitivität (90 %) erreichte der Score einen negativen prädiktiven Wert von 97 %, so dass eine Candida-Infektion mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden kann, wenn keine zwei Major- und keine zwei Minorkriterien nachweisbar sind (Ostrosky-Zeichner *et al.* 2007).

4. klinischer Score von Michalopoulos für herzthoraxchirurgische Intensivpatienten

- Die Autoren entwickelten ein Set leicht ermittelbarer Prädiktoren für das Auftreten einer Candidämie bei herzthoraxchirurgischen Intensivpatienten (Sensitivität 57,9 %; Spezifität 100 %, PPV 100 %, NPV 99,6 %).

- Invasive mechanische Beatmung von mind. 10 Tagen
- Nosokomiale bakterielle Infektion
- Zeit an der Herz-Lungen-Maschine über 120 min
- Vorliegen eines Diabetes mellitus

- Es wurde eine Empfehlung zur prophylaktischen antifungalen Therapie bei Vorliegen aller Risikofaktoren gegeben (Michalopoulos *et al.* 2003).

2.2.4. Mykologische Diagnostik

Den Empfehlungen der S1 Leitlinie (082-005) folgend, basiert die Diagnose einer systemischen Candidainfektion auf der kulturellen Anzucht aus physiologisch sterilen Körperflüssigkeiten oder Gewebe, alternativ auf dem histo- oder zytopathologischen

Nachweis im geschädigtem Gewebe bzw. in sterilen Materialien (Groll 2011, De Pauw *et al.* 2008). Es ist jedoch oft problematisch, Proben für histopathologische Untersuchungen oder das erfolgreiche Anlegen von Kulturen zu erhalten, um damit eine frühzeitige und eindeutige Diagnose bei schwerkranken Patienten zu stellen. Häufig wird die Diagnose der Infektion zu spät bzw. erst *post mortem* erhoben. Schnelle diagnostische Verfahren sowie Strategien für eine Risikoabschätzung stehen insbesondere wegen des angestrebten frühen Therapiebeginns (Garey *et al.* 2006) im Blickpunkt. Deshalb wurden serologische und molekulare Techniken entwickelt.

Abbildung 2 gibt einen Überblick über Methoden mykologischer Diagnostik (Alexander und Pfaller 2006, Groll 2011, Kozel und Wickes 2014). In Tabelle 5 folgen Angaben zu den statistischen Gütekriterien der Verfahren.

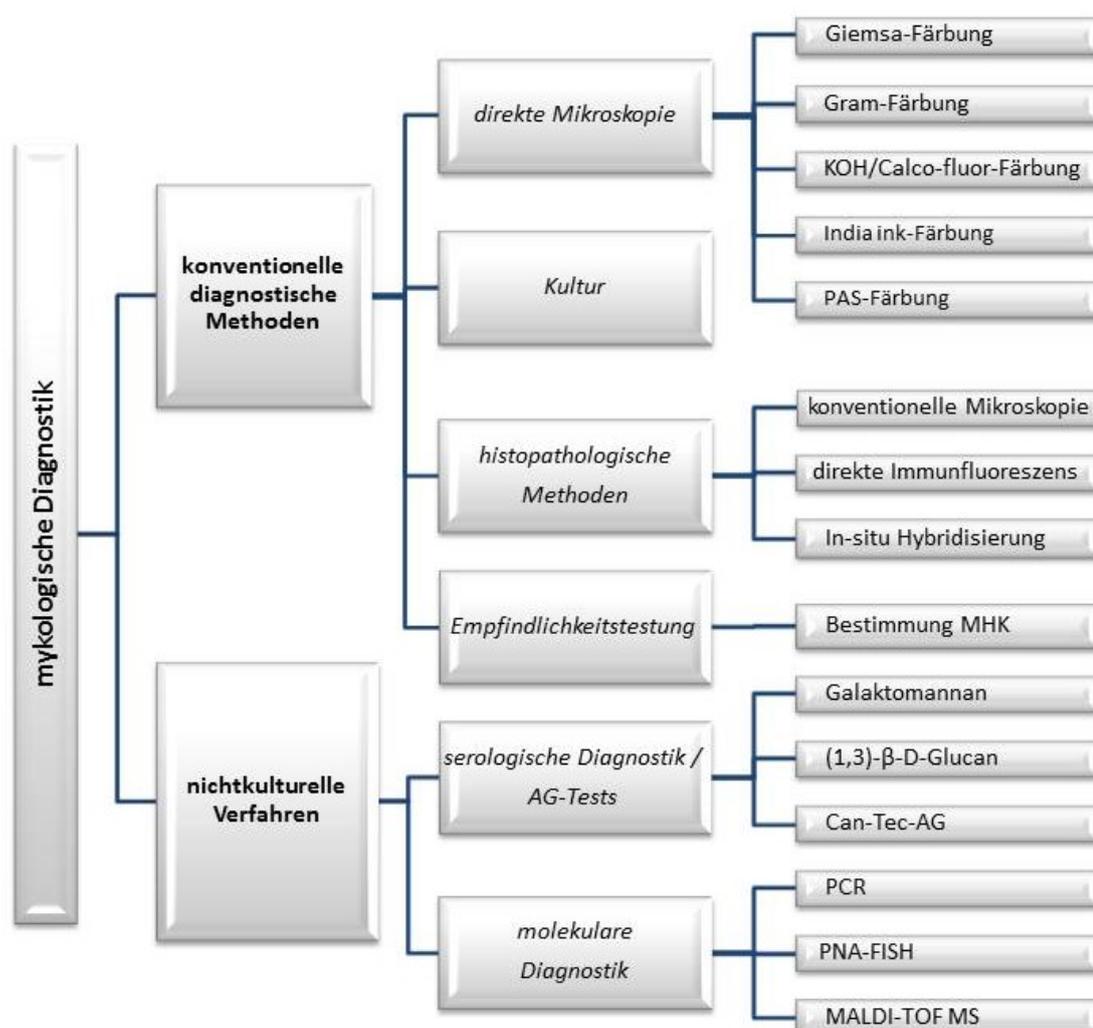


Abbildung 2: Mykologische Diagnostik. Prinzipiell wird zwischen kulturellen und nichtkulturellen Verfahren unterschieden. Abbildung erstellt in Anlehnung an (Alexander und Pfaller 2006, Groll 2011, Kozel und Wickes 2014).

Tabelle 5: Wertigkeit verschiedener mykologischer diagnostischer Methoden

Verfahren	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	Quelle	gepoolte Sensitivität (%)	gepoolte Spezifität (%)	Quelle
direkte Mikroskopie	25-100		(Aslanzadeh 1991), (Renshaw 1994)			
Kultur	21-71	80-100	(Clancy und Nguyen 2013)			
In-situ-Hybridisierung	85	100	(Hayden <i>et al.</i> 2003)			
Galaktomannan	33-100	50-100		87	89	(Zou <i>et al.</i> 2012)
BDG	57-97	56-93	Siehe Tabelle 8	77	85	(Karageorgopoulos <i>et al.</i> 2011)
Can Tec	30-70	29-98	(Groll 2011)	58	93	(Mikulska <i>et al.</i> 2010)
PCR	75-100	65-75	(Hebart <i>et al.</i> 2000), (Lass-Florl <i>et al.</i> 2001), (Jordanides <i>et al.</i> 2005)	95	92	(Avni <i>et al.</i> 2011)
PNA-FISH	94-100	100	(Rigby <i>et al.</i> 2002), (Wilson <i>et al.</i> 2005), (Shepard <i>et al.</i> 2008), (Hall <i>et al.</i> 2012)			
MALDI-TOF MS	85-96	100	(van Veen <i>et al.</i> 2010), (Spanu <i>et al.</i> 2012)			

2.2.4.1. Konventionelle mikrobiologische Methoden

Werden in der **direkten Mikroskopie** aus einem primär sterilen Material Pilze nachgewiesen, spricht dies eindeutig für eine Pilzinfektion. Ein negatives Ergebnis kann eine Infektion jedoch nicht ausschließen (Alexander und Pfaller 2006, Merz und Roberts 2003). Es ist wahrscheinlich die schnellste und eine kosteneffektive Methode zur Diagnose einer Pilzinfektion. Sie kann oft eine ätiologische Diagnose in weniger als einer Stunde liefern, erlaubt aber keine Identifikation des Erregers und keine Resistenzbestimmung. Die Sensitivität variiert mit dem individuellen Agens, der Herkunft und der Qualität der Probe sowie den Kenntnissen und der Erfahrung des Laboranten (Kozel und Wickes 2014).

Der Nachweis von Pilzen durch **Anzucht auf Nährmedien** ist deutlich aufwendiger und langwieriger, da die Pilze im Vergleich zu den Bakterien einen langsameren Zellzyklus haben. Blutkulturen bleiben die Gold-Standard-Methode zur Diagnose einer fungalen Blutstrominfektion (Murray PR 1999, Groll 2011). In automatischen Blutkultursystemen wird kontinuierlich das Wachstum der Erreger überwacht und kolorimetrisch CO₂ detektiert. Ben-Ami *et al.* postulierten bei nicht neutropenen Intensivpatienten, dass die Dauer bis zum positiven Nachweis (TTP, *time to positivity*) wichtig ist, da eine TTP von kleiner als 30 h für eine Katheterinfektion spricht (Sensitivität 100 %, Spezifität 51,4 %), während eine Candida-TTP von über 30 h eher auf eine invasive Candidose hinweist (Ben-Ami *et al.* 2008).

In aktuellen Studien konnten nur in 50 bis 70 % der Blutkulturen ein Candida-Wachstum bei Patienten mit invasiver Candidiasis nachgewiesen werden (Berenguer *et al.* 1993, Fuller *et al.* 2001, Clancy und Nguyen 2013). Fernandez *et al.* berichteten über eine durchschnittliche Detektionszeit für *Cand. albicans* von 35,3 ± 18,1 h, für *Cand. glabrata* von 80,0 ± 22,4 h. Bis zum endgültigen Ergebnis vergingen für *Cand. albicans* 85,8 ± 30,9 h, bei *Cand. glabrata* betrug die finale Identifikationszeit sogar 154 ± 43,8 h (Fernandez *et al.* 2009). *Cand. glabrata* scheint sich besser im anaeroben Medium nachweisen zu lassen (Groll 2011). Die Sensitivität der Blutkulturdiagnostik ist abhängig von der Anzahl der entnommenen Pärchen und dem Probenvolumen (Simon 2012, Lamy *et al.* 2016). Zur kulturellen Diagnostik einer invasiven Aspergillose sind Blutkulturen eher ungeeignet, da Aspergillus-Spezies aus mikrobiologischen Materialien selten anzüchtbar sind (Kontoyiannis *et al.* 2000). Dies gelingt nur in ca. 10 % der Fälle (Singh und Paterson 2005).

Vorteile der kulturellen Verfahren liegen in der Identifikation des Erregers und der damit verbundenen Empfindlichkeitstestung gegenüber antimikrobiellen Substanzen. Nachteilig dagegen sind der Einsatz hoher Blutvolumina, die geringe Sensitivität und die Dauer bis zum Ergebnis. Quantitative Blutkulturen sind außerdem arbeitsaufwendig und teuer sowie anfällig gegenüber Kontaminationen und werden nicht routinemäßig durchgeführt (Ben-Ami *et al.* 2008).

Die **Resistenzprüfung** wurde lange Zeit aufgrund nur weniger zu testender Substanzen vernachlässigt. Grundsätzlich sollte eine Resistenzbestimmung bei

positiven Blutkulturen oder einer steril entnommenen Probe durchgeführt werden (Rijnders *et al.* 2008, Groll 2011).

Histopathologisch ist die Visualisierung von Pilzelementen im Gewebe ein Eckstein zur Diagnose einer invasiven Mykose. Eine Unterscheidung zwischen Kontamination, Kolonisation und Gewebeinvasion wird ermöglicht. Der Verdacht auf eine Pilzinfektion muss dem Pathologen mitgeteilt werden, damit eine Spezialfärbung zur Darstellung des Pilzmyzels angewendet wird (Koch *et al.* 2005). Jedoch ist es oft schwierig, den Erreger eindeutig zu identifizieren, da sich das mikroskopische Bild der Hyphen einzelner Pilze sehr ähnelt (Alexander und Pfaller 2006).

2.2.4.2. Molekularbiologische Methoden

Aufgrund der Schwierigkeit, eine invasive Mykose zu diagnostizieren, wurden nicht-kultur-basierte Verfahren entwickelt (Mohr *et al.* 2011). Dazu zählen Untersuchungen auf Candida-Enolase und Antikörper der Enolase (Walsh *et al.* 1991), Candida-Mannoproteine (Cao *et al.* 1999, Woo *et al.* 2002), (1-3)- β -D-Glucan (Miyazaki *et al.* 1992, Obayashi *et al.* 1992, Odabasi *et al.* 2004), ein metabolisches Candida-Produkt namens D-Arabinitol (Hui *et al.* 2004) und Candida-DNA durch die PCR (Cerikcioglu *et al.* 2010, Lau *et al.* 2010, Vollmer *et al.* 2008, White *et al.* 2003).

In den Leitlinien der *Surviving Sepsis Campaign* wurde zur Diagnostik der schweren Sepsis und des septischen Schocks mit Verdacht auf eine invasive Candidiasis die Bestimmung von (1-3)- β -D-Glucan (Grad 2 B), Mannan und von Antimannan-Antikörper-Assays (Grad 2 C) empfohlen (Dellinger *et al.* 2013). Ein Vorteil der genannten molekularbiologischen Methoden ist, dass die Identifizierung von Candida-Arten nur ein bis drei Tage benötigt (Groll 2011).

Der Nachweis von Candida-DNA in Körperflüssigkeiten oder der Blutkultur war der erste Versuch überhaupt, Pilze mit molekularen Methoden nachzuweisen (Groll 2011). Nukleinsäurebasierte Methoden können aus Vollblut, Serum oder aus Blutkulturflaschen durchgeführt werden. Die Erreger werden entweder über Amplifikation und Sequenzierung ribosomaler Gene identifiziert, wobei ein breites Keimspektrum abgedeckt wird, oder über Spezies-spezifische Nachweisverfahren (Simon 2012). Die Polymerase-Ketten-Reaktion (**PCR**) hat trotz intensiver Forschung seit 20 Jahren noch nicht als standardisierte Methode den Einzug in die klinische Routinediagnostik gefunden (Mengoli *et al.* 2009, Kozel und Wickes 2014), obwohl

sie in den Leitlinien der *Surviving Sepsis Campaign* empfohlen wurde. Stefani betonte den wichtigen Fakt, dass der Nachweis von Nukleinsäure nicht gleichbedeutend mit dem Nachweis von vermehrungsfähigen Bakterien oder Pilzen ist (Stefani 2009). Darum lässt sich auch kein Therapiemonitoring mit nukleinsäurebasierten Tests durchführen, da mit der Persistenz von DNA aus abgetöteten Mikroorganismen gerechnet werden muss. PCR-basierte Assays haben jedoch den Vorteil, dass sie auch bei antimykotisch vorbehandelten Patienten zur Erregersicherung führen (Schrenzel 2007).

Ein auf Fluoreszenz-In-situ-Hybridisierung (*peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridization* = **PNA FISH**) basierender Test erlaubt, innerhalb von drei Stunden *Cand. albicans*, *Cand. glabrata*, *Cand. tropicalis*, *Cand. parapsilosis* und *Cand. krusei* von anderen *Candida*-Arten zu unterscheiden (Groll 2011, Shepard *et al.* 2008).

Die **MALDI-TOF MS** (*matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry*) ist eine Methode der Massenanalyse, welche die Matrix-assistierte Laser-Desorption-Ionisierung mit der Flugzeitanalyse freigesetzter Ionen zur Massenspektrometrie kombiniert. Dieses Verfahren, basierend auf der Detektion von „Fingerabdrücken“ spezifischer Proteine, die von mikrobiellen Zellen freigesetzt werden (Spanu *et al.* 2012), hat sich als eine zuverlässige Methode zur schnellen Erregerdifferenzierung in der klinischen Routine bewährt (Marklein *et al.* 2009). Spanu *et al.* konnten zeigen, dass der Pilz innerhalb von 24 h nach Blutkulturentnahme (Medianzeit 16 h) identifiziert wurde. Der Assay dauerte im Median 30 min (Spanu *et al.* 2012). Für die Anwendung dieses Verfahrens sind nur Fälle mit positiven Blutkulturen geeignet. Der Nachteil dieser Methode liegt in der Notwendigkeit einer spektralen Bibliothek, an Hand derer die Spektren verglichen und damit die Pilzart bestimmt werden können. Wenn ein unbekannter Pilz nicht den gleichen Wachstumsbedingungen unterlag wie der Pilz der Bibliothek, kann er nicht identifiziert werden (Kozel und Wickes 2014).

Sowohl nukleinsäurebasierte Methoden als auch die Massenspektrometrie stellen eine wertvolle Ergänzung zur konventionellen Kulturmethode dar. Nachteile dieser Verfahren liegen in hohen Kosten und der laborintensiven Probenvorbereitung sowie der Notwendigkeit speziell ausgebildeten Personals.

2.2.4.3. Immunologische Methoden

Es existieren immunologische Tests zur Antikörpersuche sowie zum Nachweis von Zellwandbestandteilen und Pilz-spezifischen Nukleinsäuren (Yeo und Wong 2002).

Ein immunologisches Verfahren ist der **Antigen- und Antikörpernachweis**. Der kommerziell erhältliche Antigen-Test (z. B. Cand-Tec®), ein Latex-Agglutinationstest, weist ein bislang ungenügend charakterisiertes Antigen nach. Sensitivität (30 bis 77 %) und Spezifität (70 bis 88 %) differierten erheblich in den vorliegenden Studien (Groll 2011) und die Aussagekraft für die Klinik ist beschränkt (Koch *et al.* 2005). Der monoklonale Antikörper EB-CA1 erkennt Mannan-Epitope verschiedener *Candida*-Spezies und wird sowohl für die Latex-Agglutination als auch für den Sandwich-ELISA eingesetzt. Bei einer vergleichbaren Spezifität (70 bis 80 %) beider Testsysteme, zeichnet sich der Sandwich-ELISA durch eine höhere Sensitivität (42 bis 98 %) aus (Ibanez-Nolla *et al.* 2001, Herent *et al.* 1992). Problematisch bei Antikörper-Tests ist, dass Patienten mit invasiven Mykosen oft nicht in der Lage sind, spezifische Antikörper zu bilden (Alexander und Pfaller 2006). *Candida*-Antigen-Tests zeigen zudem häufig falsch-positive Testergebnisse bei Vorliegen von Rheumafaktoren oder hohen Kreatininwerten (Burnie und Williams 1985).

Galaktomannan ist ein Zellwand-Polysaccharid, das spezifisch für *Aspergillus*-Arten ist und im Serum oder anderen Körperflüssigkeiten bestimmt werden kann. Bei etwa zwei Drittel der Patienten kann das zirkulierende Antigen im Durchschnitt acht Tage früher als durch andere Tests nachgewiesen werden (Mennink-Kersten *et al.* 2004). Ein negatives Testergebnis schließt eine invasive Aspergillose mit großer Sicherheit aus. Der Assay hat jedoch eine niedrige Sensitivität für *Candida* (Hachem *et al.* 2009).

(1-3)- β -D-Glucan ist ein sensitiver Marker für eine tiefe Mykose oder eine fungale Infektion. Im Folgenden wird dieser Marker als BDG bezeichnet. BDG ist ein Bestandteil der Zellwand von *Candida spp.* und anderen Pilzen. Das Antigen zirkuliert im Blut bei Patienten mit IFI (Tissot *et al.* 2013). Zurzeit existieren mehrere kommerzielle BDG-Assays verschiedener Firmen mit unterschiedlichen Reagenzien (Obayashi *et al.* 2008), siehe Tabelle 6. Die Assays basieren auf der Aktivierung der Gerinnungskaskade durch BDG, wie es in Kapitel 4.3 genauer erläutert wird (Clancy und Nguyen 2013). Die Methode wurde 1995 erstmalig in Japan etabliert und 2004 in den USA zugelassen (Khodadadi *et al.* 2014).

Tabelle 6: aktuell verfügbare β -D-Glucan-Assays

Hersteller	SEIKAGAGU CORPORATION	SEIKAGAGU CORPORATION	Wako Pure Chemical Industries, Ltd.	Maruha Nichiro Foods, Inc.	Maruha	NISSUI PHARMACEUTICAL CO., LTD	Associates of CAPE COD inc	Charles River Laboratories
Handelsname /Kit	Fungitec G Test	Fungitec G-MK	β – glucan test Wako	β – glucan test Maruha	BDGSTAR β -glucan test	Fungitec G-MK II "Nissui"	Fungitell	Endosafe-PTS Glucan
Land	Japan	Japan	Japan	Japan	Japan	Japan	U.S.	U.S.
Zulassung	April 1995	Juni 1996	Mai 1997	Mai 2001		April 2012	2004	
Prinzip	artifizieller Substratendpunkt	artifizielle Substratkinetik	kinetische Turbidometrie	artifizieller Substratendpunkt		artifizielle Substratkinetik	artifizielle Substratkinetik	
Assay Methode		kolorimetrisch	turbidometrisch	kolorimetrisch	kolorimetrisch		kolorimetrisch	kolorimetrisch
Probe		Serum oder Plasma	Serum oder Plasma		Serum oder Plasma		Serum	
Vorbehandlung	Perchlorsäure und Zentrifugation	basisch	Verdünnung und Erwärmung	Verdünnung und Erwärmung		basisch	basisch	
Standard β Glucan	Pachyman	Pachyman	Carboxymethylcurdlan	Lentinan		Pachyman	Pachyman	
Ursprung des Lysats	<i>Tachypleus tridentatus</i>	<i>Tachypleus tridentatus</i>	<i>Limulus polyphemus</i>	<i>Tachypleus tridentatus</i>	<i>Tachypleus tridentatus</i>	<i>Limulus polyphemus</i>	<i>Limulus polyphemus</i>	<i>Limulus polyphemus</i>
Cut-Off (pg/ml)	20	20	11	11	11	20	60-80	10-1000
Assey Bereich (pg/ml)	2-60	3,9 - 500	6-600	1,2 - 120		3,9 - 500	31-500	
Hauptreaktionszeit (min)	30	30	< 90	30		30	40	30
Verkauf	nicht verfügbar	nicht verfügbar	verfügbar in Japan	nicht verfügbar		verfügbar in Japan	verfügbar weltweit, außerhalb Japan	
FDA zugelassen	nein	nein	nein	nein	nein	nein	ja	nein

modifiziert nach © 2013, Wako Pure Chemical Industries, Ltd., (Wright 2011, Obayashi *et al.* 2008)

BDG ist in der Umwelt weit verbreitet, so dass es zu falsch positiven Befunden kommen kann. Alle Testmaterialien müssen BDG-frei sein (Kozel und Wickes 2014).

Falsch positive Befunde werden bei folgenden Situationen gefunden:

- Bei gleichzeitigem Vorliegen einer Bakteriämie durch grampositive Bakterien (am häufigsten *Streptococcus*-Spezies) (Wright 2011, Digby *et al.* 2003, Stone und Clarke 1992)
- Bei Hämodialyse mit Zellulose-Membranen und Filtern (Ohata *et al.* 2003, Kato *et al.* 2001)
- Bei Immunglobulin-Gaben (z. B. IVIG) (Ikemura *et al.* 1989, Usami *et al.* 2002)
- Bei Albumingaben (Usami *et al.* 2002)
- Bei Gabe von humanem Serum (Wright 2011)
- Bei Gabe von Medikamenten wie Crestin, Lentinan, Schizophyllan oder Scleroglucan (Wright 2011)
- Bei Anwendung von Verbandsmüll (Kimura *et al.* 1995, Nakao *et al.* 1997)
- Bei der Verwendung von Breitspektrum-Penicillinen (Mennink-Kersten und Verweij 2006).

Vermutlich treten falsch positive Befunde bei der Zerstörung der respiratorischen oder intestinalen Mukosa auf, so dass BGD in den Kreislauf gelangt (Fujita *et al.* 2006).

Falsch negative Ergebnisse findet man bei lipämischen und hämolytischen Blutproben (Wright 2011) sowie bei einigen Pilzen, denen es an BDG in der Zellwand mangelt (Mennink-Kersten und Verweij 2006, Bowman und Free 2006, Miyazaki *et al.* 1995, Girouard *et al.* 2007).

In Deutschland wird der BDG-Test in der klinischen Routinediagnostik nur an wenigen Unikliniken durchgeführt, im Gegensatz zu Japan, wo der BDG-Assay überregional verwendet wird und die quantitativen Testergebnisse am gleichen Tag zur Verfügung stehen (Fujita *et al.* 2006).

2.2.5. β -Glucane

2.2.5.1. Definition, Vorkommen, Aufbau und Eigenschaften von BDG

Glucane sind Polysaccharide, die nur aus D-Glukose-Molekülen aufgebaut und durch glykosidische Bindung miteinander verknüpft sind. Eine Klassifizierung erfolgt nach der Art der glykosidischen Bindung in α - und β -Glucane (Medicine 2008). Die β -glykosidische Bindung ist die vorherrschende Form bei Pilzen (Ruiz-Herrera 1991).

Die wichtigsten Vertreter der Familie der β -D-Glucane sind das (1-3)-, (1-4)- und das (1-6)- β -D-Glucan. Das natürliche Vorkommen der β -Glucane liegt in den Zellwänden von vielen Pilzen, einigen Bakterien, den meisten höher entwickelten und vielen niedrig entwickelten Pflanzen (Stone und Clarke 1992). Sie sind somit nicht spezifisch für *Candida*-Arten. Anderen pathogenen Mikroorganismen wie Protozoen oder Viren mangelt es an diesen Polysacchariden. Tiere und der Mensch können β -Glucane nicht synthetisieren (Obayashi *et al.* 2008). Eine Ausnahme unter den Pilzen bilden *Kryptokokken*-Spezies, *Zygomyceten*, *Mucor*, *Rhizopus* und *Blastomyces dermatitidis* (Mennink-Kersten und Verweij 2006, Bowman und Free 2006, Miyazaki *et al.* 1995, Girouard *et al.* 2007), in deren Zellwand keine (1-3)- β -D-Glucan-Moleküle enthalten sind. Die Zellwand von *Cand. albicans* besteht zu 40 % aus (1-3)- β -D-Glucan und zu 20 % aus (1-6)- β -D-Glucan. In Abbildung 3 ist die lineare Verknüpfung zwischen dem Kohlenstoffatom Nummer 1 und dem Kohlenstoffatom Nummer 3 bzw. 6 dargestellt (Bowman und Free 2006).

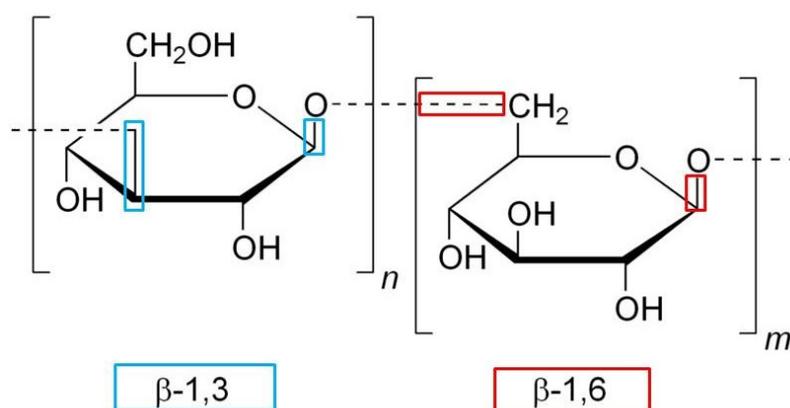


Abbildung 3: (1-3)- und (1-6)- β -glykosidisch verknüpfte Glukose-Moleküle. Die Abbildung wurde adaptiert von <http://wikivisually.com/lang-de/wiki/Chrysolaminarin>

Die Zellwand von Hefen ist dreischichtig aufgebaut. Während die äußere Schicht plastisch ist, folgt im Anschluss eine Stützmembran aus Glucan und eine feine Innenmembran aus Proteinen (Latge 2007, Mennink-Kersten und Verweij 2006,

Inoue *et al.* 1996, Ruiz-Herrera 1991). Von den drei Hauptbestandteilen der Zellwand bei *Cand. albicans* dienen die Polysaccharide Glucan und Chitin der Strukturhaltung und Formgebung der Hefezellen (Klis *et al.* 2001, Lesage und Bussey 2006).

Die Biosynthese des Polysaccharid-Gerüsts erfolgt durch Transport von Glukose-Einheiten über die Plasmamembran und deren Verknüpfung durch die (1-3)- β -D-Glucan-Synthetase. Üblicherweise werden 1500 Glukose-Einheiten miteinander verbunden (Bowman und Free 2006). Zwischen 40 % und 90 % ist das Glucan als β -1,3-Glucan vorliegend. In diesem Polysaccharidgerüst gibt es aber auch noch weitere Verzweigungen entweder als β -1,4- oder β -1,6- oder α -1,3- oder α -1,4-glykosidische Bindung (Bowman und Free 2006). Diese Verzweigungen sind sehr variabel und spezifisch für die jeweiligen Pilzspezies (Wright 2011).

In der Zellwand ist das Polysaccharidgerüst nicht löslich (Wright 2011, Douwes 2005). Sobald es aber in Kontakt mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kommt, transformiert sich das (1-3)- β -D-Glucan in eine einzelne Helix, dreifache Helix (am häufigsten) oder in eine zufällige Spiralförmigkeit und wird dadurch löslich (Latge 2007, Mennink-Kersten und Verweij 2006, Bowman und Free 2006, Williams *et al.* 1991). Die immunologische Aktivität bleibt dabei erhalten (Williams *et al.* 1988).

BDG hat inflammatorische Eigenschaften. Das lösliche (1-3)- β -D-Glucan ist imstande, durch Immunmodulierung die Leukozyten-Phagozytose zu inhibieren (Brown und Gordon 2005). Allerdings kann es auch die angeborene Immunität stimulieren (Williams 1997), in dem es das retikuloendotheliale System anregt (Douwes 2005). Weiterhin aktiviert es neutrophile Granulozyten, Makrophagen und das Komplementsystem. Die Aufnahme von BDG erfolgt unter anderem in Monozyten, Neutrophile und Makrophagen (Muller *et al.* 1996, Czop *et al.* 1988). Der immunmodulierende Effekt wurde *in vitro* und im Tiermodell nach parenteraler Verabreichung und nicht *in vivo* beim Menschen beobachtet, da möglicherweise BDG bei oraler Aufnahme im Intestinaltrakt ungenügend absorbiert wird (Grinde *et al.* 2006).

2.2.5.2. Kinetik des BDG

Untersuchungen zur Kinetik dieses Parameters liegen hauptsächlich im Tiermodell vor. Säugetiere können BDG nicht durch hydrolytische Enzyme abbauen (Mantovani *et al.* 2008, Nono *et al.* 1991), da sie die (1-3)- β -D-Glucanase nicht besitzen.

Die intravenöse Verabreichung von radiomarkiertem BDG bei Kaninchen führte zum Nachweis in Organen (23 %), im Blut (18 %) und im Urin (10 %). Von den sechs untersuchten Organen war BDG hauptsächlich in der Leber (mehr als 80 %), den Nieren (10 %) und zu einem Prozent in der Milz nachweisbar (Yoshida *et al.* 1996). Interessanterweise verteilten die wasserlöslichen BDG sich nicht in den Zellen, sondern in der extrazellulären Matrix des Organs (Suda *et al.* 1992). Die intrinsische Menge von BDG ist in Säugetierorganen minimal (Nakao *et al.* 1997).

