

Aus der Klinik für Hämatologie, Onkologie und Palliativmedizin  
Klinikum Ernst von Bergmann in Potsdam

**DISSERTATION**

**Evaluation diagnostischer Methoden bei hämatologisch-  
onkologischen Patienten mit dem Verdacht auf eine invasive  
pulmonale Aspergillose**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin  
von

Stefanie Neumann  
aus Potsdam

Gutachter/in:

1. Prof. Dr. med. G. Maschmeyer

2. Prof. Dr. med. M. Ruhnke

3. Prof. Dr. med. C.-P. Heußel

Datum der Promotion:

07.09.2012

Für meine Eltern,  
ohne die ich so vieles nicht geschafft hätte und  
für meinen kleinen Sonnenschein Emilia.  
Ich bin froh, dass es Euch gibt. Danke.

In Gedenken an meine Oma.

Ein besonderes Dankeschön auch an Herrn Professor Dr. med. Georg  
Maschmeyer, der meine Dissertation mit so viel Unterstützung und Geduld  
begleitet hat.

# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>4</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>7</b>
<b>1. Einleitung</b> .....	<b>9</b>
<b>1.1. Pathogenese der Aspergillusinfektion</b> .....	<b>9</b>
<b>1.2. Epidemiologie und Inzidenz</b> .....	<b>12</b>
<b>1.3. Diagnostik</b> .....	<b>15</b>
1.3.1. Mikroskopische Untersuchung .....	15
1.3.2. Kultureller Nachweis .....	16
1.3.3. Endoskopische Verfahren .....	17
1.3.4. Bioptische Methoden .....	18
1.3.5. Serologie .....	20
1.3.6. Molekularbiologie .....	22
1.3.7. Bildgebende Verfahren .....	24
<b>2. Aufgabenstellung</b> .....	<b>28</b>
<b>3. Material und Methoden</b> .....	<b>30</b>
<b>3.1. Patientenkollektiv</b> .....	<b>30</b>
<b>3.2. Diagnostik</b> .....	<b>31</b>
3.2.1. Bildgebende Verfahren .....	31
3.2.2. Endoskopische Verfahren .....	32
3.2.3. Bioptische Verfahren .....	32
3.2.4. Serologische und molekularbiologische Verfahren in Blutproben .....	33
<b>3.3. Therapie und therapeutisches Ansprechen</b> .....	<b>33</b>
<b>4. Ergebnisse</b> .....	<b>34</b>
<b>4.1. Patientenkollektiv</b> .....	<b>34</b>
<b>4.2. Klinik</b> .....	<b>35</b>
<b>4.3. Diagnostik</b> .....	<b>37</b>
4.3.1. Bildgebende Verfahren .....	37
4.3.1.1. Röntgenuntersuchung des Thorax .....	37
4.3.1.2. Computertomographische Untersuchung des Thorax .....	41
4.3.1.3. Diagnostische Ergebnisse einer 2.CT-Untersuchung .....	43
4.3.1.4. CT-Befunde einer 3. Untersuchung .....	45

4.3.1.5. Diagnostische Ergebnisse weiterer CT-Verlaufskontrollen .....	46
4.3.1.6. Veränderungen der radiologischen Auffälligkeiten im Verlauf.....	47
4.3.1.6.1. Wahrscheinliche pulmonale Aspergillose im 1.CT-Befund.....	47
4.3.1.6.2. Wahrscheinliche pulmonale Aspergillose in CT-Verlaufskontrollen .....	48
4.3.1.6.3. Mögliche pulmonale Aspergillose in der 1.CT-Untersuchung.....	49
4.3.1.6.4. Erster CT-Befund ohne Hinweis auf eine pulmonale Aspergillose.....	50
4.3.1.6.5. Veränderungen aller radiologischen Auffälligkeiten im Verlauf .....	50
4.3.2. Endoskopische Verfahren .....	53
4.3.3. Bioptische Verfahren .....	55
4.3.4. Serologische und molekularbiologische Untersuchungen im Blut .....	55
4.3.5. Tabellarische Zusammenfassung der diagnostischen Ergebnisse .....	59
<b>4.4. Therapie und klinischer Verlauf.....</b>	<b>65</b>
4.4.1. Antimykotische Therapie .....	65
4.4.2. Antimykotische Therapeutika und klinisches Ansprechen .....	67
4.4.3. Diagnostische Ergebnisse vor Beginn der Therapie .....	69
4.4.4. Antiinfektiöse Therapie zum Zeitpunkt der Diagnostik .....	71
<b>5. Diskussion.....</b>	<b>73</b>
<b>5.1. Klinik .....</b>	<b>73</b>
5.1.1. Klinische Symptomatik .....	73
5.1.2. Risikofaktoren für die Entwicklung einer IPA.....	74
<b>5.2. Bildgebende Diagnostik .....</b>	<b>76</b>
5.2.1. Konventionelles Röntgen versus Computertomographie .....	76
5.2.1.1. Vergleich der zeitlichen Nachweisbarkeit pulmonaler Infiltrate .....	76
5.2.1.2. Klinischer Nutzen von konventionellem Röntgen versus CT.....	78
5.2.2. Evaluation der Computertomographie.....	79
5.2.2.1. CT-Morphologie.....	79
5.2.2.1.1. Halophänomen .....	79
5.2.2.1.2. Zeitliche Nachweisbarkeit des Halozeichens .....	81
5.2.2.1.3. Weitere radiologische Befunde mit Hinweis auf eine IPA.....	82
5.2.2.2. Therapeutische Konsequenzen und klinischer Verlauf .....	83
5.2.2.2.1. Bedeutung des frühzeitigen Therapiebeginns .....	83
5.2.2.2.2. Prognostische Bedeutung des nachgewiesenen Halozeichens im CT .....	85
5.2.2.2.3. Beurteilung des therapeutischen Ansprechens .....	85
5.2.2.2.4. Risikofaktoren für ein schlechteres therapeutisches Ansprechen .....	87
5.2.2.3. Pathologische CT-Morphologie im Verlauf.....	88
<b>5.3. Stellenwert endoskopischer und bioptischer Verfahren.....</b>	<b>89</b>

5.3.1. Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage .....	89
5.3.1.1. Diagnostischer Nutzen trotz antimykotischer Therapie .....	89
5.3.1.2. Verschiedene Möglichkeiten des Erregernachweises in der BAL .....	90
5.3.1.3. Befundinterpretation .....	91
5.3.1.4. Ergänzender diagnostischer Nutzen von Bronchoskopie plus CT .....	92
5.3.1.5. Stellenwert des Aspergillusnachweises in Proben aus dem Respirationstrakt ..	92
5.3.1.6. Galactomannan-Antigen-Nachweis in der BAL .....	93
5.3.2. Bioptische Methoden .....	94
5.3.2.1. Transbronchiale Biopsie .....	94
5.3.2.2. CT-gesteuerte perkutane Lungenbiopsien .....	95
5.3.2.3. Offene Lungenbiopsie .....	96
<b>5.4. Aspergillus-Antigen-Nachweisverfahren im Blut .....</b>	<b>97</b>
5.4.1. Latex-Agglutinationstest .....	97
5.4.2. Galactomannan-Sandwich-ELISA .....	97
5.4.2.1. Diagnostische Ergebnisse .....	97
5.4.2.2. Faktoren mit Einfluss auf die Testergebnisse .....	98
5.4.2.3. Diagnostischer Nutzen .....	99
<b>5.5. PCR-Methoden im Blut .....</b>	<b>101</b>
5.5.1. Pan-Fungus-PCR .....	101
5.5.2. Aspergillus-spezifische PCR .....	101
5.5.3. Diagnostische Ergebnisse .....	102
5.5.4. Probleme bei der Anwendung dieser Methode im klinischen Alltag .....	103
<b>5.6. Vergleichende Diskussion aller diagnostischen Methoden .....</b>	<b>104</b>
<b>6. Zusammenfassende Darstellung .....</b>	<b>108</b>
<b>Abbildungen/ Tabellen .....</b>	<b>110</b>
<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>114</b>
<b>Erklärung .....</b>	<b>122</b>
<b>Lebenslauf .....</b>	<b>123</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AG	Antigen
AGIHO	Arbeitsgemeinschaft Infektionen in der Hämatologie u Onkologie
ALL	Akute lymphatische Leukämie
AML	Akute myeloische Leukämie
<i>A. fumigatus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Asp. spp.</i>	<i>Aspergillus</i> -Spezies
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BOOP	Bronchiolitis obliterans organisierende Pneumonie
CLL	Chronische lymphatische Leukämie
CMV	Zytomegalievirus
CrP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
DNS/ DNA	Desoxyribonukleinsäure
EIA/ ELISA	Enzymgekoppelter Immunadsorptionstest
EORTC	European Organisation for Research and Treatment of Cancer
Gadolinium-DTPA	Gadolinium-Diethylenetriaminpentaessigsäure
GM	Galactomannan
GvHD	Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion
HEPA	Hoch wirksamer Luftpartikelfilter
HSCT	Hämatopoetische Stammzelltransplantation
HR-CT	Hochauflösende Computertomographie
(HR-) MDCT	(Hochauflösende) Mehrzeilen-Computertomographie
IA	Invasive Aspergillose
IL-6	Interleukin 6
IPA	Invasive pulmonale Aspergillose
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MRT	Magnetresonanztomographie
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
PAS-Reaktion	Perjodsäure-Schiff Reagenz-Reaktion
PCR	Polymerase-Kettenreaktion

PTT	Partielle Thromboplastinzeit
TBB	Transbronchiale Biopsie



# 1. Einleitung

## 1.1. Pathogenese der Aspergillusinfektion

*Aspergillus*-Spezies sind saprophytische Fadenpilze, die ubiquitär in der Umgebung vorkommen [141]. Man findet sie typischerweise in Erde, Staub, Luft, Wasser und organischen Zelltrümmern. Saisonale Einflüsse mit höherem Nachweis von Aspergillen im Herbst und Winter, bedingt durch verrottendes Laub [137] bzw. im Sommer, bedingt durch die höhere Anzahl von trockenen Staubpartikeln [134], wurden beschrieben. Andere Autoren betonen wiederum, dass die Analysen ihrer epidemiologischen Daten keine saisonalen Unterschiede zeigen [6, 22, 49].

Eine erhöhte Inzidenz von Aspergillose wurde bei Bauarbeiten im Krankenhaus bzw. in dessen Umgebung beobachtet [39, 137]. Im Krankenhaus stellen z.B. auch Topfpflanzen durchaus eine Infektionsquelle dar, da Erde ein natürliches Reservoir für Fadenpilze ist [137]. Des Weiteren wurde das von Patienten zum Duschen genutzte Wasser als Ursache nosokomialer Infektionen, z.B. durch *Aspergillus niger* beschrieben [5]. *Aspergillus*-Sporen werden eingeatmet. Die Betreuung von Risikopatienten in HEPA- (High Efficiency Particulate Air) gefilterten Räumen wird daher in einschlägigen Leitlinien z.B. des Robert-Koch-Instituts empfohlen [61]. Fehlende HEPA-Filter werden als Risikofaktor für eine invasive Aspergillose bei Risikopatienten benannt [4, 136], wobei mangelhafte Luftfiltrationssysteme selbst ein hohes Risiko für Aspergillose darstellen [119]. Auch Klimaanlage [8, 68], Isoliermaterialien [138] sowie Feuerschutzmaterialien [1] müssen bei Patienten mit ausgeprägter Immunsuppression als Infektionsquelle angesehen werden. Seltener sind auch Nahrungsmittel, wie Tee, Pfeffer, Früchte oder gefriergetrocknete Suppen die Ursache von Aspergillose, wobei sich in diesen Fällen vor allem *Aspergillus flavus* und *Aspergillus fumigatus* als Erreger nachweisen lassen [12].

Mehr als 200 Aspergillusarten sind bekannt, wobei nur wenige eine humanmedizinische Relevanz haben. *Aspergillus fumigatus* ist für die meisten Fälle invasiver Aspergillose verantwortlich [25, 101], wobei in manchen Institutionen eine steigende Inzidenz von Infektionen durch Nicht-*Aspergillus-fumigatus*-Spezies beobachtet wurde [141]. In jeweils 10-15% finden sich *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* und *Aspergillus terreus*, während *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus ustus* und andere seltene *Aspergillus*-

Spezies in <2% der Isolate nachweisbar sind [84, 101]. *A. fumigatus* lässt sich in 50-60% der Fälle invasiver Aspergillose isolieren. Bemerkenswert ist dabei, dass die Konidien von *A. fumigatus* nur eine kleine Fraktion der *Aspergillus*-Sporen in der Umgebung ausmachen [13], was eine besondere Pathogenität vermuten lässt.

Das ubiquitäre Vorkommen der Aspergillen in unmittelbarer Umgebung des Menschen bedingt einen ständigen Kontakt von Haut und Schleimhaut, besonders der des Respirationstraktes, mit kleinen Mengen von *Aspergillus*-Sporen. Bei intakter Haut und normaler, unbeeinträchtigter Abwehrlage werden sie problemlos eliminiert. Defizite in der Wirtsabwehr, welche die Anfälligkeit für eine Aspergillusinfektion erhöhen, sind komplex und lassen sich grob in folgende Kategorien unterteilen: 1) Mangel an neutrophilen Granulozyten (Neutropenie), 2) qualitatives Defizit der Makrophagenfunktion und 3) Defizit in der zellvermittelten Immunität [117].

Die Konidien von *Aspergillus fumigatus*, welche die Infektionsform darstellen, sind nur 2-3µm groß, was die Inhalation bis in die Alveolen erleichtert [141]. Eine erste Barriere in den Luftwegen stellt die mukoziliäre Clearance dar. Störungen dieses Mechanismus, z.B. bei Patienten mit zystischer Fibrose, können zur chronischen Kolonisation führen [13]. Die natürliche Immunabwehr gegen *Aspergillus*-Spezies beruht auf Alveolarmakrophagen und neutrophilen Granulozyten. Die Alveolarmakrophagen nehmen die Konidien auf, töten keimende Zellen ab und sezernieren Zytokine, um die sekundäre Abwehr einzuleiten [141].

Die Aufnahme der Konidien durch die Alveolarmakrophagen erfolgt dabei unabhängig von Opsoninen und ohne Aktivierung durch adaptive Immunmechanismen. Im phagolysosomalen Kompartiment ist die Keimung der Konidien- in die Hyphenform gehemmt. Nach 24 Stunden sind etwa 90% der aufgenommenen Konidien abgetötet und weitere 6-12 Stunden später sind sie vollständig verdaut. Neutrophile Granulozyten (und quantitativ von geringerer Bedeutung mononukleäre Phagozyten) attackieren und schädigen keimende Konidien und vor allem Hyphen, die zu groß für die Aufnahme durch Makrophagen sind, durch oxidative und nicht-oxidative Mechanismen, wie Defensin. Jeder Mechanismus für sich ist dabei notwendig, um den Wirt vor einer invasiven Erkrankung zu schützen [13]. Schaffner et al. beschreiben ein deutlich erhöhtes Risiko für eine invasive pulmonale Aspergillose, wenn die natürliche Immunität durch eine gestörte Makrophagenfunktion und eine verminderte Anzahl neutrophiler Granulozyten beeinträchtigt ist. Eine induzierte kurzzeitige Myelosuppression bei

Mäusen zeigte nur einen geringen Effekt auf die natürliche Resistenz gegenüber Aspergillen, da sich erst spät ein Effekt auf den Pool der Gewebemakrophagen mit einer Turnover-Rate von mehreren Monaten einstellte [115]. Das könnte die klinische Beobachtung, dass eine Aspergillose im Rahmen einer therapeutischen bzw. im Rahmen einer hämatologisch-onkologischen Grunderkrankung bestehenden Knochenmarksuppression häufig erst nach >10 Tagen auftritt, teilweise erklären. Bei einer hohen Anzahl inhalierter *Aspergillus*-Sporen und Überschreiten der Aufnahmekapazität der Alveolarmakrophagen wurde allerdings die Bedeutung der neutrophilen Granulozyten deutlich. Bei Mäusen mit intaktem Immunsystem zeigten Gewebeproben ein begrenztes Wachstum mit Abkapselung der Hyphen durch neutrophile Granulozyten und Elimination der Aspergillen, während bei immunsupprimierten Mäusen eine ungestörte Ausbreitung mit gewebeinvasiven Wachstum beobachtet wurde. Sie zeigten außerdem, dass eine langdauernde Glukokortikoidtherapie die Makrophagen direkt in ihrer Aktivität gegen Konidien hemmt, während tägliche hohe Dosen von Kortikoiden zusätzlich die Mobilisation neutrophiler Granulozyten beeinträchtigen [115].

Es gilt außerdem als erwiesen, dass T-Helfer (TH)-Zell-Zytokine bei der adaptiven Abwehr gegen Aspergillen eine Rolle spielen. TH<sub>1</sub>-Zytokine, wie Tumor-Nekrose-Faktor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ),  $\gamma$ -Interferon, Interleukin-12 (IL-12), Interleukin-15 (IL-15) verbessern die Superoxidproduktion und verstärken die antimykotische Aktivität von polymorphzelligen und mononukleären Phagozyten. Eine TH<sub>2</sub>-Antwort ist mit einer Progression der Aspergillusinfektion assoziiert. Ihre Neutralisation führt demnach zu einer verbesserten Immunantwort [141]. Dennoch sind vor allem Neutropenie und Makrophagendysfunktion als Risikofaktoren für eine invasive Erkrankung zu definieren, während andere Immundefekte, wie gestörte T-Zellfunktion bei AIDS, Komplement- oder Antikörperdefekte allein nicht das Risiko massiv erhöhen [13].

Zahlreiche Virulenzfaktoren, wie ein Hyphenwachstumsfaktor, Katalase, welche reaktive Sauerstoffintermediate der Phagozyten inaktiviert oder eine Interaktion von *A. fumigatus*-Konidien mit extrazellulären Matrixbestandteilen, die die Adhärenz an das Wirtsgewebe erleichtert, wurden beschrieben [13, 25]. Zudem wurden auch patientenspezifische genetische Risikofaktoren beschrieben. Bei allogenen Stammzelltransplantat- (HSCT-) Empfängern waren Polymorphismen der Toll-like-Rezeptoren (TLR) 1 und 6 mit einer höheren Anfälligkeit für eine IA assoziiert [58],

während unterschiedliche Interleukin-10 Promoter-Polymorphismen eine protektive Rolle spielen könnten [118] bzw. das Risiko einer IA eventuell senken [114]. Außerdem scheinen Unterschiede in der Promoterregion des TNF $\alpha$ -Rezeptor-Typ-2-Gens einen Einfluss auf das Risiko von Patienten mit malignen hämatologischen Erkrankungen, eine IA zu entwickeln, zu haben [113].

Bei Patienten mit defekter Wirtsabwehr adhären die Konidien fest auf der Schleimhautoberfläche des Respirationstrakts, schwellen und sprossen dann. Die Keimlinge entwickeln sich in verzweigte, septierte, gewebeinvasive Hyphen [141]. In der Lunge kommt es durch das invasive Hyphenwachstum in die Gefäße zu ischämischen Nekrosen und Einblutungen in die Umgebung. Die Hyphen können anatomische Grenzen, z.B. Knorpel oder Wände der Blutgefäße, überschreiten und sich so auf benachbarte Organe ausbreiten oder über hämatogene Streuung eine disseminierte Erkrankung verursachen [13].

## 1.2. Epidemiologie und Inzidenz

Die invasive Infektion durch *Aspergillus*-Spezies betrifft vorwiegend Patienten mit langdauernder Neutropenie, Neutrophilen-/Makrophagendysfunktion, zytotoxischer Chemotherapie, langfristiger Glukokortikoidbehandlung, Knochenmark-, Stammzell- oder Organtransplantation, Verbrennungen sowie Patienten mit angeborenen oder erworbenen Immundefekten [13]. Diese Arbeit befasst sich mit invasiven Aspergillose bei hämatologisch-onkologischen Patienten.

Bedeutendster Risikofaktor ist Dauer und Schwere der durch Erkrankung und Therapie bedingten Neutropenie [37]. Eine lange und schwere Neutropenie wird dabei als Neutrophilenzahl  $< 500/\mu\text{l}$   $> 10$  Tage definiert [72].

Nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation sind allogene Transplantatempfänger aufgrund der stärkeren Immunsuppression gefährdeter als autologe Transplantatempfänger [117]. Dabei wurden Fälle einer invasiven Aspergillose bei autologen Transplantatempfängern in der Neutropeniephase beobachtet [109], während sie bei allogenen Transplantationen häufiger erst nach der Neutrophilenregeneration im Zusammenhang mit der immunsuppressiven Therapie einer Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion (Graft-versus-Host-Disease, GvHD) auftritt [84, 134]. Faktoren, die mit einem erhöhten Risiko für invasive Aspergillose bei allogenen HSCT-Empfängern

einhergehen, sind zudem die Gabe von T-Zell-depletierten oder CD34-selektierten Stammzellprodukten [117], akute GvHD >Grad II, Glukokortikosteroidtherapie >2mg/kg >7 Tage, Therapie mit ATG/ALG/OKT3 (Antithymozyten-/Antilymphozytenglobulin/CD3-Antikörper), gleichzeitige Zytomegalievirus (CMV) -Infektion mit Neutropenie <1000/μl und Transplantatversagen [84, 87]. Zusätzliche Risikofaktoren sind eine langdauernde Gabe von Ganciclovir zur CMV-Prophylaxe [34], wie auch Langzeitprophylaxe mit Fluconazol [62, 127]. Auch eine Bakteriämie in der frühen Posttransplantationsphase mit Knochenmarkaplasie wurde als Risikofaktor für invasive Pilzinfektionen, einschließlich invasiver Aspergillosen, beschrieben [121].

Die Angaben zur Inzidenz invasiver Fadenpilzinfektionen variieren zum Teil erheblich. Ein Anstieg in den letzten Jahren wird jedoch einheitlich beschrieben, wobei bei einem Wandel im Erregerspektrum, Aspergillosen teilweise örtlich etwas abnehmen. Kontoyiannis et al. beschrieben z.B. unter Voriconazolprophylaxe eine sinkende Inzidenz von Aspergillosen bei steigender Anzahl von Zygomykosen [63]. Cornet et al. analysierten 621 Fälle (115 sichere, 506 wahrscheinliche invasive Aspergillosen nach EORTC/MSG (European Organization for Research and Treatment of Cancer/ Mycoses Study Group)–Kriterien [27]) zwischen 1994 und 1997, wobei die Inzidenz bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (AML) 8%, mit akuter lymphatischer Leukämie (ALL) 6,3% betrug. Patienten nach allogener bzw. autologer Stammzelltransplantation entwickelten in 12,8% bzw. 1,1% eine invasive Aspergillose [22]. Denning beschrieb sogar eine Inzidenz von bis zu 24% bei Patienten mit AML [25].

Marr et al. untersuchten unter anderem die Inzidenz von Schimmelpilzinfektionen bei 5589 Patienten, die zwischen 1985 und 1999 eine hämatopoetische Stammzelltransplantation erhielten und beschrieben eine Verdreifachung [84]. Pagano et al. ermittelten mit Hilfe einer retrospektiven Kohortenstudie, die 11.802 Patienten mit malignen hämatologischen Erkrankungen zwischen 1999 und 2003 einschloss, die Inzidenz sicherer oder wahrscheinlicher invasiver Pilzinfektionen und gaben sie mit 4,6% an. 69% der Patienten mit invasiver Pilzinfektion hatten eine AML. Schimmelpilze wurden in 2,9% der Fälle (in 7,9% bei AML-Patienten) als auslösendes Pathogen identifiziert, wobei sich in 90% der Schimmelpilzinfektionen *Aspergillus*-Spezies (53% *A. fumigatus*) nachweisen ließen [99]. Die Einschätzung der Inzidenz ist jedoch aufgrund unterschiedlicher Definitionskriterien, hospital- wie patienteneigener Risikofaktorkonstellationen sowie Diagnostikprogrammen schwierig [112].

Zahlreiche Autopsiestudien belegen ebenfalls die steigende Inzidenz [41, 146], wobei auch hier die Aussagekraft teilweise stark eingeschränkt ist, da viele verstorbene Patienten nicht autopsiert werden und Patienten, die eine Infektion überleben, nicht in die Studie eingeschlossen werden. Bodey et al. erhoben post mortem Daten, die zeigten, dass 20-30% der Patienten, die an Leukämie verstarben, eine disseminierte Pilzinfektion hatten [11]. Chamilos et al. evaluierten autopsiegesicherte invasive Pilzinfektionen bei 1017 Patienten mit malignen hämatologischen Erkrankungen über 3 Zeiträume (1989-1993, 1994-1998, 1999-2003). Bei 31% der Patienten wurde eine invasive Pilzinfektion gesichert, wobei die Prävalenz von Schimmelpilzinfektionen signifikant anstieg (19%-24%-25%). Anzumerken bleibt, dass die Häufigkeit invasiver Aspergillosen jedoch relativ stabil blieb (16%-19%-19%), und dass die Mehrzahl der IA durch Nicht-fumigatus-Aspergillen, wie *A. flavus*, *A. terreus* u.a., verursacht wurden [20].

Auch die Angaben zu Mortalitätsraten zeigen eine breite Varianz. Lin et al. werteten 50 Studien aus dem Zeitraum 1995-2000 mit insgesamt 1941 Patienten aus und ermittelten eine Gesamttodesfallrate von 58%. Knochenmarktransplantatempfänger zeigten die höchste Mortalität (86,7%), wobei anzumerken ist, dass diese Patientenpopulation häufiger eine disseminierte Aspergillose entwickelt, welche wiederum eine sehr hohe Mortalitätsrate (88,1%) aufwies. Bei Patienten mit pulmonaler Aspergillose zeigten lokalisierte Erkrankungsprozesse eine bessere Prognose als diffuse mit Todesfallraten von 29,5% versus 60,2% [71].

Pagano et al. (siehe oben) ermittelten eine der invasiven Aspergillose zuzuschreibende Todesfallrate von 42%, wobei diese bei unterschiedlichen zugrunde liegenden Erkrankungen eine Varianz von 38% bei AML-Patienten und 80% bei Patienten mit chronischer lymphatischer Leukämie (CLL) zeigte [99].

Bei Patienten, die eine invasive pulmonale Aspergillose überlebt haben, gilt die Erkrankung als signifikant prädiktiv für einen komplizierten Verlauf febriler Episoden während erneuter neutropenischer Phasen [60]. Auch nach Knochenmarktransplantation wurden bei 33% der Patienten mit einer IA in der Krankengeschichte erneute Infektionen mit einer Sterblichkeitsrate von 88% trotz aggressiver Behandlung beobachtet [97].

### 1.3. Diagnostik

Der Schlüssel zur Prognoseverbesserung liegt in einer frühen Diagnosestellung und einer entsprechend raschen Therapieeinleitung. Bei später Therapieinitiierung (über 10 Tage nach ersten klinischen und/ oder radiologischen Erkrankungsanzeichen) betrug die Mortalität 90%, während sie bei früherem Behandlungsbeginn auf 40% sank [133].

Da die Sicherung einer definitiven Diagnose schwierig und zeitaufwendig ist, eine verzögerte antimykotische Therapie aber eine höhere Mortalität bedingt, kommt es im klinischen Alltag häufig zur Therapieeinleitung auf dem Boden einer klinisch begründeten Vermutung, dass eine IA vorliegt (präemptive Therapie). Obgleich in Leitlinien diese Therapiestrategie gerade bei neutropenischen Risikopatienten mit Lungeninfiltraten und antibiotikarefraktärem Fieber empfohlen wird [91], sollten die diagnostischen Bemühungen intensiviert werden, da aus der Charakterisierung des Erregers entscheidende Konsequenzen für den Patienten im Hinblick auf die Wahl des Antimykotikums, die Therapiedauer, chirurgische Interventionen, Kontrolluntersuchungen oder eine sekundäre antimykotische Prophylaxe gezogen werden können [112] und eine unnötige antimykotische Therapie vermieden werden kann.

Zur besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse klinischer Studien entwickelte die Invasive Fungal Infections Cooperative Group (IFICG) der European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC)/ National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (MSG) Kriterien für die Definition invasiver Pilzinfektionen bei Patienten mit malignen Neoplasien und hämatopoetischen Stammzelltransplantatempfängern (**Tabelle 1**, siehe Anhang) [27]. Diese Kriterien sollten allerdings nicht als Richtlinien in der klinischen Praxis verwendet werden, obgleich sie im Bestreben nach einer sicheren Diagnosestellung häufig auch hier eingesetzt werden.

#### 1.3.1. Mikroskopische Untersuchung

Die mikroskopische Untersuchung ist unverzichtbarer Bestandteil der mykologischen Diagnostik. Nativpräparate oder Gram-Färbung können bei entsprechender Erfahrung in diesen Techniken zu einer schnellen Diagnosestellung beitragen. Für bronchoskopisch gewonnene Materialien bzw. Gewebeschnitte/Biopsate sind

Färbungen wie mit Perjodsäure-Schiff-Reagenz (PAS-Reaktion) oder Gomori-Grocott erforderlich. Durch die direkte mikroskopische Untersuchung können richtungweisende Befunde wie Septenbildung, Durchmesser oder Verzweigung der Hyphen erhoben werden. Bei *Aspergillus*-Spezies findet man typischerweise septierte, 3-5µm breite, 45°-verzweigte Hyphen. Morphologische Unterscheidungsmerkmale der Fadenpilze liegen jedoch nur im Idealfall vor. Bei Vorhandensein nur weniger Hyphenfragmente ist eine Unterscheidung nicht möglich. Teilweise können Speziesdifferenzierungen durch immunhistochemische Untersuchungen mit Hilfe monoklonaler Antikörper [112], Antigen-Nachweisverfahren [83] oder der Polymerasekettenreaktion (PCR) [15, 16, 110, 111] verbessert werden. Als relativ schnell durchzuführendes und preiswertes Verfahren zum Nachweis von Pilzelementen hat sich die mikroskopische Untersuchung unter Zugabe von „Weißmachern“ (sog. optical brightener, Calcoflour white) erwiesen. Der Nachweis von *Aspergillus*-Hyphen kann hierbei bereits nach etwa 10 Minutenfluoreszenzmikroskopisch erfolgen [7]. Häufig ist jedoch die Anzucht des Pilzes für die eindeutige Erregeridentifikation erforderlich.

### 1.3.2. Kultureller Nachweis

Pilzkulturen lassen sich von verschiedensten Proben anlegen, wobei eindeutige Ergebnisse nur von primär sterilen Körperflüssigkeiten und Biopsiematerial zu erwarten sind [112].

Ogleich die disseminierte Infektion im Sinne einer hämatogenen Streuung verstanden wird, eignet sich die Blutkultur nicht zum Nachweis von *Aspergillus*-Spezies bei einer invasiven Erkrankung, da sie nur extrem selten positiv ist [30].

Ein Schimmelpilznachweis in nicht-invasiv gewonnenen Sekreten aus dem Respirationstrakt gelingt ebenfalls nur selten [112], und wirft zudem die Frage nach Atemwegskolonisation oder Infektion auf, wobei er gerade bei Hochrisikopatienten als möglicher Hinweis auf eine Pilzpneumonie gewertet werden muss. Horvath et al. z.B. beschreiben in ihrer Arbeit einen positiven prädiktiven Wert von 72% für eine IA bei *Aspergillus*-Nachweis in Sekreten des Respirationstraktes [48]. Und Perfect et al. berichteten, dass *Aspergillus*-positive Kulturen aus nicht sterilen Sekreten, wie Sputum oder bronchoalveolärer Lavage (BAL) bei Knochenmarktransplantatempfängern in 60%, bei Patienten mit malignen hämatologischen Erkrankungen in 50% bzw. mit Zeichen



einer Neutropenie in 60% mit einer invasiven Erkrankung assoziiert sind [103]. Und auch Yu et al. kamen zu dem Schluss, dass selbst einzelne positive Sputumkulturen bei immunsupprimierten Patienten kritisch bewertet werden sollten, wobei sie angesichts der hohen Mortalität einer invasiven pulmonalen Aspergillose als Indikator für eine antimykotische Therapie dienen sollten, auch wenn eine Kontamination der Probe möglich ist [148].

### 1.3.3. Endoskopische Verfahren

Bei pulmonalen Infiltraten sollte, sofern es der klinische Zustand des Patienten erlaubt, eine Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage durchgeführt werden [91]. Die Komplikationsrate dieser diagnostischen Maßnahme ist relativ gering und rechtfertigt angesichts der hohen Mortalität einer invasiven pulmonalen Aspergillose ihre Anwendung. Beschrieben wurden unter anderem selbst-limitierende, selten auch hämodynamisch relevante Blutungen, Pneumothorax, bronchiale Spasmen oder Husten bei 5-33% der Patienten [131, 140].

Allerdings gelingt der kulturelle Nachweis von *Aspergillus*-Spezies in der BAL selbst bei histologisch bewiesener invasiver pulmonaler Aspergillose nur relativ selten. Sensitivitäten von 30% [106], 38 % [48], 45% [17] oder auch 50% [132, 133] für den Nachweis von Aspergillen sind beschrieben. Allerdings ist auch ein negativer Keimnachweis von klinischer Relevanz, da der Ausschluss anderer pathogener Erreger in der BAL, die Verdachtsdiagnose einer IPA stützt und eine präemptive antimykotische Therapie nach sich zieht.

Peikert et al. geben für die Bronchoskopie eine Sensitivität von 49% an und beobachteten eine Erhöhung auf 63%, wenn man zusätzlich Sputumproben untersucht [102]. Patel et al. konnten mit Hilfe der bronchoskopischen Untersuchung bei allogenen Knochenmarktransplantatempfängern häufiger eine Diagnose stellen als bei autologen Knochenmarktransplantatempfängern (50% versus (vs) 34%). Sie betonen den diagnostischen Nutzen für beide Patientengruppen und schreiben, dass die Ätiologie pulmonaler Infiltrate mit der Bronchoskopie in fast allen Fällen geklärt werden konnte, während z.B. die transbronchiale Biopsie in weniger als 10% der Fälle eine zusätzliche Information erbrachte [100].

Aufgrund des gewebeinvasiven Wachstums der Aspergillen entgehen sie häufig dem bronchoskopischen Nachweis, während für bioptische Methoden, wie z.B. CT-gesteuerte Feinnadelbiopsien, teilweise bessere Ergebnisse beschrieben sind [66].

#### **1.3.4. Bioptische Methoden**

Der histologische und kulturelle Nachweis aus Gewebebiopsien gelingt auch nicht immer und ist zudem risikoreicher, was die Komplikationen des Eingriffs betrifft. Eine sichere Diagnosestellung nach transbronchialer Biopsie (TBB) gelingt nach Albelda et al. nur in 6,5% der Fälle [2]. Zahlreiche Autoren schreiben der bronchoalveolären Lavage als weniger invasiven Methode wenigstens den gleichen diagnostischen Nutzen wie der transbronchialen Biopsie zu [123, 124, 126]. Patel et al. erhielten in weniger als 10%, Peikert et al. in nur 1 Fall eine zusätzliche diagnostische Information [100, 102]. Cazzadori, et al. hingegen ermittelten für die TBB verglichen mit der BAL einen höheren diagnostischen Nutzen von 55% versus 20%. Sie empfehlen die routinemäßige Anwendung bei immunsupprimierten Patienten mit antibiotikaresistentem Fieber und sich verschlechterndem klinischen Zustand sowie bereits durchgeführter BAL ohne diagnostisches Ergebnis. Die Durchführung beider Maßnahmen könnte die diagnostische Ausbeute erhöhen und die Notwendigkeit einer offenen Lungenbiopsie minimieren [19]. Allerdings hängt die Durchführbarkeit dieser diagnostischen Methode von Thrombozytenzahlen  $\geq 50 \times 10^9/l$  ab, weshalb die Anwendung gerade bei hämatologisch-onkologischen Patienten nur eingeschränkt möglich ist.

Nosari et al. evaluierten retrospektiv die Ergebnisse von CT-gesteuerten perkutanen Lungenbiopsien mit zusätzlicher Feinnadelaspiration für zytologische Untersuchungen bei 17 hämatologischen Patienten mit Verdacht auf eine Pilzinfektion und negativer BAL. Bei 70,5% bestätigte sich histologisch eine Pilzinfektion, wobei bei 47,5% *Aspergillus*-Spezies nachgewiesen wurden. Die Sensitivität gaben sie mit 70,6% an, obgleich man die Biopsie erst nach Anstieg der Thrombozytenzahl auf  $> 50 \times 10^9/l$  durchführte und alle Patienten während dieser Zeit bereits antimykotisch behandelt wurden [96]. Auch Hwang et al. beurteilten die CT-gesteuerte perkutane Lungenbiopsie als relativ sichere und vor allem hilfreiche Methode zur Identifikation ursächlicher Mikroorganismen bei immunsupprimierten Patienten mit Verdacht auf eine pulmonale Infektion, wobei sie in 79,2% einen diagnostischen Erregernachweis erhielten [51].

Lass-Flörl et al. untersuchten 61 immunsupprimierte Patienten, bei denen aufgrund des CT-Befundes eine IPA sehr wahrscheinlich erschien. Bei Thrombozytenzahlen  $\geq 50 \times 10^9/l$ , normaler PTT und Prothrombinzeit biopsierte man CT-gesteuert die entsprechenden Läsionen, die zumeist  $>1\text{cm}$  Durchmesser und perkutan gut erreichbar waren. In 80% der Fälle gelang der Pilznachweis, wobei mit Hilfe der Calci fluor white Färbung gut zwischen septierten (Aspergillen) und nicht-septierten (z.B. Zygomyceten) Pilzspezies unterschieden werden konnte, was für die therapeutischen Konsequenzen von entscheidender Bedeutung ist, da Zygomycosen nicht empfindlich gegenüber Voriconazol oder Caspofungin sind. Sie empfehlen die zusätzliche Anwendung von Galactomannan-Antigen-Nachweisverfahren und/oder PCR, was noch mehr diagnostische Sicherheit bringen könnte. Für 75% der 12 Fälle mit negativem Ergebnis wurden andere klinische Diagnosen (Lungenkarzinom, leukämische Infiltrate, Tuberkulose) nach histopathologischer Untersuchung der Biopsieproben gestellt. In den anderen 3 Fällen mit negativem Ergebnis wurde aufgrund des klinischen Verlaufs und des therapeutischen Ansprechens auf die antimykotische Therapie die Diagnose einer Pilzinfektion gestellt [66].

Kim et al. untersuchten den diagnostischen Nutzen der offenen Lungenbiopsie bei 31 Patienten (32 Fällen) mit malignen hämatologischen Erkrankungen und klinischem und/oder radiologischem Verdacht auf eine invasive pulmonale Aspergillose, wobei sich ein histopathologischer Pilznachweis in 53,1% ergab. Sie empfahlen diese Methode zur frühzeitigen Diagnosesicherung, ohne dass nach ihren Erfahrungen schwerwiegende Komplikationen zu erwarten sind [59]. Andere Autoren wiederum beschreiben eine relativ hohe Komplikationsrate von 8-20% [92, 140].

Bei Patienten mit histologisch dringend abklärungsbedürftigen Lungeninfiltraten (z.B. Verdacht auf invasive Aspergillose) und schwerer Thrombozytopenie wird dennoch eine offene Lungenbiopsie empfohlen [91].

Anzumerken bleibt, dass auch der allgemein als „Goldstandard“ angesehene histologische Befund aus bioptisch (oder autoptisch) gewonnenem Lungengewebe in seiner Aussagekraft nicht immer sicher beurteilbar ist, da hierfür keine verbindlichen Qualitätsstandards hinsichtlich der Technik und des Zeitplans der Aufarbeitung der Proben noch hinsichtlich der Interpretation der erhobenen Befunde existieren. Hinzu kommt die hochgradige Selektion der bioptisch (oder autoptisch) untersuchten

Patienten, die keine Aussage über Sensitivität und Spezifität der histobioptischen Verfahren erlaubt [112].

### 1.3.5. Serologie

Kontraindikationen für die Durchführung invasiver diagnostischer Maßnahmen bei Patienten mit malignen hämatologischen Erkrankungen, wie Thrombozytopenie oder ein häufig sehr schlechter Allgemeinzustand, sowie die Tatsache, dass diese Methoden nicht sicher eine klinisch verwertbare Diagnose erbringen, führten zur Entwicklung nicht-kultureller Verfahren, die teilweise bereits erfolgreich in der klinischen Praxis etabliert wurden.

