

Einfluss antiviraler Therapie auf das Outcome
mechanisch beatmeter Patienten mit Nachweis von
Herpes simplex Virus-Typ 1 in der
bronchoalveolären Lavage.

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

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

von Elisabeth Heimes

geboren am 21.08.1992 in Neunkirchen

Gutachter

(akademischer Grad, Vor- und Nachname sowie Wirkungsort):

1. Prof. Dr. med. Mathias Pletz, Institut für Infektionsmedizin und
Krankenhaushygiene Universitätsklinikum Jena
2. Prof. Dr. med. Michael Bauer, Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin
Universitätsklinikum Jena
3. Prof. Dr. med. Reinhard Hoffmann, Institut für Labormedizin und Mikrobiologie
Universitätsklinikum Augsburg

Tag der öffentlichen Verteidigung: 05.07.2022

I Inhaltsverzeichnis

I. Abkürzungsverzeichnis	4
1. Zusammenfassung.....	5
1.1 Wissenschaftlicher Hintergrund	5
1.2 Fragestellung und Ziele	5
1.3 Methodik.....	5
1.4 Ergebnisse und Diskussion	6
1.5 Schlussfolgerung	6
2. Einleitung	7
2.1 Atemwegsinfektionen.....	7
2.2 Herpes simplex Virus Typ 1	8
2.3 Atemwegsinfektionen durch HSV-1	8
2.4 HSV-1 bei kritisch kranken Patienten	9
2.5 Aciclovir und Ganciclovir.....	10
3. Ziele der Arbeit.....	12
4. Publierte Originalarbeit.....	13
5. Diskussion.....	22
6. Schlussfolgerung	26
7. Literatur- und Quellenverzeichnis	27
8. Anhang.....	29
8.1. Weitere Tabellen.....	29
8.2 Ehrenwörtliche Erklärung.....	36
8.3 Danksagung.....	37

II Abkürzungsverzeichnis

Nachfolgend sind die in der Dissertation verwendeten Abkürzungen erläutert.

95%-KI = 95% Konfidenzintervall

APACHE II = Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II

ARDS = *engl.* Acute Respiratory Distress Syndrome

BAL = bronchoalveoläre Lavage

CAP = *engl.* community-acquired pneumonia, ambulant erworbene Pneumonie

CMV = Zytomegalovirus

C_t = Cycle Threshold

EBV = Epstein-Barr-Virus

HAP = *engl.* hospital-acquired pneumonia, nosokomiale Pneumonie

HR = Hazard Ratio

HSV-1 = Herpes-Simplex-Virus Typ 1

ITS = Intensivstation

OR = Odds Ratio

PCR = *engl.* polymerase chain reaction, Polymerasekettenreaktion

Q1; Q3 = erstes und drittes Quartil

SAPS 2 = Simplified Acute Physiology Score 2

SOFA = Sequential Organ Failure Assessment

VAP = *engl.* ventilator associated pneumonia, beatmungsassoziierte Pneumonie

VAT = *engl.* Ventilator associated tracheobronchitis, beatmungsassoziierte
Tracheobronchitis

VZV = Varizella-Zoster-Virus

X²-Test = Chi-Quadrat-Test

1. Zusammenfassung

1.1 Wissenschaftlicher Hintergrund

Die Relevanz eines Nachweises von Herpes-simplex-Virus Typ 1 (HSV-1) im unteren Respirationstrakt bei kritisch kranken Patienten wird in der Fachgesellschaft kontrovers diskutiert. Bisher ist nicht endgültig geklärt, ob es sich um eine harmlose endogene Reaktivierung und Freisetzung des Virus unter Immunsuppression handelt, oder um eine echte klinische Infektion, welche auf den weiteren Krankheitsverlauf deutlich Einfluss nehmen kann. Der Einsatz antiviraler Substanzen wie Aciclovir oder Ganciclovir ist daher bei diesem Krankheitsbild umstritten.

1.2 Fragestellung und Ziele

Das primäre Ziel der Studie ist es, den Stellenwert einer antiviralen Therapie bei Nachweis von HSV-1 im unteren Respirationstrakt bei kritisch kranken Patienten auf der Intensivstation zu untersuchen. Daher wird das Outcome der Patienten mit antiviraler Therapie und derer ohne antivirale Therapie verglichen, um einen möglichen Überlebensvorteil zu eruieren.

1.3 Methodik

Die Studie wurde als retrospektive Kohortenstudie auf den vier Erwachsenen-Intensivstationen (ITS) des Universitätsklinikums Jena durchgeführt. In die Studie wurden alle Patienten mit einer Atemwegsinfektion und einem per Polymerase-Kettenreaktion (PCR) geführten Nachweis von HSV-1 in der bronchoalveolären Lavage (BAL) oder dem Tracheal-/Bronchialsekret eingeschlossen. Untersuchungszeitraum war zwischen Januar 2011 und Dezember 2017. Ausschlusskriterium war eine unmittelbar zuvor durchgeführte antivirale Therapie.

Die statistische Auswertung erfolgte mittels SPSS und R. Um die Charakteristika beider Patientengruppen zu beschreiben, kamen der χ^2 -Test bzw., falls indiziert, der exakte Test nach Fisher oder Mann-Whitney U-Test zur Anwendung. Zur Analyse des primären Endpunktes (30-Tage-Überleben) wurden sowohl ein univariablen als auch ein multivariablen Cox Regressions-Modell unter Einbezug weiterer auf die Mortalität bezogener Risikofaktoren berechnet. Zusätzlich wurden weitergehende Subgruppenanalysen durchgeführt, sowie Analysen der sekundären Endpunkte (ITS- und Krankenhausmortalität, Dauer des ITS- und Krankenhausaufenthalts, Dauer der mechanischen Beatmung).

1.4 Ergebnisse und Diskussion

Insgesamt wurden Daten von 306 HSV-1 positiv getesteten Patienten erhoben und verglichen. 177 dieser Patienten erhielten im Verlauf ihrer intensivmedizinischen Behandlung eine antivirale Therapie erhalten, davon 161 Patienten Aciclovir, 11 Patienten Ganciclovir und 5 Patienten beide Medikamenten. 129 der 306 HSV-1 positiven Patienten wurden nicht antiviral therapiert. Um das Outcome der Patienten zu vergleichen, wurde das 30-Tage-Überleben beider Gruppen berechnet. Bei Anwendung des multivariablen COX-Regressions-Modells, in dem der Einfluss möglicher Risikofaktoren auf die Überlebenszeit berücksichtigt wurde, zeigte sich ein besseres 30-Tage-Überleben für die antiviral therapierte Gruppe. Dieses Ergebnis bestätigte sich auch in der Subgruppe der nicht-immunsupprimierten Patienten.

Zusätzlich wies die mit Virostatika therapierte Gruppe eine geringere Krankenhausmortalität auf. Bezüglich der ITS-Mortalität fand sich hingegen kein Überlebensvorteil durch eine antivirale Behandlung.

In der therapierten Gruppe wurde ein längerer ITS- und Krankenhausaufenthalt beobachtet, ebenso eine längere Beatmungsdauer. Diese Beobachtungen könnten mit einer längeren Überlebenszeit auf Grund der antiviralen Therapie erklärt werden.

1.5 Schlussfolgerung

Die Studie zeigt ein besseres 30-Tage-Überleben und eine geringere Krankenhausmortalität in der antiviral therapierten Gruppe. Dies könnte auf einen Überlebensvorteil durch die antivirale Therapie schließen lassen. Somit sollte ein Nachweis von HSV-1 in der BAL oder im Tracheal-/Bronchial-Sekret nicht als harmlose virale Freisetzung durch Reaktivierung abgetan werden, viel mehr sollte eine klinische Infektion in Betracht gezogen werden und gegebenenfalls eine antivirale Therapie veranlasst werden.

Weitere multizentrische randomisierte kontrollierte Studien sind notwendig, um die Ergebnisse unserer Studie zu erhärten sowie den Stellenwert einer antiviralen Therapie randomisiert zu prüfen. Jene Patientengruppen, die am meisten von einer antiviralen Therapie profitieren würden, könnten dadurch identifiziert werden.

2. Einleitung

2.1 Atemwegsinfektionen

Weltweit stellen Atemwegsinfektionen eine der häufigsten Todesursachen dar (Reynolds et al. 2010). Je nach Alter, lokalen Epidemien, Lokalisation der Infektion im Respirationstrakt und dem Zugang zu antiinfektöser Therapie ist eine große Ausprägungsvielfalt der Erkrankung möglich (Ruopp et al. 2015). Die nosokomiale Pneumonie ist bei kritisch kranken Patienten besonders relevant, da sie mit mehr als 20% die häufigste aller nosokomialen Infektionen auf den Intensivstationen darstellt und in 20-50% der Fälle zum Tod führt (De Pascale et al. 2017).

Um eine adäquate Behandlung der unteren Atemwegsinfektion zu garantieren ist eine exakte Einteilung anhand des ursächlichen Erregers (bakteriell, viral, mykobakteriell oder andere) unerlässlich (Ruopp et al. 2015). Trotz sinkender Inzidenz sind Pneumokokken, vor allem bei kritisch kranken Patienten, die häufigsten bakteriellen Erreger unterer Atemwegsinfektionen und treten in 10-15% der Fälle auf. Mit einem Anteil von jeweils 2-5% aller krankenhauspflchtigen Pneumonien sind gram-negative Bakterien, *Staphylococcus aureus*, Chlamydien, *Mycoplasma* und Legionellen vertreten. Viren können bei 25% aller Patienten mit einer unteren Atemwegsinfektion nachgewiesen werden, wovon etwa ein Drittel zusätzlich eine bakterielle Koinfektion entwickelt. Laut einiger Studien konnte in bis zu 50% aller Fälle kein ursächlicher Erreger identifiziert werden (Musher et al. 2017).

Je nach zeitlichem Auftreten können Atemwegsinfektion in ambulant-erworbene Pneumonien (*engl.* community-acquired pneumonia, CAP), nosokomiale Pneumonien (*engl.* hospital-acquired pneumonia, HAP), beatmungsassoziierte Pneumonien (*engl.* ventilator-associated pneumonia, VAP) oder beatmungsassoziierte Tracheobronchitiden (*engl.* ventilator-associated tracheobronchitis, VAT) unterschieden werden. Die ambulant erworbene Pneumonie wird als eine außerhalb des Krankenhauses auftretende Pneumonie definiert, d.h. sie tritt innerhalb der ersten 48 Stunden nach Krankenhausaufnahme bzw. frühestens 3 Monate nach der letzten Hospitalisation in Erscheinung (Ewig et al., 2016). Im Gegensatz dazu wird die nosokomiale Pneumonie als Pneumonie beschrieben, die frühestens 48 Stunden nach Krankenhausaufnahme auftritt und sich bei Hospitalisierung noch nicht in der Inkubationsphase befand (Dalhoff et al. 2018). Eine Sonderform der nosokomialen

Pneumonie stellt die beatmungsassoziierte Pneumonie dar, die sich in den ersten zehn Tagen nach Beginn einer invasiven Beatmungstherapie entwickelt (Kalil et al. 2016).

Finden sich bei einem beatmeten Patienten röntgenologisch keine neuen Infiltrate, besteht auf Grund von purulenten trachealen Absonderungen und Fieber ohne andere erkennbare Ursache dennoch der klinische Verdacht auf eine untere Atemwegsinfektion, so spricht man von einer beatmungsassoziierten Tracheobronchitis (De Pascale et al. 2017).