Im Kaninchenmodell wurde eine initial rasche Plasmaelimination von BDG mit einer Plasmahalbwertszeit von 1,4 min nachgewiesen (Yoshida *et al.* 1996). Anschließend folgte eine Plateauphase mit niedrigen BGD-Spiegeln über mehrere Stunden. Die Autoren schlussfolgerten, dass es für höhere Plasmakonzentrationen einer kontinuierlichen Freisetzung von BDG oder einer Sättigung des retikuloendothelialen Systems bedarf.

Im Mausmodell wurde bei einmaliger Applikation eines BDG aus dem Fungus *Schizophyllum commune* eine Halbwertszeit von über 5 h gefunden (Miura *et al.* 1995), während die Daten bei multipler Verabreichung des gleichen BDG suggerieren, dass sich die Clearance reduziert und BDG für eine lange Zeit im retikuloendothelialen System akkumuliert wird (Miura *et al.* 1996). In diesem System wurde in den Monozyten ein spezifischer BDG-Rezeptor identifiziert (Czop und Kay 1991, Williams 1997), über den vermutlich eine schnelle Bindung und eine anschließend langsamere Internalisierung des Glucans erfolgte (Williams 1997). In der Leber der Maus war BDG des Pilzes *Sclerotinia sclerotiorum* nach fünf Wochen (Miura *et al.* 1995) noch nachweisbar, so dass man davon ausgehen kann, dass BDG aufgrund eines sehr langsamen oxidativen Abbaus über einen längeren Zeitraum in den Organen verbleibt. Bei Ratten dagegen lag die Plasmahalbwertszeit bei verschiedenen radiomarkierten Glucanen zwischen 2,6 h und 3,8 h (Rice *et al.* 2004). Die Autoren postulierten, dass während der Infektion höhere Plasmalevel auf Unterschieden in der Clearance bei verschiedenen BDG beruhten.

Ein spezifischer Eliminationsweg beim Menschen ist in der Literatur bisher nicht beschrieben. In verschiedenen Untersuchungen wurde auch beim Menschen eine Anreicherung in Leber, Milz und Nieren nachgewiesen (Samuelsen *et al.* 2014).

2.2.5.3. Studienlage und diagnostische Wertigkeit

Die diagnostische Wertigkeit von BDG-Messungen wurde in zahlreichen Einzelstudien und einer großen Multicenterstudie (Ostrosky-Zeichner *et al.* 2005) untersucht (Tabelle 7).

Tabelle 7: Literaturübersicht von Studien zu BDG, modifiziert nach (Karageorgopoulos *et al.* 2011) und (He *et al.* 2015)

Autor	Jahr	Land	Studien- art	Studien- design	Anzahl Patient		Referenz- Standard	Blutent- nahme	Einschlusskriterium
					Fall	Kontrolle			
Poissy	2014	Frankreich	retrospektiv	Fall-Kontroll- Studie	43	67	EORTC-MSG	mehrmals	Candidämie
Tissot	2013	Schweiz	prospektiv	Kohorten- studie	89		mikrobiologische Kultur	mehrmals	invasive intraabdominelle Candida-Infektion
Metan	2012	Türkei	prospektiv	Fall-Kontroll- Studie	50	78	EORTC-MSG	mehrmals	invasive pulmonale Aspergillose
Posteraro	2011	Italien	prospektiv	Kohorten- studie	95		EORTC-MSG	einmalig	Sepsis
Mohr	2011	USA	prospektiv	Kohorten- studie	57		EORTC-MSG	mehrmals	ITS-Aufenthalt > 3 Tage und chirurgisches Trauma
De Vlieger	2011	Belgien	retrospektiv	Kohorten- studie	14	33	EORTC-MSG 2008	einmalig	invasive Aspergillose
Bono	2011	Italien	prospektiv	Kohorten- studie	152		EORTC-MSG 2008	einmalig	Fieber > 72 h und keine Reaktion auf Antibiose
Acosta	2011	Spanien	prospektiv	Kohorten- studie	13	38	EORTC-MSG 2008	mehrmals	fungale Pneumonie / Aspergillose
Racil	2010	Tschech. Republik	prospektiv	Fall-Kontroll- Studie	91	37	EORTC-MSG 2002	mehrmals	hämatologisches Malignom
Alexander	2010	USA	prospektiv	Kohorten- studie	14	59	EORTC-MSG 2008	mehrmals	Lungentransplantation
Hirata	2010	Japan	retrospektiv	Kohorten- studie	208		EORTC-MSG	einmalig	hämatologisches Malignom
Zhao	2010	China	prospektiv	Kohorten- studie	130		EORTC-MSG (2002) + 2007 <i>guidelines of IFI in critically ill patients in China</i>	mehrmals	pädiatrische hämatologische oder maligne Erkrankungen und <i>critical illness</i>
Hachem	2009	USA	prospektiv	Fall-Kontroll- Studie	62	20	EORTC-MSG 2002	mehrmals	hämatologisches Malignom
Koo	2009	USA	retrospektiv	Kohorten- studie	209	662	EORTC-MSG 2008	mehrmals	hämatologisches Malignom

Leon	2009	Spanien, Argentinien, Frankreich	prospektiv	Kohortenstudie	58	1049	histopathologische Untersuchung, mikrobiologische Kultur	mehrmals	nicht neutropene, kritisch Kranke
Lunel	2009	Niederlande	retrospektiv	Kohortenstudie	21	30	mikrobiologische Kultur	mehrmals	hämatologisches Malignom
Presterl	2009	Österreich	prospektiv	Kohortenstudie	24	58	mikrobiologische Kultur	mehrmals	Langzeit-ITS-Aufenthalt > 7 d mit schwerer Grunderkrankung oder ausgedehnter OP
Ellis	2008	Vereinigte arabisch. Emirate	prospektiv	Kohortenstudie	38	57	EORT-MSG (2002)	mehrmals	hämatologisches Malignom
Obayashi	2008	Japan	retrospektiv	Kohortenstudie	54	63	Autopsie	einmalig	Tumor- und Infektionserkrankungen
Persat	2008	Frankreich	retrospektiv	Fall-Kontroll-Studie	117	122	EORT-MSG (2002)	mehrmals	Pneumonie
Senn	2008	Schweiz	prospektiv	Kohortenstudie	95		EORT-MSG (2002)	mehrmals	hämatologisches Malignom
Akamatsu	2007	Japan	prospektiv	Kohortenstudie	180		EORT-MSG (2002)	mehrmals	Lebertransplantation
Alarm	2007	Kuweit	retrospektiv	Fall-Kontroll-Studie	27	39	mikrobiologische Kultur	einmalig	Candidämie, Candidiasis und vaginale Candida-Infektion
Fujita	2006	Japan	prospektiv	Fall-Kontroll-Studie	105	175	mikrobiologische Kultur	einmalig	Candidämie oder Fieber ohne V.a. fungale Infektion
Ostrosky-Zeichner	2005	USA	prospektiv	Fall-Kontroll-Studie	163	170	EORT-MSG (2002) Kultur	einmalig	bewiesene oder wahrscheinliche IFI vs. gesunde Probanden
Pazos	2005	Spanien	prospektiv	Fall-Kontroll-Studie	11	29	EORT-MSG (2002)	mehrmals	hämatologisches Malignom

Pickering	2005	USA	prospektiv	Fall-Kontroll-Studie	78	36	histopathologisch, mikrobiologische Kultur	mehrmals	blutkulturpositive IFI vs. Bakteriämie vs. gesunde Probanden
Kawazu	2004	Japan	prospektiv	Kohortenstudie	24	125	EORTC-MSG (2002)	einmalig	hämatologische Erkrankung und Risiko für IA
Kondori	2004	Schweden	prospektiv	Fall-Kontroll-Studie	14	19	mikrobiologische Kultur	mehrmals	bewiesene Candidiasis vs. <i>Cand. albicans</i> Besiedlung bei stillenden Müttern vs. gesunde Probanden
Odabasi	2004	USA	prospektiv	Kohortenstudie	53	230	EORTC-MSG (2002)	mehrmals	bewiesene oder wahrscheinliche IFI bei neutropenischen Patienten mit AML oder MDS vs. mögliche IFI bei neutropenischen Patienten oder kein IFI
Kami	2000	Japan	prospektiv	Kohortenstudie	30	185	histologischer Nachweis IA	einmalig	hämatologisches Malignom nach Knochenmarkstransplantation
Hiyoshi	1999	Japan	prospektiv	Kohortenstudie	62		mikrobiologische Kultur	mehrmals	Immunkompromittierte mit vermuteter tiefer Candida-Mykose
Mori	1997	Japan	prospektiv	Fall-Kontroll-Studie	19	118	mikrobiologische Kultur	mehrmals	bewiesene oder mögliche tiefe Mykose vs. Patienten ohne Mykose vs. gesunde Probanden
Mitsutaki	1996	Japan	prospektiv	Fall-Kontroll-Studie	59	20	mikrobiologische Kultur	einmalig	Candidämie, tiefe Mykose, kolonisierte Patienten vs. gesunde Probanden
Miyazaki	1995	Japan	prospektiv	Fall-Kontroll-Studie	24	36	mikrobiologische Kultur	nicht berichtet	HIV-negativ mit klinischem Beweis einer IFI

AML: Akute myeloische Leukämie; d: Tage; h: Stunden; HIV: Humanes Immundefizienz-Virus; IA: Invasive Aspergillose; IFI: Invasive fungale Infektion; ITS: Intensivtherapiestation; MDS: Myelodysplastisches Syndrom; OP: Operation

Außerdem wurden die Arbeiten aus Tabelle 8 in Metaanalysen (Karageorgopoulos *et al.* 2011, He *et al.* 2015) zusammengefasst. Hier konnten BDG-Bestimmungen mit ähnlichen und akzeptablen Genauigkeiten in verschiedenen Patientenpopulationen zwischen bewiesener oder wahrscheinlicher invasiver Candida-Infektion unterscheiden. Die Studien ergaben eine Sensitivität von 69 % bis 97 %, eine Spezifität von 87 % bis 100 %, der positive und der negative prädiktive Wert erstreckten sich von 59 % bis 96 % beziehungsweise von 75 % bis 97 %. Allerdings ist die Heterogenität zwischen den einzelnen Studien sehr hoch (Karageorgopoulos *et al.* 2011) und es sind wenige Informationen zur Nutzung des BDG-Tests im intensivmedizinischen Setting bekannt (Presterl *et al.* 2009). Mehrere Studien haben ein serielles Monitoring genutzt (siehe Tabelle 7). Dabei wurden die Blutentnahmen entweder mehrmals pro Woche oder einmal wöchentlich über einen/zwei Monat/e abgenommen. Inzwischen sind zwei Tests innerhalb von 24 Stunden empfohlen, da diese die diagnostische Genauigkeit erhöhen.

Tabelle 8: Diagnostische Gütekriterien von (1-3)- β -D-Glucan-Assays

Jahr	Autor	BDG Assay	Cut-Off (pg/ml)	Sensitivität (95% CI)		Spezifität (95% CI)		PPV	NPV
2014	Poissy	Fungitell	80	0,97		0,31		nd	nd
2013	Tissot	Fungitell	80	0,76	0,56-0,90	0,59	0,43-0,74	0,56	0,78
2012	Metan	Fungitell	80	0,66	0,51-0,79	0,76	0,65-0,85	0,63	0,78
2011	Poste-raro	Fungitell	80	0,93	0,66-0,99	0,94	0,86-0,98	0,72	0,98
2011	Mohr	Fungitell	80	0,87	nd	0,73	nd	nd	nd
2011	De Vlieger	Fungitell	80	0,86	0,60-0,96	0,36	0,22-0,53	0,36	0,86
2011	Bono	Fungitell	80	0,79	nd	0,83	nd	0,89	0,67
2011	Acosta	Fungitell	80	0,85	0,61-1,00	0,82	0,68-0,95	0,61	0,94
2010	Racil	Fungitell	80	0,89	nd	0,33	nd	0,12	0,97
2010	Alexan-der	Fungitell	80	0,63	0,47-0,78	0,66	0,62-0,69	0,92	0,97
2010	Hirata	WAKO	8,9	0,90	nd	0,99	nd	0,82	0,99
2010	Zhao	GKT5M	10	0,82	nd	0,82	nd	nd	nd
2009	Hachem	Fungitell	80	0,64	nd	0,88	nd	0,64	0,88
2009	Koo	Fungitell	80	0,64	0,55-0,73	0,84	0,81-0,86	nd	nd
2009	Leon	Fungitell	75	0,78	0,59-0,97	0,53	0,46-0,59	nd	nd
2009	Lunel	Fungitell	60	0,64	nd	0,88	nd	nd	nd
2009	Presterl	Fungitell	40	0,52	0,31-0,74	75,90	063-0,86	0,46	0,80
2008	Ellis	Fungitell	80	0,95	nd	0,45	nd	0,61	0,91
2008	Obayashi	Fungitec G-MK	30	0,95	0,83-9,99	0,86	0,75-0,93	0,47	0,99

2008	Persat	Fungitell	80	0,78	0,70-0,85	0,71	0,62-0,79	nd	nd
2008	Senn	WAKO	11	0,50	0,32-0,68	0,89	0,82-0,94	0,56	0,87
2007	Akamatsu	Fungitec G-MK	40	0,58	nd	0,83	nd	0,35	0,93
2007	Alarm	Fungitell	80	0,52	nd	1,00	nd	nd	nd
2006	Fujita	WAKO	11	0,95	nd	0,84	nd	nd	nd
2005	Ostrosky- Zeichner	Fungitell	80	0,64	nd	0,92	nd	0,89	0,73
2005	Pazos	Fungitell	120	0,88	nd	0,89	nd	0,70	0,96
2005	Pickering	Fungitell	80	0,93	nd	0,77	nd	0,52	0,98
2004	Kawazu	WAKO	11	0,55	nd	0,98	nd	0,67	0,96
2004	Kondori	Fungitec G-MK	20	0,61	nd	0,89	nd	0,93	0,52
2004	Odabasi	Fungitell	80	0,90	nd	0,94	nd	0,43	1,0
2000	Kami	Fungitec G-MK	20	0,67	nd	0,76	nd	nd	nd
1999	Hiyoshi	WAKO		0,84	nd	0,86	nd	nd	nd
1997	Mori	WAKO	1000	0,79	nd	0,96	nd	0,96	0,97
1996	Mitsutaki	Fungal index	60	0,84	nd	0,88	nd	nd	nd
1995	Miyazaki	Fungitec G-MK	10	0,71	nd	1,00	nd	nd	nd
1995	Obayashi	Fungitec G-MK	20	0,90	nd	0,84	nd	0,59	0,97

CI: Confidence interval; nd: not done; NPV: Negative predictive value; PPV: Positive predictive value

3. Ziele der Arbeit

Mit dem BDG-Test steht eine vielversprechende diagnostische Methode für Pilzinfektionen zur Verfügung, die insbesondere wegen des relativ rasch vorliegenden Testergebnisses Vorteile im Vergleich zur kulturellen Anzucht besitzt.

Die Ziele dieser Arbeit sind

1. zu prüfen, ob Unterschiede in der Höhe des Biomarkers (1-3)- β -D-Glucan (BDG) zwischen Patienten mit schwerer Sepsis oder septischem Schock und kardiochirurgischen Patienten (Kontrollgruppe) im Verlauf von 28 Tagen existieren.
2. die eventuelle Auswirkung der bekannten Einflussfaktoren auf BDG-Bestimmungen in Einzelanalysen aufzuarbeiten.
3. zu prüfen, ob ein Zusammenhang zwischen dem Verlauf des Biomarkers und dem Ausmaß von Organdysfunktionen besteht (gemessen anhand des SOFA-Scores).
4. erstmals Daten zur Kinetik von BDG mit Bestimmung der Halbwertszeit von BDG beim Menschen auszuwerten, da bisherige Daten hauptsächlich aus Arbeiten im Tiermodell vorliegen.
5. die prognostische Kapazität von BDG hinsichtlich des Überlebens der Patienten zu bewerten.
6. die statistischen Gütekriterien für den Nachweis einer IFI zu bestimmen.

4. Material und Methoden

4.1. Planung und Durchführung der Studie

4.1.1. Studiendesign

Die Studie wurde als prospektive, monozentrische, longitudinale Patientenkohortenstudie mit Materialasservierung zum Stellenwert von BDG-Konzentrationen im Plasma kritisch kranker Patienten auf einer 50 Betten umfassenden, operativen Intensivstation der Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin des Universitätsklinikum Jena durchgeführt. Im Zeitraum von Januar 2005 bis September 2008 wurden alle Patienten rekrutiert, die dem Studiendesign entsprachen.

4.1.2. Ein- und Ausschlusskriterien

In die Studie wurden Patienten eingeschlossen, die einer der folgenden Patientengruppen zugeordnet werden konnten:

- 1) Patienten auf ITS mit **schwerer Sepsis oder septischem Schock**
- 2) Patienten **nach kardiochirurgischen Eingriff** (Klappen- oder Bypassoperation), die regelhaft eine systemische Entzündung (SIRS) entwickeln.

Folgende Einschlusskriterien mussten die Patienten in beiden Gruppen erfüllen:

- Alter \geq 18 Jahre
- Schriftliche Einverständniserklärung zur Teilnahme an der Studie

Sobald eines der folgenden Ausschlusskriterien bei Patienten mit schwerer Sepsis vorlag, konnte der Patient nicht in die Studie eingeschlossen werden:

- Behandlung an der Herz-Lungen-Maschine (HLM)
- Schwangerschaft oder Stillzeit
- Therapiebeschränkung (z. B. *Do-not-resuscitate* [DNR]-Order)
- Immunsuppression oder Zustand nach Organtransplantation

Bei Patienten nach kardiochirurgischer Operation führten folgende Kriterien zum Ausschluss aus der Gruppe:

- Vorliegen einer Infektion
- Schwangerschaft oder Stillzeit
- Therapiebeschränkung (z. B. DNR-Order)
- Immunsuppression oder Zustand nach Organtransplantation

Die Definition der schweren Sepsis und des septischen Schocks orientierten sich an den Empfehlungen der Konsensus-Konferenz des *American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine (ACCP/SCCM)* von 1991 und der *European Society of Intensive Care Medicine (Bone et al. 1992)*.

Eine schwere Sepsis lag vor, wenn eine Sepsis (siehe Tabelle 1, Seite 13) zu einer infektiösen Organdysfunktion führte. Zu den Organdysfunktionen zählten:

- Akute Enzephalopathie
(reduzierte Vigilanz, Unruhe, Desorientiertheit, Delir ohne Beeinflussung durch Psychotropika)
- Thrombozytopenie
(Thrombozyten ≤ 100.000 / μ l oder Thrombozytenabfall > 30 % in 24 h, ohne Blutverlust als Ursache)
- Arterielle Hypoxämie
($\text{PaO}_2 < 10$ kPa [75 mmHg] unter Raumluft, $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 33$ kPa [250 mmHg] ohne manifeste pulmonale oder kardiale Erkrankung als Ursache)
- Arterielle Hypotension
(systolischer arterieller Blutdruck ≤ 90 mmHg oder mittlerer arterieller Blutdruck ≤ 70 mmHg über mindestens eine Stunde trotz adäquater Volumenzufuhr bei Abwesenheit anderer Schockursachen)
- Renale Dysfunktion
(Urinausscheidung $\leq 0,5$ ml/kg/h über mindestens eine Stunde trotz ausreichender Volumensubstitution und/oder Anstieg des Serum-Kreatinins \geq zweifache über den Referenzbereich des jeweiligen Labors)

- Metabolische Azidose
(Basendefizit $\geq 5,0$ mEq/l oder eine Plasma-Laktat-Konzentration $\geq 1,5$ fache oberhalb des Referenzbereichs des jeweiligen Labors)

Ein septischer Schock lag vor, wenn zusätzlich zu den Kriterien der schweren Sepsis folgendes Kriterium erfüllt war:

- Nachweis einer arteriellen Hypotonie:
Trotz adäquater Volumentherapie – und nicht durch eine andere Schockform erklärbarer – für mindestens zwei Stunden anhaltender systolischer Blutdruck ≤ 90 mmHg oder mittlerer arterieller Blutdruck ≤ 70 mmHg, welcher Vasopressoren (Dopamin ≥ 5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ bzw. Noradrenalin, Adrenalin, Phenylephrin oder Vasopressin in jeder Dosierung) erforderlich macht, um den systolischen Blutdruck ≥ 90 mmHg oder den arteriellen Mitteldruck ≥ 70 mmHg zu halten.

Nur wenn ein(e) Patient(in) alle Einschlusskriterien und keines der Ausschlusskriterien erfüllte, wurde sie/er in die Studie eingeschlossen.

4.1.3. Studiendurchführung

Täglich erfolgte auf der Intensivstation ein Screening aller Patienten auf schwere Sepsis/ septischen Schock. Nach Einholung des Einverständnis zur Teilnahme an der Studie wurden für die Bestimmung der BDG-Werte am Einschlusstag (Tag 1) sowie an den Tagen 2 bis 7, 14, 21 und 28 Blut in eine Citrat-Plasma-Monovette (Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland) entnommen und bestimmt. Die Blutentnahmen erfolgten arteriell (Abbildung 4).

Nach der Blutentnahme wurde das Citrat-Plasma-Blut bei 1500 g für 10 min bei 4 °C zentrifugiert, der Überstand abpipettiert und bei -20 °C eingefroren. Dieser Prozess dauerte nicht länger als eine Stunde. Der Probentransport zur Analyse nach Japan erfolgte zweimal im Jahr auf Trockeneis bei -80 °C zur Bestimmung des BDG-Wertes. Eine Bestimmung dieses Parameters war zu diesem Zeitpunkt in Deutschland noch nicht möglich.

Das Ergebnis der Untersuchungen wurde den behandelnden Ärzten nicht mitgeteilt.

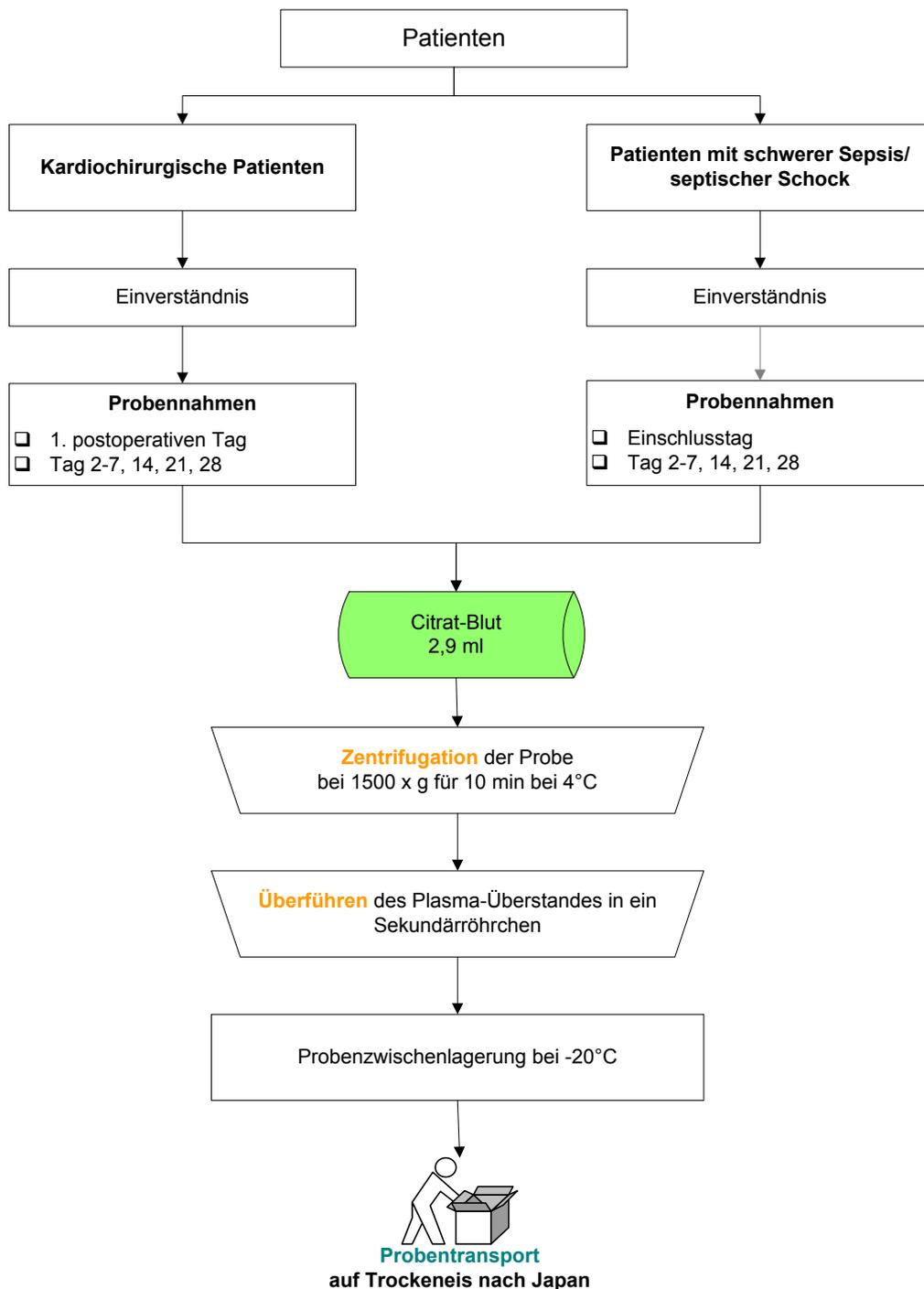


Abbildung 4: Organigramm zum Studienablauf und der Probenverarbeitung

4.1.4. Patientendatenerhebung

4.1.4.1. Datenerhebung

Die Datenerhebung erfolgte in elektronischer Form in einer zentralen Datenbank ACCESS 2010 für Windows (Microsoft Corporation, ACCESS Database 2010, Redmont, WA, USA). Die Daten wurden zunächst durch implementierte

Grenzwertvergleiche und Formatkorrekturen und ein weiteres Mal durch die Doktorandin manuell überprüft. Vor Auswertung der Ergebnisse wurden die Daten im Statistikprogramm zusätzlich auf ihre Konsistenz und ihre Übereinstimmung mit den Angaben der elektronischen Patientenakte geprüft.

Ein Patiententag umfasste 24 h mit Ausnahme des ersten Studientages bei den Patienten mit schwerer Sepsis/ septischem Schock. Hier definiert sich der erste Studientag als der Zeitraum vom Einschluss in die Studie bis zum nächsten Kurvenwechsel am darauf folgenden Tag. Letzter Beobachtungstag eines Patienten war Tag 28, der Entlassungstag von der Intensivstation oder der Todestag des Patienten.

Der APACHE-II und SAPS-II-Score wurden aus den physiologischen Variablen und den chronischen Erkrankungen ermittelt, wie in der Literatur (Knaus *et al.* 1985, Le Gall *et al.* 1993) beschrieben. Bei Patienten nach kardiochirurgischer Operation wurden die schlechtesten Werte innerhalb der ersten 24 h nach Aufnahme auf die Intensivstation erfasst, bei den Patienten mit schwerer Sepsis die schlechtesten Werte 24 h vor Einschluss.

Der SOFA-Score wurde entwickelt, um Schweregrad und Auswirkung eines Multiorganversagens im Behandlungsverlauf bei Intensivpatienten charakterisieren zu können (Vincent *et al.* 1996). Numerisch werden die Anzahl und die Schwere von sechs Organdysfunktionen quantifiziert. Täglich wurden das kardiovaskuläre und pulmonologische Organsystem, das Gerinnungssystem, die Nieren- und Leberfunktion sowie das zentrale Nervensystem beurteilt. Dabei bedeuten null Punkte eine normale Organfunktion, vier Punkte eine hochgradige Störung (siehe Anhang I SOFA-Score). Die Summe dieser Subscores ergibt den Gesamt-SOFA-Score für den Studientag. Pro Tag können maximal 24 Punkte vergeben werden.

4.1.4.2. Erhebungsbogen einmalig

Bei Einschluss wurden die Patienten pseudonymisiert und folgende demografische Daten (48 *items*) einmalig erhoben:

- Aufnahme-, Haupt-, Neben- und interkurrente Diagnosen
- Durchgeführte Operationen
- Indikation der Aufnahme mit Fachabteilung

- APACHE II-, SAPS II- und SOFA_{Baseline}-Score

4.1.4.3. Tägliche Dokumentation

Der Verlauf der Studientage 1 bis 7, 14, 21 und 28 bzw. bis zur Verlegung von der Intensivstation oder bei Tod des Patienten wurde dokumentiert. In diesem Verlaufsbogen wurden folgende Daten erfasst:

- Laborwerte
- Medikamente, antimikrobielle Therapie, Blutprodukte
- Invasive Maßnahmen
- SOFA-Score
- ACCP/SCCM-Klassifikation
- Mikrobiologische Diagnostik, Serologie, Virologie
- Lokalisation der Infektion

4.1.4.4. Definition der IFI und Candida-Kolonisation

Die Einteilung der IFI erfolgte in unserer Studie retrospektiv in die drei Kategorien „bewiesen“, „wahrscheinlich“ und „möglich“, entsprechend den Empfehlungen der *Mycoses Study Group (MSG)* und der *Infectious Disease Group* der *European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC)* (De Pauw *et al.* 2008). Für die bewiesene fungale Infektion werden mikrobiologische Befunde aus primär sterilen Materialien gefordert, während die Definition „wahrscheinliche“ oder „mögliche“ Infektion auf prädisponierenden *host factors* und klinischen Kriterien beruht.

In dieser Studie wurde eine invasive Candida-Infektion wie folgt definiert (Leon *et al.* 2006):

- Candidämie
(Dokumentation von einer oder mehreren positiven Blutkulturen mit Candida-Spezies)
- Isolation von Candida-Spezies aus primär sterilen Materialien
(z. B. Pleura- oder Perikarderguss)
- Candida-Peritonitis
- Candida-Endophthalmitis bei Patienten mit klinischer Sepsis
- histologisch dokumentierte Candidiasis

Die Candida-Peritonitis ist definiert als Isolation von Candida-Spezies aus einer peritonealen Probe bei Patienten mit assoziierter Klinik (intraabdominale Perforation, Anastomoseninsuffizienz mit Peritonitis, schwere akute Pankreatitis oder Vorhandensein eines Peritonealkatheters [Leon *et al.* 2006]). Die Candida-Peritonitis wird im Folgenden als intraabdominelle Infektion (IAI) bezeichnet.

Die Einteilung der Kolonisation erfolgte gemäß der Festlegung von Leon (Leon *et al.* 2006). Als unifokal kolonisiert wurden Patienten eingeteilt, wenn Candida-Spezies in einem einzigen Fokus isoliert wurden, während bei einer multifokalen Kolonisierung Candida-Spezies gleichzeitig aus mehreren, nicht aneinandergrenzenden Materialien gewonnen oder zwei unterschiedliche Spezies nachgewiesen wurden.

4.2. Ethische und rechtliche Voraussetzungen

Das Studienprotokoll wurde von der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena begutachtet und zustimmend beurteilt. Die Studie wurde in Übereinstimmung mit den ethischen Standards der in der aktuellen Version der Deklaration von Helsinki festgelegten Prinzipien durchgeführt. Nach Aufklärung über den wissenschaftlichen Zweck der Blutentnahmen durch die Ärzte der Intensivstation wurde die Einwilligung des Patienten, bzw. bei nichteinwilligungsfähigen Schwerstkranken deren mutmaßlicher Wille durch den nächsten Angehörigen, eingeholt.

4.3. (1-3)- β -D-Glucan-Messungen

Die Bestimmung erfolgte kolorimetrisch mit dem MARUHA®-Testkit der Firma WAKO (WAKO Pure Chemical Industries Co. Ltd. Osaka; Japan) durch den Hersteller.

Der BDG-Test beruht auf einer Modifikation des Limulus-Amöbozyten-Lysat-Tests (LAL-Test), bei dem durch Reaktion des im Pfeilschwanzkrebs vorkommenden Amöbozyten-Lysats mit bakteriellen Endotoxinen eine Koagulation einsetzt. Das Lysat enthält jedoch auch den Faktor G, der spezifisch mit β -Glucan reagiert. Durch die Elimination der Endotoxin-spezifischen Faktoren B und C aus dem Lysat wird ein hoch sensitives BDG-spezifisches Test-Reagens hergestellt (Miyazaki *et al.* 1995). β -Glucan aktiviert den Faktor G, dieser wiederum ein Progerinnungsenzym. Durch das aktivierte Gerinnungsenzym wird p-Nitroanilin von dem zugefügten chromogenen

Substrat (Boc-Leu-Gly-Arg-para-Nitroanilid) abgespalten (Otto 2008, Morita 1981). Das resultierende gelbe Chromophor wird spektrophotometrisch quantifiziert. Die Abbildung 5 gibt die Reaktionskaskade wieder.

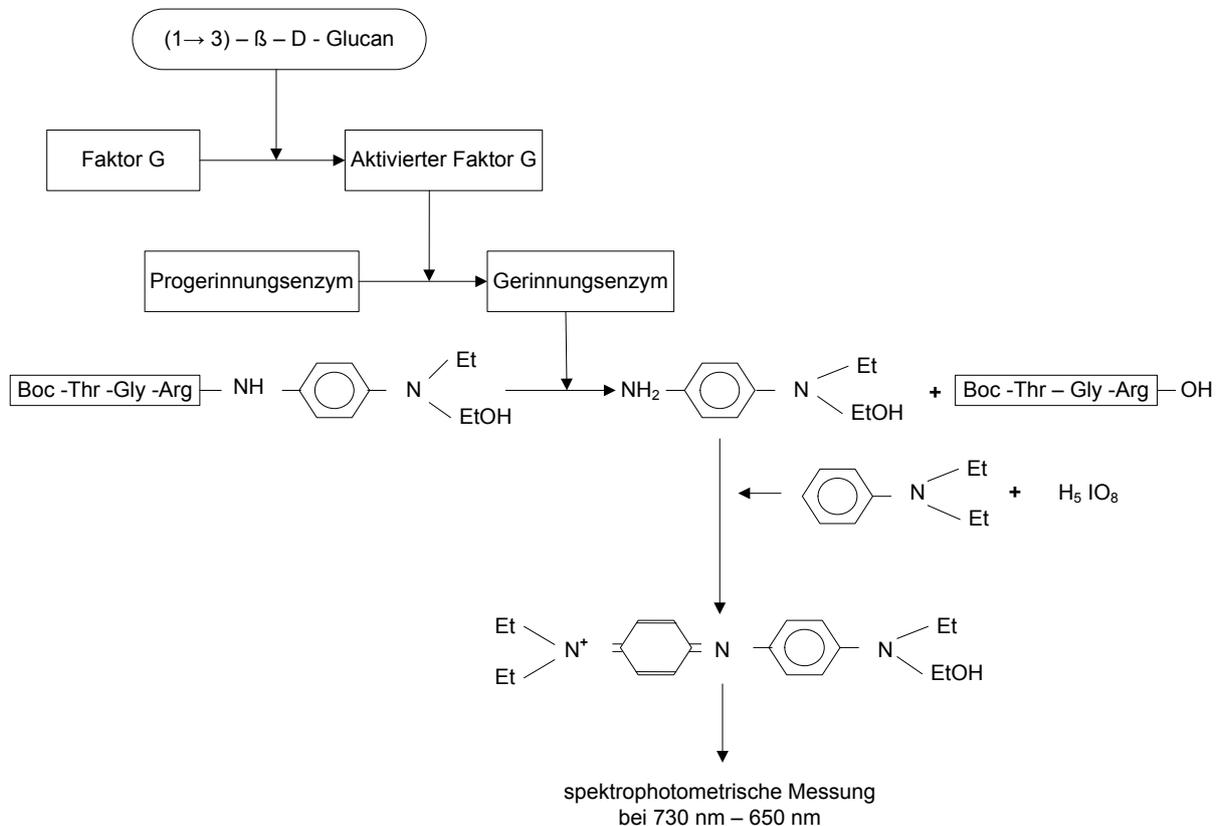


Abbildung 5: Reaktionskaskade des kolorimetrischen (1-3)-β-D-Glucan-Test mittels Faktor G. Anschließend spektrophotometrische Messung. Abbildung modifiziert nach Testbeschreibung von WAKO Pure Chemical Industries Co. Ltd. Osaka

Bei der Testdurchführung wurden 5 µl Citratplasma auf eine Mikrotiterplatte gegeben, 45 µl der Vorbehandlungslösung hinzugefügt und dann auf 75 °C für 15 min erwärmt. Anschließend ruhte die Lösung für 10 min bei Raumtemperatur. Nun wurden 50 µl der Standardlösung sowie 50 µl der Standard-(1-3)-β-D-Glucan-Lösung, welche Lentinan enthält, und 50 µl der Lösung des Reaktionsreagens hinzugegeben und die enzymatische Reaktion bei 37 °C für 30 min abgewartet. Anschließend wurden noch 100 µl Lösung des färbenden Reagens addiert, die Mikrotiterplatte geschüttelt und die spektrophotometrische Messung abgewartet. Der Test dauert etwa 30 min und misst BDG im Bereich von 1,2 – 120 pg/ml, wobei ein *upper limit of normal* (ULN) < 11 pg/ml als gesichert angesehen wird (Moro *et al.* 2003). Das Reagens ist hochspezifisch für BDG und reagiert nicht mit anderen Polysacchariden,

eingeschlossen Betaglucane mit anderen glykosidischen Bindungen (Khodadadi *et al.* 2014).

Wenn die BDG-Konzentration unter der Nachweisgrenze lag, wurden die Werte für die Kolorimetrie mit $< 1,2$ pg/ml angegeben. Sofern die BDG-Werte über der messbaren Grenze lagen, wurde die Probe nach Verdünnung erneut gemessen.

4.4. Statistische Auswertung

Die Erfassung der Daten erfolgte mit der Software ACCESS 2010 für Windows (Microsoft Corporation, ACCESS Database 2010, Redmont, WA, USA). Die Aufarbeitung und statistische Analyse der patientenassoziierten Daten wurde nach Export der ACCESS-Datenbank mit SPSS, Version 19 (IBM SPSS Statistics, Deutschland GmbH, Ehningen) vorgenommen.

Der vom Hersteller angegebene Cut-Off-Wert für eine invasive Candida-Infektion von 11 pg/ml wurde in der Analyse verwendet.

Für die Beschreibung der Patientengruppen wurden deskriptive Verfahren (Häufigkeitsverteilung, Mittelwert \pm Standardabweichung, Median mit dem ersten und dritten Quartil) angewendet. Nominelle Variablen wurden als relative und absolute Häufigkeiten zusammengefasst; Gruppenvergleiche erfolgten mittels χ^2 - oder dem exakten Fisher's Test. Normalverteilte kontinuierliche Variablen wurden als Mittelwert \pm Standardabweichung und Vergleiche mit Student's T-Test dargestellt. Mediane und Quartile oder das 95 %ige Konfidenzintervall wurden zur Beschreibung nicht normalverteilter kontinuierlicher Variablen genutzt. Für ihre Vergleiche in zwei unabhängigen Stichproben wurde der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test verwendet; lagen mehr als zwei Gruppen vor, wurde der Kruskal-Wallis-Test verwendet. Für bivariate-Korrelationen kontinuierlicher Variablen wurden jeweils Spearmans Koeffizienten berechnet.

Als Nullhypothese wurde jeweils eine gleiche Verteilung der zu testenden Variablen in den Gruppen angenommen. Es erfolgte keine Korrektur für multiple Hypothesentests; als Signifikanzniveau wurde jeweils ein zweiseitiges $\alpha = 0,05$ verwendet; in der Regel werden aber einfach unadjustierte zweiseitige p-Werte berichtet.

Zur Abschätzung der Kinetik wurde das Modell unabhängiger Parameter genutzt. Die Kalkulation der Fläche unter der Kurve (AUC = *Area under the curve*) erfolgte nach folgender Formel:

$$\text{Area}_{\text{trapezoid}} = \frac{(C_1 - C_2)}{2} * \Delta t$$

Die AUC wurde für die Zeitabschnitte zwischen den gegebenen Messzeitpunkten berechnet, also für die ersten sieben Studientage täglich und danach wöchentlich bis Tag 28. Die Area log wurde nicht dargestellt, da sie keine höhere Aussagekraft lieferte und ähnliche Werte wie die trapezoide Fläche aufwies.

Zur Kalkulation der terminalen Halbwertszeit wurde die Modell-unabhängige Methode gewählt und die Berechnung erfolgte nach folgender Formel:

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{\ln 2}{\lambda_z}$$

Die Eliminationskonstante λ_z wurde nach folgender Formel berechnet:

$$\lambda_z = \frac{[\sum t_i * \sum \ln C_i - n * \sum (t_i * C_i)]}{[n * \sum t_i^2 - (\sum t_i)^2]}$$

Zur Beschreibung der Validität eines diagnostischen Tests werden die Wahrscheinlichkeiten berechnet, mit der dieser Test den tatsächlichen Sachverhalt erkennt und somit die „kranken“ und die „gesunden“ Patienten korrekt erfasst. Die Kategorisierung der Probenkonzentrationen erfolgte anhand der Grenzwerte des Herstellers in „*Test positiv*“ und „*Test negativ*“. Als „*richtig positiv*“ und „*richtig negativ*“ galten die Testresultate, die durch den Test als „*positiv*“ bzw. „*negativ*“ eingestuft wurden und bei denen eine bewiesene bzw. keine bewiesene IFI auftrat. Als „*falsch positiv*“ oder „*falsch negativ*“ wurden die Resultate jener Patienten betrachtet, für welche der Test positiv oder negativ war, obwohl sie keine bzw. eine bewiesene IFI aufzeigten. Diese Angaben wurden in Vier-Feldertafeln zusammengefasst, mit Hilfe derer Sensitivität und Spezifität, sowie positive und negative prädiktive Werte ermittelt wurden. Hierbei ist zu beachten, dass die prädiktiven Werte nur beschränkt interpretierbar sind, da das Studiendesign die Vortestwahrscheinlichkeit mitbestimmt. Die Berechnung dieser Statistiken erfolgte für

den Einschlusstag und den Tag der maximalen Infektion (entspricht dem Tag des höchsten BDG-Wertes). Zusätzlich wurden für beide Tage die konsekutiven Werte bestimmt, wobei die Probe vom Einschlusstag und die darauffolgende Probe bzw. die Probe am Tag der maximalen Infektion und die darauffolgende Probe als „*positiv*“ gewertet wurden, wenn beide Proben über dem Cut-Off-Wert von 11 pg/ml lagen und als „*negativ*“, sobald eine oder beide Proben sich unter dem Grenzwert befand. Außerdem wurden für jeden Schwellenwert die dazugehörige Sensitivität und die Differenz aus $100 - \text{Spezifität}$ als *Receiver operating characteristic* (ROC-Kurve) ermittelt. Daraus ergibt sich eine Fläche unter der Kurve (AUC). Der Wert schwankt zwischen „0“ und „1“, abhängig von der Form der Kurve. Wenn der Parameter keine Trennschärfe für die Unterscheidung von gesund oder krank besitzt, nimmt die Kurve die Form einer Winkelhalbierenden an und der AUC-Wert beträgt 0,5. Dies entspricht einer Zufallsordnung. Wenn im Idealfall ein Test genau zwischen gesund und krank trennt, wird die Form der Kurve rechteckig und die Fläche tendiert gegen „1“.

Die graphische Darstellung der statistischen Auswertung erfolgte ebenfalls mit Hilfe von SPSS (Version 19, IBM SPSS Statistics, Deutschland GmbH, Ehningen). Bei der Darstellung in Form von Box-Whisker-Plots gibt die Box den Interquartilsabstand an, wobei die untere Grenze die 25 %- und die obere Grenze die 75 %-Quartile repräsentiert. Innerhalb der Boxen ist der Median eingezeichnet, die „*Whisker*“ umschließen maximal den 1,5fachen Interquartilsabstand. P-Werte $\leq 0,05$ werden durch (*) symbolisiert. Als gestrichelte Linie ist in den Grafiken jeweils der Cut-Off-Wert von 11 pg/ml, Extremwerte werden als einzelne Punkte dargestellt.

5. Ergebnisse

5.1. Population

5.1.1. Screening und Einschluss

Während des Beobachtungszeitraums von Januar 2005 bis September 2008 wurden 10.053 Patienten auf der operativen Intensivstation behandelt.

Von den aus der Herz-Thorax-Chirurgie aufgenommenen Patienten wurden für die Studiengruppe „Patienten nach kardiochirurgischer Operation“ 1867 Patienten mit einer Klappen- oder Bypassoperation auf die Ein- und Ausschlusskriterien gescreent und 61 Patienten eingeschlossen.

Für die Studiengruppe „Patienten mit schwerer Sepsis/ septischem Schock“ wurden 749 Patienten auf Eignung für die Studie evaluiert. Im Folgenden wird diese Gruppe als Sepsis-Patienten bezeichnet. 57 Patienten erfüllten die Einschluss- und keines der Ausschlusskriterien (siehe Abbildung 6).

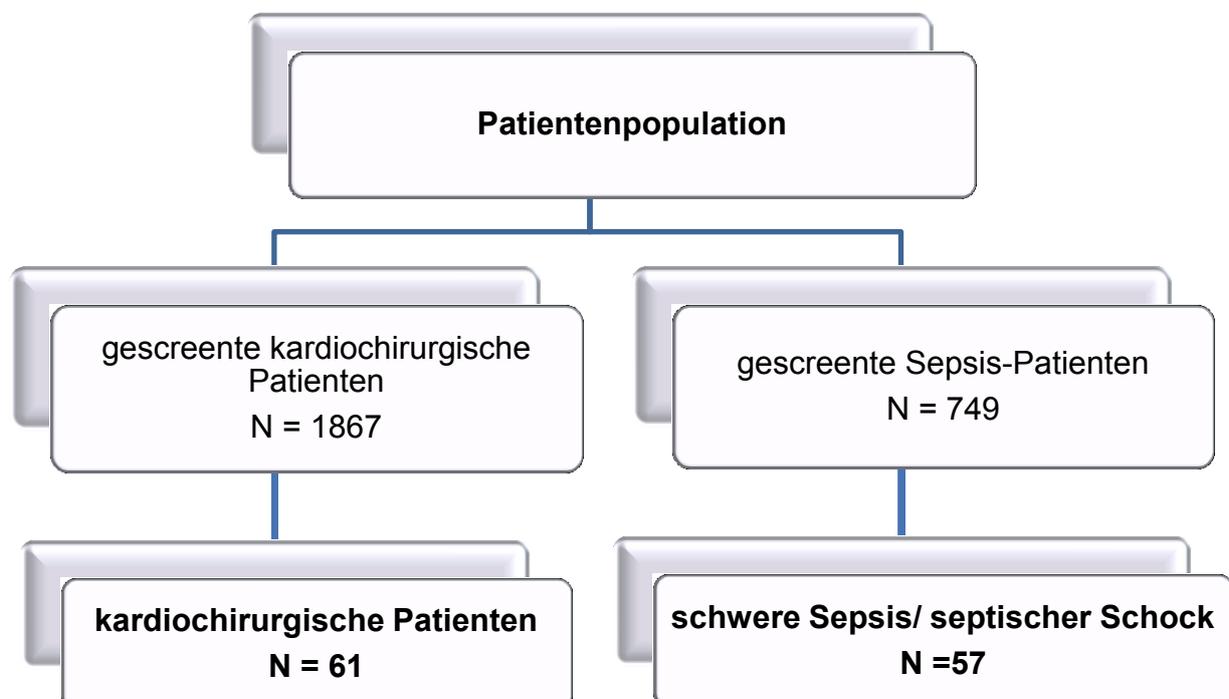


Abbildung 6: Organigramm zum Studienscreening und Einschlussprozess

Während des Erfassungszeitraums wurden 807 Patiententage in der Studie beobachtet. In der Analyse wurden 9216 Datensätze ausgewertet.

5.1.1. Probenanzahl

Es wurden insgesamt 806 Citrat-Plasma-Röhrchen von allen eingeschlossenen Patienten abgenommen und analysiert. Bei sechs Patienten wurde eine zusätzliche Blutentnahme am Entlassungstag von der Intensivstation durchgeführt. In der Datenanalyse ergab sich eine Gesamtprobenzahl von 673 (siehe Tabelle 9). Im Median wurden vier Proben pro Patient abgenommen (Range 2-6).

Tabelle 9: Übersicht Probenanzahl

	Blutentnahmen am Tag										Gesamtprobenzahl
	1	2	3	4	5	6	7	14	21	28	
Kardiochirurgische Patienten	61	36	34	31	29	26	23	16	8	4	268
Sepsis-Patienten	56	55	54	52	50	50	47	22	11	8	405
Gesamtprobenzahl	117	91	88	83	79	76	70	38	19	12	673

5.2. Kardiochirurgische Patienten versus Sepsis-Patienten

5.2.1. Demografie und Baseline-Charakteristik bei kardiochirurgischen und Sepsis-Patienten

In Tabelle 10 sind die wesentlichen Patientencharakteristika zusammengefasst. Unterschiede zwischen den Gruppen ergaben sich im Baseline-SOFA- (SOFA bei Aufnahme in die Studie) und im Candida-Score. Bei den kardiochirurgischen Patienten wurden mehr elektive Eingriffe durchgeführt und diese Patientengruppe wies eine höhere Rate an Herzinsuffizienzen und ischämischer Herzkrankheit auf als die Sepsis-Patienten.

Tabelle 10: Demografie und Baseline Charakteristika

		Alle Patienten		Kardiochirurgischen Patienten		Sepsis-Patienten		p-Wert
		n=118		n=61		n=57		
Alter	MW (SD)	62,97	(13,93)	64,77	(10,04)	61,04	(17,04)	0,203
Männl. Geschlecht	n (%)	80	(67,8)	42	(68,9)	38	(66,7)	0,845
BMI^a	MW (SD)	27,48	(4,69)	28,44	(4,29)	26,45	(4,92)	0,446
Vorerkrankungen^b								
Diabetes mellitus	n (%)	26	(16,6)	15	(15,0)	11	(19,3)	0,234
Karzinom	n (%)	10	(6,4)	2	(2,0)	8	(14,0)	0,062
Cerebrovaskuläre Erkrankung	n (%)	15	(9,6)	10	(10,0)	5	(8,8)	0,127
COPD	n (%)	13	(8,3)	6	(6,0)	7	(12,3)	0,536
Renale Dysfunktion	n (%)	18	(11,5)	8	(8,0)	10	(17,5)	0,447
Herzinsuffizienz	n (%)	26	(16,6)	22	(22,0)	4	(7,0)	<0,001
Ischämische Herzkrankheit	n (%)	49	(31,2)	37	(37,0)	12	(21,1)	<0,001
Art der Zuweisung								
Elektiveingriff	n (%)	55	(46,6)	47	(77)	8	(14,0)	<0,001
Noteingriff	n (%)	42	(35,6)	12	(19,7)	30	(52,6)	<0,001
Nicht operativer Notfall	n (%)	21	(17,8)	2	(3,3)	19	(33,3)	<0,001
APACHE II^c	MW (SD)	17,3	(7,5)	13,4	(6,5)	21,5	(6,3)	0,010
SAPS II^c	MW (SD)	39,9	(15,0)	31,3	(13,4)	49,16	(10,5)	0,017
SOFA^c Baseline	Med (IQR)	9,0	(6,0-11,0)	7,0	(4,5-9,0)	10,0	(8,0-12,0)	<0,001
Candida Score^c	Med (IQR)	1	(1,0-3,0)	1	(1,0-1,0)	3	(3,0-4,0)	<0,001
Hauptbehandelnde Klinik								
Kardiochirurgie	n (%)	59	(50,0)	59	(96,7)	0		<0,001
Viszeralchirurgie	n (%)	39	(33,1)	0		39	(68,4)	<0,001
Thoraxchirurgie	n (%)	8	(6,8)	0		8	(14,0)	-
Neurochirurgie	n (%)	6	(5,1)	0		6	(10,5)	-
Gefäßchirurgie	n (%)	2	(1,7)	2	(3,3)	0		-
Innere Medizin	n (%)	2	(1,7)	0		2	(3,5)	-
MKG	n (%)	2	(1,7)	0		2	(3,5)	-
Neutropenie	n (%)	1	(0,8)	0		1	(1,8)	-

^a BMI: Body Mass Index kalkuliert als Gewicht in kg dividiert durch Größe in m zum Quadrat

^b Mehrfachantworten pro Patient waren möglich

^c Fehlten Parameter, die zur Berechnung der Scores benötigt werden, wurden diese als normal gewertet.

COPD: Chronic obstructive pulmonary disease; IQR: Interquartile range; MKG: Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie; MW: Mittelwert; n: Patientenzahl; SD: Standard deviation

Der p-Wert gilt für den Vergleich der kardiochirurgischen vs. Sepsis-Patienten für die jeweilige Zeile.

54 Patienten (88,6 %) in der Gruppe nach kardiochirurgischer Operation verließen das Krankenhaus lebend, während in der Gruppe Sepsis dies bei 30 Patienten

(52,7 %) der Fall war (siehe Tabelle 11). Die Gesamtmortalität auf der Intensivstation betrug 25,4 %, während die Krankenhausmortalität aller Patienten bei 28,8 % lag. In der Gruppe nach kardiochirurgischer Operation sind 11,4 % der Patienten, in der Sepsis-Gruppe 27 (47,4 %) Patienten während des Krankenhausaufenthaltes verstorben, die Letalität betrug 45,6 %.

Das Follow up (FUP) 28 wurde 28 Tage nach Einschluss in die Studie erhoben.

Tabelle 11: Liegedauer und Outcome beider Studiengruppen

		Alle Patienten n=118		Kardiochirurg. Patienten n=61		Sepsis- Patienten n=57		p-Wert
Liegedauer ITS	Med (IQR)	11	(4,0-24,0)	5	(2,0-15,5)	19	(10,0-34,5)	
Entlassungsart ITS								
verlegt	n (%)	88	(74,6)	54	(88,6)	34	(59,6)	0,001
verstorben	n (%)	30	(25,4)	7	(11,4)	23	(40,4)	0,001
Liegedauer KH	Med (IQR)	28	(14,0-49,25)	17	(11,5-27,0)	42	(29,0-68,0)	0,041
Entlassungsart KH								
Entlassung KH	n (%)	63	(53,4)	40	(65,6)	23	(40,4)	0,009
Verlegung anderes KH	n (%)	21	(17,8)	14	(23,0)	7	(12,3)	0,101
verstorben an Sepsis	n (%)	27	(22,9)	1	(1,6)	26	(45,6)	<0,001
verstorben andere Todesursache	n (%)	7	(5,9)	6	(9,8)	1	(1,8)	0,115
FUP 28								
überlebt	n (%)	61	(51,7)	22	(36,1)	39	(68,4)	0,001
verstorben	n (%)	19	(16,1)	5	(8,2)	14	(24,6)	0,023
unbekannt	n (%)	38	(32,2)	34	(55,7)	4	(7,0)	<0,001

FUP: Follow up; IQR: Interquartile range; ITS: Intensivtherapiestation; KH: Krankenhaus; Med: Median; n: Patientenzahl

Der p-Wert gilt für den Vergleich der kardiochirurgischen vs. Sepsis-Patienten für die jeweilige Zeile.

5.2.2. Infektionsdaten beider Patientengruppen

5.2.2.1. Kardiochirurgische Patienten

Patienten nach kardiochirurgischer Operation erwarben insgesamt 25 neue Infektionen im Verlauf des Aufenthalts auf der ITS (siehe Abbildung 7), elf Pneumonien, drei Infektionen der oberen Atemwege, zwei primäre Bakteriämien, vier

Katheterinfektionen, zwei Wundinfektionen, eine intraabdominelle Infektion, eine Infektion des Urogenitaltrakts und eine Infektion mit unbekanntem Fokus.

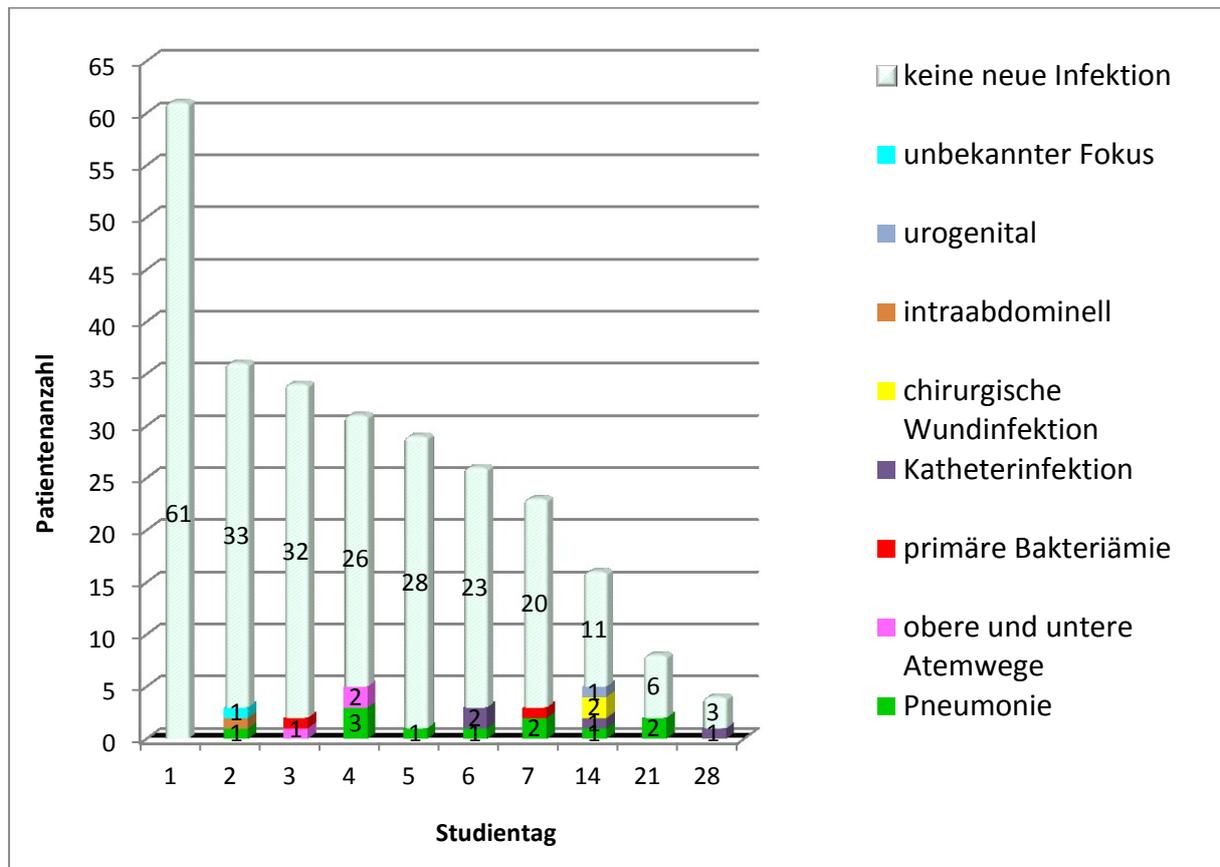


Abbildung 7: Im Studienverlauf neu aufgetretene Infektionen bei kardiochirurgischen Patienten sortiert nach Studientag (Tag der Diagnosestellung), gruppiert nach dem Infektfokus.

Mikrobiologisch ließen sich in 44 % grampositive und in 43 % gramnegative Bakterien sowie in 12 % Pilze nachweisen. Anaerobier wurden nicht detektiert.

5.2.2.2. Patienten mit schwerer Sepsis/ septischem Schock

Bei 30 Patienten (52,6 %) lag der Infektionsfokus intraabdominell, während bei 15 Patienten (26 %) die Sepsis durch eine Infektion der oberen und unteren Atemwege hervorgerufen wurde (siehe Abbildung 8). Eine primäre Bakteriämie trat bei drei Patienten auf, während nur eine Katheterinfektion nachweisbar war. Bei drei Patienten trat die Infektion als ein Empyem oder Mediastinitis intrathorakal auf. In zwei Fällen lag eine chirurgische Wundinfektion vor. Jeweils ein Patient hatte eine urogenitale bzw. eine Knochen/Weichteil-Infektion. In einem Fall ließ sich keine Ursache eruieren.

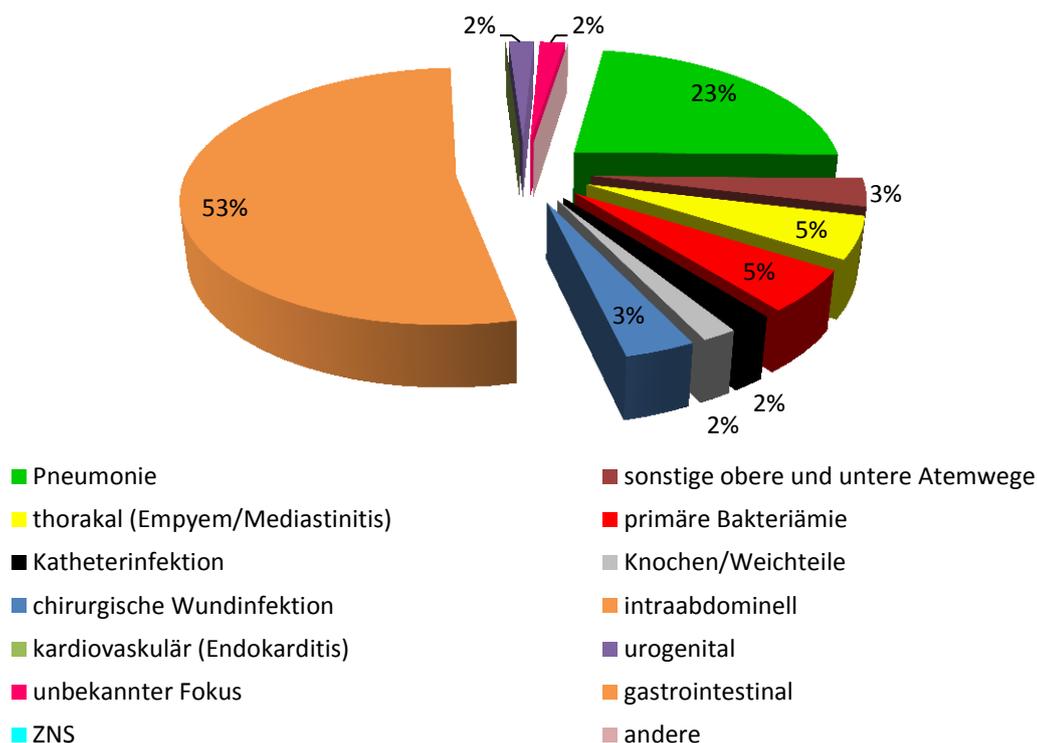


Abbildung 8: Prozentuale Häufigkeit des jeweiligen Infektfokus bei Sepsis-Patienten

Bei Einschluss wiesen zwei Patienten (3,5 %) eine schwere Sepsis und 55 Patienten (96,5 %) einen septischen Schock auf (siehe Tabelle 12).

Tabelle 12: Stadieneinteilung bei initial Patienten mit schwerer Sepsis/ septischem Schock nach den ACCP/SCCM-Kategorien

Sepsis- stadium	septischer Schock		schwere Sepsis		Sepsis		SIRS		keine		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Studientag	1	55	96,5	2	3,5	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	2	44	78,6	11	19,6	1	1,8	0	0,0	0	0,0
	3	29	53,7	23	42,6	1	1,9	0	0,0	1	1,9
	4	21	40,4	28	53,8	1	1,9	0	0,0	2	3,8
	5	15	30,0	29	58,0	1	2,0	3	6,0	2	4,0
	6	10	20,0	31	62,0	3	6,0	2	4,0	4	8,0
	7	12	25,5	26	55,3	6	12,8	1	2,1	2	4,3
	14	4	13,8	13	44,8	1	3,4	9	31,0	2	6,9
	21	4	25,0	5	31,3	4	25,0	1	6,3	2	12,5
	28	3	21,4	6	42,9	3	21,4	2	14,3	0	0,0

n: Patientenanzahl

Mikrobiologisch ließen sich bei den Sepsis-Patienten in 38 % grampositive und in 30 % gramnegative Bakterien sowie in 30 % Pilze nachweisen (siehe Abbildung 9).

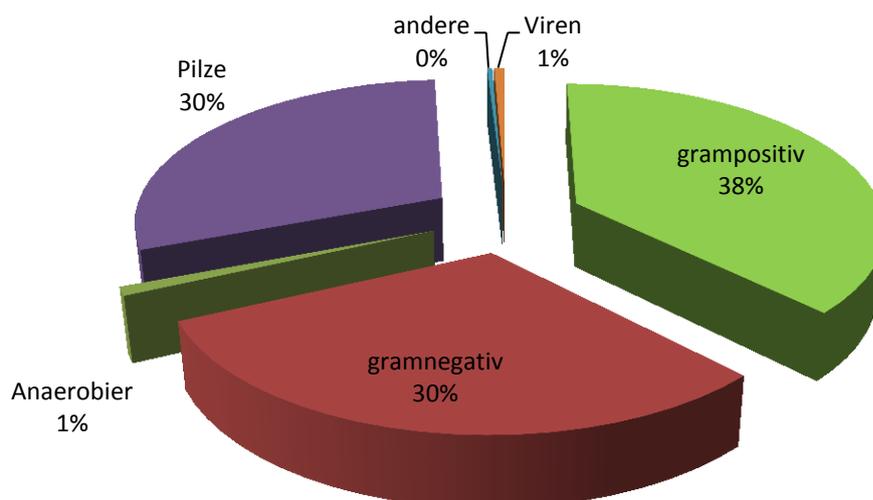


Abbildung 9: Infektionserreger bei Sepsis-Patienten.

5.2.2.3. Blutkulturen

Insgesamt wurden 109 Blutkultursets während des 28-Tage-Beobachtungszeitraums abgenommen. Von den 67 Blutkultursets der Gruppe Sepsis waren 13 (19,4 %) positiv. Grampositive Bakterien wurden in fünf, gramnegative in sechs und Pilze in zwei Blutkulturen nachgewiesen. In Tabelle 13 werden diese Erreger spezifiziert.

Tabelle 13: Spezifizierung der Erreger in Blutkulturen bei Sepsis-Patienten

Erreger	Häufigkeit	
	Anzahl	Prozent
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	23,1 %
<i>E. coli</i>	3	23,1 %
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	7,7 %
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	7,7 %
<i>Acinetobacter</i>	1	7,7 %
<i>Enterobacter</i>	2	15,4 %
<i>Candida</i>	2	15,4 %

5.2.3. Risikofaktoren und Candida-Score beider Patientengruppen

Die Verteilung der Risikofaktoren für eine invasive Candida-Infektion und der berechnete Candida-Score sehen wie folgt aus (Tabelle 14): In der Gruppe nach

kardiochirurgischer Operation hatten 61 Patienten einen Candida-Score kleiner drei und maximal zwei Risikofaktoren für eine invasive Candida-Infektion.

In der Gruppe schwere Sepsis/ septischer Schock hatten 12 Patienten kein Risiko für eine invasive Candida-Infektion mit einem Score von zwei. 19 Patienten hatten zusätzlich zur schweren Sepsis einen weiteren Risikofaktor mit einem Score von drei. 14 Patienten mit zwei zusätzlichen Risikofaktoren hatten einen Score von vier und 12 Patienten wiesen alle Risikofaktoren auf.

Tabelle 14: Risikofaktoren für eine invasive Candida-Infektion

	CS	n	Risikofaktoren			
			schwere Sepsis	total parenterale Ernährung	OP	multifokale Kolonisation
Kardiochirurgische Patienten	0	2	0	0	0	0
	1	58	0	0	58	0
	2	1	0	0	1	1
	3	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0
Sepsis-Patienten	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0
	2	12	12	0	0	0
	3	19	19	4	12	3
	4	14	14	11	14	3
	5	12	12	12	12	12

CS: Candida-Score; n: Patientenzahl; OP: Operation

In der Gruppe schwere Sepsis/ septischer Schock zeigten 22 Patienten (38,6 %) eine Besiedlung mit *Candida*, wobei diese bei 21 % unifokal und bei ca. 18 % multifokal war. Neun Patienten hatten eine bewiesene Candida-Infektion (IFI).

Tabelle 15: Candida-Verteilung

		Kolonisation Infektion				Gesamt
		weder kolonisiert noch infiziert	unifokal kolonisiert	multifokal kolonisiert ohne bewiesene Infektion	IFI	
Kardiochirurgische Patienten	n (%)	54 (88,5)	6 (9,8)	1 (1,6)	0 (0,0)	61 (100)
Sepsis-Patienten	n (%)	26 (45,6)	12 (21,1)	10 (17,5)	9 (15,8)	57 (100)
Gesamt	n (%)	80 (67,8)	18 (15,3)	11 (9,3)	9 (7,6)	118 (100)

IFI: Invasive fungale Infektion; n: Patientenzahl;

Aus der Tabelle 15 ist auch ersichtlich, dass von den 61 Patienten nach kardio-chirurgischer Operation zwar sieben eine Candidabesiedlung aufwiesen, aber keine invasive Candida-Infektion auftrat. Da die erhöhten BDG-Werte in dieser Gruppe als falsch positiv einzustufen sind, wurden diese Patienten in den nun folgenden Analysen ausgeschlossen.

5.2.4. Demografie bei Sepsis-Patienten mit und ohne IFI

Es gab keinen Unterschied zwischen den beiden Gruppen bezüglich Alter, Geschlecht und Schwere der Morbidität (eingeschätzt durch den APACHE II- und den SAPS II-Score, siehe Tabelle 16). Ebenfalls war die Schwere des Organversagens, beurteilt mit dem SOFA-Score, nicht statistisch signifikant unterschiedlich weder zu Beginn noch während der gesamten Untersuchungsdauer. Der Candida-Score war signifikant höher in der Gruppe mit invasiver Candida-Infektion. Elf Patienten hatten eine Bakteriämie, allerdings nur in der Gruppe ohne IFI.

Tabelle 16: Demografie der Sepsis-Gruppe mit und ohne IFI

		Alle		Keine IFI		IFI		p-Wert
		n=57		n=48		n=9		
Alter	MW (SD)	61,0	(17,0)	59,4	(17,6)	69,6	(11,0)	0,425
Männliches Geschlecht	n (%)	38	(66,7)	33	(68,8)	5	(55,6)	0,441
BMI^a	MW (SD)	26,45	(4,92)	26,07	(4,99)	28,51	(4,19)	0,364
Vorerkrankungen^b								
Diabetes mellitus	n (%)	11	(19,3)	8	(16,7)	3	(33,3)	0,297
Karzinom	n (%)	8	(14,0)	6	(12,5)	2	(22,2)	0,421
Zerebrovaskuläre Erkrankung	n (%)	5	(8,8)	3	(6,3)	2	(22,2)	0,210
COPD	n (%)	7	(12,3)	6	(12,5)	1	(11,1)	0,648
Renale Dysfunktion	n (%)	10	(17,5)	9	(18,8)	1	(11,1)	0,454
Herzinsuffizienz	n (%)	4	(7,0)	3	(6,3)	1	(11,1)	0,538
Ischämische Herzkrankheit	n (%)	12	(21,1)	10	(20,8)	2	(22,2)	0,650
APACHE II Score^c	MW (SD)	21,46	(4,92)	21,5	(6,6)	21,11	(4,99)	0,097
SAPS II Score^c	MW (SD)	49,16	(10,47)	48,9	(11,1)	50,78	(6,63)	0,455
Candida Score^c	MW (SD)	3,46	(1,053)	3,3	(1,0)	4,44	(0,726)	0,017
Candida Score ≥ 3^c	n (%)	45	(78,9)	36	(75)	9	(100)	0,180
SOFA_{Baseline}^c	Med (IQR)	10,0	(8,0-12,0)	10,0	(8,0-12,0)	10,0	(8,5-11,0)	0,545
SOFA_{gesamt}^c	Med (IQR)	9,0	(6,5-11,0)	9,0	(7,0-11,0)	9,0	(6,0-11,0)	0,31
Neutropenie	n (%)	1	(1,8)	1	(2,1)	0		nd
Blutkultursets								
positiv	n (%)	15	(75)	13	(86,7)	2	(13,3)	0,533
grampositive Bakteriämie	n (%)	5	(33,3)	5	(38,5)	0		0,359
gramnegative Bakteriämie	n (%)	6	(40,0)	6	(46,1)	0		0,269
Pilze	n (%)	4	(26,7)	2	(15,4)	2	(100)	0,013

^a BMI-Body Mass Index kalkuliert als Gewicht in kg dividiert durch Größe in m zum Quadrat

^b Mehrfachantworten pro Patient waren möglich

^c Fehlten Parameter, die zur Berechnung der Scores benötigt werden, wurden diese als normal gewertet.

COPD: Chronic obstructive pulmonary disease; IFI: Invasive fungale Infektion; IQR: Interquartile range; Med: Median; MW: Mittelwert; n: Patientenzahl; SD: Standard deviation

Der p-Wert gilt für den Vergleich der kardiochirurgischen vs. Sepsis-Patienten für die jeweilige Zeile.

Patienten mit bewiesener Candida-Infektion hatten tendenziell einen längeren Aufenthalt auf der Intensivstation, Krankenhausverweildauer und Mortalität waren gering erhöht. Tabelle 17 zeigt, dass das Vorliegen einer IFI jedoch statistisch keinen signifikanten Einfluss auf Verweildauer oder Überleben hatte.

Tabelle 17: Liegedauer und Outcome der Sepsis-Gruppe mit und ohne IFI

			Alle		Keine IFI		IFI		p-Wert
			n=57		n=48		n=9		
Hauptbehandelnde Klinik									
	Kardiochirurgie	n (%)	0		0		0		
	Viszeralchirurgie	n (%)	39	(68,4)	31	(64,6)	8	(88,9)	0,247
	Thoraxchirurgie	n (%)	8	(14,0)	7	(14,6)	1	(11,1)	nd
	Neurochirurgie	n (%)	6	(10,5)	0	(0,0)	6	(12,5)	nd
	Gefäßchirurgie	n (%)	0		0		0		
	Innere Medizin	n (%)	2	(3,5)	2	(4,2)	0	(0,0)	nd
	MKG	n (%)	2	(3,5)	2	(4,2)	0	(0,0)	nd
Liegedauer ITS	Med (IQR)		24,35	(17,63)	21,71	(17,11)	38,44	(13,78)	0,234
Entlassungsart ITS									
	verlegt	n (%)	34	(59,6)	30	(62,5)	4	(44,4)	0,461
	verstorben	n (%)	23	(40,4)	18	(37,5)	5	(55,6)	0,461
Liegedauer KH	Med (IQR)		49,77	(30,35)	45,6	(27,77)	72,0	(35,49)	0,286
Entlassungsart KH									
	Entlassung KH	n (%)	23	(40,4)	20	(41,7)	3	(33,3)	0,726
	Verlegung anderes KH	n (%)	7	(12,3)	6	(12,5)	1	(11,1)	1,000
	verstorben an Sepsis	n (%)	26	(45,6)	21	(43,8)	5	(55,6)	0,718
	verstorben andere Todesursache	n (%)	1	(1,8)	1	(2,1)	0	(0,0)	nd
FUP 28									
	überlebt	n (%)	39	(68,4)	32	(66,7)	7	(77,8)	nd
	verstorben	n (%)	14	(24,6)	13	(27,0)	1	(11,1)	nd
	unbekannt	n (%)	4	(7,0)	3	(6,3)	1	(11,1)	nd

FUP: Follow up; IFI: Invasive fungale Infektion; IQR: Interquartile range; ITS: Intensivstation; KH: Krankenhaus; Med: Median; MKG: Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie; n: Patientenanzahl; nd: not done

Der p-Wert gilt für den Vergleich der kardiologischen vs. Sepsis-Patienten für die jeweilige Zeile.

In der Gruppe schwere Sepsis/ septischer Schock hatten von 26 Patienten ohne Candida-Nachweis sieben Patienten einen Candida-Score von zwei und 14 Patienten einen Score von drei (siehe Abbildung 10). Von den 22 kolonisierten

Patienten hatten neun Patienten einen Candida-Score von kleiner oder gleich drei und 13 Patienten einen Score von vier oder fünf. Von den neun bewiesenen Candida-Infektionen hatte ein Patient einen Candida-Score von drei, drei Patienten einen von vier und fünf Patienten einen von fünf.

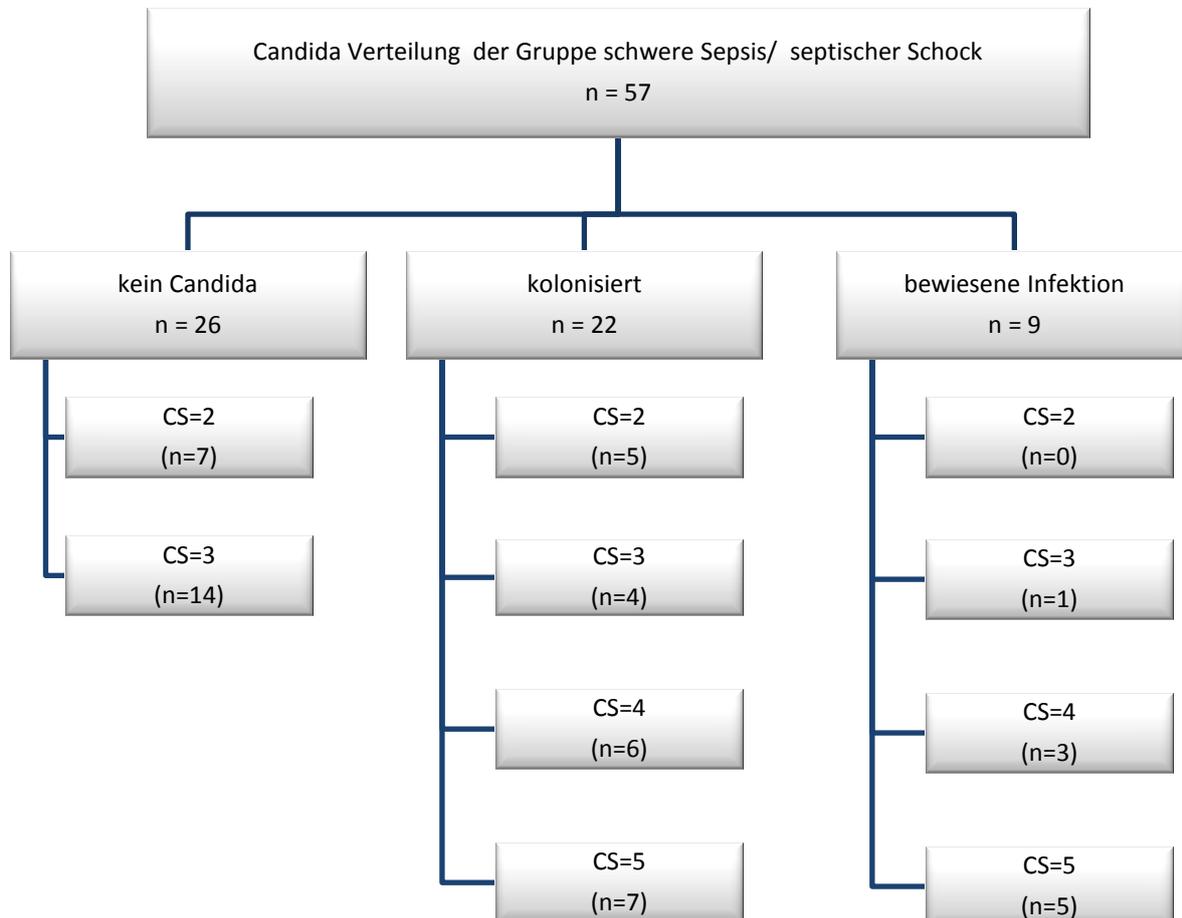


Abbildung 10: Candida-Verteilung und Candida-Score (CS) bei Sepsis-Patienten. Bei 26 Patienten war mikrobiologisch kein *Candida* nachweisbar, diese wiesen einen Candida-Score von maximal drei auf. Bei 22 kolonisierten Patienten hatten 17 einen Candida-Score ≥ 3 . Bei allen Patienten mit bewiesener fungaler Infektion lag der Candida-Score über drei Punkten.
n: Patientenzahl

5.2.5. Invasive Candida-Infektionen bei Sepsis-Patienten

Von den 57 Patienten mit schwerer Sepsis/ septischem Schock hatten neun eine invasive Candida-Infektion: bei einem Patienten ließ sich eine primäre Candidämie nachweisen, zweimal trat ein Pleuraempyem mit Nachweis von *Candida* auf und sechs Patienten hatten eine Candida-Peritonitis. In den primär sterilen Materialien wurde bei zwei Patienten *Candida* in der Blutkultur nachgewiesen (davon eine

sekundäre Candidämie bei IAI), zweimal *Candida* im Pleurapunktat und sechsmal *Candida* im Aszites (Mehrfachnennungen waren möglich, siehe Tabelle 18).

Tabelle 18: Einteilung der IFI-Patienten nach den Kriterien von Leon *et al.*

Kriterien		Sepsis-Patienten
Primäre Candidämie		1
Candida-Endophthalmitis		0
Isolation aus primär sterilen Materialien	Pleurapunktat	2
	Intraabdominelle Perforation	1
Candida-Peritonitis*	Anastomoseninsuffizienz mit Peritonitis	5
	schwere akute Pankreatitis	1
	Anwesenheit eines Peritonealdialysekatheters	0
histologisch dokumentiert		0

IFI: invasive fungale Infektion

In den beiden positiven Blutkulturen wurden einmal *Cand. albicans* und einmal *Cand. glabrata* isoliert. Ein Patient mit Candida-Peritonitis hatte eine positive Blutkultur mit Nachweis von *Candida* sowohl im Aszites als auch in der Blutkultur und wird als sekundäre Candidämie unter Candida-Peritonitis geführt.

Cand. albicans wurde in 13 (65 %), non-Candida-Spezies in fünf (25 %) Proben nachgewiesen (siehe Abbildung 11). Bei zwei Patienten ließ sich zusätzlich *Aspergillus* in Atemwegsmaterialien isolieren.

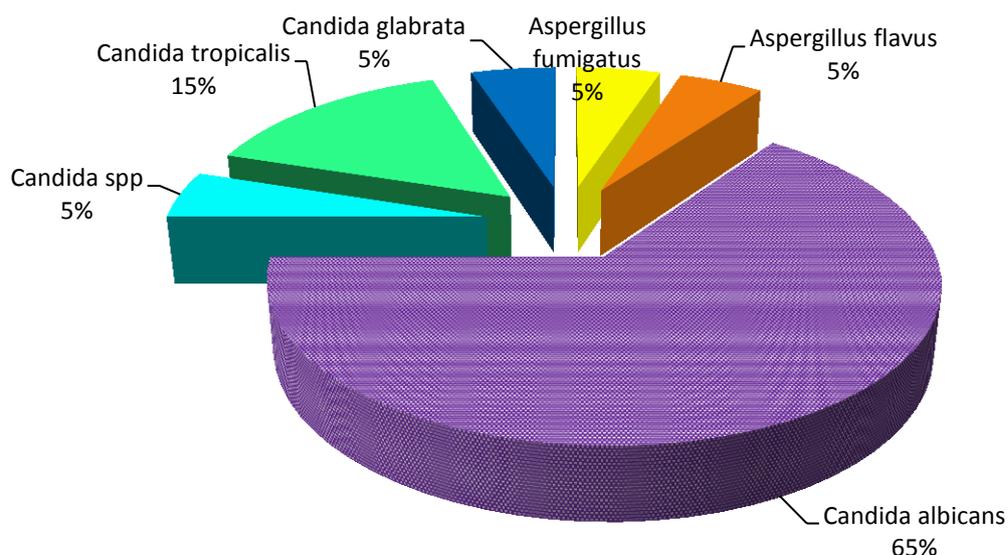


Abbildung 11: Erregerspektrum bei bewiesener Pilzinfektion

In Tabelle 19 sind die neun Patienten mit IFI und ihren Erregern differenziert dargestellt. Der Infektionstag wird als mikrobiologischer Nachweis von *Candida* in primär sterilen Materialien definiert.

Tabelle 19: Infektion und Erreger bei IFI

Patient	Infektion	Infektion am ST	Erreger				
			Erreger	Material	positiv am ST	weiterer Pilznachweis	weitere Pilzerreger
1	Pleuraempyem 1	1	<i>Cand. albicans</i>	Pleura-punktat	5	Wundabstrich Blasenkatheter	
2	Pleuraempyem 2	18	<i>Cand. albicans</i>	Pleura-punktat	24	BAL	<i>Asp. fumigatus</i>
3	IAI 1	1	<i>Cand. albicans</i>	Ascites	2	BAL	<i>Cand. tropicalis</i>
4	IAI 2	5	<i>Cand. albicans</i>	Ascites	5	Urin Wundabstrich Pleurapunktat Trachealsekret	<i>Asp. flavus</i>
5	IAI 3	1	<i>Cand. albicans</i>	Ascites	3	BAL	
6	primäre Candidämie	1	<i>Cand. glabrata</i>	Blutkultur	3	Wundabstrich Urin BAL	<i>Cand. albicans</i> <i>Cand. krusei</i> <i>Cand. tropicalis</i> <i>Asp. fumigatus</i>
7	IAI 4	2	<i>Cand. albicans</i>	Ascites	2		
8	IAI 5	17	<i>Cand. albicans</i>	Ascites	21	Wundabstrich	<i>Cand. dubliniensis</i>
9	IAI mit sekundärer Sepsis	21	<i>Cand. albicans</i>	Galle, Aszites, Blutkultur	28	Wundabstrich Urin BAL	

Asp: Aspergillus; BAL: bronchoalveoläre Lavage; Cand: Candida; IAI: intraabdominelle Infektion; ST: Studientag

5.2.6. BDG-Verlauf kardiochirurgischer und Sepsis-Patienten

Patienten nach kardiochirurgischer Operation zeigten deutlich höhere BDG-Werte als Patienten mit schwerer Sepsis/ septischem Schock (siehe Abbildung 12). Die Unterschiede waren bis zum vierten Studientag nachweisbar. BDG war zum Einschlusszeitpunkt bei 81 von 118 Patienten (68,4 %) größer oder gleich 11 pg/ml (Cut-Off-Wert). Sieben Tage nach Studieneinschluss hatten noch 33 von 70 Patienten (47,1 %) ein BDG über dem Cut-Off-Wert. Der Median von BDG betrug bei den Patienten nach kardiochirurgischer Operation 21,6 pg/ml (IQR 7,73 bis 70,25 pg/ml; Range 1,10 bis 918,40 pg/ml) und bei den Sepsis-Patienten 9,15 pg/ml (IQR

2,53 bis 19,98 pg/ml; Range 1,10 bis 381,00 pg/ml). Die BDG-Werte der kardiochirurgischen Patienten fielen am Studientag sieben im Median unter den Cut-Off-Wert. Sepsis-Patienten zeigten im Median am ersten und am siebten Studientag BDG-Werte über dem Cut-Off-Wert, während die BDG-Werte von Tag zwei bis Tag sechs um den Cut-Off-Wert lagen (mit einer großen Streubreite) und innerhalb von 28 Tagen kein Absinken zu verzeichnen war.

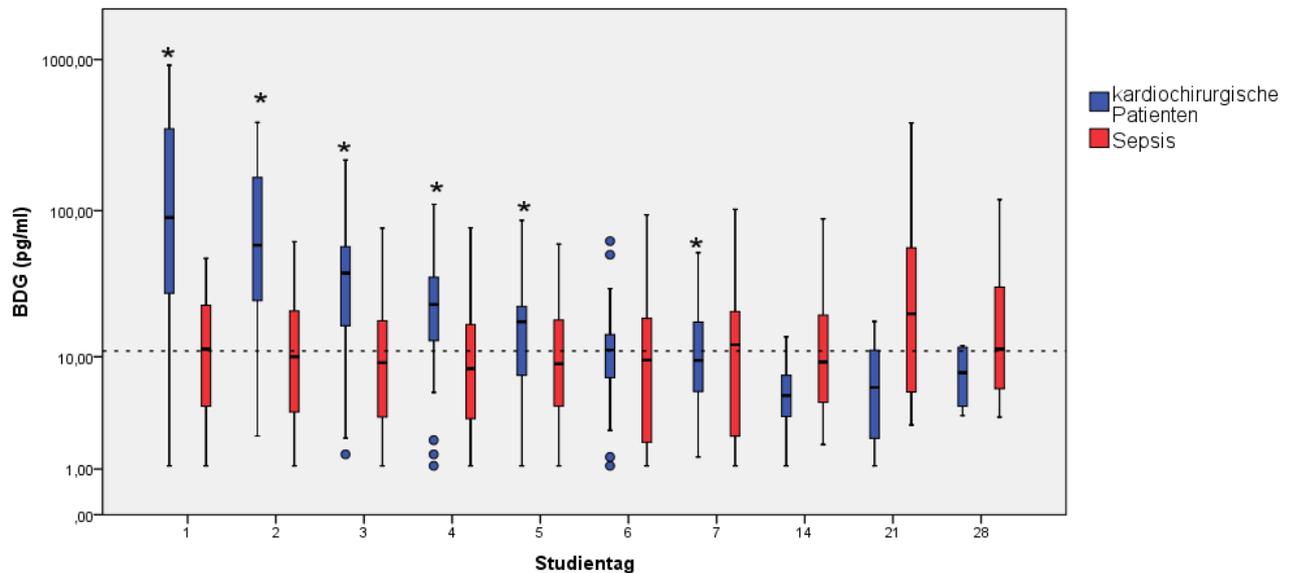


Abbildung 12: BDG-Verlauf bei kardiochirurgischen und Sepsis-Patienten.

Die initial deutlich höheren BDG-Spiegel der kardiochirurgischen Patienten gleichen sich denen der Sepsis-Patienten bis zum Studientag 6 an. P-Werte $\leq 0,05$ werden durch (*) symbolisiert. Die gestrichelte Linie stellt den Cut-Off-Wert von 11 pg/ml dar. Die einzelnen Punkte beschreiben Extremwerte.

5.2.6.1. Subgruppenanalyse kardiochirurgischer Patienten

Da bei der Datenanalyse deutlich erhöhte BDG-Werte bei den kardiochirurgischen Patienten im Unterschied zu den Sepsis-Patienten auffällig waren, wurde eine Subgruppenanalyse der Patienten mit und ohne Herz-Lungen-Maschine (HLM) vorgenommen, um einen eventuellen Einfluss der HLM auf die BDG-Werte herauszuarbeiten.

Von den 61 Patienten nach kardiochirurgischer Operation waren 58 Patienten an der HLM. Drei Patienten unterzogen sich dem Off-pump-coronary-artery-bypass-(OPCAB-)Verfahren. Beim Vergleich der BDG-Werte zwischen Patienten mit und ohne HLM zeigten sich deutlich höhere BDG-Werte in der Gruppe mit HLM, während die Medianwerte bei Patienten ohne HLM ab dem ersten Studientag unter dem Cut-Off-Wert lagen (siehe Abbildung 13).

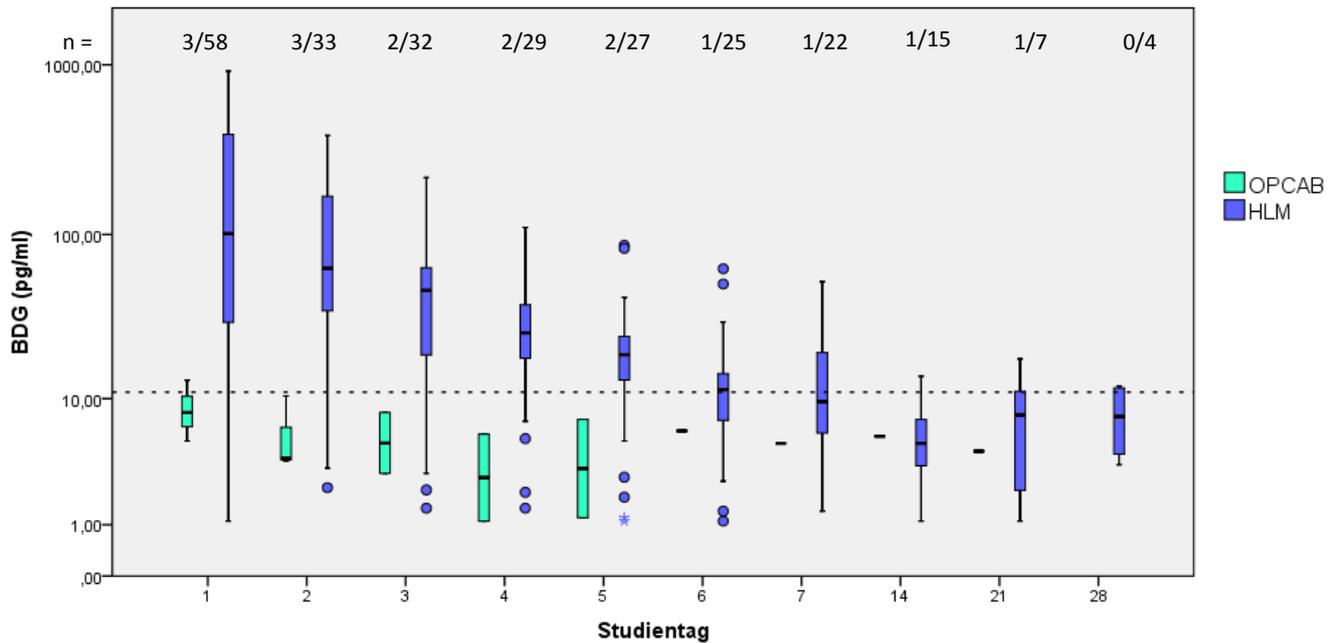


Abbildung 13: Der BDG-Verlauf bei kardiochirurgischen Patienten mit HLM zeigte deutlich höhere Werte als bei Patienten mit einem OPCAB-Verfahren. Die gestrichelte Linie stellt den Cut-Off-Wert von 11 pg/ml, einzelne Punkte stellen Extremwerte dar.
 HLM: Herz-Lungen-Machine; n: Patientenzahl; OPCAB: Off-pump-coronary-artery-bypass

Bei den kardiochirurgischen Patienten mit HLM waren deutlich erhöhte BDG-Werte nachweisbar. In der Literatur gibt es Angaben zu falsch positiven Befunden aufgrund von Dialysefiltern. Deshalb erfolgte eine Subgruppenanalyse zu den HLM-Filtern (siehe Tabelle 20). Es wurden vier verschiedene Filter verwendet: 36mal der Avant-Filter (Sorin), 14mal der Terumo-Filter (Capiox), siebenmal der QuadroX-Filter (Maquet) und einmal der Affinity Oxygenator (Medtronic). Da nur ein Patient an einem Tag eine BDG-Bestimmung mit dem Affinity Oxygenator von Medtronic hatte, ist dieser Wert nicht in die Auswertung eingeflossen. Zwischen den Gruppen gab es keine Unterschiede in den BDG-Werten.

Tabelle 20: BDG-Verlauf bei kardiochirurgischen Patienten in Abhängigkeit vom HLM-Filtern

ST	Avant Set Firma Sorin			Capiox Terumo Set			Quadrox Maquet Set		
	n	Med	IQR	n	Med	IQR	n	Med	IQR
1	36	131,25	(66,38-429,20)	14	83,00	(16,93-357,10)	7	47,40	(26,00-188,80)
2	28	77,05	(35,08-195,50)	4	62,85	(16,35-144,15)	1	56,40	(56,40-56,40)
3	27	47,90	(21,10-74,90)	4	35,30	(13,28-66,03)	1	23,60	(23,60-23,60)
4	24	26,65	(18,20-40,58)	4	20,30	(5,83-38,08)	1	19,30	(19,30-19,30)
5	23	19,10	(12,70-28,40)	3	14,10	(6,60-nd)	1	17,70	(17,70-17,70)
6	21	11,00	(6,00-14,35)	3	11,40	(7,00-nd)	1	14,40	(14,40-14,40)
7	18	9,70	(6,58-22,73)	3	5,10	(2,90-nd)	1	15,90	(15,90-15,90)
14	12	5,10	(3,28-9,70)	2	5,40	(2,50-nd)	1	5,00	(5,00-5,00)
21	6	8,95	(2,58-13,68)	1	1,10	(1,10-1,10)	0		
28	4	8,20	(3,88-11,85)	0			0		

IQR: Interquartile range; Med: Median; n: Patientenanzahl; ST: Studientag; alle BDG-Messwertangaben in [pg/ml]

5.2.6.2. Subgruppenanalyse Patienten mit Sepsis

BDG war zum Einschlusszeitpunkt bei 29 von 57 Patienten (50,9 %) größer oder gleich 11 pg/ml. Sieben Tage nach Studieneinschluss hatten noch 25 von 47 Patienten (53,2 %) ein BDG über dem Cut-Off-Wert.

Abbildung 14 stellt den Verlauf der BDG-Werte bei den Sepsis-Patienten dar. BDG fiel bei Sepsis-Patienten ohne Candida-Nachweis am zweiten Studientag unter den Cut-Off-Wert für eine IFI, während es bei kolonisierten Sepsis-Patienten bis Studientag sieben um den Cut-Off-Wert lag und erst dann abfiel. Bei den Sepsis-Patienten mit bewiesener Candida-Infektion lag der BDG-Wert an allen Messtagen über dem Cut-Off-Wert, mit Maximum am Tag 21. In der Post-hoc-Analyse unterschieden sich Patienten ohne Candida-Nachweis im BDG signifikant von denen mit bewiesener Infektion, während es zwischen kolonisierten Sepsis-Patienten und denen mit bewiesener Infektion keinen Unterschied gab.

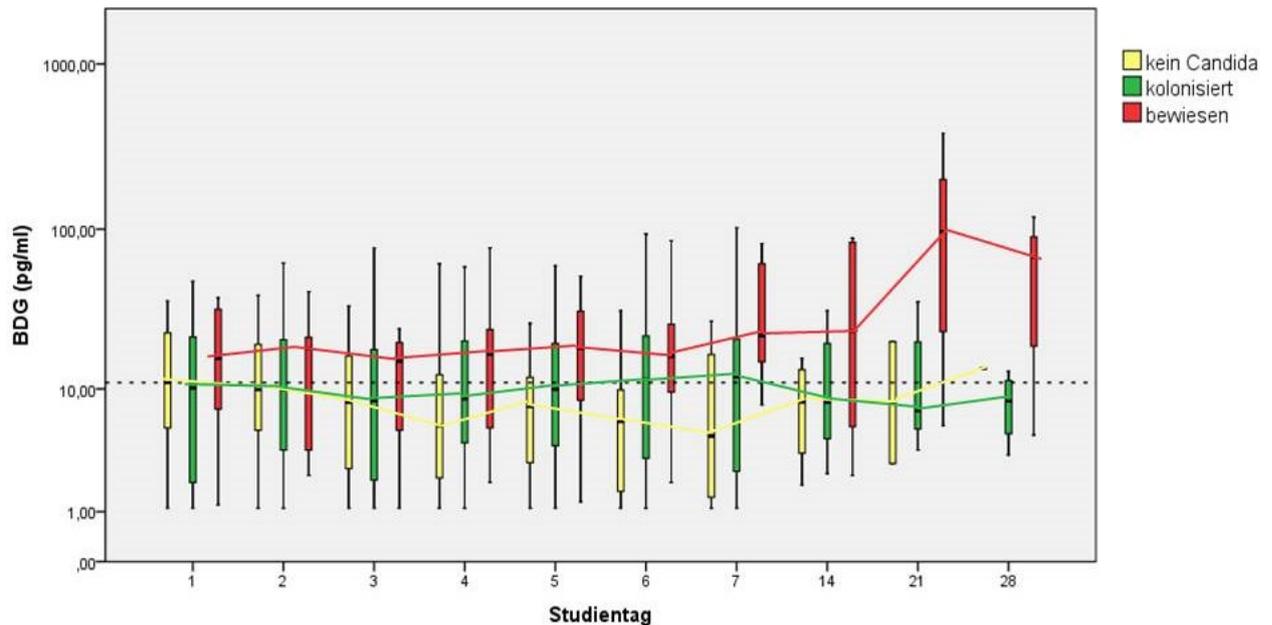


Abbildung 14: BDG-Verlauf der Sepsis-Patienten in Abhängigkeit von der Candida-Einteilung. BDG fiel bei den Sepsis-Patienten ohne Candida-Nachweis am Studientag zwei unter den Cut-Off-Wert für eine IFI, während es bei kolonisierten Sepsis-Patienten bis Studientag sieben um den Cut-Off-Wert lag und erst dann abfiel. Bei den Sepsis-Patienten mit bewiesener Candida-Infektion war ab Studientag drei ein deutlicher Anstieg der BDG-Werte zu verzeichnen, der am Tag 21 sein Maximum zeigte. Diese Patientengruppe fiel in den 28 Beobachtungstagen nie unter den Cut-Off-Wert.

In der Einzelfallanalyse wiesen zwei von neun IFI-Patienten an allen Messtagen BDG-Werte unter dem Cut-Off-Wert von 11 pg/ml auf (eine intraabdominelle Infektion und ein Pleuraempyem). Der Studientag, an dem die Diagnose IFI (dem Tag des mikrobiologischen Nachweises von *Candida* in primär sterilen Materialien) gestellt wurde, und die BDG-Werte an diesem Tag werden in Tabelle 21 dargestellt. Bei einem Patienten gab es zum Zeitpunkt der Diagnosestellung keine BDG-Bestimmung.

Tabelle 21: Infektionstag, minimale und maximale BDG-Werte der IFI-Patienten

Pat.	Infektion	Diagnose IFI am ST	BDG bei Diagnose IFI (pg/ml)	BDG \geq Cut-Off am ST	BDG _{min} (pg/ml)	BDG _{max} (pg/ml)
1	Pleuraempyem 1	1	34,9	1	16,3	34,9
2	Pleuraempyem 2	18	-	-	1,2	8,8
3	intraabdominelle Infektion 1	1	37,9	1	16,4	37,9
4	intraabdominelle Infektion 2	5	39,9	1	5,4	381,0
5	intraabdominelle Infektion 3	1	13,0	1	10,0	37,7
6	primäre Fungämie	1	21,9	1	21,9	118,8
7	intraabdominelle Infektion 4	2	3,7	7	3,7	61,4
8	intraabdominelle Infektion 5	17	5,6	-	< 1,2	9,1
9	intraabdominelle Infektion mit sekundärer Sepsis	21	105,0	1	15,0	105,0

BDG_{min}: BDG minimal; BDG_{max}: BDG maximal; IFI: Invasive fungale Infektion; Pat: Patient; ST: Studientag

Bei vier Patienten lagen vor Beginn der IFI BDG-Werte vor. Hier zeigte sich, dass die BDG-Werte vor dem Tag der Diagnosestellung bei drei Patienten unter dem Cut-Off-Wert für eine IFI lagen. Ab dem Tag der Diagnosestellung IFI stiegen die BDG-Werte außer bei dem Patienten mit dem Pleuraempyem und einem Patienten mit intraabdomineller Infektion kontinuierlich an. Der höchste BDG-Wert wurde bei Patient 4 mit einem intraabdominellen Abszess gemessen.

5.2.7. Einflussfaktoren auf die BDG-Werte

Von den unter 2.2.4.3 aufgeführten Einflussfaktoren auf den BDG-Test wurde in unserer Studie der Einfluss der Antibiotikagabe sowie die Nierenersatzverfahren analysiert. IFI-Patienten wurden von der Analyse ausgeschlossen, um ein homogenes Patientengut zu erhalten.

5.2.7.1. Antibiotikaverteilung

Da Breitspektrum-Penicilline die BDG-Spiegel beeinflussen können und es zu falsch positiven Resultaten kommen kann, wurde die antimikrobielle Therapie untersucht. In der Gruppe Patienten mit Sepsis hatten 75,4 % der Patienten eine antimikrobielle Therapie vor Aufnahme auf die ITS. In dieser Gruppe wurden in mehr als 50 % Penicilline und Cephalosporine in den ersten Studientagen gegeben.

Tabelle 22: Antibiotikaklassen als Einflussfaktoren auf die BDG-Werte bei Sepsis-Patienten

	Studientag										Gesamt
	1	2	3	4	5	6	7	14	21	28	
kein Antibiotikum	0	1	1	0	0	2	1	11	2	3	21
β -Lactam-Antibiotika	31	28	26	25	28	25	22	8	8	4	205
Aminoglykoside	1	0	1	1	1	1	2	0	0	1	8
Gyrasehemmer	7	8	8	8	6	8	7	1	2	2	57
Glykopeptide	7	7	6	7	5	5	6	4	1	0	48
Makrolide	1	1	1	1	1	1	2	0	0	0	8
andere Antibiotika	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	3
Antimykotika	1	2	2	2	2	2	3	2	1	2	19
Nitroimidazole	4	5	4	3	3	2	0	0	0	0	21
Lincosamide	2	1	1	1	1	1	1	0	0	0	8
Oxazolidinone	1	1	2	2	1	1	0	0	0	0	8
Glycylcycline	2	2	2	2	2	1	1	3	4	2	19

5.2.7.2. Breitspektrum-Penicillin als Einflussfaktor

Da insbesondere Penicilline zu falsch positiven BDG-Werten führen können, erfolgte eine Subgruppenanalyse der Candida-kolonisierten Sepsis-Patienten (ohne IFI) mit und ohne Breitspektrum-Penicillin und β -Lactamase-Inhibitor. Patienten unter diesem Antibiotikaeinfluss zeigten im Median über alle Studientage ein BDG über dem Cut-Off-Wert von 11 pg/ml (siehe Tabelle 23). Der Unterschied zwischen den Gruppen war aber bei kleiner Gruppengröße nicht statistisch signifikant.

Tabelle 23: BDG-Verlauf bei kolonisierten Sepsis-Patienten mit und ohne Breitspektrum-Penicillin und β -Lactamase-Inhibitor

ST	Ohne Piperacillin/Tazobactam			Mit Piperacillin/Tazobactam			p-Wert
	n	Med	IQR	n	Med	IQR	
1	11	3,90	(1,60-11,60)	11	17,30	(9,10-27,60)	0,517
2	11	3,90	(1,90-28,00)	11	16,30	(9,45-21,33)	0,391
3	11	3,50	(1,50-44,60)	11	15,40	(6,40-18,00)	0,473
4	11	4,70	(1,90-26,50)	11	12,80	(8,60-20,40)	0,231
5	11	4,90	(1,50-19,70)	11	14,80	(9,40-20,30)	0,319
6	11	3,20	(1,20-23,30)	11	15,00	(11,70-21,90)	0,439
7	11	2,50	(1,50-20,70)	11	13,60	(11,70-24,30)	0,210
14	4	6,30	(2,93-16,80)	5	10,20	(4,70-25,85)	-
21	1	5,30	-	4	13,60	(4,55-31,88)	-
28	1	6,90	-	3	9,90	-	-

IQR: Interquartile range; Med: Median; n: Patientenanzahl; ST: Studientag; alle BDG-Messwertangaben in [pg/ml]

5.2.7.3. Nierenersatzverfahren

Die Häufigkeit von kontinuierlichen Nierenersatzverfahren war an allen Studientagen mit etwa 20 % in den beiden Gruppen nicht signifikant unterschiedlich (Tabelle 24).

Tabelle 24: Anzahl der Nierenersatzverfahren bei kardiochirurgischen und Sepsis-Patienten

ST	Dialyse												p-Wert
	Kardiochirurgische Patienten				Sepsis-Patienten				Gesamt				
	ja		nein		ja		nein		ja		nein		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
1	7	11,5	54	88,5	11	19,3	46	80,7	18	15,3	100	84,7	0,238
2	8	22,2	28	77,8	14	25,0	42	75,0	22	23,9	70	76,1	0,760
3	6	17,6	28	82,4	13	24,1	41	75,9	19	21,6	69	78,4	0,476
4	9	29,0	22	71,0	13	25,0	39	75,0	22	26,5	61	73,5	0,687
5	9	31,0	20	69,0	11	22,0	39	78,0	20	25,3	59	74,7	0,373
6	7	26,9	19	73,1	9	18,0	41	82,0	16	21,1	60	78,9	0,365
7	7	30,4	16	69,6	8	17,0	39	83,0	15	21,4	55	78,6	0,199
14	3	18,8	13	81,3	1	34,0	28	96,6	4	8,9	41	91,1	0,084
21	0	-	8	100,0	1	6,3	15	93,7	1	4,2	23	95,8	-
28	0	-	4	100,0	1	7,1	13	92,9	1	5,6	17	94,4	-

n: Patientenanzahl; ST: Studientag; alle BDG-Messwertangaben in [pg/ml]

Der BDG-Verlauf bei Patienten nach kardiochirurgischer Operation und Dialyse zeigte im Median höhere Werte als bei solchen ohne Dialyse (siehe Tabelle 25). Der Unterschied erreichte aufgrund der Gruppenstärke keine statistische Signifikanz.

Tabelle 25: BDG-Verlauf bei kardiochirurgischen Patienten mit und ohne Dialyse

ST	Dialyse			Keine Dialyse			p-Wert
	n	Med	IQR	n	Med	IQR	
1	7	217,00	(89,90-470,00)	54	82,50	(22,95-359,15)	0,182
2	8	73,20	(32,75-238,25)	28	58,75	(12,48-165,25)	0,543
3	6	41,20	(20,48-154,75)	28	38,70	(13,23-56,50)	0,470
4	9	32,90	(21,30-56,90)	22	21,05	(6,78-33,28)	0,090
5	9	19,10	(15,65-27,60)	20	14,70	(5,55-25,48)	0,300
6	7	15,30	(11,60-19,20)	19	8,20	(4,80-11,90)	0,010
7	7	15,90	(7,70-23,10)	16	8,50	(5,03-11,35)	0,216
14	3	8,30	(5,00-nd)	13	5,00	(2,80-6,00)	0,139
21	0			8	6,10	(1,93-11,75)	-
28	0			4	8,20	(3,88-11,85)	-

IQR: Interquartile range; Med: Median; n: Patientenanzahl; ST: Studientag; alle BDG-Messwertangaben in [pg/ml]

Die BDG-Werte bei kolonisierten Sepsis-Patienten mit Dialyse (siehe Tabelle 26) lagen im Median über den Cut-Off-Wert bis Tag fünf. Kolonisierte Sepsis-Patienten ohne Dialyse zeigten einen Abfall bis Tag drei. Am Studientag sechs und sieben lag BDG ebenfalls über dem Cut-Off-Wert. Tendenziell hatten also kolonisierte Sepsis-Patienten mit Dialyse einen höheren BDG-Wert als solche ohne Dialyse. Aufgrund der Gruppengröße gab es keinen Unterschied zwischen den Patienten.

Tabelle 26: BDG-Verlauf bei kolonisierten Sepsis-Patienten mit und ohne Dialyse

ST	Dialyse			keine Dialyse			p-Wert
	n	Med	IQR	n	Med	IQR	
1	4	5,70	(1,70-22,98)	18	11,35	(1,93-21,98)	0,609
2	6	19,05	(1,90-36,50)	15	8,10	(3,70-20,10)	0,311
3	7	18,00	(2,10-46,10)	15	6,20	(1,50-17,00)	0,139
4	7	12,80	(1,90-29,00)	15	7,00	(4,20-20,40)	0,438
5	6	18,40	(1,50-53,55)	16	7,70	(4,23-15,23)	0,461
6	4	6,65	(1,30-58,80)	18	12,50	(3,35-22,25)	0,551
7	3	11,70	(1,50-nd)	19	12,20	(2,50-21,00)	0,924
14	0			9	8,10	(3,80-19,95)	
21	0			5	7,10	(4,50-27,95)	
28	0			4	8,40	(4,28-12,23)	

IQR: Interquartile range; Med: Median; n: Patientenzahl; ST: Studientag; alle BDG-Messwertangaben in [pg/ml]

5.2.8. SOFA-Score

Der SOFA-Score unterschied sich nur am Tag eins zwischen den kardiochirurgischen Patienten und denen mit schwerer Sepsis (siehe Tabelle 27).

Tabelle 27: Darstellung des SOFA-Scores über den Studienverlauf in den einzelnen Studiengruppen

ST	Alle Patienten			Kardiochirurgische Patienten			Sepsis-Patienten			p-Wert
	n	Med	95% CI	n	Med	95% CI	n	Med	95% CI	
1	118	9,0	(7,8-9,0)	61	7,0	(5,8-7,5)	57	10,0	(9,5-10,9)	< 0,001
2	92	10,0	(9,3-10,6)	36	10,0	(8,7-10,7)	56	9,5	(9,2-11,0)	0,658
3	88	10,0	(8,9-10,3)	34	10,0	(8,9-11,4)	54	9,0	(8,5-10,2)	0,144
4	83	10,0	(8,6-10,3)	31	10,0	(8,9-11,7)	52	8,0	(7,9-9,9)	0,084
5	79	9,0	(8,1-9,8)	29	10,0	(8,3-11,4)	50	8,0	(7,4-9,4)	0,128
6	76	9,0	(7,4-9,3)	26	9,5	(7,5-10,9)	50	8,5	(6,8-9,0)	0,226
7	70	7,5	(7,24-9,16)	23	10,0	(7,12-10,88)	47	7,0	(6,68-8,94)	0,280
14	45	7,0	(5,78-7,95)	16	8,0	(6,11-10,51)	29	6,0	(4,89-7,95)	0,102
21	24	5,5	(5,01-8,49)	8	7,0	(3,98-10,27)	16	4,5	(4,21-8,91)	0,479
28	18	7,5	(5,13-9,65)	4	12,5	(4,50-17,50)	14	6,0	(3,91-8,80)	0,061

CI: Confidence interval; Med: Median; n: Patientenanzahl; ST: Studientag

Die SOFA-Subscores unterschieden sich in beiden Gruppen im respiratorischen und im Gerinnungs-Score (Tabelle 28).

Tabelle 28: Darstellung der SOFA-Subscores in den einzelnen Studiengruppen

SOFA-Subscores			Alle Patienten		Kardiochirurgische Patienten		Sepsis-Patienten		p-Wert
			n=118		n=61		n=57		
kardiovaskulär	Med	(IQR)	3,0	(2,0-4,0)	3,0	(2,0-4,0)	3,0	(2,0-4,0)	0,675
respiratorisch	Med	(IQR)	2,0	(2,0-3,0)	2,0	(2,0-3,0)	3,0	(2,0-3,0)	0,013
renal	Med	(IQR)	1,0	(0,0-2,0)	1,0	(0,0-2,0)	1,0	(0,0-2,0)	0,943
Gerinnung	Med	(IQR)	0,0	(0,0-2,0)	1,0	(0,0-2,0)	0,0	(0,0-2,0)	< 0,001
hepatisch	Med	(IQR)	0,0	(0,0-2,0)	0,0	(0,0-1,5)	0,0	(0,0-2,0)	0,07
ZNS	Med	(IQR)	0,0	(0,0-1,0)	0,0	(0,0-1,0)	0,0	(0,0-1,0)	0,951

IQR: Interquartile range; Med: Median; n: Patientenanzahl; ZNS: Zentrales Nervensystem

5.2.8.1. Korrelation des SOFA-Scores mit BDG-Werten

Es liegt eine schwache, aber signifikante Korrelation zwischen den BDG-Spiegeln und dem SOFA-Score bzw. den SOFA-Subscores vor (Tabelle 29).

Tabelle 29: Korrelationskoeffizient nach Spearman von SOFA-Score und BDG aller Patienten

	BDG	SOFA gesamt	SOFA Kreislauf	SOFA Respiration	SOFA Niere	SOFA Gerinnung	SOFA Leber	SOFA ZNS
BDG	1,00							
SOFA gesamt	0,19 **	1,00 **						
SOFA Kreislauf	0,15 **	0,72 **	1,00					
SOFA Respiration	0,10 **	0,37 **	0,27 **	1,00				
SOFA Niere	0,15 **	0,59 **	0,36 **	0,19 **	1,00			
SOFA Gerinnung	0,19 **	0,63 **	0,29 **	0,07	0,27 **	1,00		
SOFA Leber	0,10 **	0,53 **	0,27 **	0,09 *	0,10 **	0,35 **	1,00	
SOFA ZNS	-0,84 *	0,23 **	0,10	-0,07	-0,08 *	-0,02	-0,01	1,00

* = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$

Bei den Patienten nach kardiochirurgischer Operation korrelierte BDG nur mit dem Subscore Kreislauf und Zentrales Nervensystem (ZNS) des SOFA-Scores sehr schwach (siehe Tabelle 30).

Tabelle 30: Korrelationskoeffizient nach Spearman von SOFA-Score und BDG bei kardiochirurgischen Patienten

	BDG	SOFA gesamt	SOFA Kreislauf	SOFA Respiration	SOFA Niere	SOFA Gerinnung	SOFA Leber	SOFA ZNS
BDG	1,00							
SOFA gesamt	0,13 *	1,00						
SOFA Kreislauf	0,25 **	0,74 **	1,00 **					
SOFA Respiration	0,13 *	0,44 **	0,37 **	1,00				
SOFA Niere	0,15 *	0,60 **	0,44 **	0,33 **	1,00			
SOFA Gerinnung	0,04	0,68 **	0,33 **	0,07	0,31 **	1,00		
SOFA Leber	0,07	0,54 **	0,31 **	0,14 *	0,08	0,36 **	1,00	
SOFA ZNS	-0,21 **	0,28 **	0,02	-0,10	-0,13 *	0,14 *	-0,03	1,00

* = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$

In der Sepsis-Gruppe zeigten die BDG-Spiegel eine schwache Korrelation im SOFA-Gesamtscore sowie in den Subscores der Respiration, Niere, Gerinnung und der Leber (siehe Tabelle 31).

Tabelle 31: Korrelationskoeffizient nach Spearman von SOFA-Score und BDG bei Sepsis-Patienten

	BDG	SOFA gesamt	SOFA Kreislauf	SOFA Respiration	SOFA Niere	SOFA Gerinnung	SOFA Leber	SOFA ZNS
BDG	1,00							
SOFA gesamt	0,22 **	1,00						
SOFA Kreislauf	0,09	0,71 **	1,00					
SOFA Respiration	0,14 **	0,33 **	0,21 **	1,00				
SOFA Niere	0,15 **	0,59 **	0,31 **	0,11 *	1,00			
SOFA Gerinnung	0,18 **	0,62 **	0,27 **	0,11 *	0,28 **	1,00		
SOFA Leber	0,16 **	0,54 **	0,25 **	0,05	0,12 *	0,39 **	1,00	
SOFA ZNS	-0,01	0,20 **	0,01	-0,05	-0,04	-0,11 *	0,01	1,00

* = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$

5.2.8.2. SOFA-Score bei Sepsis-Patienten mit und ohne IFI

Der SOFA-Score der Sepsis-Patienten im Studienzeitraum betrug im Median 9 (IQR 6,0 – 11,0). An keinem Tag zeigte sich ein Unterschied zwischen Patienten mit und ohne bewiesene IFI (siehe Tabelle 32).

Tabelle 32: SOFA-Score bei den Sepsis-Patienten nach Patienten mit IFI und ohne IFI

ST	Patienten ohne IFI				Patienten mit IFI				p-Wert
	n	Med	IQR	CI	n	Med	IQR	CI	
1	48	10,0	(8,0-12,0)	(9,5-11,1)	9	10,0	(8,5-11,0)	(8,7-11,6)	0,817
2	47	9,0	(8,0-11,0)	(9,1-11,1)	9	10,0	(8,0-13,0)	(8,0-12,6)	0,678
3	45	9,0	(7,0-11,0)	(8,3-10,3)	9	8,0	(8,0-12,0)	(7,5-11,6)	0,726
4	43	8,0	(7,0-11,0)	(7,6-10,0)	9	9,0	(7,0-11,0)	(7,4-11,5)	0,422
5	41	8,0	(6,0-11,0)	(7,2-9,4)	9	10,0	(6,0-12,0)	(6,5-11,5)	0,501
6	41	7,0	(4,0-11,0)	(6,3-8,7)	9	9,0	(7,5-12,5)	(6,9-12,4)	0,195
7	38	7,0	(4,8-11,0)	(6,4-8,9)	9	6,0	(5,5-10,0)	(5,0-11,6)	0,967
14	22	6,5	(3,8-9,0)	(4,7-7,4)	7	5,0	(3,0-9,0)	(3,1-9,2)	0,959
21	11	4,0	(3,0-10,0)	(3,0-9,5)	5	8,0	(3,5-10,5)	(2,6-11,8)	0,529
28	9	7,0	(2,5-10,0)	(2,9-9,4)	5	5,0	(3,0-11,5)	(0,9-12,7)	0,736

CI: Confidence interval; IFI: Invasive fungale Infektion; IQR: Interquartile range; Med: Median; n: Patientenanzahl; ST: Studientag

5.3. Kinetische Untersuchungen

5.3.1. Kalkulation der terminalen Halbwertszeit

Unter der Annahme (nicht gemessen), dass BDG bei den kardiochirurgischen Patienten präoperativ normwertig war (ähnlich zu den gemessenen Werten bei gesunden Probanden; [Otto et al. 2013]), und es während der Operation zum Übertritt von BDG ins Blut kommt, betrug die Halbwertszeit von BDG 35 h. Zur Berechnung wurden die täglichen BDG-Werte der ersten sieben Studientage verwendet. Die Anzahl der verfügbaren Messwerte pro Tag ist aus Tabelle 9 (Seite 55) ersichtlich.

Tabelle 33: Daten für die Kalkulation der terminalen Halbwertszeit von BDG bei kardiochirurgischen Patienten

	t	C	ln C	t * ln C	t * t
	(h)	(pg/ml)			
	24	216,85	5,38	129,10	576
	48	104,27	4,65	223,05	2.304
	72	53,08	3,97	285,97	5.184
	96	31,07	3,44	329,89	9.216
	120	21,09	3,05	365,87	14.400
	144	13,93	2,63	379,31	20.736
	168	13,63	2,61	438,87	28.224
Σ	672		25,73	2152,07	80.640

C: Konzentration; ln: natürlicher Logarithmus; n: Patientenanzahl; ST: Studientag; Σ: Summe; t: Zeit

$$\lambda_z = \frac{[\Sigma t_i * \Sigma \ln C_i - n * \Sigma (t_i * C_i)]}{[n * \Sigma t_i^2 - (\Sigma t_i)^2]} = \frac{672 * 25,73 - 7 * 2152,07}{7 * 80640 - 672^2} = \frac{2225,89841}{112896} = 0,0197 \text{ h}$$

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{\ln 2}{\lambda_z} = 35,19 \text{ h}$$

Bei Sepsis-Patienten ließ sich keine Halbwertszeit ermitteln, da BDG persistierend hoch war.

5.3.2. Kalkulation der AUC aller Patienten

Innerhalb der ersten fünf Studientage sind die AUC-Differenzen von Patienten nach kardiochirurgischer Operation und denen mit Sepsis signifikant unterschiedlich (siehe Tabelle 34).

Tabelle 34: Kalkulation der AUC bei kardiochirurgischen und Sepsis-Patienten

ST	Alle Patienten			Kardiochirurgische Patienten			Sepsis-Patienten			p-Wert
	n	Med	IQR	n	Med	IQR	n	Med	IQR	
	118	0,0	(0,00-0,00)	61	0,0	(0,00-0,00)	57	0,0	(0,00-0,00)	1,000
2	92	20,1	(6,74-58,99)	36	119,6	(46,98-23,80)	56	11,3	(4,73-23,80)	< 0,001
3	88	16,9	(16,85-39,26)	34	51,1	(21,74-115,46)	54	10,8	(3,16-18,86)	< 0,001
4	83	14,6	(5,05-35,55)	31	37,2	(14,50-46,10)	52	8,9	(3,48-18,70)	< 0,001
5	79	12,9	(5,20-25,90)	29	22,4	(10,55-30,95)	50	8,8	(4,31-17,64)	0,001
6	76	11,3	(4,43-19,34)	26	15,2	(10,16-20,33)	50	9,7	(3,60-18,48)	0,085
7	70	10,6	(5,26-20,77)	23	10,6	(6,80-15,15)	47	11,7	(36,84-113,49)	0,990
14	45	85,0	(39,90-125,48)	16	56,9	(36,84-113,49)	29	91,0	(40,25-171,50)	0,286
21	24	34,7	(13,56-94,76)	8	34,5	(19,25-78,319)	16	45,7	(0,00-200,55)	0,881
28	18	39,6	(8,66-116,46)	4	52,5	(20,30-95,99)	14	39,6	(0,00-239,75)	0,959

AUC: Area under the curve; IQR: Interquartile range; Med: Median; n: Patientenzahl; ST: Studientag

Nun erfolgt die Subgruppenanalyse für die kardiochirurgischen Patienten mit und ohne Infektion. Nur an den Studientagen zwei und drei sind zwischen beiden Subgruppen die Differenzen der AUC unterschiedlich (siehe Tabelle 35).

Tabelle 35: Kalkulation der AUC bei kardiochirurgischen Patienten mit und ohne Infektion

ST	alle Patienten			ohne Infektion			mit Infektion			p-Wert
	n	Med	IQR	n	Med	IQR	n	Med	IQR	
1	61	0,0	(0,00-0,00)	45	0,0	(0,00-0,00)	16	0,0	(0,00-0,00)	1,000
2	36	119,6	(46,98-314,88)	20	57,0	(19,65-145,40)	16	223,7	(118,19-399,88)	0,021
3	34	51,1	(21,64-115,46)	18	30,9	(11,35-71,89)	16	78,4	(40,90-139,28)	0,046
4	31	37,2	(14,50-46,10)	15	24,3	(11,95-41,70)	16	41,5	(18,41-52,75)	0,216
5	29	22,4	(10,55-30,95)	13	18,4	(9,58-27,98)	16	25,3	(11,06-35,53)	0,374
6	26	15,2	(10,16-20,33)	11	13,4	(11,80-16,60)	15	16,6	(6,70-23,95)	0,610
7	23	10,6	(6,80-15,15)	8	10,6	(7,24-12,08)	15	10,6	(605-17,40)	0,925
14	16	56,9	(36,84-113,49)	3	57,8	(41,30-nd)	13	27,7	(31,68-124,95)	0,900
21	8	34,5	(19,25-78,31)	1	27,7	(27,65-27,65)	7	35,0	(16,45-84,00)	0,750
28	4	52,5	(20,30-95,99)	1	27,7	(27,65-27,65)	3	77,4	(17,85-nd)	1,000

AUC: Area under the curve; IQR: Interquartile range; Med: Median; n: Patientenzahl; nd: not done; ST: Studientag

5.4. Prognostische Kapazität

5.4.1. Gruppen Überlebende und Verstorbene

Analysiert man die gesamte Kohorte nach überlebenden und verstorbenen Patienten im Krankenhaus, haben die Überlebenden höhere BDG-Werte bis Studientag fünf (siehe Tabelle 36). Beide Gruppen lagen in diesem Zeitraum über dem Cut-Off-Wert. Die Gruppe mit den Verstorbenen lag bis Tag sieben über bzw. um den Cut-Off-Wert und zeigte dann eine fallende Tendenz. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den BDG-Werten der beiden Gruppen bestand an keinem der Messtage.

Tabelle 36: BDG-Verlauf aller überlebenden und verstorbenen Patienten im Krankenhaus

ST	Überlebende			Verstorbene			p-Wert
	n	Med	IQR	n	Med	IQR	
1	83	29,80	(8,20-194,00)	34	19,45	(6,50-39,20)	0,110
2	58	21,45	(4,88-61,58)	33	16,80	(6,50-38,40)	0,457
3	57	16,80	(4,50-45,70)	31	15,20	(3,80-24,20)	0,518
4	53	14,60	(5,10-31,55)	30	11,40	(3,93-22,48)	0,396
5	50	13,35	(4,80-23,18)	29	12,10	(5,65-18,70)	0,927
6	48	9,55	(2,80-14,60)	28	10,90	(6,85-24,18)	0,185
7	42	9,30	(3,13-22,23)	28	12,90	(6,13-19,53)	0,549
14	24	5,45	(2,83-10,65)	14	10,85	(4,53-22,78)	0,090
21	9	10,10	(4,85-19,00)	10	6,35	(2,90-48,98)	0,744
28	4	11,70	(8,03-13,20)	8	7,45	(3,83-53,95)	0,497

IQR: Interquartile range; Med: Median; n: Patientenanzahl; ST: Studientag; alle BDG-Messwertangaben in [pg/ml]

In der Subgruppenanalyse der kardiochirurgischen Patienten (siehe Tabelle 37) zeigten die Überlebenden im Median außer am Tag eins tendenziell einen höheren BDG-Wert als die verstorbenen Patienten. Zwischen den Gruppen ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied.

Tabelle 37: BDG-Verlauf der überlebenden und verstorbenen kardiochirurgischen Patienten im Krankenhaus

ST	Überlebende kardiochirurgische Patienten			Verstorbene kardiochirurgische Patienten			p-Wert
	n	Med	IQR	n	Med	IQR	
1	54	81,60	(22,95-399,30)	7	168,00	(89,90-223,00)	0,211
2	29	61,10	(17,60-192,00)	7	56,40	(35,30-157,00)	0,674
3	27	45,30	(13,50-57,40)	7	32,10	(23,60-70,10)	0,671
4	25	27,60	(11,70-39,75)	6	21,45	(15,00-27,38)	0,083
5	23	18,90	(6,60-28,40)	6	16,55	(9,83-21,55)	0,651
6	21	11,40	(6,55-14,35)	5	8,90	(4,65-15,30)	1,000
7	18	9,70	(5,08-22,73)	5	6,80	(3,65-11,80)	0,317
14	12	5,30	(2,83-9,70)	4	5,00	(3,58-7,48)	0,569
21	6	8,95	(3,58-13,68)	2	2,25	(1,60-nd)	0,429
28	2	11,70	(11,40-nd)	2	4,25	(3,50-80,40)	0,333

IQR: Interquartile range; Med: Median; n: Patientenanzahl; nd: not done; ST: Studientag; alle BDG-Messwertangaben in [pg/ml]

In der Subgruppenanalyse der Sepsis-Patienten hatten die Verstorbenen über den ganzen Verlauf ein nicht signifikant erhöhtes BDG (siehe Tabelle 38). Bei überlebenden Sepsis-Patienten dagegen lag BDG im Median unter dem Cut-Off-Wert, außer am Studientag 21. Hier ist allerdings eine sehr kleine Patientenanzahl zu verzeichnen.

Tabelle 38: BDG-Verlauf der überlebenden und der verstorbenen Sepsis-Patienten

ST	Überlebende Sepsis-Patienten			Verstorbene Sepsis-Patienten			p-Wert
	n	Med	IQR	n	Med	IQR	
1	29	9,50	(3,85-18,20)	27	15,80	(5,70-26,50)	0,279
2	29	9,90	(3,40-22,85)	26	13,15	(5,32-20,93)	0,479
3	30	7,70	(1,95-22,58)	24	11,20	(3,50-17,08)	0,747
4	28	6,85	(2,53-16,95)	24	9,20	(3,38-19,53)	0,633
5	27	7,60	(3,80-18,70)	23	10,60	(4,90-16,50)	0,436
6	27	6,00	(1,50-15,00)	23	11,70	(6,80-29,20)	0,055
7	24	7,35	(1,83-21,75)	23	15,00	(7,80-21,00)	0,229
14	12	6,80	(3,00-12,53)	10	17,75	(5,50-30,75)	0,099
21	3	20,20	(5,30-nd)	8	13,60	(4,18-75,33)	-
28	2	10,25	(6,90-nd)	6	11,45	(4,45-80,40)	-

IQR: Interquartile range; Med: Median; n: Patientenanzahl; nd: not done; ST: Studientag; alle BDG-Messwertangaben in [pg/ml]

Anschließend erfolgte die Analyse bei allen Patienten, ob ein an den Studientagen 7, 14, 21 und 28 über dem Cut-Off-Wert liegendes BDG Einfluss auf die Krankenhaussterblichkeit hat (siehe Tabelle 39). Für die Analyse „konsekutiv“ musste BDG jeweils bei zwei aufeinander folgenden Messtagen über dem Cut-Off-Wert liegen.

Tabelle 39: Vorhersagewerte einer BDG-Erhöhung an gewählten Studientagen auf die Krankenhaussterblichkeit.

	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV
BDG \geq 11 pg/ml				
Studientag 7	0,57	0,60	0,43	0,76
Studientag 14	0,41	0,82	0,58	0,70
Studientag 21	0,33	0,67	0,50	0,50
Studientag 28	0,30	0,50	0,43	0,36
konsekutiv BDG \geq 11 pg/ml				
Studientag 7	0,36	0,86	0,63	0,67
Studientag 14	0,24	0,89	0,57	0,66
Studientag 21	0,33	0,75	0,57	0,53
Studientag 28	0,10	0,75	0,33	0,40

NPV: Negative predictive value; PPV: Positive predictive value

5.5. Diagnostischer Stellenwert

5.5.1. Sensitivität und Spezifität bei Sepsis-Patienten

Die Patienten nach kardiochirurgischer Operation wurden aus dieser Analyse herausgenommen, da in dieser Gruppe mit hoher Sicherheit keine IFI vorlag und die stark erhöhten BDG-Werten als falsch positiv zu werten sind. Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer prädiktiver Wert von BDG für die Detektion einer IFI wurde zu folgenden Messzeitpunkten bestimmt: bei Studieneinschluss und am Tag des höchsten BDG (Infektion_{max}). Die Analyse erfolgte jeweils für eine einzelne BDG-Messung, für zwei konsekutive BDG-Werte, für den Candida-Score und für die Kombination von BDG mit dem Candida-Score (Tabelle 40).

In der Gruppe der Patienten mit Sepsis bestand kein Unterschied in den BDG-Werten von Patienten ohne Candida-Nachweis und kolonisierten Patienten. Aus

diesem Grund wurden diese beiden Patientengruppen in den weiteren Analysen zur Gruppe „keine IFI“ zusammengefasst.

Tabelle 40: Statistische Gütekriterien von BDG bei Sepsis-Patienten: Patienten ohne IFI vs. Patienten mit IFI

		Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV
BDG \geq 11 pg/ml					
	bei Einschluss	0,66	0,52	0,24	0,9
	bei Infektion _{max}	0,77	0,33	0,24	0,88
konsekutiv BDG \geq 11 pg/ml					
	bei Einschluss	0,55	0,66	0,23	0,88
	bei Infektion _{max}	0,55	0,56	0,19	0,87
CS \geq 3					
	bei Einschluss	1	0,25	0,2	1
	bei Infektion _{max}	0,55	0,38	0,26	0,82
BDG \geq 11 pg/ml + CS \geq 3					
	bei Einschluss	0,66	0,63	0,24	0,91
	bei Infektion _{max}	0,77	0,5	0,23	0,92

CS: Candida Score; IFI: Invasive fungale Infektion; Infektion_{max}: Tag der maximalen Infektion; NPV: Negative predictive value; PPV: Positive predictive value

Die ROC-Analyse bei Sepsis-Patienten ergab eine Fläche unter der Kurve von 0,628 (95 % Konfidenzintervall [0,427 und 0,830]) für BDG-Messungen am 1. Studientag (siehe Abbildung 15) und von 0,779 (95 % Konfidenzintervall [0,592 und 0,966]) am Tag der maximalen BDG-Konzentration (siehe Abbildung 16). Für den Candida-Score betrug die Fläche der ROC-Kurve sowohl am ersten Studientag sowie am Tag der maximalen Infektion 0,810 (95% Konfidenzintervall [0,676 und 0,944]).

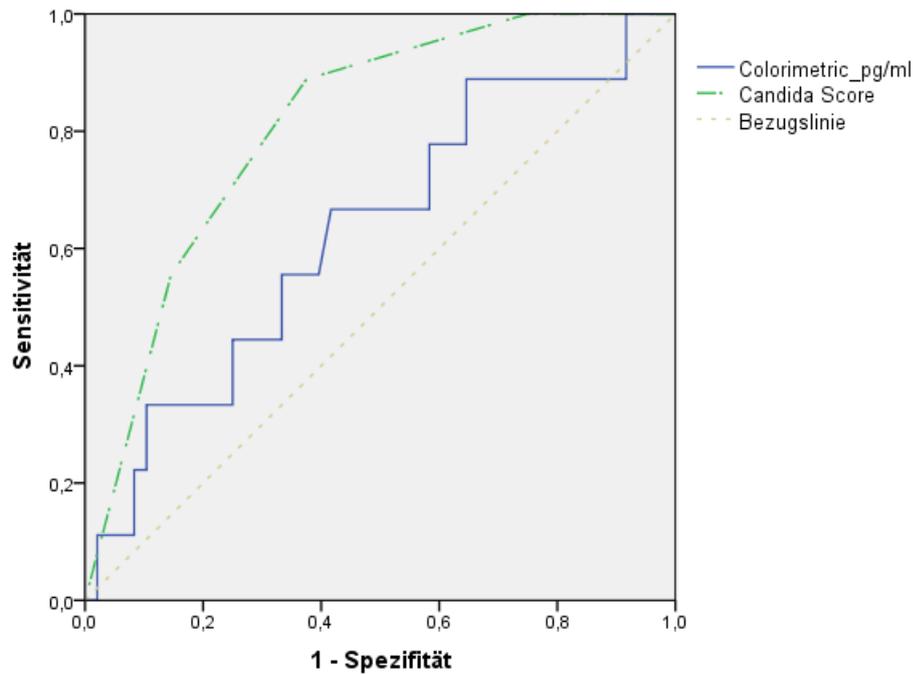


Abbildung 15: ROC bei Sepsis-Patienten am Einschlusstag. Die ROC-Analyse ergab für BDG eine Fläche unter der Kurve von 0,628 (95 % Konfidenzintervall [0,427 und 0,830]) und für den Candida-Score von 0,810 (95% Konfidenzintervall [0,676 und 0,944]).

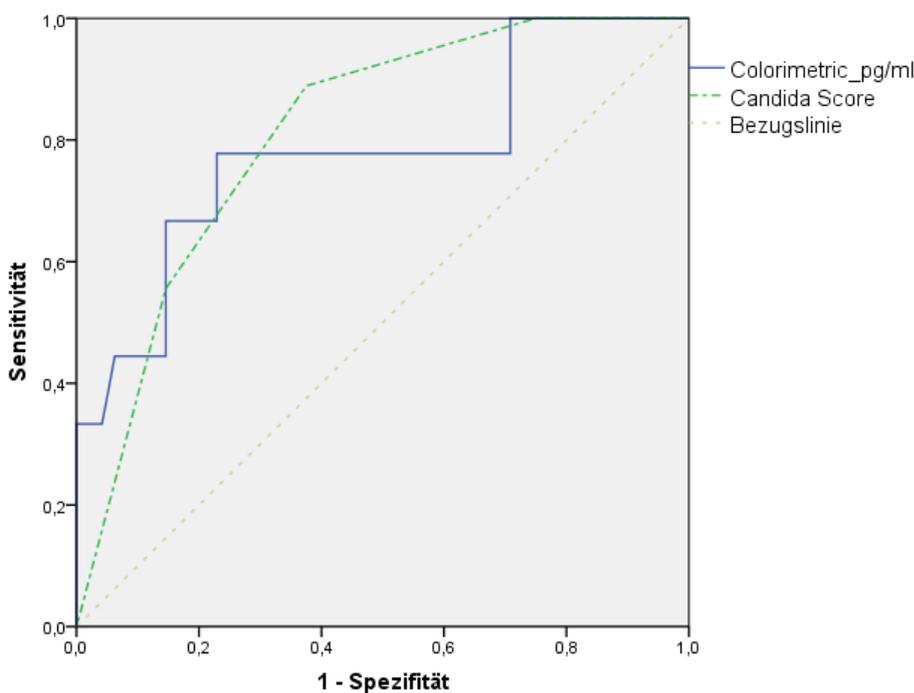


Abbildung 16: ROC bei Sepsis-Patienten am Tag der maximalen Infektion. Die ROC ergab für BDG eine Fläche unter der Kurve von 0,799 (95 % Konfidenzintervall [0,427 und 0,830]) und von 0,810 (95% Konfidenzintervall [0,676 und 0,944]) für den Candida-Score.

6. Diskussion

6.1. Zusammenfassung und Diskussion wesentlicher Ergebnisse

6.1.1. BDG bei Patienten mit schwerer Sepsis

In dieser prospektiven, monozentrischen Studie wurden ein sequentielles, systemisches Monitoring von BDG ab dem Zeitpunkt der Diagnosestellung einer Sepsis bzw. nach kardiochirurgischer Operation über sieben Tage sowie eine anschließende wöchentliche Verlaufskontrolle bis Tag 28 durchgeführt. Bei Patienten mit Sepsis lagen die BDG-Werte in der ersten Woche um den vom Hersteller angegebenen Cut-Off-Wert. Innerhalb der Sepsis-Gruppe (57 Patienten) lagen nur bei den neun Patienten mit IFI die BDG-Werte an allen Studientagen über dem Cut-Off-Wert. Im Gegensatz dazu waren die Medianwerte der Patienten, bei denen lediglich eine Kolonisation oder gar kein *Candida*-Befall nachgewiesen war, nur an Tag sechs und sieben gering über dem Cut-Off-Wert. Statistisch signifikant war der Unterschied jedoch an keinem Tag, so dass bei Patienten mit bewiesener IFI lediglich ein tendenziell höheres BDG zu verzeichnen war. Kolonisierte Sepsis-Patienten wiesen auch in den Studien von Tissot und Poissy (Tissot *et al.* 2013, Poissy *et al.* 2014) zum Teil erhöhte BDG-Werte auf, ähnlich dem Ergebnis dieser Arbeit. Die Autoren erklären dies durch eine mögliche Translokation von BDG in die Blutbahn bei kolonisierten Patienten. Außerdem ist es nicht auszuschließen, dass Patienten Pilze im Blut oder anderen primär sterilen Materialien enthielten, aber nach der gültigen Definition keine IFI aufwiesen, da die Kultur der Proben negativ war. Weiterhin sind falsch positive BDG-Testergebnisse zu diskutieren. Für Breitspektrum-Penicilline, Dialysefilter, Immunglobuline, Albumine und Verbandsmüll wurde der Einfluss auf den BDG-Test nachgewiesen (Mennink-Kersten und Verweij 2006). Zudem fanden Digby *et al.* auch bei Bakteriämie mit Streptokokken erhöhte BDG-Werte (Digby *et al.* 2003), da einige Stämme Glucan-ähnliche Substanzen produzieren (Stone und Clarke 1992). In einer Kohortenstudie mit gemischter Population wurde von Mohr *et al.* ein ähnliches Ergebnis wie bei oben genannten Autoren gefunden. Auch bei ihm ist unbekannt, ob die deutlich erhöhten BDG-Werte eine subklinische Infektion reflektieren oder durch Ursachen wie Translokation, Auswascheffekte, Transfusion, Hämodialyse, chirurgisches Verbandsmaterial oder

Medikamente hervorgerufen wurden (Mohr *et al.* 2011). In der hier durchgeführten Studie hatten kolonisierten Patienten mit Dialyse erhöhte BDG-Werte, es konnte aber kein statistisch signifikanter Unterschied in den BDG-Spiegeln nachgewiesen werden. Ebenso wiesen kolonisierte Sepsis-Patienten bei Piperacillin/Tazobactamgabe erhöhte BDG-Spiegel auf, ein signifikanter Unterschied bestand auch wieder bei kleiner Gruppengröße nicht.

In unserer Studie zeigten Patienten mit Sepsis mehrere Tage vor einem positiven Blutkulturergebnis erhöhte BDG-Werte. Dies entspricht publizierten Ergebnissen anderer Autoren (Odabasi *et al.* 2004, Mohr *et al.* 2011, Poissy *et al.* 2014).

Bei Sepsis-Patienten ohne jeglichen Candida-Nachweis dagegen lag BDG im Median unter dem Cut-Off-Wert, was andere Autoren ebenso zeigen konnten (Mitsutake *et al.* 1996, Tissot *et al.* 2013).

6.1.2. **BDG bei Patienten nach kardiochirurgischer Operation**

Bei allen Patienten dieser Gruppe war eine herzchirurgische Operation vorausgegangen.

Sie wiesen, verglichen mit den Sepsis-Patienten am Tag eins im Median etwa zehnfach höhere BDG-Werte auf, welche bis Tag sieben auf Werte unterhalb des Cut-Off-Werts fielen. Bei keinem dieser Patienten lag eine invasive fungale Infektion vor.

Es ist davon auszugehen, dass diese Testergebnisse falsch positiv sind. Zur Ursachenfindung wurde der Einfluss einer Hämodialyse auf die BDG-Werte untersucht, wobei kein Unterschied unter den kardiochirurgischen Patienten nachweisbar war. Da lediglich vier Patienten ein Penicillin-Antibiotikum erhalten hatten, war keine Analyse diesbezüglich möglich. Bei keinem der kardiochirurgischen Patienten waren Streptokokken in der Blutkultur nachweisbar, so dass eine Kreuzreaktion ebenfalls unwahrscheinlich ist.

Eine HLM kam bei 58 der 61 kardiochirurgischen Patienten zum Einsatz. Grafik 13 demonstriert eindrucksvoll den signifikanten Unterschied der BDG-Werte von Patienten mit und ohne HLM-Einsatz. Es ist wahrscheinlich, dass entweder die assoziierte Gabe von Humanalbumin einen Einfluss hatte, oder dass durch den Kontakt mit einer Fremdoberfläche der HLM (Filtersysteme,

Oberflächenbeschichtungen) eine BDG-ähnliche Substanz im Blut der Patienten nachgewiesen wird. Diese These wird durch mehrere Studien gestützt, in denen insbesondere für Zellulose enthaltende Dialysemembranen deutlich erhöhte BDG-Werte im Blut von Patienten ohne IFI bestätigt wurden (Kanda *et al.* 2001). Eine umfangreiche Analyse der im Studienzeitraum an der HLM verwendeten Filtersysteme oder Beschichtungen war jedoch nicht Inhalt unserer Studie. Bekannt ist außerdem, dass die Anwendung einer HLM zur Aktivierung des Immunsystems führt (Franke *et al.* 2005). Damit ist eine Freisetzung von BDG aus dem Retikuloendotheliales System (RES) denkbar.

In der Literatur finden sich weitere Hypothesen, die erhöhte BDG-Werte bei Patienten ohne IFI erklären. Auf eine mögliche Beeinflussung durch eine BDG-Translokation bei kolonisierten Patienten wurde oben bereits verwiesen. Endogen könnte BDG über Hypothermie bzw. durch ein Low-Output-Syndrom mit Durchblutungsstörungen und mukosaler Malperfusion freigesetzt werden. Durch diese Faktoren könnte es zur Translokation von Pilzbestandteilen aus dem Darmlumen kommen, ähnlich der bakteriellen Translokation bei mesenterialer Minderperfusion. Außerdem ist eine Freisetzung aus dem RES möglich, wo BDG längere Zeit gespeichert werden kann (Miura *et al.* 1996).

Zusammenfassend spricht das Vorkommen deutlich erhöhter BDG-Werte bei den kardiochirurgischen Patienten ohne IFI für falsch positive Ergebnisse.

6.1.3. SOFA-Score

Der SOFA-Score korrelierte im gesamten Patientengut nur schwach mit dem BDG. Ähnlich verhielt es sich bei den Sepsis-Patienten, bei denen BDG mit einem Korrelationskoeffizienten von maximal 0,22 eine sehr schwache Korrelation sowohl im Gesamt-SOFA- als auch in den Subscores zeigte. Bei den kardiochirurgischen Patienten korrelierte das BDG nur im Subscore Kreislauf sehr schwach mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,25. Da der SOFA-Score keine IFI-spezifischen Parameter enthält, ist die schwache Korrelation erklärbar. Unseres Wissens wurde hier erstmals eine Korrelation von SOFA-Score und BDG-Spiegeln untersucht.

6.1.4. Kinetische Untersuchung

Da über die Kinetik von BDG beim Menschen bisher wenig bekannt ist, war die Beurteilung der BDG-Spiegel-Veränderungen im Verlauf einer Sepsis oder nach kardiochirurgischer Operation ein Ziel unserer Studie.

Bei den Sepsis-Patienten lagen die Messwerte innerhalb der 28 Tage relativ konstant im Bereich des Cut-Off-Wertes von 11 pg/ml oder darüber, so dass hier keine Analyse der Kinetik erfolgen konnte.

Bei den kardiochirurgischen Patienten hingegen zeigten die BDG-Spiegel einen deutlichen Abfall innerhalb der ersten fünf Tage, anhand dessen eine Plasmahalbwertszeit von 35,2 h errechnet wurde. Bei der Berechnung wurde davon ausgegangen, dass präoperativ kein erhöhtes BDG vorgelegen hat, wie es bei gesunden Probanden der Fall ist (Otto *et al.* 2013, Alam *et al.* 2007).

In den bisher publizierten Daten zur BDG-Kinetik in Tiermodellen finden sich Plasmahalbwertszeiten von 1,4 min (Kaninchenmodell, Yoshida *et al.* 1996) bis über 5 h (Mausmodell, Miura *et al.* 1995). Die Ursache für die unterschiedliche Elimination bei Säugetieren, die sämtlich nicht über spezielle hydrolytische Enzyme für BDG verfügen (Mantovani *et al.* 2008), ist bisher nicht bekannt.

In einer Studie mit Dialysepatienten ohne IFI war die BDG-Clearance nicht von der Nieren- oder Leberfunktion abhängig (Kanda *et al.* 2001). Es existieren verschiedene Theorien über einen oxidativen Abbauweg, wobei Phagozytose (Czop und Kay 1991, Williams 1997, Ishibashi *et al.* 2005, Chiani *et al.* 2009) und Akkumulation im RES wahrscheinlich eine zentrale Rolle spielen (Miura *et al.* 1996). Auf Grund der Aufnahme in ein Speichermedium (RES) und der sehr langsamen Elimination aus dem Organismus wird beim BDG ein initialer Spiegelabfall mit anschließender Persistenz erwartet. In Übereinstimmung mit der Erkenntnis, dass BDG nach Injektion bei Säugetieren fünf Wochen (Miura *et al.* 1995) und bei Sepsis-Patienten acht Wochen persistierte (Poissy *et al.* 2014), ist BDG bei fast allen Sepsis-Patienten unserer Studie über 28 Tage nachweisbar. Es ist lediglich eine Tendenz zu rückläufigen Spiegeln ab Tag 14 erkennbar.

Ausgehend von der Möglichkeit einer Kreuzreaktion des BDG-Tests mit einer Substanz, die den Patienten mit der HLM zugeführt wurde (Kap. 6.1.2), muss in Betracht gezogen werden, dass die von uns errechnete Halbwertszeit nur den Abfall einer BDG-ähnlichen Substanz widerspiegelt. Kanda *et al.* errechneten eine Plasmahalbwertszeit für BDG von 20 h bei Patienten, die eine Hämodialyse

erhielten, aber keine fungale Infektion aufwiesen (Kanda *et al.* 2001). Es stellt sich die Frage, ob hierbei tatsächlich BDG nachgewiesen wurde, oder ebenfalls eine Kreuzreaktion zu Grunde lag. Der rasche Abfall der initial stark erhöhten Messwerte unserer kardiochirurgischen Patienten steht außerdem im auffälligen Widerspruch zur Persistenz relativ niedriger Spiegel über mehrere Wochen. Erklärbar ist diese Beobachtung sowohl durch die vermutete Kreuzreaktion als auch durch eine rasche Aufnahme in ein Speichersystem wie das RES.

Hervorzuheben ist weiterhin, dass BDG bei unseren Sepsis-Patienten persistierte, obwohl ein Rückgang der Infektion anhand klinischer und laborchemischer Entzündungsparameter zu verzeichnen war. Bisher ist die Isolierung einer ausreichenden Menge des zirkulierenden BDG bei fungalen Infektionen nicht gelungen, um dieses in seinen physikochemischen Eigenschaften zu charakterisieren (Rice *et al.* 2004).

6.1.5. Prognostische Kapazität

Die BDG-Spiegel unserer Patienten zeigten über 28 Tage weder die Schwere der Infektion noch das Outcome an. Die BDG-Werte der verstorbenen Patienten unterschieden sich nicht signifikant von denen der Überlebenden, und zwar weder bei den Sepsispatienten noch bei den kardiochirurgischen Patienten oder in der gesamten Population. Für konsekutiv an den Tagen 7 und 14 über dem Cut-Off-Wert liegende BDG-Werte betrug die Spezifität 89 % bei jedoch nur 24 %iger Sensitivität. Diese diagnostischen Kennziffern lagen für einzelne Tagesmesswerte noch niedriger. Aussagen zur prognostischen Kapazität von BDG sind in der Literatur kaum zu finden. In der Studie von Tissot (Tissot *et al.* 2013) wurde lediglich festgestellt, dass BDG-Werte, die fünffach über dem Cut-Off-Wert lagen, ein schlechtes Outcome reflektierten. Derartig erhöhte BDG-Spiegel wurden bei unseren Sepsispatienten nicht gemessen.

6.1.6. Diagnostischer Stellenwert

Es wurde der diagnostische Stellenwert zur Vorhersage einer invasiven fungalen Infektion bei den 57 Sepsis-Patienten ermittelt, von denen neun Patienten eine IFI aufwiesen. Bei Analyse des BDG-Wertes zum Einschlusszeitpunkt betrug

Sensitivität und Spezifität 66 % bzw. 52 %, positiver und negativer prädiktiver Wert 24 % bzw. 90 %. Am Tag der maximalen Infektion (siehe Kapitel 4.4 Statistische Auswertung) lag die Sensitivität mit 77 % etwas höher, die Spezifität niedriger (33 %) bei ähnlichem positiven und negativen prädiktiven Wert (24 % bzw. 88 %).

Die bisher durchgeführten Untersuchungen zu BDG berichten eine Sensitivität von 50 bis 100 %, einer Spezifität von 31 bis 100 %, einem positiven prädiktiven Wert von 12 bis 93 % und einem negativen prädiktiven Wert von 52 bis 99 % (Karageorgopoulos *et al.* 2011, He *et al.* 2015, Poissy *et al.* 2014, Tissot *et al.* 2013, Mohr *et al.* 2011, Del Bono *et al.* 2011). In der Metaanalyse von Karageorgopoulos *et al.* betrug die gepoolte Sensitivität von BDG bei Patienten mit bewiesener IFI 79,1 % (95 % CI, 68,9 % bis 86,7 %), und die gepoolte Spezifität lag bei 87,7 % (95 % CI, 82,4 % bis 91,6 %; [Karageorgopoulos *et al.* 2011]). Die große Spannweite der Resultate erklärt sich aus der Heterogenität der Studien, denn die diagnostischen Kennzahlen des BDG-Tests werden durch zahlreiche Faktoren beeinflusst: Definition der IFI (Einschluss von nur bewiesenen IFI oder Zusammenfassung wahrscheinlicher und bewiesener IFI), Cut-Off-Wert, Test-Kit, Prävalenz der IFI in der gewählten Patientenpopulation (z. B. ITS-Patienten, Patienten mit hämatologischen Erkrankungen, transplantierte oder neutropenische Patienten), Zeitpunkt der Messung, Studiendesign (Fall-Kontroll-Studie vs. Kohortenstudie) sowie das gewählte Keimspektrum (alle Pilze, *Aspergillus*, *Candida*). Die Vielfalt der Faktoren erschwert den Vergleich mit anderen Studien. Die Recherche nach prospektiven Studien, die ebenfalls an Sepsis-Patienten durchgeführt und in denen dieselben Kriterien für die Definition der IFI verwendet wurden, ergab drei Arbeiten von Tissot *et al.*, Posteraro *et al.* und Leon *et al.*. Diese Studien berichten unter Verwendung des Fungitell®-Testkits und des empfohlenen Cut-Off-Wertes (80 pg/ml) bessere Werte für Sensitivität (76 %, 93 % bzw. 78 %), Spezifität (59 %, 94 % bzw. 53 %), positiven prädiktiven Wert (56 %, 72 % bzw. keine Angabe) und negativen prädiktiven Wert (78 %, 98 % bzw. keine Angabe). Diese Ergebnisse sind auf eine deutlich niedrigere Rate an falsch positiven Testergebnissen zurückzuführen. Mögliche Ursachen dafür sind, neben den bereits genannten wie Translokation, Bakteriämie, Transfusion, Auswascheffekte, Dialysefilter, chirurgische Verbandsmaterialien, Medikamente, eine bessere diagnostische Qualität des Fungitell®-Testkits und (im Fall von Posteraro *et al.*) eine höhere Rate an *Candida*-positiven Blutkulturen. Die auffallend guten Resultate von Posteraro *et al.* wurden für

eine BDG-Analyse bei Sepsis-Patienten im frühen Stadium des Fiebers berichtet (Posteraro *et al.* 2011).

Die prospektiven Studien von Senn *et al.* und Kawazu *et al.*, die ebenfalls mit dem WAKO-Test durchgeführt wurden, zeigten eine mit unserer Arbeit vergleichbare Sensitivität um 50 %, während die Spezifität mit 86 % bzw. 99 % wesentlich höher liegt (Senn *et al.* 2008, Kawazu *et al.* 2004). Beide Untersuchungen wurden jedoch an neutropenischen Patienten mit einer deutlich höheren Anzahl an IFIs durchgeführt, was durch die geringere Anzahl falsch positiver Ergebnisse entscheidenden Einfluss auf die Resultate hatte.

Die Analyse zweier konsekutiver BDG-Werte (Einschlusstag + Folgetag bzw. Tag der maximalen Infektion + Folgeprobe) führte sowohl für den Einschlusstag als auch für den Tag der maximalen Infektion zu einer gering niedrigeren Sensitivität (55 % bzw. 55 %) bei Verbesserung der Spezifität (66 % bzw. 56 %). Im Vergleich zu dieser geringen Verbesserung der diagnostischen Aussagekraft war z. B. in der Studie von Tissot *et al.* und der Studie von Senn *et al.* mit den konsekutiven BDG-Spiegeln ein deutlich besserer diagnostischer Wert (Sensitivität 63 %, Spezifität 96 %) zu verzeichnen gewesen, allerdings bei neutropenischen Patienten und einem Cut-Off-Wert von ≥ 7 pg/ml (Senn *et al.* 2008).

Die relativ hohe Rate an falsch positiven Ergebnissen (23 von 57 [40,4 %]) ähnlich den Ergebnissen aus anderen Untersuchungen (Pickering *et al.* 2005), mit konsekutiv niedriger Spezifität führte in unserem Patientengut zu einem niedrigen positiven prädiktiven Wert von 24 %. Dieses Ergebnis spiegelt sich auch in anderen Studien mit heterogener ITS-Population wieder (Posteraro *et al.* 2011, Racil *et al.* 2010, De Vlieger *et al.* 2011). Trotz des niedrigen positiven prädiktiven Wertes könnten Risikopatienten identifiziert und eine präemptive antifungale Therapie eingeleitet werden (Hanson *et al.* 2012).

Allerdings kann angesichts des hohen negativen prädiktiven Wertes auch in unserer Arbeit davon ausgegangen werden, dass ein negatives BDG eine IFI ausschließt. Der exzellente negative prädiktive Wert rechtfertigt das Stoppen einer unnötigen prophylaktischen oder empirischen antifungale Therapie (Clancy und Nguyen 2013). Für andere Biomarker (z. B. PCT) wurde in validierten Studien gezeigt, dass eine

Reduktion des Antibiotikaverbrauchs ohne nachteiligen Einfluss für den klinischen Erfolg war (Bouadma *et al.* 2010).

Die diagnostische Wertigkeit des von Leon *et al.* 2006 etablierten Candida-Scores (CS) wurde von Leon selbst 2009 und in den Studien von Posteraro *et al.* und Tissot *et al.* überprüft. Dabei erreichte der Candida-Score größer drei eine Sensitivität von 78 bis 86 % und eine Spezifität von 50 bis 87 %. In unserer Arbeit lag der CS bei 45 von 57 Sepsispatienten über drei Punkten, worin sich die hohe Anzahl an schweren postoperativen Sepsis-Fällen widerspiegelt. Sensitivität und Spezifität des CS betragen 100 % bzw. 24 %. Alle neun Patienten mit bewiesener IFI hatten einen CS über drei. Wie auch beim BDG ist jedoch eine hohe Anzahl falsch positiver Ergebnisse auffällig, ein Indiz für eine unzureichende Qualität des Goldstandards (positive Blutkultur). Dafür spricht auch der niedrige Anteil von IFI-Patienten trotz hoher CS-Werte.

Tissot *et al.* und Posteraro *et al.* stellten eine annähernd gleiche diagnostische Wertigkeit von BDG und CS fest. Die beste diagnostische Wertigkeit bietet die Kombination von BDG und dem Candida-Score. Bei Posteraro *et al.* wurde durch die Kombination aus BDG-Assay und Candida-Score sogar eine Sensitivität von 100 % und eine Spezifität von 84 % erreicht (Posteraro *et al.* 2011). Leon *et al.* empfahl, die Kombination aus beiden Parametern zur Differenzierung zwischen einer Kolonisation und einer bewiesenen Candida-Infektion zu verwenden (Leon *et al.* 2009). In unserem Patientengut erzielte die Kombination beider Parameter lediglich eine Sensitivität von 66 % und eine Spezifität von 63 %.

6.2. Stärken und Schwächen der Studie

Ein Vorteil unseres Studiendesigns war, den longitudinalen Verlauf vom BDG bis zu 28 Tagen nach Einschluss zu verfolgen, wie von anderen Autoren empfohlen wurde (Odabasi *et al.* 2004, Pazos *et al.* 2005). Das Ergebnis der Untersuchung war den Ärzten zum Behandlungszeitpunkt nicht bekannt. Damit erfolgte kein Wechsel der Therapie, wodurch ein potentieller Bias vermieden wurde.

Die Definition der IFI wurde strenger gewählt. Es wurden nur Patienten mit bewiesener Pilzinfektion hinzugezählt, während eine wahrscheinliche und mögliche IFI in die Gruppe der kolonisierten Patienten eingeteilt wurde. Wie auch in vergleichbaren Studien zeigte sich dadurch ein sehr heterogenes Patientenbild. Außerdem repräsentiert die an Patienten verschiedener Genese prospektiv

durchgeführte Studie das reale Patientengut einer interdisziplinär geführten Intensivstation.

Nach unserem Kenntnisstand wurde erstmalig die Analyse von BDG bei Patienten vorgenommen, die sich einer Behandlung mit einer HLM unterzogen hatten. So kamen wir zu dem Schluss, dass sich eine Kreuzreaktion an den HLM-Membranen vollzieht, ähnlich wie bei dialysierten Patienten.

Abgesehen von der begrenzten Fallzahl ist die Studie limitiert durch die geringe Frequenz an Fällen einer invasiven fungalen Infektion. Möglicherweise hätten sich mehr Fälle durch einen weniger restriktiven Einschluss ergeben, indem zu den bewiesenen IFIs ebenso die wahrscheinlichen Fälle hinzugenommen worden wären. Jedoch zeigen auch große Kohortenstudien eine geringe Anzahl an IFIs (Leon *et al.* 2009, Koo *et al.* 2009, Kami *et al.* 2000). Hinzu kommt, dass bei den intraabdominellen Infektionen zu wenig primär sterile Materialien bzw. intraoperative Abstriche entnommen wurden. So wurde möglicherweise ein Teil der IFIs als lediglich kolonisiert eingeteilt. Dies spiegelt sich auch in der hohen Rate an falsch positiven Befunden, der nur mäßigen Spezifität und dem schlechten positiven prädiktiven Wert wieder.

Generell liegt bei Studien mit BDG das Problem vor, eine Vergleichsgruppe zu definieren, die gänzlich frei von potentiellen Ursachen falsch positiver Befunde ist. Auch in unserer Arbeit enthält die Kontrollgruppe Patienten, die z. B. Breitspektrum-Penicilline oder Dialyse erhalten haben, was jedoch das reale Patientengut widerspiegelt. Eine Elimination dieser Patienten aus der Gruppe hätte die Übertragbarkeit der Ergebnisse in die Praxis in Frage gestellt.

Eine weitere Limitation besteht in der Auswahl der Kontrollgruppe (Patienten nach kardiochirurgischer Operation), die deutlich höhere BDG-Werte aufwies, als die Sepsis-Gruppe. Erklärbar scheint dieses Phänomen durch eine Kreuzreaktion eines BDG-ähnlichen Moleküls.

Um sich mit anderen Studien besser vergleichen zu können, wäre die Bestimmung des Kolonisationsindex von Vorteil gewesen. In der Studiendurchführung waren regelmäßige mikrobiologische Abnahmen nach einem festen Schema nicht vorgesehen. In der Studie von Tissot *et al.* wurde der Kolonisationsindex zweimal wöchentlich erhoben. Allerdings wurde auch in dieser Beobachtungsstudie der Index nicht für die klinische Routine und zu Therapieentscheidungen genutzt (Tissot *et al.* 2013).

Der WAKO®-Test hat sich in anderen Studien dem von Fungitell® als unterlegen erwiesen und wird in der klinischen Routine nur noch als turbidometrischer Test im japanischen Raum eingesetzt. Nach Aussage einer probenbasierten Analyse durch Yoshida *et al.* scheint der chromogene Assay (z. B. Fungitec®, Fungitell®) sensitiver (87,9 bzw. 72,7 %) als der kinetische Assay (Wako®), aber weniger spezifisch (43,3 bzw. 75,2 %; [Kawazu *et al.* 2004, Yoshida *et al.* 2001]) zu sein.

6.3. Möglicher Stellenwert von BDG in der klinischen Praxis

Der BDG-Test (Fungitell® Assay) wird in Deutschland bisher in der klinischen Routine nur an der Uniklinik Freiburg ein- bis zweimal pro Woche (seit 2009) und in Erlangen dreimal pro Woche angeboten. An der Uni Graz wird der Test auf einem Koagulations-Analyzer durchgeführt und ermöglicht eine sofortige Bestimmung innerhalb von 60 min. In Deutschland hat sich der BDG-Test bisher nicht in der Routine-Diagnostik einer IFI durchgesetzt. Ursachen dafür können in der problematischen Spezifität des Tests und in der vergleichbaren Wertigkeit des Candida Score gesehen werden.

Wie auch in anderen Studien besteht in unserem Setting die Schwierigkeit, dass erhöhte BDG zu interpretieren und für die Diagnostik und Therapie von Patienten mit IFIs zu nutzen. Viele Autoren sind der Überzeugung, dass man bei ausstehender oder negativer mikrobiologischer Diagnostik hohe Serum-BDG-Level als einen sinnvollen Beitrag zur Diagnose einer invasiven fungalen Infektion und als Entscheidungshilfe zur antimykotischen Therapie nutzen sollte (Presterl *et al.* 2009, Tissot *et al.* 2013). Auch die *Guidelines der Surviving Sepsis Campaign* empfehlen die Verwendung von BDG als Surrogatparameter für eine invasive Candidiasis (Dellinger *et al.* 2013). Mehrere Autoren empfehlen den BDG-Test zum Ausschluss einer IFI (Alexander *et al.* 2010, Ostrosky-Zeichner *et al.* 2005, Obayashi *et al.* 2008, Posteraro *et al.* 2011, Cornely *et al.* 2012, Digby *et al.* 2003), was unsere Ergebnisse ebenfalls untermauern.

Angesichts der relativ niedrigen Spezifität des BDG-Tests durch Interferenzen im klinischen Alltag ist er als alleinige Grundlage für die Einleitung einer antimykotischen Therapie kritisch zu sehen. Auch die europäischen Leitlinien äußern sich mit Grad C

zurückhaltend bezüglich der Einleitung einer präemptiven antimykotischen Therapie nur auf Basis von BDG-Bestimmungen. Gegenwärtig könne ein BDG-Test allein nicht zuverlässig eine invasive Candidiasis bestätigen (Cornely *et al.* 2012). Außerdem deckt der Test verschiedene Pilzarten ab, so dass die Auswahl des Antimykotikums ein Problem darstellt. Wahrscheinlich kann der BDG-Test jedoch in Verbindung mit anderen Parametern die Entscheidung zur antimykotischen Therapie liefern, wie es im Algorithmus von Poissy *et al.* vorgeschlagen wurde. Dieser beinhaltet neben BDG noch den Kolonisationsindex und den Mannan-Spiegel (Poissy *et al.* 2014).

Als Monitoring-Parameter für die Therapie von IFIs scheint BDG nicht geeignet. Wie in unserer Studie fanden auch andere Gruppen bei Intensivpatienten keine relevante Kinetik von BDG über mehrere Wochen (Poissy *et al.* 2014).

7. Schlussfolgerung

Diese Arbeit bestätigt, dass BDG zur Diagnostik einer IFI auch bei Sepsis-Patienten auf der Intensivstation genutzt werden kann, da ein negatives BDG eine IFI nahezu ausschließt. Der Test liefert bereits Tage vor einer positiven Kultur ein Ergebnis. Nichtkulturelle Verfahren können ergänzende Informationen zur Kultur liefern, diese aber nicht ersetzen. Wenn BDG als Biomarker auch keine invasive fungale Infektion aufgrund des niedrigen positiven prädiktiven Wertes sicher diagnostizieren kann, so könnte er doch zur Identifikation von Risikopatienten und in Übereinstimmung mit Poissy *et al.* zur Begründung einer antimykotischen Therapie genutzt werden.

Problematisch ist die unzureichende Spezifität von BDG-Tests durch eine Reihe von Ursachen für falsch positive Resultate. Eine Korrelation der BDG-Spiegel mit der Schwere oder dem Outcome der Sepsis war nicht zu beobachten. Besondere Beachtung verdient das Ergebnis unserer Studie, dass der Kontakt mit Filtermembranen oder Oberflächenbeschichtungen unserer HLM zu stark erhöhten BDG-Messwerten geführt hat. Deshalb sollte BDG bei Patienten mit Blutkontakt zu Fremdkörperoberflächen mit besonderer Vorsicht interpretiert werden.

8. Literatur- und Quellenverzeichnis

- Alam FF, Mustafa AS, Khan ZU. 2007. Comparative evaluation of (1, 3)-beta-D-glucan, mannan and anti-mannan antibodies, and *Candida* species-specific snPCR in patients with candidemia. *BMC Infect Dis*, 7:103.
- Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H, Martin C, Goodman S, Artigas A, Sicignano A, Palazzo M, Moreno R, Boulme R, Lepage E, Le Gall R. 2002. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive Care Med*, 28 (2):108-121.
- Alexander B, Pfaller MA. 2006. Contemporary Tools for the Diagnosis and Management of Invasive Mycoses. *Clin Infect Dis*, 43:S15-S23.
- Alexander BD, Smith PB, Davis RD, Perfect JR, Reller LB. 2010. The (1,3)-beta-D-glucan test as an aid to early diagnosis of invasive fungal infections following lung transplantation. *J Clin Microbiol*, 48 (11):4083-4088.
- Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. 2001. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med*, 29 (7):1303-1310.
- Aslanzadeh JR, G.D. 1991. Direct microscopic examination of clinical specimens for the laboratory diagnosis of fungal infections. *Clinical Microbiology Newsletter*, 13 (24):185-192.
- Asmundsdottir LR, Erlendsdottir H, Gottfredsson M. 2002. Increasing incidence of candidemia: results from a 20-year nationwide study in Iceland. *J Clin Microbiol*, 40 (9):3489-3492.
- Avni T, Leibovici L, Paul M. 2011. PCR diagnosis of invasive candidiasis: systematic review and meta-analysis. *J Clin Microbiol*, 49 (2):665-670.
- Badiee P, Kordbacheh P, Alborzi A, Malekhoseini S, Ramzi M, Mirhendi H, Mahmoodi M, Shakiba E. 2009. Study on invasive fungal infections in immunocompromised patients to present a suitable early diagnostic procedure. *Int J Infect Dis*, 13 (1):97-102.
- Bates DW, Cook EF, Goldman L, Lee TH. 1990. Predicting bacteremia in hospitalized patients. A prospectively validated model. *Ann Intern Med*, 113 (7):495-500.
- Bates DW, Sands K, Miller E, Lanken PN, Hibberd PL, Graman PS, Schwartz JS, Kahn K, Snyderman DR, Parsonnet J, Moore R, Black E, Johnson BL, Jha A, Platt R. 1997. Predicting bacteremia in patients with sepsis syndrome. Academic Medical Center Consortium Sepsis Project Working Group. *J Infect Dis*, 176 (6):1538-1551.
- Ben-Ami R, Weinberger M, Orni-Wasserlauff R, Schwartz D, Itzhaki A, Lazarovitch T, Bash E, Aharoni Y, Moroz I, Giladi M. 2008. Time to blood culture positivity as a marker for catheter-related candidemia. *J Clin Microbiol*, 46 (7):2222-2226.
- Berenguer J, Buck M, Witebsky F, Stock F, Pizzo PA, Walsh TJ. 1993. Lysis-centrifugation blood cultures in the detection of tissue-proven invasive candidiasis. Disseminated versus single-organ infection. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 17 (2):103-109.
- BGVV 07.06.2001. Problematik der Entwicklung von Resistenzen humaner Mykosen gegenüber Azol-Antimykotika und eventueller Wechselwirkungen mit den als Fungizid eingesetzten Pflanzenschutzmitteln http://www.bfr.bund.de/cm/343/problematik_der_entwicklung_von_resistenzen_humaner_mykosen_gegenueber_azol_antimykotika.pdf.
- Blackwell M. 2011. The fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? *Am J Bot*, 98 (3):426-438.
- Blanco J, Muriel-Bombin A, Sagredo V, Taboada F, Gandia F, Tamayo L, Collado J, Garcia-Labattut A, Carriedo D, Valledor M, De Frutos M, Lopez MJ, Caballero A, Guerra J, Alvarez B, Mayo A, Villar J. 2008. Incidence, organ dysfunction and mortality in severe sepsis: a Spanish multicentre study. *Crit Care*, 12 (6):R158.

- Blaschke-Hellmessen R. 1999. [Habitats for *Candida* in medical and hygienic respects]. *Mycoses*, 42 Suppl 1:22-29.
- Blot SI, Vandewoude KH, Hoste EA, Colardyn FA. 2002. Effects of nosocomial candidemia on outcomes of critically ill patients. *Am J Med*, 113 (6):480-485.
- Blumberg HM, Jarvis WR, Soucie JM, Edwards JE, Patterson JE, Pfaller MA, Rangel-Frausto MS, Rinaldi MG, Saiman L, Wiblin RT, Wenzel RP. 2001. Risk factors for candidal bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: the NEMIS prospective multicenter study. The National Epidemiology of Mycosis Survey. *Clin Infect Dis*, 33 (2):177-186.
- Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. 1992. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*, 101 (6):1644-1655.
- Botero JaP, M. . 2012. The History of Sepsis from Ancient Egypt to the XIX Century. InTech: "Sepsis - An Ongoing and Significant Challenge".
- Bouadma L, Luyt CE, Tubach F, Cracco C, Alvarez A, Schwebel C, Schortgen F, Lasocki S, Veber B, Dehoux M, Bernard M, Pasquet B, Regnier B, Brun-Buisson C, Chastre J, Wolff M, group Pt. 2010. Use of procalcitonin to reduce patients' exposure to antibiotics in intensive care units (PRORATA trial): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet*, 375 (9713):463-474.
- Bowman SM, Free SJ. 2006. The structure and synthesis of the fungal cell wall. *Bioessays*, 28 (8):799-808.
- Brown GD, Gordon S. 2005. Immune recognition of fungal beta-glucans. *Cell Microbiol*, 7 (4):471-479.
- Brown GD, Denning DW, Gow NA, Levitz SM, Netea MG, White TC. 2012. Hidden killers: human fungal infections. *Sci Transl Med*, 4 (165):165rv113.
- Brun-Buisson C, Meshaka P, Pinton P, Vallet B. 2004. EPISEPSIS: a reappraisal of the epidemiology and outcome of severe sepsis in French intensive care units. *Intensive Care Med*, 30 (4):580-588.
- Bundesamt S 2010. Todesursachen / Sterbefälle insgesamt <https://destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/SterbefaelleInsgesamt.html>.
- Burnie JP, Williams JD. 1985. Evaluation of the Ramco latex agglutination test in the early diagnosis of systemic candidiasis. *Eur J Clin Microbiol*, 4 (2):98-101.
- Cao L, Chan KM, Chen D, Vanittanakom N, Lee C, Chan CM, Sirisanthana T, Tsang DN, Yuen KY. 1999. Detection of cell wall mannoprotein Mp1p in culture supernatants of *Penicillium marneffe* and in sera of penicilliosis patients. *J Clin Microbiol*, 37 (4):981-986.
- Cerikcioglu N, Aksu B, Dal TD, Deniz U, Bilgen HS, Ozek E, Soyletir G. 2010. Seminested PCR for detection and identification of *Candida* species directly from blood culture bottles. *New Microbiol*, 33 (1):57-62.
- Chiani P, Bromuro C, Cassone A, Torosantucci A. 2009. Anti-beta-glucan antibodies in healthy human subjects. *Vaccine*, 27 (4):513-519.
- Clancy CJ, Nguyen MH. 2013. Finding the "missing 50%" of invasive candidiasis: how nonculture diagnostics will improve understanding of disease spectrum and transform patient care. *Clin Infect Dis*, 56 (9):1284-1292.
- Cornely OA, Bassetti M, Calandra T, Garbino J, Kullberg BJ, Lortholary O, Meersseman W, Akova M, Arendrup MC, Arikan-Akdagli S, Bille J, Castagnola E, Cuenca-Estrella M, Donnelly JP, Groll AH, Herbrecht R, Hope WW, Jensen HE, Lass-Flörl C, Petrikos G, Richardson MD, Roilides E, Verweij PE, Viscoli C, Ullmann AJ, Group EFIS.

2012. ESCMID* guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012: non-neutropenic adult patients. *Clin Microbiol Infect*, 18 Suppl 7:19-37.
- Crowe M, Ispahani P, Humphreys H, Kelley T, Winter R. 1998. Bacteraemia in the adult intensive care unit of a teaching hospital in Nottingham, UK, 1985-1996. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 17 (6):377-384.
- Czop JK, Kay J. 1991. Isolation and characterization of beta-glucan receptors on human mononuclear phagocytes. *J Exp Med*, 173 (6):1511-1520.
- Czop JK, Puglisi AV, Miorandi DZ, Austen KF. 1988. Perturbation of beta-glucan receptors on human neutrophils initiates phagocytosis and leukotriene B4 production. *J Immunol*, 141 (9):3170-3176.
- De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, Pappas PG, Maertens J, Lortholary O, Kauffman CA, Denning DW, Patterson TF, Maschmeyer G, Bille J, Dismukes WE, Herbrecht R, Hope WW, Kibbler CC, Kullberg BJ, Marr KA, Munoz P, Odds FC, Perfect JR, Restrepo A, Ruhnke M, Segal BH, Sobel JD, Sorrell TC, Viscoli C, Wingard JR, Zaoutis T, Bennett JE, European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative G, National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group Consensus G. 2008. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis*, 46 (12):1813-1821.
- De Vlieger G, Lagrou K, Maertens J, Verbeken E, Meersseman W, Van Wijngaerden E. 2011. Beta-D-glucan detection as a diagnostic test for invasive aspergillosis in immunocompromised critically ill patients with symptoms of respiratory infection: an autopsy-based study. *J Clin Microbiol*, 49 (11):3783-3787.
- Del Bono V, Delfino E, Furfaro E, Mikulska M, Nicco E, Bruzzi P, Mularoni A, Bassetti M, Viscoli C. 2011. Clinical performance of the (1,3)-beta-D-glucan assay in early diagnosis of nosocomial Candida bloodstream infections. *Clin Vaccine Immunol*, 18 (12):2113-2117.
- Delaloye J, Calandra T. 2014. Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient. *Virulence*, 5 (1):161-169.
- Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, Sevransky JE, Sprung CL, Douglas IS, Jaeschke R, Osborn TM, Nunnally ME, Townsend SR, Reinhart K, Kleinpell RM, Angus DC, Deutschman CS, Machado FR, Rubenfeld GD, Webb SA, Beale RJ, Vincent JL, Moreno R, Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including the Pediatric S. 2013. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit Care Med*, 41 (2):580-637.
- Digby J, Kalbfleisch J, Glenn A, Larsen A, Browder W, Williams D. 2003. Serum glucan levels are not specific for presence of fungal infections in intensive care unit patients. *Clin Diagn Lab Immunol*, 10 (5):882-885.
- Dombrovskiy VY, Martin AA, Sunderram J, Paz HL. 2007. Rapid increase in hospitalization and mortality rates for severe sepsis in the United States: a trend analysis from 1993 to 2003. *Crit Care Med*, 35 (5):1244-1250.
- Douwes J. 2005. (1->3)-Beta-D-glucans and respiratory health: a review of the scientific evidence. *Indoor Air*, 15 (3):160-169.
- Dupont H, Paugam-Burtz C, Muller-Serieys C, Fierobe L, Chosidow D, Marmuse JP, Mantz J, Desmonts JM. 2002. Predictive factors of mortality due to polymicrobial peritonitis with Candida isolation in peritoneal fluid in critically ill patients. *Arch Surg*, 137 (12):1341-1346; discussion 1347.

- Eggimann P, Garbino J, Pittet D. 2003a. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis*, 3 (11):685-702.
- Eggimann P, Garbino J, Pittet D. 2003b. Management of *Candida* species infections in critically ill patients. *Lancet Infect Dis*, 3 (12):772-785.
- Eggimann P, Bille J, Marchetti O. 2011. Diagnosis of invasive candidiasis in the ICU. *Ann Intensive Care*, 1:37.
- Engel C, Brunkhorst FM, Bone HG, Brunkhorst R, Gerlach H, Grond S, Gruendling M, Huhle G, Jaschinski U, John S, Mayer K, Oppert M, Olthoff D, Quintel M, Ragaller M, Rossaint R, Stuber F, Weiler N, Welte T, Bogatsch H, Hartog C, Loeffler M, Reinhart K. 2007. Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. *Intensive Care Med*, 33 (4):606-618.
- Fernandez J, Erstad BL, Petty W, Nix DE. 2009. Time to positive culture and identification for *Candida* blood stream infections. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 64 (4):402-407.
- Fleischmann C, Thomas-Rueddel DO, Hartmann M, Hartog CS, Welte T, Heublein S, Dennler U, Reinhart K. 2016a. Hospital Incidence and Mortality Rates of Sepsis. *Dtsch Arztebl Int*, 113 (10):159-166.
- Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, Angus DC, Reinhart K, International Forum of Acute Care T. 2016b. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *Am J Respir Crit Care Med*, 193 (3):259-272.
- Franke A, Lante W, Fackeldey V, Becker HP, Kurig E, Zoller LG, Weinhold C, Markewitz A. 2005. Pro-inflammatory cytokines after different kinds of cardio-thoracic surgical procedures: is what we see what we know? *Eur J Cardiothorac Surg*, 28 (4):569-575.
- Fridkin SK, Jarvis WR. 1996. Epidemiology of nosocomial fungal infections. *Clin Microbiol Rev*, 9 (4):499-511.
- Fujita S, Takamura T, Nagahara M, Hashimoto T. 2006. Evaluation of a newly developed down-flow immunoassay for detection of serum mannan antigens in patients with candidaemia. *J Med Microbiol*, 55 (Pt 5):537-543.
- Fuller DD, Davis TE, Jr., Denys GA, York MK. 2001. Evaluation of BACTEC MYCO/F Lytic medium for recovery of mycobacteria, fungi, and bacteria from blood. *J Clin Microbiol*, 39 (8):2933-2936.
- Garey KW, Rege M, Pai MP, Mingo DE, Suda KJ, Turpin RS, Bearden DT. 2006. Time to initiation of fluconazole therapy impacts mortality in patients with candidemia: a multi-institutional study. *Clin Infect Dis*, 43 (1):25-31.
- Geroulanos S, Douka ET. 2006. Historical perspective of the word "sepsis". *Intensive Care Med*, 32 (12):2077.
- Girouard G, Lachance C, Pelletier R. 2007. Observations on (1-3)-beta-D-glucan detection as a diagnostic tool in endemic mycosis caused by *Histoplasma* or *Blastomyces*. *J Med Microbiol*, 56 (Pt 7):1001-1002.
- Grinde B, Hetland G, Johnson E. 2006. Effects on gene expression and viral load of a medicinal extract from *Agaricus blazei* in patients with chronic hepatitis C infection. *Int Immunopharmacol*, 6 (8):1311-1314.
- Groll AH. 2011. Diagnose und Therapie von *Candida*-Infektionen. *Chemotherapie Journal*, 20 (3):67-93.
- Hachem RY, Kontoyiannis DP, Chemaly RF, Jiang Y, Reitzel R, Raad I. 2009. Utility of galactomannan enzyme immunoassay and (1,3) beta-D-glucan in diagnosis of invasive fungal infections: low sensitivity for *Aspergillus fumigatus* infection in hematologic malignancy patients. *J Clin Microbiol*, 47 (1):129-133.
- Hall L, Le Febvre KM, Deml SM, Wohlfiel SL, Wengenack NL. 2012. Evaluation of the Yeast Traffic Light PNA FISH probes for identification of *Candida* species from positive blood cultures. *J Clin Microbiol*, 50 (4):1446-1448.

- Hall MJ, Williams SN, DeFrances CJ, Golosinskiy A. 2011. Inpatient care for septicemia or sepsis: a challenge for patients and hospitals. *NCHS Data Brief*, (62):1-8.
- Hanson KE, Pfeiffer CD, Lease ED, Balch AH, Zaas AK, Perfect JR, Alexander BD. 2012. beta-D-glucan surveillance with preemptive anidulafungin for invasive candidiasis in intensive care unit patients: a randomized pilot study. *PLoS One*, 7 (8):e42282.
- Hawksworth DL. 1991. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological Research*, 95 (6):641-655.
- Hayden RT, Isotalo PA, Parrett T, Wolk DM, Qian X, Roberts GD, Lloyd RV. 2003. In situ hybridization for the differentiation of *Aspergillus*, *Fusarium*, and *Pseudallescheria* species in tissue section. *Diagn Mol Pathol*, 12 (1):21-26.
- He S, Hang JP, Zhang L, Wang F, Zhang DC, Gong FH. 2015. A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum 1,3-beta-D-glucan for invasive fungal infection: Focus on cutoff levels. *J Microbiol Immunol Infect*, 48 (4):351-361.
- Hebart H, Löffler J, Reitze H, Engel A, Schumacher U, Klingebiel T, Bader P, Bohme A, Martin H, Bunjes D, Kern WV, Kanz L, Einsele H. 2000. Prospective screening by a panfungal polymerase chain reaction assay in patients at risk for fungal infections: implications for the management of febrile neutropenia. *Br J Haematol*, 111 (2):635-640.
- Herent P, Stynen D, Hernando F, Fruit J, Poulain D. 1992. Retrospective evaluation of two latex agglutination tests for detection of circulating antigens during invasive candidosis. *J Clin Microbiol*, 30 (8):2158-2164.
- Hof H. 2010. IFI = invasive fungal infections. What is that? A misnomer, because a non-invasive fungal infection does not exist! *Int J Infect Dis*, 14 (6):e458-459.
- Hui M, Cheung SW, Chin ML, Chu KC, Chan RC, Cheng AF. 2004. Development and application of a rapid diagnostic method for invasive Candidiasis by the detection of D-/L-arabinitol using gas chromatography/mass spectrometry. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 49 (2):117-123.
- Ibanez-Nolla J, Torres-Rodriguez JM, Nolla M, Leon MA, Mendez R, Soria G, Diaz RM, Marrugat J. 2001. The utility of serology in diagnosing candidosis in non-neutropenic critically ill patients. *Mycoses*, 44 (1-2):47-53.
- Ikemura K, Ikegami K, Shimazu T, Yoshioka T, Sugimoto T. 1989. False-positive result in Limulus test caused by Limulus amebocyte lysate-reactive material in immunoglobulin products. *J Clin Microbiol*, 27 (9):1965-1968.
- Inoue SB, Qadota H, Arisawa M, Anraku Y, Watanabe T, Ohya Y. 1996. Signaling toward yeast 1,3-beta-glucan synthesis. *Cell Struct Funct*, 21 (5):395-402.
- Ishibashi K, Yoshida M, Nakabayashi I, Shinohara H, Miura NN, Adachi Y, Ohno N. 2005. Role of anti-beta-glucan antibody in host defense against fungi. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 44 (1):99-109.
- Jordanides NE, Allan EK, McLintock LA, Copland M, Devaney M, Stewart K, Parker AN, Johnson PR, Holyoake TL, Jones BL. 2005. A prospective study of real-time panfungal PCR for the early diagnosis of invasive fungal infection in haemato-oncology patients. *Bone Marrow Transplant*, 35 (4):389-395.
- Kami M, Tanaka Y, Kanda Y, Ogawa S, Masumoto T, Ohtomo K, Matsumura T, Saito T, Machida U, Kashima T, Hirai H. 2000. Computed tomographic scan of the chest, latex agglutination test and plasma (1AE3)-beta-D-glucan assay in early diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: a prospective study of 215 patients. *Haematologica*, 85 (7):745-752.
- Kanda H, Kubo K, Hamasaki K, Kanda Y, Nakao A, Kitamura T, Fujita T, Yamamoto K, Mimura T. 2001. Influence of various hemodialysis membranes on the plasma (1-->3)-beta-D-glucan level. *Kidney Int*, 60 (1):319-323.

- Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Ntziora F, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Falagas ME. 2011. beta-D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: a meta-analysis. *Clin Infect Dis*, 52 (6):750-770.
- Kato A, Takita T, Furuhashi M, Takahashi T, Maruyama Y, Hishida A. 2001. Elevation of blood (1-->3)-beta-D-glucan concentrations in hemodialysis patients. *Nephron*, 89 (1):15-19.
- Kawazu M, Kanda Y, Nannya Y, Aoki K, Kurokawa M, Chiba S, Motokura T, Hirai H, Ogawa S. 2004. Prospective comparison of the diagnostic potential of real-time PCR, double-sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for galactomannan, and a (1-->3)-beta-D-glucan test in weekly screening for invasive aspergillosis in patients with hematological disorders. *J Clin Microbiol*, 42 (6):2733-2741.
- Kett DH, Azoulay E, Echeverria PM, Vincent JL, Extended Prevalence of Infection in ICUSGoI. 2011. Candida bloodstream infections in intensive care units: analysis of the extended prevalence of infection in intensive care unit study. *Crit Care Med*, 39 (4):665-670.
- Khodadadi H, Mirhendi H, Makimura K, Satoh K, Karimi L, Izadi S. 2014. beta-D-Glucan Assay in Diagnosis and Monitoring the Systemic Candidiasis in a Rat Model. *Jundishapur J Microbiol*, 7 (6):e10247.
- Kimura Y, Nakao A, Tamura H, Tanaka S, Takagi H. 1995. Clinical and experimental studies of the limulus test after digestive surgery. *Surg Today*, 25 (9):790-794.
- Klis FM, de Groot P, Hellingwerf K. 2001. Molecular organization of the cell wall of *Candida albicans*. *Med Mycol*, 39 Suppl 1:1-8.
- Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. 1985. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med*, 13 (10):818-829.
- Koch S, Haefner H, Huenger F, Haase G, Wildberger J, Lemmen SW. 2005. [Diagnostics and therapy for invasive fungal infections in an intensive care unit]. *Anaesthesist*, 54 (10):1047-1064; quiz 1065-1066.
- Kontoyiannis DP, Sumoza D, Tarrand J, Bodey GP, Storey R, Raad, II. 2000. Significance of aspergillemia in patients with cancer: a 10-year study. *Clin Infect Dis*, 31 (1):188-189.
- Koo S, Bryar JM, Page JH, Baden LR, Marty FM. 2009. Diagnostic performance of the (1-->3)-beta-D-glucan assay for invasive fungal disease. *Clin Infect Dis*, 49 (11):1650-1659.
- Kozel TR, Wickes B. 2014. Fungal diagnostics. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 4 (4):a019299.
- Kratzer C, Graninger W, Lassnigg A, Presterl E. 2011. Design and use of Candida scores at the intensive care unit. *Mycoses*, 54 (6):467-474.
- Kreymann G, Wolf M. 1996. [History and definition of sepsis--do we need new terminology?]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*, 31 (1):9-14.
- Kumamoto CA. 2008. Molecular mechanisms of mechanosensing and their roles in fungal contact sensing. *Nat Rev Microbiol*, 6 (9):667-673.
- Lamy B, Dargere S, Arendrup MC, Parienti JJ, Tattevin P. 2016. How to Optimize the Use of Blood Cultures for the Diagnosis of Bloodstream Infections? A State-of-the Art. *Front Microbiol*, 7:697.
- Lass-Florl C, Aigner J, Gunsilius E, Petzer A, Nachbaur D, Gastl G, Einsele H, Löffler J, Dierich MP, Würzner R. 2001. Screening for *Aspergillus* spp. using polymerase chain reaction of whole blood samples from patients with haematological malignancies. *Br J Haematol*, 113 (1):180-184.
- Latge JP. 2007. The cell wall: a carbohydrate armour for the fungal cell. *Mol Microbiol*, 66 (2):279-290.

- Lau A, Halliday C, Chen SC, Playford EG, Stanley K, Sorrell TC. 2010. Comparison of whole blood, serum, and plasma for early detection of candidemia by multiplex-tandem PCR. *J Clin Microbiol*, 48 (3):811-816.
- Le Gall JR, Lemeshow S, Saulnier F. 1993. A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. *JAMA*, 270 (24):2957-2963.
- Lenhartz H. 1903. Die septischen Erkrankungen. *Nothnagels spez. Pathol. und Therapie*.
- Leon C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Almirante B, Nolla-Salas J, Alvarez-Lerma F, Garnacho-Montero J, Leon MA. 2006. A bedside scoring system ("Candida score") for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with Candida colonization. *Crit Care Med*, 34 (3):730-737.
- Leon C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Galvan B, Blanco A, Castro C, Balasini C, Utande-Vazquez A, Gonzalez de Molina FJ, Blasco-Navalproto MA, Lopez MJ, Charles PE, Martin E, Hernandez-Viera MA. 2009. Usefulness of the "Candida score" for discriminating between Candida colonization and invasive candidiasis in non-neutropenic critically ill patients: a prospective multicenter study. *Crit Care Med*, 37 (5):1624-1633.
- Leroy O, Gangneux JP, Montravers P, Mira JP, Gouin F, Sollet JP, Carlet J, Reynes J, Rosenheim M, Regnier B, Lortholary O, AmarCand Study G. 2009. Epidemiology, management, and risk factors for death of invasive Candida infections in critical care: a multicenter, prospective, observational study in France (2005-2006). *Crit Care Med*, 37 (5):1612-1618.
- Lesage G, Bussey H. 2006. Cell wall assembly in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol Mol Biol Rev*, 70 (2):317-343.
- Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G, International Sepsis Definitions C. 2003. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med*, 29 (4):530-538.
- Lichtenstern C, Swoboda S, Hirschburger M, Domann E, Hoppe-Tichy T, Winkler M, Lass-Florl C, Weigand MA. 2010. [Update: invasive fungal infections: Diagnosis and treatment in surgical intensive care medicine]. *Anaesthesist*, 59 (1):30-52.
- Mantovani MS, Bellini MF, Angeli JP, Oliveira RJ, Silva AF, Ribeiro LR. 2008. beta-Glucans in promoting health: prevention against mutation and cancer. *Mutat Res*, 658 (3):154-161.
- Marklein G, Josten M, Klanke U, Muller E, Horre R, Maier T, Wenzel T, Kostrzewa M, Bierbaum G, Hoerauf A, Sahl HG. 2009. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for fast and reliable identification of clinical yeast isolates. *J Clin Microbiol*, 47 (9):2912-2917.
- Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. 2003. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med*, 348 (16):1546-1554.
- Medicine NLo 19771215. MeSH Heading: Glucans
https://www.nlm.nih.gov/cgi/mesh/2008/MB_cgi?mode=&term=Glucans&field=entry
- Mengoli C, Cruciani M, Barnes RA, Loeffler J, Donnelly JP. 2009. Use of PCR for diagnosis of invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*, 9 (2):89-96.
- Mennink-Kersten MA, Verweij PE. 2006. Non-culture-based diagnostics for opportunistic fungi. *Infect Dis Clin North Am*, 20 (3):711-727, viii.
- Mennink-Kersten MA, Donnelly JP, Verweij PE. 2004. Detection of circulating galactomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis*, 4 (6):349-357.

- Obayashi T, Negishi K, Suzuki T, Funata N. 2008. Reappraisal of the serum (1-->3)-beta-D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections--a study based on autopsy cases from 6 years. *Clin Infect Dis*, 46 (12):1864-1870.
- Obayashi T, Yoshida M, Tamura H, Aketagawa J, Tanaka S, Kawai T. 1992. Determination of plasma (1-->3)-beta-D-glucan: a new diagnostic aid to deep mycosis. *J Med Vet Mycol*, 30 (4):275-280.
- Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E, Kantarjian H, Saeki F, Ridge RJ, Ketchum PA, Finkelman MA, Rex JH, Ostrosky-Zeichner L. 2004. Beta-D-glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: validation, cutoff development, and performance in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Clin Infect Dis*, 39 (2):199-205.
- Ohata A, Usami M, Horiuchi T, Nagasawa K, Kinoshita K. 2003. Release of (1-->3)-beta-D-glucan from depth-type membrane filters and their in vitro effects on proinflammatory cytokine production. *Artif Organs*, 27 (8):728-735.
- Ostrosky-Zeichner L, Pappas PG. 2006. Invasive candidiasis in the intensive care unit. *Crit Care Med*, 34 (3):857-863.
- Ostrosky-Zeichner L, Alexander BD, Kett DH, Vazquez J, Pappas PG, Saeki F, Ketchum PA, Wingard J, Schiff R, Tamura H, Finkelman MA, Rex JH. 2005. Multicenter clinical evaluation of the (1-->3) beta-D-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. *Clin Infect Dis*, 41 (5):654-659.
- Ostrosky-Zeichner L, Sable C, Sobel J, Alexander BD, Donowitz G, Kan V, Kauffman CA, Kett D, Larsen RA, Morrison V, Nucci M, Pappas PG, Bradley ME, Major S, Zimmer L, Wallace D, Dismukes WE, Rex JH. 2007. Multicenter retrospective development and validation of a clinical prediction rule for nosocomial invasive candidiasis in the intensive care setting. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 26 (4):271-276.
- Otto GP. 2008. Zirkulierende "Pathogen associated molecular pattern (PAMPs)" von Hefen und assoziierte Antwort des spezifischen Immunsystems beim kritisch Kranken Jena: Friedrich-Schiller-Universität:
- Otto GP, Ludewig K, Jacobsen ID, Schaarschmidt B, Hube B, Bauer M. 2013. Limitation of (1-->3)-beta-D-glucan monitoring in major elective surgery involving cardiopulmonary bypass. *Crit Care*, 17 (3):437.
- Pazos C, Ponton J, Del Palacio A. 2005. Contribution of (1->3)-beta-D-glucan chromogenic assay to diagnosis and therapeutic monitoring of invasive aspergillosis in neutropenic adult patients: a comparison with serial screening for circulating galactomannan. *J Clin Microbiol*, 43 (1):299-305.
- Pfaller MA, Diekema DJ. 2007. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev*, 20 (1):133-163.
- Pfaller MA, Diekema DJ. 2010. Epidemiology of invasive mycoses in North America. *Crit Rev Microbiol*, 36 (1):1-53.
- Pickering JW, Sant HW, Bowles CA, Roberts WL, Woods GL. 2005. Evaluation of a (1->3)-beta-D-glucan assay for diagnosis of invasive fungal infections. *J Clin Microbiol*, 43 (12):5957-5962.
- Pittet D, Monod M, Suter PM, Frenk E, Auckenthaler R. 1994. Candida colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. *Ann Surg*, 220 (6):751-758.
- Playford EG, Lipman J, Kabir M, McBryde ES, Nimmo GR, Lau A, Sorrell TC. 2009. Assessment of clinical risk predictive rules for invasive candidiasis in a prospective multicentre cohort of ICU patients. *Intensive Care Med*, 35 (12):2141-2145.
- Poissy J, Sendid B, Damiens S, Ichi Ishibashi K, Francois N, Kauv M, Favory R, Mathieu D, Poulain D. 2014. Presence of Candida cell wall derived polysaccharides in the sera of intensive care unit patients: relation with candidaemia and Candida colonisation. *Crit Care*, 18 (3):R135.

- Ponce de Leon-Rosales SP, Molinar-Ramos F, Dominguez-Cherit G, Rangel-Frausto MS, Vazquez-Ramos VG. 2000. Prevalence of infections in intensive care units in Mexico: a multicenter study. *Crit Care Med*, 28 (5):1316-1321.
- Posteraro B, De Pascale G, Tumbarello M, Torelli R, Pennisi MA, Bello G, Maviglia R, Fadda G, Sanguinetti M, Antonelli M. 2011. Early diagnosis of candidemia in intensive care unit patients with sepsis: a prospective comparison of (1-->3)-beta-D-glucan assay, Candida score, and colonization index. *Crit Care*, 15 (5):R249.
- Presterl E, Parschalk B, Bauer E, Lassnigg A, Hajdu S, Graninger W. 2009. Invasive fungal infections and (1,3)-beta-D-glucan serum concentrations in long-term intensive care patients. *Int J Infect Dis*, 13 (6):707-712.
- Racil Z, Kocmanova I, Lengerova M, Weinbergerova B, Buresova L, Toskova M, Winterova J, Timilsina S, Rodriguez I, Mayer J. 2010. Difficulties in using 1,3- β -D-glucan as the screening test for the early diagnosis of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies--high frequency of false-positive results and their analysis. *J Med Microbiol*, 59 (Pt 9):1016-1022.
- Reagan DR, Pfaller MA, Hollis RJ, Wenzel RP. 1990. Characterization of the sequence of colonization and nosocomial candidemia using DNA fingerprinting and a DNA probe. *J Clin Microbiol*, 28 (12):2733-2738.
- Renshaw AA. 1994. The relative sensitivity of special stains and culture in open lung biopsies. *Am J Clin Pathol*, 102 (6):736-740.
- Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, Kumar A, Sevransky JE, Sprung CL, Nunnally ME, Rochweg B, Rubenfeld GD, Angus DC, Annane D, Beale RJ, Bellingham GJ, Bernard GR, Chiche JD, Coopersmith C, De Backer DP, French CJ, Fujishima S, Gerlach H, Hidalgo JL, Hollenberg SM, Jones AE, Karnad DR, Kleinpell RM, Koh Y, Lisboa TC, Machado FR, Marini JJ, Marshall JC, Mazuski JE, McIntyre LA, McLean AS, Mehta S, Moreno RP, Myburgh J, Navalesi P, Nishida O, Osborn TM, Perner A, Plunkett CM, Ranieri M, Schorr CA, Seckel MA, Seymour CW, Shieh L, Shukri KA, Simpson SQ, Singer M, Thompson BT, Townsend SR, Van der Poll T, Vincent JL, Wiersinga WJ, Zimmerman JL, Dellinger RP. 2017. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Crit Care Med*, 45 (3):486-552.
- Rice PJ, Lockhart BE, Barker LA, Adams EL, Ensley HE, Williams DL. 2004. Pharmacokinetics of fungal (1-3)-beta-D-glucans following intravenous administration in rats. *Int Immunopharmacol*, 4 (9):1209-1215.
- Rigby S, Procop GW, Haase G, Wilson D, Hall G, Kurtzman C, Oliveira K, Von Oy S, Hyldig-Nielsen JJ, Coull J, Stender H. 2002. Fluorescence in situ hybridization with peptide nucleic acid probes for rapid identification of *Candida albicans* directly from blood culture bottles. *J Clin Microbiol*, 40 (6):2182-2186.
- Rijnders BJ, Cornelissen JJ, Slobbe L, Becker MJ, Doorduijn JK, Hop WC, Ruijgrok EJ, Lowenberg B, Vulto A, Lugtenburg PJ, de Marie S. 2008. Aerosolized liposomal amphotericin B for the prevention of invasive pulmonary aspergillosis during prolonged neutropenia: a randomized, placebo-controlled trial. *Clin Infect Dis*, 46 (9):1401-1408.
- Ruhnke M. 2004. Mykosen. In: Adam D, Doerr HW, Link H, Lode H, Hrsg. *Die Infektiologie*. Springer Berlin Heidelberg, 1132-1146.
- Ruiz-Herrera J. 1991. Biosynthesis of beta-glucans in fungi. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 60 (2):72-81.
- Samuelsen AB, Schrezenmeir J, Knutsen SH. 2014. Effects of orally administered yeast-derived beta-glucans: a review. *Mol Nutr Food Res*, 58 (1):183-193.
- Schilke R 2005. 13.Januar 2005. Sepsis: Das Chaos im Körper. <http://www.medicinebook.de>.

- Schottmüller H. 1914. Wesen und Behandlung der Sepsis. Verhandlungen des 31. deutschen Kongress Innere Medizin: Jahrbuch der Hamburger Staatskrankheiten.
- Schrenzel J. 2007. Clinical relevance of new diagnostic methods for bloodstream infections. *Int J Antimicrob Agents*, 30 Suppl 1:S2-6.
- Schuster HP, Müller-Werdan U. 2005. Definition und Diagnose von Sepsis und Multiorganversagen. In: Werdan K, Schuster H-P, Müller-Werdan U, Hrsg. Sepsis und MODS. Springer Berlin Heidelberg, 3-22.
- Sammelweis I. 1861. Die Aetiologie, der Begriff und die Prophylaxis des Kindbettfiebers. Pest, Wien & Leipzig: C. H. Hartleben's Verlags-Expedition.
- Senn L, Robinson JO, Schmidt S, Knaup M, Asahi N, Satomura S, Matsuura S, Duvoisin B, Bille J, Calandra T, Marchetti O. 2008. 1,3-Beta-D-glucan antigenemia for early diagnosis of invasive fungal infections in neutropenic patients with acute leukemia. *Clin Infect Dis*, 46 (6):878-885.
- SepNet Critical Care Trials G. 2016. Incidence of severe sepsis and septic shock in German intensive care units: the prospective, multicentre INSEP study. *Intensive Care Med*, 42 (12):1980-1989.
- Shepard JR, Addison RM, Alexander BD, Della-Latta P, Gherna M, Haase G, Hall G, Johnson JK, Merz WG, Peltroche-Llacsahuanga H, Stender H, Venezia RA, Wilson D, Procop GW, Wu F, Fiandaca MJ. 2008. Multicenter evaluation of the *Candida albicans/Candida glabrata* peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridization method for simultaneous dual-color identification of *C. albicans* and *C. glabrata* directly from blood culture bottles. *J Clin Microbiol*, 46 (1):50-55.
- Simon M. 2012. Blutkulturdiagnostik - Standarts und aktuelle Entwicklung. *J Lab Med*, 36 (4):199-207.
- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche JD, Coopersmith CM, Hotchkiss RS, Levy MM, Marshall JC, Martin GS, Opal SM, Rubenfeld GD, van der Poll T, Vincent JL, Angus DC. 2016. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*, 315 (8):801-810.
- Singh N, Paterson DL. 2005. Aspergillus infections in transplant recipients. *Clin Microbiol Rev*, 18 (1):44-69.
- Solomkin JS. 1996. Timing of treatment for nonneutropenic patients colonized with *Candida*. *Am J Surg*, 172 (6A):44S-48S.
- Spanu T, Posteraro B, Fiori B, D'Inzeo T, Campoli S, Ruggeri A, Tumbarello M, Canu G, Treçarichi EM, Parisi G, Tronci M, Sanguinetti M, Fadda G. 2012. Direct maldi-tof mass spectrometry assay of blood culture broths for rapid identification of *Candida* species causing bloodstream infections: an observational study in two large microbiology laboratories. *J Clin Microbiol*, 50 (1):176-179.
- Stefani S. 2009. Diagnostic techniques in bloodstream infections: where are we going? *Int J Antimicrob Agents*, 34 Suppl 4:S9-12.
- Stone BA, Clarke AE. 1992. Chemistry and biology of 1,3-β-Glucans. Victoria Australia: La Trobe University Press.
- Strecker N. 2014. Kreislaufdepression im Rahmen der Intubation bei septischen Patienten: Vergleich Etomidat/Fentanyl vs. Ketamin/Midazolam mittels USCOM® Medizinische Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München:
- Suda M, Ohno N, Adachi Y, Yadomae T. 1992. Tissue distribution of intraperitoneally administered (1->3)-beta-D-glucan (SSG), a highly branched antitumor glucan, in mice. *J Pharmacobiodyn*, 15 (8):417-426.
- Tissot F, Lamoth F, Hauser PM, Orasch C, Fluckiger U, Siegemund M, Zimmerli S, Calandra T, Bille J, Eggimann P, Marchetti O, Fungal Infection Network of S. 2013. beta-

- glucan antigenemia anticipates diagnosis of blood culture-negative intraabdominal candidiasis. *Am J Respir Crit Care Med*, 188 (9):1100-1109.
- Tortorano AM, Kibbler C, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Grillot R. 2006. Candidaemia in Europe: epidemiology and resistance. *Int J Antimicrob Agents*, 27 (5):359-366.
- Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Kibbler CC, Faure O, Biraghi E, Canton E, Zimmermann K, Seaton S, Grillot R. 2004. Epidemiology of Candidaemia in Europe: Results of 28-Month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) Hospital-Based Surveillance Study. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 23 (4):317-322.
- Trick WE, Fridkin SK, Edwards JR, Hajjeh RA, Gaynes RP. 2002. Secular trend of hospital-acquired candidemia among intensive care unit patients in the United States during 1989-1999. *Clin Infect Dis*, 35 (5):627-630.
- Usami M, Ohata A, Horiuchi T, Nagasawa K, Wakabayashi T, Tanaka S. 2002. Positive (1-->3)-beta-D-glucan in blood components and release of (1-->3)-beta-D-glucan from depth-type membrane filters for blood processing. *Transfusion*, 42 (9):1189-1195.
- van Veen SQ, Claas EC, Kuijper EJ. 2010. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. *J Clin Microbiol*, 48 (3):900-907.
- Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonca A, Bruining H, Reinhart CK, Suter PM, Thijs LG. 1996. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med*, 22 (7):707-710.
- Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, Moreno R, Carlet J, Le Gall JR, Payen D. 2006. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med*, 34 (2):344-353.
- Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, Moreno R, Lipman J, Gomersall C, Sakr Y, Reinhart K, Investigators EICo. 2009. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA*, 302 (21):2323-2329.
- Vollmer T, Stormer M, Kleesiek K, Dreier J. 2008. Evaluation of novel broad-range real-time PCR assay for rapid detection of human pathogenic fungi in various clinical specimens. *J Clin Microbiol*, 46 (6):1919-1926.
- Walsh TJ, Hathorn JW, Sobel JD, Merz WG, Sanchez V, Maret SM, Buckley HR, Pfaller MA, Schaufele R, Sliva C, et al. 1991. Detection of circulating candida enolase by immunoassay in patients with cancer and invasive candidiasis. *N Engl J Med*, 324 (15):1026-1031.
- White PL, Shetty A, Barnes RA. 2003. Detection of seven Candida species using the Light-Cycler system. *J Med Microbiol*, 52 (Pt 3):229-238.
- Williams DL. 1997. Overview of (1-->3)-beta-D-glucan immunobiology. *Mediators Inflamm*, 6 (4):247-250.
- Williams DL, Sherwood ER, Browder IW, McNamee RB, Jones EL, Di Luzio NR. 1988. Pre-clinical safety evaluation of soluble glucan. *Int J Immunopharmacol*, 10 (4):405-414.
- Williams DL, McNamee RB, Jones EL, Pretus HA, Ensley HE, Browder IW, Di Luzio NR. 1991. A method for the solubilization of a (1---3)-beta-D-glucan isolated from *Saccharomyces cerevisiae*. *Carbohydr Res*, 219:203-213.
- Wilson DA, Joyce MJ, Hall LS, Reller LB, Roberts GD, Hall GS, Alexander BD, Procop GW. 2005. Multicenter evaluation of a *Candida albicans* peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridization probe for characterization of yeast isolates from blood cultures. *J Clin Microbiol*, 43 (6):2909-2912.

- Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. 2004. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis*, 39 (3):309-317.
- Woo PC, Chan CM, Leung AS, Lau SK, Che XY, Wong SS, Cao L, Yuen KY. 2002. Detection of cell wall galactomannoprotein Afmp1p in culture supernatants of *Aspergillus fumigatus* and in sera of aspergillosis patients. *J Clin Microbiol*, 40 (11):4382-4387.
- Wright WF. 2011. (1-3)- β -D-Glucan Assay: A Review of its Laboratory and Clinical Application. *Lab Med*, 42 (11):679-685.
- Yeo SF, Wong B. 2002. Current status of nonculture methods for diagnosis of invasive fungal infections. *Clin Microbiol Rev*, 15 (3):465-484.
- Yoshida K, Niki Y, Mitekura H, Nakajima M, Kawane H, Matsushima T. 2001. [A discrepancy in the values of serum (1-3)-beta-D-glucan measured by two kits using different methods]. *Nihon Ishinkin Gakkai Zasshi*, 42 (4):237-242.
- Yoshida M, Roth RI, Grunfeld C, Feingold KR, Levin J. 1996. Soluble (1-->3)-beta-D-glucan purified from *Candida albicans*: biologic effects and distribution in blood and organs in rabbits. *J Lab Clin Med*, 128 (1):103-114.
- Zaoutis TE, Argon J, Chu J, Berlin JA, Walsh TJ, Feudtner C. 2005. The epidemiology and attributable outcomes of candidemia in adults and children hospitalized in the United States: a propensity analysis. *Clin Infect Dis*, 41 (9):1232-1239.
- Zou M, Tang L, Zhao S, Zhao Z, Chen L, Chen P, Huang Z, Li J, Chen L, Fan X. 2012. Systematic review and meta-analysis of detecting galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosing invasive aspergillosis. *PLoS One*, 7 (8):e43347.

Anhang

I. SOFA-Score

(Sepsis-related Organ Failure Assessment [Vincent et al. 1996])

Der SOFA-Score ist ein von Experten der European Society for Intensive Care Medicine (ESICM) festgelegter Konsens zur objektiven Beschreibung der Organ(-dys)function – nicht nur bei Sepsis.

Grundlage der täglichen Erhebung (24-Stunden-Zeiträume) sind die jeweils schlechtesten Werte für jedes Organsystem

Organ	Parameter		Punkte			
			1	2	3	4
Lunge	paO ₂ /FiO ₂	mmHg	< 400	< 300	< 200 mit Beatmung	< 100 mit Beatmung
Niere	Kreatinin oder	mg/dL	1,2 – 1,9	2,0 – 3,4	3,5 – 4,9	≥ 5,0
	Ausfuhrmenge	ml/Tag	-	-	< 500	< 200
Leber	Bilirubin	mg/dL	1,2 – 1,9	2,0 – 5,9	6,0 – 11,9	≥ 12,0
Herz / Kreislauf	Blutdruck und Katecholamine	mmHg	MAP < 70	Katecholamine niedrig*	Katecholamine mittel*	Katecholamine hoch*
Blut	Thrombozyten	1000/mm ³	< 150	< 100	< 50	< 20
ZNS	Glasgow Coma Scale		14-13	12-10	9-6	< 6

* Katecholamindosis niedrig = Dopamin ≤ 5 oder Dobutamin (jede Dosis) für mind. 1 Stunde
mittel = Dopamin > 5 oder Adrenalin/Noradrenalin ≤ 0,1 µg/kg*min
hoch = Dopamin > 15 oder Adrenalin/Noradrenalin > 0,1 µg/kg*min

Quelle: Deutsche Interdisziplinäre Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin
(www.divi.de/images/Dokumente/Empfehlungen/Qualitaetssicherung/2000_sofa.pdf)

II. Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Prof. F. M. Brunkhorst für die Vergabe des Themas, die vielfältige Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit sowie für die hilfreichen Diskussionen herzlich bedanken.

Mein besonderer Dank gilt den Studienschwestern der Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin des Universitätsklinikum Jena Anke Braune, Ulrike Redlich, Petra Bloos und Daniela Fergen, für die stete Hilfe beim Screening der Probanden, für die aufwendige Bereitstellung des Probenmaterials, für das gute Arbeitsklima sowie den zahlreichen Hinweisen und Anregungen bei der Dokumentation.

Weiterhin bedanke ich mich ganz herzlich bei Dipl. Ing. J. Pohle (ehemals EDV Abteilung, Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin des Universitätsklinikum Jena) und Dipl. Ing. F. Rissner (Zentrum für Klinische Studien, Universitätsklinikum Jena), die mir bei der EDV-Datenbank und der Zusammenführung der Daten hilfreich zur Seite standen.

Für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung möchte ich mich bei Robert Hutagalung (ehemals Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Jena) bedanken. Prof. Dr. rer. physiol. A. Scherag (Klinische Epidemiologie, Center for Sepsis Control and Care und Zentrum für Klinische Studien, Universitätsklinikum Jena) und Prof. Dr. med. P. Schlattmann (Institut für Medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation) führten die statistische Beratung durch und gaben mir praktische Hinweise. Bedanken möchte ich mich für die ständige Hilfs- und Diskussionsbereitschaft sowie für großes Interesse an meiner Arbeit.

Für die liebevolle Unterstützung, viel Geduld und große Diskussionsbereitschaft bedanke ich mich ganz herzlich bei meiner Familie.

III. Curriculum Vitae

IV. Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass

- mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,
- ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönliche Mitteilungen und Quellen meiner Arbeit angegeben sind,
- mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:
 - Prof. Dr. med. Frank Martin Brunkhorst, (Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum-Jena)
 - Robert Hutaglung, (CSCC, Universitätsklinikum Jena)
- ich die Hilfe eines Promotionsberaters in Anspruch genommen habe,
- Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen
- ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe
- und ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule eingereicht habe.

Jena, den

Katrin Ludewig, Verfasser