Eine Reihe von kommerziellen Testkits steht mittlerweile zur Verfügung, wobei vor allem die *Aspergillus*-Antikörper-Tests für die Diagnostik invasiver Aspergillosen bei Patienten mit malignen Erkrankungen nicht geeignet zu sein scheinen. In der Mehrzahl der Fälle fallen sie auch bei gesunden Personen positiv aus, und bei immunsupprimierten Patienten korreliert die Titerhöhe nicht mit der Krankheitsaktivität. Der Antikörpertiter gegen *Aspergillus fumigatus* kann allenfalls als prognostischer, nicht aber als diagnostischer Parameter verstanden werden [67].

Die serologische Diagnostik kann dagegen eher durch die Bestimmung von zirkulierendem Antigen (AG) in Körperflüssigkeiten wie Serum, Urin oder bronchoalveolärer Lavage erreicht werden.

Das Polysaccharid Galactomannan (GM) ist ein wichtiger Zellwandbestandteil von *Aspergillus*-Spezies, welches während des Hyphenwachstums in das umgebende Gewebe abgegeben wird [103]. In der Mehrzahl der seit 1979 beschriebenen Untersuchungen wird dieses Antigen für die Diagnostik der invasiven Aspergillose verwendet [108]. Der erste kommerziell erhältliche Galactomannan-Nachweis wurde in Form des Pastorex<sup>®</sup>-Kit als Latex-Agglutination angeboten. Die Spezifität war mit 90-100% hoch, aber die Sensitivität schwankte je nach Studie zwischen 25-70%. Die Ursache lag möglicherweise in der unteren Nachweisgrenze von nur 15ng GM/ml Serum oder Urin. Als Standard zur Diagnostik invasiver Aspergillosen in der Hämatologie/ Onkologie hat er sich nicht durchgesetzt [55], obgleich Caillot et al. den Pastorex<sup>®</sup>-Test für den *Aspergillus*-Nachweis aus der bronchoalveolären Lavage als diagnostisch brauchbar beschrieben [18].

Mit einer unteren Nachweisgrenze von 1ng/ml ist der jetzt in Form eines Sandwich-Enzym-linked Immunosorbent Assay (Platelia® Aspergillus ELISA) angebotene GM-Nachweis deutlich sensitiver bei gleich hoher Spezifität. Der Test zeigte in mehreren Studien eine Sensitivität von 80-100% bei einer Spezifität von 80-90% und stellt somit eine eindeutige Verbesserung in der nicht-kulturellen Diagnostik invasiver Aspergillosen dar [125, 128]. Eine große autopsiekontrollierte Studie an 186 belgischen Patienten mit hämatologischen Neoplasien, die während der Neutropeniephase auf zirkulierendes GM-Antigen mittels Sandwich-ELISA untersucht wurden, konnte zeigen, dass der Test bei 25 von 27 Patienten mit invasiver Aspergillose positiv war [79]. Die Gruppe um Maertens kam zu dem Schluss, dass ein prospektives Screening mittels dieses Tests bei Hochrisikopatienten eine frühere Diagnosestellung erlaubt als andere konventionelle diagnostische Kriterien. So ging in einer Studie mit 100 allogenen Stammzelltransplantatempfängern die Antigenämie der Diagnose auf Basis radiologischer Zeichen oder der Aspergillusisolation um 8 und 9 Tage bei 80% und 88,8% der Patienten voraus [80]. Weisser et al. betonen in ihrer Arbeit wiederum, dass neue pulmonale Infiltrate mit Verdacht auf eine invasive Aspergillose bei Patienten mit malignen hämatologischen Erkrankungen Anlass für eine antimykotische Therapie sein sollten, da ihr Auftreten dem Galactomannan-Nachweis vorausgeht [139].

Kontroverser Diskussionspunkt dieser Methode war der initial verwendete cutoff-Wert der optischen Dichte, wobei ein sinkender cutoff-Wert die Sensitivität auf Kosten der Spezifität erhöht. Die Auswirkungen modifizierter diagnostischer Schwellenwerte finden sich in der **Abbildung 1** (siehe Anhang) [85]. Der Test ist mittlerweile auch in Europa mit einem cutoff-Wert von 0,5 zugelassen.

Anzumerken ist, dass der Test bei Patienten, die eine Aspergillen-wirksame Therapie erhalten, trotz Absenkung des Schwellenwertes an Sensitivität verliert [86, 103]. Weitere Faktoren, die die Testergebnisse beeinflussen können, wie z.B. falsch-pathologische Ergebnisse durch die Behandlung mit Piperacillin/Tazobactam [93] oder anderer  $\beta$ -Laktam-Antibiotika, wie z.B. Ampicillin/Sulbactam [94] und Amoxicillin/Clavulansäure [81, 92] wurden beschrieben.

Zusätzlich kann dieser Test, obwohl hierfür nicht eigens zugelassen, auch zur Untersuchung von BAL oder Liquor mit hoher diagnostischer Sensitivität eingesetzt werden [129]. Becker et al. ermittelten für den Galactomannan-Nachweis in der bronchoalveolären Lavage sogar eine höhere Sensitivität als für den Nachweis in

Serumproben [9]. Musher et al. ermittelten bei Absenkung des cutoff-Wertes auf 0,5 eine Sensitivität von 76% und eine Spezifität von 94% (versus 61% und 98% bei einem cutoff von 1,0). Sie beobachteten dabei höhere Werte bei Patienten mit positiver BAL-Kultur, mit fokalen versus diffusen radiologischen Auffälligkeiten sowie mit antifungaler Therapie, wobei letzteres in seiner Aussagekraft dadurch eingeschränkt ist, dass 75% der Patienten zum Zeitpunkt der BAL antimykotisch behandelt wurden. Die Anwendung von Galactomannan-AG-Nachweisverfahren und PCR erhöht die Sensitivität auf 82% bei einer Spezifität von 96% und minimiert die Notwendigkeit invasiver diagnostischer Methoden [95]. Maertens et al. empfehlen in einer neueren Arbeit für den Galactomannan-AG-Nachweis in der BAL einen cutoff-Wert von  $\geq 1\text{ ng/l}$  zu verwenden. Bei einer ermittelten Sensitivität von 91,3% bleibt auch die Spezifität mit 87,7% bei diesem cutoff-Wert in einem akzeptablen Bereich [83].

Weitere Techniken wie Enzymimmunoassays oder Radioimmunoassays für den Nachweis von Galactomannan sind bekannt, aber von geringerem Wert, da sie erst in fortgeschrittenen Erkrankungsstadien positiv werden [147].

### **1.3.6. Molekularbiologie**

Zahlreiche Verfahren zur Detektion von Pilz-spezifischer Desoxyribonukleinsäure (DNS/DNA) mit Hilfe von Hybridisierungstechniken und der Polymerasekettenreaktion (PCR) wurden entwickelt, die jedoch, bei sehr unterschiedlichen methodischen Ansätzen, in der klinischen Anwendung bisher weder standardisiert noch validiert sind [28].

Unterschiedlichen DNA-Nachweismethoden wird in der Literatur durchaus ein hoher Stellenwert in der definitiven Diagnosestellung einer invasiven Pilzinfektion zugeschrieben. Abhängig vom nachzuweisenden so genannten Ziel-Gen wurden hohe Spezifitäten von 100% [74, 104, 122], 93% [57] und 92% [53] beschrieben. Andere Faktoren, einschließlich der Methodik der DNA-Extraktion [73, 76], der Qualität der Primer, dem Typ der PCR-Reaktion (block-based PCR [32], nested PCR [15, 16, 144] oder real-time PCR [74]), der Größe der Studienpopulation, dem Typ der Erkrankung [145] und der Art des Probenmaterials (Blut, Plasma oder bronchoalveoläre Lavage [15, 16, 75, 142]) beeinflussen die Sensitivität der Methode.

Obgleich gute diagnostische Ergebnisse für den DNA-Nachweis beschrieben werden, findet sich diese Methode nicht in den EORTC/MSG-Kriterien, die eine Pilzinfektion klassifizieren [143]. Grund dafür ist vor allem die fehlende Standardisierung der PCR-Methoden. So arbeiten die einzelnen Studiengruppen mit eigenen DNA-Extraktionsverfahren, Primern und PCR-Typen, was eine breite Anwendung unmöglich macht. Auf die Ergebnisse der zahlreichen unterschiedlichen Methoden soll hier nicht näher eingegangen werden, da sie im klinischen Alltag aus oben erwähnten Gründen noch nicht ausreichend akzeptiert sind. Fraglich scheint auch noch die Frage nach dem optimalen Probematerial für den molekularen Nachweis einer invasiven Aspergillose. So favorisieren einige Gruppen Blutproben [53, 73, 75], andere Serumproben [23] bzw. BAL-Proben [122]. Beim Nachweis von *Aspergillus*-Spezies in der BAL bleibt das Problem einer eventuellen Atemwegskolonisation erhalten. Bis zu 25% der Proben von Patienten ohne invasive pulmonale Aspergillose können PCR- positiv ausfallen, was vor allem den Ausschluss dieser Diagnose bei einem neutropenischen Patienten mit falsch-positivem Ergebnis schwierig macht [55]. Einsele et al. haben wiederum darauf hingewiesen, dass BAL-Proben von Patienten nach Knochenmarktransplantation nur selten falsch-positiv sind und im Gegensatz dazu der positive Befund in einer „Screening-BAL“ ohne pulmonales Infiltrat in der Regel einer in der Posttransplantationsphase entstehenden invasiven pulmonalen Aspergillose vorausgeht [33]. Kawazu et al. evaluierten eine quantitative PCR-Methode und definierten über die DNA-Menge, ob es sich um eine Infektion oder eine Kolonisation bzw. Kontamination handelt [56]. Raad et al. gaben die Sensitivität der PCR in Material der BAL für Patienten mit gesicherter IPA (n=10) mit 80%, für Patienten mit wahrscheinlicher IPA (n=22) bzw. mit möglicher IPA (n=18) jedoch nur noch mit 64% bzw. 33% an [105]. Untersuchungen an größeren Patientenkollektiven aus der Hämatologie konnten zeigen, dass unabhängig von der verwendeten Methode ein positiver PCR-Befund in Blutproben der klinischen Diagnose einer invasiven Aspergillose bereits um 2-9 Tage vorausging. Die Sensitivität der Methode wurde mit 100% und die Spezifität mit 65% unter Hinzunahme mehrerer Blutproben angegeben. Die Autoren wiesen darauf hin, dass bei 16 von 28 Patienten (57%) nur einmal *Aspergillus*-DNA im Blut nachgewiesen wurde und dies nicht mit den klinischen Zeichen einer invasiven Aspergillose korreliert war. Der positive prädiktive Wert stieg jedoch signifikant, wenn zwei aufeinanderfolgende positive PCR-Befunde der Diagnose dienten [42]. Das macht ein

weiteres grundsätzliches Problem der Methode deutlich. Einzelne positive Proben müssen nicht Ausdruck einer Infektion sein, und es ist nicht klar, wie viele positive PCR-Befunde mit welcher Methode notwendig sind, um eine Infektion nachzuweisen.

In einer weiteren Studie betonten Hebart et al. den eventuell prophylaktischen Wert der Panfungus-PCR, die helfen könnte, Patienten mit erhöhtem Risiko für eine invasive Pilzinfektion vor Beginn zytoreduktiver Therapie zu identifizieren [43].

### **1.3.7. Bildgebende Verfahren**

Die diagnostische Ausbeute konventioneller Röntgenaufnahmen bei febrilen neutropenischen Patienten ist schlecht [35]. Gerade in frühen Erkrankungsstadien gelingt der Pneumonienachweis mittels Dünnschnitt-Computertomographie etwa 6mal häufiger, wobei verdächtige Befunde >5 Tage früher gesehen werden [46]. Caillot et al. beobachteten durch Einführung „früher“ CT-Untersuchungen bei ihren Patienten mit Neutropenie, Fieber und Infiltraten im Röntgen-Thoraxbild eine Senkung der durchschnittlichen Zeit bis zur Diagnosestellung von 7 auf 1,9 Tage [17].

Typisch für das initiale CT-Bild einer angioinvasiven Aspergillose sind Noduli von 0,5-3cm bzw. seltener auch keilförmige Parenchymverdichtungen, die ischämischen Nekrosen als Folge des invasiven Hyphenwachstums in Gefäße entsprechen und bildmorphologisch thromboembolischen Infarkten ähneln. Im Randbereich dieser Läsionen bildet sich häufig eine Entzündungsreaktion. Die angrenzende, ringförmige Zone milchglasartiger Eintrübung, das sogenannte Halozeichen, ist das Korrelat der alveolären Hämorrhagie [14]. Kuhlmann et al. beschrieben bereits 1985 das CT-Halozeichen als typisch für eine invasive pulmonale Aspergillose und betonten vor allem den Wert für eine frühe Diagnosestellung [65]. Die Spezifität blieb allerdings kontroverser Diskussionspunkt. Li et al. zum Beispiel beschrieben das CT-Halozeichen bei anderen Pneumonien [70] und auch Gaeta et al. fanden zahlreiche Differentialdiagnosen wie bronchoalveoläres Karzinom, Metastasen, Bronchiolitis obliterans organisierende Pneumonie (BOOP) oder eosinophile Pneumonie [36]. Reichenberger et al. wiesen wiederum darauf hin, dass das CT-Halozeichen zwar bei anderen pulmonalen Erkrankungen wie der Alveolarblutung, der BOOP, der Wegener Granulomatose, bei viralen Infektionen oder bei eingebluteten Sarkom- oder Keimzelltumormetastasen auftritt, sein prädiktiver Wert aber vor allem im klinischen



Szenario des neutropenischen Fiebers mit 80-100% sehr hoch ist [107]. Auch Kami et al. beschrieben das Halozeichen als charakteristisch für eine invasive pulmonale Aspergillose bei neutropenischen Patienten mit malignen hämatologischen Erkrankungen und antibiotikaresistentem Fieber. Sie ermittelten in einer retrospektiven Studie an 48 Patienten mit autopsiegesicherter invasiver pulmonaler Aspergillose eine Spezifität von 100% und eine Sensitivität von 76% [54]. Greene et al. betonen, dass eine IPA der häufigste Grund für den Nachweis des Halozeichens bei Patienten mit einem hohen Risiko für Pilzinfektionen ist. Beginnt man bei diesen Patienten bei Nachweis des Halozeichens die systemische antimykotische Therapie, so kann sein Auftreten als prognostisch günstiges Zeichen gelten. Sie beobachteten, dass Patienten mit einem Halophänomen im CT-Befund ein besseres therapeutisches Ansprechen sowie höhere Überlebensraten zeigten [40].

Da das CT-Halozeichen nur kurzfristig vorhanden ist, sollte das CT möglichst innerhalb der ersten 5 Tage nach der Verdachtsdiagnose durchgeführt werden. Caillot et al. analysierten 71 CT-Aufnahmen von 25 neutropenischen Patienten mit histologisch gesicherter invasiver pulmonaler Aspergillose. Das Halozeichen war dabei an Tag 0 (Tag der Diagnosestellung aufgrund des Nachweises des Halozeichens) bei 100%, an Tag 3 bei 68%, an Tag 7 bei 22% und an Tag 14 bei 19% nachweisbar.  $\frac{3}{4}$  der initialen Halozeichen waren innerhalb einer Woche verschwunden, wobei es in den meisten Fällen schon nach <5 Tagen nicht mehr sichtbar war [18].

Weitere als spezifisch beschriebene Befunde wie Luftsichelzeichen (air crescent) und Kavernenbildung spielen in der Frühdiagnostik keine Rolle, da sie erst nach 2-3 Wochen zum Zeitpunkt restituerter Neutrophilenzahlen mit konsekutiver Abräumreaktion nachzuweisen sind [14]. In der Studie von Caillot et al. war das Luftsichelzeichen an Tag 3 bei 8%, an Tag 7 bei 28% und an Tag 14 bei 63% der durchgeführten CTs nachweisbar. Sie beobachteten des Weiteren unspezifische Zeichen bei 31% an Tag 3, bei 50% an Tag 7 und bei 18% an Tag 14, weshalb sie das CT vor allem in der zweiten Woche des Erkrankungsverlaufs als wenig hilfreich bewerteten. 50% der zwischen Tag 6 und Tag 10 durchgeführten CTs waren unspezifisch und für die Diagnosestellung nicht nutzbar. Hingegen gaben die Autoren eine Spezifität von 100% und eine Sensitivität von 72% an, wenn das CT innerhalb der ersten 2 Wochen durchgeführt wurde [18]. Sowohl das Luftsichelzeichen als auch die Kavernen entwickeln sich vornehmlich aus größeren Läsionen. Die Häufigkeit ihres

Auftretens im Verlauf der invasiven pulmonalen Aspergillose liegen bei 45-50%. Entsprechend ihrer Assoziation mit einer Knochenmarkerholung ist das Auftreten dieser Spätzeichen mit einer günstigeren Prognose korreliert [14]. Caillot et al. analysierten auch das kalkulierte Aspergillusvolumen im CT, wobei das Medianvolumen der Läsionen trotz antimykotischer Behandlung von Tag 0 bis Tag 7 etwa 4-fach anstieg, während es zwischen Tag 7 und Tag 14 stabil blieb [18]. Diese Beobachtung macht deutlich, dass das CT nicht zur kurzfristigen Beurteilung der Effizienz systemischer antimykotischer Therapien in klinischen Studien dienen kann, da eine Auflösung der Aspergillusinfiltrate innerhalb der ersten 2-3 Wochen nicht zu erwarten ist [78].

Das Bild der bronchoinvasiven Aspergillose ist unspezifisch. Es finden sich multifokale konfluierende, meist unscharf berandete fleckige Infiltrate mit peribronchialer Betonung. Nicht selten bietet das CT-Bild primär noduläre Infiltrate von 2-5mm Durchmesser, deren histologisches Korrelat die Bronchiolitis ist. Häufig treten die broncho- und die angioinvasive Form auch nebeneinander auf [14].

Blum et al. untersuchten in einer prospektiven Studie an 38 Patienten mit nodulären Läsionen im Röntgen-Thoraxbild und dem klinischen Verdacht auf invasive pulmonale Aspergillose die diagnostische Genauigkeit von Computertomographie (CT) versus Magnetresonanztomographie (MRT). Für die frühe Diagnose (klinische Zeichen und Symptome <10 Tage) hatte das CT mit dem Nachweis des Halozeichens eine hohe Sensitivität (16/22) und Spezifität (8/8), während das MRT, das zur selben Zeit durchgeführt wurde, eine relativ höhere Sensitivität (22/22), aber eine sehr schlechte Spezifität (0/8) zeigte. Gadolinium-DTPA (Diethylentriaminpentaessigsäure) verstärkte MRT-Bilder verbesserten die Spezifität nicht. Im späteren Erkrankungsverlauf (klinische Zeichen und Symptome >10 Tage) zeigte das MRT auf T1-gewichteten Bildern typische schießscheibenähnliche (target-like) Läsionen mit Gadolinium-DTPA Enhancement im Randgebiet sowie das sogenannte reverse-target-sign auf T2-gewichteten Bildern. Diese Befunde sind zwar stark verdächtig auf eine invasive pulmonale Aspergillose, aber aufgrund der Notwendigkeit einer möglichst frühzeitigen Diagnosestellung im klinischen Alltag wenig hilfreich [10]. Im Gegensatz dazu kamen Leutner et al. zu dem Schluss, dass die MRT-Bildgebung durchaus auch in frühen Stadien der Erkrankung einsetzbar ist. Sie führten bei 16 immunsupprimierten Patienten mit Pneumonienachweis im CT innerhalb der nächsten 2 Tage eine MRT-Untersuchung in T2-Wichtung durch. Den Nachweis des reverse-target-sign definierten sie dabei als

starken Indikator für eine Pilzpneumonie, wobei sie sogar einige dieser Läsionen fanden, die im korrespondierenden CT noch nicht sichtbar waren [69].

Eibel et al. ermittelten für das MRT eine Sensitivität von 95%, eine Spezifität von 88%, einen positiven prädiktiven Wert von 95% und einen negativen prädiktiven Wert von 88%. Für 95% der Patienten mit Auffälligkeiten im CT ergab auch das MRT den Befund einer Pneumonie. Ein falsch-negatives Ergebnis zeigte sich bei einem Knötchen, das sich im CT <1cm darstellte. Als Ursache wurde die verwendete Schichtdicke (CT 1mm; MRT 6mm) benannt. Bei dem falsch-positiven Ergebnis interpretierte man eine kleine milchglasartige Abschwächung, die das Korrelat von Verwischung und eines atmungsbedingten Artefakts war, irrtümlicherweise als eine Pneumonie. Letzteres stellt das große Problem der MRT-Bildgebung dar. Die geringe Protonendensität des normalen Lungengewebes und die Anfälligkeit für Artefakte an den Grenzflächen von lufthaltigem Gewebe und umgebendem Parenchym führen häufig zu Verwischung und Signalverlust. Insgesamt stellt das MRT dennoch gerade für junge Patienten aufgrund der fehlenden Strahlenbelastung eine Alternative dar. Für kleine Knötchen <1cm bleibt aber das CT die sensitivere Methode. Leutner et al. haben in ihrer Arbeit (siehe oben) eine CT-Schichtdicke von 1cm genutzt, was nach Eibel et al. die schlechten Ergebnisse im Vergleich zum MRT erklärt [31]. Sonnet et al. wiesen mit Hilfe einer HR-MDCT-Angiographie direkt die Gefäßbeteiligung einer angioinvasiven pulmonalen Aspergillose bei immunsupprimierten Patienten mit antibiotikaresistentem Fieber unklarer Ursache nach. In 4 von 5 histologisch gesicherten Läsionen mit Angioinvasion wurde der Gefäßverschluss in der CT-Angiographie sichtbar. Die Gefäßinvasion könnte als frühestes Zeichen der Erkrankung noch vor einer sekundären perinodulären Entzündungsreaktion sichtbar werden. Bisher gilt das Halozeichen als sehr früher Indikator für eine wahrscheinliche Aspergillose. Mit der CT-Angiographie konnten in 3 von 5 histologisch gesicherten Läsionen einer angioinvasiven Pilzinfektion die Gefäßverschlüsse in Abwesenheit des CT-Halophänomens nachgewiesen werden [120].

In der klinischen Praxis wird derzeit weiterhin die HR- oder Mehrzeilen-CT für Risikopatienten mit antibiotikaresistentem Fieber und/oder pulmonalen Infiltraten im Röntgenthorax empfohlen. Ein typisches Halozeichen im CT und ein verdächtiger klinischer Verlauf wie zum Beispiel ein fehlendes Ansprechen auf Breitbandantibiotika und eventuell positive Befunde in sequentiellen *Aspergillus*-Antigen- und/oder

*Aspergillus*-PCR-Nachweisverfahren müssen dabei Grund für eine sofortige Therapieinitiierung mit *Aspergillen*-wirksamen Antimykotika sein [90].

## **2. Aufgabenstellung**

Ziel der vorliegenden Arbeit war primär die Evaluation radiologischer Befunde bei hochgefährdeten Patienten aus der Hämatologie und Onkologie mit klinischem Verdacht auf eine invasive pulmonale Aspergillose.

Da einerseits der Anteil invasiver Pilzinfektionen an Morbidität und Mortalität von Patienten mit hämatologischen Systemerkrankungen deutlich angestiegen ist, aber andererseits der Einsatz von Antimykotika mit zum Teil erheblichem Nebenwirkungsspektrum bei Verdachtsdiagnosen immer wieder kontrovers diskutiert wird, sowie nicht zuletzt die Tatsache, dass aus gesundheitsökonomischer Sicht eine sichere Diagnose vor dem Einsatz teurer Antimykotika gefordert wird, gab es in den letzten Jahren zahlreiche Bemühungen, die die Diagnostik invasiver Pilzinfektionen verbessern sollten.

Die eindeutige Diagnose einer invasiven Pilzinfektion erfordert den kulturellen Nachweis aus normalerweise sterilen Körperflüssigkeiten und/ oder die histologische und kulturelle Sicherung aus Gewebebiopsien oder -resektaten oder (bei *Aspergillus*pneumonie) den typischen radiologischen Befund mit kulturellem Nachweis aus Sekreten des Respirationstraktes [27].

Das Vorliegen dieser Kriterien weist allerdings in den meisten Fällen bereits auf ein Spätstadium mit Dissemination der Pilzinfektion hin, während sich die frühen Stadienvor allem bei immunsupprimierten Patienten- diesem Nachweis häufig entziehen [112].

Da invasive diagnostische Maßnahmen nicht sicher eine klinisch verwertbare Diagnose erbringen und bei Patienten mit hämatologischen Systemerkrankungen häufig Kontraindikationen wie Thrombozytopenie oder ein sehr schlechter Allgemeinzustand vorliegen, ist man zunehmend bemüht, nicht-kulturelle Verfahren in der klinischen Praxis zu etablieren.

Fortschritte in der Entwicklung diagnostischer Methoden ermöglichen zwar eine frühere (Verdachts)-Diagnosestellung, dennoch ist eine Verbesserung der Prognose auch

weiterhin nur durch die empirische antimykotische Therapie bei pneumonischen Infiltraten oder therapierefraktärem Fieber unklarer Genese möglich [89].

Es existiert eine Reihe von diagnostischen Empfehlungen, wobei der Stellenwert der zur Abklärung des Verdachts auf eine invasive pulmonale Aspergillose verfügbaren Methoden bis heute noch nicht ausreichend evaluiert ist. Die vorliegende Arbeit vergleicht retrospektiv einige diagnostische Methoden, die bei Risikopatienten aus dem hämatologisch-onkologischen Bereich bei klinischem Verdacht auf eine invasive pulmonale Aspergillose zum Einsatz kamen. Der klinische Verdacht definierte sich dabei vor allem durch therapieresistentes Fieber oder erneute Fieberschübe nach anfänglicher Entfieberung unter Antibiotika sowie durch teilweise vorhandene unspezifische pulmonale Symptome wie z.B. Husten, Brustschmerz, Pleurareiben, Hämoptysen oder Dyspnoe. Schwerpunkt war die Evaluation bildgebender Verfahren, insbesondere der Computertomographie, während Befunde anderer Untersuchungen ggf. zur vergleichenden Korrelation herangezogen wurden. Im Mittelpunkt der Auswertung standen dabei die diagnostische Ausbeute und vor allem der Nutzen im Hinblick auf die therapeutischen Konsequenzen. Des Weiteren sollte der Frage nach einer eventuellen für Aspergillose pathognomischen CT- Morphologie eine besondere Bedeutung zukommen.

## 3. Material und Methoden

### 3.1. Patientenkollektiv

Die retrospektive Datenanalyse stützte sich auf 58 hämatologisch-onkologische Patienten, wobei insgesamt 67 Episoden mit klinischem Verdacht auf eine invasive pulmonale Aspergillose berücksichtigt wurden. Für 26 Patienten (27 Episoden), die zwischen 2000 und 2001 in der Charité Berlin betreut wurden, stand bereits eine primäre Datenerfassung zur Verfügung. Die anderen 32 Patienten (40 Episoden) wurden zwischen 2004 und 2006 in der Klinik für Hämatologie und Onkologie des Klinikums „Ernst von Bergmann“ Potsdam behandelt, wobei hier die Patientenakten zur Datenerfassung vorlagen.

Einschlusskriterium dieser Arbeit waren Patienten mit einer hämatologisch-onkologischen Grunderkrankung, bei denen sich im Krankheitsverlauf der klinische Verdacht auf eine invasive pulmonale Aspergillose ergab.

Der klinische Verdacht definierte sich dabei vor allem durch therapieresistentes Fieber oder erneute Fieberschübe nach anfänglicher Entfieberung unter Antibiotika sowie durch teilweise vorhandene unspezifische pulmonale Symptome wie Husten, Hämoptysen, Brustschmerz, Pleurareiben oder Dyspnoe.

Die Erhebung der Daten erfolgte mit Hilfe von Erhebungsbögen einer Medikamentenvergleichsstudie zur Behandlung der invasiven pulmonalen Aspergillose [44], wobei Tag 0 als Beginn der Erfassung durch das Auftreten von Fieber  $>38^{\circ}\text{C}$  oder anderer klinischer Symptome definiert war.

Da eine lange und schwere Neutropenie als bedeutender Risikofaktor für die Entwicklung einer invasiven pulmonalen Aspergillose gilt, wurde dieser paraklinische Parameter in der Datenerhebung berücksichtigt. Definiert wurde die schwere Neutropenie in Anlehnung an die Guidelines der Infectious Diseases Society of America (IDSA) von 2002: Neutrophile Granulozyten  $<500/\mu\text{l}$  (oder  $<1000/\mu\text{l}$  mit einem voraussehbaren Abfall auf  $\leq 500/\mu\text{l}$ ) oder Gesamtleukozyten  $\leq 1000/\mu\text{l}$  [72]. Als Hochrisikopatienten definiert wurden dabei Patienten mit einer langen Neutropeniedauer von  $>10$  Tagen. Patienten mit einem sogenannten Standardrisiko hatten  $<10$  Tage lang eine schwere Neutropenie. Im betrachteten Patientenkollektiv ließ sich die Neutropeniedauer in insgesamt 6 Fällen nicht genau bestimmen, da diese

Patienten bereits vor Aufnahme in die Klinik neutropenisch waren. Im Ergebnisteil wurden diese fraglichen Fälle der Patientengruppe mit Neutropeniedauer >10Tage zugeordnet.

Patienten, die ein Ansprechen auf empirische Antibiotikatherapie zeigten, wurden nicht berücksichtigt, da hier auch ohne Erregernachweis die Diagnose einer bakteriellen Pneumonie als gesichert galt.

## 3.2. Diagnostik

### 3.2.1. Bildgebende Verfahren

Im Rahmen der Fokussuche erhielten die meisten Patienten zunächst eine konventionelle Röntgenaufnahme des Thorax, die allerdings bei negativem wie positivem Nachweis pulmonaler Infiltrate in fast allen Fällen durch eine Computertomographie ergänzt wurde.

Die Beurteilung der CT-Befunde erfolgte mit Hilfe eines radiologischen Auswertungsbogens einer Medikamentenvergleichsstudie zur Behandlung der invasiven pulmonalen Aspergillose [40].

Ergebnis der Auswertung war dabei die Einschätzung der Wahrscheinlichkeit einer vorliegenden invasiven pulmonalen Aspergillose, wobei die Kategorien 'wahrscheinlich', 'möglich' und 'unwahrscheinlich' zur Verfügung standen. **(Tabelle 2)**

**Tabelle 2: Bewertungskriterien zur Ermittlung der Wahrscheinlichkeit einer vorliegenden invasiven pulmonalen Aspergillose**

<p><b>Hoch verdächtig auf eine Aspergillose:</b></p> <p>Knötchen / vermuteter Infarkt + Halozeichen oder Luftsichelzeichen im Knötchen / vermuteter Infarkt</p> <p><b>IPA wahrscheinlich</b></p>	<p><b>Verdächtig oder vereinbar mit einer Aspergillose:</b></p> <p>Konsolidierung anderer Art wie zuvor beschrieben, z.B. Knötchen (ohne Halo), Höhle (ohne air-crescent), Infarkt, unspezifische Verdichtungen</p> <p><b>IPA möglich</b></p>	<p><b>Nicht verdächtig oder nicht vereinbar mit einer Aspergillose:</b></p> <p>Diffuse milchglasartige Verdichtungen, diffuse retikulär-noduläre Verdichtungen, negative Befunde</p> <p><b>IPA unwahrscheinlich</b></p>
--	---	---

Die erhobenen Befunde wurden in zeitlicher Abfolge dargestellt und zusammenfassend mit den vorliegenden Ergebnissen weiterer Untersuchungsmethoden verglichen.

### 3.2.2. Endoskopische Verfahren

Um den klinischen Verdacht einer invasiven pulmonalen Aspergillose diagnostisch möglichst zu sichern, wurde bei einigen Patienten eine Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage durchgeführt. Die Auswertung des Untersuchungsmaterials erfolgte mittels Mikroskopie, Erregeranzucht sowie PCR und AG-Nachweisverfahren (Galactomannan-EIA).

Die ätiologische Relevanz nachgewiesener Erreger wurde in Anlehnung an die AGIHO-Leitlinien eingestuft [91]. **(Tabelle 3)**

Auf Erläuterungen zu den einzelnen Tests soll hier verzichtet werden, da der Schwerpunkt dieser Arbeit auf der bildgebenden Diagnostik liegt. Dennoch wurden die vorliegenden Untersuchungsbefunde im Hinblick auf ihre diagnostische Wertigkeit berücksichtigt.

**Tabelle 3: Ätiologische Signifikanz nachgewiesener Erreger bei neutropenischen Patienten mit Lungeninfiltraten**

Erreger mit ätiologischer Relevanz:	Erreger ohne Signifikanz bei Lungeninfiltraten:
<ul style="list-style-type: none"><li>- <i>Pneumocystis jiroveci</i>, gram-negative Aerobier, <i>Pneumokokken</i>, <i>Mycobacterium tuberculosis</i>, <i>Aspergillus</i> spp., <i>Cytomegalie-Virus</i> in BAL oder Sputumproben</li><li>- <i>Pneumokokken</i>, <math>\alpha</math>- hämolysierende <i>Streptokokken</i>, gram-negative Aerobier in Blutkulturen</li><li>- Jeglicher Keimnachweis in Biopsiematerial</li><li>- <i>Legionellen</i>- Antigen im Urin</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- <i>Enterokokken</i> in Blutkulturen, Abstrichen, Sputumproben, BAL</li><li>- Koagulase-negative <i>Staphylokokken</i>, <i>Corynebacterium</i> spp. aus jedwedem Material</li><li>- <i>Candida</i>-Spezies in Abstrichen, Speichel, Sputumproben</li></ul> <p>Diese Erreger können für anderweitige Infektionen dennoch eine kausale pathogene Relevanz haben.</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Bei anderen Erregern, wie z.B. <i>Staphylococcus aureus</i> oder <i>Legionellen</i> in Sekreten des Respirationstraktes sollte die ätiologische Bedeutung, ggf. in Zusammenarbeit mit der Mikrobiologie kritisch beurteilt werden.</li></ul>

### 3.2.3. Bioptische Verfahren

In nur wenigen Fällen lagen Befunde nach transbronchialer bzw. offener Lungenbiopsie vor. Im Rahmen der Frage nach dem diagnostischen Nutzen wurden die Ergebnisse dennoch berücksichtigt.



### **3.2.4. Serologische und molekularbiologische Verfahren in Blutproben**

Als weitere diagnostische Methode nutzte man teilweise die Möglichkeit des Nachweises von zirkulierenden Antigenen im Serum.

Anwendung fanden dabei die kommerziell verfügbaren Testkits Pastorex<sup>®</sup> (Latex-Agglutinationstest) und Platelia<sup>®</sup> (Galactomannan-AG-Nachweis) entsprechend den Herstellervorgaben.

Des Weiteren lagen einige Befunde von verschiedenen PCR-Methoden vor, die entweder dem Nachweis von Pilz-DNA oder dem spezifischeren Nachweis von *Aspergillus*-Spezies- oder *Aspergillus fumigatus*-DNA dienten.

Auf nähere Testerläuterungen soll auch hier verzichtet werden.

### **3.3. Therapie und therapeutisches Ansprechen**

Im Rahmen dieser Arbeit wurden antibiotische sowie antimykotische Therapien in den Episoden mit klinischem Verdacht auf eine Infektion dokumentiert. Beurteilt wurde dabei nur das therapeutische Ansprechen, welches über den Rückgang der klinischen Symptomatik definiert wurde.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Patientenkollektiv

Die definierten Einschlusskriterien wurden von insgesamt 38 männlichen und 20 weiblichen Patienten im Alter zwischen 27 und 78 Jahren (Mittelwert 54,5 Jahre; Median 57 Jahre) erfüllt. Zugrunde liegende Erkrankungen waren akute myeloische Leukämie, AML (50 Patienten), akute lymphatische Leukämie, ALL (1 Patient), Non-Hodgkin-Lymphom, NHL (6 Patienten) sowie myelodysplastisches Syndrom, MDS (1 Patient).

Die Patientencharakteristika sind zusammenfassend in **Tabelle 4** dargestellt.

**Tabelle 4: Patientencharakteristika**

---

<b>Geschlecht:</b>	<b>Männlich:</b>	<b>Weiblich:</b>
	<b>38</b>	<b>20</b>
<b>Zugrunde liegende Erkrankung:</b>		
- AML	28	14
- AML nach MDS	5	3
- MDS	1	0
- ALL	0	1
- Niedrig malignes NHL	2	2
- Hoch malignes NHL	2	0
<b>Alter bei Erstdiagnose:</b>	27-78 Jahre	31-71 Jahre

---

Bei 9 Patienten wurden 2 Episoden des Verdachts auf eine Pilzpneumonie berücksichtigt, wobei die Zeit zwischen erster und zweiter Episode 5-252 Tage (Mittelwert 81,4 Tage; Median 52 Tage) betrug.

## 4.2. Klinik

Ausgewertet wurden die Daten von 58 hämatologisch-onkologischen Patienten, bei denen sich insgesamt 67 Mal der klinische Verdacht auf eine invasive pulmonale Aspergillose ergab.

Zu diesem Zeitpunkt erhielten die Patienten in 51 Fällen eine myelosuppressive Chemotherapie. Ein Patient erhielt während 2 klinischer Episoden lediglich eine Substitutionstherapie (Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentrate) bei MDS. In 14 weiteren Fällen bestand die klinische Symptomatik bereits vor therapeutischen Maßnahmen im Rahmen der Grunderkrankung.

In 40 Fällen bestand eine schwere therapieinduzierte Neutropenie an Tag 0, während sie in 16 Fällen erst später auftrat. In 9 Fällen waren die Patienten bereits vor Therapiebeginn (5) bzw. ohne myelosuppressive Therapie (4) neutropenisch. Bei 1 Patienten (2 Episoden) befanden sich die neutrophilen Granulozyten im Normbereich. In 17 Fällen begann die klinische Symptomatik bereits bevor die Patienten neutropenisch wurden, während sie bei 48 Patienten erst in der Phase der Neutropenie auftrat. Der klinische Verdacht auf eine invasive pulmonale Aspergillose ergab sich bei 21 Hochrisikopatienten, die >10 Tage lang Neutrophilenzahlen <500/ $\mu$ l hatten, sowie 27 Patienten mit dem sogenannten Standardrisiko, welches durch eine schwere Neutropenie <10 Tage definiert wird.

Die wichtigsten Daten zum Kriterium der Neutropenie als ein bedeutender Risikofaktor für die Entwicklung einer invasiven pulmonalen Aspergillose sind in der **Tabelle 5** aufgelistet.

**Tabelle 5: Neutropenedauer bis zum Tag 0**

Schwere Neutropenie >10 Tage	31,3 %
Schwere Neutropenie <10 Tage	40,3 %
Schwere Neutropenie nach Tag 0	25,4 %
Keine schwere Neutropenie	3,0 %

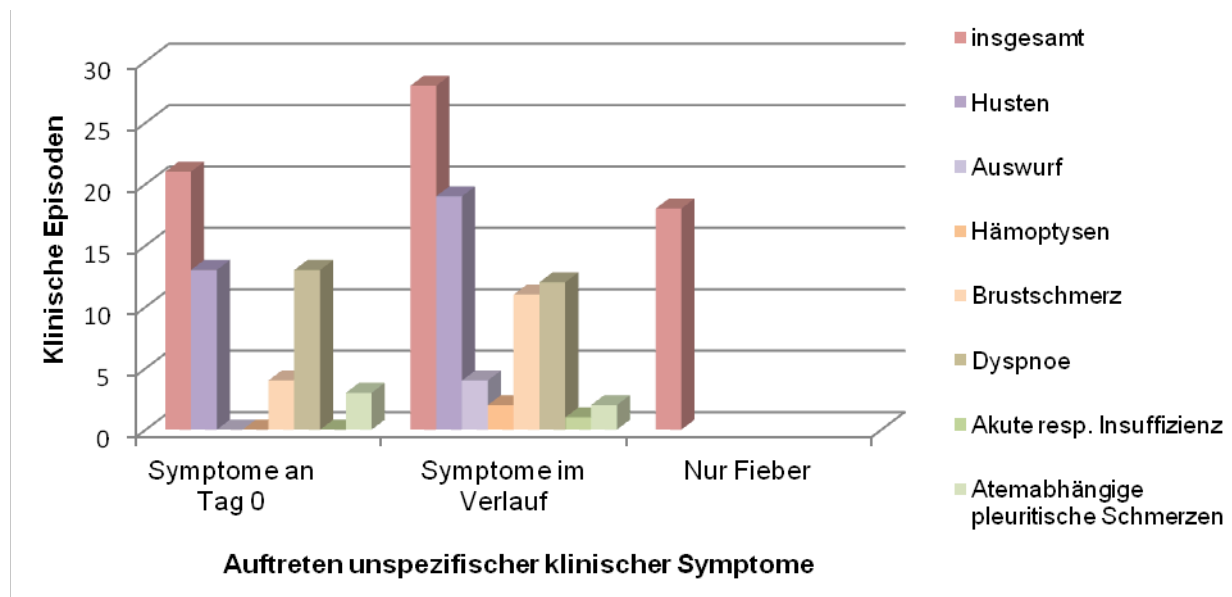
Das Bild der klinischen Symptomatik zeigte sich unspezifisch. Lediglich Fieber >38°C lag an Tag 0 bei allen Patienten vor. Weitere Symptome, wie Husten (in 13 Fällen), Dyspnoe (in 13 Fällen), Brustschmerz (in 4 Fällen) sowie atemabhängige, pleuritische Schmerzen (in 3 Fällen), waren bei insgesamt 19 Patienten (21 Episoden) bereits an Tag 0 vorhanden.