2.2 Herpes-simplex-Virus Typ 1

Das Herpes-simplex-Virus Typ 1 (HSV-1) zählt zur Gattung der α -Herpesviren der Familie Herpesviridae. Wie alle Herpesviren besitzt HSV-1 eine umhüllte, doppelsträngige lineare DNA. Die Durchseuchungsrate mit HSV-1 beträgt je nach Alter und sozioökonomischen Status 40-98%. Meist verläuft die Primärinfektion asymptomatisch, kann aber auch zu einer schmerzhaften Gingivostomatitis oder Pharyngitis führen. Schließlich verbleibt das Virus lebenslanglich in einer nicht-replikativen Form in Ganglien des sensorischen Nervensystems, häufig im Ganglion trigeminale. Trotz vorhandener Antikörper können lokale (z.B. Gewebstraumata, UV-Strahlen) oder systemische Stimuli (z.B. Fieber, Operationen) eine Reaktivierung auslösen (Simoons-Smit et al. 2006). Auch wenn eine HSV-1-Infektion bei gesunden Menschen meist unkompliziert verläuft, kann sie bei Kindern oder kritisch kranken Patienten lebensbedrohlich sein (Kłysik et al. 2020). So können sehr unterschiedliche klinische Ausprägungen zum Vorschein kommen, die von Schleimhautinfektionen über Enzephalitiden bis zu Infektionen der viszerale Organe, wie zum Beispiel der Lunge reichen (Simoons-Smit et al. 2006).

2.3 Atemwegsinfektionen durch HSV-1

1949 wurde erstmals von einem Zusammenhang zwischen HSV-1 und Erkrankungen der Lunge berichtet. Lange Zeit ging man davon aus, dass HSV-Pneumonien selten seien. Erst durch bessere Diagnosemöglichkeiten und der häufigeren Durchführung der bronchoalveolären Lavage (BAL) wird HSV-1 vermehrt in respiratorischem Sekret nachgewiesen (Simoons-Smit et al. 2006).

Man vermutet, dass eine mechanische Beanspruchung des Gewebes zu höherer Vulnerabilität für eine HSV-1-Infektion führen kann. Mikrotraumen durch Intubation, Instrumentieren oder mechanische Reizung gelten mittlerweile als Risikofaktoren für eine Infektion der Atemwege (Simoons-Smit et al. 2006).

Der genaue Ausbreitungsweg des Virus vom Ganglion zum respiratorischen Epithel ist bisher ungeklärt. Es werden drei mögliche Mechanismen diskutiert. Erstens könnte eine vom Oropharynx ausgehende kontinuierliche Ausbreitung von HSV-1 vorliegen. Analog ist auch eine Aspiration von infektiösem Material oder eine Dislokation von Viruspartikel entlang des endotrachealen Tubus denkbar. Zweitens könnte eine hämatogene Aussaat zu einer Infektion des respiratorischen Epithels führen. Drittens wird eine Reaktivierung einer latenten HSV-1-Infektion des vagalen Ganglions und eine Ausbreitung entlang des Vagusnervs in die Lunge diskutiert (Simoons-Smit et al. 2006).

2.4 HSV-1 bei kritisch kranken Patienten

Obwohl HSV-1 regelmäßig im Rahmen einer BAL bei maschinell beatmeten Patienten auf der Intensivstation nachgewiesen wird, ist deren Relevanz jedoch bisher umstritten. Je nach Studie und Allgemeinzustand des Patienten wird HSV-1 mit einer Häufigkeit von 12-62% diagnostiziert (Tuxen et al. 1987, Saugel et al. 2016, Lepiller et al. 2015, Scheithauer et al. 2010, Linssen et al. 2008).

Die zuverlässige Diagnose der HSV-1-Pneumonie ist nur schwierig zu stellen, da die notwendige Lungenbiopsie bei kritisch kranken, maschinell beatmeten Patienten nicht routinemäßig durchführbar ist. Eine klinische Unterscheidung zu einer bakteriellen Pneumonie ist auf Grund der unspezifischen Symptome wie Fieber, Hypoxie und Auswurf nur schwer möglich. Ebenso unspezifisch sind radiologische Untersuchungen, da ein Nachweis von Milchglastrübung, Konsolidierung oder verdickter interlobulärer Septen auch durch zahlreiche andere Erreger bedingt sein kann (Chong et al. 2010).

Unter anderem resultiert daraus die Schwierigkeit der Interpretation eines positiven Testergebnis. Es bleibt bisher ungeklärt, ob in diesem Fall eine reale klinische Infektion vorliegt, oder ob es sich um eine harmlose virale Aussaat durch Reaktivierung einer latenten Infektion handelt und somit lediglich die Schwere der Grunderkrankung und

Immunparalyse repräsentiert wird (Forel et al. 2014, De Vos et al. 2009, Van den Brink et al. 2004). Diesbezüglich ist die Studienlage widersprüchlich: einige Studien zeigen eine erhöhte Mortalität bei Patienten mit Nachweis von HSV-1 in respiratorischen Material (Linnsen et al. 2008, Brenner et al. 2012, Stram et al. 2018, Bouza et al. 2011). Andere Studien können dies nicht bestätigen (Scheithauer et al. 2010, Luyt et al. 2007, Assink-de Jong et al. 2013).

Hingegen wird der Nachweis von HSV-1 bei immunsupprimierten Patienten (z.B. nach Knochenmarks- oder Organtransplantation) als pathogen angesehen und folglich der Einsatz einer antiviralen Therapie weniger kontrovers diskutiert (Luyt et al. 2014).

Zusammenfassend ist zu konstatieren, dass bei einem HSV-1-Nachweis in der BAL bei kritisch kranken maschinell beatmeten nicht-immunsupprimierten Patienten auf der Intensivstation mit einer Atemwegsinfektion Unklarheit besteht, ob das Virus als Auslöser der Infektion anzusehen ist oder ob eine harmlose Aussaat durch Reaktivierung vorliegt (Forel et al. 2014, De Vos et al. 2009, Van den Brink et al. 2004).

2.5 Aciclovir und Ganciclovir

Aciclovir ist das am häufigsten eingesetzte antivirale Medikament zur Behandlung von Herpes-Infektionen und steht Ärzten seit 1982 zur Verfügung. Besonders effektiv wirkt es bei Infektionen mit HSV-1 oder Herpes-Simplex-Virus Typ 2 (HSV-2), während seine Wirksamkeit bei einer Infektion mit Varizella-Zoster-Virus (VZV) oder Epstein-Barr-Virus (EBV) deutlich eingeschränkter ist und bei einer Zytomegalovirus-Infektion (CMV) kaum Effekt hat (King 1988). Der Einsatz von Aciclovir führt lediglich zur Reduktion der durch die Infektion hervorgerufenen Symptome und nicht zur kompletten Eliminierung des Erregers, da die Herpesviren in einer nicht-replikativen Form in sensorischen Ganglien verbleiben können. Neben der topischen Anwendung bei lokaler Infektion, kann Aciclovir oral oder intravenös mit einer Dosierung von 5 -10 mg/kg Körpergewicht eingesetzt werden. Bei eingeschränkter Nierenfunktion sollte auf Grund der renalen Eliminierung des Wirkstoffes eine Dosisanpassung vorgenommen werden. Zu den häufigen Nebenwirkungen zählen gastrointestinale Symptome (z.B. Übelkeit, Diarrhö) oder Entzündung und Phlebitis an der Injektionsstelle. Seltener lassen sich neurologische und psychiatrische Nebenwirkungen wie Lethargie, Tremor oder Krampfanfälle beobachten. Eine seltene, aber gefürchtete Nebenwirkung ist die durch das Ausfällen von Medikamentenkristalle bedingte Niereninsuffizienz, die vor

allem dehydrierte oder nephrologisch vorerkrankte Patienten ereilen kann. Durch eine parallele Hydrierung zur Aciclovir-Gabe versucht man diese Komplikation vorzubeugen. Meist sind die nephrologischen und neurologischen Nebenwirkungen reversibel. Bisher ist keine Relation zwischen dem Aciclovirspiegel im Plasma und dem Ausmaß der Nebenwirkungen bekannt.

Ganciclovir ist ein dem Aciclovir strukturell ähnliches antivirales Medikament. Es kommt häufig bei CMV-Infektionen zum Einsatz. Seine Wirksamkeit umfasst aber ebenso das EBV, Humanes Herpesvirus 6, Hepatitis-B-Virus, und Aciclovir-resistente Herpesviren. Da es eine höhere Zytotoxizität im Vergleich zu Aciclovir besitzt, ist Aciclovir bei einer HSV-1-Infektion zu bevorzugen (Kłysik et al. 2020).

3. Ziele der Arbeit

Bisher ist der Stellenwert eines Nachweises von HSV-1 in der BAL bei kritisch kranken maschinell beatmeten Patienten auf der Intensivstation umstritten. Obwohl ein HSV-1-Nachweis in respiratorischen Sekreten von immunsupprimierten Patienten als pathogen gilt und der Einsatz antiviraler Therapie weniger kontrovers diskutiert wird, ist dies bei kritisch kranken nichtimmunsupprimierten Patienten nicht der Fall.

Ziel der Arbeit ist es den Einfluss einer antiviralen Therapie auf das Outcome von mechanisch beatmeten Patienten mit einem Nachweis von HSV-1 in der BAL und klinischen Zeichen einer Atemwegserkrankung zu untersuchen, um daraus auf die Relevanz des Erregers und einen möglichen Benefit durch antivirale Therapie zu schließen.

Effect of Antiviral Therapy on the Outcome of Mechanically Ventilated Patients With Herpes Simplex Virus Type 1 in BAL Fluid

A Retrospective Cohort Study



Elisabeth Heimes, MD; Michael Baier, MD; Christina Forstner, MD; Sebastian Weis, MD; Michael Bauer, MD; Michael Fritzenwanger, MD; André Scherag, Dr. rer. physiol; Mathias W. Pletz, MD; Miriam Kesselmeier, Dr. sc. hum; and Stefan Hagel, MD



BACKGROUND: Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) is frequently detected in the BAL fluid of patients on mechanical ventilation.

RESEARCH QUESTION: The aim of the study was to investigate whether antiviral therapy is associated with improved overall survival within 30 days.

STUDY DESIGN AND METHODS: This was a retrospective cohort study in four ICUs between January 2011 and December 2017. All adult patients on mechanical ventilation with a respiratory tract infection with positive polymerase chain reaction testing for HSV-1 in the BAL were included. Patients already receiving antiviral agents on the day BAL was performed were excluded. We performed uni- and multivariable Cox and logistic regression modeling.

RESULTS: Overall, 306 patients were included in the analysis. Among them, 177 patients (57.8%) received antiviral therapy (90.9% acyclovir, 6.2% ganciclovir, 2.9% both). The overall 30-day mortality rate was 42.4% ($n = 75$) in the antiviral treatment group and 50.4% ($n = 65$) in the control group. The adjusted hazard ratio (HR) for the primary outcome was 0.62 (95% CI, 0.44-0.87; $P = .005$), indicating better overall survival within 30 days for the antiviral-treated group than for the untreated group. This benefit was also present in the subgroup of patients without immunosuppression ($n = 246$; adjusted HR, 0.53; 95% CI, 0.36-0.78; $P = .001$). Overall, the median lengths of hospital stay (31 vs 24 days, $P = .002$) and ICU stay (24 vs 17 days, $P < .001$), and the duration of mechanical ventilation (18 vs 11 days, $P < .001$), were longer for patients with therapy. No evidence for the treatment-related deterioration of renal function was observed.

INTERPRETATION: These data suggest that detection of HSV-1 in the BAL of patients on mechanical ventilation may be of clinical significance and that specific antiviral treatment may improve clinical outcomes. However, this needs to be proven in multicenter randomized controlled trials before implementation into the clinical routine.

CHEST 2020; 158(5):1867-1875

KEY WORDS: herpes simplex; pneumonia; ventilation; viral disease

ABBREVIATIONS: APACHE II = Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II; CMV = cytomegalovirus; C_t = cycle threshold; HR = hazard ratio; HSV-1 = herpes simplex virus type 1; PCR = polymerase chain reaction; Q1 = first quartile; Q3 = third quartile; RTI = respiratory tract infection; SAPS 2 = Simplified Acute Physiology Score 2; SOFA = Sequential Organ Failure Assessment; VAP = ventilator-associated pneumonia

AFFILIATIONS: From the Institutes for Infectious Diseases and Infection Control (Drs Heimes, Forstner, Weis, Pletz, and Hagel) and Medical Microbiology (Dr Baier), Jena University Hospital, Jena, Germany; the Department of Medicine I (Dr Forstner), Division of Infectious Diseases and Tropical Medicine, Medical University of Vienna, Vienna, Austria; and the Department of Anesthesiology and Intensive Care Therapy (Drs Weis and Bauer), the Center for Sepsis

Take-home Point

Is antiviral therapy associated with improved outcome in patients on mechanical ventilation in whom HSV-1 was detected in BAL? In this patient cohort, antiviral therapy was associated with better survival within 30 days and a lower in-hospital mortality rate, even after adjustments were made for known risk factors for short-term mortality. This suggests that the detection of HSV-1 in the BAL, also in the nonimmunocompromised host, is of clinical relevance.

Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) causes a variety of infections that involve mucocutaneous surfaces, the CNS, and occasionally, visceral organs. After primary infection, HSV-1 invades neurons and subsequently remains in a nonreplicating form in sensory ganglia for the entire life of the infected individual.¹ During a latency period, reactivation of the infection can be triggered by a wide range of stimuli, including local or systemic stimuli.¹ HSV-1 can be detected frequently in the BAL of patients on mechanical ventilation admitted to the ICU. The detection frequency ranges between 12% and 62%, depending on the study population and the severity of disease.²⁻⁶ However,

there are controversies regarding the significance of the presence of HSV-1 in respiratory specimens from these patients. It remains unclear whether the detection represents a harmless viral shedding as a consequence of reactivation, reflecting the severity of the underlying disease and immunoparalysis, or a true clinical infection.⁷⁻⁹ Study results are conflicting: mortality in patients with HSV-1 in respiratory secretions was increased in some^{5,10-12} but not in other^{5,13,14} studies. The decision is further complicated by the challenge of rendering a confident clinical diagnosis of HSV-1 bronchopulmonary infection in these patients. For diagnosis of HSV-1 pneumonia, lung biopsy is the criterion standard. This, however, is not routinely feasible in critically ill patients on mechanical ventilation. Furthermore, the clinical symptoms of HSV-1 bronchopneumonitis are nonspecific and often mimic those of bacterial pneumonia, including fever, hypoxemia, and purulent pulmonary secretions. The same is true for radiologic examinations, which can show ground-glass attenuations, airspace consolidations, and interlobular thickening.¹⁵ The aim of the study was to investigate whether antiviral therapy is associated with better outcomes in patients on mechanical ventilation in the ICU with clinical signs of a respiratory tract infection (RTI) in whom HSV-1 was detected in BAL.

Methods

Study Design

A retrospective cohort study was performed in four ICUs (one medical, one neurologic, two interdisciplinary surgical) at the Jena University Hospital between January 2011 and December 2017. All patients in the ICU \geq 18 years of age with the clinical diagnosis of an RTI in whom polymerase chain reaction (PCR) testing for HSV-1 in the BAL was positive were included. Patients already receiving antiviral

agents on the day when the BAL was performed were excluded. Ethical approval for the study was provided by the ethics committee of the Jena University Hospital with a waiver of informed consent of the patients (5356-11/17).

Measurements, Definitions, and Outcome

HSV-1 testing was performed using artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit (QIAGEN) on QIA Symphony SP/AS (DNA preparation and master mix setup) and Rotor-Gene Q (amplification) instruments. A cycle threshold (C_t) of > 33 (equivalent to approximately 10^3 copies/mL) was reported as weakly positive, 20 to 33 was reported as positive, and < 20 was reported as strong positive. The HSV-1 viral load was defined as high within the study in case of a positive or strong positive PCR result. Testing was ordered at the discretion of the treating physicians. RTI was defined as either community-acquired pneumonia, hospital-acquired pneumonia, ventilator-associated pneumonia (VAP), or ventilator-associated tracheobronchitis. Diagnosis of community-acquired pneumonia, VAP, and hospital-acquired pneumonia was established according to accepted criteria.¹⁶⁻¹⁸ Ventilator-associated tracheobronchitis was defined as fever with no other recognizable cause, purulent tracheal secretions, and the absence of new infiltrates on chest radiograph. Immunosuppression was defined as primary immune deficiency states, secondary acquired immune suppression (eg, chronic corticosteroid use > 10 mg/d, chemotherapy), and HIV/AIDS. The Simplified Acute Physiology Score 2 (SAPS 2) and the Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (APACHE II) score

Control and Care (Dr Weis), the Department of Internal Medicine I, Division of Cardiology, Pneumology, Angiology and Intensive Medical Care (Dr Fritzenwanger), the Research Group Clinical Epidemiology, Center for Sepsis Control and Care (CSCC) (Drs Scherag and Kesselmeier), and the Institute of Medical Statistics, Computer and Data Sciences (Dr Scherag), Jena University Hospital, Jena, Germany. Drs Kesselmeier and Hagel contributed equally to this manuscript.

FUNDING/SUPPORT: Drs Kesselmeier and Scherag were supported by the Center for Sepsis Control and Care (CSCC) at the Jena University Hospital, funded by the German Ministry of Education and Research [BMBF Grant 01EO1502].

CORRESPONDENCE TO: Stefan Hagel, MD, Institute for Infectious Diseases and Infection Control, Center for Sepsis Control and Care, Jena University Hospital, Am Klinikum 1, 07747 Jena, Germany; e-mail: stefan.hagel@med.uni-jena.de

Copyright © 2020 American College of Chest Physicians. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chest.2020.06.056>

TABLE 1 | Characteristics and Outcomes of Patients With HSV-1 Detected in BAL Fluid, According to Group

Patient Characteristic	Antiviral Therapy (n = 177)	No Antiviral Therapy (n = 129)	P Value
Demographics			
Males	135 (76.3)	92 (71.3)	.328
Age, y	67.0 (58.0-76.0)	68.0 (57.0-73.0)	.386
Underlying disorder			
Immunosuppression	33 ^a (18.6)	27 ^b (20.9)	.619
Diabetes mellitus	35 (19.8)	26 (20.2)	.934
COPD	49 (27.7)	26 (20.2)	.131
Liver cirrhosis (Child-Pugh class C)	4 (2.3)	6 (4.7)	.332 ^c
Corticosteroid therapy	142 (80.2)	80 (62.0)	< .001
Disease severity			
SAPS 2	52.0 (41.0-66.5)	49.0 (38.0-61.0)	.102
APACHE II score	26.0 (20.0-34.0)	24.0 (19.0-32.0)	.068
SOFA score			
T-1	9.0 (6.0-12.0)	8.0 (5.0-12.0)	.523
T0	9.0 (6.0-12.5)	8.0 (5.0-12.0) ^d	.114
T7	7.0 (4.0-11.0) ^e	5.0 (3.0-10.0) ^f	.100
Characteristics of infection			
Respiratory tract infection			
Community-acquired pneumonia	31 (17.5)	20 (15.5)	
Hospital-acquired pneumonia	57 (32.2)	49 (38.0)	
Ventilator-acquired pneumonia	71 (40.1)	40 (31.0)	
Ventilator-acquired tracheobronchitis	18 (10.2)	20 (15.5)	
ARDS			
T-1	3 (1.7)	4 (3.1)	.422
T0	5 (2.8)	1 (3.2) ^g	.334
T7	2 (4.8) ^h	1 (1.3) ⁱ	.853
CMV coinfection	36 (21.6) ^j	21 (17.4) ^k	.377
ICU specialty			
Medical	117 (66.1)	69 (53.5)	.026
Surgical	42 (23.7)	52 (40.3)	.002
Neurologic	5 (2.8)	1 (0.8)	.407 ^c
Other	13 (7.3)	7 (5.4)	.503
HSV-1 PCR			
Weak positive (C _t > 33)	25 (14.1)	58 (45.0)	
Positive (C _t 20-33)	145 (81.9)	70 (54.3)	
Strong positive (C _t < 20)	7 (4.0)	1 (0.8)	
Days between ICU admission and T-1	8.0 (2.0-14.0)	5.0 (1.0-9.5)	.006
Days between T-1 and T0	2.0 (1.0-3.0)	3.0 (2.0-5.0)	< .001
Outcomes			
Mechanical ventilation, d			
Overall	18.0 (11.0-28.5)	11.0 (4.0-20.0)	< .001
Before T-1	6.0 (0.0-11.0)	3.0 (0.0-8.8) ^l	.034
After T-1	11.0 (6.0-19.0)	6.0 (2.0-12.8) ^m	< .001
Length of stay, d			
Hospital	31.0 (20.5-43.0)	24.0 (13.5-37.0)	.002

(Continued)

TABLE 1] (Continued)

Patient Characteristic	Antiviral Therapy (n = 177)	No Antiviral Therapy (n = 129)	P Value
ICU	24.0 (15.0-35.0)	17.0 (8.0-25.0)	< .001
Mortality			
30-d	75 (50.7) ^m	65 (56.5) ⁿ	.346
In-hospital	79 (44.6)	70 (54.3)	.096
ICU	75 (42.4)	60 (46.5)	.472

Characteristics and outcomes are provided for patients receiving antiviral therapy and those who do not receive antiviral therapy. Data are presented as medians with first and third quartiles or as absolute (No. of patients) and relative frequencies (%). Percentage refers to the number of patients with information on the respective characteristic. Some characteristics are provided for several time points (T-1, T0, T7). A P value corresponds to a Mann-Whitney U test or a χ^2 test (if not otherwise indicated). APACHE II = Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II; CMV = cytomegalovirus; C_t = cycle threshold; HSV-1 = herpes simplex virus type 1; PCR = polymerase chain reaction; SAPS 2 = Simplified Acute Physiology Score 2; SOFA = Sequential Organ Failure Assessment; T-1 = day of BAL; T0 = day of reporting the HSV-1 diagnosis to the physicians; T7 = 7 d after reporting the HSV-1 diagnosis. ^mFifteen patients with chronic corticosteroid use > 10 mg/d, 11 patients with chemotherapy, and 15 patients with other immunosuppressive agents. ⁿSixteen patients with chronic corticosteroid use > 10 mg/d, eight patients with chemotherapy, and 12 patients with other immunosuppressive agents.

^oFisher exact test.

^pThirty-one patients (24.0%) missing.

^qForty-two patients (23.7%) missing.

^rSeventy-six patients (58.9%) missing.

^sNinety-eight patients (76.0%) missing.

^tOne hundred and thirty-five patients (76.3%) missing.

^uFifty-three patients (41.1%) missing.

^vTen patients (5.6%) missing.

^wEight patients (6.2%) missing.

^xOne patient (0.8%) missing.

^yTwenty-nine patients (16.4%) missing.

^zFourteen patients (10.9%) missing.

were assessed on ICU admission. The Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score and assessment for the presence of ARDS¹⁹ were performed on the day when the BAL was performed (T-1), on the day on which the HSV-1 PCR finding was reported to the physicians (T0), and 7 days after the finding was reported (T7). In addition to patient characteristics, corticosteroid therapy initiated in the ICU because of respiratory failure was documented. For follow-up, the last documented contact with the Jena University Hospital was recorded.

The decision to initiate antiviral therapy in case of HSV-1 detection in BAL was at the discretion of the individual physician responsible for the patient. In case of therapy, acyclovir was administered intravenously at a dose of 10 mg/kg/d tid (adapted to creatinine clearance in the case of renal insufficiency). The primary outcome was overall survival within 30 days (after the PCR findings were reported). Secondary outcomes were duration of mechanical ventilation, length of ICU and hospital stay, and mortality in the ICU and in the hospital.

Statistical Analysis

To summarize patient's characteristics stratified by therapy group, we provide absolute and relative frequencies and the median complemented by the first quartile (Q1) and third quartile (Q3). We applied the χ^2 test or, if indicated, the Fisher exact test and Mann-Whitney U test to assess differences between the antiviral-treated group and the untreated group. To analyze the primary outcome (overall survival within 30 days), univariable and, to adjust/control for possible confounders, multivariable Cox regression models were applied that incorporated known risk factors associated with mortality. These risk factors include age, SOFA score at T-1, SAPS 2, APACHE II score (all included as linear predictors), and immunosuppression (binary). Patients with a last contact after day 30 were censored at day 30. For illustration, we provide the corresponding Kaplan-Meier curve.

We performed several sensitivity analyses. First, we applied logistic regression modeling instead of the Cox model. Contrasting Cox regression, the time to an event is not considered in logistic regression, which might decrease statistical power. Second, we extended the Cox regression model by (1) medical specialty (ie, surgical vs nonsurgical, binary), (2) high HSV-1 viral load (binary), and (3) cytomegalovirus (CMV) coinfection (binary). Third, to consider a possible impact of a correlation between the SOFA score at T-1, SAPS 2, and APACHE II score, we reduced the main model. Each of these reduced models included only one of the scores. Additionally, we calculated the Spearman rank correlation coefficients together with the corresponding 95% CIs. Finally, we applied the extended multivariable Cox regression model to (1) the subgroup of patients with high HSV-1 viral load, (2) the subgroup of patients without immunosuppression, and (3) the subgroup without CMV coinfection. For the secondary outcomes (ICU and in-hospital mortality), we applied univariable and multivariable logistic regression models, adjusting for the same risk factors as in the unextended Cox regression model for overall survival within 30 days (primary outcome). We performed a sensitivity analysis in the subgroup of patients without immunosuppression. To analyze the remaining secondary outcomes (length of ICU and hospital stay, mechanical ventilation), we applied Mann-Whitney U tests and reported the median together with Q1 and Q3. We reported the (adjusted) hazard ratio (HR) for the Cox regression model and the (adjusted) OR for the logistic regression model—each with 95% CI and corresponding P value. We applied a significance level of 0.05 and did not adjust for multiple testing. However, after the recent discussion,²⁰ we would like to underline that readers should focus on point and interval estimates for the statistical support of the clinical claims. Spearman rank correlation coefficient and the corresponding 95% CI were calculated with R (version 3.6.0) and the R package DescTools (version 0.99.34). All other statistical analyses were performed using the SPSS software (version 25; SPSS Inc).

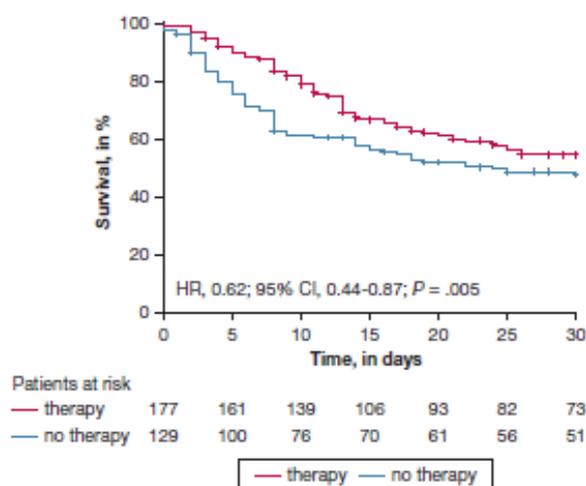


Figure 1 – Kaplan-Meier estimates for overall survival within 30 d (after herpes simplex virus type 1 diagnosis) for patients receiving antiviral therapy and those not receiving antiviral therapy. The adjusted HR for antiviral therapy is provided with the 95% CI and P value from the multivariable Cox regression model (for details, see Table 2). The number of patients at risk is provided for both groups. Censoring is indicated with +. HR = hazard ratio.

Results

Overall, 306 patients were included in the analysis. After HSV-1 was detected in the BAL, 177 patients (57.8%) received antiviral therapy. Of those, 161 patients (90.9%) received acyclovir, 11 patients (6.2%) received ganciclovir, and five patients (2.9%) received both antivirals. Therapy was initiated on the same day the HSV-1 PCR result was reported to the treating physicians in 142 patients (80.2%). The median treatment duration was 7 days (Q1-Q3, 4-11 days). In 129 patients (42.2%), no antiviral therapy was initiated. The characteristics of the antiviral-treated patients and the untreated patients are provided in Table 1.

Overall survival within 30 days after positive HSV-1 testing in patients receiving and those not receiving antiviral therapy is illustrated in Figure 1. In the multivariable Cox regression model adjusting for known risk factors, antiviral therapy was associated with better overall survival within 30 days (adjusted HR, 0.62; 95% CI, 0.44-0.87; $P = .005$) (Table 2). Of note, this association also holds in the subgroup of nonimmunocompromised patients (adjusted HR, 0.53; 95% CI, 0.36-0.78; $P = .001$) (e-Table 1). Increasing age and SOFA score at T-1 were associated with a lower overall survival rate within 30 days (age: adjusted HR, 1.02; 95% CI, 1.00-1.03; $P = .019$; SOFA score: adjusted HR, 1.18; 95% CI, 1.12-1.24; $P < .001$) (Table 2). These results are in

accordance with the sensitivity analyses; additionally, there was no evidence for an association of medical specialty, high HSV-1 viral load, and CMV coinfection with overall survival within 30 days (e-Tables 1-9, Table 3).

Regarding the secondary outcomes, antiviral therapy was associated with a lower in-hospital mortality rate (adjusted OR, 0.58; 95% CI, 0.44-0.96; $P = .033$), whereas the adjusted OR for ICU mortality was 0.73 (95% CI, 0.44-1.22; $P = .231$) (Table 3). Furthermore, antiviral therapy was associated in the subgroup of nonimmunocompromised patients with both a lower in-hospital mortality rate (adjusted OR, 0.46; 95% CI, 0.26-0.81; $P = .008$) (e-Table 7) and a lower ICU mortality rate (adjusted OR, 0.54; 95% CI, 0.30-0.97; $P = .040$) (e-Table 7).

The median lengths of hospital stay (with antiviral therapy: 31.0 days; Q1-Q3, 20.5-43.0 days; without antiviral therapy: 24.0 days, Q1-Q3, 13.5-37.0 days; $P = .002$) and ICU stay (with antiviral therapy: 24.0 days; Q1-Q3, 15.0-35.0 days; without antiviral therapy: 17.0 days; Q1-Q3, 8.0-25.0 days; $P < .001$), and the median duration of mechanical ventilation (with antiviral therapy: 18.0 days; Q1-Q3, 11.0-28.5 days; without antiviral therapy: 11.0 days; Q1-Q3, 4.0-20.0 days; $P < .001$), were longer for patients with antiviral therapy (Table 1). Of note, with respect to a

TABLE 2] Results of the Univariable and Multivariable Cox Regression Model for Overall Survival Within 30 Days

Variable	Univariable Models			Multivariable Model		
	HR	95% CI	P Value	HR	95% CI	P Value
Antiviral therapy (ref.: no)	0.73	0.52-1.01	.061	0.62	0.44-0.87	.005
Age, y	1.02	1.00-1.03	.012	1.02	1.00-1.03	.020
SOFA score at T-1	1.17	1.12-1.22	< .001	1.18	1.12-1.24	< .001
SAPS 2	1.01	1.00-1.02	.018	1.00	0.99-1.02	.676
APACHE II score	1.01	0.99-1.03	.376	1.00	0.97-1.02	.689
Immunosuppression (ref.: no)	1.11	0.74-1.65	.611	1.05	0.70-1.58	.811

For the Cox models, the (adjusted) HR is presented with the 95% CI and the corresponding P value. For categorical variables, the ref. is provided. There are 43 missing values on survival status at day 30 (group with antiviral therapy: n = 29; group without antiviral therapy: n = 14). Details on the distribution of censoring is provided in Figure 1. HR = hazard ratio; ref., reference category. See Table 1 legend for expansion of other abbreviations.

possible worsening of renal function because of acyclovir therapy, we did not find evidence for differences in the median renal SOFA subscore 7 days after the HSV-1 diagnosis was reported (with antiviral therapy: 1; Q1-Q3, 0-4; without antiviral therapy: 1; Q1-Q3, 0-4; $P = .100$).

Interpretation

The clinical relevance of HSV-1 DNA detection in the BAL of patients on ventilation is a matter of debate. To our knowledge, to date, this is the largest study evaluating whether antiviral therapy improves the outcome in ICU patients on mechanical ventilation with

TABLE 3] Results of the Univariable and Multivariable Logistic Regression Model for 30-Day, In-Hospital, and ICU Mortality

Variable	Univariable Models			Multivariable Model		
	OR	95% CI	P Value	OR	95% CI	P Value
30-d mortality						
Antiviral therapy (ref.: no)	0.72	0.46-1.14	.165	0.62	0.37-1.03	.063
Age, y	1.02	1.00-1.04	.025	1.03	1.01-1.05	.015
SOFA score at T-1	1.27	1.18-1.37	< .001	1.27	1.18-1.38	< .001
SAPS 2	1.01	1.00-1.03	.033	1.01	0.99-1.03	.441
APACHE II score	1.01	0.99-1.03	.421	0.98	0.94-1.02	.356
Immunosuppression (ref.: no)	1.34	0.76-2.37	.306	1.31	0.70-2.45	.401
In-hospital mortality						
Antiviral therapy (ref.: no)	0.68	0.43-1.07	.679	0.58	0.44-0.96	.033
Age, y	1.02	1.00-1.04	.056	1.02	1.00-1.04	.039
SOFA score at T-1	1.27	1.18-1.37	< .001	1.27	1.18-1.38	< .001
SAPS 2	1.01	1.00-1.03	.031	1.01	0.99-1.03	.420
APACHE II score	1.01	0.99-1.04	.364	0.98	0.95-1.02	.414
Immunosuppression (ref.: no)	1.37	0.78-2.41	.277	1.31	0.70-2.45	.402
ICU mortality						
Antiviral therapy (ref.: no)	0.85	0.54-1.34	.472	0.73	0.44-1.22	.231
Age, y	1.02	1.00-1.04	.078	1.02	1.00-1.04	.062
SOFA score at T-1	1.30	1.20-1.40	< .001	1.30	1.20-1.40	< .001
SAPS 2	1.02	1.00-1.03	.014	1.01	0.99-1.03	.597
APACHE II score	1.02	0.99-1.04	.139	0.99	0.96-1.03	.763
Immunosuppression (ref.: no)	1.34	0.76-2.36	.307	1.25	0.67-2.36	.486

For the logistic regression models, the (adjusted) OR is presented with the 95% CI and the corresponding P value. For categorical variables, the ref. is provided. There are 43 missing values on survival status at day 30 (group with antiviral therapy: n = 29, group without antiviral therapy: n = 14). Details on the distribution of censoring is provided in Figure 1. See Table 1 and 2 legends for expansion of abbreviations.

RTI and HSV-1 detected in the BAL. In the patient cohort, antiviral therapy was associated with better overall survival within 30 days and a lower in-hospital mortality rate, even after adjustments were made for known risk factors for short-term mortality. These potential treatment-related effects were more pronounced in the subgroup of nonimmunocompromised patients. In addition, the study showed that patients receiving antiviral therapy had a longer ICU and hospital stay and were mechanically ventilated for a longer period of time.

Although HSV-1 detected in severely immunocompromised patients (eg, patients with bone marrow or organ transplants) is considered to reflect a true pathogen, and the subsequent decision to initiate antiviral therapy is less controversial, the significance of HSV-1 in respiratory secretions from ICU patients on mechanical ventilation is still a topic for debate. Nonetheless, even if HSV-1 bronchopneumonitis was initially described in immunocompromised patients, other studies could show that it can also occur in nonimmunocompromised patients with critical illness (eg, ARDS, after surgery or in burn victims).²¹ In a retrospective study from Luyt et al,¹³ 32.6% of 129 patients with HSV-1 in the BAL had histologically confirmed HSV-1 bronchopneumonitis. Our study results support the relevance of HSV-1 in nonimmunocompromised ICU patients on mechanical ventilation because antiviral therapy was also associated with a survival benefit in this subgroup of patients.