Bei 17 Patienten (18 Episoden) wurden keine weiteren Symptome dokumentiert, während sie bei 22 Patienten (28 Episoden) erst im Verlauf auftraten. Hier fanden sich Husten (in 19 Fällen mit Beginn zwischen Tag 2 und 21), Dyspnoe (in 12 Fällen mit Beginn zwischen Tag 3 und 16), Brustschmerz (in 11 Fällen mit Beginn zwischen Tag 3 und 21), atemabhängige, pleuritische Schmerzen (in 2 Fällen mit Beginn an Tag 8), Auswurf (in 4 Fällen mit Beginn zwischen Tag 5 und 13), Hämoptysen (in 2 Fällen mit Beginn an Tag 5) sowie eine akute schwere respiratorische Insuffizienz mit intermittierender invasiver Beatmung (in 1 Fall mit Beginn an Tag 15).

Die klinische Symptomatik im Krankheitsverlauf der Patienten ist in **Tabelle 6/Abbildung 2** darstellt.

**Tabelle 6: Klinische Symptomatik im Verlauf**

Symptom	Vorhanden bei X % der Fälle	Auftreten an
Fieber	100 %	Tag 0
Husten	47,8 %	Tag 0- Tag 21
Auswurf	6,0 %	Tag 5- Tag 13
Hämoptysen	3,0 %	Tag 5
Brustschmerz	22,4 %	Tag 0- Tag 21
Atemabhängige pleuritische Schmerzen	7,5 %	Tag 0- Tag 8
Dyspnoe	37,3 %	Tag 0- Tag 16
Akute respiratorische Insuffizienz	1,5 %	Tag 15



**Abbildung 2: Vorhandensein unspezifischer klinischer Symptome an Tag 0 bzw. im weiteren Krankheitsverlauf**

## 4.3. Diagnostik

### 4.3.1. Bildgebende Verfahren

#### 4.3.1.1. Röntgenuntersuchung des Thorax

Im Rahmen der Fokussuche erhielten die meisten Patienten (n=55) zunächst eine konventionelle Röntgenuntersuchung des Thorax. Diese wurde an Tag 0 bis Tag 3 (Mittelwert Tag 0,7; Median Tag 1) durchgeführt und ergab in 17 Fällen auffällige Befunde, wobei in nur 2 Fällen der Verdacht auf eine Pilzpneumonie geäußert wurde. Die anderen Befunde waren unspezifisch, ohne dass sich differentialdiagnostisch eine Pilzpneumonie ausschließen ließ.

In 12 Fällen erfolgte daraufhin innerhalb der nächsten 3 Tage eine zusätzliche CT-Untersuchung, wobei diese in 1 Fall einen negativen Befund ergab, der jedoch im Verlauf positiv wurde, während die anderen CT-Untersuchungen bereits initial auffällig waren. In 4 weiteren Fällen erfolgte zu einem späteren Zeitpunkt (7-11 Tage nach dem pathologischen Röntgenbefund von Tag 0 bzw. 1) eine Computertomographie, die in

allen Fällen einen positiven Befund erbrachte. 1 initial positiver Röntgenbefund mit fraglichen pulmonalen Infiltraten ergab 4 Tage später sowie im weiteren Verlauf negative Röntgenbefunde, wobei jedoch 1 durchgeführte CT-Untersuchung ein positives Ergebnis zeigte. 1 Patient erhielt keine zusätzliche CT-Untersuchung.

38 Röntgenaufnahmen waren initial negativ, wobei sich in 28 Fällen im weiteren Verlauf zwischen Tag 3 und Tag 26 (Mittelwert Tag 13,5; Median Tag 11) bei insgesamt 45 durchgeführten Untersuchungen zwischen Tag 1 und Tag 27 (Mittelwert Tag 12; Median Tag 11) ein positiver Befund ergab. Bei 18 dieser im Verlauf positiv gewordenen Befunde folgte daraufhin eine Computertomographie, die in allen Fällen ebenfalls positiv ausfiel. In 9 Fällen fand eine CT-Untersuchung trotz unauffälligem Röntgenbefund statt. Dabei fand die Untersuchung 3-mal am selben Tag, 1-mal am nächsten Tag, 3-mal 2 Tage später und je 1-mal 5 bzw. 12 Tage später statt. In allen Fällen zeigten sich mit der CT pathologische Auffälligkeiten, wobei sich aufgrund der Durchführung beider diagnostischen Methoden innerhalb von 24h in 4 Fällen hier die Aussage treffen lässt, dass die CT eine höhere diagnostische Ausbeute erbracht hat. 1 Patient erhielt keine zusätzliche CT-Untersuchung.

In 4 Fällen blieb der Röntgenbefund negativ. Die entsprechenden Patienten erhielten 1, 1, 2 bzw. 3 weitere Untersuchungen zwischen den Tagen 3 und 27 (Mittelwert Tag 11,3; Median Tag 10). Die durchgeführte Computertomographie an Tag 6, 6, 13 bzw. 25 ergab hingegen positive Befunde.

In 6 Fällen wurde keine weitere Röntgenuntersuchung durchgeführt, wobei sich hier jedoch 4-14 Tage (Mittelwert 8,2 Tage; Median 6 Tage) nach dem unauffälligen Röntgenbefund ausnahmslos pathologische CT-Befunde ergaben.

12 Patienten bekamen keine Röntgenuntersuchung, wobei aber in 11 Fällen pathologische CT-Befunde vorlagen. Im Fall des 1 Patienten der weder eine Röntgen- noch eine CT-Untersuchung erhielt, behandelte man bei neutropenischem Fieber und bereits vor Tag 0 beschriebenen pulmonalen Infiltraten mit Verdacht auf eine atypische Pneumonie antibiotisch und antimykotisch mit klinisch dokumentiertem Ansprechen.

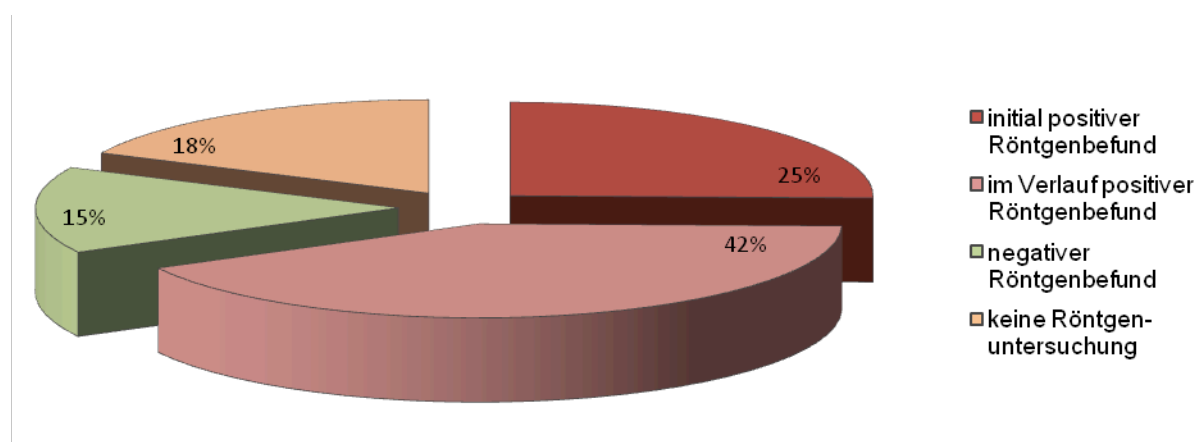
Die diagnostischen Ergebnisse der Röntgenaufnahmen des Thorax sind in **Tabelle 7** und **Abbildung 3** kurz dargestellt. **Tabelle 8** stellt diesen die Ergebnisse einer CT-Untersuchung gegenüber.

**Tabelle 7: Diagnostische Ausbeute der Röntgenaufnahmen des Thorax**

Röntgen Thorax:	Durchführung:	Befund:
1.Untersuchung (n= 55)	Tag 0- Tag 3 (Median Tag 1)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>17 positive Aufnahmen</b> mit differentialdiagnostisch möglicher Aspergillose</li> <li>- 16 Patienten erhielten daraufhin 1 CT- Untersuchung, die in 1Fall negativ ausfiel, im Verlauf aber auffällig wurde, während sich in den anderen Fällen bereits initial positive Befunde ergaben</li> <li>- 1Patient erhielt keine zusätzliche CT- Untersuchung</li> <li>- 38 negative Aufnahmen, wobei sich in 28 Fällen im weiteren Verlauf ein Befundwandel ergab, während weitere Untersuchungen in 4 Fällen negativ blieben; bei 6 Patienten führte man keine weitere Röntgenuntersuchung durch</li> </ul>
2.Untersuchung (n= 46)	Tag 1- Tag 32 (Median Tag 6,5)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>20 positive Befunde</b>, die initial negativ waren; (Befundwandel zw. Tag 1 und 23 (Median Tag 9,5))</li> <li>- 14 Fälle mit Bestätigung des initial positiven Befundes</li> <li>- 12 negative Befunde, wovon 1 zuvor positiv war</li> </ul>
Weitere (n= 108)	Tag 2- Tag 41 (Median Tag 17)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>weitere 8 positive Befunde</b></li> <li>- die Patienten erhielten 1-10 (Median 2,5) weitere Untersuchungen, wobei sich der Befundwandel zwischen Tag 8 und Tag 26 (Median Tag 23) ergab</li> </ul>

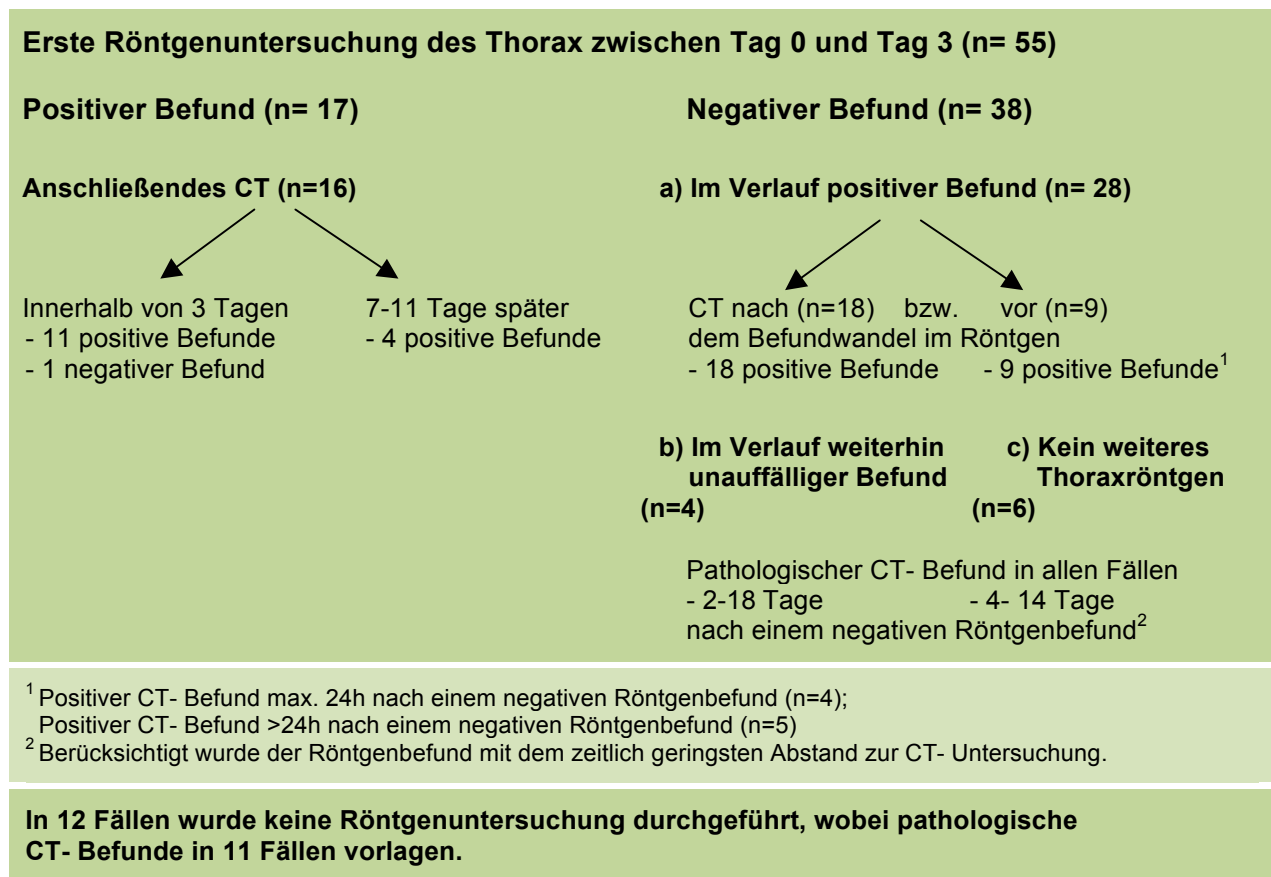
Insgesamt ergaben sich im Verlauf 45 positive Röntgenbefunde, die differentialdiagnostisch eine pulmonale Aspergillose möglich machten.

Von den initial negativen Röntgenbefunden blieben weitere Aufnahmen in 4 Fällen negativ. In 6 Fällen wurden keine weiteren Untersuchungen durchgeführt. Die von diesen 10 Patienten vorliegenden CT- Befunde zeigten hingegen in allen Fällen pathologische Veränderungen.



**Abbildung 3: Diagnostische Ergebnisse der Röntgenuntersuchung des Thorax**

**Tabelle 8: Gegenüberstellung Röntgen versus CT- Befund**

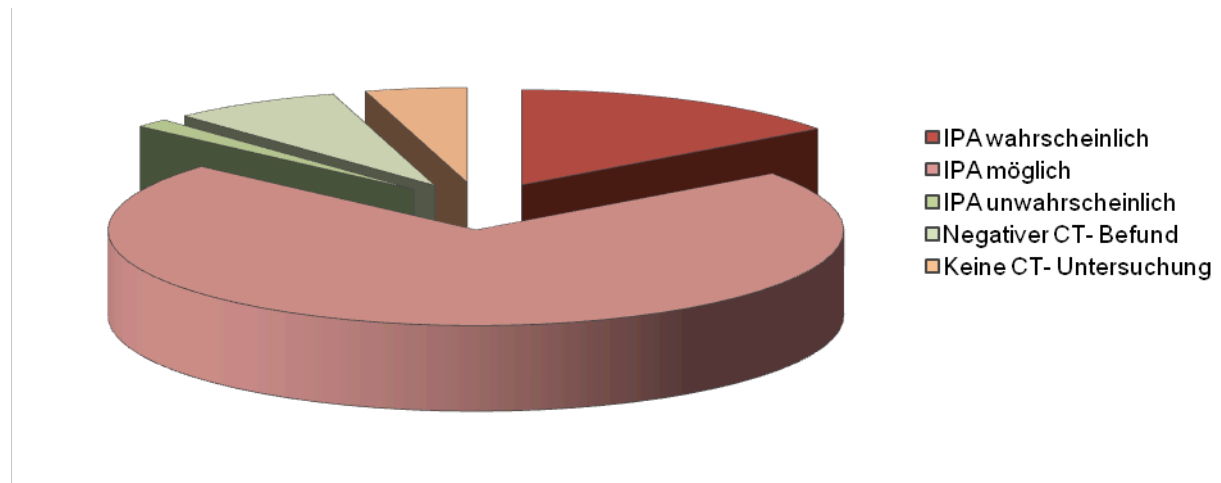




#### 4.3.1.2. Computertomographische Untersuchung des Thorax

Die erste CT-Untersuchung fand zwischen Tag 0 und Tag 25 (Mittelwert Tag 7,3; Median Tag 7) statt und ergab in 10 Fällen verdächtige Befunde, die eine Aspergillose wahrscheinlich machten. 48 Befunde wurden nach differentialdiagnostischen Überlegungen in die Kategorie einer möglichen Aspergillusinfektion eingestuft, während in 6 Fällen eine Aspergillose unwahrscheinlich erschien. Der Befund, der zur Einstufung in letztere Kategorie führte, war 5-mal negativ sowie 1-mal zu unspezifisch, im Sinne einer diffusen interstitiellen Zeichnungsvermehrung. 3 Patienten erhielten keine CT-Untersuchung.

**Abbildung 4** verdeutlicht die Ergebnisse der 1. CT- Untersuchung.



**Abbildung 4: Diagnostische Ergebnisse der 1. CT- Untersuchung**

**Tabelle 9: Zusammenfassende Darstellung der Befunde der 1. CT- Untersuchung**

<b>Wahrscheinliche IPA (n= 10)</b>	<b>Mögliche IPA (n= 48)</b>	<b>Keine IPA (n= 6)</b>
-Die Befunde <sup>1</sup> , die zur Einstufung in diese Kategorie führten, sind im Anschluss dargestellt.	-Die Befunde ergaben fleckförmige, noduläre, flauere wie kompakte, peripher und gefäßnah gelegene, atypische Infiltrate, milchglasartige Verdichtungen, Obstruktionen mit Zeichen der Minderbelüftung u.a.	-5 unauffällige CT-Befunde -1 interstitielle Zeichnungsvermehrung i.S. einer Lungenstauung

**<sup>1</sup>CT- Befunde, die das Bild einer wahrscheinlichen IPA ergaben:**

- neue, multiple, angedeutet sternchenförmige Herde mit einem Durchmesser von 5-8mm und milchglasartigem Randsaum
- intrapulmonaler ~1cm großer rundlicher Verdichtungsherd mit zarten, streifigen Ausläufern ins umgebende Lungengewebe und haloähnlichem Phänomen
- mehrortig verschieden große und dichte Infiltrate in beiden Lungenflügeln, aufgrund von Verteilung und Konfiguration der Herde ist eine Aspergillose als sehr wahrscheinlich anzusehen
- multiple intrapulmonale, bizarr konfigurierte Herde in allen Lungensegmenten bis zu einem Durchmesser von 2,5cm, zum Teil von einer milchglasartigen Trübung umgeben
- Nachweis eines kompakten Lungeninfiltrates im apikalen UL links, der dorsalen Pleura angrenzend; peripher haloähnliches Phänomen des angrenzenden Lungengewebes
- flauere Rundherde mit Halozeichen im posterioren OL- Segment beidseits
- multiple kleine, zum Teil rundliche Infiltrate mit Halozeichen in beiden Lungen
- noduläre Veränderungen, max. Durchmesser 1cm mit streifigen Ausziehungen und Halozeichen in beiden Lungenflügeln
- Herd ~3,5cm mit streifigen Ausziehungen und milchglasartigem Struktursaum perifokal im OL-Segment links
- 3 rundlich konfigurierte, gefäßnah gelegene, flauere Infiltrate mit unscharfer Begrenzung zum umgebenden Lungenparenchym im ML und UL links

Unter der Annahme, dass alle Patienten tatsächlich eine invasive pulmonale Aspergillose hatten, ergibt sich für die 64 Episoden des klinischen Verdachts, in denen man eine CT-Untersuchung durchführte, eine Sensitivität von 15,6% für die CT-Befunde mit wahrscheinlicher IPA. Die Sensitivität beträgt 90,6%, wenn man alle Auffälligkeiten im CT, bei denen sich eine IPA nicht ausschließen lässt, betrachtet.

#### 4.3.1.3. Diagnostische Ergebnisse einer 2. CT-Untersuchung

In insgesamt 51 Fällen führte man eine zweite Computertomographie zwischen Tag 9 und Tag 64 (Mittelwert Tag 24,3; Median Tag 21) durch. Ein Befundwandel im Sinne des verwendeten Beurteilungsbogens ergab sich in 8 Fällen, wobei eine zuvor mögliche pulmonale Aspergillose nach der zweiten CT-Untersuchung 6-31 Tage (Mittelwert 15,4 Tage; Median 14 Tage) später zwischen Tag 12 und Tag 36 (Mittelwert Tag 23,3; Median Tag 22,5) als sehr wahrscheinlich eingestuft wurde.

In 29 Fällen blieb eine pulmonale Aspergillose differentialdiagnostisch möglich. Untersuchungen zwischen Tag 9 und Tag 38 (Mittelwert Tag 18,5; Median Tag 18,5) bzw. 8-22 Tage (Mittelwert 11,4 Tage; Median 9,5 Tage) nach der 1. Untersuchung zeigten dabei in 10 Fällen eine Befundprogression, während Untersuchungen, die 5-52 Tage (Mittelwert 24,4 Tage; Median 24 Tage) später zwischen Tag 13 und Tag 64 (Mittelwert Tag 30,9; Median Tag 27) durchgeführt wurden, in 11 Fällen eine Regredienz des Befundes zeigten. Die übrigen CT-Aufnahmen zeigten eine weitgehende Befundkonstanz, wobei die Untersuchungen hier 9-39 Tage (Mittelwert 17 Tage; Median 15 Tage) nach der 1. Untersuchung zwischen Tag 16 und Tag 43 (Mittelwert Tag 24,3; Median Tag 20,5) stattfanden.

CT-Aufnahmen, die bereits zuvor sehr verdächtig auf eine pulmonale Aspergillose waren, zeigten bei der Verlaufskontrolle 5-15 Tage (Mittelwert 10,8 Tage; Median 11,5 Tage) später zwischen Tag 15 und Tag 26 (Mittelwert Tag 20; Median Tag 19,5) in 4 Fällen einen Befundprogress, während eine Untersuchung 27-47 Tage (Mittelwert 35,5 Tage; Median 34 Tage) später zwischen Tag 34 und Tag 50 (Mittelwert Tag 41,5; Median Tag 41) in 4 Fällen einen rückläufigen Befund ergab.

Initial negative CT-Befunde wurden nach einer weiteren Untersuchung 6-17 Tage (Mittelwert 11,7 Tage; Median 12 Tage) später zwischen Tag 9 und Tag 25 (Mittelwert Tag 15,7; Median Tag 13) in 3 Fällen positiv, wobei eine pulmonale Aspergillose jetzt differentialdiagnostisch möglich erschien. Der initial unspezifische Befund einer interstitiellen Zeichnungsvermehrung im Sinne einer Lungenstauung, ergab nach einer weiteren Untersuchung 6 Tage später an Tag 17 ebenfalls eine mögliche pulmonale Aspergillose. 2 Befunde blieben nach einer CT-Kontrolle 9 bzw. 11 Tage später an Tag 11 bzw. 13 zunächst negativ. **Tabelle 10** zeigt die Ergebnisse der 2. CT-Untersuchung zusammenfassend.

**Tabelle 10: Diagnostische Ergebnisse der 2. CT-Untersuchung, n=51**

<b>Durchführung:</b> Tag 9-Tag 64 (Median Tag 21)	<b>Befunde:</b> <b>1. Pulmonale Aspergillose wahrscheinlich, n=16</b> <ul style="list-style-type: none"><li>- 8 Fälle mit initial möglicher IPA (Befundwandel Tag 12-Tag 36; Median Tag 22,5)</li><li>- 8 Fälle mit bereits initial wahrscheinlicher IPA<ul style="list-style-type: none"><li>- 4 Mal Befundprogression (Durchführung 2.CT: Tag 15-Tag 26; Median Tag 19,5)</li><li>- 4 Mal Befundregression (Durchführung 2.CT: Tag 34-Tag 50; Median Tag 41)</li></ul></li></ul> <p>In 2 Fällen, in denen eine wahrscheinliche pulmonale Aspergillose nach der 1. CT-Untersuchung diagnostiziert wurde, erhielten die Patienten keine Verlaufskontrolle.</p> <b>2. Pulmonale Aspergillose möglich, n=33</b> <ul style="list-style-type: none"><li>- 3 Fälle mit initial negativem CT-Befund (Befundwandel Tag 9-Tag 25; Median Tag 13)</li><li>- 1 Fall mit initial unspezifischer interstitieller Zeichnungsvermehrung i.S. einer Lungenstauung (Befundwandel Tag 17)</li><li>- 29 Fälle mit bereits initial möglicher IPA<ul style="list-style-type: none"><li>- 10 Mal Befundprogression (Durchführung 2.CT: Tag 9-Tag 38; Median Tag 18,5)</li><li>- 8 Mal Befundkonstanz (Durchführung 2.CT: Tag 16-Tag 43; Median Tag 20,5)</li><li>- 11 Mal Befundregression (Durchführung 2.CT: Tag 13-Tag 64; Median Tag 27)</li></ul></li></ul> <p>In 11 Fällen, in denen der 1.CT-Befund differentialdiagnostisch eine pulmonale Aspergillose ergab, wurde keine weitere CT-Untersuchung durchgeführt.</p> <b>3. Pulmonale Aspergillose unwahrscheinlich, n=2</b> <ul style="list-style-type: none"><li>- 2 initial negative Befunde, die sich bei einer weiteren Untersuchung an Tag 11 bzw. 13 bestätigten</li></ul>
---	--

#### 4.3.1.4. CT- Befunde einer 3. Untersuchung

In 27 Fällen erhielten die Patienten eine weitere CT-Untersuchung zwischen Tag 10 und Tag 71 (Mittelwert Tag 38,4; Median Tag 39).

Ein Befundwandel ergab sich dabei in 4 Fällen, wobei 2 zuvor zweimalig negative CT-Befunde jetzt als mögliche (Tag 31) bzw. als wahrscheinliche (Tag 23) pulmonale Aspergillose eingestuft wurden. In den 2 anderen Fällen schien eine pulmonale Aspergillose zuvor differentialdiagnostisch möglich, während der Befund einer weiteren Verlaufskontrolle 9 bzw. 15 Tage nach ersten Auffälligkeiten im CT an Tag 10 bzw. 18 die Kriterien einer wahrscheinlichen pulmonalen Aspergillose erfüllte.

In 11 Fällen blieb eine pulmonale Aspergillose weiterhin differentialdiagnostisch möglich, wobei 2 Untersuchungen 21 bzw. 32 Tage nach ersten Auffälligkeiten im CT an Tag 29 bzw. 37 einen Befundprogress ergaben. In 1 Fall ergab die Computertomographie 20 Tage nach dem ersten pathologischen CT an Tag 26 einen unveränderten Befund und in 8 Fällen zeigte sich der Befund 21-40 Tage (Mittelwert 31,8 Tage; Median 34,5 Tage) nach ersten Auffälligkeiten im CT zwischen Tag 32 und Tag 54 (Mittelwert 41,9 Tage; Median Tag 42) regredient.

In 12 Fällen schien eine pulmonale Aspergillose weiterhin sehr wahrscheinlich. 1 CT-Befund 25 Tage nach ersten Auffälligkeiten an Tag 25 ergab dabei eine Befundprogression, während sich in 3 Fällen 14-27 Tage (Mittelwert 21,7 Tage; Median 24 Tage) nach dem ersten pathologischen CT zwischen Tag 20 und Tag 40 (Mittelwert Tag 32,3; Median Tag 37) eine Befundkonstanz zeigte. 8 CT-Untersuchungen 32-57 Tage (Mittelwert 41 Tage; Median 38,5 Tage) nach ersten Auffälligkeiten zwischen Tag 41 und Tag 71 (Mittelwert Tag 49,5; Median Tag 47,5) ergaben tendenziell rückläufige Befunde. Die **Tabelle 11** fasst die Ergebnisse der 3. CT-Untersuchung zusammen.

**Tabelle 11: Diagnostische Ergebnisse der 3. CT- Untersuchung, n=30**

<b>Durchführung:</b> Tag 10-Tag 71 (Median Tag 39,5)	<b>Befund:</b> <b>1. Pulmonale Aspergillose wahrscheinlich, n=14</b> <ul style="list-style-type: none"><li>- 1 Fall mit zuvor zweimalig negativem CT-Befund (Durchführung 3.CT: Tag 23)</li><li>- 2 Fälle mit zuvor möglicher IPA (Durchführung 3.CT: Tag 10 bzw. 18)</li><li>- 11 Fälle, in denen eine IPA weiterhin wahrscheinlich schien<ul style="list-style-type: none"><li>- 1 Mal Befundprogression (Durchführung 3.CT: Tag 25)</li><li>- 2 Mal Befundkonstanz (Durchführung 3.CT: Tag 20 bzw. 40)</li><li>- 8 Mal Befundregression (Durchführung 3.CT: Tag 41-Tag 71; Median Tag 47,5)</li></ul></li></ul> <b>2. Pulmonale Aspergillose möglich, n=16</b> <ul style="list-style-type: none"><li>- 1 Fall mit zuvor zweimalig negativem CT-Befund (Durchführung 3.CT: Tag 31)</li><li>- 15 Fälle mit zuvor bereits möglicher IPA möglich<ul style="list-style-type: none"><li>- 2 Mal Befundprogression (Durchführung 3.CT: Tag 29 bzw. 37)</li><li>- 3 Mal Befundkonstanz (Durchführung 3.CT: Tag 26-Tag 49; Median Tag 37)</li><li>- 10 Mal Befundregression (Durchführung 3.CT: Tag 32-Tag 54; Median Tag 42)</li></ul></li></ul> <b>3. Pulmonale Aspergillose unwahrscheinlich, n=0</b> <p>Alle Befunde, die eine pulmonale Aspergillose zuvor unwahrscheinlich machten, änderten sich im weiteren Verlauf derart, dass eine mögliche IPA differentialdiagnostisch nicht mehr ausgeschlossen werden konnte.</p>
--	---

#### **4.3.1.5. Diagnostische Ergebnisse weiterer CT- Verlaufskontrollen**

In 7 Fällen führte man eine weitere Verlaufskontrolle zwischen Tag 34 und Tag 52 (Mittelwert Tag 45; Median Tag 47) durch.

2 Fälle einer möglichen pulmonalen Aspergillose zeigten 37 bzw. 47 Tage nach ersten Auffälligkeiten im CT an Tag 45 bzw. 52 regrediente Befunde. In 1 Fall zeigte sich 16 Tage nach dem ersten pathologischen CT im Sinne einer möglichen Aspergillose an Tag 47 ein unveränderter Befund. Eine 5.Verlaufskontrolle 42 Tage nach den ersten Auffälligkeiten an Tag 73 ergab bei diesem Patienten dann einen tendenziell rückläufigen Befund.

Eine 4. CT-Untersuchung erhielten des Weiteren 4 Patienten, bei denen eine pulmonale Aspergillose als wahrscheinlich eingestuft wurde. In 2 Fällen ergab eine

Computertomographie 28 bzw. 33 Tage nach dem ersten pathologischen CT an Tag 34 bzw. 49 dabei regrediente Befunde, während sich in 1 Fall 41 Tage nach den ersten Auffälligkeiten an Tag 41 noch ein progredienter Befund zeigte. Letzterer Patient erhielt eine 5. Verlaufskontrolle an Tag 55, die eine Befundbesserung ergab. In 1 Fall zeigte sich der Befund 24 Tage nach den ersten Auffälligkeiten im CT an Tag 47 konstant zur Voraufnahme. Ein weiteres Untersuchungsergebnis lag von diesem Patienten nicht vor. **Tabelle 12** stellt die Ergebnisse zusammenfassend dar.

**Tabelle 12: Diagnostische Ergebnisse weiterer CT- Untersuchungen**

<p><b>4. CT (n=7)</b>  <b>Durchführung:</b>            Tag 34-Tag 52            (Median Tag 47)</p>	<p><b>Befund:</b></p> <p><b>1. Pulmonale Aspergillose wahrscheinlich, n=4</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 Mal Befundprogression (Durchführung 4.CT: Tag 41)</li> <li>- 1 Mal Befundkonstanz (Durchführung 4.CT: Tag 47)</li> <li>- 2 Mal Befundregression (Durchführung 4.CT: Tag 34 bzw. Tag 49)</li> </ul> <p><b>2. Pulmonale Aspergillose möglich, n=3</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 Mal Befundkonstanz (Durchführung 4.CT: Tag 47)</li> <li>- 2 Mal Befundregression (Durchführung 4.CT: Tag 45 bzw. 52)</li> </ul>
<p><b>5. CT (n=2)</b>  <b>Durchführung:</b>            Tag 55 bzw. 73</p>	<p><b>Befund:</b></p> <p><b>1. Pulmonale Aspergillose wahrscheinlich, n=1</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- während die CT-Untersuchung an Tag 41 noch eine Progression des Befundes ergab, stellte er sich an Tag 55 tendenziell rückläufig dar</li> </ul> <p><b>2. Pulmonale Aspergillose möglich, n=1</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- der Befund, der sich an Tag 47 noch konstant zur Voruntersuchung darstellte, zeigte an Tag 73 eine deutlich rückläufige Tendenz</li> </ul>

#### 4.3.1.6. Veränderungen der radiologischen Auffälligkeiten im Verlauf

##### 4.3.1.6.1. Wahrscheinliche pulmonale Aspergillose im 1. CT- Befund

In den 10 Fällen, in denen der CT-Befund bereits initial als wahrscheinliche pulmonale Aspergillose eingestuft wurde, lagen von 8 Patienten weitere Befunde vor, wobei in allen Fällen zum Zeitpunkt der 1.CT-Verlaufskontrolle bereits 5-46 Tage (Median 21 Tage) antimykotisch behandelt wurde. In 4 Fällen führte man nur 1 Verlaufskontrolle

zwischen Tag 34 und Tag 50 (Mittelwert Tag 41,5; Median Tag 41) bzw. 27-47 Tage (Mittelwert 35,5 Tage; Median 34 Tage) nach ersten Auffälligkeiten im CT durch, wobei der initiale Befund bei allen eine rückläufige Tendenz zeigte. 4 Patienten erhielten 2 weitere CT-Untersuchungen, wobei die erste zwischen Tag 15 und Tag 26 (Mittelwert Tag 20; Median Tag 19,5) bzw. 5-15 Tage (Mittelwert 10,8 Tage; Median 11,5 Tage) nach den ersten Auffälligkeiten im CT in allen Fällen einen Befundprogress aufwies, während die zweite zwischen Tag 37 und Tag 71 (Mittelwert Tag 49,3; Median Tag 44,5) bzw. 27-57 Tage (Mittelwert 40 Tage; Median 38 Tage) nach den ersten Auffälligkeiten im CT in 3 Fällen einen regredienten Befund und in 1 Fall eine Befundkonstanz zeigte.

#### 4.3.1.6.2. Wahrscheinliche pulmonale Aspergillose in CT-Verlaufskontrollen

In insgesamt 11 Fällen zeigte sich im Verlauf ein Befundwandel im CT hin zu wahrscheinlicher IPA. In 10 Fällen wurde der erste CT-Befund von Tag 0 bis Tag 16 (Mittelwert Tag 6,3; Median Tag 4) zuvor als differentialdiagnostisch mögliche pulmonale Aspergillose eingestuft, wobei bei 8 dieser Patienten bereits bei der ersten Kontrolluntersuchung 6-31 Tage (Mittelwert 15,6 Tage; Median 14 Tage) später zwischen Tag 12 und Tag 36 (Mittelwert Tag 23,6; Median Tag 22,5) die Kriterien einer wahrscheinlichen pulmonalen Aspergillose erfüllt wurden. 7 Patienten erhielten zu diesem Zeitpunkt bereits seit 5-31 Tagen (Mittelwert 14,1 Tage; Median 12 Tage) eine antimykotische Therapie, während diese in 1 Fall erst aufgrund des Befundwandels im CT initiiert wurde. 5 Patienten erhielten 1 weitere Kontroll-CT zwischen Tag 41 und Tag 56 (Mittelwert Tag 47,2; Median Tag 47) bzw. 32-52 Tage (Mittelwert 39 Tage; Median 35 Tage) nach ersten Auffälligkeiten im CT, die in allen Fällen regrediente Befunde ergab. 2 Patienten bekamen 2 weitere Verlaufskontrollen, wobei die erste an Tag 20 bzw. Tag 40 (14 bzw. 24 Tage nach ersten Auffälligkeiten im CT) einen unveränderten Befund ergab, während die zweite Untersuchung an Tag 34 bzw. Tag 49 (23 bzw. 28 Tage nach ersten Auffälligkeiten im CT) eine Befundbesserung zeigte. 1 Patient erhielt 3 weitere Kontrolluntersuchungen, wobei die erste bzw. zweite an Tag 25 bzw. 41 (25 bzw. 41 Tage nach ersten Auffälligkeiten im CT) eine Befundprogression und die dritte an Tag 55 (55 Tage nach dem ersten pathologischen CT-Befund) eine rückläufige Tendenz ergaben. In 2 Fällen wurde die erste Kontroll-CT an Tag 9 bzw. 14 (8 bzw. 11 Tage nach ersten Auffälligkeiten im CT) lediglich als Befundprogression beurteilt. Bei



diesen Patienten ergab eine zweite Verlaufskontrolle 1 bzw. 4 Tage später an Tag 10 bzw. 18 dann einen auf eine pulmonale Aspergillose hoch verdächtigen Befund. In einem Fall wurde zu diesem Zeitpunkt bereits seit 8 Tagen antimykotisch therapiert, während in dem anderen Fall erst aufgrund des Befundwandels im CT mit der Therapie begonnen wurde. Weitere Untersuchungsergebnisse liegen nicht vor. In 1 Fall mit initial negativem CT an Tag 2, ergab auch die erste Verlaufskontrolle an Tag 11 einen unauffälligen Befund, während sich in der zweiten Kontroll-CT an Tag 23 ein auf eine pulmonale Aspergillose hoch verdächtiges Bild zeigte. Aufgrund des nun auffälligen CT-Befundes begann man mit der antimykotischen Therapie. Eine dritte Verlaufskontrolle an Tag 47 ergab Befundkonstanz. Weitere Untersuchungsergebnisse liegen nicht vor.

#### 4.3.1.6.3. Mögliche pulmonale Aspergillose in der 1. CT-Untersuchung

In 48 Fällen ergab die erste CT-Untersuchung eine differentialdiagnostisch mögliche pulmonale Aspergillose. In 10 Fällen ergab sich im Verlauf im CT ein Befundwandel hin zu wahrscheinlicher Aspergillose (s.o.). Für 11 Patienten liegen keine weiteren Untersuchungsergebnisse vor. In 18 Fällen führte man 5-52 Tage (Mittelwert 20,9 Tage; Median 19,5 Tage) nach den ersten Auffälligkeiten 1 Verlaufskontrolle zwischen Tag 10 und Tag 64 (Mittelwert Tag 26; Median Tag 25) durch, wobei sich 3-mal eine Befundprogression (Untersuchung Tag 10-20; Median Tag 19 bzw. 8-9 Tage; Median 9 Tage nach ersten Auffälligkeiten im CT), 4 Mal eine Befundkonstanz (Untersuchung Tag 20-43; Median Tag 22 bzw. 10-39 Tage; Median 17 Tage nach dem ersten pathologischen CT) sowie 11-mal eine Befundregression (Untersuchung Tag 13- 64; Median Tag 27 bzw. 5-52 Tage; Median 24 Tage nach ersten Auffälligkeiten im CT) zeigte. Die Patienten wurden zu diesem Zeitpunkt alle seit 7-52 Tagen (Mittelwert 21,1 Tage; Median 20 Tage) antimykotisch therapiert. 7 Patienten bekamen 2 Kontrolluntersuchungen, wobei alle Patienten bereits zum Zeitpunkt der 1. Kontrolluntersuchung seit 5-24 Tagen (Mittelwert 14,1 Tage; Median 15 Tage) antimykotisch behandelt wurden. Die erste 8-22 Tage (Mittelwert Tage; Median 12 Tage) nach ersten Auffälligkeiten im CT zwischen Tag 15 und Tag 38 (Mittelwert Tag 13,6; Median Tag 20) ergab dabei in 3 Fällen eine Befundverschlechterung (Untersuchung Tag 15-38; Median Tag 20 bzw. 8-24 Tage; Median 12 Tage nach dem ersten auffälligen CT) sowie in 4 Fällen einen unveränderten Befund (Untersuchung Tag 16-34; Median Tag 18,5 bzw. 9-18 Tage; Median 13 Tage nach dem ersten

pathologischen CT). Die zweite Untersuchung zwischen Tag 26 und Tag 54 (Mittelwert Tag 40,3; Median Tag 39) bzw. 20-40 Tage (Mittelwert 31 Tage; Median 35 Tage) nach dem ersten pathologischen CT-Befund ergab in 1 Fall an Tag 26 bzw. 20 nach den ersten Auffälligkeiten im CT einen unveränderten Befund, während dieser sich in den anderen 6 Fällen (Untersuchung Tag 33-54; Median Tag 42 bzw. 21-40 Tage; Median 35,5 Tage nach dem ersten pathologischen CT-Befund) deutlich rückläufig zeigte. 2 Patienten bekamen insgesamt 3 Kontrolluntersuchungen, wobei die ersten beiden an Tag 18 und 19 bzw. 29 und 37 (10 und 17 bzw. 21 und 32 Tage nach dem ersten pathologischen CT) eine Progression des Befundes ergaben, während die dritte an Tag 45 und 52 (37 und 47 Tage nach dem ersten pathologischen CT) dann eine rückläufige Tendenz zeigte. Auch diese Patienten wurden bereits zum Zeitpunkt der 1. Kontrolluntersuchung seit 10 bzw. 16 Tagen antimykotisch therapiert.

#### 4.3.1.6.4. Erster CT-Befund ohne Hinweis auf eine pulmonale Aspergillose

Die CT-Befunde, die initial der Kategorie unwahrscheinliche pulmonale Aspergillose zugeordnet wurden (5 negative Befunde, 1 unspezifischer Befund) veränderten sich im Verlauf alle derart, dass eine pulmonale Aspergillose wahrscheinlich (n=1, s.o.) bzw. differentialdiagnostisch möglich (n=5) schien. In 4 von letzteren 5 Fällen ergab bereits die erste Verlaufskontrolle zwischen Tag 9 und Tag 25 (Mittelwert Tag 16; Median Tag 15) diesen Befundwandel, während die CT bei 1 Patienten an Tag 13 weiterhin unauffällig blieb. In 2 Fällen liegen keine weiteren Untersuchungsergebnisse vor, während 2 Patienten noch eine zweite Kontroll-CT an Tag 32 bzw. 47 (23 bzw. 34 Tage nach den ersten Auffälligkeiten im CT) bekamen, die jeweils regrediente Befunde ergab. Für den Patienten mit zweimalig negativem CT ergab eine weitere Untersuchung an Tag 31 eine differentialdiagnostisch mögliche pulmonale Aspergillose. Eine dritte Verlaufskontrolle an Tag 47 (16 Tage nach dem ersten pathologischen CT) ergab in diesem Fall Befundkonstanz, während sich dann an Tag 73 (42 Tage nach den ersten Auffälligkeiten im CT) ein deutlich rückläufiger Befund zeigte.

#### 4.3.1.6.5. Veränderungen aller radiologischen Auffälligkeiten im Verlauf

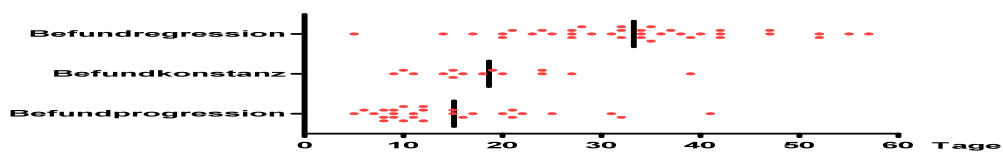
Insgesamt führte man bei 45 von den 58 Patienten, deren initialer CT-Befund sich in die Kategorie mögliche bzw. wahrscheinliche pulmonale Aspergillose einordnen ließ, 74 weitere Untersuchungen durch. 28-mal beobachtete man dabei eine

Befundprogression, wobei die entsprechenden Untersuchungen zwischen Tag 9 und Tag 41 (Mittelwert Tag 21,8; Median Tag 20) bzw. 5-41 Tage (Mittelwert 15,1 Tage; Median 12 Tage) nach den ersten Auffälligkeiten im CT stattfanden. Eine Befundkonstanz zeigte sich in 12 Fällen bei Verlaufskontrollen zwischen Tag 16 und Tag 43 (Mittelwert Tag 26,4; Median Tag 22) bzw. 9-39 Tage (Mittelwert 18,4 Tage; Median 16,5 Tage) nach dem ersten pathologischen CT, während CT-Untersuchungen zwischen Tag 13 und Tag 71 (Mittelwert Tag 41; Median Tag 41,5) bzw. 5-57 Tage (Mittelwert 33,4 Tage; Median 33,5 Tage) nach den ersten Auffälligkeiten im CT in 34 Fällen regrediente Befunde aufwiesen.

In den 6 Fällen mit initial negativem CT-Befund ergab sich zwischen Tag 9 und Tag 31 (Mittelwert Tag 19,7; Median Tag 24) ein positives Ergebnis. 4 Patienten erhielten insgesamt 5 weitere Verlaufskontrollen, wobei in 2 Fällen 16 bzw. 24 Tage nach dem ersten pathologischen CT an Tag 47 ein unveränderter Befund zeigte, während man bei den 3 anderen Untersuchungen 23-42 Tage (Mittelwert 33 Tage; Median 34 Tage) nach den ersten Auffälligkeiten im CT zwischen Tag 32 und Tag 73 (Mittelwert Tag 50,7; Median Tag 47) eine Befundbesserung beobachtete.

**Tabelle 13: Diagnostische Ergebnisse der CT- Verlaufskontrollen**

<p><b>Initial wahrscheinliche IPA, n=10:</b> (Untersuchung Tag 1-14; Median Tag 7)</p>	<p><b>Verlaufskontrollen, n=12 (bei 8 Patienten):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Befundprogression, n=4</b> Tag 15-26 (Median 19,5) bzw. Tag 5-15 (Median 11,5) nach 1. Auffälligkeiten im CT</li> <li>- <b>Befundkonstanz, n=1</b> Tag 37 bzw. Tag 27</li> <li>- <b>Befundregression, n=7</b> Tag 34-71 (Median 42) bzw. Tag 26-57 (Median 39)</li> </ul>
<p><b>Im Verlauf wahrscheinliche IPA, n=11:</b> (Untersuchung Tag 10-36; Median Tag 22)</p>	<p><b>Verlaufskontrollen, n=25 (bei 11 Patienten):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Befundprogression, n=14</b> Tag 9-41 (Median 21) bzw. Tag 6-41 (Median 13,5) nach 1. Auffälligkeiten im CT (der Befundwandel von möglicher hin zu wahrscheinlicher IPA wurde als Befundprogression gewertet)</li> <li>- <b>Befundkonstanz, n=3</b> Tag 20- 47 (Median 40) bzw. Tag 14-24 (Median 24)</li> <li>- <b>Befundregression, n=8</b> Tag 34- 56 (Median 48 bzw. Tag 28-55 (Median 34,5)</li> </ul>
<p><b>Initial mögliche IPA, n=38:</b> (Untersuchung Tag 0-25; Median Tag 7)</p>	<p><b>Verlaufskontrollen, n=38 (bei 27 Patienten):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Befundprogression, n=10</b> Tag 10- 38 (Median 20) bzw. Tag 8-32 (Median 11) nach 1. Auffälligkeiten im CT)</li> <li>- <b>Befundkonstanz, n=9</b> Tag 16- 43 (Median 21) bzw. Tag 9-39 (Median 15)</li> <li>- <b>Befundregression, n=19</b> Tag 13- 64 (Median 34) bzw. Tag 5-52 (Median 27)</li> </ul>



**Abbildung 5: Zeitliche Darstellung des Befundwandels der CT- Verlaufskontrollen**

(berücksichtigt die CT- Untersuchungen vom 1. auffälligen Befund (Tag 0) bis zur 1. Verlaufskontrolle, die einen regressiven Befund zeigte)

Betrachtet man alle CT-Untersuchungen im Verlauf, so ergibt sich 21 Mal der Befund einer wahrscheinlichen IPA, während sich in 43 Fällen eine IPA differentialdiagnostisch nicht ausschließen lässt. Unter der Annahme, dass alle Patienten tatsächlich eine invasive pulmonale Aspergillose hatten, lässt sich so eine Sensitivität von 32,8% bzw. 100% berechnen.

#### **4.3.2. Endoskopische Verfahren**

Insgesamt wurden 39 Bronchoskopien durchgeführt, wobei 6 Patienten 2 Untersuchungen erhielten.

Die erste bronchoskopische Untersuchung fand zwischen Tag 0 und Tag 33 (Mittelwert Tag 13; Median Tag 12,5) statt. In 5 Fällen ergab sich ein positiver *Aspergillus*-Antigen-Nachweis, wobei 3 Patienten zum Zeitpunkt der Untersuchung bereits 1-8 Tage (Mittelwert 4 Tage; Median 3 Tage) antibakteriell und antimykotisch behandelt wurden.

9-mal wurden andere Erreger isoliert, welche allerdings nicht als ätiologisch relevant gewertet wurden und in 19 Fällen konnte kein Erregernachweis erbracht werden. 25 Patienten wurden zum Zeitpunkt der bronchoskopischen Untersuchung bereits seit 1-23 Tagen (Mittelwert 5,6 Tage; Median 3 Tage) antibakteriell und antimykotisch behandelt.

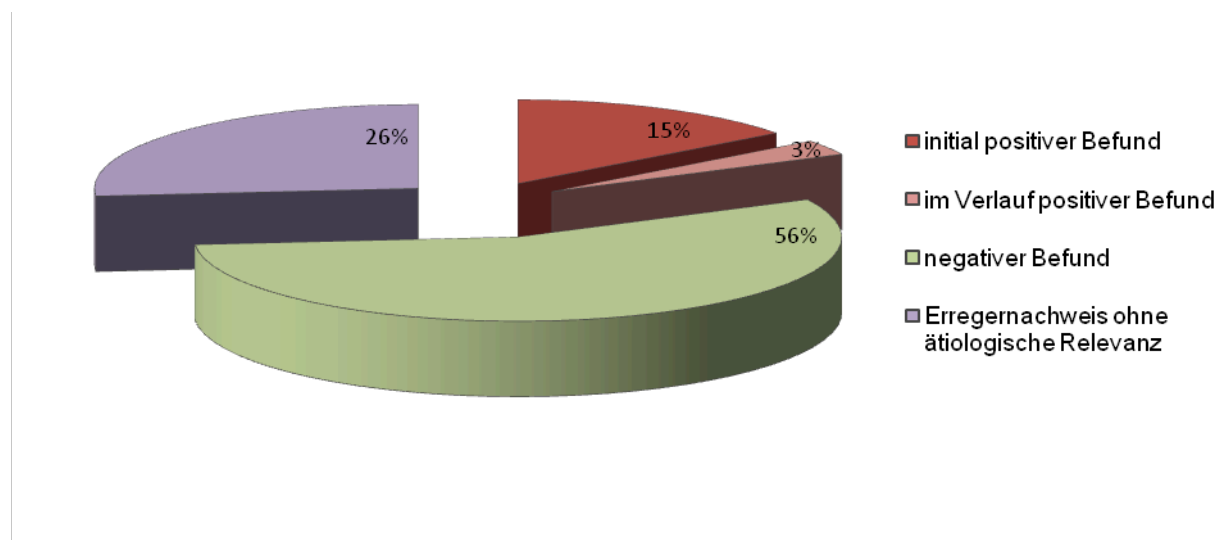
Unter der Annahme, dass alle Patienten tatsächlich eine invasive pulmonale Aspergillose hatten, würde sich für den *Aspergillus*-Antigen-Nachweis aus der bronchoalveolären Lavage eine Sensitivität von 15,2% ergeben.

6 Patienten erhielten eine weitere Untersuchung zwischen Tag 19 und Tag 51 (Mittelwert Tag 39; Median Tag 42), wobei sich in 1 Fall mit zuvor negativem Befund ein positiver *Aspergillus*-Antigen-Nachweis ergab, wodurch sich unter oben benannten Einschränkungen für alle bronchoskopischen Untersuchungen im Verlauf eine Sensitivität von 18,2% errechnet. Letzterer Patient wurde bereits 7 Tage vor der 1. bronchoskopischen Untersuchung antibiotisch und antimykotisch behandelt. In 2 Fällen ließ sich ein initial positiver Befund nicht bestätigen, wobei bei diesen Patienten 3 Tage vor bzw. 2 Tage nach der 1. Bronchoskopie mit der antibakteriellen und antimykotischen Therapie begonnen wurde. In den anderen Fällen ergab sich erneut ein negativer Befund.

Eine zusammenfassende Darstellung der mikrobiologischen Ergebnisse findet sich in der **Tabelle 14**.

**Tabelle 14: Diagnostische Ausbeute der Bronchoskopie und BAL**

Bronchoskopie mit BAL:	Durchführung:	Befund:
1.Untersuchung, n=33	Tag 0-Tag 33 (Median 13)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>positiver <i>Aspergillus</i>-AG-Nachweis, n=5</b></li> <li>- Nachweis anderer Erreger (Kultur), n=9               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sprosspilze mäßig + (n=2)</li> <li>- <i>Candida</i> Spezies mäßig + (n=4)</li> <li>- koagulasenegative <i>Staphylokokken</i> &lt;100.000 KBE/ml (n=1)</li> <li>- vergrünende <i>Streptokokken</i> &lt;100.000 KBE/ml (n=1)</li> <li>- <i>Enterobacteriaceae</i> vereinzelt (n=1)</li> </ul> </li> <li>- kein Erregernachweis, n=19</li> </ul>
2.Untersuchung, n=6	Tag 19-Tag 51 Median 42	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>positiver <i>Aspergillus</i>-AG-Nachweis, n=1</b> (bei zuvor negativem Befund)</li> <li>- kein Erregernachweis, n=5 (bei zuvor ebenfalls negativem Befund, n=3 bzw. zuvor positivem Befund in 2 Fällen)</li> </ul>
34 Patienten erhielten keine bronchoskopische Untersuchung		



**Abbildung 6: Diagnostische Ausbeute der Bronchoskopie und BAL**

### 4.3.3. Bioptische Verfahren

5 Patienten erhielten eine transbronchiale Biopsie zwischen Tag 11 und Tag 30 (Mittelwert Tag 20,8; Median Tag 19), was in keinem Fall einen Erregernachweis erbrachte. 4 Patienten wurden zu diesem Zeitpunkt bereits seit 1-23 Tagen (Mittelwert 9,8 Tage; Median 7,5 Tage) antimykotisch therapiert. Alle Patienten hatten zuvor bereits eine Bronchoskopie, wobei in 1 Fall 2 Tage zuvor *Aspergillus*-AG in der bronchoalveolären Lavage nachgewiesen werden konnte.

In 1 Fall führte man zusätzlich noch eine offene Lungenbiopsie an Tag 59 durch, wodurch dennoch keine Diagnose gesichert werden konnte. Letzterer Patient erhielt zuvor 2 bronchoskopische Untersuchungen, wobei nach initial negativem Erregernachweis in der 2. Untersuchung an Tag 41 *Aspergillus*-AG in der BAL nachgewiesen werden konnte.

Die Ergebnisse dieser diagnostischen Methoden finden sich in **Tabelle 15**.

**Tabelle 15: Diagnostische Ausbeute bioptischer Verfahren**

Verfahren:	Durchführung:	Befund:
Transbronchiale Biopsie, n=5	Tag 11-Tag 30 (Median Tag 19)	Negativ
Offene Lungenbiopsie, n=1	Tag 59	Negativ

### 4.3.4. Serologische und molekularbiologische Untersuchungen im Blut

Insgesamt wurden 34 serologische Untersuchungen bei 26 Patienten durchgeführt, wobei 9-mal der Latex-Agglutinationstest (Pastorex<sup>®</sup>) und 25-mal die Galactomannan-Antigen-Nachweismethode (Platelia<sup>®</sup>) verwendet wurden. In 41 Fällen lag kein serologischer Befund vor.

Die erste Untersuchung fand zwischen Tag 1 und Tag 20 (Mittelwert Tag 8,6; Median Tag 8) statt und ergab in keinem Fall einen positiven Befund. Eine weitere Untersuchung zwischen Tag 8 und Tag 53 (Mittelwert Tag 20,6; Median Tag 15) erhielten 6 Patienten, wobei die Ergebnisse wiederum negativ ausfielen. Bei 1 Patienten wurde eine dritte Untersuchung an Tag 41 durchgeführt, welche ebenfalls ohne pathologisches Ergebnis blieb.

Molekularbiologische Verfahren kamen bei 23 Patienten, die zwischen 1 und 14 Untersuchungen erhielten, zum Einsatz. Insgesamt wurde 24-mal eine Pan-Fungus-PCR und 81-mal eine *Aspergillus*-Spezies- bzw. *Aspergillus-fumigatus*-PCR durchgeführt, wobei in 3 Fällen beide PCR-Methoden zum Einsatz kamen. Die erste Untersuchung fand zwischen Tag 1 und Tag 33 (Mittelwert Tag 10,7; Median Tag 8) statt und ergab in 4 Fällen eine positive Pan-Fungus-PCR, wobei eine für 2 Proben ebenfalls durchgeführte *Aspergillus*-Spezies-PCR negativ blieb sowie in 3 Fällen eine positive *Aspergillus-fumigatus*-PCR.

Für die 3 Patienten mit initial positiver *Aspergillus-fumigatus*-PCR ergab sich in 1 Fall mit 4 weiteren Untersuchungen eine zweimalige Bestätigung des Befundes, in 1 Fall fiel 1 weitere PCR negativ aus und in 1 Fall wurde keine weitere Untersuchung durchgeführt. Für die 2 Patienten mit initial positiver Pan-Fungus-PCR, konnte diese in 1 Fall trotz 4 weiterer Untersuchungen nicht bestätigt werden, während in dem anderen Fall kein weiterer Befund vorlag. Die 2 Patienten mit initial positiver Pan-Fungus-PCR bei negativer *Aspergillus*-Spezies-PCR wurden im Verlauf nicht noch einmal untersucht. In den 16 Fällen mit initial negativem Befund ergab sich im Verlauf bei 5 Patienten wenigstens 1 positives PCR-Ergebnis. Dabei blieb die PCR in 3 Fällen einmalig positiv, obgleich die Patienten 4, 5 bzw. 12 weitere Untersuchungen hatten. In 1 Fall ergaben sich 2 positive Befunde, während 4 weitere negativ ausfielen und in dem anderen Fall standen 6 positive Ergebnisse 6 negativen gegenüber. 7 Patienten erhielten 1 bis 11 weitere Untersuchungen, die allerdings alle negativ blieben, während in 4 Fällen keine erneute PCR durchgeführt wurde.

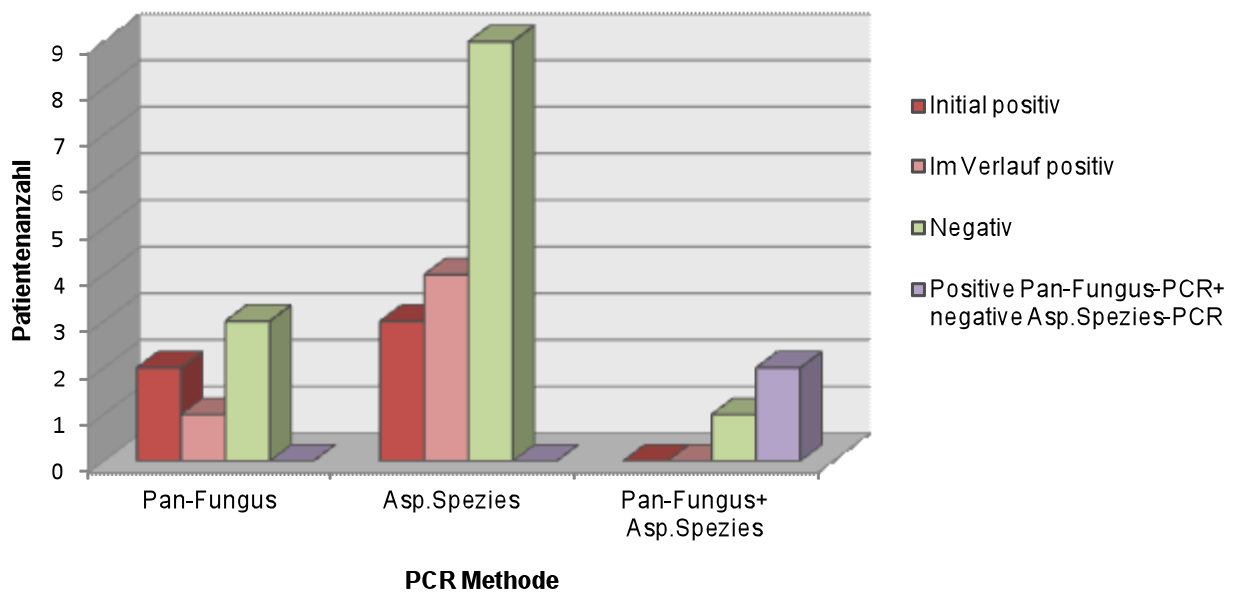
Insgesamt ergab sich im Verlauf für 12 Patienten wenigstens 1 positives PCR-Ergebnis. Darunter befand sich 1 Patient mit positiver Pan-Fungus-PCR bei negativer *Aspergillus*-Spezies-PCR, der zuvor bereits eine serologische Untersuchung auf Galactomannan-Antigen hatte, die ebenfalls negativ ausfiel. 2 weitere Patienten erhielten sowohl eine PCR- wie einen Antigen-Nachweistest (Pastorex®), wobei beide Untersuchungen negativ ausfielen. In 22 Fällen wurde ausschließlich das molekularbiologische Verfahren genutzt, während man in 24 anderen Fällen das Serum auch auf *Aspergillus*-Antigen untersuchte. Bei 18 Patienten verzichtete man auf beide Untersuchungsmethoden.

Eine zusammenfassende Darstellung der diagnostischen Ergebnisse findet sich in **Tabelle 16**.



**Tabelle 16: Diagnostische Ausbeute von AG-Nachweis und PCR in Blutproben**

Verfahren:	Durchführung:	Befund:
<b>Latex-Agglutinationstest (Pastorex®)</b> - 1.Untersuchung, n=8 - 2.Untersuchung, n= 1	Tag 1–Tag 14 (Median Tag 1)  Tag 53	Negativ  Negativ
<b>Galactomannan-AG-Nachweis (Platelia®)</b> - 1.Untersuchung, n=18 - 2.Untersuchung, n=5 - 3.Untersuchung, n=1	Tag 1-Tag 20 (Median Tag 10)  Tag 8–Tag 19) (Median Tag 11)  Tag 41	Negativ  Negativ  Negativ
<b>Pan-Fungus-PCR</b> - 1.Untersuchung, n=8	Tag 1-Tag 21 (Median Tag 9)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>positiver PCR-Befund, n=4</b></li> <li>- 2 Patienten mit negativer <i>A. fumigatus</i>-PCR am selben Tag</li> <li>- 1 Patient mit 4 weiteren negativen Befunden im Verlauf (Tag 6-Tag 18)</li> <li>- 1 Patient ohne weitere PCR</li> <li>- negativer PCR-Befund, n=4</li> <li>- 1 Patient mit negativer <i>A. fumigatus</i>-PCR am selben Tag</li> <li>- 1 Patient mit 12 weiteren Untersuchungen, (6x negativ (Tag 7-Tag 63), 6x <b>positiv</b> (Tag 14-Tag 52))</li> <li>- 3 Patienten ohne weitere PCR</li> </ul>
<b><i>A. fumigatus</i>-PCR</b> - 1.Untersuchung, n=18	Tag 1-Tag 33 (Median Tag 8,5)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>positive <i>A. fumigatus</i>-PCR, n=3</b></li> <li>- 1 Patient mit 4 weiteren Untersuchungen (Tag 6-Tag 15), 2x <b>positiv</b> an Tag 6 und 15</li> <li>- 1 Patient mit negativem Befund im Verlauf</li> <li>- 1 Patient ohne weitere PCR</li> <li>- negative <i>A. fumigatus</i>-PCR, n=15</li> <li>- 2 Patienten mit positiver Pan-Fungus-PCR am selben Tag, ohne weitere PCR</li> <li>- 4 Patienten mit 5-13 weiteren Untersuchungen (Tag 5-Tag 57), 1x <b>positiv</b> (3 Fälle) bzw. 2x <b>positiv</b> (1 Fall)</li> <li>- 7 Patienten mit 1-11 weiterhin negativen PCR-Ergebnissen (Tag 8-Tag 57)</li> <li>- 2 Patienten ohne weitere PCR</li> </ul>
Insgesamt erhielten 23 Patienten eine Pan-Fungus- (8) bzw. <i>A. fumigatus</i> -PCR (18), wobei sich im Verlauf 5 bzw. 7 positive Befunde ergaben.		



**Abbildung 7: Diagnostische Ergebnisse der PCR- Untersuchungen in Blutproben**

Für den Nachweis von zirkulierendem Antigen im Serum, der bei 27 Patienten mit Hilfe der Testkits Pastorex® (9-mal bei 7 Patienten) bzw. Platelia® (26-mal bei 20 Patienten) Anwendung fand, ergibt sich unter der Annahme, dass alle Patienten tatsächlich eine IPA hatten, eine Sensitivität von 0%.

Für den Nachweis von DNA mittels PCR ergibt sich für die Pan-Fungus-PCR (8 Patienten) bzw. die *Aspergillus-fumigatus*-PCR (18 Patienten) eine Sensitivität von 50% bzw. 16,6%, wenn man die erste Untersuchung betrachtet und eine Sensitivität von 62,5% bzw. 38,8%, wenn man alle diagnostischen Ergebnisse im Verlauf berücksichtigt.

### 4.3.5. Tabellarische Zusammenfassung der diagnostischen Ergebnisse

**Tabelle 17: Zusammenfassung aller diagnostischen Ergebnisse**

**CT-Untersuchung:**

**1. Wahrscheinliche pulmonale Aspergillose:**

a) initial positiver Befund zwischen Tag 1 und Tag 14 (Median Tag 7), n=10

	Pastorex®	Platelia®	PCR	Bronchoskopie	Andere
1.	Tag 1: negativ	∅	∅	∅	∅
2.	Tag 8: negativ	∅	∅	∅	∅
3.	∅	∅	Tag 14, 21, 24: negativ ( <i>A.fumigatus</i> -PCR)	∅	∅
4.	∅	Tag 4,11: Negativ	∅	∅	∅
5.	∅	Tag 11,19: Negativ	∅	Tag 33: negativ	∅
6.	∅	Tag 15: Negativ	Tag 21: <b>positiv</b> (Pan-Fungus-PCR) Tag 21: negativ ( <i>A.fumigatus</i> -PCR)	Tag 9: <b>positiv</b> ( <i>Asp.</i> -AG: 1,85) Tag 51: negativ	∅

In 4 Fällen wurden keine weiteren Untersuchungen durchgeführt.

b) im Verlauf zwischen Tag 10 und Tag 36 (Median Tag 22) positiv gewordener Befund, n=11

	Pastorex®	Platelia®	PCR	Bronchoskopie	Andere
1.	Tag 1: negativ	∅	∅	Tag 2: negativ	∅
2.	Tag 17, 53: negativ	∅	Tag 4, 8, 11, 18, 22: negativ Tag 15: <b>positiv</b> ( <i>A.fumigatus</i> -PCR)	Tag 17, 43: negativ	∅
3.	∅	∅	Tag 32: negativ ( <i>A.fumigatus</i> -PCR)	Tag 6: negativ	∅
4.	∅	∅	Tag 4, 11: negativ ( <i>A.fumigatus</i> -PCR)	Tag 16: <b>positiv</b> ( <i>Asp.</i> -AG: 9,50) Tag 29: negativ	Transbronchiale Biopsie Tag 18: negativ

5.	∅	∅	Tag 2, 7, 13, 27, 30: negativ Tag 21, 23: <b>positiv</b> ( <i>A.fumigatus</i> -PCR)	Tag 27: negativ Tag 41: <b>positiv</b> (Asp.-AG:12,30)	Transbronchiale Biopsie Tag 28: negativ Offene Lungen- biopsie Tag 59: negativ
6.	∅	∅	Tag 5, 8, 12, 15, 26, 29, 34, 36, 40, 50, 54, 57: negativ ( <i>A.fumigatus</i> -PCR)	Tag 22: negativ	∅
7.	∅	∅	Tag 8, 9, 13, 16, 20, 23: negativ ( <i>A.fumigatus</i> -PCR)	∅	∅
8.	∅	∅	Tag 21: <b>positiv</b> (Pan-Fungus-PCR) Tag 21: negativ ( <i>A.fumigatus</i> -PCR)	Tag 9: negativ	∅
9.	∅	Tag 3: negativ	∅	∅	∅
10.	∅	Tag 1: negativ	∅	Tag 14: negativ	∅

In 1 Fall wurde keine weitere Diagnostik durchgeführt.

## 2. Mögliche pulmonale Aspergillose:

- a) initial positiver Befund zwischen Tag 0 und Tag 25 (Median Tag 7),  
der im Verlauf unverändert blieb, n=38

In 7 Fällen führte man zusätzlich einen Galactomannan-AG-Nachweis(**Platelia**®) durch.

- 6 Patienten erhielten je 1 Untersuchung an Tag 2, 6, 8, 16, 18 bzw. 20, die alle negativ ausfielen
- 1 Patient bekam 2 Untersuchungen an Tag 14 und 15, die beide ebenfalls negative Befunde ergaben

In 8 Fällen führte man zusätzlich eine **PCR**-Untersuchung durch.

- 3 Patienten erhielten je 1 Pan-Fungus-PCR, wobei sich in 2 Fällen negative Befunde an Tag 1 bzw. 10 ergaben, während die Untersuchung in 1 Fall an Tag 10 **positiv** ausfiel.
- 1 Patient bekam eine *A.fumigatus*-PCR an Tag 33 mit **positivem** Befund.
- 1 Patient erhielt insgesamt 13 Pan-Fungus-PCR zwischen Tag 2 und Tag 63, wobei sich 6 Mal ein **positiver** Befund ergab.
- 1 Patient erhielt 1 Pan-Fungus sowie 1 *A.fumigatus*-PCR an Tag 8, die beide negativ ausfielen.
- 2 Patienten erhielten je 5 *A.fumigatus*-PCR zwischen Tag 3 und Tag 31, wobei in 1 Fall alle Befunde negativ ausfielen, während sich in dem anderen Fall 3 **positive** Ergebnisse ergaben.

In 8 Fällen führte man zusätzlich eine **Bronchoskopie** mit BAL durch.

- 7 Patienten erhielten je 1 bronchoskopische Untersuchung zwischen Tag 0 und Tag 15, die in allen Fällen ohne diagnostisches Ergebnis blieb.
- 1 Patient bekam 2 Untersuchungen an Tag 9 bzw. 19, wobei auch in diesem Fall kein Erregernachweis gelang.

In 11 Fällen führte man mehrere diagnostische Maßnahmen durch, die der Übersichtlichkeit wegen in tabellarischer Form aufgeführt sind.

	Pastorex®	Platelia®	PCR	Bronchoskopie	Andere
1.	∅	Tag 16: negativ	∅	Tag 17: negativ	∅
2.	∅	Tag 13: negativ	∅	Tag 13: <b>positiv</b> ( Asp.-AG: 15,4)	∅
3.	∅	Tag 13: negativ	∅	Tag 13: <b>positiv</b> ( Asp.-AG: 10,73)	∅
4.	∅	Tag 6, 8, 41: Negativ	∅	Tag 12: negativ	∅
5.	Tag 14: Negativ	∅	∅	Tag 4: negativ	∅
6.	∅	∅	Tag 6, 11, 15, 18: negativ Tag 4: <b>positiv</b> (Pan-Fungus-PCR)	Tag 7: negativ	∅
7.	∅	∅	Tag 1, 6, 12, 15, 19, 23: negativ Tag 9: <b>positiv</b> ( <i>A.fumigatus</i> -PCR)	Tag 16: negativ	∅
8.	Tag 1: Negativ	∅	∅	Tag 18: negativ	∅
9.	∅	∅	Tag 15, 39: negativ ( <i>A.fumigatus</i> -PCR)	Tag 11: negativ	Transbronchiale Biopsie Tag 15: Negativ
10.	Tag 1: Negativ	∅	∅	Tag 16: negativ	∅
11.	Tag 1: negativ	∅	Tag 1, 5, 8, 14, 15, 19, 22, 26, 29, 33, 40, 43, 47: negativ Tag 57: <b>positiv</b> ( <i>A.fumigatus</i> -PCR)	Tag 19, 51: negativ	∅

In 4 Fällen führte man keine weitere Diagnostik durch.

b) im Verlauf zwischen Tag 9 und Tag 31 (Median Tag 17) positiv gewordener Befund, n=5

	Pastorex®	Platelia®	PCR	Bronchoskopie	Andere
1.	∅	∅	Tag 9, 14, 17, 21, 24: negativ ( <i>A.fumigatus</i> -PCR)	Tag 30: negativ	Transbronchiale Biopsie Tag 30: Negativ
2.	∅	∅	Tag 22: <b>positiv</b> Tag 25: negativ ( <i>A.fumigatus</i> -PCR)	Tag 19: negativ	Transbronchiale Biopsie Tag19: Negativ
3.	∅	Tag 5, 11: Negativ	∅	∅	∅
4.	∅	Tag 10, 27: Negativ	∅	∅	∅
5.	∅	∅	∅	Tag 9: negativ	∅

### 3. Patienten ohne CT- Befund, n=3

1.	∅	∅	∅	Tag 8: <b>positiv</b> ( <i>Asp.</i> -AG: 2,83)	∅
2.	∅	∅	∅	∅	∅
3.	∅	∅	∅	∅	∅

Die ersten beiden Patienten hatten Lungeninfiltrate auf der Röntgenaufnahme des Thorax, während man den dritten aufgrund von neutropenischem Fieber bei bereits zuvor (1. Episode mit dem klinischen Verdacht auf eine IPA 2 Monate zuvor) beschriebenen pulmonalen Infiltraten mit Verdacht auf eine atypische Pneumonie i.S. einer möglichen IPA behandelte.

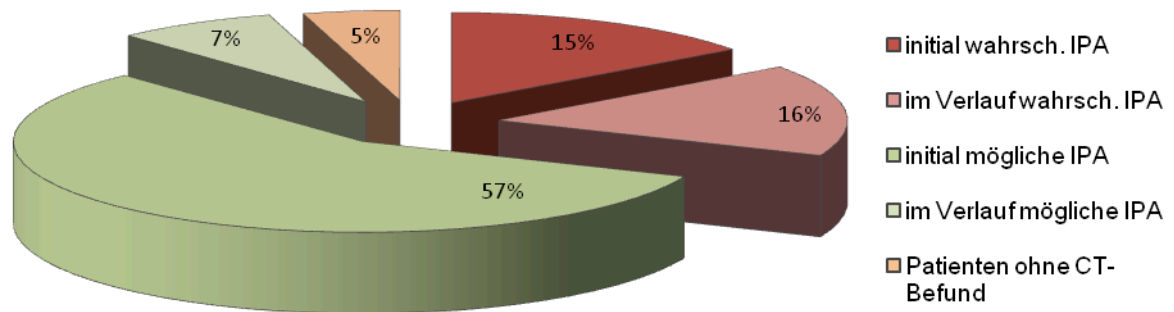


Abbildung 8: Diagnostische Ergebnisse der Computertomographie

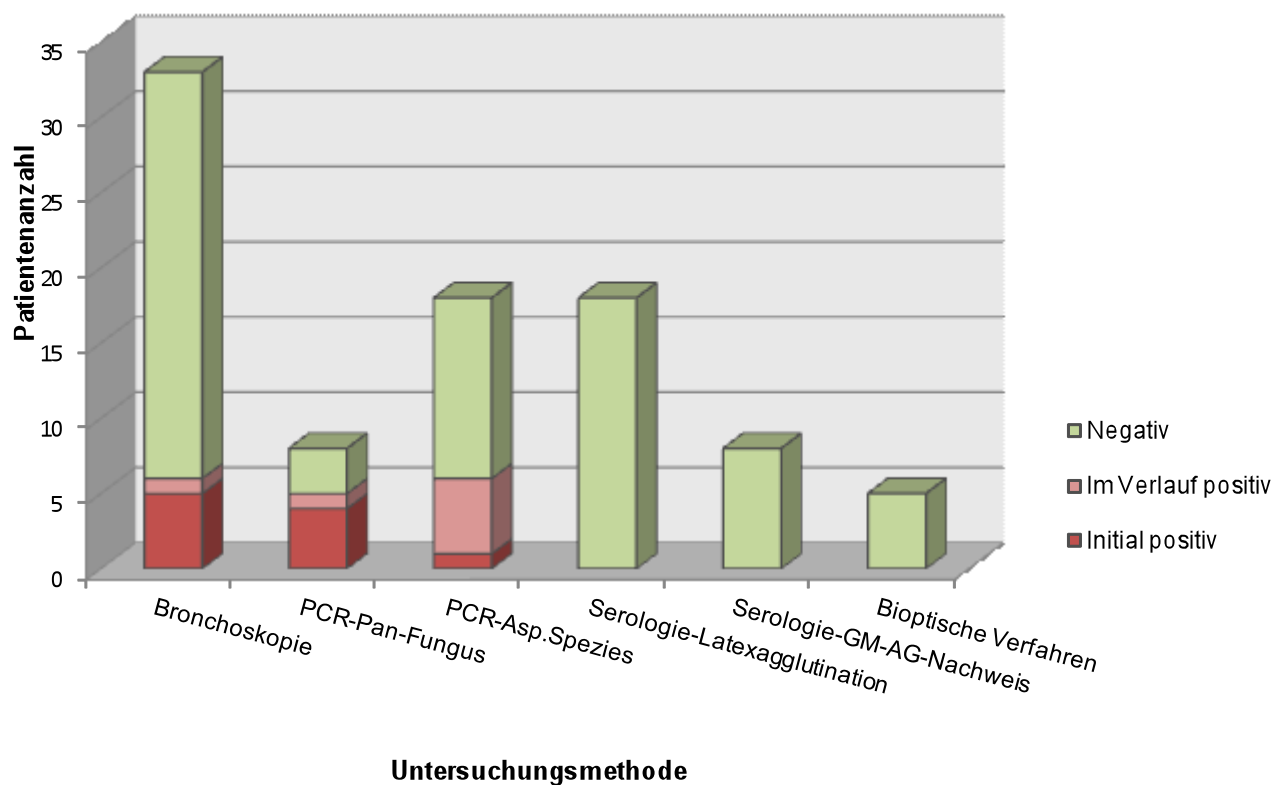
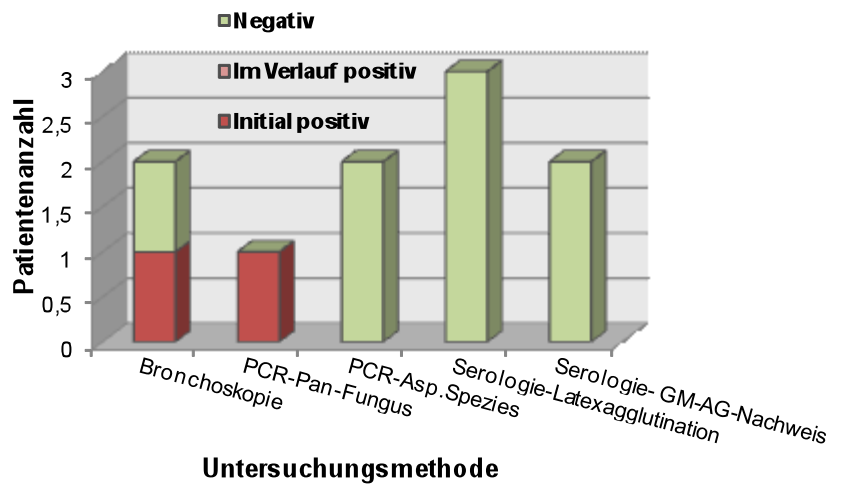
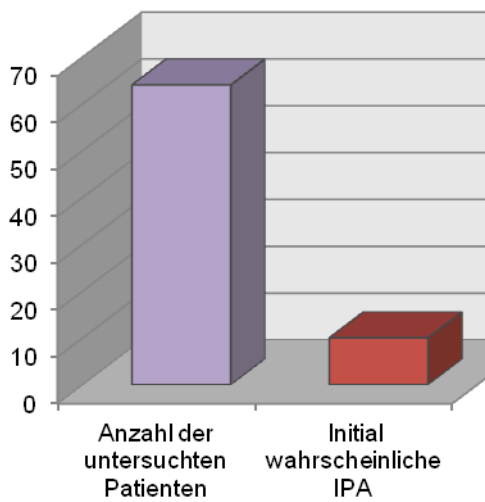
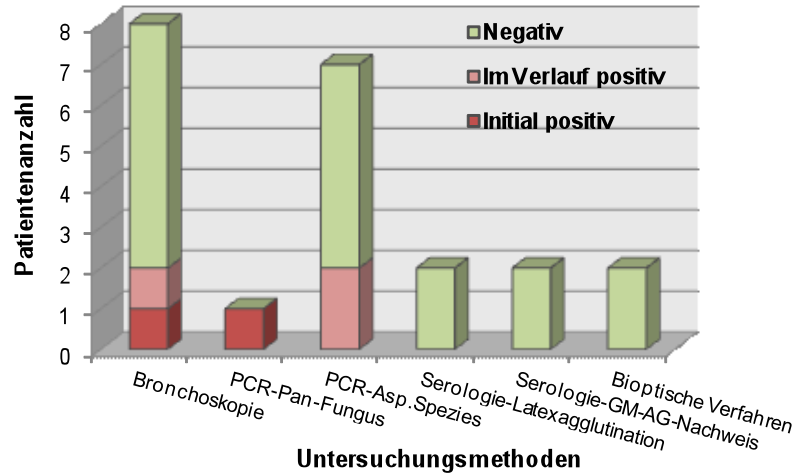
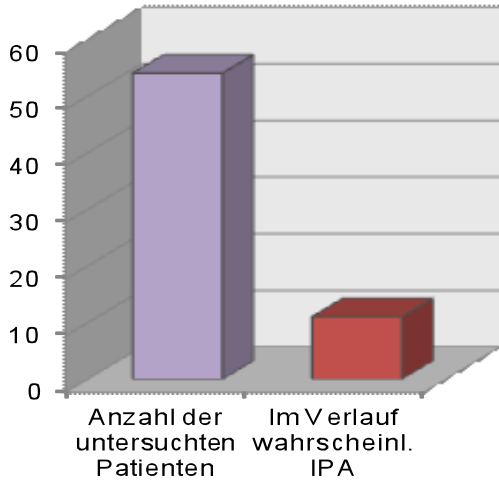


Abbildung 9: Diagnostische Ergebnisse weiterer Untersuchungsmethoden



**Abbildung 10:** Darstellung der Ergebnisse weiterer diagnostischer Methoden, die bei den Patienten mit wahrscheinlicher IPA im initialen CT zur Anwendung kamen.