To date, only few studies have investigated the benefit of acyclovir therapy in ICU patients on mechanical ventilation with HSV-1 detected in the BAL; these studies have come to different conclusions. In a retrospective study from Saugel et al,³ 65 of 114 medical ICU patients with HSV-1 in the BAL received acyclovir for a median duration of 12 days. The authors did not observe differences in ICU mortality (with acyclovir: 52%; without acyclovir: 49%; $P = .72$) or in-hospital mortality (with acyclovir: 63%; without acyclovir: 57%; $P = .52$) between the therapy groups. In the study from Luyt et al,¹³ 19 of 42 patients with HSV-1 bronchopneumonitis received acyclovir. Again, no difference in in-hospital mortality was observed between the two groups (with acyclovir: 37%; without acyclovir: 57%; 95% CI for the difference in mortality, -5% to 44%), but the number of patients in both groups was small. In contrast, Traen et al²² retrospectively analyzed 212 ICU patients with a positive HSV-1 culture in endotracheal/bronchial aspirate ($n = 162$) or BAL

($n = 50$). In their study using propensity score matching, acyclovir therapy was associated with lower ICU mortality (OR, 0.31; 95% CI, 0.18-0.56; $P < .001$) and lower in-hospital mortality (OR, 0.28; 95% CI, 0.17-0.46; $P < .001$). In particular, the subgroup of patients with HSV-1 detected in the BAL accounted mostly for this difference. In the most recent study, Luyt et al²³ investigated in a randomized placebo-controlled trial whether preemptive treatment with acyclovir reduces the duration of mechanical ventilation in 238 adult patients with oropharyngeal reactivation of HSV-1. Acyclovir-treated patients received 5 mg/kg/d tid for 14 days. Overall, no difference was observed in the number of ventilator-free days at day 60 between the acyclovir-treated group and the untreated group (acyclovir: median, 35 days; Q1-Q3, 0-53 days; placebo: 36 days; Q1-Q3, 0-50 days; $P = .17$), or in the duration of mechanical ventilation (acyclovir: median, 17 days; Q1-Q3, 7-30 days; placebo: median, 13 days; Q1-Q3, 7-23 days; $P = .41$). The HR for overall survival within 60 days was 0.61 (95% CI, 0.37-0.99; $P = .047$), which is similar to the adjusted HR observed in our analysis. In contrast, in previous studies^{22,24} and in our study, duration of mechanical ventilation and ICU stay were longer in patients with acyclovir therapy than patients without antiviral therapy. The reason for this was suggested to be a consequence of improved survival of patients on mechanical ventilation because of acyclovir therapy at the cost of prolonged mechanical ventilation duration and ICU stay.²⁴ Most recently, Schuierer et al²⁴ investigated in a retrospective study whether patients with VAP not responding to antibiotics and in whom HSV-1 could be detected in respiratory secretions (BAL or tracheal aspirates) benefit from acyclovir treatment. In their cohort of 425 patients screened for HSV-1 or herpes simplex virus type 2, 57 patients (13.4%) had a low (10^3 - 10^5 HSV-1 copies/mL) viral load and 69 patients (16.2%) had a high ($> 10^5$ HSV-1 copies/mL) viral load. Thirty patients (7%) with a low and 59 patients (14%) with a high viral load fulfilled strict inclusion criteria (ie, VAP not responding to antibiotics) and were included in analyses. The authors observed that acyclovir therapy was associated with lower HRs for ICU death (HR, 0.31; 95% CI, 0.11-0.92) and an improved median ICU survival (8 vs 22 days; $P = .014$). In addition, circulatory and pulmonary oxygenation function improved significantly over the course of acyclovir treatment compared with patients without acyclovir treatment. However, all these improvements with acyclovir therapy were only observed in patients with a high viral load. In contrast, in our study, no

evidence for an association of a high HSV-1 viral load with overall 30-day survival was found. The reason for this discrepancy is unclear. However, because (1) there is no common standard for quantification of the HSV-1 viral load in respiratory specimen (eg, in International Units or copies/mL), (2) volume of diagnostic specimen (eg, tracheal secretion, BAL) varies between investigations, and (3) different cutoff levels of C_t are used to classify the viral load, comparison of viral loads between studies is difficult and drawing clinical conclusions uncertain.

Limitations

In addition to the known limitations of retrospective single-center studies, several other issues must be mentioned. Although we took many possible confounding factors into account, residual confounding cannot be completely ruled out. Furthermore, survival status at day 30 was missing for 43 patients. In addition to timing and sampling practice, antiviral therapy was not standardized, and its initiation was at the discretion of the treating physicians. This might have introduced bias through treatment by indication; in other words, the possibility that acyclovir was given to patients with greater severity of disease and subsequent poorer prognosis or vice versa (that it was only given to patients whose prognosis was considered to be favorable) cannot be excluded. Furthermore, we only used a real-time PCR test providing semiquantitative information based on the C_t . Quantification of the viral load (ie, copies/mL of BAL) might have further specified the population of patients who might benefit most from therapy. Above all, the reporting of adverse events during antiviral therapy (most importantly, acute renal failure and neurologic toxicity) may not be accurate. In the

recently published randomized controlled trial by Luyt et al,²³ only four patients (3%) in the acyclovir group and none in the placebo group stopped the study drug for treatment-related adverse events; however, a lower dose of acyclovir was used than in our study.

Evaluating the statistical power for the primary end point (survival within 30 days), we took the reached sample size with the given unbalanced allocation and varying proportions for the untreated group between 40% and 60% (spreading around the observed proportion). In this case, the statistical power of the log-rank test at a two-sided significance level of .05 would be about 14% to detect an absolute difference of 5%. Increasing the difference to be detected to 10% (ie, the observed difference in our study), the statistical power would be 40% to 45%.

Conclusions

The clinical relevance of HSV-1 detection in the BAL of patients on ventilation is a matter of debate. In our study, antiviral therapy was associated with a better overall survival within 30 days and a lower in-hospital mortality rate. Because published studies have come to a similar conclusion, one should reconsider the notion that the detection of HSV-1 in BAL of patients on mechanical ventilation only represents a harmless viral shedding. These results suggest that the detection of HSV-1 in these circumstances is of clinical relevance, probably not in all but at least in a substantial proportion of the patients. Further multicenter randomized controlled studies are necessary to substantiate our observation, to identify patients who might benefit most from antiviral therapy, and to prove the value of a specific treatment in a randomized manner.

Acknowledgments

Author contributions: S. H., M. W. P., and C. F. designed the study. S. H. and E. H. performed the surveillance. E. H., M. K., M. Baier, and S. H. analyzed the data. S. H., M. Baier, M. F. E. H., C. F., M. W. P., A. S., M. K., and S. W. wrote the manuscript. All of the authors were responsible for the interpretation of data, writing the manuscript, approval of the version to be published, and agreement to be accountable for all aspects of the work.

Financial/nonfinancial disclosures: None declared.

Role of sponsors: The sponsor had no role in the design of the study, the collection and analysis of the data, or the preparation of the manuscript.

Additional information: The e-Tables can be found in the Supplemental Materials section of the online article.

References

1. Simoons-Smit AM, Kraan EM, Beishuizen A, Strack van Schijndel RJ, Vandenbroucke-Grauls CM. Herpes simplex virus type 1 and respiratory disease in critically-ill patients: Real pathogen or innocent bystander? *Clin Microbiol Infect.* 2006;12(11):1050-1059.
2. Tuxen DV, Wilson JW, Cade JE. Prevention of lower respiratory herpes simplex virus infection with acyclovir in patients with the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis.* 1987;136(2):402-405.
3. Saugd B, Jakobus J, Huber W, et al. Herpes simplex virus in bronchoalveolar lavage fluid of medical intensive care unit patients: association with lung injury and outcome. *J Crit Care.* 2016;32:138-144.
4. Lepiller Q, Sauer C, Solis M, et al. Clinical relevance of herpes simplex virus viremia in intensive care unit patients. *J Infect.* 2015;71(1):93-100.
5. Scheithauer S, Manemann AK, Krüger S, et al. Impact of herpes simplex virus detection in respiratory specimens of patients with suspected viral pneumonia. *Infection.* 2010;38(5):401-405.
6. Linszen CFM, Jacobs JA, Stelma FF, et al. Herpes simplex virus load in bronchoalveolar lavage fluid is related to poor outcome in critically ill patients. *Intensive Care Med.* 2008;34(12):2202-2209.
7. Ford J-M, Martin-Loeches I, Luyt C-E. Treating HSV and CMV reactivations in critically ill patients who are not immunocompromised. *pro. Intensive Care Med.* 2014;40(12):1945-1949.
8. De Vos N, Van Hoovels L, Vankeerberghen A, et al. Monitoring of herpes simplex virus in the lower respiratory tract of critically ill patients using real-time PCR: a prospective study. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15(4):358-363.
9. Brink J-W van den, Simoons-Smit AM, Beishuizen A, Girbes ARJ, Strack van Schijndel RJM, Groeneweld ABJ. Respiratory herpes simplex virus type 1 infection/colonisation in the critically ill: Marker or mediator? *J Clin Virol.* 2004;30(1):66-72.
10. Brenner T, Rosenhagen C, Hornig I, et al. Viral infections in septic shock (VISS-trial)-crosslinks between inflammation and immunosuppression. *J Surg Res.* 2012;176(2):571-582.
11. Stram MN, Suci CN, Seheult JN, et al. Herpes simplex virus-1 qPCR in the diagnosis of lower respiratory tract infections in organ transplant recipients and critically ill patients. *Am J Clin Pathol.* 2018;150(6):522-532.
12. Bouza E, Giannella M, Torres MV, et al. Herpes simplex virus: a marker of severity in bacterial ventilator-associated pneumonia. *J Crit Care.* 2011;26(4):432.e1-e6.
13. Luyt C-E, Combes A, Deback C, et al. Herpes simplex virus lung infection in patients undergoing prolonged mechanical ventilation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;175(9):935-942.
14. Assink-de Jong E, Groeneweld ABJ, Pettersson AM, et al. Clinical correlates of herpes simplex virus type 1 loads in the lower respiratory tract of critically ill patients. *J Clin Virol.* 2013;58(1):79-83.
15. Chong S, Kim TS, Cho EY. Herpes simplex virus pneumonia: high-resolution CT findings. *Br J Radiol.* 2010;83(991):585-589.
16. Ehrig S, Höffken G, Kern WV, et al. Management of adult community-acquired pneumonia and prevention - update 2016 [in German]. *Pneumologie.* 2016;70(3):151-200.
17. Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis.* 2016;63(5):e61-e111.
18. Dählhoff K, Abele-Horn M, Andreas S, et al. Epidemiology, diagnosis and treatment of adult patients with nosocomial pneumonia - update 2017 - S3 Guideline of the German Society for Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, the German Society for Infectious Diseases, the German Society for Hygiene and Microbiology, the German Respiratory Society and the Paul Ehrlich-Society for Chemotherapy, the German Radiological Society and the Society for Virology [in German]. *Pneumologie.* 2018;72(1):15-63.
19. ARDS Definition Task Force, Ranieri VM, Rubenfeld GD, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin definition. *JAMA.* 2012;307(23):2526-2533.
20. Amrhein V, Greenland S, McShane B. Scientists rise up against statistical significance. *Nature.* 2019;567(7748):305-307.
21. Luyt C-E, Bréchet N, Chastre J. What role do viruses play in nosocomial pneumonia? *Curr Opin Infect Dis.* 2014;27(2):194-199.
22. Traen S, Bochanen N, Ieven M, et al. Is acyclovir effective among critically ill patients with herpes simplex in the respiratory tract? *J Clin Virol.* 2014;60(3):215-221.
23. Luyt C-E, Ford J-M, Hajage D, et al. Acyclovir for mechanically ventilated patients with herpes simplex virus oropharyngeal reactivation: a randomized clinical trial. *JAMA Intern Med.* 2019;180(2):263-272.
24. Schuierer I, Gebhard M, Ruf H-G, et al. Impact of acyclovir use on survival of patients with ventilator-associated pneumonia and high load herpes simplex virus replication. *Crit Care.* 2020;24(1):12.

5. Diskussion

Nach unserer Kenntnis ist dies aktuell die größte Studie, die den Einfluss einer antiviralen Therapie auf das Outcome von kritisch kranken maschinell beatmeten Patienten mit einem HSV-1-Nachweis in der BAL und einer Atemwegsinfektion untersucht.