**Abbildung 11:** Darstellung der Ergebnisse weiterer diagnostischer Methoden, die bei den Patienten mit wahrscheinlicher IPA in CT- Verlaufskontrollen, zur Anwendung kamen.



Um den diagnostischen Nutzen der angewandten Methoden zu veranschaulichen, wurde die jeweilige Sensitivität als Parameter der Testbeurteilung berechnet. Wie oben bereits erwähnt, bleibt dieser Wert ohne begründete wissenschaftliche Aussagekraft und soll an dieser Stelle nur vergleichend angefügt werden.

**Tabelle 18: Darstellung der Sensitivitäten betrachteter diagnostischer Methoden.**

Methoden	Initiales Ergebnis	Alle Ergebnisse im Verlauf
Röntgen Thorax (unspezifische pulmonale Infiltrate)	30,9%	91,5%
<b>Computertomographie</b>		
- Wahrscheinliche IPA	15,6%	32,8%
+ Mögliche IPA	90,6%	100%
<b>Bronchoskopie</b>	15,2%	18,2%
<b>Molekularbiologie</b>		
- Pan-Fungus-PCR	50%	62,5%
- <i>Asp.</i> Spezies-PCR	16,6%	38,8%
Serologie	0	0
Bioptische Verfahren	0	0

## 4.4. Therapie und klinischer Verlauf

### 4.4.1. Antimykotische Therapie

Alle Patienten erhielten ab Tag 0 eine empirische Breitspektrum-Antibiotikatherapie, die bei ausbleibendem Ansprechen >96h nach den klinikinternen Standards erweitert oder umgesetzt wurde. Bei einem eventuellen Erregernachweis, z.B. in Blutkulturen oder mikrobiologisch untersuchten Katheterspitzen, wurde die antibakterielle Therapie bei entsprechender Notwendigkeit dem Resistogramm angepasst.

Insgesamt 43-mal zeigte sich klinisch kein Ansprechen auf die empirische Breitspektrum-Antibiotikatherapie. In 12 weiteren Fällen kam es nach initialer Entfieberung zum erneuten Temperaturanstieg unter der Therapie. Für 12 Episoden ließ sich der therapeutische Erfolg nicht eindeutig beurteilen, da die Patienten bereits innerhalb der ersten 48h nach beginnender Fiebersymptomatik antibiotisch und antimykotisch behandelt wurden.

Alle Patienten erhielten eine antimykotische Therapie. Diese wurde in insgesamt 55 Fällen aufgrund eines auffälligen CT-Befundes initiiert, wobei eine pulmonale Aspergillose in 13 Fällen (zwischen Tag 1 und Tag 23; Mittelwert Tag 10,5; Median Tag 8) für wahrscheinlich und in 42 Fällen (zwischen Tag 0 und Tag 17; Mittelwert Tag 8; Median Tag 7,5) für differentialdiagnostisch möglich gehalten wurde. In 3 Fällen begann man die antimykotische Therapie aufgrund von pathologischen Befunden anderer diagnostischer Methoden. In 2 Fällen wurden Infiltrate der Lunge mit dem konventionellen Röntgen nachgewiesen, wobei in 1 Fall zusätzlich ein positiver *Aspergillus*-AG-Nachweis aus der BAL vorlag und in 1 Fall ergab die PCR einen positiven *A.fumigatus*-DNA-Nachweis im Blut. In den anderen 9 Fällen behandelte man aufgrund der klinischen Verdachtsdiagnose antimykotisch.

Alle Patienten wurden zum Zeitpunkt der antimykotischen Therapieinitiation auch antibiotisch behandelt. **Tabelle 19** stellt zusammenfassend dar, weshalb die antimykotische Therapie begonnen wurde.

**Tabelle 19: Darstellung der Befunde, durch welche der Beginn der antimykotischen Therapie begründet wurde.**

Antimykotischen Therapie mit Wirksamkeit gegen Aspergillen aufgrund von:				
Pathologischem CT-Befund (n= 55)		Pathologischem Befund anderer Untersuchungsmethoden (n=3)		Klinischem Verdacht (n= 9)
IPA wahrscheinlich (= 13)	IPA möglich (n= 42)	Infiltrate im Röntgen-Thorax (n= 2) + Positiver Asp.-AG-Nachweis in der BAL (n= 1)	Positiver <i>A.fumigatus</i> -DNA-Nachweis im Blut (n= 1)	

#### 4.4.2. Antimykotische Therapeutika und klinisches Ansprechen

Man therapierte während insgesamt 22 klinischer Episoden mit Amphotericin B intravenös, wobei man sich in 19 Fällen aufgrund eines verdächtigen CT-Befundes (5-mal wahrscheinliche IPA, 14-mal mögliche IPA) und in 1 Fall aufgrund eines positiven *Aspergillus fumigatus*-DNA-Nachweises im Blut dazu entschloss. 2-mal initiierte man die antimykotische Therapie ausschließlich aufgrund der Verdachtsdiagnose. Die Therapie begann zwischen Tag 1 und Tag 20 (Mittelwert 9,8; Median Tag 9) und zeigte in 17 Fällen einen therapeutischen Erfolg nach 1 bis 34 Tagen (Mittelwert 11 Tage; Median 8 Tage) zwischen Tag 5 und Tag 41 (Mittelwert Tag 20,8; Median Tag 22), wobei 2 Patienten neben der empirischen Breitspektrum-Antibiotikatherapie (ab Tag 0) Amphotericin B (ab Tag 1 bzw. 2) erhielten, was die Beurteilung des Therapieansprechens (ab Tag 5 bzw. 8) unmöglich macht. 5 Patienten sind im Behandlungszeitraum verstorben, wobei in 1 Fall bereits innerhalb der ersten 48h nach Beginn der klinischen Symptomatik antibiotisch und antimykotisch behandelt wurde.

11 Patienten behandelte man mit liposomalem Amphotericin B intravenös, wobei die Therapie zwischen Tag 0 und Tag 16 (Mittelwert Tag 8,6; Median Tag 8) begonnen wurde. In 8 Fällen entschloss man sich aufgrund eines positiven CT-Befundes (3-mal wahrscheinliche IPA, 5-mal mögliche IPA) für diese Therapie, während man in den 2 anderen Fällen aufgrund des klinischen Verdachts behandelte. In 1 Fall waren Infiltrate auf dem Röntgenbild sowie ein positiver *Aspergillus*-AG-Nachweis in der BAL Grund für den Therapiebeginn. Ein Ansprechen auf die therapeutischen Maßnahmen konnte in 8 Fällen nach 3 bis 27 Tagen (Mittelwert 12,1 Tage; Median 11 Tage) zwischen Tag 10 und Tag 38 (Mittelwert Tag 21,8; Median Tag 20) beobachtet werden. 3 Patienten verstarben, wobei in 1 Fall bereits innerhalb der ersten 48h nach Beginn der klinischen Symptomatik antibiotisch und antimykotisch behandelt wurde.

29 Patienten erhielten initial Voriconazol intravenös mit Therapiebeginn zwischen Tag 0 und Tag 24 (Mittelwert Tag 7,5; Median Tag 7), wobei in 25 Fällen ein positiver CT-Befund (5-mal wahrscheinliche IPA, 20-mal mögliche IPA), in 1 Fall Infiltrate auf dem Röntgenbild des Thorax dazu Anlass gaben. Während 3 Episoden behandelte man nur aufgrund der Verdachtsdiagnose. In 24 Fällen zeigte sich ein therapeutischer Erfolg nach 2 bis 25 Tagen (Mittelwert 9,8 Tage; Median 8 Tage) zwischen Tag 4 und Tag 32 (Mittelwert Tag 17,5; Median Tag 16,5), wobei sich für 4 Patienten der therapeutische Erfolg aufgrund frühzeitiger Gabe von Antibiotikum und Antimykotikum nicht beurteilen

lässt. In 3 Fällen stellte man die Therapie um, nachdem sich im CT ein Befundwandel von möglicher IPA hin zu wahrscheinlicher IPA im Sinne oben definierter Kriterien ergeben hatte. 2 Patienten erhielten 6 bzw. 9 Tage nach initialer Voriconazolgabe Amphotericin B, was in 1 Fall nach 3 Tagen zum Therapieerfolg führte, während der andere Patient dennoch verstarb. Letzterer hatte Voriconazol bereits ab Tag 2 nach Beginn der klinischen Symptomatik erhalten. Bei 1 Patienten änderte man nach 21 Tagen die Medikation auf liposomales Amphotericin B, was nach 5 Tagen zur Besserung der Symptomatik führte. 2 Patienten verstarben unter Voriconazoltherapie, wobei in 1 Fall bereits innerhalb der ersten 48h nach Beginn der klinischen Symptomatik antibakteriell und antimykotisch therapiert wurde.

5 Patienten erhielten Caspofungin intravenös, wobei in 3 Fällen ein positiver CT-Befund (mögliche IPA) dazu Anlass gab, während man in 2 Fällen aufgrund des klinischen Verdachts therapierte. Begonnen wurde die Therapie zwischen Tag 0 und Tag 14 (Mittelwert Tag 5,4; Median Tag 6). In 4 Fällen zeigte sich klinisch eine Befundbesserung nach 8 bis 18 Tagen (Mittelwert 12,5 Tage; Median 12 Tage) zwischen Tag 8 und Tag 24 (Mittelwert Tag 15,8; Median Tag 15,5), wobei sich für 2 Episoden der Therapieerfolg nicht beurteilen lässt, da die Patienten bereits an Tag 0 bzw. 1 antibakteriell und antimykotisch behandelt wurden. 1 Patient verstarb.

**Tabelle 20** fasst die antimykotische Behandlung und deren therapeutisches Ansprechen zusammen.

**Tabelle 20: Antimykotische Behandlung und therapeutisches Ansprechen**

Medikament	Amphotericin B	Liposomales Amphotericin B	Voriconazol	Caspofungin
<b>Klinische Episoden</b>	22 [+2 nach initialer Voriconazolgabe]	11 [+1 nach initialer Voriconazolgabe]	29	5
<b>Behandlungsbeginn</b>	Tag 1-20 (Median Tag 9) [Tag 11 bzw. 13]	Tag 0-16 (Median Tag 8) [Tag 36]	Tag 0-24 (Median Tag 7)	Tag 0-14 (Median Tag 6)
<b>Therapeutisches Ansprechen</b>	Bei 17 Patienten nach 1-34 Tagen (Median 9 Tage) [+bei 1 Patienten nach 3 Tagen]	Bei 8 Patienten nach 3-27 Tagen (Median 11 Tage) [+bei 1 Patienten nach 5 Tagen]	Bei 24 Patienten nach 2-25 Tagen (Median 8 Tage)	Bei 4 Patienten nach 8-13 Tagen (Median 12 Tage)
<b>Behandlungserfolg nicht beurteilbar</b>	In 2 Fällen		In 4 Fällen [+3x Therapieumstellung]	In 2 Fällen
<b>Behandlungserfolg blieb aus (Patient verstorben)</b>	5 [+1] Patienten	3 Patienten	2 Patienten	1 Patient

Insgesamt zeigte sich bei 47 Patienten eine klinische Besserung der Symptome unter antimykotischer Therapie. In 8 Fällen lässt sich der therapeutische Erfolg nicht beurteilen, da die Patienten frühzeitig antibakteriell und antimykotisch behandelt wurden. 12 Patienten sind trotz aller therapeutischen Maßnahmen verstorben, wobei in 4 Fällen bereits innerhalb der ersten 48h nach Beginn der klinischen Symptomatik antibiotisch und antimykotisch therapiert wurde.

#### 4.4.3. Diagnostische Ergebnisse vor Beginn der Therapie

In 55 Fällen war ein auffälliger CT-Befund (13-mal wahrscheinliche IPA, 42-mal mögliche IPA) für die Initiierung der Antimykotikagabe verantwortlich. Bei 2 Patienten wurde aufgrund von Infiltraten im Thorax Röntgenbild antimykotisch therapiert, wobei in 1 Fall zusätzlich ein positiver *Aspergillus*-AG-Nachweis aus der BAL vorlag. In 1 Fall wurde die antimykotische Therapie aufgrund einer positiven PCR mit Nachweis von

*Aspergillus fumigatus*-DNA im Blut begonnen. In 9 Fällen behandelte man ausschließlich aufgrund des klinischen Verdachts, wobei anzumerken bleibt, dass sich bei keinem Patienten die Diagnose zum Zeitpunkt des Behandlungsbeginns im Sinne der EORTC/MSG-Kriterien sichern ließ.

Man initiierte die antimykotische Behandlung in 13 Fällen aufgrund eines CT-Befundes, der eine invasive pulmonale Aspergillose wahrscheinlich machte. In 12 Fällen besserte sich die klinische Symptomatik nach 1-14 Tagen (Mittelwert 6,5 Tage; Median 6 Tage), wobei sich für 1 Fall das therapeutische Ansprechen nicht sicher beurteilen lässt, da bereits in den ersten 48h nach Beginn der klinischen Symptomatik antibiotisch und antimykotisch behandelt wurde. 1 Patient verstarb nach 11 Tagen. In 42 Fällen behandelte man aufgrund einer differentialdiagnostisch möglichen IPA im CT. In 34 Fällen führte die Behandlung nach 2-27 Tagen (Mittelwert 10,8 Tage; Median 8,5 Tage) zum therapeutischen Erfolg, wobei für 4 Episoden das Ansprechen auf die antimykotische Therapie nicht eindeutig beurteilbar ist, da die Patienten bereits innerhalb der ersten 48h Antibiotika und Antimykotika erhalten haben. 8 Patienten sind verstorben, wobei in 3 Fällen bereits innerhalb der ersten 48h nach Beginn der klinischen Symptomatik antibakteriell und antimykotisch behandelt wurde.

In 1 Fall initiierte man die antimykotische Therapie aufgrund des klinischen Verdachts sowie unspezifischen Infiltraten im Thorax-Röntgenbild, was die Symptomatik nach 9 Tagen besserte. Ein CT oder andere Untersuchungsmethoden wurden auch zu einem späteren Zeitpunkt nicht durchgeführt.

In 1 Fall begann man die Therapie aufgrund von Infiltraten im Thorax-Röntgenbild sowie einem positiven *Aspergillus*-AG-Nachweis in der BAL. Der Patient ist verstorben.

1 weiterer Patient erhielt Antimykotika aufgrund des Nachweises von *Aspergillus fumigatus*-DNA im Blut mittels PCR, wobei sich nach 18 Tagen ein therapeutischer Erfolg zeigte. Ein 13 Tage nach Behandlungsbeginn durchgeführtes CT machte eine IPA differentialdiagnostisch möglich.

9 Patienten behandelte man ausschließlich aufgrund des klinischen Verdachts, was in 7 Fällen die Symptomatik nach 8-34 Tagen (Mittelwert 19 Tage; Median 18 Tage) besserte, wobei sich für 3 Patienten der Behandlungserfolg nicht sicher beurteilen lässt, da sie bereits an Tag 0 bzw. 1 antibakteriell und antimykotisch therapiert wurden. Spätere CT-Untersuchungen ergaben in 3 Fällen 1, 2 bzw. 3 Tage nach Behandlungsbeginn zunächst negative Befunde, während 9, 18 bzw. 20 Tage danach

eine IPA differentialdiagnostisch möglich war. Für die 3 anderen Patienten ließ sich 5, 7 bzw. 9 Tage nach Therapieinitiation eine IPA im CT ebenfalls nicht mehr ausschließen. 1 Patienten behandelte man bei neutropenischem Fieber und zuvor bereits beschriebenen pulmonalen Infiltraten mit Verdacht auf eine atypische Pneumonie bereits ab Tag 0, was die klinische Symptomatik nach 20 Tagen besserte. Eine Computertomographie wurde auch zu einem späteren Zeitpunkt nicht durchgeführt. 2 Patienten verstarben, wobei in 1 Fall bereits innerhalb der ersten 48h nach Beginn der klinischen Symptomatik antibakteriell und antimykotisch behandelt wurde. Bei diesem Patienten erbrachte eine 8 Tage nach Behandlungsbeginn durchgeführte Bronchoskopie einen positiven *Aspergillus*-AG-Nachweis in der bronchoalveolären Lavage.

#### **4.4.4. Antiinfektiöse Therapie zum Zeitpunkt der Diagnostik**

Bei allen Patienten wurde an Tag 0 (Beginn der klinischen Symptomatik) mit der Breitspektrum-Antibiotikatherapie begonnen.

Mit einer antimykotischen Therapie vor der ersten CT-Untersuchung wurde bereits in 7 von 64 Fällen begonnen. 30 von 33 Patienten bekamen antimykotische Therapeutika zum Zeitpunkt der ersten bronchoskopischen Untersuchung und 4 von 5 zum Zeitpunkt der transbronchialen Biopsie. 11 von 26 bzw. 13 von 23 Patienten wurden bereits behandelt, als erste Blutproben zum *Aspergillus*-AG- bzw. Pan-Fungus und/oder *Aspergillus*-DNA-Nachweis abgenommen wurden. Berücksichtigt wurden alle Patienten, die bereits wenigstens 24h antimykotisch behandelt wurden.

**Tabelle 21** gibt einen Überblick über die bereits begonnene antimykotische Therapie zum Zeitpunkt der durchgeführten Diagnostik.

**Tabelle 21: Antimykotische Therapie zum Zeitpunkt der diagnostischen Maßnahmen.**

<b>1.Diagnostische Maßnahme</b>	<b>Antimykotische Therapie zum Zeitpunkt der Diagnostik in % der Fälle</b>	<b>Therapiebeginn X Tage vor der diagnostischen Maßnahme</b>
<b>CT</b>	11 %	5-20 Tage (Median 9 Tage)
<b>Bronchoskopie</b>	91 %	1-23 Tage (Median 3 Tage)
<b>Biopsie</b>		
- TBB	80 %	1-23 Tage (Median 7,5 Tage)
- Offene Biopsie	100 %	39 Tage
<b>Asp.AG- Nachweis</b>	42 %	1-13 Tage (Median 2 Tage)
<b>PCR</b>	57 %	1-28 Tage (Median 4 Tage)



## 5. Diskussion

### 5.1. Klinik

#### 5.1.1. Klinische Symptomatik

In der vorliegenden Arbeit wurden diagnostische Methoden bei dem klinischen Verdacht auf eine invasive pulmonale Aspergillose bei hochgefährdeten Patienten mit hämatologisch-onkologischen Erkrankungen evaluiert.

Die retrospektive Datenanalyse stützte sich auf 58 Patienten, wobei insgesamt 67 Episoden mit klinischem Verdacht auf eine IPA berücksichtigt wurden.

Der klinische Verdacht definierte sich vor allem durch therapieresistentes oder nach anfänglicher Entfieberung unter antibiotischer Behandlung wieder aufgetretenes Fieber sowie durch teilweise vorhandene unspezifische pulmonale Symptome, die während 49 klinischer Episoden (bei 41 Patienten) dokumentiert wurden. In absteigender Häufigkeit fanden sich hier Husten (48%), Dyspnoe (37%), Brustschmerz (22%), atemabhängige pleuritische Schmerzen (7%), Auswurf (6%), Hämoptysen (3%) und akute respiratorische Insuffizienz (1%).

In der Literatur finden sich sehr unterschiedliche Angaben zur Symptomatik einer IPA, wobei grundsätzlich betont wird, dass die beschriebenen klinischen Auffälligkeiten nicht pathognomisch für eine Aspergillose sind. Albelda et al. und Gerson et al. beobachteten zum Beispiel bei neutropenischen Patienten mit einer IPA am häufigsten Brustschmerzen (60%) und Hämoptysen (36%) [2, 38]. Auch Pagano et al. und Walsh beobachteten bei Aspergilluspneumonien initial häufig Pleuraschmerzen durch pleuraständige Herde. Hämoptysen traten im Frühstadium hingegen selten auf, sondern fanden sich typischerweise während und nach der Knochenmarkregeneration (Gefahr der Gefäßwandruptur durch Einwanderung von Neutrophilen) [98, 135]. Bei 17 Patienten (18 Episoden) wurden keine weiteren Symptome dokumentiert, während sie bei 22 Patienten (28 Episoden) erst im Krankheitsverlauf auftraten. Eine sichere Diagnosestellung anhand einer typischen Symptomatik ist nicht möglich. Im klinischen Alltag sollten die differentialdiagnostischen Überlegungen bei Risikopatienten mit antibiotikarefraktärem Fieber daher immer eine invasive Aspergillose mit einbeziehen. Diese Aussage wird auch durch die Ergebnisse von Schiel et al. gestützt. Sie studierten prospektiv hämatologische Patienten mit Fieber unklarer Ursache während einer

neutropenischen Phase. Initial erhielten alle Patienten eine antibiotische Therapie, die bei einem Nicht-Ansprechen (keine Entfieberung nach 4-6 Tagen) entweder umgesetzt oder zusätzlich um ein Aspergillen-wirksames Antimykotikum erweitert wurde. Die modifizierte antibakterielle Therapie führte in 55,6% der Fälle zu einer Entfieberung, während diese unter zusätzlicher antimykotischer Therapie in 77,8% der Fälle erreicht werden konnte [116].

### **5.1.2. Risikofaktoren für die Entwicklung einer IPA**

Da eine lange und schwere Neutropenie (definitionsgemäß  $< 500/\mu\text{l} > 10$  Tage) als bedeutender Risikofaktor für die Entwicklung einer IPA gilt, wurde dieser Parameter in der Datenerhebung dieser Arbeit berücksichtigt. In 17 Fällen (25,4%) begann die klinische Symptomatik bereits, bevor die Patienten neutropenisch wurden, während sich in 1 weiteren Fall mit 2 berücksichtigten Episoden (3%) die neutrophilen Granulozyten im Krankheitsverlauf im Normbereich befanden. Die Neutropenie als bedeutender Risikofaktor für eine IPA lässt sich daher für 28% der hier betrachteten Fälle nicht als relevant belegen. Allerdings kann der Einfluss der Neutropenie als bedeutender Risikofaktor anhand dieser Daten keineswegs widerlegt werden, da frühere neutropenische Episoden der Patienten im Rahmen dieser Arbeit nicht berücksichtigt wurden. Vielmehr muss man davon ausgehen, dass die Infektion mit Aspergillen bereits zu einem früheren Zeitpunkt der Erkrankung stattgefunden hat, da es sich bei den Patienten zumeist nicht um die erste neutropenische Phase handelte.

Als weitere Risikofaktoren sind eine langfristige Glukokortikoidbehandlung [13], eine langdauernde Gabe von Ganciclovir zur CMV-Prophylaxe [34] sowie eine Langzeitprophylaxe mit Fluconazol [62, 127] beschrieben. Des Weiteren sind Patienten mit Neutrophilen-/Makrophagendysfunktion, angeborenen oder erworbenen Immundefekten besonders prädisponiert für eine invasive Fadenpilzinfektion [13]. Auch äußere Faktoren, wie z.B. eine erhöhte Staubexposition aufgrund von Baumaßnahmen in der Umgebung, stellen eine wesentliche Infektionsquelle dar [39]. Die Betreuung von Risikopatienten in Räumlichkeiten mit hocheffektiver Luftfilterung wird daher in entsprechenden Leitlinien empfohlen [61]. Das eventuelle Vorliegen eines oder mehrerer dieser Risikofaktoren in den im Rahmen dieser Arbeit betrachteten Fällen

kann nicht beurteilt werden, da sie bei der Datenerhebung keine Berücksichtigung fanden.

In 48 Fällen (71,6%) wurden die Patienten erst in der Phase der Neutropenie klinisch auffällig. Die Neutropeniedauer bis zum Beginn der klinischen Symptomatik betrug hier in 21 Fällen (31,3%) >10 Tage und in 27 Fällen (40,3%) <10 Tage. Insgesamt ergab sich der klinische Verdacht auf eine IPA bei 21 Hochrisikopatienten, die >10 Tage lang Neutrophilenzahlen <500/ $\mu$ l hatten. Bei 27 anderen Patienten bestand ein Standardrisiko, welches durch eine Neutropenie <500/ $\mu$ l <10 Tage definiert wird. Obgleich sich ein kausaler Zusammenhang von Neutropenie und Erkrankung in diesen Fällen nicht sicher beweisen lässt, ergibt sich dennoch ein Grund zu der Annahme, dass die geringen Neutrophilenzahlen ursächlich das Erkrankungsrisiko dieser Patienten erhöht haben, da eine lange und schwere Neutropenie durchaus einen der bedeutendsten Risikofaktoren für eine invasive Fadenpilzinfektion darstellt [37].

Es stellt sich die Frage, ob eine prophylaktische systemische antimykotische Therapie mit Wirksamkeit gegen Aspergillen für sogenannte Hochrisikopatienten mit zu erwartender schwerer Neutropenie empfehlenswert ist. Angesichts eventueller arzneimittelbedingter Nebenwirkungen und einer in der Literatur z.B. für AML- Patienten beschriebenen Inzidenz von etwa 8% [99] lässt sich diese Maßnahme nicht für alle Patienten rechtfertigen. Zudem sollte berücksichtigt werden, dass die langfristige prophylaktische Gabe antimikrobieller Substanzen immer die Gefahr von Resistenzen und einem Wandel im Erregerspektrum mit sich bringen. So verminderte z.B. die breite Einführung einer prophylaktischen Fluconazol-Therapie deutlich die invasiven Hefepilzinfektionen, während invasive Aspergillosen seither häufiger auftraten [84, 127]. Durch den breiten Einsatz von Voriconazol scheinen resistente Fadenpilzinfektionen anzusteigen [62] und die Gabe von Posaconazol reduziert zwar die Inzidenz von Schimmelpilzinfektionen [21], aber gleichzeitig scheinen sich multiazolresistente Aspergillen auszubreiten [130]. Wichtig erscheint hier ein frühzeitiges Einbeziehen einer möglichen IPA in die differentialdiagnostischen Überlegungen bei klinischen Auffälligkeiten und/ oder antibiotikarefraktärem Fieber sowie vor allem ein früher Therapiebeginn auch ohne eine gesicherte Diagnose.

Angaben zur Inzidenz einer IPA unter den hier untersuchten neutropenischen Patienten sind in dieser Arbeit nicht möglich, da nur Patienten mit der klinischen

Verdachtsdiagnose einer Aspergillose berücksichtigt wurden und keine Erfassung aller neutropenischen Patienten im Untersuchungszeitraum erfolgte.

## **5.2. Bildgebende Diagnostik**

### **5.2.1. Konventionelles Röntgen versus Computertomographie**

#### **5.2.1.1. Vergleich der zeitlichen Nachweisbarkeit pulmonaler Infiltrate**

Im Rahmen der Fokussuche erhielten die meisten Patienten (55 Fälle, 82%) zunächst eine konventionelle Röntgenuntersuchung des Thorax. Diese wurde zwischen Tag 0 (Beginn der klinischen Symptomatik) und Tag 3 (Median Tag 1) durchgeführt und ergab in 17 Fällen pathologische Befunde mit differentialdiagnostisch möglicher Aspergillose.

Typische radiologische Befunde, die eine pilzbedingte Pneumonie wahrscheinlich machen wie z.B. das Halozeichen im CT sind für die konventionelle Röntgenuntersuchung nicht klar definiert und hier erst im späteren Verlauf zu erwarten. In frühen Erkrankungsstadien zeigt die konventionelle Röntgenuntersuchung eine schlechte diagnostische Ausbeute [29, 64, 88]. Der Nachweis von Lungeninfiltraten bei neutropenischen Patienten mit antibiotikaresistentem Fieber gelingt mit der konventionellen Röntgenaufnahme in etwa 10% der Fälle, während das CT zeitgleich in etwa 50% der Fälle pathologische Befunde zeigt [46]. Für den klinischen Alltag findet man daher die Empfehlung der CT-Durchführung bei Patienten mit einem Risiko für komplizierende pulmonale Infektionen [91].

Unter den 17 Fällen mit auffälligem Röntgenbefund initiierte man in 12 Fällen innerhalb der nächsten 3 Tage eine zusätzliche CT-Untersuchung. Dabei ergab sich 1 negativer Befund, der jedoch im Verlauf positiv wurde, während die CT-Aufnahmen in den anderen 11 Fällen ebenfalls auffällig waren. In 4 weiteren Fällen führte man zu einem späteren Zeitpunkt der febrilen Episode (7-11 Tage nach dem pathologischen Röntgenbefund von Tag 0 bzw. 1) eine Computertomographie durch, welche ausnahmslos pathologische Befunde erbrachte.

In zahlreichen Studien wurde das zeitliche Auftreten von auf eine IPA verdächtigen Befunden im CT versus Röntgen miteinander verglichen. Heussel et al. kamen dabei zu dem Ergebnis, dass der Nachweis einer Pneumonie bei febrilen neutropenischen

Patienten mit unklarem Infektionsfokus mit dem HR-CT durchschnittlich 5 Tage eher gelingt als mit dem konventionellen Röntgen [45].

Betrachtet man die Patientengruppe mit initial pathologischem Röntgenbefund (17 Fälle), so lässt sich lediglich feststellen, dass der Nachweis von pulmonalen Infiltraten mit dem Röntgen in 1 Fall eher gelang als mit dem CT. Die Röntgenaufnahme von Tag 0 zeigte hier eine diskret vermehrte interstitielle Zeichnung- insbesondere im rechten Unterfeld- im Sinne einer möglichen atypischen Pneumonie. Das daraufhin veranlasste CT mit Kontrastmittel an Tag 1 blieb hingegen unauffällig. Erst eine erneute CT-Untersuchung an Tag 13 wies pulmonale Infiltrate beidseits nach. Als mögliche Ursache lässt sich bei der angewendeten Spiral-CT mit 1cm Vorschub die Lage der radiologischen Auffälligkeiten zwischen den CT-Schichten diskutieren. Da dieser diagnostische Fehler häufig eintreten kann, gibt es heute die Empfehlung der Anwendung von Mehrzeilen-Spiral-CT bzw. HR-CT mit möglichst geringer Schichtdicke, die mehr diagnostische Sicherheit erbringen [91]. Andererseits kann auch ein eventuell falsch-pathologischer Befund der konventionellen Röntgenaufnahme, hinsichtlich der differentialdiagnostischen Überlegung einer IPA, diskutiert werden. Für die anderen 16 Fälle ist ein Vergleich des zeitlichen Nachweises pulmonaler Infiltrate durch konventionelles Röntgen versus CT nicht möglich, da die Patienten grundsätzlich zunächst eine Röntgenuntersuchung erhalten haben. Erst nach dem Vorliegen pathologischer Röntgenbefunde wurde hier eine computertomographische Untersuchung veranlasst. Es stellt sich die Frage, ob für den klinischen Alltag das konventionelle Röntgen noch empfohlen werden kann. Hinsichtlich der Tatsache, dass pathologische Röntgenbefunde in fast allen Fällen durch eine CT zur besseren Beurteilung der Infiltrate ergänzt werden, scheint die konventionelle Röntgenuntersuchung überflüssig.

In 38 Fällen zeigte die initiale konventionelle Röntgenuntersuchung keinen pathologischen Befund. In 28 Fällen ergaben sich im weiteren Verlauf pathologische Auffälligkeiten, die eine atypische Pneumonie differentialdiagnostisch möglich machten. In 18 dieser Fälle veranlasste man daraufhin eine CT-Untersuchung, die ausnahmslos auffällige Befunde ergab. 9 Patienten erhielten bereits vor dem Befundwandel im Röntgen ein CT. Für letztere lässt sich in 4 Fällen die Aussage machen, dass der Nachweis pulmonaler Infiltrate mit dem CT eher gelang als mit dem konventionellen Röntgen. Der Zeitraum zwischen den einzelnen Untersuchungen betrug hier max. 24 h.

In den anderen 5 Fällen fand die Röntgenuntersuchung bereits 2-12 Tage vor bzw. 5-16 Tage nach der Computertomographie statt. Aufgrund dieser unterschiedlichen zeitlichen Durchführung der Untersuchungen, lässt sich hier die Nachweisbarkeit pulmonaler Infiltrate mit Röntgen versus CT nicht korrekt vergleichen. 1 Patient erhielt keine zusätzliche CT-Untersuchung.

In 4 Fällen blieb der Röntgenbefund im Verlauf trotz pathologischer Auffälligkeiten im CT negativ. Für diese Fälle lässt sich eine höhere diagnostische Ausbeute mittels CT belegen. Berücksichtigt man zusätzlich die 4 Fälle, in denen die Computertomographie maximal 24h vor oder nach der unauffälligen Röntgenuntersuchung einen pathologischen Befund ergab (s.o.), so lässt sich für insgesamt 8 von 53 Fällen, in denen die Patienten sowohl eine konventionelle Röntgen- wie auch CT-Untersuchung erhalten haben, die Aussage machen, dass der Nachweis pulmonaler Infiltrate mittels CT eher gelingt. Obwohl diese Aussage in ihrer wissenschaftlichen Gültigkeit aufgrund der geringen Fallzahl mit vergleichbaren Daten limitiert ist, lässt sich der Vorteil der CT gegenüber dem konventionellen Röntgen klar erkennen.

#### **5.2.1.2. Klinischer Nutzen von konventionellem Röntgen versus CT**

Gerade für die erste Untersuchung nach Beginn der klinischen Symptomatik zeigt sich die Computertomographie deutlich überlegen. Vergleicht man die Sensitivität beider Methoden, so ergibt sich für die erste CT eine Sensitivität von 90,6% versus 30,9%, die sich für die erste konventionelle Röntgenuntersuchung berechnen lässt. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden hier die CT-Befunde einer „wahrscheinlichen“ plus „möglichen“ IPA berücksichtigt, da im Rahmen dieser Arbeit auch alle unspezifischen Röntgenbefunde mit differentialdiagnostisch möglicher IPA als positiv gewertet wurden. Die wissenschaftliche Aussagekraft dieses Testparameters ist in der vorliegenden Arbeit dadurch stark eingeschränkt, dass die erste konventionelle Röntgenuntersuchung vor der ersten computertomographischen Untersuchung stattfand und dass eine IPA in keinem der berücksichtigten Fälle diagnostisch nach EORTC/MSG-Kriterien gesichert werden konnte. Da jedoch eine IPA bei neutropenischen Patienten mit antibiotikaresistentem Fieber in der Klinik immer noch selten sicher diagnostiziert wird, sollen diese Daten vergleichend aufgeführt werden.

Fast alle Patienten mit einem pathologischen Röntgenbefund wurden im weiteren Verlauf zur diagnostischen Abklärung der nur sehr unspezifischen Befunde zusätzlich computertomographisch untersucht. In nur 1 Fall blieb die CT dabei ohne pathologischen Befund, wobei mögliche Ursachen bereits diskutiert wurden.

Auch Patienten mit unauffälligem Röntgenbefund, aber klinischen Zeichen einer Atemwegsinfektion, erhielten häufig eine zusätzliche CT-Untersuchung. Diese zeigte in allen Fällen einen pathologischen Befund und stellt die Durchführung einer konventionellen Röntgenuntersuchung insbesondere bei neutropenischen Patienten mit antibiotikaresistentem Fieber und respiratorischen Symptomen in Frage. In den hier betrachteten Fällen wurden bei unveränderter Klinik teilweise auch erst mehrere Röntgenkontrollen durchgeführt. Ergaben diese im Verlauf dann einen pathologischen Befund, folgte häufig eine CT-Untersuchung zur weiteren diagnostischen Abklärung. Diese zeigte in allen Fällen pathologische Befunde und es ist zu vermuten, dass sich diese Auffälligkeiten mit der Computertomographie bereits früher hätten darstellen lassen.

Letzteres lässt sich zumindest für 8 von 53 Fällen (15,1%) definitiv behaupten, da hier unauffällige Röntgenbefunde pathologischen CT-Befunden gegenüber stehen. In der vorliegenden Arbeit erbringt also die CT in immerhin 15% der Fälle eine höhere diagnostische Ausbeute als das konventionelle Röntgen. Berücksichtigt man dann noch die Tatsache, dass fast alle Patienten mit pathologischem Röntgenbefund zusätzlich eine CT erhalten haben, so ergibt sich aus diesen Daten, unter Berücksichtigung der eingeschränkten Aussagekraft, für den klinischen Alltag die Empfehlung einer primären CT-Untersuchung bei neutropenischen Patienten mit antibiotikaresistentem Fieber.

## **5.2.2. Evaluation der Computertomographie**

### **5.2.2.1. CT- Morphologie**

#### **5.2.2.1.1. Halophänomen**

Im Rahmen der Evaluation der CT wurden die diagnostische Ausbeute, auch im Hinblick auf eine eventuell pathognomische CT-Morphologie, sowie vor allem der Nutzen in Bezug auf die therapeutischen Konsequenzen betrachtet.

Die erste CT-Untersuchung fand zwischen Tag 0 und Tag 25 (Median Tag 7) statt und ergab in 10 Fällen hochverdächtige Befunde, die eine Aspergillose im Sinne des verwendeten Bewertungsbogens wahrscheinlich machten.

48 Befunde wurden nach differentialdiagnostischen Überlegungen in die Kategorie "mögliche Infektion durch Aspergillen" eingestuft, während eine Aspergillose in 6 Fällen unwahrscheinlich erschien.