Die Ergebnisse unseres multivariablen Cox-Regressionsmodells zeigen ein besseres 30-Tage-Überleben (primärer Endpunkt) in der Gruppe der antiviral therapierten Patienten (HR 0,62 [95%-KI 0,44-0,87] $p=0,005$). Es wurde der Einfluss möglicher prognoseverschlechternder Risikofaktoren (Alter, SOFA-Score am Tag der BAL, SAPS2, APACHE II Score, Immunsuppression) berücksichtigt. Dieses Ergebnis konnte in der Subgruppe der nicht-immunsupprimierten Patienten bestätigt werden.

Eine antivirale Therapie war zusätzlich mit einer geringeren Krankenhaussterblichkeit (OR 0,58 [95%-KI 0,44-0,96] $p=0,033$) assoziiert. In der Subgruppe der nicht-immunsupprimierten Patienten war darüber hinaus eine Korrelation zwischen antiviraler Therapie und einer geringeren ITS-Sterblichkeit nachweisbar (OR 0,54 [95%-KI 0,30-0,97] $p=0,040$).

In der Gruppe der antiviral therapierten Patienten war im Median die Dauer des Krankenhausaufenthaltes (mit antiviraler Therapie: 31,0 Tage [Q1-Q3 20,5-43,0], ohne antivirale Therapie: 24,0 Tage [Q1-Q3 13,5-37,0] $p=0,002$), die Dauer des ITS-Aufenthaltes (mit antiviraler Therapie: 24,0 Tage [Q1-Q3 15,0-35,0], ohne antivirale Therapie: 17,0 Tage [Q1-Q3 8,0-25,0] $p<0,001$) und die Dauer der mechanischen Beatmung (mit antiviraler Therapie: 18,0 Tage [Q1-Q3 11,0-28,5], ohne antivirale Therapie: 11,0 Tage [Q1-Q3 4,0-20,0] $p<0,001$) länger als in der Gruppe der nicht antiviral therapierten Patienten.

Auch andere Studien haben sich mit der Relevanz eines HSV-1-Nachweises in der BAL bei kritisch kranken Patienten mit Zeichen einer Atemwegsinfektion auseinandergesetzt, zum Teil mit unterschiedlichen Ergebnissen.

Meist sind vor allem immunsupprimierte Patienten von einer HSV-1-Bronchopneumonie betroffen. Einige Studien konnten allerdings diese Erkrankung auch bei immunkompetenten kritisch kranken Patienten (z.B. bei ARDS, postoperativ

oder bei Verbrennungsoptionen) nachweisen (Luyt et al. 2014). So konnte in einer retrospektiven Studie von Luyt et al. (2007) bei 32,6% von 129 Patienten mit einem HSV-1-Nachweis in der BAL histologisch eine HSV-1-Bronchopneumonie gesichert werden. Diese Beobachtung stützt die Annahme, dass ein HSV-1-Nachweis in respiratorischen Sekret von Relevanz ist und die Möglichkeit einer klinischen Infektion besteht. Dies zeigen auch die Ergebnisse unserer Studie, die statistisch einen Überlebensvorteil in der Gruppe der antiviral therapierten Patienten nachweisen.

Im Gegensatz dazu wurden in einer retrospektiven Studie von Saugel et al. (2016) Daten von 114 Intensivpatienten mit einem HSV-1-Nachweis in der BAL untersucht, wovon 65 Patienten im Median 12 Tage antiviral therapiert wurden. Hier ließ sich zwischen der Gruppe der antiviral therapierten Gruppe und der nicht-antiviral therapierten Gruppe statistisch kein Unterschied bezüglich der ITS- (mit Aciclovir: 52%, ohne Aciclovir 49%, $p=0,72$) und der Krankenhaussterblichkeit (mit Aciclovir 63%, ohne Aciclovir: 57%, $p=0,52$) feststellen. Ähnliches zeigt eine Studie von Luyt et al. (2007), in der 19 von 42 Patienten mit einer HSV-1-Bronchopneumonie mit Aciclovir behandelt wurden. Auch hier konnte kein Unterschied bezüglich der Krankenhaussterblichkeit (mit Aciclovir: 37%, ohne Aciclovir: 57%, [95%-KI zur Sterblichkeitsdifferenz -5%-44%]) beobachten werden. Allerdings ist zu beachten, dass in beiden Studien nur eine relativ kleine Zahl an Patienten untersucht wurde.

Zu einem anderen Ergebnis gelangt eine retrospektive Studie von Traen et al. (2014), die die Daten von 212 Intensivpatienten mit positivem HSV-1-Nachweis im endotrachealen/bronchialen Aspirat ($n=162$) oder in der BAL ($n=50$) untersuchte. Mit Hilfe eines Propensity Score Matchings konnte hier eine Assoziation der Aciclovir-Therapie mit einer geringeren ITS-Sterblichkeit (OR 0,31 [95%-KI 0,18-0,56] $p<0,001$) und einer geringeren Krankenhaussterblichkeit (OR 0,28 [95%-KI 0,17-0,46] $p<0,001$) nachgewiesen werden. Besonders stark zeigte sich der Unterschied in der Subgruppe jener Patienten, bei deren HSV-1 in der BAL diagnostiziert wurde. Eine randomisierte placebokontrollierte Studie von Luyt et al. (2019) prüfte den Zusammenhang einer präventiven Verabreichung von Aciclovir bei 238 volljährigen, mechanisch beatmeten Patienten mit einer oropharyngealen HSV-1-Infektion, im Hinblick auf eine mögliche Verkürzung der Beatmungszeit. Die Patienten der Experimentalgruppe erhielten für eine Behandlungsdauer von 14 Tagen dreimal täglich 5mg/kg Aciclovir. Statistisch konnte kein Unterschied bezüglich der Gesamtdauer der maschinellen Beatmung

berechnet werden (Experimentalgruppe: im Median 17 Tage [Q1-Q3 7-30], Kontrollgruppe: im Median 13 Tage [Q1-Q3 7-23], $p=0,41$). Auch ließ sich in einem Zeitraum von 60 Tagen kein Unterschied hinsichtlich der Anzahl nicht-invasiv beatmeter Tage feststellen (Experimentalgruppe: im Median 35 Tage [Q1-Q3 0-53], Kontrollgruppe: im Median 36 Tage [Q1-Q3 0-50], $p=0,17$). Es wurde jedoch ein HR für das 60-Tage-Überleben von 0,61 ([95%-KI 0,37-0,99], $p=0,047$) berechnet, was sich mit den Ergebnissen aus unserer Studie deckt.

Dies steht im Kontrast zu anderen Studien (Traen et al. 2014, Schuierer et al. 2020), die bei antiviral therapierten Patienten eine längere Dauer der mechanischen Beatmung und einen längeren Aufenthalt auf der Intensivstation fanden. Dieser Befund wird durch die Ergebnisse unserer Studie bestätigt. Der Grund dafür könnte laut Schuierer et al. (2020) in dem durch Aciclovir verbesserten Gesamtüberleben liegen, was folglich eine längere Beatmungsdauer und einen längeren ITS-Aufenthalt erst ermöglicht.

Schuierer et al. (2020) befassten sich in einer retrospektiven Studie mit der Frage, ob eine Aciclovir-Therapie Patienten mit einer nicht auf Antibiotika-ansprechenden VAP und einem HSV-1-Nachweis in respiratorischen Sekret (BAL oder Trachealsekret) ein Überlebensvorteil verschafft. In dieser Studie wurden alle notwendigen Kriterien (z.B. VAP, die nicht auf eine Antibiotikatherapie anspricht) von 30 Patienten mit einer niedrigen Viruslast (10^3 - 10^5 HSV-1 Kopien/ml) und 59 Patienten mit einer hohen Viruslast ($>10^5$ HSV-1 Kopien/ml) erfüllt. Die Ergebnisse ihrer statistischen Analysen zeigen, dass eine Aciclovir-Therapie mit einer geringeren HR für die Sterblichkeit auf der Intensivstation (HR 0,31 [95%-KI 0,11-0,92]) und einer im Median längeren ITS-Überlebenszeit (8 versus 22 Tage, $p=0,014$) assoziiert ist. Zusätzlich ließ sich im Verlauf der Aciclovir-Therapie eine signifikante Verbesserung der Kreislaufstabilität und der pulmonalen Oxygenierung im Vergleich zur nicht-therapierten Patientengruppe beobachten. Allerdings fanden sich diese Aciclovir-bedingten Effekte lediglich in der Subgruppe der Patienten mit hoher Viruslast. Im Vergleich dazu ergibt sich in unserer Studie kein Zusammenhang zwischen der Höhe der Viruslast und dem 30-Tage-Überleben. Der Grund für diese Unstimmigkeit bleibt unklar. Allerdings ist ein Vergleich der Viruslast zwischen den einzelnen Studien ungenau. Zum einen existiert kein gemeinsamer Standard zur Quantifikation der HSV-1-Viruslast in Sekreten des Respirationstrakts (z.B. International Units oder Kopien/ml). Zum anderen kann das zu

untersuchende Volumen (z.B. Trachealsekret, BAL) zwischen den Untersuchungen stark variieren. Außerdem gibt es verschiedene Cut-off Werte des C_T -Werts, anhand dessen die Klassifikation der Viruslast vorgenommen wird. Diese Abweichungen lassen momentan keinen präzisen Vergleich der Viruslast zwischen einzelnen Studien zu. Schlussfolgerungen sind daher nur vage möglich.

Neben den bekannten einschränkenden Faktoren einer jeden retrospektiven Single-Center-Studie sind weitere limitierende Faktoren zu nennen. Obwohl möglichst viele Störfaktoren beachtet wurden, ist ein verbleibender Konfundierungseffekt nicht gänzlich auszuschließen. Des Weiteren ist der Überlebensstatus von 43 Patienten 30 Tage nach dem positiven HSV-1-Ergebnis unbekannt. Auch existieren keine Standards bezüglich des Zeitpunkts der Durchführung der BAL, dem Ablauf der Probeentnahme und dem Einsatz der antiviralen Therapie. Ob eine antivirale Therapie vorgenommen wird, sowie deren Beginn obliegen der Entscheidung des behandelnden Arztes. Folglich lässt sich ein Bias bezüglich der Indikationsstellung der Behandlung nicht ausschließen, d.h. es besteht die Möglichkeit, dass vor allem bei Patienten mit einem schlechteren Allgemeinzustand und einer folglich schlechteren Prognose die antivirale Therapie initiiert wurde. Ebenso ist der gegenteilige Fall denkbar, dass nur Patienten mit einer günstigen Prognose therapiert wurden. Analog zu der oben erwähnten Problematik die HSV-1-Viruslast zwischen einzelnen Studien zu vergleichen, ist weiter zu beachten, dass in den vorliegenden Studien lediglich eine Quantifizierung mittels real-time PCR vorgenommen wurde, welche nur semiquantitative, auf dem C_T -Wert basierende Informationen über die Viruslast liefert. Eine exaktere Quantifikation der Viruslast (z.B. mittels Kopien/ml in BAL-Sekret) würde sicherlich einen genaueren Aufschluss darüber zulassen, welche Patienten am meisten von einer antiviralen Therapie profitieren würden. Betrachtet man die durch die antivirale Therapie hervorgerufenen Nebenwirkungen (vor allem akutes Nierenversagen und Neurotoxizität), so besteht die Möglichkeit, dass diese in der vorliegenden Studie nur unvollständig erfasst wurden. So musste, trotz geringerer Aciclovir-Dosis als in unserer Arbeit, in einer Studie von Luyt et al. (2019) bei 4 Patienten (3%) die Aciclovir-Therapie auf Grund von Nebenwirkungen abgebrochen werden. In der Placebo-Gruppe war dies bei keinem Patienten der Fall.

6. Schlussfolgerung

Dies ist, nach unserer Kenntnis, aktuell die größte Studie, die den Einfluss einer antiviralen Therapie auf den Outcome von kritisch kranken maschinell beatmeten Patienten mit einem HSV-1-Nachweis in der BAL und einer Atemwegsinfektion untersucht.