Für die 10 Fälle mit initial wahrscheinlicher IPA wurden einzelne wie auch multiple Infiltrate verschiedener Konfiguration und Dichte mit teilweise streifigen Ausläufern ins umgebene Lungenparenchym beschrieben. Als typisch für das initiale CT-Bild einer angioinvasiven Aspergillose gelten Noduli von 0,5–3cm bzw. seltener auch keilförmige Parenchymverdichtungen, die ischämischen Nekrosen als Folge des gewebeinvasiven Hyphenwachstums in Gefäße entsprechen. Im Randbereich dieser Läsionen bildet sich häufig eine Entzündungsreaktion. Die angrenzende, ringförmige Zone milchglasartiger Eintrübung, das sogenannte Halozeichen, stellt das Korrelat der Einblutung in die Umgebung des Infarktes dar [14]. Letzteres wird in der Literatur, insbesondere bei neutropenischen Patienten mit antibiotikaresistentem Fieber, als relativ spezifischer Befund einer IPA angegeben [40, 54, 107] und fand sich auch in fast allen pathologischen CT-Befunden der im Rahmen dieser Arbeit betrachteten Patienten. Die in **Tabelle 8** (siehe 4.3.2.1.) im Einzelnen aufgeführten Befunde sind ähnlich denen, die andere Autoren als auffällige CT-Morphologie bei ihren Patienten mit pulmonaler Aspergillose beobachtet haben [14, 17, 40]. Greene et al. fanden bei 94% der Patienten mit wahrscheinlicher oder möglicher IPA nach EORTC-Kriterien wenigstens 1 Knötchen >1cm Durchmesser im CT. Der fehlende Nachweis eines solchen Knotens spricht ihrer Ansicht nach bei neutropenischen Patienten mit therapierefraktärem Fieber gegen das Vorliegen einer IPA. Bei 61% dieser Patienten fand sich zusätzlich das Halo-Zeichen. Sie betonen, dass eine IPA der häufigste Grund für den Nachweis des CT-Halo-Zeichens bei Patienten mit einem hohen Risiko für Pilzinfektionen ist. Andere Auffälligkeiten, wie Parenchymverdichtungen, milchglasartige Trübung, Luftsichelzeichen, Kavernenbildung, infarktähnliche Läsionen wurden nur bei wenigen Patienten nachgewiesen [40].

Das CT-Halophänomen wurde bereits 1985 als typisch für eine invasive pulmonale Aspergillose beschrieben wurde [65], allerdings blieb dessen Spezifität kontroverser Diskussionspunkt. So wurde es bei anderen Pneumonien und zahlreichen weiteren



Differentialdiagnosen (siehe oben) beobachtet. Dennoch wird von Reichenberger et al. betont, dass das CT-Halozeichen zwar bei zahlreichen anderen pulmonalen Erkrankungen auftritt, sein prädiktiver Wert aber vor allem im klinischen Kontext des neutropenischen Fiebers mit 80-100% sehr hoch ist [107]. Auch Kami et al. beschrieben das CT-Halophänomen als spezifisch für eine invasive pulmonale Aspergillose bei neutropenischen Patienten mit malignen hämatologischen Erkrankungen und antibiotikaresistentem Fieber. Sie ermittelten eine Spezifität von 100% und eine Sensitivität von 76% [54].

#### 5.2.2.1.2. Zeitliche Nachweisbarkeit des Halozeichens

Zahlreiche Autoren betonen, dass das CT-Halozeichen nur kurzfristig vorhanden ist. Eine CT-Untersuchung sollte daher möglichst innerhalb der ersten 5 Tage nach der klinischen Verdachtsdiagnose durchgeführt werden. Caillot et al. analysierten 71 CT-Aufnahmen von 25 neutropenischen Patienten mit gesicherter invasiver pulmonaler Aspergillose. Das Halozeichen war dabei an Tag 0 (Tag der Diagnosestellung) bei 96%, an Tag 3 (Tag 2-Tag 5) bei 68%, an Tag 7 (Tag 6-Tag 10) bei 22% und an Tag 14 (Tag 11-Tag 19) bei 19% nachweisbar.  $\frac{3}{4}$  der initialen Halozeichen waren innerhalb von 1 Woche abgeklungen, wobei es in den meisten Fällen schon nach < 5 Tagen nicht mehr sichtbar war [18]. Die hier betrachteten Patienten mit initial wahrscheinlicher IPA hatten ihre erste CT-Untersuchung zwischen Tag 1 und Tag 14 (Median Tag 7). Es findet sich statistisch kein signifikanter Unterschied zum Zeitpunkt der CT- Durchführung bei den Patienten mit initial möglicher IPA (n=48). Die Untersuchung fand für letztere Fälle zwischen Tag 0 und Tag 25 (Median Tag 7) statt. Es bleibt die nicht zu beweisende Überlegung, dass bei einem Teil dieser Patienten das relativ spezifische CT-Halozeichen bereits nicht mehr nachweisbar war. Die im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Daten lassen sich nicht weiter mit denen von Caillot et al. vergleichen, da Tag 0 unterschiedlich definiert wurde. Im Rahmen dieser Arbeit wurde Tag 0 als Beginn der klinischen Symptomatik definiert, während Caillot et al. das Auftreten des Halozeichens im CT mit dem Tag 0 gleichsetzten [18].

In 10 Fällen mit initial möglicher IPA (zwischen Tag 1 und Tag 16) sowie 1 Fall mit initial negativem Befund (an Tag 2) ergab sich bei weiteren CT-Kontrollen im Erkrankungsverlauf ein Befundwandel, der unter anderem aufgrund des Nachweises des Halophänomens zur Diagnose einer wahrscheinlichen IPA führte. Das spricht bei

klinischem Verdacht auf eine IPA und unauffälligen bzw. unspezifischen CT- Befunden für CT-Verlaufskontrollen.

Caillot et al. machten außerdem darauf aufmerksam, dass 50% der von ihnen zwischen Tag 6 und Tag 10 durchgeführten CT-Untersuchungen aufgrund ihrer geringen Spezifität für die Diagnosestellung nicht nutzbar waren. Sie beobachteten unspezifische Zeichen bei 31% an Tag 3 (Tag 2-Tag 5), bei 50% an Tag 7 (Tag 6-Tag 10) und bei 18% an Tag 14 (Tag 11-Tag 19) [18]. Von den hier betrachteten 48 CT-Befunden, die eine IPA lediglich im Rahmen der Differentialdiagnostik möglich machten, ergaben sich insgesamt 13 (27,1%) zwischen Tag 6 und Tag 10. In 2 Fällen erbrachte eine Kontroll-CT an Tag 13 bzw. Tag 23 einen Befundwandel hin zu wahrscheinlicher IPA.

Der Nachweis des CT-Halozeichens gestaltet sich wegen der Abhängigkeit seines zeitlichen Vorhandenseins teilweise schwierig. Aufgrund des hohen positiven prädiktiven Wertes des Halozeichens bei Risikopatienten mit antibiotikaresistentem Fieber [40, 107] ergibt sich bei seinem Vorhandensein jedoch durchaus ein diagnostischer Nutzen, aus welchem wertvolle therapeutische Konsequenzen gezogen werden können. Allerdings lässt sich eine invasive pulmonale Aspergillose bei fehlendem Nachweis des Halozeichens nicht ausschließen.

#### 5.2.2.1.3. Weitere radiologische Befunde mit Hinweis auf eine IPA

Weitere als spezifisch beschriebene Befunde wie Luftsichelzeichen (air crescent) und Kavernenbildung spielen in der Frühdiagnostik keine Rolle, da sie frühestens 10 Tage nach Beginn der klinischen Symptomatik und Auffälligkeiten im CT zum Zeitpunkt restituerter Neutrophilenzahlen mit konsekutiver Abräumreaktion zu beobachten sind [18]. In der Studie von Caillot et al. war das Luftsichelzeichen an Tag 3 (Tag 2-Tag 5) bei 8%, an Tag 7 (Tag 6-Tag 10) bei 28% und an Tag 14 (Tag 11-Tag 19) bei 63% der durchgeführten computertomographischen Untersuchungen nachweisbar [18]. Sowohl das Luftsichelzeichen als auch die Kavernen entwickeln sich vornehmlich aus größeren Läsionen. Die Häufigkeiten ihres Auftretens im Verlauf der invasiven pulmonalen Aspergillose liegen nach Literaturangaben bei 45-50% [14]. Entsprechend ihrer Assoziation mit einer Knochenmarkerholung ist das Auftreten dieser Spätzeichen mit einer günstigeren Prognose korreliert [14]. Da es im Rahmen dieser Arbeit um die Evaluation diagnostischer Methoden, die der Notwendigkeit einer möglichst frühzeitigen Diagnosestellung entsprechen, geht, wurde das eventuelle Auftreten dieser

Spätzeichen nicht berücksichtigt. Greene et al. haben in ihrer Arbeit auch das Halozeichen als prognostisch bedeutsam beschrieben. Sie beobachteten bei Patienten mit versus ohne Halophänomen im CT-Befund ein besseres therapeutisches Ansprechen (52% versus 29%) sowie eine höhere Überlebensrate (71% versus 53% nach 84 Tagen) [40]. Diese Aussage lässt sich im Rahmen dieser Arbeit nicht so deutlich bestätigen. 90% der Patienten mit einem Halozeichen im initialen CT bzw. 85% der Patienten mit einem Halophänomen in CT-Verlaufskontrollen versus 81% der Patienten ohne den Nachweis eines Halozeichens zeigten hier ein Ansprechen auf die antimykotische Therapie, wobei eventuelle Ursachen an anderer Stelle (5.2.2.2.) diskutiert werden.

### **5.2.2.2. Therapeutische Konsequenzen und klinischer Verlauf**

#### **5.2.2.2.1. Bedeutung des frühzeitigen Therapiebeginns**

Vergleicht man den Zeitpunkt der CT-Durchführung sowie den Behandlungsbeginn von den Patienten mit versus ohne therapeutisches Ansprechen, so stellt man fest, dass Patienten, bei denen eine Besserung der klinischen Symptomatik ausblieb, ihre CT und damit ihre antimykotische Therapie durchschnittlich früher (Therapiebeginn Tag 1-16, Median Tag 6) erhalten haben, als die Patienten mit einem therapeutischen Ansprechen (Therapiebeginn Tag 0-24, Median Tag 8). Von Eiff et al. haben bei Patienten mit IPA und spätem Therapiebeginn (>10 Tage nach ersten klinischen und/ oder radiologischen Erkrankungszeichen) eine Mortalität von 90% beschrieben. Diese sank auf 40% bei früherem Behandlungsbeginn [132]. Betrachtet man oben genannte Zahlen aus dieser Blickrichtung, so zeigt sich, dass die antimykotische Therapie bei 37% der Patienten mit versus 44% der Patienten ohne therapeutisches Ansprechen >10 Tage nach Beginn der klinischen Symptomatik begonnen wurde. Betrachtet man zusätzlich die Patienten, bei denen kein pathologischer CT-Befund zur Therapieinitiierung führte, so werden diese Zahlen noch deutlicher. So hatten 34,5% der Patienten mit versus 50% der Patienten ohne therapeutisches Ansprechen ihren Behandlungsbeginn >10 Tage nach ersten klinischen Auffälligkeiten. Diese Zahlen verdeutlichen die Bedeutung eines frühen Therapiebeginns.

In 20 von 25 Fällen begann man erst >10 Tage nach Beginn der klinischen Symptomatik mit der weiterführenden Diagnostik, was sich 11-mal durch das initiale Ansprechen auf die empirische Gabe eines Breitspektrum-Antibiotikums erklären lässt. Für die anderen Fälle, insbesondere für die 3 verstorbenen Patienten, muss diskutiert werden, ob eine frühzeitigere Diagnostik den klinischen Verlauf nicht hätte verbessern können. Hier könnte man sagen, dass bei neutropenischen Patienten mit Fieber spätestens 96h nach Nicht-Ansprechen auf die Breitspektrum-Antibiotikatherapie eine Computertomographie durchgeführt werden sollte. Damit würde man auch der Beobachtung von Caillot et al., dass das Halozeichen im CT nur kurzfristig vorhanden ist und eine CT daher möglichst innerhalb der ersten 5 Tage nach Beginn der klinischen Symptomatik durchgeführt werden sollte [18], gerecht werden.

In 2 Fällen blieb das initiale CT vor Tag 10 ohne pathologischen Befund, wobei sich im weiteren Verlauf 1-mal das Bild einer wahrscheinlichen und 1-mal einer differentialdiagnostisch möglichen IPA ergab. Bei letzterem Fall begann man aufgrund der Klinik bereits vor dem Befundwandel im CT mit der antimykotischen Therapie. Lässt sich für diese 2 Fälle auch kein signifikanter Unterschied im klinischen Verlauf feststellen, so wird dennoch die Bedeutung der klinischen Diagnosestellung ersichtlich. Eine IPA kann bei negativem CT-Befund nicht ausgeschlossen werden, weshalb die empirische Einleitung einer systemischen antimykotischen Therapie auch heute noch empfohlen werden muss.

In 2 Fällen ergab eine CT vor Tag 10 eine differentialdiagnostisch mögliche IPA. Die antimykotische Therapie wurde allerdings erst an Tag 18 bzw. 20 nach jetzt wahrscheinlicher IPA im CT begonnen. Berücksichtigt man, dass die Patienten auch zu diesem späten Zeitpunkt noch ein therapeutisches Ansprechen zeigten, könnte man die oben empfohlene Einleitung einer empirischen antimykotischen Therapie für unnötig halten. Allerdings findet man eben nicht in allen Fällen einen Befundwandel hin zu wahrscheinlicher IPA im CT, weshalb eine abwartende Haltung bei differentialdiagnostisch möglicher IPA im CT und vor allem auffälliger Klinik, aufgrund belegter positiver Auswirkung einer frühzeitigen antimykotischen Therapie, nicht gerechtfertigt ist. Bei neutropenischen Patienten mit antibiotikarefraktärem Fieber und klinischem Verdacht auf eine IPA haben auch unspezifische CT-Befunde, die eine IPA differentialdiagnostisch nicht ausschließen können, einen hohen positiven prädiktiven Wert, der eine antimykotische Therapie durchaus rechtfertigt.

#### 5.2.2.2.2. Prognostische Bedeutung des nachgewiesenen Halozeichens im CT

Auch die Beobachtung von Greene et al., dass Patienten mit einem Halophänomen im CT-Befund ein besseres therapeutisches Ansprechen sowie ein höheres Überleben zeigen [40], lässt sich nur bedingt bestätigen. So zeigten 90% der Patienten mit einem Halozeichen im initialen CT bzw. 85% der Patienten mit einem Halophänomen in CT-Verlaufskontrollen versus 81% der Patienten ohne den Nachweis eines Halozeichens ein Ansprechen auf die antimykotische Therapie. Diese insgesamt relativ hohen therapeutischen Ansprechraten übersteigen die Angaben von Greene et al. deutlich, die ein therapeutisches Ansprechen von 52% der Patienten mit Halozeichen im CT versus 29% der Patienten ohne Halozeichen beschreiben [40]. Greene et al. haben in Ihre Studie nur Patienten mit wenigstens 1 Knötchen >1cm im CT eingeschlossen. 5,5% der Patienten mit weniger spezifischen radiologischen Auffälligkeiten im CT wurden ausgeschlossen. Letztere wurden im Rahmen dieser Arbeit mit berücksichtigt. Die von Greene et al. berücksichtigten Patienten hatten außerdem in 14% der Fälle keine hämatologische Grunderkrankung und zeigten auch in den anderen Fällen ein breiteres Spektrum der der Immunsuppression zugrundeliegenden Ursachen [40], wobei bekannt ist, dass die hämatologisch-onkologische Grunderkrankung prognostisch unterschiedlich gewertet werden muss. So ermittelten Pagano et al. z.B. eine der IPA zuzuschreibende Todesfallrate von 38% versus 80% bei AML- versus CLL-Patienten [99]. Die in dieser Arbeit berücksichtigten Patienten hatten überwiegend eine AML. Des Weiteren muss die Tatsache, dass bei keinem der hier betrachteten Patienten eine IPA diagnostisch gesichert werden konnte, als Ursache für die deutlich höheren Ansprechraten diskutiert werden.

#### 5.2.2.2.3. Beurteilung des therapeutischen Ansprechens

Obgleich die verwendeten Therapeutika im Rahmen dieser Arbeit Erwähnung finden, soll an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, dass die Bedingungen eines Medikamentenvergleichs keineswegs vorliegen. Greene et al. haben in Ihrer Arbeit das beste therapeutische Ansprechen (62,3%) für Patienten mit Halozeichen im CT und initialer Voriconazoltherapie beobachtet, während Patienten ohne Halozeichen und initialer Amphotericin-B-Therapie die geringsten Ansprechraten (15,8%) zeigten [40]. Von den hier beobachteten Patienten mit einem Halozeichen im CT zeigten unter initialer Voriconazol-Therapie alle (5 Patienten) ein klinisches Ansprechen, während 1

Patient von 5 mit initialer Amphotericin-B-Therapie verstarb. Von 20 Patienten ohne Nachweis des Halozeichens im CT besserte sich bei 17 (85%) unter initialer Voriconazol-Therapie die klinische Symptomatik. In 2 Fällen ergab eine Kontroll-CT einen Befundwandel hin zu wahrscheinlicher IPA mit Nachweis des Halozeichens. Die Therapie wurde daraufhin auf Amphotericin B bzw. liposomales Amphotericin B umgestellt. Fraglich bleibt, ob der therapeutische Erfolg auf dieser Umsetzung der antimykotischen Medikation beruht. Das 1. CT an Tag 6 bzw. 15 nach Beginn der klinischen Symptomatik hatte bei diesen Patienten einen Befund mit differentialdiagnostisch möglicher IPA ergeben. Man begann daraufhin mit der Voriconazol-Therapie. Eine Kontroll-CT 6 bzw. 21 Tage nach Therapiebeginn mit Nachweis des Halozeichens wurde als wahrscheinliche IPA interpretiert. Unter Berücksichtigung des fehlenden klinischen Ansprechens setzte man die antimykotische Therapie um, was nach 2 bzw. 5 Tagen zur Besserung der Symptomatik führte. Allerdings gibt es durchaus Patienten mit ähnlichem Verlauf, sowohl der Klinik als auch der CT-Befunde, bei denen die antimykotische Medikation nicht umgesetzt wurde. Caillot et al. beobachteten, dass 50% der zwischen Tag 6 und Tag 10 sowie 18% der zwischen Tag 11 und Tag 19 durchgeführten CT-Untersuchungen aufgrund ihrer geringen Spezifität für die Diagnosestellung nicht nutzbar waren [18]. Des Weiteren zeigen CT-Verlaufskontrollen häufig erst nach bereits unauffälliger Klinik eine Befundregression, weshalb sie keinen aussagekräftigen Parameter zur Beurteilung des klinischen Ansprechens darstellen. Die Effizienz der antimykotischen Therapie sollte klinisch beurteilt werden. Fieber als häufig einziges Symptom sowie Verlaufskontrollen unspezifischer laborchemischer Parameter, wie z.B. IL-6, CrP sind für die Einschätzung des therapeutischen Ansprechens am besten geeignet. Fraglich ist, ob man das Ansprechen auf eine antimykotische Therapie- ähnlich der antibiotischen Therapiezeitlich definieren kann. In den oben benannten Fällen wurde die antimykotische Therapie nach 6 bzw. 21 Tagen umgesetzt. Allerdings zeigen mehrere der im Rahmen dieser Arbeit beobachteten Patienten erst ein relativ spätes therapeutisches Ansprechen. So zeigte sich die klinische Symptomatik bei insgesamt 11 Patienten erst nach  $\geq 18$  Tagen nach Therapiebeginn rückläufig. In den aktuellen Leitlinien der Arbeitsgemeinschaft Infektionen in der Hämatologie und Onkologie der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie wird zur Beurteilung des therapeutischen

Ansprechens eine antimykotische Therapie über wenigstens 14 Tage empfohlen. Erst danach sollte über ein Umsetzen der Medikamente nachgedacht werden [91].

Von 14 Patienten mit differentialdiagnostisch möglicher IPA, ohne Nachweis des Halozeichens, besserte sich bei 11 (79%) unter initialer Amphotericin-B-Therapie die klinische Symptomatik.

Das unterschiedliche Ansprechen auf die therapeutischen Maßnahmen lässt sich nur schwer beurteilen, da eine invasive pulmonale Aspergillose in den hier betrachteten Fällen ausschließlich eine Verdachtsdiagnose bleibt. Aus diesem Grund ist auch die Mortalitätsrate von insgesamt 18% nur unter Vorbehalt zu betrachten. In der Literatur finden sich sehr unterschiedliche Mortalitätsraten, wobei diese bei verschiedenen zugrundeliegenden Erkrankungen eine deutliche Varianz zeigen. Die häufigste hämatologisch- onkologische Grunderkrankung, der im Rahmen dieser Arbeit betrachteten Patienten, war eine AML (86%). Die Mortalitätsrate in dieser Patientengruppe betrug 20%. Ähnliche Angaben für Patienten mit AML, die in einer neutropenischen Phase mit antibiotikaresistentem Fieber und Lungeninfiltraten eine prompte antimykotische Therapie erhalten haben, liegen z.B. von Schiel et al. (17,6%) vor [116].

#### 5.2.2.2.4. Risikofaktoren für ein schlechteres therapeutisches Ansprechen

2 der verstorbenen Patienten (17%) hatten bereits zu einem früheren Zeitpunkt, in einer neutropenischen Phase im Rahmen Ihrer Grunderkrankung, eine IPA. In 1 Fall initiierte man die antimykotische Therapie zeitnah zum Beginn der klinischen Symptomatik, da bei Patienten, die eine IPA überlebt haben, diese Erkrankung als signifikant prädiktiv für einen komplizierten Verlauf febriler Episoden während erneuter neutropenischer Phasen gilt [60]. Bei dem anderen Patienten begann man erst an Tag 10 nach einer CT mit differentialdiagnostisch möglicher IPA mit der antimykotischen Therapie.

Von den im Rahmen dieser Arbeit betrachteten Patienten bestand bei insgesamt 9 während früherer neutropenischer Phasen der Verdacht auf eine IPA. Die Mortalitätsrate unter diesen Patienten betrug 22%. In nur 1 Fall behandelte man vor Beginn der klinischen Symptomatik prophylaktisch mit Voriconazol per os. Allerdings muss man sagen, dass sich bei diesem Patienten im Verlauf dennoch der klinische Verdacht auf eine IPA ergab. Nach dem Bild einer wahrscheinlichen IPA im CT von Tag

7 stellte man die Therapie auf liposomales Amphotericin B um, was die klinische Symptomatik nach 3 Tagen besserte.

Weitere Faktoren, die zu einem schlechteren therapeutischen Ansprechen führen, wie eine therapierefraktäre Leukämie bzw. ein Leukämierезидив, eine fortbestehende Neutropenie, eine mangelhafte Reduktion der immunsuppressiven Therapie sowie eine diffuse pulmonale Aspergillose, Hämoptysen und eine histologisch verifizierte Gefäßinvasion [24] sollten in klinischen Medikamentenvergleichsstudien zur Therapie invasiver Aspergillosen ihre Berücksichtigung finden, damit das wirksamste Medikament entsprechend dem vorliegenden individuellen Risikoprofil des Patienten möglichst definierbarer wird.

### **5.2.2.3. Pathologische CT- Morphologie im Verlauf**

Das therapeutische Ansprechen wurde über die Besserung der klinischen Symptomatik definiert. CT-Verlaufskontrollen zeigten hingegen häufig erst nach Eintritt einer klinischen Besserung eine Regression des initialen Befundes. Caillot et al. analysierten in ihrer Studie das kalkulierte Aspergillusvolumen im CT, wobei das Medianvolumen der Läsionen trotz effektiver antimykotischer Behandlung von Tag 0-Tag 7 etwa 4-fach anstieg, während es zwischen Tag 7 und Tag 14 konstant blieb [18], so dass die Zunahme der Läsionen nicht als ein Fortschreiten der Erkrankung und/oder ein mangelndes therapeutisches Ansprechen zu verwerfen ist.

Im Rahmen dieser Arbeit erhielten 51 Patienten insgesamt 87 weitere Untersuchungen, während 13 Patienten nur 1 CT-Untersuchung hatten. Berücksichtigt man alle CT-Untersuchungen beginnend mit dem ersten pathologischen Befund bis einschließlich dem 1.CT mit rückläufiger Tendenz (79 Untersuchungen bei 48 Patienten), so zeigte sich bei einer Kontroll-CT 5-41 Tage nach den ersten Auffälligkeiten (Median 12 Tage) eine Zunahme der Infiltrate (n=28). Eine weitgehende Befundkonstanz (n=14) beobachtete man bei CT-Durchführung 9-39 Tage danach (Median 16 Tage), während sich bei einer Kontrolluntersuchung 5-57 Tage danach (Median 34 Tage) eine rückläufige Tendenz (n=37) zeigte.

Diese Beobachtung macht deutlich, dass das CT nicht zur Beurteilung des initialen Ansprechens auf eine systemische antimykotische Therapie in klinischen Studien dienen kann, da eine Auflösung der Aspergillusinfiltrate innerhalb der ersten 2-3 Wochen nicht zu erwarten ist [78]. Auch im klinischen Alltag bleibt daher die



Beobachtung der Symptomatik unter Berücksichtigung laborbasierter Befunde, wie CrP oder IL-6, wichtiges Mittel zur Beurteilung des therapeutischen Ansprechens.

### **5.3. Stellenwert endoskopischer und bioptischer Verfahren**

#### **5.3.1. Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage**

##### **5.3.1.1. Diagnostischer Nutzen trotz antimykotischer Therapie**

Die Arbeitsgemeinschaft Infektionen in der Hämatologie und Onkologie der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie empfiehlt in ihren Leitlinien bei pulmonalen Infiltraten unter Berücksichtigung des klinischen Zustandes des Patienten eine Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage durchzuführen [91].

Insgesamt wurden 39 Bronchoskopien bei 33 von 58 Patienten (bzw. 67 Episoden des klinischen Verdachts auf eine IPA) durchgeführt.

In 5 Fällen gelang ein positiver *Aspergillus*-Antigen-Nachweis in der Lavageflüssigkeit. Die dazugehörigen CT-Befunde ergaben zuvor in 1 Fall eine wahrscheinliche Aspergillose und in 3 Fällen eine mögliche Aspergillose, wobei sich hier in 1 Fall bei einer CT-Verlaufskontrolle ein Befundwandel hin zu wahrscheinlicher IPA zeigte. 1 Patient bekam die bronchoskopische Untersuchung aufgrund nachgewiesener Infiltrate im Röntgenbild.

2 Patienten erhielten 13 bzw. 42 Tage später eine weitere Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage. Der initial positive *Aspergillus*-Antigen-Nachweis ließ sich nicht bestätigen, was sich durch die antimykotische Therapie, die 3 Tage vor bzw. 2 Tage nach der ersten bronchoskopischen Untersuchung begonnen wurde, erklären lässt.

In 28 Fällen konnte kein pathologisch relevanter Erreger in der BAL nachgewiesen werden. Allerdings wurden 25 Patienten bereits 1-23 Tage (Median 3 Tage) vor der Untersuchung antibiotisch und antimykotisch behandelt. Von den 5 Patienten mit positivem *Aspergillus*-AG-Nachweis in der BAL erhielten 3 bereits 1-8 Tage (Median 3 Tage) zuvor Antibiotika und Antimykotika. Es stellt sich die Frage, wie lange nach Beginn der antiinfektiösen Therapie mit der bronchoskopischen Untersuchung ein Keimnachweis erbracht werden kann und ob es für die klinische Praxis sinnvoll ist, eine Bronchoskopie darüber hinaus noch durchzuführen. Betrachtet man neben der

Notwendigkeit eines eventuellen *Aspergillus*-Nachweises auch die diagnostische Bedeutung des Nachweises bzw. Ausschlusses anderer pathogener Erreger, wie *Mykobakterien*, *Pneumocystis jiroveci*, *Zytomegalieviren*, multiresistenten gram-positiven oder gram-negativen Bakterien, so lässt sich die Durchführung einer Bronchoskopie mit BAL auch nach Beginn der antibiotischen Therapie durchaus rechtfertigen. Gerade für die mikrobiologische Erregeranzucht liegen auch dann noch akzeptable Bedingungen vor, da durch das relativ große Spülvolumen Antibiotika-Konzentrationen erheblich verdünnt werden [77].

4 Patienten mit initial negativem Erregernachweis in der BAL erhielten eine 2. Untersuchung, wobei der *Aspergillus*-Antigen-Nachweis in 1 Fall dadurch 14 Tage später gelang. Letzterer Patient wurde bereits 7 Tage vor der ersten Bronchoskopie antimykotisch behandelt. Zum Zeitpunkt der 2. bronchoskopischen Untersuchung zeigte sich die klinische Symptomatik des Patienten bereits seit 9 Tagen gebessert. An dieser Stelle wird nochmals deutlich, dass sich schwer ein Zeitfenster für die Dauer einer sinnvollen Durchführung der Bronchoskopie nach Therapiebeginn definieren lässt.

### **5.3.1.2. Verschiedene Möglichkeiten des Erregernachweises in der BAL**

Wenn auch die Durchführung einer Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage empfohlen wird, so bleibt ihr diagnostischer Nutzen dennoch weiterhin umstritten. Selbst bei histologisch bewiesener IPA gelingt der kulturelle Nachweis von *Aspergillus*-Spezies in der BAL nur in 50- 60% [52]. Allerdings sollte an dieser Stelle der Vorteil der Anwendung verschiedener Nachweismöglichkeiten aus dem Material der BAL Erwähnung finden. Gerade für Mykosen bieten sich auch morphologische Verfahren an. Pilze lassen sich mit Spezialfärbungen, wie z.B. Gomori-Grocott oder Calcoflour- white gut darstellen. Die Beurteilung von Septenbildung, Durchmesser oder Verzweigung der Hyphen dient dabei der Speziesdifferenzierung. So findet man bei *Aspergillus*-Spezies typischerweise septierte, 3-5µm breite, 45°-verzweigte Hyphen. Eine weitere Differenzierung der Fadenpilze anhand morphologischer Unterscheidungsmerkmale gelingt allerdings nur selten. Betrachtet man die geringe diagnostische Ausbeute anderer Methoden, so kann der einfache mikroskopische Nachweis von Aspergillen in der BAL dennoch für weitere diagnostische Bemühungen und auch therapeutische Konsequenzen richtungsweisend sein. Maertens et al. erzielten mit der Kombination

von Mikroskopie, kultureller Untersuchung und Galactomannan-Nachweis (cutoff  $\geq 1$ ) eine deutliche höhere Sensitivität im Vergleich zur Anwendung der einzelnen Verfahren. Sie geben für die Mikroskopie eine Sensitivität von 53,3%, für die kulturelle Erregeranzucht von 50% und für den Galactomannan-AG-Nachweis (cutoff  $\geq 1$ ) von 91,3% an. Insgesamt erzielten sie durch die mikroskopische oder kulturelle Untersuchung eine Sensitivität von 74%, welche sich bei Anwendung aller 3 Verfahren auf 98,2% steigern ließ [83].

### **5.3.1.3. Befundinterpretation**

Schwierig bleibt auch die Interpretation der pathologischen Befunde. Hinsichtlich der Keimkontamination gilt eine Keimdichte  $>10.000$  KBE/ml Lavageflüssigkeit als Kriterium eines pulmonalen Pathogens. Allerdings stellt sich gerade für immunsupprimierte Patienten die Frage, ob Keime nicht auch in geringerer Konzentration von pathogener Bedeutung sein können. Bessere Kontaminationsfreiheit erreicht man durch die geschützte bronchoalveoläre Lavage, bei der die eigentliche Spülung nicht durch den Arbeitskanal des Bronchoskops, sondern durch einen Ballonkatheter, der am vorderen Ende durch einen Paraffin-Pfropf geschützt ist, erfolgt. Weitestgehend kontaminationsfreie Proben lassen sich auch mit Hilfe der geschützten Bürste (protected specimen brush, PSB) gewinnen. Allerdings erreicht diese Methode aufgrund des geringen Spülvolumens eine deutlich geringere Repräsentativität als die BAL. Außerdem erreicht man mit der Bürste ohne präzise Steuerungsmöglichkeit einfach nur einen gegebenen peripheren Atemweg, während es mit der BAL möglich ist, repräsentatives Material aus einem gesamten Lungensegment oder –subsegment heraus zu spülen. Dabei sollte anhand von CT-Befunden das betroffene Lungensegment vor der bronchoskopischen Untersuchung definiert werden. Eine bereits begonnene antibiotische Therapie vermindert die diagnostische Ausbeute der Bürste wesentlich mehr als die der BAL. Vorteil der Bürste gegenüber der BAL ist die geringere Beeinträchtigung des Gasaustausches. Blutungskomplikationen, gerade bei neutropenischen Patienten, beobachtet man hingegen häufiger als mit der BAL [77]. Es wird deutlich, dass die BAL der PSB, insbesondere bei hämatologisch-onkologischen Patienten, überlegen ist.

#### **5.3.1.4. Ergänzender diagnostischer Nutzen von Bronchoskopie plus CT**

In den hier betrachteten Fällen lag zum Zeitpunkt der bronchoskopischen Untersuchung für 6 Patienten ein CT-Befund mit wahrscheinlicher IPA vor. In nur 2 Fällen ergab sich auch der Nachweis von *Aspergillus*-AG in der BAL, wobei der AG-Nachweis in 1 Fall erst bei der 2. Untersuchung gelang. Andererseits wurde der klinische Verdacht auf eine IPA in 3 von 26 Fällen mit differentialdiagnostisch möglicher IPA im CT durch einen positiven *Aspergillus*-AG-Nachweis in der BAL unterstützt. Die Bronchoskopie mit BAL kann dem Anspruch einer Methode zur sicheren Diagnosestellung keineswegs gerecht werden. Eine negative BAL stützt jedoch durch den Ausschluss anderer pathologischer Erreger die Verdachtsdiagnose einer Aspergillose und bleibt daher im Hinblick auf die therapeutischen Konsequenzen wichtig. Hinzu kommt der hohe positive prädiktive Wert bei nachgewiesenen Aspergillen in der BAL, weshalb diese diagnostische Methode auch in den aktuellen Leitlinien weiterhin empfohlen wird [91].

#### **5.3.1.5. Stellenwert des Aspergillusnachweises in Proben aus dem Respirationstraktes**

Auch der kulturelle Nachweis von *Aspergillus*-Spezies in Proben aus dem Respirationstrakt kann sehr problematisch sein, da ohne zusätzliche Histologie eine Besiedlung nicht sicher von einer Infektion zu unterscheiden ist. Trotz mäßiger Sensitivität dieser Methode ist der positive prädiktive Wert für den Nachweis einer invasiven pulmonalen Aspergillose bei neutropenischen Patienten relativ hoch, so dass bei Patienten mit einer hämatologisch-onkologischen Erkrankung, bei entsprechendem radiologischen Korrelat und klinisch verdächtigen Befunden, die Diagnose einer IPA als sehr wahrscheinlich anzusehen ist [48, 55]. Perfect et al. fanden z. B. bei Knochenmarktransplantatempfängern in 60%, bei Patienten mit malignen hämatologischen Erkrankungen in 50% und bei Patienten mit Neutropenie in 60% eine Assoziation zwischen positiven Kulturen und einer invasiven Erkrankung [103]. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden mikrobiologische Ergebnisse aus Rachenabstrichen oder Sputumproben nicht berücksichtigt. Aufgrund oben genannter Gründe haben diese Methoden, vor allem bei Patienten mit einem hohen Risiko für invasive Fadenpilzinfektionen, dennoch ihre Berechtigung. Peikert et al. ermittelten für die BAL versus Sputumproben eine diagnostische Ausbeute von 49% versus 34% und

beschreiben eine Erhöhung der diagnostischen Ergebnisse auf 63% bei Anwendung beider Verfahren [102].

#### **5.3.1.6. Galactomannan-Antigen-Nachweis in der BAL**

Unter der Annahme, dass alle hier betrachteten Patienten tatsächlich eine invasive pulmonale Aspergillose hatten, würde sich für den *Aspergillus*-Antigen-Nachweis aus der bronchoalveolären Lavage eine Sensitivität von 15,2% bei der ersten bzw. von 18,2% bei der zweiten Untersuchung ergeben. Die Darstellung der Sensitivität war nicht Gegenstand dieser Arbeit und soll lediglich die diagnostische Ausbeute der bronchoskopischen Untersuchung für die hier betrachteten Patienten verdeutlichen. Da in keinem Fall eine Aspergillose diagnostisch gesichert werden konnte, lassen sich diese Daten nicht sicher belegen. Die ermittelten Werte bleiben weit unter denen von Maertens et al, die für den Galactomannan-AG-Nachweis in der BAL eine Sensitivität von 91,3% angeben [83]. Während im Rahmen der vorliegenden Arbeit eine IPA in keinem Fall diagnostisch gesichert werden konnte, haben Maertens et al. nur Patienten mit gesicherter oder wahrscheinlicher IPA nach EORTC/MSG-Kriterien untersucht. Maertens et al. verwendeten einen cutoff-Wert von  $\geq 1$ , während die Positivität des AG-Nachweises im Rahmen der vorliegenden Arbeit mit  $\geq 1,5$  definiert wurde. Maertens et al. geben eine Sensitivität von 84,4% versus 91,3% bei einem cutoff-Wert von  $\geq 1,5$  versus  $\geq 1$  bei leicht sinkender Spezifität (90,2% vs 87,8%) an [83]. Des Weiteren lassen sich die vergleichbar geringen Sensitivitäten auch durch die in fast allen Fällen zum Zeitpunkt der Bronchoskopie bereits begonnene antibiotische und antimykotische Therapie erklären. Bei Maertens et al. bekam hingegen kein Patient vor der bronchoskopischen Untersuchung eine systemische antimykotische oder antibiotische Therapie mit bekanntem Einfluss auf die Testergebnisse (Piperacillin/Tazobactam, Amoxicillin/Clavulansäure). Unter einer prophylaktischen antimykotischen Therapie mit Aktivität gegen Schimmelpilze beobachteten sie falsch-negative Testergebnisse [83]. Da die Charakterisierung des Erregers entscheidende Konsequenzen für den Patienten hat, ist der Einsatz der Bronchoskopie gerade auch im Hinblick auf die relativ geringe Invasivität und Komplikationsrate dieser Untersuchung gerechtfertigt. Ein Nachteil der bronchoskopischen Untersuchung ist die mögliche Beeinträchtigung des Gasaustausches. Der Sauerstoffpartialdruck im arteriellen Blut sinkt um etwas 10-15mmHg und erreicht erst nach Stunden wieder das normale Niveau [77]. Als weitere Komplikationen wurden unter anderem selbst-limitierende, selten auch hämodynamisch

relevante Blutungen, Pneumothorax, bronchiale Spasmen oder Husten bei 5-33% der untersuchten Patienten beschrieben [131]. Betrachtet man den hohen positiven prädiktiven Wert für neutropenische Patienten mit antibiotikaresistentem Fieber, dann hat die bronchoskopische Untersuchung mit bronchoalveolärer Lavage bei Patienten mit dem klinischen Verdacht auf eine invasive pulmonale Aspergillose und suspekten CT-Befunden dennoch ihre Berechtigung. Allerdings muss auch bedacht werden, dass durch vorliegende Kontraindikationen, wie manifeste Blutungsneigung oder respiratorische Dekompensation die Möglichkeit einer diagnostischen Bronchoskopie gerade bei diesen Patienten häufiger limitiert wird.

### **5.3.2. Bioptische Methoden**

#### **5.3.2.1. Transbronchiale Biopsie**

In dem hier betrachteten Patientenkollektiv versuchte man den Erregernachweis in 5 Fällen mittels transbronchialer Biopsie zu erbringen, was in keinem Fall gelang. Alle Patienten hatten zuvor bereits eine Bronchoskopie, wobei die mikrobiologische Untersuchung der bronchoalveolären Lavage in 1 Fall einen positiven *Aspergillus*-AG-Nachweis erbrachte. Die dazugehörigen CT-Befunde zeigten 2-mal das Bild einer wahrscheinlichen und 3-mal das einer differentialdiagnostisch möglichen IPA.

In 1 Fall bekam der Patient an Tag 59 zusätzlich noch eine offene Lungenbiopsie. Zu diesem Zeitpunkt behandelte man bereits seit 39 Tagen antimykotisch. Nach einem negativen Erregernachweis in der 1.BAL, gelang bei diesem Patienten mit einer 2.bronchoskopischen Untersuchung an Tag 41 der Nachweis von *Aspergillus*-AG in der BAL. Mit der Lungenbiopsie konnte hingegen kein Keimnachweis erbracht werden.

4 der 5 Patienten wurden zum Zeitpunkt der transbronchialen Biopsie bereits seit 1-33 Tagen (Median 7,5 Tage) antimykotisch behandelt.

Ein Erregernachweis aus Gewebeproben nach transbronchialer Biopsie gelingt nach allgemeinen Vorstellungen relativ selten. Albelda et al. geben z.B. eine sichere Diagnosestellung in nur 6,5% der Fälle an [2]. Auch Peikert et al. beschreiben den Einfluss der transbronchialen Biopsie, im Hinblick auf eine Optimierung des diagnostischen Nutzens, als sehr gering. Die bereits oben beschriebene durchaus relevante Erhöhung der diagnostischen Ausbeute bei Berücksichtigung der

mikrobiologischen Ergebnisse aus BAL und Sputumproben konnte durch die zusätzliche Durchführung einer transbronchialen Biopsie nicht signifikant gesteigert werden [102].

Cazzadori et al. beobachteten in Ihrer Arbeit hingegen einen deutlichen Vorteil der transbronchialen Biopsie gegenüber der BAL. Die diagnostische Ausbeute bei Patienten mit malignen hämatologisch-onkologischen Erkrankungen betrug 55% für die TBB versus 20% für die BAL. Besonders die invasive pulmonale Aspergillose mit invasivem Hyphenwachstum in die Blutgefäße, ischämischen Nekrosen und Hämorrhagie ist dem Nachweis durch die BAL schwer zugänglich [19]. Im Rahmen dieser Arbeit gelang der mikrobiologische Nachweis ätiologisch relevanter Erreger in 20% (1 Fall mit positivem *Aspergillus*-AG-Nachweis) versus 0% der Fälle mit der BAL versus der TBB. Aufgrund der geringen Fallzahl ist die Beurteilung dieser Daten jedoch sehr limitiert. Bedeutender Nachteil der TBB, gerade bei hämatologisch-onkologischen Patienten, bleibt die notwendige Thrombozytenzahl von  $>50 \times 10^9/l$ . Bei geringer diagnostischer Ausbeute der TBB ist diese Untersuchung in den aktuellen Leitlinien der Arbeitsgemeinschaft Infektionen in der Hämatologie und Onkologie der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie nicht empfohlen [91].

### **5.3.2.2. CT- gesteuerte perkutane Lungenbiopsien**

Ein höherer diagnostischer Nutzen wird für CT-gesteuerte perkutane Lungenbiopsien mit zusätzlicher Feinnadelaspiration für zytologische Untersuchungen beschrieben. Nosari et al. geben die Sensitivität für den Nachweis von Pilzinfektionen (*Aspergillus* spp., *Mucorales* spp.) mit 70,6% an, obgleich man die Biopsie auch hier nur bei Thrombozytenzahlen  $>50 \times 10^9/l$  durchführte und alle Patienten zum Zeitpunkt der Untersuchung bereits antimykotisch behandelt wurden [96].

In der klinischen Praxis sprechen vor allem die bei hämatologisch-onkologischen Patienten häufig sehr geringen Thrombozytenzahlen gegen den Einsatz bioptischer Verfahren. Wenn auch Nosari et al. eine relativ hohe Sensitivität trotz Abwartens der Thrombozytenregeneration (Median 15 Tage) beschreiben [96], so wird die Forderung nach einer möglichst frühzeitigen Diagnose durch bioptische Methoden wohl dennoch in den meisten Fällen nicht erfüllt.

### 5.3.2.3. Offene Lungenbiopsie

Das gilt auch für die offene Lungenbiopsie, obgleich die Aussagen zur Komplikationsrate bei thrombopenischen Patienten sehr unterschiedlich sind. Kim et al. untersuchten bei Patienten mit malignen hämatologischen Erkrankungen und klinischem und/oder radiologischem Verdacht auf eine IPA den diagnostischen Nutzen der offenen Lungenbiopsie, wobei sich ein histopathologischer Pilznachweis in 53,1% ergab. Sie empfehlen diese Methode zur frühzeitigen Diagnosesicherung, ohne dass nach ihren Erfahrungen schwerwiegende Komplikationen zu erwarten sind [59]. Andere Autoren beschreiben eine relativ hohe Komplikationsrate von 8-20% [92, 140]. Bei Patienten mit dringend abklärungsbedürftigen Lungeninfiltraten (z.B. Verdacht auf eine IPA) und schwerer Thrombozytopenie wird eine offene Lungenbiopsie empfohlen [88]. Bei hämatologisch-onkologischen Patienten findet sie allerdings nur selten Anwendung. Im Rahmen dieser Arbeit stand zur Beurteilung bioptischer Methoden nur eine sehr geringe Fallzahl zur Verfügung, da aufgrund des häufig sehr schlechten Allgemeinzustandes der Patienten, die zudem meistens eine schwere Thrombozytopenie hatten, in den meisten Fällen auf bioptische Methoden verzichtet wurde. Daher kann hier keine verwertbare Aussage zum diagnostischen Nutzen dieser Verfahren gemacht werden.

Anzumerken bleibt, dass der allgemein als „Goldstandard“ angesehene histologische Befund aus bioptisch gewonnenem Lungengewebe in seiner Aussagekraft kaum beurteilbar ist, da hierfür keine verbindlichen Qualitätsstandards hinsichtlich der Technik und des Zeitplans der Aufarbeitung der Proben noch hinsichtlich der Interpretation der erhobenen Befunde existieren [88]. Hinzu kommt die hochgradige Selektion der bioptisch untersuchten Patienten, die durch die bei Patienten mit häufig schlechtem Allgemeinzustand und zumeist schwerer Thrombozytopenie nur bedingt durchführbare invasive Diagnostik bedingt ist. Eine Aussage über Sensitivität und Spezifität der histopathologischen Verfahren ist daher nur sehr eingeschränkt möglich.



## 5.4. Aspergillus-Antigen-Nachweisverfahren im Blut

### 5.4.1. Latex-Agglutinationstest

Die Spezifität des Pastorex<sup>®</sup>-Latex-Agglutinationstests ist mit 90-100% hoch, aber die Sensitivität schwankt je nach Studie zwischen 25-70%. Die Ursache liegt möglicherweise in der unteren Nachweisgrenze von 15ng GM/ ml Serum oder Urin [55]. Von den hier betrachteten Patienten bekamen 8 eine serologische Untersuchung mittels des kommerziell verfügbaren Pastorex<sup>®</sup>-Kits zwischen Tag 1 und Tag 14 (Median Tag 1). In 2 Fällen wiederholte man die Untersuchung an Tag 8 bzw. 53. In keinem Fall gelang der *Aspergillus*-Antigen-Nachweis. Da der Test sich als Standard in der Diagnostik invasiver Aspergillosen bei hämatologisch-onkologischen Patienten nicht etabliert hat und mittlerweile mit dem GM-Nachweis auch ein sensitiverer Test verfügbar ist, soll auf eine ausführliche Diskussion an dieser Stelle verzichtet werden.

### 5.4.2. Galactomannan-Sandwich-ELISA

#### 5.4.2.1. Diagnostische Ergebnisse

Ein in Form eines Sandwich-ELISA (Platelia<sup>®</sup> Aspergillus ELISA) angebotener Galactomannan-Nachweistest mit einer unteren Nachweisgrenze von 1ng GM/ml wird als deutlich sensitiver bei gleich hoher Spezifität beschrieben. Der Test zeigte in mehreren Studien eine Sensitivität von 80-100% bei einer Spezifität von 80-90% [125, 128].

In den hier betrachteten Fällen erhielten 18 Patienten 1 Untersuchung zwischen Tag 1 und Tag 20 (Median Tag 10). 6 Patienten bekamen eine 2. Untersuchung zwischen Tag 8 und Tag 19 (Median Tag 11) und in 1 Fall wurde das Serum ein 3. Mal an Tag 41 mittels der Platelia<sup>®</sup> Aspergillus ELISA auf zirkulierendes Galactomannan-Antigen getestet. Es konnte kein positiver *Aspergillus*-AG-Nachweis erbracht werden.

Die Gruppe um Maertens favorisiert dennoch diese Methode. Sie haben in einer großen Autopsie-kontrollierten Studie an 186 Patienten mit hämatologischen Neoplasien, die während der Neutropeniephase auf zirkulierendes Galactomannan-Antigen mittels Sandwich-ELISA untersucht wurden, gezeigt, dass der Test bei 25 von 27 Patienten mit invasiver Aspergillose positiv war [79]. Sie kommen mit ihren Arbeiten zu dem Schluss,

dass ein prospektives Screening mittels dieses Tests bei Hochrisikopatienten eine frühere Diagnosestellung erlaubt als andere nicht-invasive diagnostische Verfahren. So ging in einer Studie mit 100 allogenen Stammzelltransplantatempfängern die Antigenämie der Diagnose auf Basis radiologischer Zeichen oder der *Aspergillus*-Isolation um 8 bzw. 9 Tage bei 80% bzw. 88,8% der Patienten voraus [80].

#### **5.4.2.2. Faktoren mit Einfluss auf die Testergebnisse**

Die Ursache für die durchweg negativen Testergebnisse bei den hier betrachteten Fällen liegt am ehesten in den verwendeten cutoff-Werten der optischen Dichte. Ein sinkender cutoff-Wert erhöht dabei die Sensitivität auf Kosten der Spezifität. Der Test wurde in den USA von der FDA mit einem cutoff von 0,5 ng/ml zugelassen, während in Europa bis 2005 ein Schwellenwert von 1,5 ng/ml durch den Hersteller empfohlen wurde [55]. Die Seren (n=19) von 14 der hier betrachteten Patienten wurden vor 2005 mittels Platelia® und den dazugehörigen Herstellerangaben untersucht, während die Gruppe um Maertens cutoff-Werte benutzte, die niedriger lagen als bis dato allgemein akzeptiert. Für den in Europa empfohlenen cutoff-Wert von 1,5 ng/ml gaben Maertens et al. eine Sensitivität von 82,7% und eine Spezifität von 100% an [81]. Auch diese immer noch relativ hohe Sensitivität lässt sich für die hier betrachteten Fälle nicht bestätigen.

Es ist beschrieben, dass der Test bei Patienten, die eine Aspergillus-wirksame Therapie erhalten, trotz Absenkung des Schwellenwertes an Sensitivität verliert [86, 103]. Allerdings bekamen nur 8 Patienten bereits vor der 1. Serumentnahme eine antimykotische Behandlung mit Wirksamkeit gegen Aspergillen. Bei 7 von Ihnen wurde die serologische Untersuchung außerdem vor 2005, d.h. mit einem cutoff-Wert von 1,5 ng/l, durchgeführt, was das negative Testergebnis zusätzlich erklären könnte. Eine nachträgliche Auswertung mit einem cutoff-Wert von 0,5 ist nicht möglich, da die Rohdaten der Platelia®-Testung nicht dokumentiert wurden. Auf eine Diskussion zu den Auswirkungen modifizierter diagnostischer Schwellenwerte soll an dieser Stelle verzichtet werden, da mittlerweile auch in Europa ein cutoff-Wert von 0,5 gilt.

Insgesamt bleiben 4 serologische Untersuchungen (von 3 Patienten) ohne Nachweis von *Aspergillus*-AG, wobei sich dieses negative Testergebnis in diesen Fällen nicht

durch Verwendung eines cutoff-Wertes von 1,5 ng/l oder durch eine bereits begonnene Aspergillen-wirksame Therapie erklären lässt.

In den hier betrachteten Fällen erhielten die meisten Patienten (12 von 18) nur 1 serologische Untersuchung. Typischerweise können durch serielle Blutentnahmen und wiederholte Untersuchungen mehr positive Testergebnisse erzielt werden, weshalb für den klinischen Alltag bei Hochrisikopatienten wöchentlich wenigstens 2 Untersuchungen empfohlen werden [91].

Auf der anderen Seite sind Faktoren, wie z.B. eine antibakterielle Behandlung mit Piperacillin-Tazobactam beschrieben, die die Testergebnisse falsch-positiv beeinflussen [93]. In den hier vorliegenden Fällen konnte das nicht beobachtet werden, obwohl 16 von 18 Patienten im Rahmen der empirischen antibiotischen Therapie Piperacillin-Tazobactam erhielten.

#### **5.4.2.3. Diagnostischer Nutzen**

Es bleibt die Frage nach dem diagnostischen Nutzen dieser Methode, wobei vor allem die Galactomannan-Sandwich-ELISA betrachtet werden soll, da sich diese Methode im klinischen Alltag bereits gegenüber dem Latex-Agglutinationstest durchgesetzt hat. Von den 18 Patienten, bei denen diese Methode zur Anwendung kam, erhielten 7 auch eine bronchoskopische Untersuchung. Dabei konnte in 3 Fällen *Aspergillus*-AG in der BAL nachgewiesen werden. Bei 1 dieser Patienten erbrachte auch eine Pan-Fungus-PCR im Blut ein positives Ergebnis. Ob der *Aspergillus*-AG-Nachweis aus dem Material der BAL und die PCR in diesem Fall falsch-positive Ergebnisse erbrachten oder ob die Galactomannan-ELISA aus dem Serum in diesen Fällen bei tatsächlicher IPA negativ blieb, lässt sich nicht definitiv klären. Mit der Pan-Fungus-PCR liegt ohnehin kein spezifischer *Aspergillus*-DNA-Nachweis vor, so dass beide Methoden nicht miteinander vergleichbar sind. Des Weiteren lässt sich beim Nachweis von *Aspergillus*-AG in der BAL eine eventuelle Atemwegskolonisation nie ganz sicher ausschließen, obgleich der positive prädiktive Wert bei neutropenischen Patienten mit antibiotikarefraktärem Fieber durchaus für das Vorliegen einer IPA spricht. Verweij et al. haben sowohl Serum- wie auch BAL-Proben mittels ELISA auf Galactomannan untersucht. Auch in Kultur-negativen BAL-Proben (mit geringer Aspergillenlast) von neutropenischen Patienten mit klinischem/ radiologischem Verdacht auf eine IPA konnte *Aspergillus*-AG nachgewiesen

werden, allerdings gelang bei allen Patienten zuvor bereits auch ein positiver Galactomannan-Nachweis im Serum, weshalb sie zur frühzeitigen Diagnosestellung die Untersuchung des Serums favorisieren [128]. Das der *Aspergillus*-AG-Nachweis in den hier betrachteten Fällen in der BAL eher gelang als im Serum, lässt sich am ehesten durch den verwendeten cutoff-Wert von 1,5 ng/l für die definierte Serumpositivität erklären. Allerdings beschreiben Maertens et al für den Galactomannan-Nachweis in der BAL bei Verwendung eines cutoff-Wertes von 1,5 ng/l auch nur eine Sensitivität von 84,4%. In ihrer Arbeit beobachteten sie, dass unter Verwendung eines cutoff von 1,0 ng/l eine gute Sensitivität (91,3%) bei einem nicht zu starken Verlust der Spezifität (87,7%) erreicht werden kann [83]. In Frage gestellt werden muss, ob die definierten Richtlinien für die Anwendung der ELISA aus Serumproben einfach für andere Untersuchungsmedien übernommen werden können.

Die dazugehörigen CT-Befunde zeigten 3-mal das Bild einer wahrscheinlichen und 12-mal das einer differentialdiagnostisch möglichen IPA. 3 CT-Aufnahmen waren zum Zeitpunkt der serologischen Untersuchung ohne pathologischen Befund und zeigten erst im weiteren Verlauf das Bild einer wahrscheinlichen (1) bzw. differentialdiagnostisch möglichen IPA (2).

Betrachtet man die minimale Invasivität einer Blutabnahme, so kann man angesichts der Bedeutung der Diagnosestellung diese Methode rechtfertigen, allerdings kann für die hier betrachteten Fälle kein diagnostischer Nutzen beschrieben werden. Im Hinblick auf die therapeutischen Konsequenzen scheint es da auch wenig hilfreich, wenn die Gründe für eventuell falsch negative bzw. in geringerem Maß auch für falsch positive Testergebnisse bekannt sind.

Der Galactomannan-AG-Nachweis gelingt auch in anderen Untersuchungsmedien, wie bronchoalveolärer Lavage oder Liquor. Allerdings wird in der Literatur kein deutlicher Vorteil beschrieben, weshalb der Nachweis im Serum, aufgrund der geringeren Invasivität, zu bevorzugen ist. Hidalgo et al. beschreiben lediglich, dass eine Aspergillose der Atemwege vorzugsweise durch den Galactomannan-Nachweis in der BAL gelingt, während der Nachweis einer angioinvasiven Aspergillose eher im Serum gelingt [47]. Für den Nachweis in anderen Untersuchungsmedien liegen allerdings noch keine definierten Anwendungshinweise vor.

## 5.5. PCR-Methoden im Blut

Es gibt zahlreiche Verfahren zur Detektion von pilzspezifischer DNA mit Hilfe von Hybridisierungstechniken und der Polymerasekettenreaktion, die jedoch, bei sehr unterschiedlichen methodischen Ansätzen, in der klinischen Anwendung noch nicht standardisiert und validiert sind [28].

### 5.5.1. Pan-Fungus-PCR

In einer von Einsele et al. beschriebenen Studie wurden aus der 18 ssu-rRna kodierenden Genregion Primer mit breiter Spezifität zur Amplifikation Pilz-spezifischer DNA eingesetzt, mit denen die meisten der für hämato-onkologischen Patienten potentiell pathogenen Pilzspezies identifiziert werden konnten. Mit einer Nachweisgrenze von 1 colony forming unit/ml Blut war die Sensitivität deutlich höher als bei konventionellen Blutkulturverfahren. Für diese Pan-Fungus-PCR gaben die Autoren eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 98% an. Dabei wurden Fungämien nicht nur deutlich früher, sondern auch unter antimykotischer Therapie sehr viel länger nachgewiesen [32].

### 5.5.2. *Aspergillus*-spezifische PCR

Mit einer anderen, *Aspergillus*-spezifischen und ebenfalls hochsensitiven (Detektionsgrenze etwa 10 fg (~1-5 CFU/ml) *Aspergillus*-DNA in Blut- und BAL- Proben) PCR- Methode, die auf einen Hybridisierungsschritt verzichtet und dafür einen zweiten PCR-Schritt (nested PCR) einsetzt, konnten in einer Studie im Blut von 218 immunsupprimierten Patienten mit einem hohen Risiko für eine IPA eine Sensitivität von 91,7% und eine Spezifität von 81,3% erzielt werden. Der positive prädiktive Wert betrug 49,3%, weil nur 33 von 67 Patienten mit positiver PCR im klinischen Verlauf eine diagnostisch gesicherte (7) bzw. wahrscheinliche IPA (26) entwickelten. Bei 3 Patienten mit IPA (positive Blutkultur, positive PCR aus BAL) blieb der DNA-Nachweis im Blut negativ, wobei in 2 Fällen zum Zeitpunkt der Blutentnahme die antimykotische Therapie bereits begonnen wurde [15, 16]. Einerseits kann eine IPA bei negativer PCR also nicht ausgeschlossen werden und andererseits ist bei positiver PCR keineswegs die Diagnose einer IPA sicher zu stellen. Der diagnostische Nutzen dieser Methode ist unter diesen Gesichtspunkten ungeklärt. Des Weiteren fehlt es an der für den klinischen

Alltag notwendigen Standardisierung der unterschiedlichen Methoden, weshalb ihre Anwendung auf Studien begrenzt bleibt.

### 5.5.3. Diagnostische Ergebnisse

Im Verlauf der hier betrachteten Episoden mit dem klinischen Verdacht auf eine IPA, führte man bei insgesamt 23 Patienten eine Pan-Fungus- (24-mal) bzw. *Aspergillus*-Spezies-PCR (81-mal) durch, wobei in 3 Fällen beide PCR-Methoden zum Einsatz kamen. Im Erkrankungsverlauf ergaben sich dabei 5 bzw. 7 positive Befunde. Für den Nachweis von DNA mittels PCR ergibt sich so, unter der Annahme, dass alle Patienten tatsächlich eine IPA hatten, für die Pan-Fungus-PCR bzw. die *Aspergillus*-Spezies-PCR eine Sensitivität von 50% bzw. 16,6%, wenn man die 1. Untersuchung betrachtet und eine Sensitivität von 62,5% bzw. 38,8%, wenn man alle diagnostischen Ergebnisse im Verlauf berücksichtigt.

Insgesamt 13 Patienten wurden zum Zeitpunkt der 1. molekulargenetischen Untersuchung bereits seit 1-28 Tagen (Median 4 Tage) antimykotisch therapiert, wobei dennoch in 4 (Pan-Fungus-PCR) bzw. 5 (*Aspergillus*-Spezies-PCR) Fällen ein positiver DNA-Nachweis erbracht wurde.

Die CT-Befunde der Patienten mit negativer PCR zeigten 1-mal das Bild einer wahrscheinlichen und 10-mal das einer differentialdiagnostisch möglichen IPA, wobei sich für letztere in 4 Fällen im Erkrankungsverlauf ein Befundwandel hin zu wahrscheinlicher IPA ergab. 5 Patienten erhielten auch eine bronchoskopische Untersuchung, wobei in 1 Fall der *Aspergillus*-AG-Nachweis in der BAL gelang. Von letzteren erhielten 3 zusätzlich noch eine TBB, die allerdings ohne pathologisches Ergebnis blieb. Für die Patienten mit wenigstens einer positiven PCR lag CT-morphologisch 1-mal das Bild einer wahrscheinlichen und 11-mal das einer differentialdiagnostisch möglichen IPA vor, wobei sich für letztere 3-mal ein Befundwandel hin zu wahrscheinlicher IPA ergab. 8 Patienten bekamen eine bronchoskopische Untersuchung, wobei in 2 Fällen der *Aspergillus*-AG-Nachweis in der BAL gelang. Transbronchiale Biopsie (3 Fälle) sowie offene Lungenbiopsie (1 Fall) blieben ohne pathologisches Korrelat.

#### 5.5.4. Probleme bei der Anwendung dieser Methode im klinischen Alltag

Ungelöstes Problem bei der breiten Anwendung von PCR-Techniken im Routinescreening von Patienten ist vor allem die notwendige Standardisierung der DNA-Extraktions- und Amplifikationsverfahren [112].

Untersuchungen an allogenen stammzelltransplantierten Patienten konnten zeigen, dass unabhängig von der verwendeten Methode ein positiver PCR-Befund der klinischen Diagnose einer invasiven Aspergillose bereits um 2-9 Tage vorausging. Die Sensitivität der Methode wurde mit 100% und die Spezifität mit 65% unter Hinzunahme mehrerer Blutproben angegeben. Die Autoren wiesen darauf hin, dass bei 16 von 28 Patienten (57%) nur einmal *Aspergillus*-DNA im Blut nachgewiesen wurde und dies nicht mit den klinischen Zeichen einer invasiven Aspergillose korreliert war. Der positive prädiktive Wert stieg jedoch signifikant, wenn zwei positive PCR-Befunde der Diagnose dienten [42]. Das macht ein weiteres grundsätzliches Problem der Methode deutlich. Es ist nicht klar definiert, wie viele positive PCR- Befunde mit welcher Methode notwendig sind, um tatsächlich eine Infektion nachzuweisen. Das ubiquitäre Vorkommen von Aspergillen erschwert die Interpretation positiver PCR-Befunde zusätzlich. Andererseits besteht keine kontinuierliche „DNA-ämie“, weshalb in aufeinander folgenden Blutproben vielleicht, trotz vorliegender IPA, nicht immer positive PCR-Ergebnisse erzielt werden können.

In den hier betrachteten Fällen bekamen 10 von den 18 Patienten, bei denen die *Aspergillus*-Spezies-PCR zur Anwendung kam, wenigstens 3 Untersuchungen. In 5 Fällen blieben alle negativ, während in den anderen 5 Fällen ein einmaliger (3 Fälle), zweimaliger (1 Fall) bzw. dreimaliger (1 Fall) DNA-Nachweis gelang. Die Patienten erhielten bis zu 14 Untersuchungen und abgesehen davon, dass dadurch keineswegs der Aspergillen-Nachweis sicher gelingt, stellt sich auch dann noch die Frage, wie einzelne positive Befunde interpretiert werden sollen.

Es liegen auch zahlreiche Studien zur Anwendung der PCR aus anderen Untersuchungsmedien, wie z.B. der BAL vor, wobei teilweise sogar bessere diagnostische Ergebnisse beschrieben werden. Buchheidt et al. geben z.B. Sensitivität und Spezifität mit 94%, positiven bzw. negativen prädiktiven Wert mit 84% bzw. 98% an [16]. Trotz dieser vielversprechenden Ergebnisse, werden diese Methoden für die klinische Routine derzeit nicht in den Leitlinien empfohlen, da die Anwendung und Befundinterpretation noch zu wenig standardisiert sind.

## 5.6. Vergleichende Diskussion aller diagnostischen Methoden

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass mit keiner der angewandten diagnostischen Methoden die definitive Diagnosestellung einer Aspergillose möglich ist. Dennoch zeigen die Daten die Bedeutung der Computertomographie für den klinischen Alltag. Dem Anspruch nach einer möglichst frühzeitigen Sicherung der Diagnose wird die CT-Untersuchung zwar nicht uneingeschränkt gerecht, ein diagnostischer Nutzen, vor allem im Hinblick auf die therapeutischen Konsequenzen, lässt sich aber gerade für hämatologisch-onkologische Patienten mit der klinischen Verdachtsdiagnose einer invasiven pulmonalen Aspergillose belegen.

Betrachtet man alle CT-Untersuchungen (n=64) im Verlauf, so ergibt sich 21-mal der Befund einer wahrscheinlichen IPA, während in 43 Fällen eine IPA möglich ist. Unter der Annahme, dass alle Patienten tatsächlich eine invasive pulmonale Aspergillose hatten, lässt sich so eine Sensitivität von 32,8% bzw. 67,2% berechnen. Gegenüberstellend ergibt sich für die Bronchoskopie mit Untersuchung der bronchoalveolären Lavage eine Sensitivität von 18,2%, wenn man alle diagnostischen Ergebnisse im Verlauf berücksichtigt. Der Nachweis von DNA mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion zeigt für die Pan-Fungus-PCR eine Sensitivität von 62,5 % und für die *A.fumigatus*-PCR eine Sensitivität von 38,8 %. Alle anderen hier angewendeten Untersuchungsmethoden, wie transbronchiale bzw. offene Lungenbiopsie und Antigen- Nachweis-Verfahren blieben ohne pathologischen Befund. Diese Zahlen lassen sich im Rahmen dieser Arbeit nicht definitiv belegen, da eine invasive pulmonale Aspergillose auch im Erkrankungsverlauf nicht diagnostisch gesichert werden konnte. Da eine sichere Diagnosestellung im klinischen Alltag aber auch nur selten gelingt, soll anhand dieser Daten der diagnostische Nutzen vor allem der Computertomographie hervorgehoben werden.

Für die im Rahmen dieser Arbeit betrachteten klinischen Fälle zeigt die Computertomographie die größte diagnostische Empfindlichkeit, vor allem im Hinblick auf die therapeutischen Konsequenzen. Während 55 klinischer Episoden des Verdachts auf eine IPA initiierte man die antimykotische Therapie mit Wirksamkeit gegen Aspergillen aufgrund eines auffälligen CT-Befundes (13-mal wahrscheinliche IPA, 42-mal mögliche IPA). Dabei wurde für 46 Fälle ein klinisches Ansprechen dokumentiert, welches allerdings für 5 Fälle nur schwer beurteilbar ist, da bereits innerhalb der ersten



48h nach Beginn der klinischen Symptomatik antibiotisch und antimykotisch behandelt wurde.

Maertens et al. sprechen sich gegen eine präemptive Aspergillen-wirksame Therapie bei neutropenischen Patienten mit unklarem Fieber und Lungeninfiltraten aus, da diese keineswegs immer als IPA gedeutet werden könnten. Sie behandelten nur Patienten mit  $\geq 2$  positiven Serumproben (GM- EIA mit einem cutoff- Wert von 0,5) oder Patienten mit IPA suspekten CT-Befunden und zusätzlichem mikrobiologischem Aspergillen-Nachweis. Während nach allgemein anerkannten Leitlinien für 41 (35%) der betrachteten neutropenischen febrilen Episoden eine präemptive antimykotische Therapie empfohlen gewesen wäre, reduzierten Maertens et al. ihre therapeutischen Maßnahmen auf 9 (7,7%) dieser Episoden. Für 10 klinisch unauffällige Patienten initiierte man hingegen aufgrund des positiven Galactomannan-Nachweises im Serum eine antimykotische Therapie. Sie betonen, dass keiner der Patienten mit negativer GM-EIA im Verlauf eine IPA entwickelte, und dass durch die Minimierung der präemptiven antimykotischen Therapie keine Verschlechterung der 12-Wochen-Überlebensrate zu beobachten war [82]. Diese sehr vielversprechenden Daten lassen sich durch die Ergebnisse dieser Arbeit nicht bestätigen. Gründe für eventuell falsch-negative Testergebnisse wurden oben bereits diskutiert, allerdings erklären diese nicht hinreichend diese gegensätzlichen Beobachtungen. Berücksichtigt man auch die Verwendung eines cutoff-Wertes von 1,5 ng/l, die eventuell bereits begonnene antimykotische Therapie sowie die Tatsache, dass eine IPA bei keinem der hier betrachteten Patienten nach EORTC/MSG-Kriterien gesichert werden konnte, so kann die Empfehlung von Maertens et al. dennoch nicht unterstützt werden. Es gibt derzeit keine definitiv sichere diagnostische Methode. Dem Anspruch nach einem hohen positiven prädiktiven Wert werden einige gerecht, allerdings birgt gerade der negative prädiktive Wert ein Gefahrenpotential. Der Schlüssel zur Prognoseverbesserung liegt in einer frühen Diagnosestellung und einer entsprechend raschen Therapieeinleitung. Von Eiff et al. z.B. beobachteten bei spätem Therapiebeginn (>10 Tage nach ersten klinischen und/oder radiologischen Erkrankungszeichen) eine Mortalität von 90%, während sie bei früherem Behandlungsbeginn auf 40% sank [132]. Da im klinischen Alltag die diagnostischen Bemühungen im Rahmen der Fokussuche bei neutropenischen Patienten mit unklarem Fieber und Lungeninfiltraten häufig ergebnislos bleiben, behält die frühzeitige präemptive antiinfektiöse Therapie auch

weiterhin ihre entscheidende Rolle. Dabei lassen sich durch die Gabe von antibiotischen und antimykotischen Medikamenten bessere therapeutische Ansprechraten erzielen, als durch die alleinige Antibiotikagabe. Schiel et al. beschreiben z.B. für die empirische antibiotische und antimykotische Therapie bei neutropenischen Patienten mit unklarem Fieber ein therapeutisches Ansprechen für 77,8% der Fälle, während für die alleinige Gabe von Breitspektrum-Antibiotika ein Ansprechen von 51,2%-55,6% (initiale antibakterielle Therapie-modifizierte antibakterielle Therapie) dokumentiert wurde [116].

Hinsichtlich eventueller Medikamenten-Nebenwirkungen und auch aus ökonomischer Sicht ist es durchaus verständlich, dass es die Forderung nach einer sicheren Diagnosestellung vor Therapiebeginn gibt. Allerdings ist derzeit keine diagnostische Methode verfügbar, die eine invasive pulmonale Aspergillose sicher bestätigen oder ausschließen kann. Aufgrund der hohen Mortalitätsrate bei unbehandelter IPA und dem besseren klinischen Verlauf bei frühzeitigem Behandlungsbeginn lässt sich daher ein therapeutisches Abwarten auf diagnostische Ergebnisse nicht rechtfertigen. Dennoch sollten zeitnah zum Beginn der präemptiven antimykotischen Therapie die diagnostischen Bemühungen intensiviert werden, da aus einem eventuellem Erregernachweis durchaus entscheidende Konsequenzen für den Patienten im Hinblick auf die Notwendigkeit einer antimykotischen Therapie, die Wahl des Antimykotikums, die Therapiedauer, chirurgische Interventionen, Kontrolluntersuchungen oder eine sekundäre antimykotische Prophylaxe gezogen werden können [112].

Kernfrage in der ökonomischen Abschätzung des Nutzens eines erhöhten Diagnoseaufwands ist dabei, ob die Testergebnisse zu einer Verbesserung der diagnostischen Sicherheit und damit zu einer zielgerichteten Therapie sowie zur Verringerung des Verbrauchs von Medikamenten führen.

Der klinische Verdacht auf eine IPA sollte frühzeitig computertomographisch verifiziert werden. Eine pathognomische CT-Morphologie lässt sich nicht definitiv belegen, obgleich gerade das Halozeichen einen hohen positiven prädiktiven Wert für eine IPA bei neutropenischen Patienten mit antibiotikarefraktärem Fieber hat. Der Nachweis des Halozeichens wie auch unspezifischere pulmonale Infiltrate rechtfertigen unter Berücksichtigung der Tatsache, dass derzeit keine sichere diagnostische Methode zur Verfügung steht, den Beginn einer präemptiven antimykotischen Therapie. Das HR-CT hat dabei gegenüber dem Spiral-CT den Vorteil, dass sich Infiltrate deutlicher darstellen

lassen. Allerdings sollte das HR-CT mit möglichst dünnen Schichten gefahren werden, damit auch kleine Infiltrate nachweisbar sind. Auch im Vergleich zum MRT erbringt das HR-(High resolution)CT gerade in frühen Erkrankungsstadien eine gute diagnostische Ausbeute, weshalb es sich für den klinischen Alltag empfehlen lässt. Wo verfügbar, haben sich heute MS-(Mehrzeilen)CT-Untersuchungen, die schnell, hochauflösend und ohne Kontrastmittel durchführbar sind, durchgesetzt. Möglichst zeitnah zum Therapiebeginn sollte eine bronchoskopische Untersuchung mit BAL folgen. Ein sicherer Aspergillen-Nachweis kann dadurch keineswegs erbracht werden, aber auch ein eventueller Nachweis anderer pathogener Erreger mit ätiologischer Relevanz ist für die therapeutischen Konsequenzen von entscheidender Bedeutung. Immerhin wird in 38-50% der Fälle die antiinfektiöse Therapie aufgrund der pathologischen Ergebnisse der BAL verändert [50, 102]. Serielle Blutentnahmen zum Galactomannan-AG-Nachweis im Serum können diese diagnostischen Bemühungen ergänzen. Die in mehreren Arbeiten beschriebene Sensitivität dieser Methode [79, 85, 128] konnte hier nicht belegt werden, wobei eventuelle Ursachen bereits oben diskutiert wurden. An dieser Stelle soll lediglich der hohe positive prädiktive Wert eines Galactomannan-AG-Nachweises im Serum hervorgehoben werden, der für die Diagnosestellung durchaus eine entscheidende Bedeutung hat. Für die PCR ließe sich hingegen eher der hohe negative prädiktive Wert diagnostisch nutzen, wobei die breite Anwendung im klinischen Alltag aufgrund oben benannter Gründe derzeit noch nicht möglich ist. Sinnvoll erscheint ein komplexes diagnostisches Programm, das CT, Bronchoskopie wie auch serologische Untersuchungen beinhaltet, da sich Lücken in der diagnostischen Aussagekraft der einzelnen Methoden so am ehesten schließen lassen. Der Einsatz bioptischer Methoden lässt sich nicht pauschal empfehlen, sondern sollte individuell diskutiert werden. Für Patienten mit dringend abklärungsbedürftigen Lungeninfiltraten (z.B. bei Verdacht auf eine IPA und negativem Erregernachweis durch andere verfügbare Methoden) werden sie allerdings empfohlen. Dabei gibt man bei Patienten mit schwerer Thrombozytopenie der offenen Lungenbiopsie oder auch der CT-gesteuerten Feinnadelbiopsie den Vorzug, während bei Patienten mit Thrombozytenzahlen  $>50 \times 10^9/l$  auch eine transbronchiale Biopsie durchgeführt werden kann. Aufgrund der geringen diagnostischen Ausbeute wird letztere in den aktuellen Leitlinien allerdings nicht empfohlen [91]. Auch mit der offenen Lungenbiopsie gelingt keinesfalls eine sichere Diagnosestellung. Vergleicht man oben aufgeführte Arbeiten

[59], insbesondere mit der Arbeit von Lass-Flörl et al. [66], stellt sich vielmehr die Frage, ob der CT-gesteuerten Feinnadelbiopsie im klinischen Alltag nicht der Vorzug gegeben werden sollte.

Letztendlich haben sich einige diagnostische Möglichkeiten etabliert, ohne dass eine Methode allein dem Anspruch einer sicheren Diagnosestellung derzeit gerecht wird. Die sinnvolle Kombination mehrerer Maßnahmen kann diagnostische Lücken besser schließen und wird daher auch in den aktuellen Leitlinien der Arbeitsgemeinschaft Infektionen in der Hämatologie und Onkologie der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie empfohlen (**Abbildung 12**, siehe Anhang). Da die sichere Diagnosestellung einer invasiven pulmonalen Aspergillose dennoch nicht immer gelingt, behält die präemptive antimykotische Therapie allerdings auch weiterhin ihre entscheidende Bedeutung [91].

## 6. Zusammenfassende Darstellung

In dieser Arbeit ging es um invasive pulmonale Aspergillosen bei Patienten mit einer hämatologisch-onkologischen Grunderkrankung, wobei in den hier betrachteten Fällen in 86% eine AML vorlag. Die Angaben zur Inzidenz zeigen eine breite Varianz, was sich zum Teil durch die Schwierigkeiten einer sicheren Diagnosestellung erklären lässt. Dennoch wird klar ersichtlich, dass Morbidität und Mortalität invasiver Aspergillosen zunehmen, was sich u.a. durch die steigende Zahl hämatologisch-onkologischer Patienten, die mit aggressiven Therapieregimes behandelt werden erklären lässt. Des Weiteren können früher oft tödlich verlaufende bakterielle Infektionen heute besser behandelt werden.

Lungeninfiltrate entwickeln sich bei 15-25% aller Patienten mit ausgeprägter Neutropenie nach intensiver Chemotherapie [72], wobei sich diese in etwa  $\frac{2}{3}$  der Fälle innerhalb der ersten 5 Tage nach Fieberbeginn manifestieren [89]. Gerade in diesem frühen Erkrankungsstadium ist die diagnostische Ausbeute konventioneller Röntgenaufnahmen schlecht [35], weshalb ein unauffälliger Befund nur mit Vorsicht und unter Berücksichtigung klinischer und paraklinischer Parameter interpretiert werden kann. In frühen Erkrankungsstadien gelingt der Pneumonienachweis mittels Dünnschicht-Computertomographie hingegen etwa 6-mal häufiger, wobei verdächtige Befunde >5 Tage früher gesehen werden [46]. Für Patienten mit einem Risiko für

invasive Pilzinfektionen wird daher die CT empfohlen [91], die auch für die im Rahmen dieser Arbeit betrachteten Fälle die höchste diagnostische Ausbeute gerade im Hinblick auf die therapeutischen Konsequenzen erbrachte. Der Nachweis neu aufgetretener pulmonaler Infiltrate bei neutropenischen Patienten mit antibiotikaresistentem Fieber rechtfertigt, angesichts der Notwendigkeit eines frühen Behandlungsbeginns [132], den Beginn einer präemptiven antimykotischen Therapie [91].

Für neutropenische Patienten mit antibiotikaresistentem Fieber und pulmonalen Infiltraten wird des Weiteren eine bronchoskopische Untersuchung mit BAL empfohlen [91], wobei ein negativer Befund, gerade auch im Hinblick auf andere pathologisch relevante Erreger, die Verdachtsdiagnose einer IPA durchaus stützt und die präemptive antimykotische Therapie rechtfertigt.

Regelmäßige *Aspergillus*-AG-Nachweisverfahren (z.B. Galactomannan-ELISA) oder PCR-Untersuchungen in Serum- oder BAL-Proben können das diagnostische Monitoring bei Risikopatienten ergänzen [91].

Aufgrund der Bedeutung der Erregerklassifizierung sollten die diagnostischen Möglichkeiten in sinnvoller Kombination und Befundinterpretation genutzt werden. Eine sichere Diagnosestellung gelingt im klinischen Alltag dennoch nur selten, weshalb der präemptiven antimykotischen Therapie auch weiterhin die entscheidende Rolle zukommt.

## Abbildungen/ Tabellen

**Tabelle 1: Definition invasiver Pilzinfektionen nach EORTC/MSG- Kriterien**  
[De Pauw, et al.], gekürzt

### a) Kriterien für eine gesicherte invasive Fadenpilzinfektion

Methode und Material	Gesicherte Fadenpilzinfektion <sup>1</sup>
Mikroskopische Untersuchung aus sterilem Material	Histo,- zytopathologischer, oder mikroskopischer Nachweis <sup>2</sup> in durch Feinnadelaspiration oder Biopsie gewonnenem primär sterilem Material (Nachweis von Hyphen oder melanisierten hefeartigen Formen sowie damit assoziiertem Gewebeschaden)
Kultur aus sterilem Material	Schimmelpilznachweis in Gewebe-/ Biopsiematerialien von primär sterilen Körperstellen (nicht BAL, Material aus Nasennebenhöhlen, Urin) UND klinische oder radiologische Auffälligkeiten, die mit einer Infektion vereinbar sind
Blut	Positive Blutkulturen, die mit den Zeichen der Infektion vereinbar sind. Der Nachweis von <i>Asp. spp.</i> in Blutkulturen ist allerdings stets als Kontamination zu werten!