Die Relevanz eines HSV-1-Nachweises in der BAL bei maschinell beatmeten Patienten mit Zeichen einer Atemwegsinfektion ist bisher umstritten.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie konnten eine Korrelation zwischen antiviraler Therapie und einem besseren 30-Tage-Überleben sowie einer geringeren Krankenhaussterblichkeit nachweisen. Auch andere Studien kommen zu einer ähnlichen Quintessenz. Daher sollte man die Ansicht, ein HSV-1-Nachweis in der BAL bei mechanisch beatmeten Patienten reflektiere lediglich eine harmlose virale Aussaat, nochmals überdenken. Vielmehr sollte man eine echte klinische Infektion durch HSV-1 in Erwägung ziehen und gegebenenfalls eine antivirale Therapie einleiten.

Um die klinische Relevanz von HSV-1 weiter zu prüfen und unsere Ergebnisse zu untermauern, sind multizentrische, randomisiert kontrollierte Studien notwendig, die den Stellenwert einer antiviralen Therapie weiter analysieren und jene Patienten identifizieren, die am meisten von einer solchen Therapie profitieren würde.

7. Literatur- und Quellenverzeichnis

- Assink-de Jong E, Groeneveld ABJ, Pettersson AM, et al. 2013. Clinical correlates of herpes simplex virus type 1 loads in the lower respiratory tract of critically ill patients. *J Clin Virol*, 58 (1): 79-83
- Brenner T, Rosenhagen C, Hornig I, et al. 2012. Viral infections in septic shock (VISS-trial)-crosslinks between inflammation and immunosuppression. *J Surg Res*, 176 (2): 571-582
- Bouza E, Giannella M, Torres MV, et al. 2011. Herpes simplex virus: a marker of severity in bacterial ventilator-associated pneumonia. *J Crit Care*, 26 (4): 432 e1-e6
- Chong S, Kim TS, Cho EY. 2010. Herpes simplex virus pneumonia: high-resolution CT findings. *Br J Radiol*, 83 (991): 585-589
- Dalhoff K, Abele-Horn M, Andreas S, et al. 2018. Epidemiology, diagnosis and treatment of adult patients with nosocomial pneumonia - update 2017 - S3 Guideline of the German Society for Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, the German Society for Infectious Diseases, the German Society for Hygiene and Microbiology, the German Respiratory Society and the Paul-Ehrlich-Society for Chemotherapy, the German Radiological Society and the Society for Virology [in German]. *Pneumologie*, 72 (1): 15-63
- De Pascale G, Ranzani OT, Nseir S, Chastre J, Welte T, Antonelli M, Navalesi P, Garofalo E, Bruni A, Coelho LM, Skoczynski S, Longhini F, Taccone FS, Grimaldi D, Salzer HJF, Lange C, Froes F, Artigas A, Díaz E, Vallés J, Rodríguez A, Panigada M, Comellini V, Fasano L, Soave PM, Spinazzola G, Luyt CE, Alvarez-Lerma F, Marin J, Masclans JR, Chiumello D, Pezzi A, Schultz M, Mohamed H, Van Der Eerden M, Hoek RAS, Gommers DAMPJ, Di Pasquale M, Civljak R, Kutleša M, Bassetti M, Dimopoulos G, Nava S, Rios F, Zampieri FG, Pova P, Bos LD, Aliberti S, Torres A, Martín-Loeches I. 2017. Intensive care unit patients with lower respiratory tract nosocomial infections: the ENIRRI project. *ERJ Open Research*, 3 (4): 00092-2017
- De Vos N, Van Hoovels L, Vankeerberghen A, et al. 2009. Monitoring of herpes simplex virus in the lower respiratory tract of critically ill patients using real-time PCR: a prospective study. *Clin Microbiol Infect*, 15 (4): 358-363
- Ewig S, Höffken G, Kern WV, et al. 2016. Management of adult community-acquired pneumonia and prevention-update 2016 [in German]. *Pneumologie*, 70 (3): 151-200
- Forel JM, Martin-Loeches I, Luyt CE. 2014. Treating HSV and CMV reactivations in critically ill patients who are not immunocompromised: pro. *Intensive Care Med*, 40 (12): 1945-1949
- Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, et al. 2016. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the Infectious Disease Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis*, 63 (5): e61-e111
- King DH. 1988. History, pharmacokinetics, and pharmacology of acyclovir. *J Am Acad Dermatol*, 18 (1 Pt 2): 176-179
- Kłysik K, Pietraszek A, Karewicz A, Nowakowska M. 2020. Acyclovir in the Treatment of Herpes Viruses – A Review. *Curr Med Chem*, 27 (24): 4118-4137
- Lepiller Q, Sueur C, Solis M, et al. 2015. Clinical relevance of herpes simplex virus viremia in intensive care unit patients. *J Infect*, 71 (1): 93-100

- Linssen CFM, Jacobs JA, Stelma FF, et al. 2008. Herpes simplex virus load in bronchoalveolar lavage fluid is related to poor outcome in critically ill patients. *Intensive Care Med*, 34 (12): 2202-2209
- Luyt CE, Bréchet N, Chastre J. 2014. What role do viruses play in nosocomial pneumonia? *Curr Opin Infect Dis*, 27 (2): 194-199
- Luyt CE, Combes A, Deback C, et al. 2007. Herpes simplex virus lung infection in patients undergoing prolonged mechanical ventilation. *Am J Respir Crit Care Med*, 175 (9): 935-942
- Luyt CE, Forel JM, Hajage D, et al. 2019. Acyclovir for mechanically ventilated patients with herpes simplex virus oropharyngeal reactivation: a randomized clinical trial. *JAMA Intern Med*, 180 (2): 263-272
- Musher DM, Abers MS, Bartlett JG. 2017. Evolving Understanding of the Causes of Pneumonia in Adults, With Special Attention to the Role of Pneumococcus. *Clin Infect Dis*, 65 (10): 1736-1744
- Reynolds JH, McDonald G, Alton H, Gordon SB. 2010. Pneumonia in the immunocompetent patient. *Br J Radiol*, 83 (996): 998-1009
- Ruopp M, Chiswell K, Thaden JT, Merchant K, Tsalik EL. 2015. Respiratory Tract Infection Clinical Trials from 2007 to 2012. A Systematic Review of ClinicalTrials.gov. *Ann Am Thorac Soc*, 12 (12): 1852-1863
- Saugel B, Jakobus J, Huber W, et al. 2016. Herpes simplex virus in bronchoalveolar lavage fluid of medical intensive care unit patients: association with lung injury and outcome. *J Crit Care*, 32: 138-144
- Scheithauer S, Manemann AK, Krüger S, et al. 2010. Impact of herpes simplex virus detection in respiratory specimens of patients with suspected viral pneumonia. *Infection*, 38 (5): 401-405
- Schuijter L, Gebhard M, Ruf HG, et al. 2020. Impact of acyclovir use on survival of patients with ventilator-associated pneumonia and high load herpes simplex virus replication. *Crit Care*, 24 (1): 12
- Simoons-Smit AM, Kraan EM, Beishuizen A, Strack van Schijndel RJ, Vandenbroucke-Grauls CM. 2006. Herpes simplex virus type 1 and respiratory disease in critically-ill patients: Real pathogen or innocent bystander? *Clin Microbiol Infect*, 12 (11): 1050-1059.
- Stram MN, Suciú CN, Seheult JN, et al. 2018. Herpes simplex virus-1 qPCR in the diagnosis of lower respiratory tract infections in organ transplant recipients and critically ill patients. *Am J Clin Pathol*, 150 (6): 522-532
- Traen S, Bochanen N, Ieven M, et al. 2014. Is acyclovir effective among critically ill patients with herpes simplex in the respiratory tract? *J Clin Virol*, 60 (3): 215-221
- Tuxen DV, Wilson JW, Cade JF. 1987. Prevention of lower respiratory herpes simplex virus infection with acyclovir in patients with the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis*, 136 (2): 402-405
- Van den Brink JW, Simoons-Smit AM, Beishuizen A, Girbes ARJ, Strack van Schijndel RJM, Groeneveld ABJ. 2004. Respiratory herpes simplex virus type 1 infection/colonisation in critically ill: Marker or mediator? *J Clin Virol*, 30 (1): 68-72

8. Anhang

8.1. Weitere Tabellen



Effect of Antiviral Therapy on the Outcome of Mechanically Ventilated Patients With Herpes Simplex Virus Type 1 in BAL Fluid

A Retrospective Cohort Study

Elisabeth Heimes, MD; Michael Baier, MD; Christina Forstner, MD; Sebastian Weis, MD; Michael Bauer, MD; Michael Fritzenwanger, MD; André Scherag, Dr. rer. physiol; Mathias W. Pletz, MD; Miriam Kesselmeier, Dr. sc. hum; and Stefan Hagel, MD

CHEST 2020; 158(5):1867-1875

Online supplements are not copyedited prior to posting and the author(s) take full responsibility for the accuracy of all data.

© 2020 AMERICAN COLLEGE OF CHEST PHYSICIANS. Reproduction of this article is prohibited without written permission from the American College of Chest Physicians. See online for more details. DOI: 10.1016/j.chest.2020.06.056

e-Table 1. Results of the univariable and multivariable Cox regression model for overall survival within 30 days extended by medical speciality (surgical vs. non-surgical)

Variable	Univariable models				Multivariable model			
	HR	95% CI		p-value	HR	95% CI		p-value
Antiviral therapy [ref.: no]	0.73	0.52	1.01	0.061	0.61	0.43	0.86	0.005
Age, in years	1.02	1.00	1.03	0.012	1.02	1.00	1.03	0.019
SOFA score at T-1	1.17	1.12	1.22	<0.001	1.18	1.12	1.24	<0.001
SAPS 2	1.01	1.00	1.02	0.018	1.00	0.99	1.02	0.735
APACHE II score	1.01	0.99	1.03	0.376	1.00	0.97	1.02	0.706
Immunosuppression [ref.: no]	1.11	0.74	1.65	0.611	1.04	0.69	1.57	0.836
Medical speciality [ref.: non-surgical]	0.97	0.67	1.40	0.866	0.92	0.63	1.35	0.671

For the Cox models, the (adjusted) hazard ratio (HR) is presented with the 95% confidence interval (CI) and the corresponding p-value. For categorical variables, the reference category (ref.) is provided. There are 43 missing information on survival status at day 30 (group with antiviral therapy: 29, group without antiviral therapy: 14). Details on the distribution of censoring is provided in Figure 1.

Abbreviations: APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II, SAPS 2: Simplified Acute Physiology Score 2, SOFA: Sequential Organ Failure Assessment, T-1: day of bronchoalveolar lavage.

e-Table 2. Results of the univariable and multivariable Cox regression model for overall survival within 30 days extended by high HSV viral load

Variable	Univariable models				Multivariable model			
	HR	95% CI		p-value	HR	95% CI		p-value
Antiviral therapy [ref.: no]	0.73	0.52	1.01	0.061	0.61	0.42	0.87	0.007
Age, in years	1.02	1.00	1.03	0.012	1.02	1.00	1.03	0.019
SOFA score at T-1	1.17	1.12	1.22	<0.001	1.18	1.12	1.24	<0.001
SAPS 2	1.01	1.00	1.02	0.018	1.00	0.99	1.02	0.684
APACHE II score	1.01	0.99	1.03	0.376	1.00	0.97	1.02	0.694
Immunosuppression [ref.: no]	1.11	0.74	1.65	0.611	1.05	0.70	1.58	0.799
High HSV viral load [ref.: no]	0.86	0.60	1.23	0.415	1.06	0.72	1.55	0.788

For the Cox models, the (adjusted) hazard ratio (HR) is presented with the 95% confidence interval (CI) and the corresponding p-value. For categorical variables, the reference category (ref.) is provided. A high HSV viral load is present in cases of a positive or strong positive PCR result. There are 43 missing information on survival status at day 30 (group with antiviral therapy: 29, group without antiviral therapy: 14). Details on the distribution of censoring is provided in Figure 1.

Abbreviations: APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II, HSV-1: herpes simplex virus type 1, PCR: polymerase chain reaction, SAPS 2: Simplified Acute Physiology Score 2, SOFA: Sequential Organ Failure Assessment, T-1: day of bronchoalveolar lavage.

Online supplements are not copyedited prior to posting and the author(s) take full responsibility for the accuracy of all data.

e-Table 3. Results of the univariable and multivariable Cox regression model for overall survival within 30 days extended by CMV co-infection

Variable	Univariable models				Multivariable model			
	HR	95% CI		p-value	HR	95% CI		p-value
Antiviral therapy [ref.: no]	0.73	0.52	1.01	0.061	0.61	0.43	0.86	0.005
Age, in years	1.02	1.00	1.03	0.012	1.02	1.00	1.03	0.016
SOFA score at T-1	1.17	1.12	1.22	<0.001	1.18	1.12	1.24	<0.001
SAPS 2	1.01	1.00	1.02	0.018	1.00	0.99	1.02	0.725
APACHE II score	1.01	0.99	1.03	0.376	1.00	0.98	1.03	0.889
Immunosuppression [ref.: no]	1.11	0.74	1.65	0.611	1.05	0.69	1.59	0.829
CMV co-infection [ref.: no]	1.00	0.66	1.53	0.997	0.98	0.64	1.50	0.914

For the Cox models, the (adjusted) hazard ratio (HR) is presented with the 95% confidence interval (CI) and the corresponding p-value. For categorical variables, the reference category (ref.) is provided. There are 43 missing information on survival status at day 30 (group with antiviral therapy: 29, group without antiviral therapy: 14). Details on the distribution of censoring is provided in Figure 1.

Abbreviations: APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II, CMV: Cytomegalovirus, HSV-1: herpes simplex virus type 1, PCR: polymerase chain reaction, SAPS 2: Simplified Acute Physiology Score 2, SOFA: Sequential Organ Failure Assessment, T-1: day of bronchoalveolar lavage.

e-Table 4. Results of the univariable and multivariable Cox regression model for overall survival within 30 days in the subgroup of patients with high HSV viral load

Variable	Univariable models				Multivariable model			
	HR	95% CI		p-value	HR	95% CI		p-value
Antiviral therapy [ref.: no]	0.72	0.47	1.09	0.121	0.57	0.37	0.87	0.010
Age, in years	1.01	1.00	1.03	0.120	1.01	1.00	1.03	0.092
SOFA score at T-1	1.20	1.13	1.26	<0.001	1.21	1.15	1.29	<0.001
SAPS 2	1.01	1.00	1.02	0.100	1.00	0.98	1.01	0.814
APACHE II score	1.00	0.98	1.02	0.754	1.00	0.97	1.03	0.825
Immunosuppression [ref.: no]	0.87	0.54	1.43	0.593	1.08	0.65	1.79	0.766

For the Cox models, the (adjusted) hazard ratio (HR) is presented with the 95% confidence interval (CI) and the corresponding p-value. For categorical variables, the reference category (ref.) is provided. A high HSV viral load is present in cases of a positive or strong positive PCR result. There are 37 missing information on survival status at day 30 (group with antiviral therapy: 28, group without antiviral therapy: 9).

Abbreviations: APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II, HSV-1: herpes simplex virus type 1, PCR: polymerase chain reaction, SAPS 2: Simplified Acute Physiology Score 2, SOFA: Sequential Organ Failure Assessment, T-1: day of bronchoalveolar lavage.

Online supplements are not copyedited prior to posting and the author(s) take full responsibility for the accuracy of all data.

e-Table 5. Results of the univariable and multivariable Cox regression model for overall survival within 30 days in the subgroup of patients without immunosuppression

Variable	Univariable models				Multivariable model			
	HR	95% CI		p-value	HR	95% CI		p-value
Antiviral therapy [ref.: no]	0.62	0.43	0.90	0.013	0.53	0.36	0.78	0.001
Age, in years	1.02	1.00	1.04	0.030	1.02	1.00	1.04	0.026
SOFA score at T-1	1.16	1.11	1.22	<0.001	1.18	1.12	1.24	<0.001
SAPS 2	1.01	1.00	1.02	0.080	1.00	0.98	1.01	0.872
APACHE II score	1.01	0.99	1.03	0.401	1.00	0.97	1.03	0.894

For the Cox models, the (adjusted) hazard ratio (HR) is presented with the 95% confidence interval (CI) and the corresponding p-value. For categorical variables, the reference category (ref.) is provided. There are 38 missing information on survival status at day 30 (group with antiviral therapy: 28, group without antiviral therapy: 10).

Abbreviations: APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II, SAPS 2: Simplified Acute Physiology Score 2, SOFA: Sequential Organ Failure Assessment, T-1: day of bronchoalveolar lavage.

e-Table 6. Results of the univariable and multivariable Cox regression model for overall survival within 30 days in the subgroup of patients without CMV co-infection

Variable	Univariable models				Multivariable model			
	HR	95% CI		p-value	HR	95% CI		p-value
Antiviral therapy [ref.: no]	0.71	0.487	1.04	0.076	0.52	0.35	0.77	0.001
Age, in years	1.03	1.01	1.04	0.002	1.03	1.01	1.04	0.004
SOFA score at T-1	1.17	1.11	1.23	<0.001	1.18	1.12	1.25	<0.001
SAPS 2	1.02	1.00	1.03	0.005	1.00	0.98	1.02	0.886
APACHE II score	1.02	1.00	1.04	0.044	1.02	0.99	1.05	0.268
Immunosuppression [ref.: no]	1.07	0.67	1.72	0.766	0.96	0.58	1.56	0.854

For the Cox models, the (adjusted) hazard ratio (HR) is presented with the 95% confidence interval (CI) and the corresponding p-value. For categorical variables, the reference category (ref.) is provided. There are no missing information on survival status at day 30.

Abbreviations: APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II, CMV: Cytomegalovirus, SAPS 2: Simplified Acute Physiology Score 2, SOFA: Sequential Organ Failure Assessment, T-1: day of bronchoalveolar lavage.

Online supplements are not copyedited prior to posting and the author(s) take full responsibility for the accuracy of all data.

e-Table 7. Results of the univariable and multivariable logistic regression model for 30-day, in-hospital and ICU mortality in the subgroup of patients without immunosuppression

Variable	Univariable models			Multivariable model				
	OR	95% CI	p-value	OR	95% CI	p-value		
<i>30-day mortality</i>								
Antiviral therapy [ref.: no]	0.59	0.35	0.98	0.043	0.51	0.29	0.89	0.019
Age, in years	1.02	1.00	1.04	0.039	1.03	1.01	1.05	0.019
SOFA score at T-1	1.26	1.16	1.37	<0.001	1.27	1.17	1.39	<0.001
SAPS 2	1.01	1.00	1.03	0.067	1.01	0.98	1.03	0.534
APACHE II score	1.01	0.99	1.04	0.397	0.99	0.95	1.04	0.668
<i>In-hospital mortality</i>								
Antiviral therapy [ref.: no]	0.58	0.33	0.92	0.022	0.46	0.26	0.81	0.008
Age, in years	1.02	1.00	1.05	0.025	1.03	1.01	1.05	0.011
SOFA score at T-1	1.27	1.17	1.38	<0.001	1.28	1.18	1.40	<0.001
SAPS 2	1.01	1.00	1.03	0.051	1.01	0.98	1.03	0.525
APACHE II score	1.01	0.99	1.04	0.318	0.99	0.95	1.04	0.76
<i>ICU mortality</i>								
Antiviral therapy [ref.: no]	0.64	0.39	1.07	0.092	0.54	0.30	0.97	0.040
Age, in years	1.02	1.00	1.04	0.072	1.03	1.00	1.05	0.038
SOFA score at T-1	1.30	1.20	1.42	<0.001	1.31	1.20	1.44	<0.001
SAPS 2	1.02	1.00	1.03	0.028	1.00	0.98	1.03	0.763
APACHE II score	1.02	1.00	1.05	0.118	1.01	0.96	1.05	0.758

For the logistic regression models, the (adjusted) odds ratio (OR) is presented with the 95% confidence interval (CI) and the corresponding p-value. For categorical variables, the reference category (ref.) is provided. There are 38 missing information on survival status at day 30 (group with antiviral therapy: 28 group without antiviral therapy: 10).

Abbreviations: APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II, ICU: intensive care unit, SAPS 2: Simplified Acute Physiology Score 2, SOFA: Sequential Organ Failure Assessment, T-1: day of bronchoalveolar lavage.

e-Table 8. Results of the three reduced Cox regression models for overall survival within 30 days

Variable	Multivariable model (1)				Multivariable model (2)				Multivariable model (3)			
	HR	95% CI		p-value	HR	95% CI		p-value	HR	95% CI		p-value
Antiviral therapy [ref.: no]	0.61	0.44	0.86	0.004	0.69	0.50	0.97	0.031	0.70	0.50	0.98	0.037
Age, in years	1.02	1.00	1.03	0.017	1.02	1.00	1.03	0.027	1.02	1.01	1.04	0.010
SOFA score at T-1	1.18	1.13	1.24	<0.001	-	-	-	-	-	-	-	-
SAPS 2	-	-	-	-	1.01	1.00	1.02	0.057	-	-	-	-
APACHE II score	-	-	-	-	-	-	-	-	1.01	0.99	1.02	0.521
Immunosuppression [ref.: no]	1.04	0.70	1.56	0.835	1.18	0.79	1.77	0.424	1.17	0.78	1.74	0.469

For the Cox models, the (adjusted) hazard ratio (HR) is presented with the 95% confidence interval (CI) and the corresponding p-value. For categorical variables, the reference category (ref.) is provided. There are 43 missing information on survival status at day 30 (group with antiviral therapy: 29, group without antiviral therapy: 14). Details on the distribution of censoring is provided in Figure 1.

Abbreviations: -: not included, APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II, SAPS 2: Simplified Acute Physiology Score 2, SOFA: Sequential Organ Failure Assessment, T-1: day of bronchoalveolar lavage.

e-Table 9. Spearman's rank correlation coefficient ρ between each two scores included in the regression models

Correlation between		Spearman's ρ (95% CI)
SOFA score at T-1	APACHE II score	0.18 (0.07, 0.28)
SOFA score at T-1	SAPS 2	0.20 (0.09, 0.31)
APACHE II score	SAPS 2	0.77 (0.73, 0.82)

For Spearman's rank correlation coefficient ρ , the corresponding 95% confidence interval (CI) is provided.

Abbreviations: APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II, SAPS 2: Simplified Acute Physiology Score 2, SOFA: Sequential Organ Failure Assessment, T-1: day of bronchoalveolar lavage.

200648

Online supplements are not copyedited prior to posting and the author(s) take full responsibility for the accuracy of all data.

8.2 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der FriedrichSchiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in 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. Mathias W. Pletz, PD Dr. med. Stefan Hagel M. Sc., Dr. sc. hum., Dipl. Math. Miriam Kesselmeier, Prof. Dr. André Scherag, Prof. Dr. med. Michael Bauer, Dr. med. Michael Baier, PD Dr. med. univ. Christina Bahrs, PD Dr. med. Sebastian Weis, PD Dr. med. Michael Fritzenwanger,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Ort, Datum Unterschrift des Verfassers

8.3 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gebührt Herrn PD Dr. med. Stefan Hagel, der mir während der gesamten Arbeit tatkräftig zur Seite stand und jederzeit großartigen Rat geleistet hat. Ohne seine motivierenden Worte wäre die Arbeit in dieser Form nicht gelungen.

Außerdem möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Mathias Pletz für das Ermöglichen dieser Arbeit und dem Überlassen der interessanten Fragestellung bedanken.

Mein großer Dank möchte ich auch Frau Dr. sc. Hum., Dpl. Math. Miriam Kesselmeier aussprechen, die mich nicht nur bei statistischen Fragen ganz hervorragend unterstützt hat und somit essenziell zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Michael Bauer, Herrn Prof. Dr. André Scherag, Frau PD Dr. med. univ. Christina Bahrs, Herrn PD Dr. med. Sebastian Weis, Herrn PD Dr. med. Michael Fritzenwanger und Herrn Dr. med. Michael Baier für die Hilfe bei der Datenerhebung und dem Manuskriptreview bedanken.

Schließlich möchte ich die Chance nutzen und mich bei meiner Familie, meinen Freunden und meinem Freund bedanken, die mich während meines Studiums begleitet haben und mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite standen.

Vielen Dank dafür!