<sup>1</sup> Speziesdifferenzierung sollte möglichst angestrebt werden

<sup>2</sup> Gewebe und Zellen sollten im Rahmen histo,- zytopathologischer Untersuchungen nach Gomori-Grocott oder PAS gefärbt werden, um die Beurteilung der Pilzstrukturen zu erleichtern. Wenn möglich, sollte Gewebe vom Infektionsfokus auch mit Fluoreszenzfarbstoffen (z.B. Calcofluor oder Blankophor) eingefärbt werden.

### b) Kriterien für eine wahrscheinliche invasive Fadenpilzinfektion

1 patientenbezogenes Kriterium <sup>1</sup> UND 1 klinisches Kriterium <sup>2</sup> UND 1 mykologisches Kriterium <sup>3</sup>
--

### c) Kriterien für eine mögliche invasive Fadenpilzinfektion

1 patientenbezogenes Kriterium <sup>1</sup> UND 1 klinisches Kriterium <sup>2</sup> ABER KEIN mykologisches Kriterium <sup>3</sup>
--

<sup>1</sup> **Patientenbezogene Kriterien:**

- Neutropenie ( $<500/\mu\text{l}$   $>10$  Tage)
- Status nach allogener Stammzelltransplantation
- Längerdauernde Einnahme von Kortikoiden ( $>0,3\text{mg}$  Prednisolon-Äquivalent/kgKG/Tag  $>3$  Wochen)
- Behandlung mit anderen T- Zell- Immunsuppressiva (Cyclosporin, TNF- $\alpha$  Blocker, spezifische monoklonale Antikörper (z.B. Alemtuzumab) oder Nukleosidanaloga während der letzten 90 Tage
- Angeborene Defizienz des Immunsystems

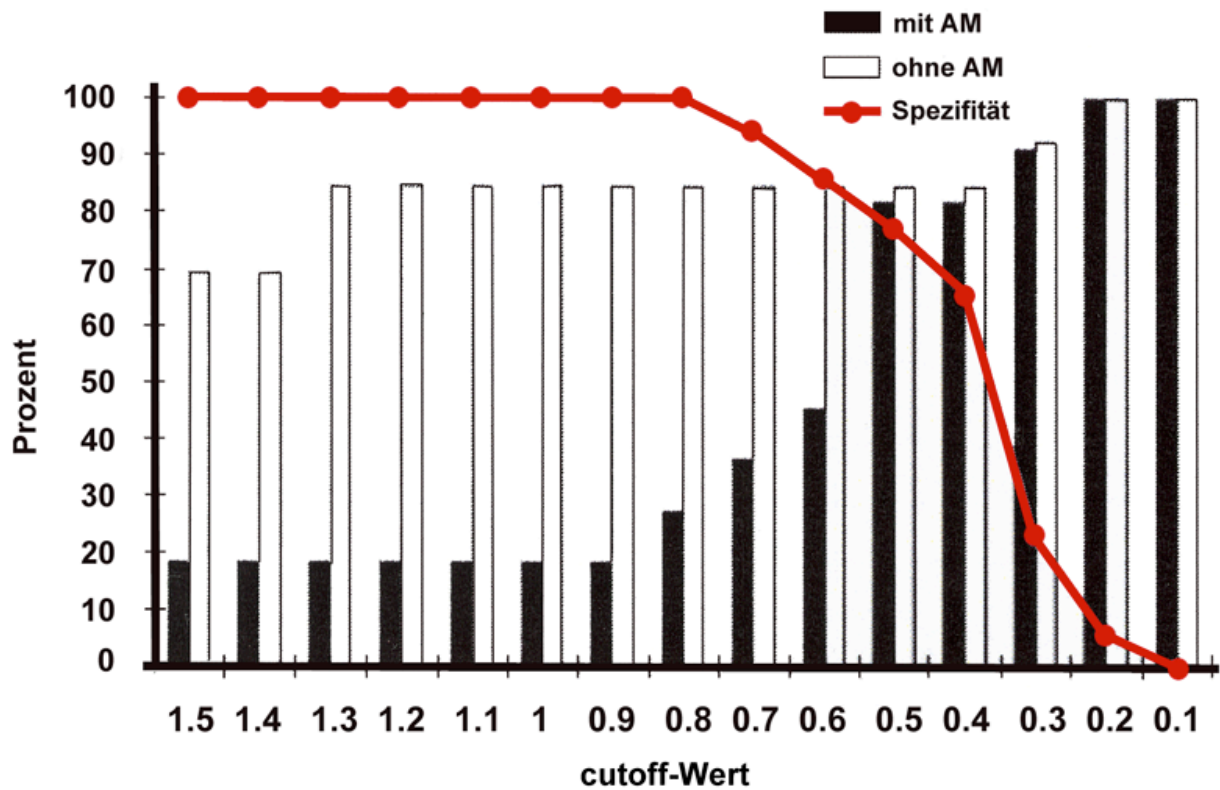
<sup>2</sup> **Klinische Kriterien:**

- *Pilzinfektion des unteren Respirationstraktes:*  
Vorhandensein eines der 3 folgenden Zeichen im CT (verdichtete, gut umschriebene Läsionen mit oder ohne Halozeichen; Luftsichelzeichen (air-crescent); Kavitationen)
- *Tracheobronchitis*
- *Sinunasale Infektion*
- *ZNS- Infektion*

<sup>3</sup> **Mykologische Kriterien:**

- *Direkter Nachweis von Pilzelementen mittels Zytologie, direkter Mikroskopie oder Kultur:*  
Hinweisend auf Fadenpilze in Sputum, BAL, Bronchialbürsten Material oder Nasennebenhöhlen-Aspirat sind nachgewiesene fadenpilzcharakteristische Pilzelemente oder die kulturelle Anzucht
- *Indirekter Nachweis (Nachweis von Antigenen oder Zellwandbestandteilen):*
  - Galactomannan-AG-Nachweis in Plasma, Serum, BAL oder Liquor bei Aspergillose
  - $\beta$ -D-Glucan- Nachweis im Serum bei verschiedenen Pilzinfektionen (außer Zygomycosen und Kryptokokkosen)

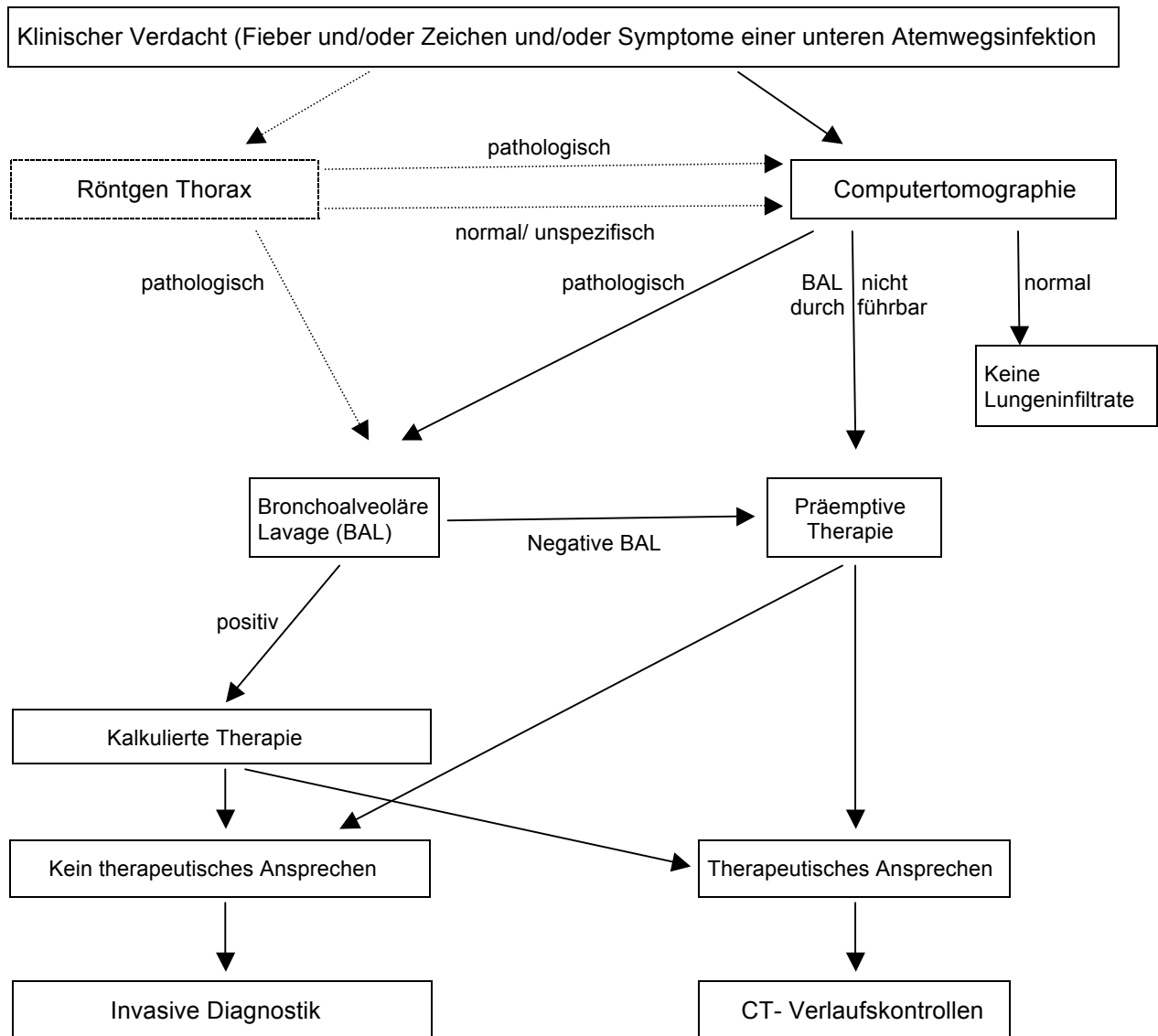
**Abbildung 1: Auswirkung modifizierter Schwellenwerte auf Sensitivität und Spezifität des Galactomannan-Antigen-Nachweises**  
 [Marr, et al. 2004]



Sensitivität und Spezifität wurden pro Patient mit wahrscheinlicher und möglicher invasiver Aspergillose bei unterschiedlichen cutoff- Werten, welche die Test Positivität definierten (X-Achse), ermittelt. Die Spezifität wurde durch die Linie dargestellt, wobei die Therapie mit antimykotischen Medikamenten (AM) auf diesen Parameter ohne Einfluss blieb. Deutlich wird, dass bei einem cutoff- Wert von 0,5 die besten Ergebnisse für Sensitivität UND Spezifität erreicht werden.



**Abbildung 12: Algorithmus für das klinische Vorgehen bei neutropenischen Patienten mit Fieber und dem Verdacht auf/ oder nachgewiesenen Lungeninfiltraten [Maschmeyer et al. 2009]**



## Literaturverzeichnis

- [1] Aisner J, Schimpff SC, Bennett JE, et al. *Aspergillus* infections in cancer patients: association with fireproofing material in a new hospital. JAMA 1976; 235(4): 411-412.
- [2] Albedla SM, Talbot GH, Gerson SL, et al. Role of fiberoptic bronchoscopy in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in patients with acute leukemia. Am J Med 1984; 76: 1027-1034.
- [3] Albedla SM, Talbot GH, Gerson SL, et al. Pulmonary cavitation and massive hemoptysis in invasive pulmonary aspergillosis in patients with acute leucemia. Am Rev Respir Dis 1985; 131: 115-120.
- [4] Alberti C, Bouakline A, Ribaud P, et al. Relationship between environmental fungal contamination and the incidence of invasive aspergillosis in haematology patients. J Hosp Infect 2001; 48(3): 198-206.
- [5] Anaissie EJ, Stratton SL, Dignani MC, et al. Pathogenic *Aspergillus* species recovered from a hospital water system: a 3-year prospective study. Clin Infect Dis 2002; 34(6): 780-789.
- [6] Anaissie EJ, Stratton SL, Dignani MC, et al. Pathogenic molds (including *Aspergillus* species) in hospital water distribution systems: a 3-year prospective study and clinical implications for patients with hematologic malignancies. Blood 2003; 101(7): 2542-2546.
- [7] Andreas S, Heindl S, Wattyky C, et al. Diagnosis of pulmonary aspergillosis using optical brighteners. Eur Respir J 2000; 15: 407-411.
- [8] Arnow PM, Sadigh M, Costas C, et al. Endemic and epidemic aspergillosis associated with in-hospital replication of *Aspergillus* organism. J Infect Dis 1991; 164(5): 998-1002.
- [9] Becker MJ, Lugtenburg EJ, Cornelissen JJ, et al. Galactomannan detection in computerized tomography- based bronchoalveolar lavage fluid and serum in haematological patients at risk for invasive pulmonary aspergillosis. Br J Haematol 2003; 121: 448-457.
- [10] Blum U, Windfuhr M, Buitrago- Tellez C, et al. Invasive pulmonary aspergillosis. MRI, CT, and plain radiographic findings and their contribution for early diagnosis. Chest 1994; 106: 1156-1161.
- [11] Bodey G, Bueltmann B, Duguid W, et al. Fungal infections in cancer patients: an international autopsy survey. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1992; 11: 99-109.
- [12] Bouakline A, Lacroix C, Roux N, et al. Fungal contamination of food in hematology units. J Clin Microbiol 2000; 38(11): 4272-4273.
- [13] Brakhage AA. Systemic fungal infections caused by *Aspergillus* species: Epidemiology, infection process and virulence determinants. Curr Drug Targets 2005; 6(8): 875-886.
- [14] Brodoefel H, Schimmel H, Horger M. Invasive pulmonale Aspergillose. Fortschr. Röntgenstr. 2005; 17: 1191-1195.
- [15] Buchheidt D, Baust C, Skladny H, et al. Detection of aspergillus species in blood and bronchoalveolar lavage samples from immunocompromised patients by means of 2- step polymerase chain reaction: clinical results. Clin Infect Dis 2001; 33(4): 428-435.
- [16] Buchheidt D, Baust C, Skladny H, et al. Clinical evaluation of a polymerase chain reaction assay to detect *aspergillus* species in bronchoalveolar Lavage samples of neutropenic patients. Br J Haematol 2002; 116(4): 803-811.
- [17] Caillot D, Casasnovas O, Bernard A, et al. Improved management of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients using early thoracic computed tomographic scan and surgery. J Clin Oncol 1997; 15: 139-147.
- [18] Caillot D, Couaillier JF, Bernard A, et al. Increasing volume and changing characteristics of invasive pulmonary aspergillosis on sequential thoracic computed tomography scans in patients with neutropenia. J Clin Oncol 2001; 19: 253-259.
- [19] Cazzadori A, Di Perri G, Todeschini G, et al. Transbronchial biopsy in the diagnosis of pulmonary infiltrates in Immunocompromised patients. Chest 1995; 107: 101-106.

- [20] Chamilos G, Luna M, Lewis RE, et al. Invasive fungal infections in patients with hematologic malignancies in a tertiary care cancer center: an autopsy study over a 15-year period (1989-2003). *Haematologica* 2006; 91(7): 986-989.
- [21] Cornely OA, Maertens J, Winston DJ, et al. Posaconazole vs. Fluconazole or Itraconazole prophylaxis in patients with neutropenia. *N Engl J Med* 2007; 356: 348-359.
- [22] Cornet M, Fleury L, Masio C, et al. Epidemiology of invasive aspergillosis in France: a six-year multicentric survey in the Greater Paris area. *J Hosp Infect* 2002; 51: 288-296.
- [23] Costa C, Costa J-M, Desterke C, et al. Real-time PCR coupled with automated DNA extraction and detection of galactomannan antigen in serum by enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2224-2227.
- [24] Denning DW. Therapeutic Outcome in Invasive Aspergillosis. *Clin Inf Dis* 1996; 23: 608-615.
- [25] Denning DW. Invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 781-805.
- [26] Denning DW, Marinus A, Cohen J, et al. An EORTC multicentre prospective survey of invasive aspergillosis in haematological patients: diagnosis and therapeutic outcome. EORTC Invasive Fungal Infections Cooperative Group. *J Infect* 1998; 37(2): 173-180.
- [27] De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/ Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/ MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 1813-1821.
- [28] Donnelly JP. Polymerase chain reaction for diagnosing invasive aspergillosis: Getting closer but still a ways to go. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 487-489.
- [29] Donowitz GR, Harman C, Pope T, et al. The role of the chest roentgenogram in febrile neutropenic patients. *Arch Intern Med* 1991; 151: 701-704.
- [30] Duthie R, Denning DW. *Aspergillus* fungemia: report of two cases and review. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 598-605.
- [31] Eibel R, Herzog P, Dietrich O, et al. Pulmonary abnormalities in immunocompromised patients: Comparative detection with parallel acquisition MR imaging and thin-section helical CT. *Radiology* 2006; 241(3): 880-891.
- [32] Einsele H, Hebart H, Roller G, et al. Detection and identification of fungal pathogens in blood by using molecular probes. *J Clin Microbiol* 1997; 35(6): 1353-1360.
- [33] Einsele H, Quabeck K, Müller KD, et al. Prediction of invasive pulmonary aspergillosis from colonisation of lower respiratory tract before marrow transplantation. *Lancet* 1998; 352: 1443.
- [34] Einsele H, Hebart H, Kauffmann- Schneider C, et al. Risk factors for treatment failures in patients receiving PCR-based preemptive therapy for CMV infection. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25(7): 757-763.
- [35] Feusner J, Cohen R, O'Leary M, et al. Use of routine chest radiography in the evaluation of fever in neutropenic pediatric oncology patients. *J Clin Oncol* 1988; 6(11): 1699-1702.
- [36] Gaeta M, Blandino A, Scribano E, et al. Computer tomography halo sign in pulmonary nodules: frequency and diagnostic value. *J Thorac Imaging* 1999; 14: 109-113.
- [37] Gerson SL, Talbot GH, Hurwitz S, et al. Prolonged granulocytopenia: The major risk factor for invasive pulmonary aspergillosis in patients with acute leukemia. *Ann Intern Med* 1984; 100: 345-351.
- [38] Gerson SL, Talbot GH, Hurwitz S, et al. Discriminant scorecard for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in patients with acute leukemia. *Am J Med* 1985; 79: 57-64.
- [39] Goodley JM, Clayton YM, Hay RJ. Environmental sampling for *aspergilli* during building construction on a hospital site. *J Hosp Infect* 1994; 26(1), 27-35.
- [40] Greene RE, Schlamm HT, Oestmann J-W, et al. Imaging findings in acute invasive pulmonary aspergillosis: Clinical significance of the halo sign. *Clin Infect Dis* 2007; 44: 373-379.

- [41] Groll AH, Shah PM, Mentzel C, et al. Trends in the postmortem epidemiology of invasive fungal infections at a university hospital. *J Infect* 1996; 33: 23-32.
- [42] Hebart H, Löffler J, Meisner C, et al. Early detection of *aspergillus* infection after allogeneic stem cell transplantation by polymerase chain reaction screening. *J Infect Dis* 2000; 181: 1713-1719.
- [43] Hebart H, Löffler J, Reitze H, et al. 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* 2000; 111: 635-640.
- [44] Herbrecht R, Denning DW, Patterson TF, et al. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *N Engl J Med* 2002; 347(6): 408-415.
- [45] Heussel CP, Kauczor HU, Heussel G, et al. Early detection of pneumonia in febrile neutropenic patients: use of thin-section CT. *Am J Roentgenol* 1997; 169: 1347-1353.
- [46] Heussel CP, Kauczor H-U, Heussel GE, et al. Pneumonia in febrile neutropenic patients and in bone marrow and blood stem-cell transplant recipients: Use of high-resolution computed tomography. *J Clin Oncol* 1999; 17(3): 796-805.
- [47] Hidalgo A, Parody R, Martino R, et al. Correlation between high-resolution computed tomography and galactomannan antigenemia in adult hematologic patients at risk for invasive aspergillosis. *Eur J Radiol* 2009; 71: 55-60.
- [48] Horvath JA, Dummer S. The use of respiratory-tract-cultures in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *Am J Med* 1996; 100: 171-178.
- [49] Hospenthal DR, Kwon-Chung KJ, Bennett JE, et al. Concentrations of airborne *Aspergillus* compared to the incidence of invasive aspergillosis: lack of correlation. *Med Mycol* 1998; 36(3): 165-168.
- [50] Hummel M, Rudert S, Hof H, et al. Diagnostic yield of bronchoscopy with bronchoalveolar lavage in febrile patients with hematologic malignancies and pulmonary infiltrates. *Ann Hematol* 2008; 87: 291-297.
- [51] Hwang SS, Kim HH, Park SH, et al. The value of CT-guided percutaneous needle aspiration in immunocompromised patients with suspected pulmonary infection. *Am J Roentgenol* 2000; 175: 235-238.
- [52] Kahn WF, Jones JM. Analysis of bronchoalveolar lavage specimens from immunocompromised patients with a protocol applicable in the microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 1150-1155.
- [53] Kami M, Fukui T, Ogawa S, et al. Use of real-time PCR on blood samples for diagnosis of invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 1504-1512.
- [54] Kami M, Kishi Y, Hamaki T, et al. The value of the chest computed tomography halo sign in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. An autopsy-based retrospective study of 48 patients. *Mycoses* 2002; 45: 287-294.
- [55] Karthaus M. Pilzinfektionen bei Krebspatienten. Aktuelle Aspekte der Diagnostik und Therapie invasiver Mykosen. Blackwell Verlag 2003, 2.Auflage.
- [56] Kawazu M, Kanda Y, Goyama S, et al. Rapid diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis by quantitative polymerase chain reaction using bronchial lavage fluid. *Am J Hematol* 2003; 72: 27-30.
- [57] Kawazu M, Kanda Y, Nannya Y, et al. 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* 2004; 42: 2733-2741.
- [58] Kesh S, Mensah NY, Peterlongo P, et al. TLR1 and TLR6 polymorphism are associated with susceptibility to invasive aspergillosis after allogeneic stem cell transplantation. *Ann N Y Acad Sci.* 2005; 1062: 95-103.
- [59] Kim K, Lee MH, Kim J, et al. Importance of open lung biopsy in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematologic malignancies. *Am J Hematol* 2002; 71: 75-79.

- [60] Klustersky J, Paesmans M, Rubenstein EB, et al. For the Study Section on Infections of Multinational Association for Supportive Care in Cancer: The Multinational Association for Supportive Care in Cancer risk index: a multinational scoring system for identifying low-risk febrile neutropenic cancer patients. *J Clin Oncol* 2000; 18(16): 3038-3051.
- [61] Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut (RKI). Anforderungen an die Hygiene bei der medizinischen Versorgung von immunsupprimierten Patienten. *Bundesgesundheitsblatt* 2010; 53: 357-388
- [62] Kontoyiannis DP. Why prior fluconazole use is associated with an increased risk of invasive mold infections in immunosuppressed hosts: an alternative hypothesis. *Clin Infect Dis* 2002; 34(9): 1281-1283.
- [63] Kontoyiannis DP, Lionakis MS, Lewis RE, et al. Zygomycosis in a tertiary-care cancer center in the era of *Aspergillus*-active antifungal therapy: a case-control observational study of 27 recent cases. *J Infect Dis* 2005; 191(8): 1350-1359.
- [64] Korones DN, Hussong MR, Gullace MA. Routine chest radiography of children with cancer hospitalized for fever and neutropenia: is it really necessary? *Cancer* 1997; 80: 1160-1164.
- [65] Kuhlmann JE, Fishman EK, Siegelman SS. Invasive pulmonary aspergillosis in acute leukemia: characteristic findings on CT, the CT halo sign, and the role of CT in early diagnosis. *Radiology* 1985; 157: 611-614.
- [66] Lass-Flörl C, Resch G, Nachbaur D, et al. The value of computed tomography- guided percutaneous lung biopsy for diagnosis of invasive fungal infection in immunocompromised patients. *Clin Infect Dis* 2007; 45: e101-104.
- [67] Latge JP. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 310-350.
- [68] Lentino JR, Rosenkranz MA, Michaels JA, et al. Nosocomial aspergillosis: a retrospective review of airborne disease secondary to road construction and contaminated air conditioners. *Am J Epidemiol* 1982; 116 (3): 430-437.
- [69] Leutner CC, Gieseke J, Lutterbey G, et al. MR imaging of pneumonia in immunocompromised patients: comparison with helical CT. *Am J Roentgenol* 2000; 175: 391-397.
- [70] Li F, Sone S, Maruyama Y, et al. Correlation between high-resolution computed tomographic, magnetic resonance and pathological findings in cases with non-cancerous but suspicious lung nodules. *Eur Radiol* 2000; 10: 1782-1791.
- [71] Lin SJ, Schranz J, Teutsch SM. Aspergillosis cases fatality rate: systematic review of the literature. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 358-366.
- [72] Link H, Böhme A, Cornely OA, et al. Antimicrobial therapy of unexplained fever in neutropenic patients- guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO). *Ann Hematol* 2003; 82: 105-117.
- [73] Loeffler J, Hebart H, Schumacher U, et al. Comparison of different methods for extraction of DNA of fungal pathogens from cultures and blood. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 3311-3312.
- [74] Loeffler J, Henke N, Hebart H, et al. Quantification of fungal DNA by using fluorescence resonance energy transfer and the Light Cycler system. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 586-590.
- [75] Loeffler J, Hebart H, Brauchle U, et al. Comparison between plasma and whole blood for the detection of *Aspergillus* DNA by PCR. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3830-3833.
- [76] Loeffler J, Schmidt K, Hebart H, et al. Automated extraction of genomic DNA from medically important yeast species and filamentous fungi by using the MagNA Pure LC system. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2240-2243.
- [77] Lorenz J. Pulmonale Komplikationen in der Hämatologie- invasive pneumonologische Diagnostik. <http://www.dgho-infektionen.de/agiho/> letzte Aktualisierung: 13.07.2004
- [78] Maertens J, Raad I, Petrikos G, et al. Efficacy and safety for treatment of invasive aspergillosis in patient refractory to or intolerant of conventional antifungal therapy. *Clin Infect Dis* 2004; 39(11): 1563-1571

- [79] Maertens J, Verhaegen J, Lagrou K, et al. Screening for circulating galactomannan as a noninvasive diagnostic tool for invasive aspergillosis in prolonged neutropenic patients and stem cell transplantation recipients: a prospective validation. *Blood* 2001; 97: 1604-1610.
- [80] Maertens J, Van-Eldere J, Verhaegen J, et al. Use of circulating galactomannan screening for early diagnosis of invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients. *J Infect Dis* 2002; 186: 1297-1306.
- [81] Maertens J, Theunissen K, Verbeken E, et al. Prospective clinical evaluation of lower-cut-offs for galactomannan detection in adult neutropenic cancer patients and haematological stem cell transplant recipients. *Br J Haematol* 2004; 126: 852-860.
- [82] Maertens J, Theunissen K, Verhoef G, et al. Galactomannan and computed tomography-based preemitive antifungal therapy in neutropenic patients at high risk for invasive fungal infection. *Clin Infect Dis* 2005; 41: 1242-1250.
- [83] Maertens J, Maertens V, Theunissen K, et al. Bronchoalveolar fluid galactomannan for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematologic diseases. *Clin Infect Dis* 2009; 49: 1688-1693.
- [84] Marr KA, Carter RA, Crippa F, et al. Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 909-917.
- [85] Marr KA, Balajee SA, McLaughlin L, et al. Detection of galactomannan antigenemia by enzyme immunoassay for the diagnosis of invasive aspergillosis: variables that affect performance. *J Infect Dis* 2004; 190(3): 641-649.
- [86] Marr KA, Laverdiere M, Gugel A, et al. Antifungal therapy decreases sensitivity of the *aspergillus* galactomannan enzyme immunoassay. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 1762-1769.
- [87] Martino R, Subirá M, Rovira M, et al. Invasive fungal infections after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: incidence and risk factors in 395 patients. *Br J Haematol* 2002; 116: 475-482.
- [88] Maschmeyer G. Pneumonia in febrile neutropenic patients: radiologic diagnosis. *Current opinion in oncology* 2001; 13: 229-235.
- [89] Maschmeyer G, Link H, Hiddemann W, et al. Pulmonary infiltrations in febrile patients with neutropenia. Risk factors and outcome under empirical antimicrobial therapy in a randomized multicenter study. *Cancer* 1994; 73(9): 2296-2304.
- [90] Maschmeyer G, Haas A, Cornely OA. Invasive aspergillosis. Epidemiology, diagnosis and management in immunocompromised patients. *Drugs* 2007; 67(11): 1567-1601.
- [91] Maschmeyer G, Beinert T, Buchheidt D, et al. Diagnosis and antimicrobial therapy of lung infiltrates in febrile neutropenic patients: Guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Haematology and Oncology (DGHO). *Eur J Cancer* 2009; 45: 2462-2472.
- [92] Matthay RA, Moritz ED. Invasive procedures for diagnosing pulmonary infection: a critical review. *Clin Chest Med* 1981; 2: 3-18.
- [93] Mennink-Kersten M, Ash, Donnelly JP, Verweij PE. Detection of circulating galactomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 349-357.
- [94] Metan G, Duruscu M, Uzun O. False positivity for *aspergillus* antigenemia with amoxicillin-clavulonic acid. *J Clin Microbiol* 2005 May; 2548-2549.
- [95] Musher B, Fredricks D, Leisenring W, et al. *Aspergillus* galactomannan enzyme immunoassay and quantitative PCR for diagnosis of invasive aspergillosis with bronchoalveolar lavage fluid. *J Clin Microbiol* 2004; 42(12): 5517-5522.
- [96] Nosari A, Anghileri M, Carrafiello G, et al. Utility of percutaneous lung biopsy for diagnosing filamentous fungal infections in hematologic malignancies. *J Hematol* 2002; 71: 75-79.
- [97] Offner F, Cordonnier C, Ljungman P, et al. Impact of previous aspergillosis on the outcome of bone marrow transplantation. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 1098-1103.

- [98] Pagano L, Ricci P, Nosari A, et al. Fatal haemoptysis in pulmonary filamentous mycosis: an underevaluated cause of death in patients with acute leukaemia in haematological complete remission. A retrospective study and review of the literature. *Br J Haematol* 1995; 89(3): 500-505.
- [99] Pagano L, Caira M, Candoni A, et al. The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: The SEIFEM-2004 study. *Haematologica* 2006; 91:1068-1075.
- [100] Patel NR, Lee P-S, Kim JH, et al. The influence of diagnostic bronchoscopy on clinical outcomes comparing adult autologous and allogeneic bone marrow transplant patients. *Chest* 2005; 127: 1388-1396.
- [101] Patterson TF, Kirkpatrick WR, White M, et al. Invasive aspergillosis. Disease spectrum, treatment practices, and outcomes. I3 Aspergillus Study Group. *Medicine (Baltimore)* 2000; 79 (4): 250-260.
- [102] Peikert T, Rana S, Edell ES. Safety, diagnostic yield, and therapeutic implications of flexible bronchoscopy in patients with febrile neutropenia and pulmonary infiltrates. *Mayo Clin Proc* 2005; 80(11): 1414-1420.
- [103] Perfect JR, Cox GM, Lee JY, et al. The impact of culture isolation of *aspergillus* species : A hospital- based survey of aspergillosis. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 1824-1833.
- [104] Pham AS, Tarrand JT, May GS, et al. Diagnosis of invasive mold infection by real-time quantitative PCR. *Am J Clin Pathol* 2003; 119: 38-44.
- [105] Raad I, Hanna H, Huaranga A, et al. Diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis using polymerase chain reaction- based detection of aspergillus in BAL. *Chest* 2002; 121: 1171-1176.
- [106] Reichenberger F, Habicht J, Matt P, et al. Diagnostic yield of bronchoscopy in histologically proven invasive pulmonary aspergillosis. *Bone Marrow Transplant* 1999; 24: 1195-1199.
- [107] Reichenberger F, Habicht J, Gratwohl A, et al. Diagnosis and treatment of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients. *Eur Respir J* 2002; 19(4): 743-755.
- [108] Reiss E, Lehmann PF. Galactomannan antigenemia in invasive aspergillosis. *Infect Immun* 1979; 25(1): 357-365.
- [109] Richardson MD. Changing pattern and trends in systemic fungal infections. *JAC* 2005; 56(1): i5-i11
- [110] Rickerts V, Just-Nübling G, Konrad F, et al. Diagnosis of invasive aspergillosis and mucormycosis in immunocompromised patients by seminested PCR assay of tissue samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006; 25: 8-13.
- [111] Rickerts V, Mousset S, Lambrecht E, et al. Comparison of histopathological analysis, culture, and polymerase chain reaction assays to detect invasive mold infections from biopsy specimens. *Clin Infect Dis* 2007; 44: 1078-1083.
- [112] Ruhnke M, Böhme A, Buchheidt D, et al. Diagnosis of invasive fungal infections in hematology and oncology. *Ann Hematol* 2003; 82(2): 141-148.
- [113] Sainz J, Perez E, Hassan L, et al. Variable number of tandem repeats of TNF receptor type 2 promoter as genetic biomarker of susceptibility to develop invasive pulmonary aspergillosis. *Human Immunol* 2007; 68(1): 41-50.
- [114] Sainz J, Hassan L, Perez E, et al. Interleukin-10 promoter polymorphism as risk factor to develop invasive pulmonary aspergillosis. *Immunol Lett* 2007; 109(1): 76-82.
- [115] Schaffner A, Douglas H, Braude A. Selective protection against conidia by mononuclear and against mycelia by polymorphonuclear phagocytes in resistance to *aspergillus*. Observation on these two lines of defense in vivo and in vitro with human and mouse phagocytes. *J Clin Invest* 1982; 69: 617-631.
- [116] Schiel X, Link H, Maschmeyer G, et al. A prospective, randomized multicenter trial of the empirical addition of antifungal therapy for febrile neutropenic cancer patients: Results of the Paul Ehrlich Society for Chemotherapy (PEG): Multicenter Trial II. *Infection* 2006; 34: 118-126.
- [117] Segal BH, Walsh TJ. Current approaches to diagnosis and treatment of invasive aspergillosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173(7): 707-717.

- [118] Seo KW, Kim DH, Sohn SK, et al. Protective role of interleukin-10 promotor gene polymorphism in the pathogenesis of invasive pulmonary aspergillosis after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2005; 36(12): 1089-1095.
- [119] Simmons RB, Price DL, Noble JA, et al. Fungal colonization of air filters from hospitals. *Am Ind Hyg Assoc J* 1997; 58(12): 900-904.
- [120] Sonnet S, Buitrago-Téllez CH, Tamm M, et al. Direct detection of angioinvasive pulmonary aspergillosis in immunosuppressed patients: Preliminary Results with high-resolution 16-MDCT angiography. *Am J Roentgenol* 2005; 185: 746-751.
- [121] Sparrelid E, Hagglund H, Remberger M, et al. Bacteraemia during the aplastic phase after allogeneic bone marrow transplantation is associated with early death from invasive fungal infection. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22(8): 795-800.
- [122] Spiess B, Buchheidt D, Baust C, et al. Development of a LightCycler PCR assay for detection and quantification of *Aspergillus fumigatus* DNA in clinical specimens from neutropenic patients. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1811-1818.
- [123] Springmeyer SC, Hackman RC, Holle R, et al. Use of bronchoalveolar lavage to diagnose acute diffuse pneumonia in the immunosuppressed host. *J Infect Dis* 1986; 154: 604-610.
- [124] Stover DE, Zaman MB, Hajdu SI, et al. Bronchoalveolar lavage in the diagnosis of diffuse pulmonary infiltrates in the immunosuppressed host. *Ann Intern Med* 1984; 101: 1-7.
- [125] Swanink CM, Meis JF, Rijs AJ, et al. Specificity of a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for detecting *aspergillus* galactomannan. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 257-260.
- [126] Tenholder MF. Pulmonary infections in the immunocompromised host: perspectives and procedures. *Chest* 1988; 94: 676-678.
- [127] van Burik JH, Leisenring W, Myerson D, et al. The effect of prophylactic fluconazole on the clinical spectrum of fungal diseases in bone marrow transplant recipients with special attention to hepatic candidiasis: an autopsy study of 355 patients. *Medicine (Baltimore)* 1998; 77(4): 246-254.
- [128] Verweij PE, Stylen D, Rijs AJ, et al. Sandwich enzyme-linked immunosorbent assay compared with latex agglutination test for diagnosing invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1912-1914.
- [129] Verweij PE, Figueroa J, van-Burik JA, et al. Clinical applications of non-culture based methods for the diagnosis and management of opportunistic and endemic mycoses. *Med Mycol* 2000; 38(1): 161-171.
- [130] Verweij PE, Mellado E, Melchers WJ. Multiple- triazole resistant aspergillosis. *N Engl J Med* 2007; 356: 1481-1483
- [131] von Eiff M, Steinemann R, Roos N, et al. Pneumonien bei abwehrgeschwächten Patienten: Stellenwert nicht bioptischer bronchoskopischer Untersuchungsverfahren in der Erregerdiagnostik. *Klin Wochenschr* 1990; 68(7): 372-379.
- [132] von Eiff M, Zuhlsdorf M, Roos N, et al. Pulmonary fungal infections in patients with hematological malignancies- diagnostic approaches. *Ann Hematol* 1995; 70: 135-141.
- [133] von Eiff M, Roos N, Schulten R, et al. Pulmonary aspergillosis: early diagnosis improves survival. *Respiration* 1995; 62: 341-347.
- [134] Wald A, Leisenring W, van Burik J-A, et al. Epidemiology of *aspergillus* infections in a large cohort of patients undergoing bone marrow transplantation. *J Infect Dis* 1997; 175: 1459-1466.
- [135] Walsh TJ. Invasive pulmonary aspergillosis in patients with neoplastic diseases. *Semin Respir Infect* 1990 Jun; 5(2): 111-122.
- [136] Walsh TJ, Hiemenz J, Pizzo PA, et al. Evolving risk factors for invasive fungal infections: all neutropenic patients are not the same. *Clin Infect Dis* 1994; 18(5): 793-798.
- [137] Walsh TJ, Dixon DM. Nosocomial aspergillosis: environmental microbiology, hospital epidemiology, diagnosis and treatment. *Eur J Epidemiol* 1998; 5(2): 131-142.
- [138] Warnock DW, Richardson MD. Fungal infection in the compromised patient. John Wiley & Sons Chichester 1991, Second Edition.



- [139] Weisser M, Rausch C, Droll A, et al. Galactomannan does not precede major sign on a pulmonary computerized tomographic scan of invasive aspergillosis in patients with hematological malignancies. *Clin Infect Dis* 2005; 41: 1143-1149.
- [140] White DA, Wong PW, Downey R. The utility of open lung biopsy in patients with hematologic malignancies. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 723-729.
- [141] White DA. *Aspergillus* pulmonary infections in transplant recipients. *Clin Chest Med* 2005; 26: 661-674.
- [142] White PL, Archer AE, Barnes RA. A comparison of non-culture based methods for the diagnosis of systemic fungal infections with an emphasis on invasive *Candida* infections. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 2181-2187.
- [143] White PL, Linton CJ, Perry MD, et al. The evolution and evaluation of a whole blood polymerase chain reaction assay for the detection of invasive aspergillosis in hematology patients in a routine clinical setting. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 479-486.
- [144] Williamson ECM, Leeming JP, Palmer HP, et al. Diagnosis of invasive aspergillosis in bone marrow transplant recipients by polymerase chain reaction. *Br J Haematol* 2000; 108: 132-139
- [145] Yamakami Y, Hashimoto A, Yamagata E, et al. Evaluation of PCR for detection of DNA specific for *Aspergillus* species in sera of patients with various forms of pulmonary aspergillosis. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 3619-1623.
- [146] Yamazaki T, Kume H, Murase S, et al. Epidemiology of visceral mycoses: analysis on data in annual of the pathological autopsy cases in Japan. *J Clin Microbiol* 1999; 37(6): 1732-1738.
- [147] Yeo SF, Wong B. Current status of nonculture methods for diagnosis of invasive fungal infections. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 465-484.
- [148] Yu VL, Muder RR, Poorsatter A. Significance of isolation of *aspergillus* from the respiratory tract in diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. Results from a three-year prospective study. *Am J Med* 1986; 81: 249-254.

## Erklärung

„Ich, Stefanie Neumann,

erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:

**„Evaluation diagnostischer Methoden bei hämatologisch- onkologischen Patienten mit dem Verdacht auf eine invasive pulmonale Aspergillose“**

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Potsdam, 13.02.2012

## Lebenslauf

"Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht."