

Aus der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt  
Hämatologie, Onkologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Die Bedeutung der bronchoalveolären Lavage bei Patienten mit  
hämatologischen Malignomen

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Katja Hochhäuser

aus Bonn

Datum der Promotion: 08.12.17

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Abstrakt</b> .....	<b>5</b>
1.1. Abstract in English .....	6
<b>2. Einleitung</b> .....	<b>7</b>
2.1. Bedeutung von pulmonalen Infektionen in der Hämatologie .....	7
2.2. Wichtige pulmonale Erreger in der Hämatologie .....	9
2.2.1. Aspergillus .....	9
2.2.2. Candida .....	11
2.2.3. Mukormykosen.....	13
2.2.4. Bakterien.....	13
2.2.5. Viren .....	14
2.2.6. Pneumocystis jirovecii.....	16
2.2.7. Mykobakterien.....	17
2.3. Diagnostische Methoden für pulmonale Infiltrate in der Hämatologie .....	18
2.3.1. Bronchoskopie .....	18
2.3.2. Bronchoalveoläre Lavage .....	18
2.3.3. Lungenbiopsie.....	19
2.4. Empfohlene Diagnostik in der BAL von Patienten mit Lungeninfiltraten mit hämatologischen Malignomen und nach HSZT .....	19
2.5. Herleitung der Fragestellung .....	20
<b>3. Methodik</b> .....	<b>22</b>
3.1. Studiendesign .....	22
3.2. Erhebungszeitraum und Erhebungsort.....	22
3.3. Datenerhebung .....	22
3.4. Ein- und Ausschlusskriterien .....	22
3.4.1. Einschlusskriterien.....	22

3.4.2.	Ausschlusskriterien .....	22
3.5.	Patientencharakteristika (Methodik) .....	23
3.6.	Statistische Auswertung .....	30
<b>4.</b>	<b>Ergebnisbeschreibung</b> .....	<b>32</b>
4.1.	Patientencharakteristika (BAL).....	32
4.1.1.	Klinische Symptome der Patienten .....	33
4.2.	Auswertung der BAL .....	34
4.2.1.	Aspergillus (Durchgeführte Untersuchungen und Erregerwachstum) .....	34
4.2.2.	Candida (Durchgeführte Untersuchungen und Erregerwachstum) .....	39
4.2.3.	Bakterien (Durchgeführte Untersuchungen und Erregerwachstum).....	40
4.2.4.	Viren (Durchgeführte Untersuchungen und Erregerwachstum) .....	44
4.2.5.	Pneumocystis jirovecii (Durchgeführte Untersuchungen und Erregerwachstum) .....	45
4.2.6.	Mykobakterien (Durchgeführte Untersuchungen und Erregerwachstum) ..	46
4.2.7.	Gesamtauswertung.....	47
4.3.	Patientencharakteristika Lungenbiopsie.....	51
4.3.1.	Klinische Symptome der Patienten .....	52
4.3.2.	Klinischer Verlauf der Patienten mit positiver Lungenbiopsie .....	52
<b>5.</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>55</b>
5.1.	Allgemeine diagnostische Ausbeute .....	55
5.2.	Durchführung der BAL.....	56
5.3.	Bedeutung von Aspergillus für pulmonale Infektionen .....	56
5.4.	Bedeutung von Candida für pulmonale Infektionen.....	58
5.5.	Bedeutung von Bakterien für pulmonale Infektionen .....	59
5.6.	Bedeutung von Viren für pulmonale Infektionen.....	59
5.7.	Bedeutung von Pneumocystis jirovecii für pulmonale Infektionen .....	60
5.8.	Bedeutung von Mykobakterien für pulmonale Infektionen .....	61

5.9.	Bedeutung der Lungenbiopsie in der Diagnostik pulmonaler Infiltrate .....	63
5.10.	Bedeutung der radiologischen Diagnostik für pulmonale Infiltrate.....	65
5.11.	Komplikationen der BAL.....	66
5.12.	Limitationen.....	66
5.13.	Zusammenfassung, Schlussfolgerungen und Ausblick .....	67
<b>Literaturverzeichnis .....</b>		<b>68</b>
<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>		<b>88</b>
<b>Lebenslauf.....</b>		<b>91</b>
<b>Danksagung.....</b>		<b>92</b>

## 1. Abstrakt

**Einleitung:** Pulmonale Komplikationen sind eine der häufigsten Ursachen für die Mortalität und Morbidität von Patienten mit hämatologischen Malignomen, die mit intensiver Chemotherapie oder Stammzelltransplantation (HSZT) behandelt werden. Eine radiologische Diagnostik wird regelhaft durchgeführt, kann aber nicht sicher zwischen den pulmonalen Komplikationen unterscheiden. Kontrovers diskutiert wird unter Experten der klinische Stellenwert einer mikrobiellen Diagnostik mittels bronchoalveolärer Lavage (BAL) und transbronchialer Lungenbiopsie. Am Campus Virchow Klinikum der Charité wurde im Januar 2013 ein neuer Standard zur mikrobiellen Untersuchung von BALs bei Patienten mit hämatologischen Erkrankungen etabliert. In dieser Promotion soll untersucht werden, ob die Durchführung einer BAL mit standardisierten virologischen, bakteriologischen und mykologischen Untersuchungen einen klinischen Nutzen hat. Zusätzlich sollen Komplikationsraten und Befunde der transbronchialen Biopsien ausgewertet werden.

**Methodik:** In der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hämatologie, Onkologie und Tumorimmunologie am Campus Virchow Klinikum der Charité Universitätsmedizin Berlin wurden retrospektiv die Daten von allen Patienten mit hämatologischen Malignomen ausgewertet, die zwischen Januar 2013 und Dezember 2015 aufgrund von pulmonalen Infiltraten eine Bronchoskopie mit BAL erhalten hatten. Die Komplikationsraten, die mikrobiologischen Ergebnisse und die pathologischen Befunde wurden ausgewertet und mit den klinischen Parametern korreliert.

**Ergebnisse:** 45 Patienten erhielten eine BAL und neun von diesen Patienten erhielten zusätzlich eine transbronchiale Lungenbiopsie. Nach keiner der 45 durchgeführten BALs, inklusive neun transbronchialen Lungenbiopsien, sind Komplikationen aufgetreten. In der BAL konnten bei 20 von 45 Patienten (44,4 %) klinisch wegweisende Hinweise auf relevante Infektionen nachgewiesen werden (Abbildung 15, Seite 42). Eine invasive pulmonale Mykose konnte bei 13 Patienten diagnostiziert werden. In den Lungenbiopsien konnte nur bei einem von neun Patienten (11,1 %) eine definitive Infektion bewiesen werden.

**Schlussfolgerungen:** Die vorliegende Arbeit zeigt eine sehr niedrige Komplikationsrate der Bronchoskopie mit BAL bei Patienten mit hämatologischen Malignomen und mit

Lungeninfiltraten. Die hohe Ausbeute an wegweisenden klinischen Befunden ist ein starkes Argument für den zukünftigen Einsatz der Bronchoskopie mit BAL.

### 1.1. Abstract in English

**Introduction:** Pulmonary complications are among the most frequent causes of mortality and morbidity among patients with hematological malignancies treated with chemotherapy or stem cell transplantation. Despite a radiological workup being performed on a regular basis, it is often impossible to distinguish between different causes of pulmonary complications. The diagnostic significance of microbiological diagnostics via bronchoalveolar lavage (BAL) and transbronchial lung biopsy (TLB) is subject to discussion among experts. A new standard for microbiological examinations using BAL in patients with hematological diseases was established at the Charité Virchow Klinikum in January 2013. In this dissertation the clinical benefit of performing BAL with virological, bacteriological and mycological examination is analyzed. Furthermore, complications and results of BAL and TLB are evaluated.

**Methods:** Data of all patients with hematological malignancies and pulmonary infiltration who received a BAL at the Department for Hematology, Oncology and Tumor Immunology at the Charité University Medicine Berlin, Campus Virchow Clinic between January 2012 and December 2015 were analyzed retrospectively. In addition, the complication rates of TLB as well as microbiological and pathological results were correlated with clinical parameters.

**Results:** 45 Patients received a BAL. Of these 45 patients, 9 patients also received a TLB. There occurred no complications related to BAL or TLB. In 20 of 45 patients (44.4 %) information leading to diagnosis of relevant infections were obtained. An invasive pulmonary mycosis was diagnosed in 13 patients by BAL results. In 1 of 9 patients (11.1 %) with TLB an infection could be diagnosed.

**Conclusion:** This study showed a very low rate of complications of BAL and transbronchial lung biopsy in patients with hematological malignancies and pulmonary infiltration. Given the high yield of clinically significant results, a strong argument for the future use of BAL can be made.

## 2. Einleitung

### 2.1. Bedeutung von pulmonalen Infektionen in der Hämatologie

Patienten mit hämatologischen Malignomen, die mit intensiver Chemotherapie oder Stammzelltransplantation behandelt werden, sind oft von pulmonalen Komplikationen betroffen, die eine häufige Ursache für die Mortalität und Morbidität sind [1,2]. Eine Häufigkeit für die Entwicklung von Lungeninfiltraten hängt von Risikofaktoren ab und wird mit bis zu 25 % beschrieben [2]. Bedeutende Risikofaktoren für die Entwicklung pulmonaler Komplikationen sind ein höheres Lebensalter, schwere Mukositis, Hypogammaglobulinämie, die häufige Verwendung von zentralen Venenkathetern, die Kolonisation des Magen-Darm-Trakts, eine verlängerte Neutropenie, nicht verwandte Spender, sowie eine akute und chronische Graft versus Host Disease (GvHD) [3,4]. Die Ursachen sind sowohl infektiös als auch nicht infektiös [5-7]. Neben den häufig auftretenden Infektionen, deren Erregerspektrum *Aspergillus spp.*, *Pneumocystis jirovecii*, multiresistente Gram-negative Bakterien, Mykobakterien, respiratorische Viren, Fadenpilze u.a. umfasst, müssen differentialdiagnostisch auch therapieassoziierte Komplikationen durch die Chemotherapie oder Bestrahlung und bronchopulmonale Manifestationen der Grundkrankheit, sowie davon unabhängige pulmonale Erkrankungen bedacht werden [2,8]. Von besonderer Bedeutung ist das Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS), welches einen wesentlichen Grund für die Aufnahme von Patienten mit hämatologischen und onkologischen Malignomen auf die Intensivstationen darstellt und mit einer erhöhten Sterblichkeit assoziiert ist [9,10]. Mehrere Studien zeigen zudem eine erhöhte Mortalität, wenn eine Intubation erforderlich ist, oder die Ursache des respiratorischen Versagens nicht gefunden werden kann [10-13]. Ziel ist deshalb ein frühes diagnostisches und therapeutisches Eingreifen, um diese Komplikationen zu verhindern. Ein geeignetes diagnostisches Verfahren stellt die Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage (BAL) dar. Ergebnisse früherer Studien legen nahe, dass eine Bronchoskopie mit BAL ein sicheres Verfahren ist und in bestimmten Indikationen eine hohe diagnostische Ausbeute haben kann [1,4,14-18]. Ein potentieller Nutzen der BAL könnte die Reduktion von empirisch verabreichten Antibiotika sein, welche mit toxischen Nebenwirkungen und der Ausbildung von multiresistenten Erregern assoziiert ist [19,20]. Seltene aber gefürchtete Komplikationen der BAL sind Verletzungen der Schleimhaut und schwere Blutungen während oder nach dem Eingriff [4,16]. Des Weiteren kann es zu respiratorischen und

hämodynamischen Komplikationen sowie zu einer Bakteriämie kommen [19]. Die mit dem Verfahren assoziierte Sterblichkeit bei Patienten mit hämatologischen Erkrankungen ist jedoch als gering beschrieben worden [14,21]. Limitationen der BAL sind die mangelnde Standardisierung der Methoden bzw. das Fehlen von verlässlichen Methoden zum Nachweis bestimmter Erreger [22]. Ein Beispiel ist der gut etablierte Galactomannan-Test (GM) für den Nachweis von Aspergillus, bei dem über den optimalen Cut-off-Wert in der BAL diskutiert wird [23-25]. Auch der Einsatz von Polymerase-Ketten-Reaktion-(PCR)-Techniken, z.B. für den Nachweis einer invasiven Aspergillose, ist bisher aufgrund eines Mangels an Standardisierung nicht als Test in der Routinediagnostik enthalten [22,26]. Patienten müssen für die Durchführung der Bronchoskopie aus ihrem geschützten isolierten Bereich genommen werden. Allgemein wird empfohlen, die Patienten nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation (HSZT) in einem isoliertem Einzelzimmer mit steril gefilterter Luftzufuhr unterzubringen und nur in Notfällen aus diesem Bereich zu entfernen [27,28]. Allerdings zeigen neuere Daten keinen signifikanten Einfluss eines geschützten isolierten Bereichs (protected environment) auf die Inzidenz von Infektionen nach allogener Blutstammzelltransplantation (allo-HSZT) [29]. Neben der Bronchoskopie mit BAL gibt es auch die Möglichkeit einer zeitgleichen transbronchialen Lungenbiopsie (TBLB) oder einer thorakoskopischen Lungenbiopsie. Die TBLB wird bei Patienten mit febriler Neutropenie oder Thrombozytopenie von einigen Autoren nicht empfohlen [2,30]. Die größte Befürchtung besteht vor schweren oder sogar lebensbedrohlichen Blutungen nach dem Procedere [18]. Es wurde jedoch gezeigt, dass auch bei Patienten mit einer Thrombozytenzahl von weniger als  $50 \times 10^9/l$  die TBLB sicher durchgeführt werden kann, wenn Blutplättchen vor dem Verfahren substituiert worden sind [18]. In dem Review von Chellapandian et al., die in ihrer Literaturrecherche 72 Studien über BAL und 31 Studien über Lungenbiopsie eingeschlossen haben, wurde eine doppelt so hohe Komplikationsrate der Lungenbiopsie gegenüber der BAL beschrieben sowie eine höhere Sterblichkeit [1]. Die TBLB bietet jedoch auch Chancen für die Diagnosestellung von Erkrankungen, bei denen histopathologische Veränderungen relevant sind (z.B. Bronchiolitis obliterans oder bewiesene Aspergillose) oder bei der Erfassung von Malignomen [1]. Insgesamt ist sie bei Verdacht auf eine nicht-infektiöse Ursache der BAL überlegen [1]. Die radiologischen Befunde sind bei Patienten mit hämatologischen Malignomen und pulmonalen Infiltraten häufig unspezifisch [1]. Selbst charakteristische CT-Befunde wie das „halo sign“ oder das „air-crescent-sign“ als Zeichen einer



Fadenpilzinfektion können auch mit anderen Erkrankungen assoziiert sein und sind nicht spezifisch [31]. Dieses Beispiel verdeutlicht, dass eine genaue Diagnosestellung und die damit verbundene adäquate Behandlung dieser beiden lebensbedrohlichen Infektionen allein durch die Bildgebung nicht möglich und eine weitere Abklärung durch eine Bronchoskopie mit BAL oder Biopsie erforderlich ist [32]. Ein weiteres Problem sind möglicherweise die häufigen falsch positiven Ergebnisse in der Radiologie. So haben z.B. 88 % der asymptomatischen Patienten mit Akuter Myeloischer Leukämie (AML) ein pathologisches CT [33]. Um den Ursprung eines pulmonalen Infiltrats feststellen zu können, sind deshalb weitere Untersuchungen notwendig und gerechtfertigt. Diese umfassen die Diagnostik von Sputum, Blut- und Urinproben sowie die Bronchoskopie mit BAL und ggf. die Durchführung einer Lungenbiopsie [1]. Die mikrobiologische Diagnostik aus dem Blut ist häufig im Vergleich zur BAL wenig sensitiv. Boch et al. stellten beim GM-Test im Blut eine Sensitivität von nur 19 % fest; in der BAL lag diese zum Vergleich bei 43 % [34]. Die PCR im Blut hatte lediglich eine Sensitivität von 5 % im Vergleich zur BAL, bei der diese bei 32 % lag [34]. Aktuelle Daten sprechen auch gegen die Nützlichkeit einer Antikörperbestimmung im Blut zur Abschätzung einer Entwicklung einer pulmonalen Aspergillose nach allo-HSZT [35]. In Zusammenschau der unspezifischen Radiologie und der unbefriedigenden Ergebnisse der Mikrobiologie im Blut ist die Bronchoskopie mit BAL auch als invasives Verfahren bei der Diagnostik von febrilen Patienten mit hämatologischen Malignomen und Lungeninfiltraten die beste und sensitivste Methode zur Erkennung und Behandlung von pulmonalen Komplikationen und ist in dieser Patientengruppe gerechtfertigt.

## 2.2. Wichtige pulmonale Erreger in der Hämatologie

### 2.2.1. Aspergillus

Die invasive Aspergillose (IA) ist nach wie vor eine der Hauptursachen für die Morbidität und Mortalität bei Patienten mit hämatologischen Erkrankungen [36-38]. Aspergillus ist der häufigste Erreger einer invasiven Pilzinfektion, gefolgt von Candida [37]. Die Sterblichkeit für Aspergillosen kann in Abhängigkeit von verschiedenen Risikofaktoren bis zu 60 % betragen [39,40]. Der diagnostische Goldstandard ist der Nachweis in einer positiven Kultur oder mittels eines positiven histologischen Befundes durch Lungenbiopsie [41]. Allerdings wird die Lungenbiopsie aufgrund der assoziierten Risiken seltener durchgeführt als die BAL [42]. Andere Verfahren, wie z.B. die PCR, sind aufgrund fehlender Standardisierung kein fester Bestandteil der Aspergillus-

Diagnosekriterien [42]. Eine geringe Sensitivität und Spezifität der Untersuchungsmethoden sowie eine erhebliche Zeitverzögerung bei der Erfassung einer IA begrenzen deren klinischen Wert [38,43,44]. Eine frühzeitige Diagnose und schnelle antimykotische Behandlung sind wichtig, um das Überleben zu verbessern [45]. Zur Einteilung der mykotischen Infektionen wurde die revidierte Definition der European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group Consensus Group (EORTC/MSG) verwendet, mit der die Wahrscheinlichkeit einer Pilzinfektion eingeschätzt werden soll [46]. Es werden drei Kategorien der Wahrscheinlichkeit unterschieden: nachgewiesen (proven), wahrscheinlich (probable) und möglich (possible) (Tabelle 1).

Tabelle 1: Wahrscheinlichkeit einer Mykose nach der EORTC-Klassifikation

<u>Mögliche invasive Mykose</u>
Ein Patienten-individueller Faktor und ein klinisches Kriterium müssen erfüllt sein
<u>Wahrscheinliche invasive Mykose</u>
Ein Patienten-individueller Faktor, ein klinisches Kriterium und ein mikrobiologisches Kriterium müssen erfüllt sein
<u>Bewiesene invasive Mykose</u>
Erreger muss direkt unter sterilen Bedingungen gewonnen werden
Der Nachweis ist hier unter dem Mikroskop, in der Kultur oder aus der Histologie möglich

In jeder Kategorie wird überprüft, ob die drei relevanten Kriterien „Patienten-individuelle Faktoren (host factors)“ (Tabelle 2), „klinische Zeichen und Symptome“ (Tabelle 3) und „mikrobiologische Befunde und Gewebediagnostik“ (Tabelle 4) vorliegen [47].

Tabelle 2: Patienten-individuelle Faktoren der EORTC-Klassifikation

Neutropenie (10 Tage), zeitlich mit dem Beginn der Pilzinfektion korrelierend
Empfänger einer allo-HSZT
Prolongierte Gabe von Kortikosteroiden mit einer täglichen Minimaldosis von 0,3 mg/kg für >3 Wochen
Behandlung mit T-Zell-suppressiver Medikation wie z.B. Ciclosporin A, TNF- $\alpha$ -Blocker oder Alemtuzumab
Schwerer genetischer Immundefekt

Für eine invasive Pilzinfektion der Lunge muss eines von den drei aufgelisteten CT-Kriterien erfüllt sein (Tabelle 3). Die übrigen Infektionen wie Tracheobronchitis, sinunasale Infektionen, ZNS-Infektionen und disseminierte Kandidosen waren bei der vorliegenden Studienpopulation nicht relevant.

Tabelle 3: Kriterien im CT-Thorax der EORTC-Klassifikation

Dichte, gut umschriebene Läsion mit oder ohne Halo-Zeichen
Air-crescent-Zeichen
Hohlrumbildung

Um die Diagnose einer wahrscheinlichen Aspergillose stellen zu können, muss zusätzlich ein mikrobiologisches Kriterium erfüllt sein (Tabelle 4).

Tabelle 4: Mikrobiologische Gewebediagnostik der EORTC-Klassifikation

Direkter Nachweis mittels Zytologie, Mikroskopie oder Kultur
Wachstum von Schimmelpilzen im Sputum, in der BAL oder im Bürstenzytologiepräparat, angezeigt durch mikroskopischen Nachweis oder Wachstum in der Kultur
Indirekter Nachweis (Antigennachweis)
Aspergillose: positiver Galactomannan-Antigen-Test in Plasma, Serum, BAL oder Liquor
Andere invasive Mykosen ausgenommen Kryptokokken und Zygomyceten: $\beta$ -D-Glucan-Nachweis im Serum

### 2.2.2. Candida

Als normaler Kommensale des Menschen kann der Hefepilz *Candida* auf Haut und Schleimhäuten gefunden werden. Von den mehr als 150 bekannten *Candida*-Arten tritt nur eine begrenzte Anzahl als regelmäßiger Infektionserreger auf. *Candida albicans* ist der wichtigste Erreger [48]. Besonders gefährdet sind immunsupprimierte Patienten [49]. Das Spektrum der durch *Candida*-Arten hervorgerufenen Erkrankungen umfasst oberflächliche und invasive Infektionen [48]. Die invasiven Candidosen sind endogene Infektionen und stammen aus der patienteneigenen Flora. *Candida* kann bei zerstörter Haut oder Schleimhautbarriere in den Blutstrom geraten und somit eine systemische Infektion auslösen [48]. Die Candidämie ist die häufigste Manifestation einer

systemischen Candida-Infektion. Fieber ist das häufigste Symptom. Oft besteht eine Assoziation zu zentralen Venenkathetern. Invasive Candida-Infektionen sind immer als lebensbedrohliche Erkrankungen einzuordnen [48]. Pfaller et al. beschrieben in ihrer prospektiven Studie, in der sie 3648 Patienten mit invasiver Candida-Infektion untersuchten, eine Sterblichkeit von fast 40 % [50]. Candidapneumonien sind sehr selten und in der Regel durch hämatogene Streuung verursacht. Sie sind schwierig zu diagnostizieren, da Kolonisationen häufig und Infektionen selten sind. Zum Nachweis einer Candidämie gilt die Blutkultur als die wichtigste Nachweismethode. Bei Verdacht auf eine Candidämie sollten mindestens zwei separate Paare venöser Blutkulturen für die kulturelle Untersuchung unmittelbar vor Beginn der antimykotischen Therapie abgenommen werden [48,51]. Die Prävalenz der Candidainfektionen bei Patienten mit hämatologischen Erkrankungen reicht je nach Literatur von 1,6 % bis 22,9 % und ist abhängig von den Patientencharakteristika, geographischen Besonderheiten und Diagnosekriterien einer Candidainfektion (Tabelle 5) [39,52]. Wegen der häufigen Kontamination durch Mund- oder Rachensekret sind serologische Tests für die Diagnosestellung nicht weiter hilfreich, sondern es ist eine hohe Keimzahl in der BAL oder ein histologischer Nachweis nötig [53].

Tabelle 5: Diagnosekriterien einer Candidapneumonie [54]

Gesicherte Diagnose: Histologischer Nachweis von Hyphen und Pseudohyphen in einer Lungenbiopsie ± kultureller Nachweis in gleichem Gewebe
Verdachtsdiagnose: Therapieresistenz trotz breiter antibakterieller Therapie plus Nachweis von <i>Candida spp.</i> in der Blutkultur und/oder in der BAL oder plus typische Candida-Endophthalmitis, jeweils erhärtet durch Nachweis einer Candidurie

Die Diagnose einer fraglich relevanten Candidapneumonie ist bisher nur ex adjutantibus nach klinisch erfolgreicher antimykotischer Therapie möglich, stellt jedoch keinen Beweis dar. Bei der medikamentösen Behandlung einer Candidämie und anderer systemischer Candida-Infektionen sind Fluconazol oder – aus der Substanzklasse der Echinocandine – Anidulafungin, Caspofungin oder Micafungin Mittel der ersten Wahl [48].

### 2.2.3. Mukormykosen

Mukormykosen sind lebensbedrohliche invasive Pilzinfektion bei Patienten mit hämatologischen Malignomen und nach HSZT, die nach Aspergillus und Candida am häufigsten in dieser Patientengruppe auftreten und in den letzten Jahren viel Aufmerksamkeit erhalten haben [55,56]. Obwohl es eine seltene Erkrankung ist, scheint die Inzidenz für diese Infektion anzusteigen [57,58]. Die steigende Häufigkeit scheint einerseits mit der erhöhten Prävalenz von Diabetes mellitus in Zusammenhang zu stehen, andererseits aber auch mit dem steigenden Gebrauch immunsuppressiver Therapien [56,57]. Die Inzidenz nach allo-HSZT beträgt ca. 0,3 % [57]. Bei Patienten mit einer hämatologischen Grunderkrankung ist in der Regel die Lunge betroffen, was mit einer hohen Sterblichkeit verbunden ist [59]. Eine Studie von Skiada et al. beschreibt eine Mortalitätsrate von fast 50 % [57]. Das klinische Bild einer Mukormykose ist schwierig von dem einer IA zu unterscheiden [60]. Im CT ist häufig ein umgekehrtes Halo-Zeichen oder „Atoll-Zeichen“ zu finden, was jedoch nicht spezifisch für die Mukormykose ist [59]. Die Diagnose der Mukormykose beruht hauptsächlich auf direkten Nachweis mittels Pathologie und Kulturanzüchtung. Ein mikroskopischer Nachweis von typischen Hyphen nach Färbung (z.B. Calcofluor-Weiß) liefert einen starken Beweis für die Mukormykose [57]. Auch der Nachweis mittels PCR kann entscheidende diagnostische Hinweise liefern, z.B. für die Unterscheidung der verschiedenen Gattungen, auch wenn das Verfahren, z.B. durch geringe Sensitivität, limitiert ist [55,57]. Die Behandlung umfasst das chirurgische Débridement und die antimykotische Behandlung [59]. Für die First-Line-Therapie wird eine Behandlung mit Amphotericin B oder Posaconazol empfohlen [59].

### 2.2.4. Bakterien

Bakterien gehören auch bei den immunsupprimierten Patienten zu den häufigsten Erregern von Pneumonien. Abhängig vom Immundefekt kommen unterschiedliche Erreger vor. Gramnegative Bakterien sind bei Patienten mit myelo- und lymphoproliferativen Erkrankungen vorherrschend, während bei Patienten mit primärer Immunschwäche grampositive Stämme dominieren [61]. In der Frühphase nach Transplantation gibt es zwei Hauptquellen von bakteriellen Infektionen. Die erste ist die normale gastrointestinale Flora, die besonders für gramnegative Infektionen verantwortlich ist. Nach Durchbrechen der physiologischen Barrieren können gramnegative Bakterien Infektionen verursachen, indem sie aus dem Darm in den

Blutkreislauf aufsteigen [62]. Grampositive Bakterien können durch beschädigte Schleimhaut oder Hautläsionen bzw. von Kathetern in den Blutkreislauf gelangen [3,62]. Diese Infektionen der Blutbahn sind mit einer erhöhten Sterblichkeit assoziiert [63,64]. Besonders gramnegative Infektionen sind immer noch mit einer hohen Mortalitätsrate verbunden [65]. Mikulska et al., die Blutbahninfektionen von 132 Patienten nach HSZT untersuchten, beschrieben eine Sterblichkeit von 11 % innerhalb von 7 Tagen und bei Pseudomonas-Infektionen sogar von 39 % [64]. Besonders Pseudomonaden sind häufig bei neutropenen Patienten mit Lungeninfiltraten nachweisbar [66]. Die antibakterielle Prophylaxe spielt hier eine wichtige Rolle. Händewaschen, Mundhygiene, Magen-Darm-Dekontamination und orale Fluorchinolone haben sich als wichtige Vorsichtsmaßnahmen erwiesen [67]. Die deutschen Leitlinien und die Leitlinien der European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) empfehlen die Prophylaxe mit Fluorchinolonen [68,69]. Aufgrund der zunehmenden Resistenz gegen Fluorchinolone gibt es eine aktuelle Debatte über die Nützlichkeit dieser Prophylaxe [62,64]. In der späten Phase nach allo-HSZT sind Infektionen mit bekapselten Bakterien, wie *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* oder *Neisseriae meningitidis* aufgrund von GvHD und seiner Behandlung, funktioneller Asplenie sowie Hypogammaglobulinämie vorherrschend. Durch Impfung, intravenöser Gabe von Immunglobulinen und einer eventuellen Prophylaxe mit Penicillin oder Makrolidantibiotika kann das Auftreten dieser Infektion verringert werden [3].

#### 2.2.5. Viren

Auch virale Infektionen der Lunge stellen ein großes Problem bei hämatologischen Patienten, insbesondere auch nach Stammzelltransplantation dar. Trotz Fortschritten in der Diagnostik und Therapie sind sie immer noch mit einer erhöhten Sterblichkeit verbunden [70-72]. Besonders die Reaktivierung latenter viraler Infektionen mit humanpathogenen Herpesviren wie Infektionen durch *Herpes-simplex-Virus 1* (HSV-1), *Herpes-simplex-Virus 2* (HSV-2), Cytomegalovirus (CMV) und Varizella-Zoster-Virus (VZV) sind eine häufige Komplikation und Ursache für Morbidität und Sterblichkeit bei diesen Patienten [72,73]. Die Infektion mit CMV ist die bedeutendste opportunistische Virusinfektion bei Patienten mit Immundefizienz [66]. Der häufigste Manifestationsort ist die Lunge. Typisch für eine CMV-Infektion sind in der Bildgebung bilaterale, primär interstitielle Infiltrate. Charakteristische klinische Symptome sind Fieber, trockener Husten und progrediente Dyspnoe. Der wichtigste Risikofaktor ist ein „Missmatch“, also

ein CMV-positiver Spender und ein CMV-negativer Empfänger [66]. Weitere Risikofaktoren sind eine Behandlung mit Steroiden, Transplantate mit verringerten T-Zellen und eine akute oder chronische GvHD [74,75]. Die aktuelle Leitlinie der Arbeitsgemeinschaft Infektionen in der Hämatologie und Onkologie (AGIHO) von der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Medizinische Onkologie (DGHO) zu Diagnose und Behandlung, empfiehlt Ganciclovir, Valganciclovir oder Foscarnet zur Behandlung einer CMV-Infektion als Substanzen der ersten Wahl [74]. Die Bedeutung von Infektionen von hämatologischen Patienten mit den Community acquired respiratory viruses (CRV) wird zunehmend anerkannt. *Orthomyxoviridae* (Influenza A, B und C), *Paramyxoviridae* (einschließlich Parainfluenza-1E4 (PIV)), *Respiratory Syncytial Virus A und B* (RSV) das *humane Metapneumovirus* (hMPV), *Coronaviridae*, *Picornaviridae* (einschließlich > 100 verschiedene Serotypen von *Rhinovirus* und *Enterovirus*), *Adenoviridae*, *Polyomavirus Typ 1* und *Bocavirus* gelten als mögliche Ursachen für CRV-Infektionen [76]. Bei immunkompetenten Individuen sind CRV verantwortlich für Infektionen der oberen oder unteren Atemwege und äußern sich in der Regel als Erkältung. Bei immunsupprimierten Patienten kann es hingegen zu lebensbedrohlichen Verläufen kommen [76]. Infektionen der unteren Atemwege können Auswirkungen auf den klinischen Verlauf haben, da die Symptomatik meistens so stark ausgeprägt ist, dass dies einen Aufschub der Chemotherapie erfordert [77]. Ein lebensbedrohlicher Verlauf bei Infektionen der oberen Atemwege ist eher selten [76]. Die Angaben in der Literatur zur Sterblichkeit von Infektionen der unteren Atemwege variieren. Virale Infektionen mit Influenzaviren liegen mit einer Häufigkeit von 30 % vor, die eine Sterblichkeit von fast 25 % zur Folge haben [78-81]. Mindestens genauso gefährlich scheinen Infektionen mit RSV zu sein, die mit einer hohen Mortalität verbunden sind [82]. Eine Co-Infektion mit Bakterien, Pilzen oder auch anderen Viren scheint bei ca. 30 % der Patienten aufzutreten und ist mit einer höheren Sterblichkeit verbunden als eine alleinige CRV-Infektion [83-85]. Um den viralen Ursprung zu sichern, ist die Entnahme von respiratorischen Proben mittels Tupfer, Nasen-Rachen-Abstrich oder BAL erforderlich [76]. Die zuverlässigste Erkennung eines CRV in respiratorischen Sekreten erfolgt mit auf Nukleinsäureamplifikation basierenden Techniken wie der PCR [76].

### 2.2.6. *Pneumocystis jirovecii*

*Pneumocystis jirovecii* kann zu lebensbedrohlichen Pneumonien bei der Behandlung von Patienten mit malignen hämatologischen Erkrankungen oder nach HSZT führen [86]. Die Sterblichkeitsrate einer *Pneumocystis jirovecii*-Pneumonie (PCP) liegt bei diesen Patienten zwischen 30 % und 60 % [87]. Initial wurde *Pneumocystis jirovecii* als Protozoe, dann jedoch nach der Analyse der ribosomalen RNA als Pilz umklassifiziert [88]. Das Risiko für die Entwicklung einer PCP wird durch die Grunderkrankung und deren spezifische Behandlung stark beeinflusst. Patienten, die aufgrund einer Akuten Lymphatischen Leukämie (ALL) behandelt wurden, haben ein hohes Risiko für die Entwicklung einer PCP [89]. Die Hauptprädisposition für PCP bei nicht-HIV-infizierten Patienten mit hämatologischen Erkrankungen stellt die Therapie mit Kortikosteroiden dar [90-92]. Des Weiteren sind Chemotherapie und die Behandlung mit monoklonalen Antikörpern mit einem gehäuften Auftreten einer PCP assoziiert [93,94]. Fast jeder zweite Patient mit einer malignen hämatologischen Erkrankung und einer PCP entwickelt eine akute respiratorische Insuffizienz, die die Aufnahme auf die Intensivstation erfordert [86,93,95]. Eine adäquate Prophylaxe reduziert das Risiko bei ALL-Patienten oder HSZT-Empfängern, eine PCP zu entwickeln. Heutzutage sind meistens Patienten betroffen, deren Prophylaxe nicht ausreichend ist [90,95,96]. Die Prophylaxe soll mindestens sechs Monate nach HSZT andauern, um einen PCP-assoziierten Tod zu verhindern [74]. Klinisch manifestiert sich die PCP sowohl bei Kindern als auch bei Erwachsenen mit Fieber, Dyspnoe, nicht-produktivem trockenem Husten, Thoraxschmerzen, Schüttelfrost, schwerer Hypoxämie und als diffuse interstitielle Pneumonie [87]. Fieber stellt mit einem Auftreten von über 90 % das wichtigste klinische Symptom bei Patienten mit hämatologischen Erkrankungen dar [95]. Daher sollte bei Hochrisiko-Patienten sofort eine Bronchoskopie mit BAL durchgeführt werden, wenn andere indirekte oder direkte Methoden die Ätiologie der respiratorischen Symptome und des isolierten Auftretens von Fieber nicht erklären können [97]. Eine frühzeitige Behandlung von PCP durch eine intravenöse antimikrobielle Therapie ist bei Patienten mit malignen hämatologischen Erkrankungen von großer Bedeutung und eine hochdosierte Gabe von Trimethoprim / Sulfamethoxazol ist derzeit die Therapie der Wahl [86].



### 2.2.7. Mykobakterien

Tuberkulose (TB) ist weiterhin eine bedrohliche Infektionskrankheit in vielen Teilen der Welt [98]. Infektionen durch *M. tuberculosis* sind 10-40 Mal häufiger bei Empfängern von HSZT als in der allgemeinen Bevölkerung [99]. Die Inzidenz von *M. tuberculosis*-Infektionen bei Empfängern von HSZT variiert jedoch stark und ist abhängig von der Art der Stammzelltransplantation und der geographischen Lage [99-102]. TB ist selten in nicht endemischen Ländern und die berichtete Inzidenz von *M. tuberculosis*-Infektionen bei HSZT-Empfängern reicht von 0,0014 % in den USA bis zu 16 % in Pakistan [103]. In Europa wurden Mykobakterieninfektionen nach HSZT mit einer Rate von 0,79 % gemeldet [104]. Die Inzidenz von TB ist bei Patienten nach HSZT proportional zu der Häufigkeit von TB in der allgemeinen Bevölkerung [99-102]. Die Prävalenz von TB ist höher bei Empfängern von Organtransplantation als bei Patienten nach HSZT, vermutlich aufgrund der längeren Immunsuppression nach Organtransplantation [99,102,105]. Bei Empfängern von HSZT ist die Lunge das am häufigsten betroffene Organ [99,100,103]. Risikofaktoren für die Entwicklung einer TB bei Patienten nach HSZT sind die Behandlung mit Steroiden und die GvHD [100]. Traditionell erfolgte der TB-Nachweis mittels mikroskopischem Nachweis von säurefesten Bazillen und Bakterienkulturen [98]. Heutzutage ist ein Nachweis durch PCR aufgrund verbesserter Sensitivität die Diagnostik der Wahl [98]. Die Diagnosestellung ist schwierig, da die klinischen und radiologischen Zeichen anderen, häufiger vorkommenden Erregern wie Pilzen ähneln können [98,106,107]. Zudem wird die TB aufgrund ihrer geringen Inzidenz als Differentialdiagnose bei Fieber bei Patienten nach HSZT häufig nicht in Betracht gezogen [98]. TB sollte vor allem differentialdiagnostisch bei Lungeninfektionen von HSZT-Empfängern Beachtung finden, die in Gebieten leben, die für TB endemisch sind, sowie bei Patienten mit ungeklärtem Fieber [108,109]. Die Behandlung von TB bei HSZT-Empfängern ist ähnlich wie bei der allgemeinen Bevölkerung mit zwei wichtigen Unterschieden: die Dauer der Therapie ist in der Regel länger und bei der medikamentösen Behandlung müssen Interaktionen zwischen Rifamycinen (Rifampicin und Rifabutin) und Immunsuppressiva wie Ciclosporin beachtet werden [100]. Die europäischen Leitlinien empfehlen eine 6-monatige Chemotherapie mit einer Kombination von vier Medikamenten (Rifampicin, Isoniazid, Ethambutol, und Pyrazinamid für zwei Monate, gefolgt von Rifampicin und Isoniazid für vier Monate) mit Heilungsraten von etwa 90 % [110].

## 2.3. Diagnostische Methoden für pulmonale Infiltrate in der Hämatologie

### 2.3.1. Bronchoskopie

Die Bronchoskopie ist eine diagnostische und therapeutische Untersuchungsmethode der Atemwege und des Lungenparenchyms, die in starrer oder flexibler Untersuchungstechnik durchgeführt werden kann. Die starre Endoskopie wird unter Vollnarkose vor allem bei Interventionen angewendet. Durch die flexible Endoskopie ist eine makroskopische Beurteilung der Bronchien bis auf Segmentebene möglich. Ziel der Bronchoskopie ist die Früherkennung und Diagnostik pulmonaler Erkrankungen. Je nach Indikationsstellung erfolgen unterschiedliche Maßnahmen, u.a. kann eine BAL zur Differenzial- und Immunzytologie erfolgen. Die bedeutsamsten Komplikationen sind Hämoptysen und Pneumothorax, die nach transbronchialer Lungenbiopsie ausgeschlossen werden müssen [111].

### 2.3.2. Bronchoalveoläre Lavage

Die diagnostische BAL ist ein bronchoskopisches Verfahren, mit dem man auf wenig invasive Weise Zellen, inhalierte Staubpartikel, Krankheitserreger und flüssige Bestandteile aus den terminalen Bronchiolen und Alveolen gewinnen kann. Die Leitlinie der American Thoracic Society (ATS) spricht für die Durchführung der BAL bei interstitiellen Lungenerkrankungen folgende Empfehlungen aus [112]: Die BAL wird mit einem fiberoptischen Bronchoskop in der sogenannten „Wedge-Position“ in dem ausgewählten Segment durchgeführt. Normale Kochsalzlösung wird bei Raumtemperatur durch das Bronchoskop eingeträufelt. Das Volumen dieser Instillationsflüssigkeit sollte mindestens 100 ml und maximal 300 ml betragen. Bei kleineren Mengen können aufgrund von Kontamination keine repräsentativen Aussagen über das Lungenparenchym getroffen werden. Das Gesamtvolumen gliedert sich in drei bis fünf Teilmengen. Nach der fraktionierten Instillation jeder Teilmenge wird die Flüssigkeit mit einem Saugdruck von weniger als 100 mmHg abgesaugt; der Atemsaugdruck sollte so eingestellt sein, dass ein sichtbarer Atemwegkollaps vermieden wird. Das minimale Absaugvolumen sollte größer oder gleich 5 % jedes der eingeträufelten Teil-Volumina entsprechen, andernfalls sollte die Untersuchung abgebrochen werden. Ein minimales Volumen von 5 ml der BAL-Probe wird für die Zellanalyse benötigt. Das optimale Volumen beträgt zwischen 10 und 20 ml. Gelegentlich liefert schon die Gesamterscheinung der BAL-Flüssigkeit diagnostische Hinweise, z.B. wenn diese blutig tingiert ist [112].

### 2.3.3. Lungenbiopsie

Die Lungenbiopsie ist die Gewebeentnahme aus der Lunge mit dem Ziel der histologischen, zytologischen, immunhistologischen, immunhistochemischen oder gentechnischen Untersuchung an diesem Material. Die Biopsie kann auf unterschiedlichen Wegen erfolgen: Transbronchial im Rahmen einer Bronchoskopie, transthorakal unter Durchleuchtung, sonographischer oder CT-Kontrolle, sowie als direkte Biopsie oder atypische Resektion per Thorakoskopie [113]. Die Entscheidung, welche Form der Gewebegewinnung gewählt wird, muss individuell bei jedem Patienten getroffen werden. Nach einer transbronchialen Biopsie muss ein Pneumothorax als häufigste Komplikation ausgeschlossen werden [111].

### 2.4. Empfohlene Diagnostik in der BAL von Patienten mit Lungeninfiltraten mit hämatologischen Malignomen und nach HSZT

Zu den empfohlenen diagnostischen Untersuchungen gehört die Suche nach konventionellen Erregern (nach der Leitlinie der AGIHO: „Febrile Neutropenie mit Lungeninfiltraten nach intensiver Chemotherapie“ von Maschmeyer et al. (Tabelle 6)) [2].

Tabelle 6: Aufarbeitung der BAL [2]

Empfehlungen	Empfehlungsgrad
Zytospinpräparate zur Differenzierung intra- von extrazellulären Pathogenen und zur Identifikation von Infiltraten durch die Grundkrankheit	B
Gram – Färbung	B
May-Grünwald-Giemsa-Färbung (Beurteilung von Makrophagen, Flimmerepithel, Leukozyten)	B
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)	A
PCR für <i>Pneumocystis jirovecii</i> ; wenn möglich quantitativ	A
Calcofluor-Weiß oder Äquivalent (Beurteilung von Pilzen und von <i>P. jirovecii</i> )	A
Direkte Immunfluoreszenz für <i>Pneumocystis jirovecii</i> (Bestätigung)	A
<i>Aspergillus</i> – Antigen (Galactomannan ELISA)	A

Empfehlungen	Empfehlungs-grad
Bakterienkulturen (quantitativ oder semiquantitativ): <ul style="list-style-type: none"> <li>• Verdünnung 10<sup>-2</sup> und 10<sup>-4</sup></li> <li>• Bakterienkulturen: Blutagar, MacConkey/Endo, Levinthal/Blut</li> <li>• <i>Legionella spp.</i>: BCYE-Agar oder Äquivalent</li> <li>• Mykobakterien: mindestens ein festes und ein flüssiges Medium (z.B. Löwenstein-Jensen-Agar und Middlebrook 7H9 Broth oder Äquivalent)</li> <li>• Pilze: Sabouraud-Agar, Kimmig-Agar oder Äquivalent</li> </ul>	A
Anreicherungskulturen (Brain Heart Infusion Agar, Dextrose-Agar)	C
<i>Legionella</i> -PCR	B
PCR für Cytomegalie-Virus (CMV), <i>Respiratory Syncytial Virus</i> (RSV), Influenza A/B, Parainfluenza 1-3, Metapneumovirus, Adenovirus	B
Quantitative PCR für Varizella-Zoster-Virus	B
Panfungal oder Aspergillus-PCR	B
Periphere Blutkulturen 1 Stunde nach Bronchoskopie zum Nachweis einer transienten Bakteriämie	C
Rachenabstrich zur Beurteilung der oralen Flora zum Abgleich mit der BAL	C

## 2.5. Herleitung der Fragestellung

Pulmonale Infektionen durch Pilze, Viren und Bakterien, sowie andere pulmonale Komplikationen, wie GvHD oder Bronchiolitis obliterans, sind häufig bei Patienten mit hämatologischen Malignomen nach HSZT oder Chemotherapie-Behandlung. Sie sind mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität assoziiert. Eine radiologische Diagnostik (Röntgen und CT) wird regelgerecht durchgeführt, ist jedoch durch einige in der Einleitung beschriebene Limitationen begrenzt und kann nicht sicher zwischen den Ursprüngen der pulmonalen Infiltrate unterscheiden. Auch die Aussagekraft anderer Untersuchungen, wie der mikrobiellen Diagnostik im Serum, ist, z.B. aufgrund geringer Sensitivität, beschränkt. Kontrovers diskutiert wird unter Experten der klinische Stellenwert einer mikrobiellen Diagnostik mittels BAL. Im Januar 2013 wurde in Zusammenarbeit von Infektiologen und Hämatologen ein neuer Standard zur mikrobiellen Untersuchung von der BAL bei hämatologischen Patienten etabliert (Tabelle 8). In dieser Promotion soll retrospektiv untersucht werden, ob die

Durchführung einer BAL mit standardisierten virologischen, bakteriologischen und mikrobiologischen Untersuchungen einen klinischen Nutzen hat. Außerdem soll die diagnostische Wertigkeit der Lungenbiopsie für Infektionen untersucht werden.

### **3. Methodik**

#### **3.1. Studiendesign**

Bei der vorliegenden Untersuchung handelt es sich um eine unizentrische, retrospektive Datenanalyse. Die Datenerhebung wurde zur Evaluierung des 2013 etablierten Standards „Empfohlene Diagnostik aus respiratorischen Sekreten bei Patienten mit Lungeninfiltraten und nach allo-HSZT“ durchgeführt.

#### **3.2. Erhebungszeitraum und Erhebungsort**

Es wurden die Daten von insgesamt 45 Patienten (Tabelle 7) erhoben, die im Zeitraum von Januar 2013 bis Dezember 2015 in der Medizinischen Klinik Campus Virchow-Klinikum mit Schwerpunkt Hämatologie, Onkologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin eine bronchoskopische Untersuchung aufgrund pulmonaler Veränderungen im CT erhalten haben.

#### **3.3. Datenerhebung**

Die Identifizierung der Patienten, die eine hämatologische Grunderkrankung und aufgrund dieser einen stationären Aufenthalt auf einer der hämatologischen und onkologischen Stationen des Virchowklinikums hatten, erfolgte zunächst per Handsuche in den Bronchoskopiebüchern, in denen alle durchgeführten Bronchoskopien des Virchowklinikums aufgeführt waren. Dies waren zunächst 141 Patienten.

#### **3.4. Ein- und Ausschlusskriterien**

##### **3.4.1. Einschlusskriterien**

- Patienten mit hämatologischer Grunderkrankung, durchgeführter Bronchoskopie mit BAL und pulmonalen Infiltraten in der radiologischen Bildgebung (CT)

##### **3.4.2. Ausschlusskriterien**

- Patienten ohne hämatologische Grunderkrankung
- Patienten mit durchgeführter Bronchoskopie ohne BAL

### 3.5. Patientencharakteristika (Methodik)

Nach Anwendung der Ein- und Ausschlusskriterien konnten 45 Patienten eingeschlossen werden. Die Patientencharakteristika (Geschlecht, Alter, Grunderkrankung, Fieber, Teilbefunde im CT-Thorax) sind in Tabelle 7 aufgeführt.

Tabelle 7: Patientencharakteristika

PKZ	Geschlecht	Alter	Dauer des stationären Aufenthaltes (in Tagen)	Grunderkrankung	Fieber	Therapie	Teilbefunde im CT-Thorax
1	Männlich (m)	66	14	Multiples Myelom (MM)	ja	Allogene Stammzelltransplantation	Milchglasartige Verdichtungen, Differentialdiagnose (DD): infiltrativ
2	Weiblich (w)	51	65	Akute myeloische Leukämie (AML)	ja	Allogene Stammzelltransplantation	Pulmonaler Rundherd
3	w	64	25	AML	nein	Allogene Stammzelltransplantation	Ausgeprägte retikuläre Lungengerüstveränderungen beidseits, im Sinne einer Fibrose.
4	w	25	61	AML	ja	Allogene Stammzelltransplantation	Diffuse pulmonale Verdichtung im Oberlappen zentral, links > rechts
5	m	61	4	AML	ja	Allogene Stammzelltransplantation	Unklare pulmonaler Infiltrate, DD: GVHD
6	w	65	22	Non-Hodgkin-Lymphom (NHL)	ja	Autologe Stammzelltransplantation	Konfluierende pulmonale Infiltrate
7	w	67	82	AML	ja	Chemotherapie	Parenchymverdichtung im rechten Oberlappen mit zentralem Crescent-förmigen Lufteinschluss
8	w	71	11	Myeloproliferatives Syndrom (MPS)	ja	Keine zytostatische Therapie	Konfluierende pulmonale Infiltrate
9	m	41	48	Myelodysplastisches Syndrom (MDS)	ja	Allogene Stammzelltransplantation	Milchglasartige bis feinfleckige bipulmonale infiltrative Verdichtungen



PKZ	Geschlecht	Alter	Dauer des stationären Aufenthaltes (in Tagen)	Grunderkrankung	Fieber	Therapie	Teilbefunde im CT-Thorax
10	m	24	7	NHL	ja	Keine zytostatische Therapie	Pulmonale Infiltrate
11	w	53	83	NHL	ja	Chemotherapie	Bipulmonale teils herdförmige, teils milchglasartige Verdichtungen, DD: atypische Pneumonie
12	m	67	50	AML	ja	Allogene Stammzelltransplantation	Mehrere pulmonale herdförmige Verdichtungen, vereinbar mit atypischer Pneumonie
13	w	26	9	Chronisch myeloische Leukämie (CML)	nein	Allogene Stammzelltransplantation	Infiltrat im rechten Oberlappen und im Unterlappen beidseits, vereinbar mit atypischer Pneumonie
14	m	65	9	Chronisch lymphatische Leukämie (CLL)	ja	Allogene Stammzelltransplantation	Bipulmonale, kleinfleckig-retikuläre Verdichtungen des Lungenparenchyms, Bronchiektasien im Unterlappen beidseits mit zunehmender Verlegung und Tree-in-bud-Zeichen, vereinbar mit Bronchiolitis obliterans bei DD: GvHD, DD: atypische Mykobakteriose,
15	m	71	1	CLL	nein	Keine zytostatische Therapie	Kein CT-Befund in SAP auffindbar, nur Durchführung beschrieben
16	m	63	14	MDS	ja	Allogene Stammzelltransplantation	Progredienz der bekannten bipulmonalen atypischen Pneumonie

PKZ	Geschlecht	Alter	Dauer des stationären Aufenthaltes (in Tagen)	Grunderkrankung	Fieber	Therapie	Teilbefunde im CT-Thorax
17	w	71	52	AML	ja	Allogene Stammzelltransplantation	Neu aufgetretenes pneumonisches Infiltrat mit teils milchglasartigen und flächigen Verdichtungen
18	m	39	53	Aplastische Anämie	ja	Allogene Stammzelltransplantation	Bipulmonale disseminierte Infiltrate, vereinbar mit einer Pilzpneumonie.
19	w	48	38	Eosinophile Pneumonie	ja	Keine zytostatische Therapie	Progredienter milchglasartiger Aspekt und retikuläre Zeichnungsvermehrung
20	w	72	16	CLL	ja	Chemotherapie	Perihiläre, streifige pilzuntypische Infiltrate links > rechts
21	m	69	89	NHL	ja	Autologe Stammzelltransplantation	Unregelmäßige zentral betonte Verdichtung des gesamten Lungenparenchyms im Sinne eines atypischen Infiltrats, DD: Pilzpneumonie
22	W	66	14	CLL	ja	Keine zytostatische Therapie	Flächige, teils herdförmige Verdichtungen in beiden Lungenflügeln apikal betont wie bei atypischer Pneumonie
23	W	69	23	MM	ja	Autologe Stammzelltransplantation	Gering progrediente Bronchiektasien mit akzentuierter Bronchialwand, kein Nachweis von konfluierenden Infiltraten.
24	w	51	9	NHL	nein	Allogene Stammzelltransplantation	Diffuse Lungengerüstveränderungen mit retikulären, sowie teils nodulären Anteilen, DD: atypische Pneumonie

PKZ	Geschlecht	Alter	Dauer des stationären Aufenthaltes (in Tagen)	Grunderkrankung	Fieber	Therapie	Teilbefunde im CT-Thorax
25	m	39	67	ALL	ja	Chemotherapie	Verdichtungen, jeweils mit Halo, vereinbar mit einer Pilzinfektion.
26	m	75	25	AML	nein	Chemotherapie	Atypische Infiltrate, DD: z.B. Pilz, atypische bakterielle Infiltrate bei Immunsuppression.
27	w	54	60	NHL	nein	Allogene Stammzelltransplantation	Bipulmonale unscharf begrenzte Verdichtungen mit zentralen Nekrosen (reverse halo sign), DD: Mukormycose, weitere diffuse bronchioalveoläre Verdichtungen (tree-in-bud-Muster), vorrangig bronchiogene Aussaat der Erreger.
28	m	62	20	MDS	ja	Keine zytostatische Therapie	Nachweis von pulmonalen Infiltraten beidseits, DD: atypische Pneumonie (z.B. Pilz)
29	m	62	65	AML	ja	Chemotherapie	Neu aufgetretene konfluierende pneumonische Infiltrate am ehesten entzündlich (suspekt für atypisches (Pilz-) Infiltrat)
30	m	66	23	AML	ja	Chemotherapie	Teils milchglasartige Verdichtungen in Mittellappen und Unterlappen beidseits, DD: atypische Infiltrate
31	w	19	15	AML	ja	Chemotherapie	V.a. eine Segmentpneumonie links, Mosaikmuster der übrigen Lunge mit verdickten Interlobärsepten, DD: atypisches infiltrat

PKZ	Geschlecht	Alter	Dauer des stationären Aufenthaltes (in Tagen)	Grunderkrankung	Fieber	Therapie	Teilbefunde im CT-Thorax
32	m	79	24	MM	nein	Chemotherapie	Unklare pulmonale Herde
33	w	78	15	Monoklonale Gammopathie	nein	Chemotherapie	Mehrere noduläre Formationen des Lungenober- und unterlappens, links paramediastinal zeigt sich eine teilverkalkt wirkende pulmonale Läsion
34	m	52	82	AML	ja	Chemotherapie	Bipulmonale dorsobasal betonte Milchglasinfiltrate bei gleichzeitiger Betonung der Pulmonalgefäße, DD: im Rahmen einer Stauung
35	w	56	24	Sekundäre Myelofibrose nach essentieller Thrombozythämie	ja	Allogene Stammzelltransplantation	Neu aufgetretene bipulmonale blütenzweigartige (tree-in bud) Verdichtungen aller Lappen sowie Bronchialwandverdickung als Zeichen einer Bronchiolitis, vereinbar mit atypischer Pneumonie
36	m	60	37	AML	ja	Allogene Stammzelltransplantation	Keilförmige lokale Verdichtung des linken Lungenoberlappens sowie unscharfe, noduläre Läsion im Lungenoberlappen rechts, vereinbar mit atypischem Infiltrat, DD: Pilz
37	w	55	18	AML	ja	Chemotherapie	Fleckschatten in Projektion auf das linke Mittelfeld, linkes Unterfeld sowie das rechte Unterfeld, vereinbar mit bekannten Infiltraten der Pilzpneumonie

PKZ	Geschlecht	Alter	Dauer des stationären Aufenthaltes (in Tagen)	Grunderkrankung	Fieber	Therapie	Teilbefunde im CT-Thorax
38	w	36	52	AML	ja	Allogene Stammzelltransplantation	Kleine Verdichtung paravertebral links im ersten Lungensegment regredient, insgesamt Residuen einer Pilzinfektion (z.B. Aspergillus) möglich
39	w	33	30	NHL	nein	Autologe Stammzelltransplantation	Keine konfluierenden Infiltrate
40	m	76	21	CML	ja	Keine zytostatische Therapie	Ausgeprägte mediastinale, bilaterale und abdominale Lymphadenopathie
41	m	70	22	AML	ja	Allogene Stammzelltransplantation	Kleiner atypischer Herd im rechten Unterlappen
42	m	34	24	Z.n. septischer Granulomatose in Kindheit	ja	Allogene Stammzelltransplantation	Diskrete Befundbesserung bei bekannter Pneumonie, am ehesten atypischer Genese, Pilzpneumonie nicht ausgeschlossen
43	w	66	77	AML	ja	Chemotherapie	Zunehmendes, fleckiges Infiltrat im linken basalen Oberlappen mit zentraler Einschmelzung, DD: Aspergillus, DD: Mucor
44	m	38	9	NHL	ja	Allogene Stammzelltransplantation	Nachweis von peribronchialen Infiltraten
45	w	55	42	AML	ja	Allogene Stammzelltransplantation	residuelle retikuläre Lungenparenchymveränderungen

### 3.6. Statistische Auswertung

Alle Datenerfassungen und Analysen erfolgten mittels Excel-Tabellenkalkulation. Die Ergebnisse wurden unter Verwendung von deskriptiven Methoden analysiert und als Median und Reichweite dargestellt. Kategorische Variablen und Diagnose-Ausbeuten wurden als Häufigkeiten und in Prozenten angegeben. Zunächst wurden Patientencharakteristika erstellt und die einzelnen mikrobiologische Befunde aufgeschlüsselt. Dazu wurden zunächst die klinischen Diagnosen der verschiedenen Erreger beschrieben. Diese wurden mit der CT-Bildgebung in Bezug gesetzt. Zum Schluss wurde eine Gesamtauswertung vorgenommen. Die BAL-Diagnostik dieser Patienten wurde systematisch ausgewertet und es wurde untersucht, welche empfohlene Diagnostik der Mikrobiologie und Virologie tatsächlich durchgeführt wurde. Die Untersuchungsbefunde wurden untereinander verglichen und auf klinische Relevanz hin untersucht. Tabelle 8 zeigt die empfohlenen mikrobiologischen und virologischen Untersuchungen, die im Konsens zwischen der hämatologischen und infektiologischen / pulmonologischen Abteilung erarbeitet wurden.

Tabelle 8: Empfohlene Diagnostik aus respiratorischen Sekreten

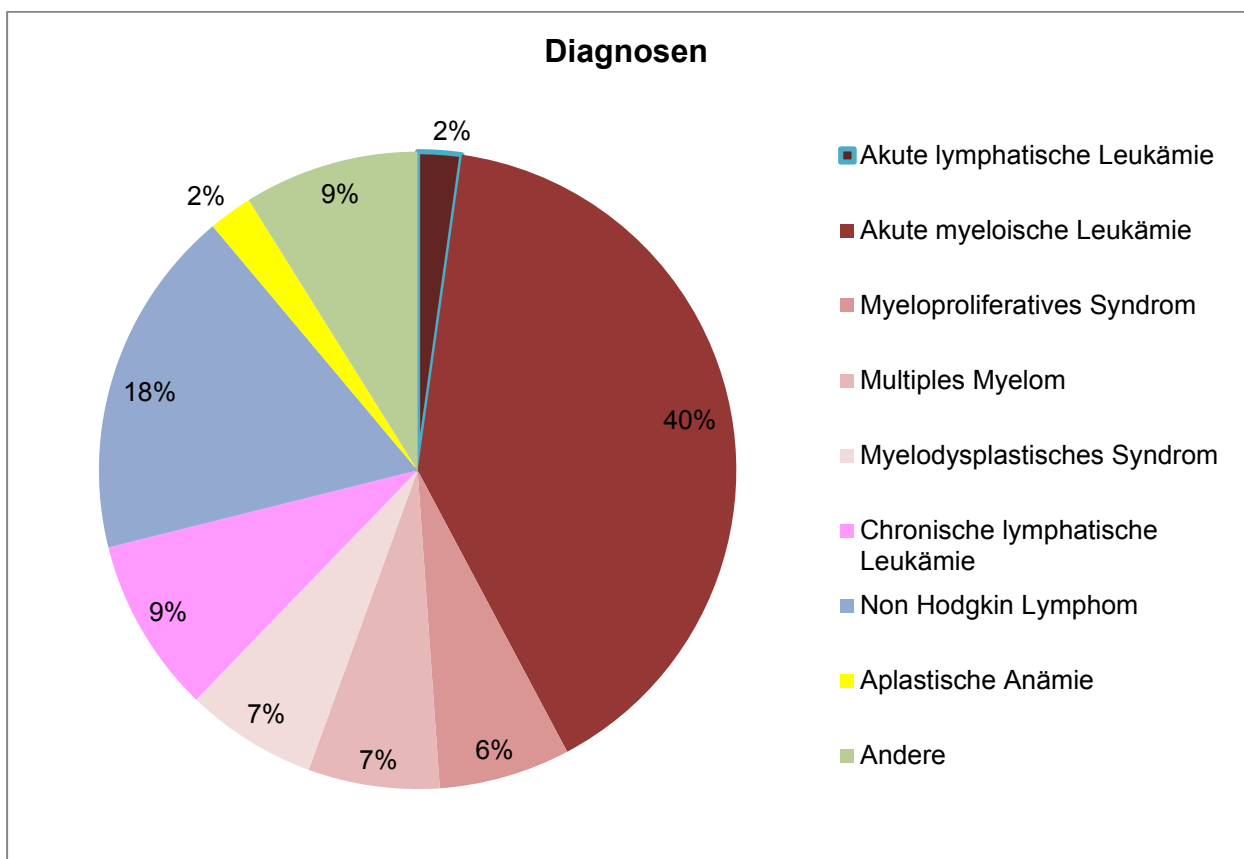
<b>Diagnostik aus respiratorischen Sekreten bei Patienten mit Lungeninfiltraten nach allo-HSCT</b>		
<b>Diagnostik</b>	<b>Material</b>	<b>Labor</b>
<b>Konventionelle Erreger, Pilze (Gram-Färbung)</b>	BAL + Br.-Sekret	Mikrobiologie
<b>Konventionelle Erreger, Pilze (Kulturen: BAL quantitativ; Br.-Sekret semiquantitativ)</b>	BAL + Br.-Sekret	Mikrobiologie
<b>Mykobakterien-Färbung (Kinyoun)</b>	BAL + Br.-Sekret	Mykobakteriologie
<b>Mykobakterien-PCR</b>	BAL + Br.-Sekret	Mykobakteriologie
<b>Mykobakterien-Kultur</b>	BAL + Br.-Sekret	Mykobakteriologie
<b>Pilz-Färbung (Calcofluor)</b>	BAL + Br.-Sekret	Mykologie
<b>Pilz-Kultur</b>	BAL + Br.-Sekret	Mykologie
<b>Aspergillus-Antigen</b>	BAL + Br.-Sekret	Mykologie
<b>Pneumocystis jirovecii (DIF)</b>	BAL	Mikrobiologie
<b>Respiratorische Viren (Multiplex PCR)</b> <i>Influenza, Enteroviren, Parainfluenza, Metapneumovirus, RSV, Bocaviren, Adenoviren, Coronaviren, Rhinoviren.</i>	BAL	Virologie
<b>CMV, VZV, HSV, HHV-6 (PCR)</b>	BAL	Virologie
<b>Pneumocystis jirovecii (Grocott, Giemsa)</b>	BAL	Pneumologie
<b>Differential-Zytologie, FACS</b>	BAL	Pneumologie
<b>Nach Absprache bei <u>Bronchoskopie</u> bei bestimmten Indikationen auch Biopsien und Spülkatheter</b>		
<b>Weitere Untersuchungen:</b> Blutkulturen, CMV-PCR-Serum, Aspergillus-AG im Serum, Legionella AG im Urin; Pneumokokken-AG im Urin		

## 4. Ergebnisbeschreibung

### 4.1. Patientencharakteristika (BAL)

In der vorliegenden Arbeit wurden 45 Patienten untersucht, davon 22 Frauen (49 %) und 23 Männer (51 %). Der Altersmedian der Patienten lag zum Zeitpunkt des stationären Aufenthalts bei 62 Jahren. Das Durchschnittsalter betrug 56 Jahre. Es wurden Patienten eingeschlossen, die eine maligne hämatologische Grunderkrankung hatten und aufgrund von pulmonalen Infiltraten eine BAL erhalten haben. Der Beobachtungszeitraum umfasste den jeweiligen stationären Aufenthalt. Im Median wurden die Patienten 24 Tage lang beobachtet. Der stationäre Aufenthalt dauerte von einem bis 89 Tagen und durchschnittlich 34 Tage. Die häufigste Grunderkrankung war die AML (18 Fälle, 40 %) (Abbildung 1).

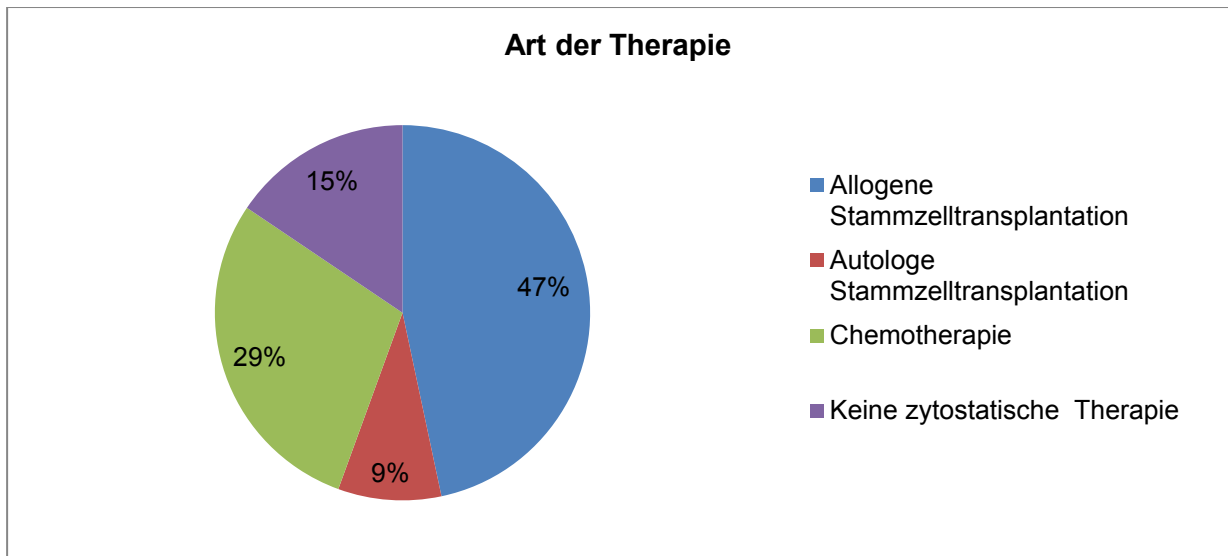
Abbildung 1: Diagnosen der gesamten Patientengruppe



25 Patienten waren im Zustand nach Stammzelltransplantation, davon 21 Patienten nach allogener Stammzelltransplantation und vier Patienten nach autologer Stammzelltransplantation. 13 Patienten erhielten aufgrund von anderen Ursachen Chemotherapie in den letzten 30 Tagen vor der BAL (Abbildung 2).



Abbildung 2: Verteilung der immunsuppressiven Therapie \*



\*Bei Patienten, die eine Transplantation erhalten haben, ist die Chemotherapie in diesem Diagramm nicht einzeln aufgeführt.

#### 4.1.1. Klinische Symptome der Patienten

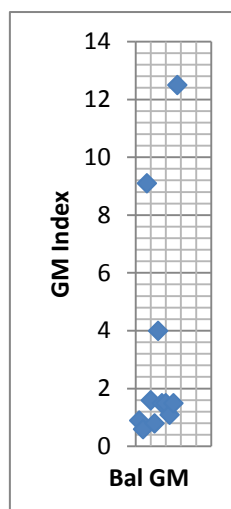
Die klinischen Symptome wie Atemfrequenz, Hämoptysen, Sauerstoffsättigung etc. wurden systematisch nicht erfasst und konnten daher nicht ausgewertet werden. Systematisch erfasst wurde jedoch Fieber, welches in der vorliegenden Arbeit ab 38,5 Grad Körperkerntemperatur definiert wurde. 36 Patienten (80 %) hatten im stationären Verlauf Fieber.

## 4.2. Auswertung der BAL

### 4.2.1. Aspergillus (Durchgeführte Untersuchungen und Erregerwachstum)

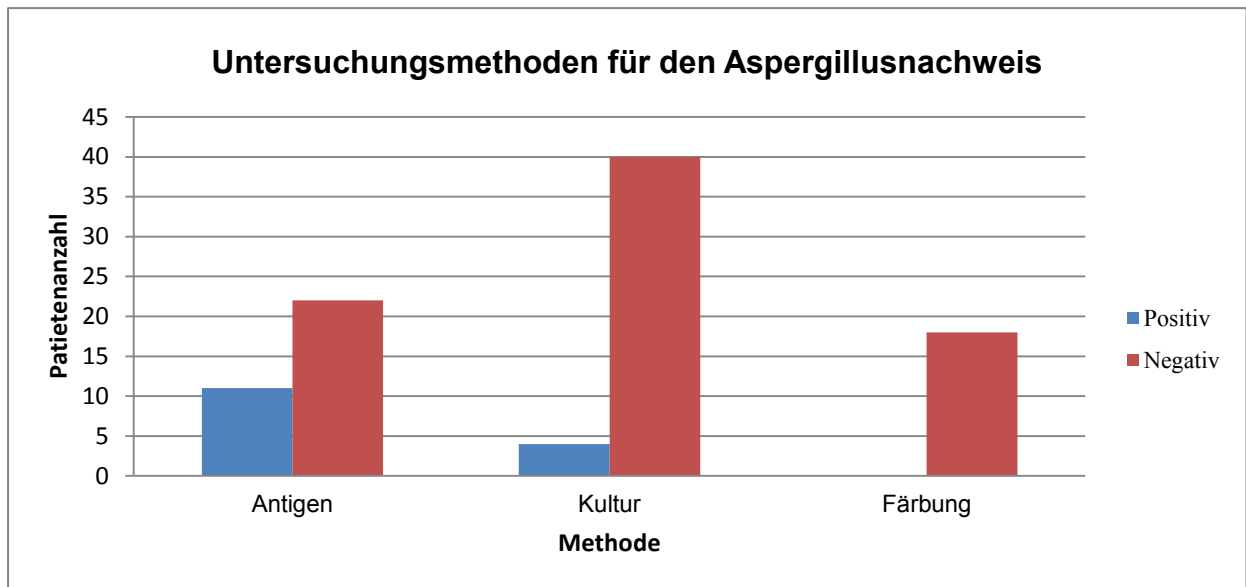
Bei 44 der 45 Patienten (98 %) wurde eine Pilzkultur angelegt. Bei 18 Patienten (40 %) wurde eine Pilzfärbung (Calcofluor) durchgeführt. Zur Untersuchung der Fadenpilze erfolgte zudem die Untersuchung des Aspergillus-Antigentests. Als indirekter Test zum Aspergillus-Nachweis wurde der Antigentest zum Nachweis von Aspergillus-Galactomannan mit dem Aspergillus-Platelia-ELISA im Serum sowie in der BAL verwendet (Abbildung 3). Dieser Test weist niedrige Konzentrationen von Galactomannan nach, einem Hauptbestandteil der Zellwand dieses Pilzes. Der Cut-Off-Wert lag sowohl für den Nachweis im Serum als auch in der BAL bei einem Index von  $\geq 0,5$ . Der Aspergillus-Antigentest im Serum wurde lediglich bei zwei Patienten durchgeführt und aufgrund dieser geringen Fallzahl in der Auswertung nicht berücksichtigt.

Abbildung 3: Die Verteilung der positiven Ergebnisse des Galactomannan-Immunoassays



Die Zusammenschau aller Befunde belegt, dass der Aspergillus-Antigentest von den indirekten und laborchemischen Verfahren zum Nachweis von Aspergillus klinisch die größte Bedeutung und mit 11 (33 %) positiven und 22 (67 %) negativen Nachweisen die höchste diagnostische Aussagekraft hat (Abbildung 4). An zweiter Position kommt die Aspergillus-Kultur mit vier (9 %) positiven Ergebnissen und 40 (91 %) negativen Ergebnissen. Die Pilzfärbung (Calcofluor) war in allen der 18 (100 %) durchgeführten Fällen negativ (Abbildung 4).

Abbildung 4: Vergleich der verschiedenen Untersuchungsmethoden des Aspergillus-Nachweises



Insgesamt gab es bei 11 Patienten mit Lungeninfiltraten einen positiven Aspergillus-Antigen-Test in der BAL, davon in zwei Fällen zusätzlich einen positiven Kultur-Befund. In zwei Fällen gab es eine alleinige positive Aspergillus-Kultur. In Zusammenschau der Befunde konnte zunächst in 13 Fällen die Diagnose einer wahrscheinlichen Aspergillus-pneumonie gestellt werden. In einem der 13 Fälle wurde der initiale CT-Verdacht einer Pilzpneumonie im Verlauf durch eine histologische Untersuchung bestätigt und es konnte die bewiesene Diagnose einer Aspergillus-Infektion gestellt werden (Abbildung 5 und Tabelle 9).

Abbildung 5: Häufigkeit der Aspergillusinfektion nach der EORTEC-Klassifikation (bei Patienten mit durchgeführtem GM-Test und Aspergilluskultur)

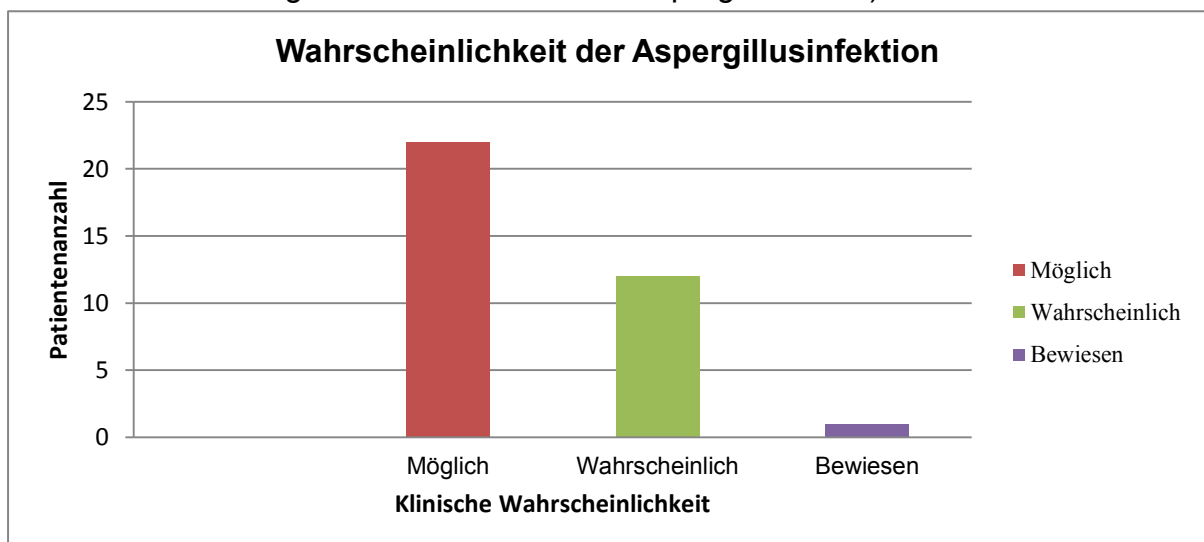


Tabelle 9: Einteilung der invasiven Mykosen nach der EORTC-Klassifikation bei positivem Aspergillus-Antigen-Test bzw. positiver Kultur

PKZ	Organ-system	Erreger	Klinisches Kriterium	Mikrobiologisches Kriterium	EORTC Klassifikation	Behandlung
1	Lunge	Aspergillus	erfüllt	Aspergillus Antigen (BAL) 0.9 Index	wahrscheinlich	Voriconazol
6	Lunge	Aspergillus	erfüllt	Aspergillus Antigen (BAL) 0.6	wahrscheinlich	Voriconazol
7	Lunge	Aspergillus	erfüllt	Aspergillus Antigen (BAL) 9.1	wahrscheinlich	Voriconazol
11	Lunge	Aspergillus fumigatus	erfüllt	Aspergillus Antigen (BAL) 12.7 Wachstum von Aspergillus in der Kultur	bewiesen *	Voriconazol/ Amphotericin B
13	Lunge	Aspergillus	erfüllt	Aspergillus Antigen (BAL) 1.6	wahrscheinlich	Amphotericin B
15	Lunge	Aspergillus fumigatus	unklar**	Wachstum von Aspergillus in der Kultur	wahrscheinlich	Voriconazol
17	Lunge	Aspergillus niger	erfüllt	Aspergillus Antigen (BAL) 0.8 Index, Wachstum von Aspergillus in der Kultur	wahrscheinlich	Voriconazol
18	Lunge	Aspergillus	erfüllt	Aspergillus Antigen (BAL) >4.0 Index	wahrscheinlich	Voriconazol
20	Lunge	Aspergillus	erfüllt	Wachstum von Aspergillus in der Kultur	wahrscheinlich	Fluconazol
25	Lunge	Aspergillus	erfüllt	Aspergillus Antigen (BAL) >1.5 Index	wahrscheinlich	Voriconazol/ Amphotericin B
29	Lunge	Aspergillus	erfüllt	Aspergillus Antigen (BAL) >1.5	wahrscheinlich	Voriconazol
31	Lunge	Aspergillus	erfüllt	Aspergillus Antigen (BAL) 1,1	wahrscheinlich	Keine***
37	Lunge	Aspergillus	erfüllt	Aspergillus Antigen (BAL) >1.5	wahrscheinlich	Posaconazol/ Amphotericin B

\*Bei Patientin 11 liegt eine bewiesene Aspergillose vor, da ein histologischer Nachweis erzielt werden konnte.

\*\*CT-Befund liegt nicht vor, nur Durchführung wurde beschrieben

\*\*\*Aspergillus-Befund erst nach Entlassung bekannt

Die Aspergillus-Infektion wurde in den meisten Fällen (46 %) mit einer Monotherapie aus Voriconazol, bei zwei Patienten mit einer Kombinationstherapie aus Voriconazol und liposomalem Amphotericin B (15 %) und in jeweils einem Fall mit einer Kombinationstherapie aus liposomalem Amphotericin B und Posaconazol behandelt. In

einem Fall fand während des stationären Aufenthaltes keine Behandlung statt, da die Diagnose erst poststationär gestellt wurde. In vielen Fällen konnten typische CT-Befunde wie Hohlrumbildung (Abbildungen 6 und 7) und Halo-Zeichen (Abbildung 8) gefunden werden. Bei vier Patienten bestand im CT ein starker Verdacht auf eine Fadenpilzpneumonie. Dieser konnte in der Erregerdiagnostik nicht bestätigt werden.

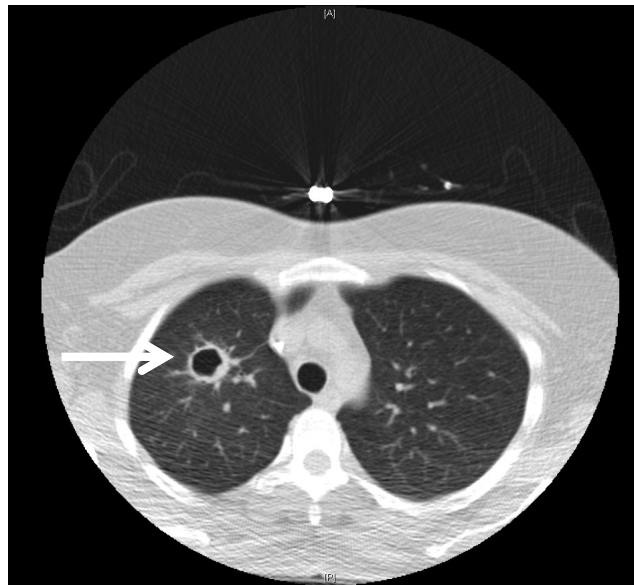
#### 4.2.1.1. Differentialdiagnosen der Aspergillusinfektion

Bei zwei Patienten wurde nach Ausschlussverfahren der Verdacht einer Mukormykose geäußert und entsprechend behandelt. Mukor selbst konnte molekularbiologisch oder kulturell nicht nachgewiesen werden. Die Mukormykose wurde in einem Fall mit Posaconazol und in dem anderen Fall mit liposomalem Amphotericin B behandelt. In einem Fall wurde die Diagnose einer Strahlenpneumonitis gestellt, die mit einer Prednisolontherapie behandelt wurde. Bei einem anderen Patienten wurde lediglich ein geringes Wachstum von *Candida albicans* festgestellt.

#### 4.2.1.2. Klinischer Verlauf von zwei Patienten mit Aspergillusinfektionen einschließlich der computertomographischen Befunde

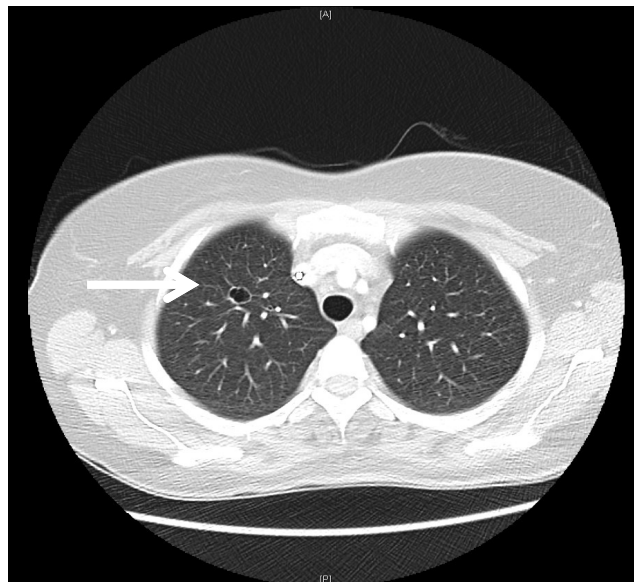
Exemplarisch werden an dieser Stelle zwei Patienten mit Aspergillusinfektionen dargestellt. Bei Patientin 7 handelt es sich um eine 67-jährige Frau, bei welcher die stationäre Aufnahme bei Gingivahyperplasie und Abgeschlagenheit mit V.a. eine akute Leukämie erfolgte. Im Blutbild zeigte sich eine leichte Leukozytose von 17/nl bei leichtgradiger Anämie und Thrombopenie. Mittels Knochenmarkdiagnostik wurde eine AML festgestellt, die mit Chemotherapie behandelt wurde. Im Verlauf entwickelte die Patientin Fieber, welches initial mit Piperacillin / Tazobactam behandelt wurde. Bei anhaltendem Fieber, trotz Rotation der Antibiose, fiel im Verlauf eine Verschattung im Röntgen-Thorax auf, so dass eine Therapie mit Voriconazol begonnen wurde. Darunter kam es bei gleichzeitiger hämatologischer Regeneration zur Entfieberung. Im nachfolgend durchgeführten CT zeigte sich eine kavernöse Läsion, passend zu einem Aspergillom oder einer TB (Abbildung 6). In der nachfolgenden Bronchoskopie konnte eine TB ausgeschlossen werden, zudem zeigte sich ein hochpositives Aspergillus-Antigen.

Abbildung 6: CT-Aufnahme des Thorax: Hohlraumbildung



Im Verlauf zeigte sich ein sehr gutes Ansprechen auf die Voriconazol-Therapie mit deutlicher Befundbesserung sowohl im CT als auch im konventionellen Röntgen (Abbildung 7). Nach Rücksprache mit den Infektiologen und den Thoraxchirurgen wurde somit auch von einer operativen Sanierung des Aspergilloms abgesehen.

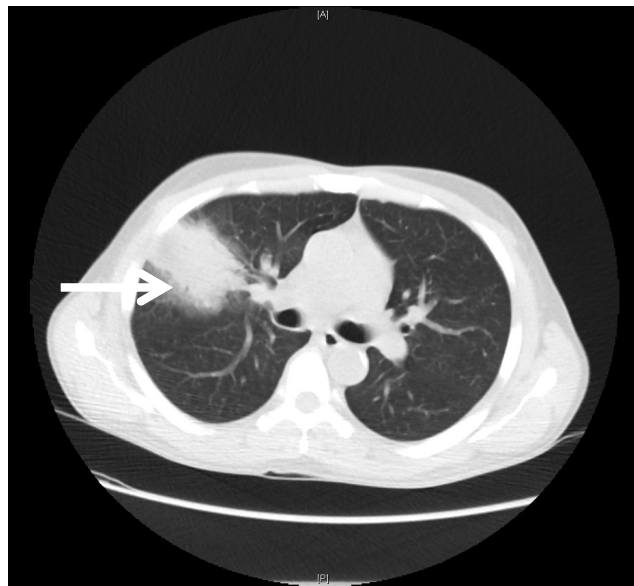
Abbildung 7: CT-Aufnahme des Thorax: Regredienz der Hohlraumbildung



Bei Patient 25 handelt es sich um einen 39-jährigen Mann mit thymischer T-ALL, der sich zur Verlaufskontrolle und Fortsetzung der Therapie vorstellte. Es bestand ein offenes Rezidiv mit Leukozytose, erhöhter LDH und ausgeprägter Infiltration des Knochenmarks. Eine Behandlung mittels Chemotherapie wurde eingeleitet. Die

Möglichkeit einer schnellen allo-HSZT wurde evaluiert, ließ sich jedoch aufgrund von in der Neutropenie aufgetretenen mehreren schweren infektiösen Komplikationen nicht realisieren. Der Patient zeigte über lange Zeit anhaltendes Fieber. Im CT wurde der Verdacht auf eine Pilzpneumonie gestellt (Abbildung 8), welche in der BAL bestätigt wurde. Das Fieber war nach mehrfacher Anpassung der Antibiose und protrahierter antimykotischer Therapie mit Amphotericin B rückläufig.

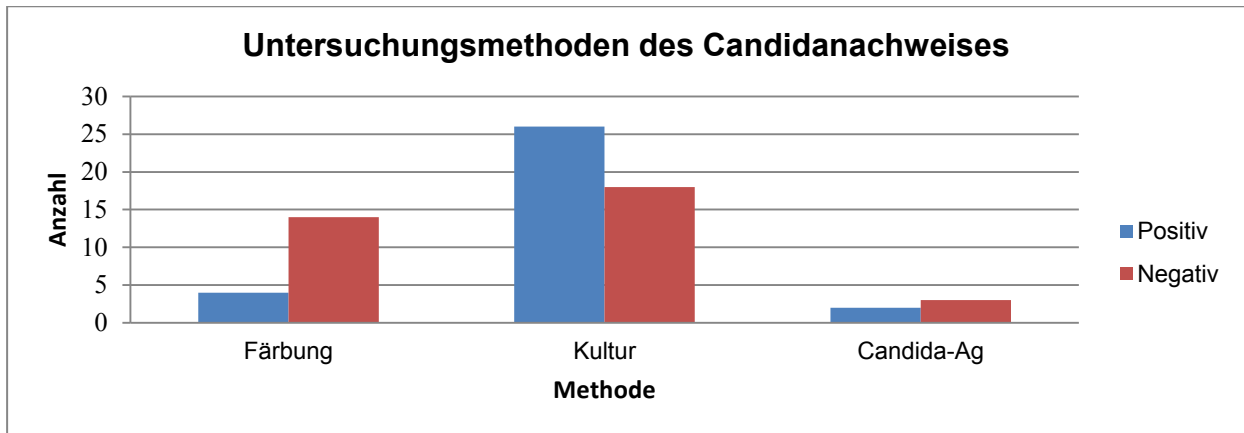
Abbildung 8: CT-Aufnahme des Thorax: verdichtetes Areal mit Halo-Bildung



#### 4.2.2. Candida (Durchgeführte Untersuchungen und Erregerwachstum)

Von den 45 Patienten wurden in 44 Fällen (98 %) Pilzkulturen gemacht. Diese waren in 26 Fällen (60 %) positiv und in 18 Fällen (40 %) negativ (Abbildung 9). In 18 Fällen wurde die Pilzfärbung nach Calcofluor gemacht, diese war in vier Fällen (22 %) positiv und in 14 Fällen (78 %) negativ (Abbildung 9). In vier Fällen war eine negative Pilzfärbung zur gleichen Zeit in der Kultur positiv. Zur Untersuchung der Hefepilze erfolgte zudem die Untersuchung des Candida-Antigentestes (Abbildung 9). Dieser wurde bei fünf Patienten durchgeführt und war in zwei Fällen positiv. Bei einer Patientin waren Pilzfärbung und Kultur negativ bei zeitgleich positivem Antigen-Befund.

Abbildung 9: Vergleich der verschiedenen Untersuchungsmethoden des Candida-Nachweises



#### 4.2.2.1. Behandlungswürdige Candidapneumonien

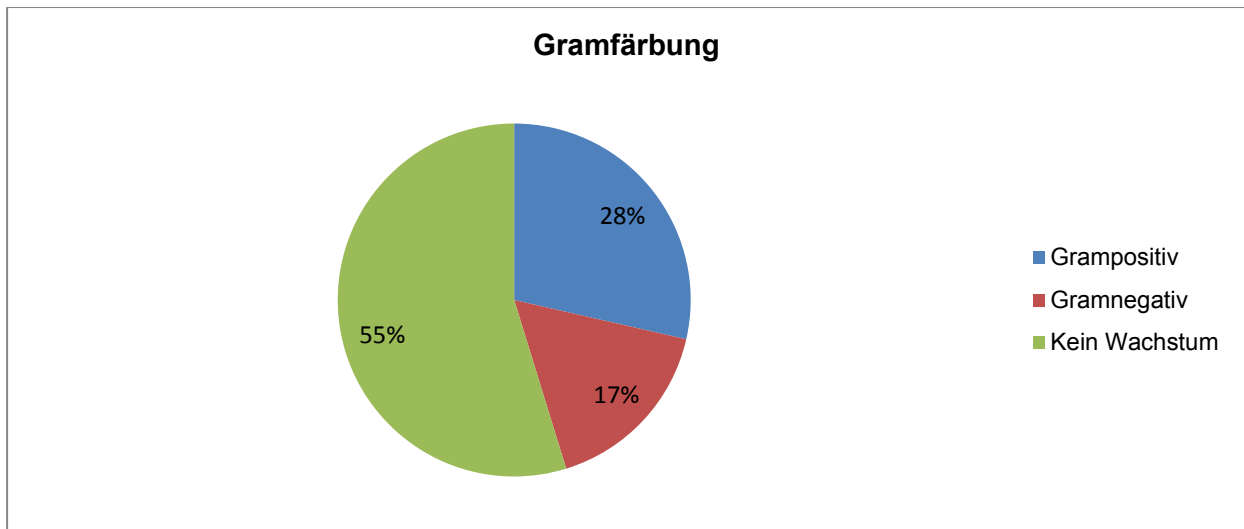
In Zusammenschau der Befunde konnte trotz der häufigen positiven Erregernachweise keine Diagnose einer Candidapneumonie gestellt werden. Die Besiedlung mit Candida stellte in keinem Fall eine entscheidende Ursache für die pulmonale Symptomatik dar. In allen Fällen war nur ein vereinzelt Wachstum nachweisbar, das keiner medikamentösen Therapie bedurfte und als Kolonisation oder Kontamination gewertet werden muss. Es erfolgte kein Nachweis von Candida in einer Blutkultur.

#### 4.2.3. Bakterien (Durchgeführte Untersuchungen und Erregerwachstum)

Während des Beobachtungszeitraumes wurden bei 42 von 45 Patienten (93 %) Gramfärbungen für die Erregersuche gemacht. In zwölf (28 %) Fällen konnte ein grampositiver Erreger, in sieben (17 %) Fällen ein gramnegativer Erreger erfasst werden in 23 (55 %) Fällen fand kein Wachstum statt. (Abbildung 10).

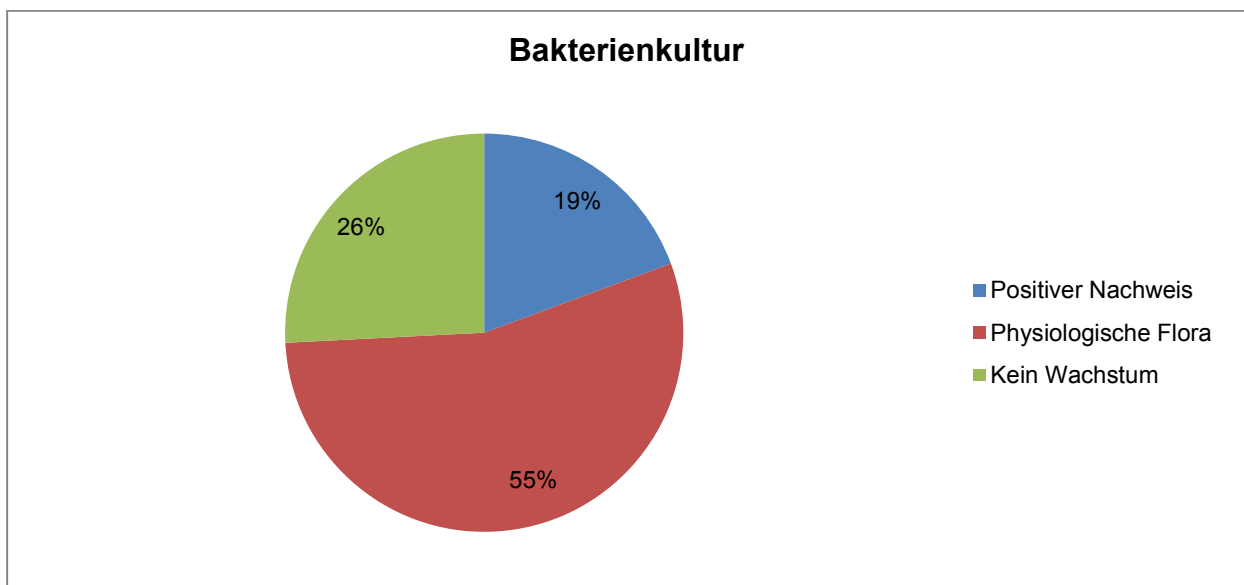


Abbildung 10: Ergebnisse der Gramfärbung



Eine Bakterienkultur wurde in 31 Fällen (68 %) angelegt (Abbildung 11). In 17 dieser Fälle (55 %) wuchs die physiologische Bakterienflora und in 8 Fällen (26 %) fand kein Wachstum statt. In sechs Fällen (19 %) fand ein positives Wachstum eines Erregers statt.

Abbildung 11: Erregerwachstum der Bakterienkultur



#### 4.2.3.1. Darstellung des klinischen Verlaufs der Patienten mit bakterieller Infektion

Bei sechs Patienten wurden klinisch relevante bakterielle Infektionen in der BAL festgestellt. In drei Fällen wurden Infektionen mit *Pseudomonas aeruginosa* gefunden, die dann mit einer jeweils resistenzgerechten Antibiose behandelt wurden. Bei einem

Patienten wurde *E. coli* gefunden, welcher mit Ampicillin und Gentamicin behandelt wurde. Bei einem Patienten wurde *Proteus mirabilis* gefunden, der schon durch die empirische Antibiotikatherapie mit Sultamicillin und Clarithromycin abgedeckt war. Bei einem Patienten wurde eine Infektion mit *Stenotrophomonas maltophilia* festgestellt, die bereits durch die empirisch begonnene Therapie mit Piperacillin und Tazobactam resistenzgerecht behandelt wurde (Tabelle 10).

Tabelle 10: Klinisch relevante bakterielle Erreger

PKZ	Organsystem	Erreger	Nachweis	Behandlung
3	Lunge	Proteus mirabilis	BAL	Empirische Behandlung mit Sultamicillin und Clarithromycin
14	Lunge	Pseudomonas aeruginosa, Citrobacter braakii	BAL	keine *
15	Lunge	Escherichia coli	BAL	Ampicillin, Gentamicin
37	Lunge	Pseudomonas aeruginosa	BAL	Gentamicin
41	Lunge	Stenotrophomonas maltophilia	BAL	Empirische Behandlung mit Piperacillin / Tazobactam, keine gesonderte Therapie durch Erregernachweis
44	Lunge	Pseudomonas aeruginosa	BAL	Piperacillin / Tazobactam

\*Befund bei Entlassung noch ausstehend

#### 4.2.3.2. Weitere Untersuchungen nach bakteriellen Erregern

Als weitere Untersuchungen wurden Blutkulturen und Bestimmungen des Legionellen-Antigens und des Pneumokokken-Antigens im Urin durchgeführt. Die Untersuchung nach Legionellen im Urin wurde nur bei zwei Patienten gemacht und war in beiden Fällen negativ. Die Untersuchung nach Pneumokokken im Urin wurde nur bei einem Patienten durchgeführt und war negativ. Bei sieben Patienten (15,5 %) gab es positive bakterielle Befunde in der Blutkultur (Tabelle 11).

Tabelle 11: Bakterielle Erreger in der Blutkultur

PKZ	Erreger	Nachweis	Behandlung
1	Staphylococcus epidermidis	Blutkultur	Amphotericin B, Entfernung des ZVKs
5	Streptococcus pneumoniae	Blutkultur	Tazobactam
9	Staphylococcus hominis, Staphylokokkus epidermidis	Blutkultur	Teicoplanin, Tigecyclin
11	Haemophilus influenza	Blutkultur	Cefuroxim
21	Klebsiella pneumoniae	Blutkultur	Meropenem
25	Vancomycin-resistente Enterokokken	Blutkultur	Linezolid
37	Pseudomonas aeruginosa	Blutkultur	Gentamicin
40	Staphylococcus hominis	Blutkultur	Vancomycin, Ceftazidim und Ciprofloxacin

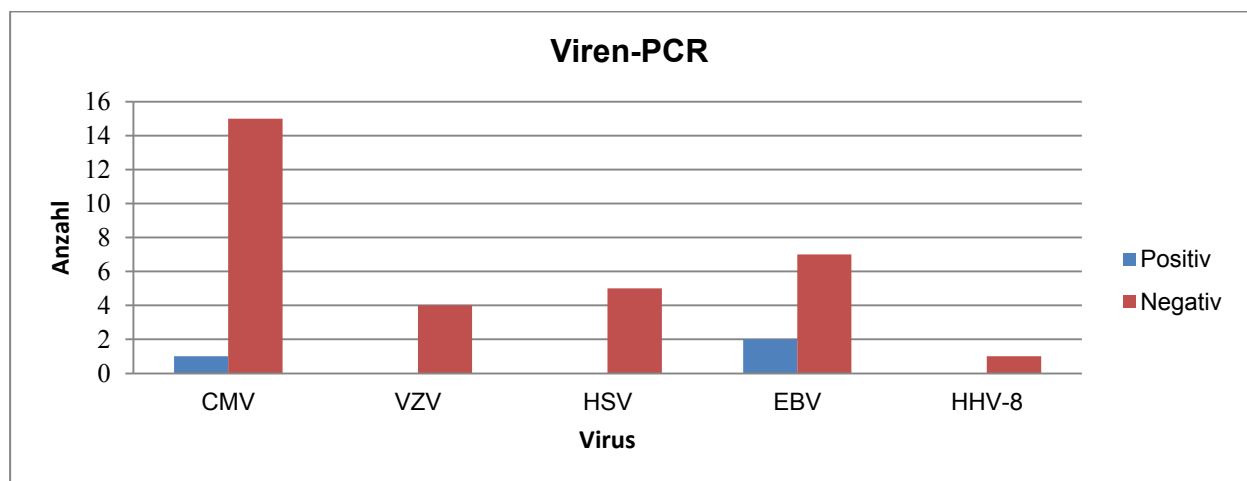
In allen Fällen erfolgte eine resistenzgerechte antibiotische Therapie. Es gab einen Erreger, *Pseudomonas aeruginosa* von Patient 37, welcher sowohl in der zuerst durchgeführten Blutkultur als auch in der fünf Tage später durchgeführten Bakterienkultur in der BAL-Untersuchung nachgewiesen wurde.

#### 4.2.4. Viren (Durchgeführte Untersuchungen und Erregerwachstum)

Die Multiplex-PCR, die Influenza, Enteroviren, Parainfluenza, Metapneumoviren, RSV, Bocaviren, Adenoviren, Coronaviren und Rhinoviren umfasst, wurde bei 14 von 45 Patienten (31 %) durchgeführt und war in 13 Fällen (93 %) negativ. Bei einer Patientin konnte aktive Rhinovirus-Nukleinsäure nachgewiesen werden.

Eine PCR auf eine der folgenden Viren: CMV, VZV, HSV, EBV und HHV-6 wurde bei 16 von 45 Patienten (35,5 %) gemacht. Diese war nur in drei Fällen positiv (Abbildung 12).

Abbildung 12: Vergleich der verschiedenen nachgewiesenen Viren



Am häufigsten wurde die PCR von CMV durchgeführt (N=16). Einmal konnte ein signifikanter positiver CMV-Befund gefunden werden. Zum anderen gab es zwei positive EBV-Befunde. Diese haben aufgrund geringer Erregerlast keiner Behandlung bedurft.

##### 4.2.4.1. Klinischer Verlauf der Patienten mit Virusinfektion

Bei Patient 2 wurde erstmalig CMV in der PCR aus dem peripheren Blut nachgewiesen (53 000 cop/ml). Auch in der BAL konnte am nächsten Tag CMV-Genom (191 000 cop/ml) nachgewiesen werden, so dass eine antivirale Therapie mit Ganciclovir begonnen werden konnte. Im Verlauf zeigte sich die CMV-Viruslast deutlich verringert zum Ausgangswert vor Therapiebeginn, so dass von einer erfolgreichen Therapie mit

Ganciclovir ausgegangen werden konnte. Diese Infektion wurde als signifikanter Befund gewertet.

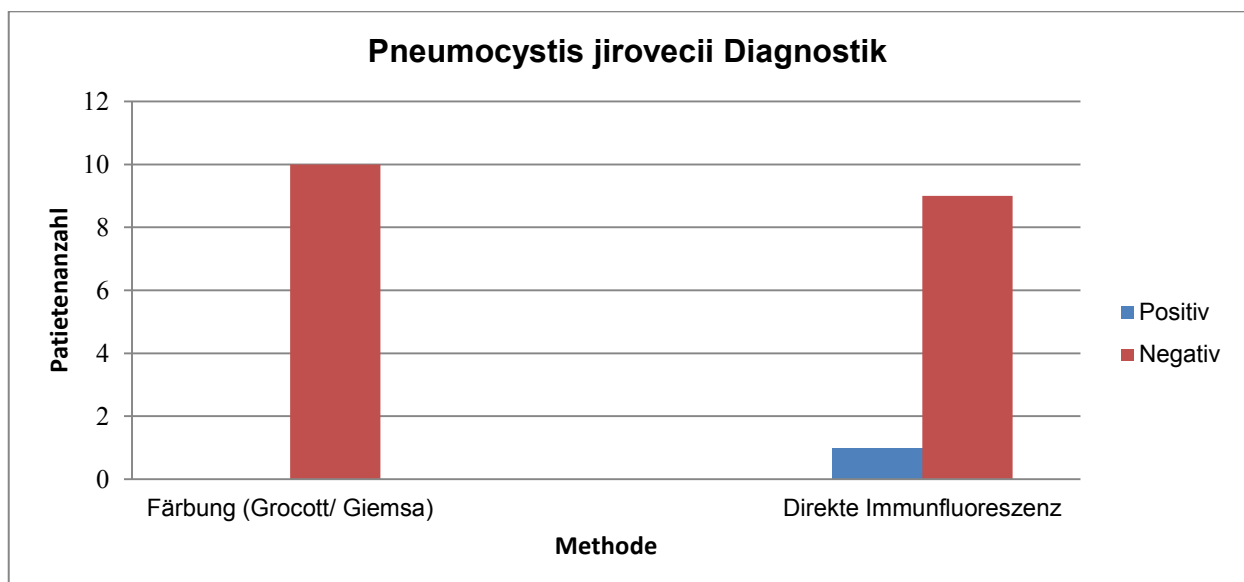
Bei Patientin 3 war die EBV-PCR in der BAL leicht positiv (5 310 cop/ml), dies ließ sich jedoch im peripheren Blut nicht bestätigen und ist nicht als signifikanter klinischer Befund zu werten.

Bei Patientin 43 war im virologischen Befund die Anzahl der Kopien nicht angegeben und im peripheren Blut konnte der positive Befund nicht bestätigt werden. Im Arztbrief wurde keine EBV-Reaktivierung beschrieben, so dass es sich um einen unbedeutenden Nebenbefund mit wahrscheinlich geringer Erregerlast handelt. Dieser Befund wurde als nicht signifikant gewertet.

#### 4.2.5. *Pneumocystis jirovecii* (Durchgeführte Untersuchungen und Erregerwachstum)

Bei zehn von 45 Patienten (22 %) wurde die Färbung nach Grocott bzw. Giemsa zum Nachweis von *Pneumocystis jirovecii* durchgeführt. Diese war in zehn Fällen negativ. Die Direkte Immunfluoreszenz (DIF) wurde bei zehn Patienten durchgeführt, wobei es eine positive Testung und neun negative Testungen gab (Abbildung 13).

Abbildung 13: Ergebnisse der *Pneumocystis jirovecii* Diagnostik



##### 4.2.5.1. Klinischer Verlauf der Patientin mit *Pneumocystis jirovecii* Infektion

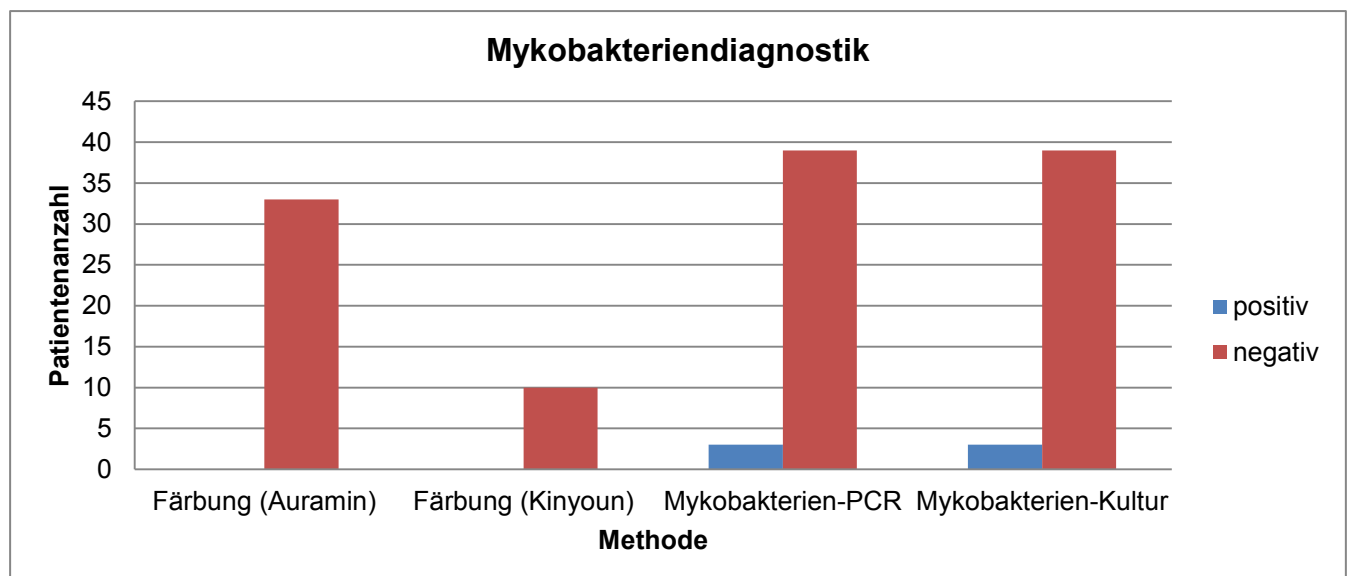
Patientin 3 stellte sich in der Rettungsstelle mit einer respiratorischen Partialinsuffizienz mit klinisch führender Dyspnoe und trockenem Husten vor. Unter dem V.a. eine erneute

atypische Pneumonie wurde eine empirische antibiotische Therapie mit Sultamicillin und Clarithromycin durchgeführt, unter der es jedoch zu keiner relevanten Besserung der Beschwerden kam, so dass eine Bronchoskopie mit BAL durchgeführt wurde. Hierdurch ließ sich überraschenderweise – bei nicht suggestivem CT und nur leicht erhöhter LDH – durch die DIF *Pneumocystis jirovecii* nachweisen. Unter einer intravenösen antibiotischen Therapie mit hochdosiertem Cotrimoxazol kam es zu einer deutlichen Besserung der Beschwerden und Heilung der Infektion.

#### 4.2.6. Mykobakterien (Durchgeführte Untersuchungen und Erregerwachstum)

Bei 33 von 45 Patienten (73 %) wurde die Färbung nach Auramin bzw. Ziehl-Neelsen zum Nachweis von Mykobakterien durchgeführt, diese war in allen Fällen negativ. Auch die Färbung nach Kinyoun, die bei zehn von 45 Patienten (22 %) durchgeführt wurde, war in allen Fällen negativ. Bis Juni 2013 wurde die Färbung nach Kinyoun verwendet, danach die Auraminfärbung. Die Mykobakterien-PCR wurde bei 42 von 45 Patienten durchgeführt und war dreimal positiv und in 39 Fällen negativ. Bei 42 von 45 Patienten wurde eine Mykobakterium-Kultur angelegt, die in drei Fällen positiv und in 39 Fällen negativ war (Abbildung 14).

Abbildung 14: Ergebnisse der Mykobakteriendiagnostik



Bei allen Patienten mit positivem Mykobakterienbefund war zunächst die PCR und im Verlauf das Wachstum in der Mykobakterienkultur positiv.

#### 4.2.6.1. Klinischer Verlauf der Patienten mit Mykobakterieninfektion

Bei Patient 2 trat über etwa drei Wochen persistierendes hohes Fieber auf. Die Lymphknoten-Entnahme und BAL ergab in der PCR den Nachweis von *Mykobakterium tuberculosis complexis*. Der Tuberkuloseverdacht wurde an das Gesundheitsamt gemeldet und der Patient zur Einleitung der tuberkulostatischen Therapie auf die Infektiologie verlegt. Es erfolgte die vierfache Therapie mit Isoniazid, Rifampicin, Ethambutol und Pyrazinamid, gegen die der Patient nach Resistenztestung sensibel war. Unter Weiterführung der Therapie besserte sich der Allgemeinzustand des Patienten rasch und er konnte nach zwei Wochen entlassen werden.

Patient 26 stellte sich initial aufgrund von progredienter Luftnot, körperliche Schwäche, verstärktem Nachtschweiß und einem Gewichtsverlust von 96 kg auf ca. 70 kg innerhalb der letzten zehn Monate in der Rettungsstelle vor. Im CT stellten sich atypische Verdichtungen und Infiltrationen mit Schwerpunkt im rechten Oberlappen dar. Bei Verdacht auf eine atypische Pneumonie wurde eine BAL durchgeführt, in der es zu einer positiven TB-PCR kam, so dass eine antituberkulöse Vierfachtherapie eingeleitet wurde. Im Verlauf gelang auch der kulturelle Nachweis von *Mycobacterium tuberculosis* in der BAL. Eine Meldung an das Gesundheitsamt ist erfolgt.

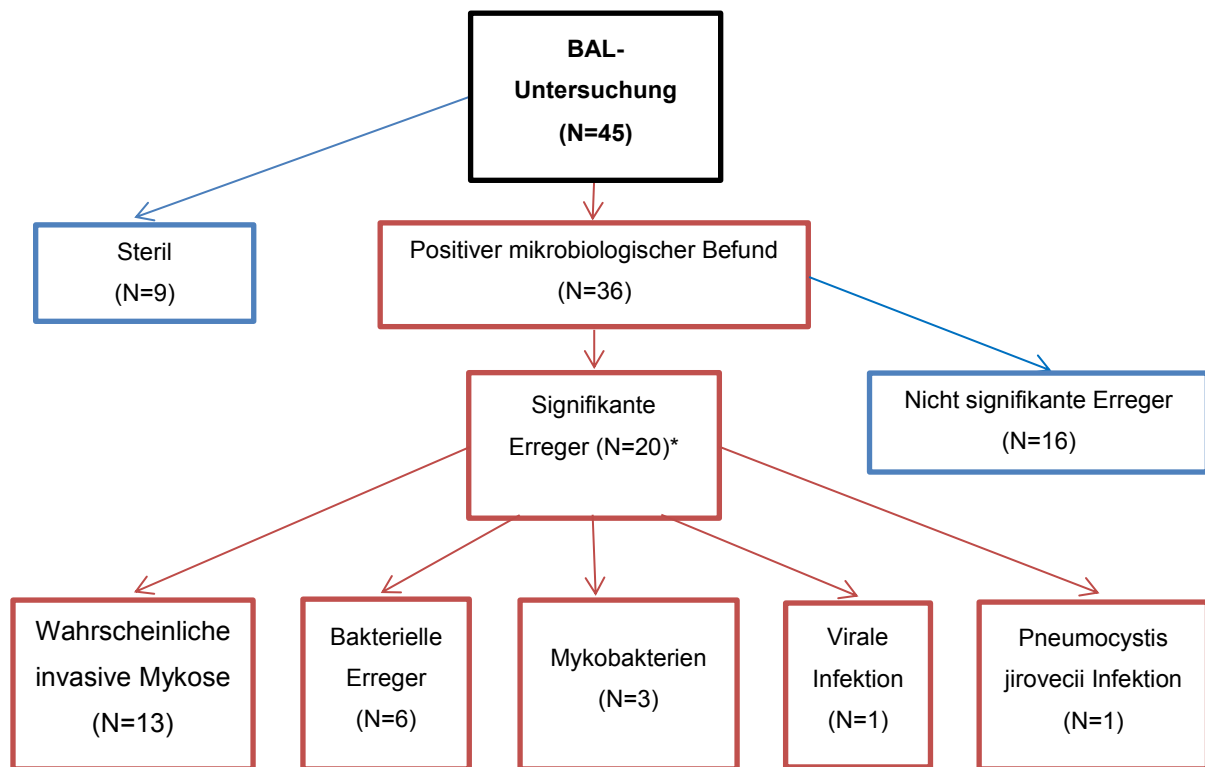
Patient 40 stellte sich mit Schwäche, Fieber, Nachtschweiß und Gewichtsverlust in der Rettungsstelle vor. Aufgrund von Granulomen der Oberlappen beidseits im externen CT und feinnodulärer Zeichnung des im Hause durchgeführten Röntgen-Thorax, wurde der V.a. eine TB geäußert. Der Quantiferon-Test war negativ. Es wurde eine Bronchoskopie und auch eine Punktion des retroösophagealen vergrößerten Lymphknoten-Konglomerates durchgeführt. Letztlich konnten säurefeste Stäbchen in der Lymphknoten-Biopsie nachgewiesen werden. Die PCR für *M. tuberculosis complexis* war in der BAL positiv. In den Färbungen gelang kein Nachweis von säurefesten Stäbchen. Die antituberkulöse Vierfachfach-Therapie wurde eingeleitet. Die Meldung an das Gesundheitsamt ist erfolgt.

#### 4.2.7. Gesamtauswertung

Es wurden die BALs aller 45 eingeschlossenen Patienten untersucht. In neun Fällen (20 %) konnte kein Erreger gefunden werden, in 36 Fällen (80 %) wurde ein positiver mikrobiologischer Befund gefunden. 16 von den 36 positiven Befunden wurden als klinisch nicht signifikant gewertet, da diese als physiologische Besiedlung, Kolonisation

oder Kontamination beurteilt wurden. Bei 20 Patienten (44,4 %) wurde eine klinisch signifikante Infektion festgestellt. Der häufigste Befund war die invasive Mykose (N=13), gefolgt von bakteriellen Infektionen (N=6), Mykobakterien (N=3), viralen Infektionen (N=1) und einer Infektion mit *Pneumocystis jirovecii* (Abbildung 15, Tabelle 12). Von den invasiven Mykosen wurden nach der EORTC-Klassifikation bei positivem mikrobiologischem Nachweis eine als „bewiesen“ und 12 als „wahrscheinlich“ eingestuft. Der häufigste bakterielle Erreger war *Pseudomonas aeruginosa* (50 %). Keine der Infektionen führte im beobachteten stationären Aufenthalt zum Tod.

Abbildung 15: Erregerausbeute der BAL



\*4 von den 20 Patienten sind von zwei Erregern betroffen



Tabelle 12: Gesamtauswertung der BAL

Nachgewiesene Erreger						
PKZ*	Aspergillus	Candida	Bakterien	Viren	Pneumocystis jirovecii	Mykobakterien
1	positiver GM-Test (0,7)	negativ	n. d. **	negativ	n. d.	negativ
2	n. d.	negativ	n. d.	CMV	n. d.	positive Kultur und PCR
3	negativ	negativ	Proteus mirabilis	EBV	positiv	negativ
4	negativ	n. d.	n. d.	n. d.	negativ	negativ
5	negativ	negativ	Rachenflora	negativ	negativ	negativ
6	positiver GM-Test (0,6)	positiv	Rachenflora	negativ	n. d.	negativ
7	positiver GM-Test (9,1)	positiv	negativ	n. d.	negativ	negativ
8	negativ	positiv	negativ	n. d.	n. d.	negativ
9	negativ	negativ	negativ	n. d.	negativ	negativ
10	negativ	positiv	vereinzelt gramnegative Stäbchen	negativ	n. d.	n. d.
11	positiver GM-Test (12,7), positives Wachstum in der Kultur	positiv	Rachenflora	n. d.	n. d.	negativ
12	negativ	negativ	Rachenflora	n. d.	negativ	negativ
13	positiver GM-Test (1,6)	positiv	vereinzelt grampositive Stäbchen, vereinzelt grampositive Kokken	negativ	negativ	negativ
14	negativ	positiv	Pseudomonas aeruginosa, Citrobacter braakii	n. d.	n. d.	negativ
15	positives Wachstum in der Kultur	positiv	Escherichia coli	n. d.	n. d.	n. d.

PKZ*	Aspergillus	Candida	Bakterien	Viren	Pneumocystis jirovecii	Mykobakterien
16	negativ	positiv	Rachenflora	n. d.	negativ	negativ
17	positiver GM-Test (0,8), positives Wachstum in der Kultur	negativ	negativ	n. d.	n. d.	negativ
18	positiver GM-Test (4,0)	positiv	Rachenflora	negativ	n. d.	negativ
19	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
20	positives Wachstum in der Kultur	positiv	negativ	negativ	n. d.	negativ
21	negativ	negativ	Rachenflora	n. d.	negativ	negativ
22	negativ	positiv	negativ	n. d.	n. d.	negativ
23	negativ	positiv	Rachenflora	n. d.	n. d.	negativ
24	negativ	positiv	Rachenflora	negativ	n. d.	negativ
PKZ*	Aspergillus	Candida	Bakterien	Viren	Pneumocystis jirovecii	Mykobakterien
25	positiver GM-Test (> 1,5)	positiv	Rachenflora	negativ	n. d.	negativ
26	negativ	positiv	Rachenflora	negativ	n. d.	positive Kultur und PCR
27	n. d.	positiv	Rachenflora	n. d.	n. d.	negativ
28	negativ	positiv	negativ	n. d.	negativ	negativ
29	positiver GM-Test (> 1,5)	positiv	negativ	negativ	negativ	negativ
30	negativ	positiv	negativ	n. d.	n. d.	negativ
31	positiver GM-Test (1,1)	negativ	Rachenflora	negativ	n. d.	negativ
32	n. d.	positiv	Rachenflora	n. d.	n. d.	negativ
33	n. d.	negativ	negativ	n. d.	n. d.	negativ
34	negativ	negativ	Rachenflora	negativ	negativ	negativ
35	negativ	positiv	negativ	negativ	negativ	negativ
36	n. d.	positiv	negativ	n. d.	n. d.	negativ
37	positiver GM-Test (> 1,5)	positiv	Pseudomonas aeruginosa	n. d.	n. d.	negativ
38	n. d.	negativ	negativ	n. d.	negativ	negativ

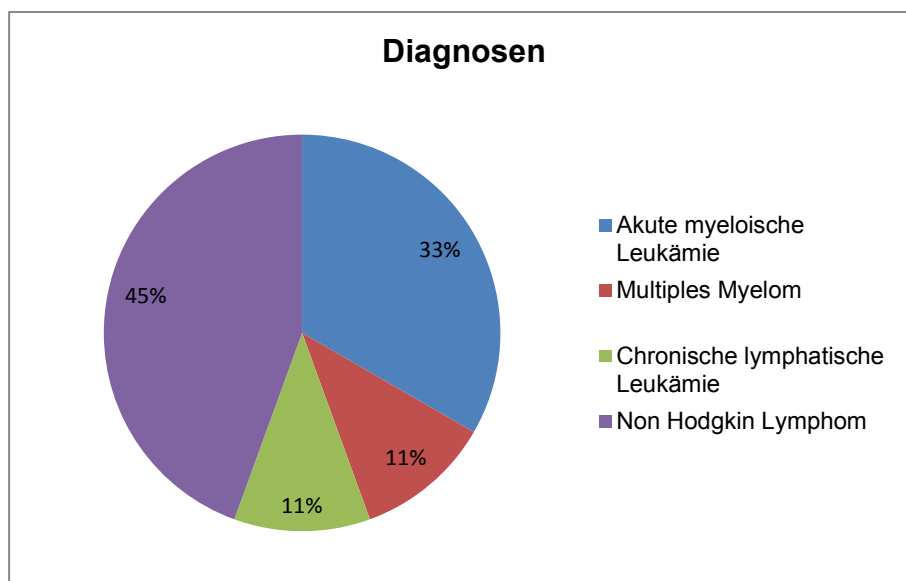
PKZ*	Aspergillus	Candida	Bakterien	Viren	Pneumocystis jirovecii	Mykobakterien
39	negativ	positiv	Rachenflora	n. d.	negativ	negativ
40	n. d.	positiv	negativ	n. d.	n. d.	positive Kultur und PCR
41	n. d.	negativ	Stenotrophomonas maltophilia	negativ	n. d.	n. d.
42	negativ	positiv	negativ	negativ	n. d.	negativ
43	negativ	negativ	Rachenflora	EBV	negativ	negativ
44	n. d.	negativ	Pseudomonas aeruginosa	negativ	negativ	negativ
45	n. d.	negativ	negativ	n. d.	n. d.	negativ

\*Patientenkennziffer; \*\*nicht durchgeführt

#### 4.3. Patientencharakteristika Lungenbiopsie

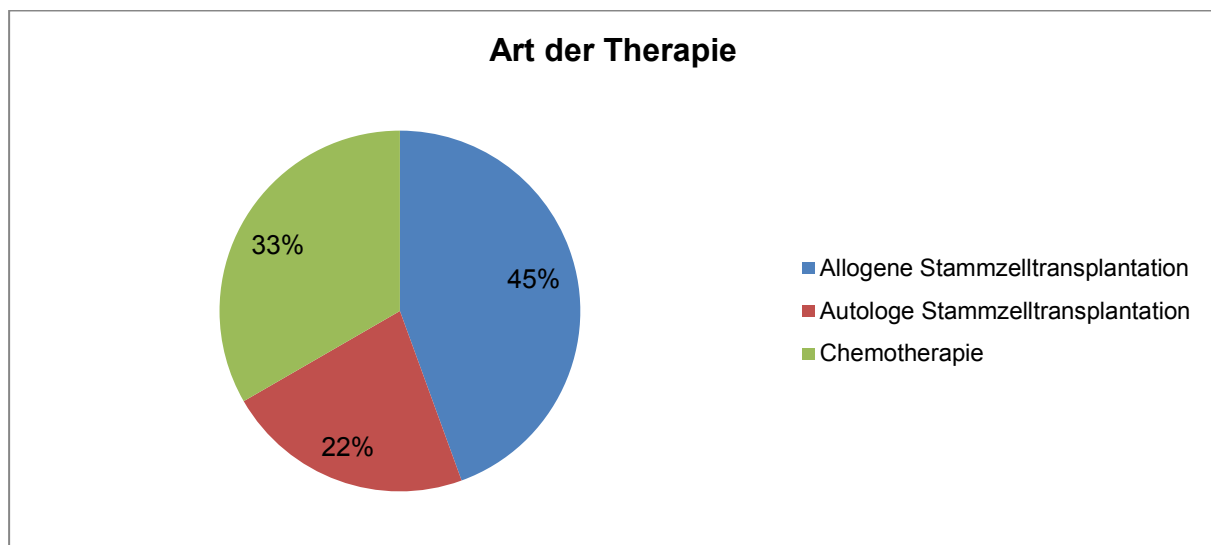
In der vorliegenden Arbeit wurden neun Patienten eingeschlossen, die neben der BAL auch eine Lungenbiopsie erhalten haben, davon 3 Frauen (33 %) und 6 Männer (66 %). Der Altersmedian der Patienten lag zum Zeitpunkt des stationären Aufenthaltes bei 65 Jahren. Das Durchschnittsalter betrug 63 Jahre. Der Beobachtungszeitraum umfasste einen stationären Aufenthalt. Der stationäre Aufenthalt dauerte von 4 bis 89 Tagen, durchschnittlich 36 Tage und im Median 24 Tage. Die häufigste Grunderkrankung war das NHL (4 Fälle, 45 %) (Abbildung 16).

Abbildung 16: Diagnosenübersicht der Patienten mit Lungenbiopsie



Indikationen für eine Lungenbiopsie waren unklare Raumforderungen in der Lunge oder eine unklare respiratorische Symptomatik. Vier Patienten hatten in der Vorgeschichte eine allogene Stammzelltransplantation und zwei Patienten eine autologe Stammzelltransplantation erhalten (Abbildung 17).

Abbildung 17: Verteilung der immunsuppressiven Therapie \*



\*Bei Patienten, die eine Transplantation erhalten haben, ist die Chemotherapie in diesem Diagramm nicht einzeln aufgeführt.

#### 4.3.1. Klinische Symptome der Patienten

Die meisten klinischen Symptome wie erhöhte Atemfrequenz, Hämoptysen oder verminderte Sauerstoffsättigung wurden systematisch nicht erfasst und konnten deshalb nicht in die Auswertung einbezogen werden. Systematisch erfasst wurde jedoch Fieber, von welchem 7 von 9 Patienten (78 %) betroffen waren und welches in der vorliegenden Arbeit bei einer Körperkerntemperatur ab 38,5 Grad definiert wurde.

#### 4.3.2. Klinischer Verlauf der Patienten mit positiver Lungenbiopsie

Die folgende Nummerierung der Patienten entspricht der Reihenfolge aller stattgefundenen BAL-Untersuchungen. Da die ersten vier Patienten, die in die Studie eingeschlossen wurden, nur eine BAL ohne Lungenbiopsie erhalten haben, beginnt die Falldarstellung bei Patient Nummer 5.

Bei Patient 5 erfolgte aufgrund unklarer pulmonaler Infiltrate im CT eine Lungenbiopsie. Mit dieser wurde der Befund einer GvHD festgestellt (Bronchiolitis obliterans).

Bei Patient 6 lag aufgrund des CT-Befundes der Verdacht auf eine atypische Pneumonie, DD: Pilzpneumonie vor. Dieser konnte mittels Lungenbiopsie nicht bestätigt werden. In der Histologie wurde lediglich ein diffuser Alveolarschaden nachgewiesen.

Bei Patient 11 erfolgte aufgrund unspezifischer Veränderungen im CT eine Lungenbiopsie. In dieser konnte eine Aspergillusinfektion nachgewiesen und damit die Diagnose einer bewiesenen Aspergilluspneumonie gestellt werden, die mit Voriconazol behandelt wurde.

Bei Patient 12 erfolgte auf Grund des Verdachts einer invasiven Mykose im CT eine Lungenbiopsie. Die Mykose konnte mittels Biopsie nicht bestätigt werden. Aufgrund des negativen Aspergillus-Antigens in der BAL erschien eine Mukormykose differentialdiagnostisch möglich, so dass eine Umstellung auf Voriconazol nicht erfolgte.

Bei Patient 14 bestand im CT aufgrund von bipulmonalen Verdichtungen des Lungenparenchyms der Verdacht auf eine Bronchiolitis obliterans. Differentialdiagnostisch wurden eine GvHD und eine atypische Mykobakteriose in Betracht gezogen. Keine dieser Verdachtsdiagnosen konnte mittels Lungenbiopsie bestätigt werden.

Bei Patient 21 bestand aufgrund zentralbetonter Verdichtung des gesamten Lungenparenchyms der Verdacht auf ein atypisches Filtrat, bei dem differentialdiagnostisch eine Pilzpneumonie in Betracht gezogen wurde. Mittels Lungenbiopsie konnte histologisch eine chronisch organisierte Pneumonie nachgewiesen werden.

Bei Patientin 24 wurde im CT der Verdacht einer GvHD gestellt. Mittels Lungenbiopsie wurde der Verdacht einer Bronchiolitis obliterans im Rahmen der chronischen GvHD bestätigt.

Bei Patient 32 wurde eine Lungenbiopsie aufgrund von zwei unklaren Raumforderungen im CT durchgeführt. Es konnte die Diagnose eines Plattenepithelkarzinoms gestellt werden.

Bei Patient 36 bestand im CT der Verdacht auf ein atypisches Infiltrat. Differentialdiagnostisch wurde eine Pilzpneumonie in Betracht gezogen. In der Lungenbiopsie konnte dieser Befund nicht bestätigt werden.

Zusammenfassend konnte in den Lungenbiopsien nur bei einem von neun Patienten (11,1 %) eine definitive Infektion bewiesen werden. Hierbei handelte es sich um eine invasive pulmonale Aspergillose durch *A.fumigatus*. In weiteren Biopsien zeigten sich jedoch wegweisende nicht-infektiologische Befunde, wie z.B. Bronchiolitis obliterans, diffuser Alveolarschaden oder eine chronisch organisierte Pneumonie. Es traten keine Komplikationen bei den durchgeführten Lungenbiopsien auf.

## 5. Diskussion

### 5.1. Allgemeine diagnostische Ausbeute

In der vorliegenden Arbeit konnte bei ca. 44 % der Patienten mit hämatologischen Malignomen, die sich einer Bronchoskopie unterzogen, mit Hilfe der Bronchoskopie mit BAL eine wegweisende Diagnose gestellt werden. Zusätzlich kommen Patienten hinzu, bei denen wichtige Differentialdiagnosen ausgeschlossen werden konnten, wie z.B. pulmonale Infektionen bei geplanter immunsuppressiver Therapie bei Bronchiolitis obliterans. In dem vorliegenden Patientenkollektiv ist während des Beobachtungszeitraums kein Patient an infektiösen Komplikationen gestorben. Dies ist sehr erfreulich, da das Patientenkollektiv einen großen Anteil von Patienten nach allo-HSZT umfasste (37 %). Die beobachteten Überlebensraten bei Komplikationen mit Lungeninfiltraten nach allo-HSZT liegen in der untersuchten Patientenpopulation somit deutlich über den bisher in der Literatur beschriebenen. Einschränkend muss erwähnt werden, dass die Beobachtungszeit in der aktuellen Untersuchung auf den stationären Aufenthalt beschränkt und somit relativ kurz war. Seneviratna et al. beschrieben in ihrer retrospektiven Studie, in der sie 26 Patienten mit hämatologischen Erkrankungen und mit Neutropenie und Lungeninfiltraten untersuchten, eine 30-Tages-Mortalität von 19,2 %, wobei sich kein Todesfall im Zusammenhang mit der Bronchoskopie und BAL ereignete. Ein Patient starb aufgrund eines Schlaganfalls, vier Patienten verstarben aufgrund von einer Pneumonie [114]. Rossini et al. stellten in ihrer retrospektiven Studie, in der sie 498 Patienten mit AML untersuchten und von denen 109 eine Pneumonie entwickelten, sogar eine Sterblichkeitsrate von 38,5 % durch Pneumonie fest [115]. An der geringen Frühsterblichkeit in der vorliegenden Studie sind möglicherweise die hohe diagnostische Ausbeute der BAL und die damit verbundene zeitgerechte und adäquate Therapie beteiligt. Ein anderer zugrunde liegender Aspekt ist wahrscheinlich die Selektion des Patientenkollektivs, die sich durch eine restriktive Indikationsstellung der BAL bei Patienten mit schwerer Dyspnoe und Atemwegssymptomatik ergibt. In der BAL konnten bei 20 von 45 Patienten (44,4 %) klinisch wegweisende Befunde auf relevante Infektionen nachgewiesen werden. Die allgemeine diagnostische Ausbeute von ca. 44 % ist vergleichbar mit den Ergebnissen von Mulabecirovic et. al. (45 %), Hummel et al. (47,9 %) und Svenson et al. (39 %) [4,16,18]. Seneviratna et al. hatten in ihrer Studie eine relativ geringe diagnostische Ausbeute von 23 %, während Kim et al. mit 65 % eine verhältnismäßig große

diagnostische Ausbeute vorweisen konnten [15,114]. Die diagnostische Ausbeute ist abhängig von den verschiedenen Grunderkrankungen der Patienten sowie der Behandlung mit Antibiotika oder Antimykotika, die einen Einfluss auf die Aussagekraft der BAL haben [116].

## 5.2. Durchführung der BAL

Ein weiterer Diskussionspunkt ist die Durchführung der BAL. Derzeit gibt es nur wenige Daten zur standardisierten Durchführung dieser Untersuchung [117]. Die Art des Saugverfahrens, die Anzahl der verwendeten Aliquots sowie die Auswahl des geeigneten Lungensegments sind noch nicht gut untersucht [117]. Radhakrishna et al., die in ihrer Studie 66 Patienten untersuchten, von denen bei jeweils 33 Patienten die BAL mittels manueller Absaugung und bei 33 mittels Wandabsaugung durchgeführt wurde, konnten keinen signifikanten Unterschied beider Methoden hinsichtlich der Volumina oder diagnostischer Ausbeute feststellen [117]. Für Patienten mit diffusen Veränderungen im CT wird die Durchführung der BAL im rechten Mittellappen empfohlen, da dieser mit einer höheren diagnostischen Ausbeute verbunden ist [117]. Eine aktuelle Studie von Seijo et al., die die Durchführung der BAL bei 220 Patienten untersuchte, stellte eine Gleichwertigkeit beider Verfahren bei der diagnostischen Ausbeute fest, jedoch eine Überlegenheit der manuellen Absaugung gegenüber der Wandabsaugung hinsichtlich der Menge des Aspirats [118]. Diese Beobachtung wurde auch in einer Studie von Rosas-Salazar et. al bei pädiatrischen Patienten gemacht [119].

## 5.3. Bedeutung von Aspergillus für pulmonale Infektionen

Der häufigste Befund in der vorliegenden Studie war die invasive pulmonale Aspergillose (N=13). Dies ist vergleichbar mit den Ergebnissen von Svenson et al. und Seneviratna et al., in denen auch Aspergillus der häufigste Erregerbefund war [4,114]. Invasive Pilzinfektionen stellen eine große Bedrohung für Patienten mit geschwächtem Immunsystem dar und die invasive Aspergillose ist die häufigste Manifestation bei hämatologisch-onkologischen Patienten [41]. Eine frühzeitige Diagnostik mit Bronchoskopie und BAL und die damit verbundene adäquate Behandlung sind essentiell für einen therapeutischen Erfolg [14]. Früher wurden Histopathologie und Kultur verwendet, um eine Aspergillusinfektion nachzuweisen. Diese sind jedoch klinisch aufgrund von geringer Sensitivität und hohem Zeitaufwand nicht praktikabel [43,44]. Heutzutage sind Biomarker wie der GM-Test klinische Routine, dessen



diagnostische Aussagekraft und Sensitivität in vielen Studien untersucht wurden [51,120,121]. Die höchste diagnostische Ausbeute zum Aspergillusnachweis konnte in der vorliegenden Arbeit mit dem Aspergillus-GM-Test erzielt werden (33,3 %). Dieser wurde bei einem Cut-Off-Wert von 0,5 als positiv gewertet. In Europa empfahl der Hersteller ursprünglich, erst einen Cut-Off-Wert von  $\geq 1.5$  als positiv zu werten, jedoch wird in der Praxis in vielen europäischen Zentren sowie in den Vereinigten Staaten ein Cut-Off-Wert von 0,5 als positiv gewertet [23,122-124]. Auch Reinwald et al. haben in einer prospektiven multizentrischen Studie (N=87) einen Cut-Off-Wert von 0,5 beim GM-Test für BAL-Proben verwendet [25]. Zudem beschrieben sie eine sehr hohe Wahrscheinlichkeit bei gleichzeitiger positiver PCR und GM-Test [25]. Maertens et al. haben hingegen in einer retrospektiven Studie (N=58) die höchste Spezifität und Sensitivität bei einem Cut-Off-Wert von 1,0 beim GM-Test festgestellt [125]. In der Literatur ist die beschriebene Sensitivität des GM-Testes in der BAL mit 29 % bis 100 % sehr variabel [116,126]. Sie wird durch eine frühzeitige Behandlung von Aspergillus-Infektionen und antimykotische Prophylaxe herabgesetzt, welche jedoch prognostisch entscheidend sind [116]. Eine weitere Limitation des GM-Testes ist das Auftreten von falsch positiven Ergebnissen bei Patienten, die mit Beta-Laktam-Antibiotika behandelt wurden, oder bei denen bestimmte Grunderkrankungen, wie z.B. Nierenversagen, vorliegen [22].

Ein weiterer Diskussionspunkt ist, ob die Sensitivität des GM-Testes im Serum vergleichbar mit der Sensitivität in der BAL ist. Eigl et al. beschrieben eine höhere Sensitivität in der BAL im Gegensatz zum Blut [127]. Sie untersuchten in ihrer prospektiven Studie (N=53) Patienten mit geschwächtem Immunsystem. Die beste Sensitivität (75 %) zum Nachweis einer bewiesenen / wahrscheinlichen IA wurde erreicht, wenn verschiedene Untersuchungen (PCR, GM-Test in der BAL und im Serum, BAL-Kultur) kombiniert wurden (Spezifität von 95 %) [127]. Hoenigl et al. verglichen den GM-Test mit der konventionellen Kultur, dem Aspergillus lateral-flow-device-Test (LFD), dem Beta-D-Glucan-Test (BDG) und der Aspergillus-PCR [128]. Die Sensitivitäten für die vier Methoden (außer Kultur) lagen zwischen 70 und 88 %. Die Kombination aus dem GM-Test ( $> 1,0$ ) und LFD erhöhte die Sensitivität auf 94 %, während die Kombination aus dem GM-Test ( $> 1,0$ ) und PCR eine Sensitivität von 100 % und eine Spezifität zwischen 95 bis 98 % hatte. Auch andere Autoren empfehlen einen kombinierten Einsatz von PCR und GM-Test [22,26].

In der vorliegenden Arbeit wurden lediglich vier positive Befunde in 44 durchgeführten Aspergillus-Kulturen festgestellt. Die niedrige Sensitivität des kulturellen Nachweises ist vergleichbar mit den Ergebnissen von Hoenigl et al. und Maertens et al. [125,128]. In der Studie bei Johnson et al. (N=32) waren sogar alle Aspergilluskulturen negativ, während die quantitative Echtzeit-PCR (qPCR) und der LFD eine Sensitivität von 100 % zeigten [42]. Die diagnostische Aussagekraft des kulturellen Nachweises wird durch eine geringe Sensitivität begrenzt [128].

Die Pilzfärbung (Calcofluor-Weiß oder Äquivalent) war in der vorliegenden Studie in allen von 18 durchgeführten Fällen negativ, obwohl der GM-Test oder die Kultur zeitgleich positiv waren. Diese geringe diagnostische Aussagekraft ist vergleichbar mit einer aktuellen Studie von Johnson al., in welcher auch alle Pilzfärbungen mit Calcofluor negativ waren, während andere Untersuchungen wie qPCR oder LFD positive Nachweise zeigten [42]. Auch Maertens et al. beschrieben in ihrer Studie lediglich eine Sensitivität von 53,3 % [125]. Dies bedeutet, dass dieser Test als diagnostischer Test in der aktuellen Form unbrauchbar ist. Der Einsatz in dieser Indikation in Zukunft ist zu überdenken.

Ein weiterer Test für den Nachweis von invasiven Mykosen ist der  $\beta$ -D-Glucan Test, der während des Untersuchungszeitraums nicht Bestandteil des diagnostischen Vorgehens bei hämatologischen Patienten mit Lungeninfiltraten war. In Zukunft ist jedoch eine Implementierung geplant.  $\beta$ -D-Glucan ist als ein Hauptzellwand-Polysaccharid von *Pneumocystis jirovecii* und vieler anderer Pilze, einschließlich der häufigsten Ursachen von Pilzerkrankungen, nämlich *Aspergillus spp.* und *Candida spp.*, von medizinischer Bedeutung [97]. Es kann damit als ein "pan-Pilz-Marker" betrachtet werden, der dadurch jedoch unspezifisch ist [128].

Eine aktuelle prospektive Studie von Erdmann et al. untersuchte die Bedeutung eines Nachweises von Antikörpern gegen Aspergillus vor geplanter allo-HSCT für die Wahrscheinlichkeit einer Entwicklung einer Aspergillose nach allo-HSCT. Ihre Daten sprechen gegen den klinischen Nutzen [35].

#### 5.4. Bedeutung von Candida für pulmonale Infektionen

In der vorliegenden Arbeit gab es keinen Fall einer Candidapneumonie. Alle Befunde wurden als Kontamination oder Kolonisation gewertet. Für den Nachweis einer Candidapneumonie spricht die aktuelle Leitlinie „Diagnose der invasiven Pilzinfektion bei hämatologischen und onkologischen Patienten“ der AGIHO folgende Empfehlungen

aus [51]: Eine definitive Diagnose der bewiesenen IFD erfordert den histologischen und / oder kulturellen Nachweis von Gewebebiopsien oder eine positive Kultur aus sterilen Körperflüssigkeiten. Die ist in der vorliegenden Arbeit in keinem Fall möglich gewesen. Die BAL ist keine sterile Flüssigkeit. Hefepilze gehören zu der physiologischen Flora der Haut und des oberen und unteren GI-Traktes und sollten bei Nachweis im Sputum oder der BAL als Kontamination oder Besiedlung angesehen werden, bis eine invasive Erkrankung z.B. durch eine Lungenbiopsie das Gegenteil beweist [51]. In der vorliegenden Arbeit wurde ein großer Teil der Befunde (N=13) (28,8 %) als Kontamination oder Kolonisation gewertet. Dies ist vergleichbar mit der Studie von Hummel et al. (22,4 %) [16].

#### 5.5. Bedeutung von Bakterien für pulmonale Infektionen

In der vorliegenden Studie wurden am zweithäufigsten bakterielle Erreger (N=6) gefunden, die jedoch in vielen Studien wesentlich häufiger auftraten [15,16,18]. Die geringe Inzidenz von bakteriellen Infektionen in der vorliegenden Studie kann im Zusammenhang mit dem frühen Einsatz von Breitspektrumantibiotika gesehen werden, der bei hämatologischen Patienten Teil des Standardvorgehens bei V.a. eine Pneumonie ist. Unsere Daten liegen in einem ähnlichen Bereich mit den Ergebnissen von Svensson et al. und Seneviratna et al. bei ähnlichen Patientenkohorten [4,114].

#### 5.6. Bedeutung von Viren für pulmonale Infektionen

Der virologische Nachweis erfolgte in der vorliegenden Studie mittels PCR auf CMV, VZV, HSV und HHV-6. Zudem wurde eine Multiplex-PCR auf respiratorische Viren durchgeführt. Wie schon in der allgemeinen Erregerausbeute der BAL diskutiert, spielen virale Befunde, mit nur einer signifikanten Infektion, eine untergeordnete Rolle, was auch mit anderen Studien vergleichbar ist [4,16,114]. Trotzdem muss kritisch angemerkt werden, dass bei nur einem Drittel der Patienten in der vorliegenden Studie eine virale Diagnostik durchgeführt wurde und die Aussagekraft dieser Ergebnisse deshalb vermindert ist. Die AGIHO empfiehlt in ihrer Leitlinie zum Nachweis von CRV bei onkologischen Patienten, dass das beste Testverfahren in respiratorischen Proben die PCR sei [76,129,130]. Kulturmethoden werden nicht häufig verwendet und können nicht für die allgemeine Diagnosestellung empfohlen werden, können jedoch in Einzelfällen, in denen kein bekanntes Virus nachgewiesen werden kann und es kein schlüssiges Ergebnis der PCR-Analyse gibt, hilfreich sein [131]. Obwohl aufgrund mangelhafter Datenlage keine endgültige Empfehlung formuliert werden kann, welche Viren in

Multiplex-test-Kits gesucht werden sollen, empfehlen die Autoren die Suche nach RSV, PIV und Viren, die in der aktuellen Umgebung des Patienten aufgetreten sind. Bei schwerkranken Patienten kann die Untersuchung auf hMPV, Adenoviren oder sogar seltene Viren wie Rhinoviren oder Coronaviren erweitert werden. Es ist wichtig zu beachten, dass Herpes viridae keine Ursache der CRV-Infektionen sind, weshalb es keinen Grund für den Nachweis von EBV, HSV oder VZV bei Patienten mit den typischen Symptomen einer CRV-Infektion gibt [76]. Bei Patienten mit Symptomen einer Infektion des unteren Atemtrakts ist es wichtig, mittels Bildgebung das Ausmaß der Lungenbeteiligung zu untersuchen. Das konventionelle Röntgen ist im Gegensatz zum CT aufgrund von geringer Sensitivität ungeeignet [76]. Im CT sind Bronchialwandverdickungen und interstitielle Infiltrate, die sich als Trübung präsentieren, nachweisbar. Sie ist als erhöhte Lungendichte definiert, während die vorhandene Lungenarchitektur noch nachweisbar ist [76]. Sind die terminalen Bronchien betroffen, werden diese als kleine zentribuläre Knoten oder als „tree-in-bud“-Zeichen sichtbar [132]. Als allgemeines Infektionsmanagement haben Handhygiene, Kontaktisolierung und Gesichtsmasken einen klinischen Nutzen gezeigt [133,134]. Respiratorische Viren sollten frühzeitig festgestellt und erregergerecht behandelt werden, um Ausbrüche zu vermeiden [76].

#### 5.7. Bedeutung von *Pneumocystis jirovecii* für pulmonale Infektionen

*Pneumocystis jirovecii* wurde bei einer Patientin in der BAL nachgewiesen und war damit einer der selteneren Befunde (2,2 %). Eine vergleichbare Häufigkeit liegt in der Studie von Mulabecirovic et al. vor, in der bei 3 von 107 (2,8 %) BAL-Untersuchungen *Pneumocystis jirovecii* nachgewiesen [18]. Der Nachweis von *Pneumocystis jirovecii* erfolgte in der vorliegenden Studie mittels DIF und Färbung nach Grocott und Giemsa, wobei nur ein positiver Nachweis mittels DIF gelang. Die Labordiagnostik der PCP hat sich in den letzten Jahren schnell weiter entwickelt. Da *Pneumocystis jirovecii* in vitro nicht kultivierbar ist, wurden lange Zeit der mikroskopische Nachweis und Färbungen wie Giemsa, Toluidinblau oder Calcofluor-Weiß für den Nachweis verwendet. Diese Färbungen wurden Mitte der 1990er Jahre durch die direkte oder indirekte Immunfluoreszenz unter der Verwendung von Anti-*Pneumocystis jirovecii*-Antikörpern verdrängt [97]. Die Sensitivität der Immunfluoreszenz, sowohl direkt als auch indirekt, war höher als bei konventionellen Färbungen [97]. Die Immunfluoreszenz-Assays werden nach der aktuellen Leitlinie für die Diagnostik von PCP bei Patienten bei mit

malignen hämatologischen Malignomen und nach HSZT von Alanio et al. als das empfindlichste mikroskopische Verfahren empfohlen [97]. Auch die Real-time PCR wird für die Routinediagnose von PCP empfohlen. Die BAL zeigte unter allen möglichen Probeflüssigkeiten den besten negativ prädiktiven Wert. Der Nachweis von  $\beta$ -D-Glucan kann zur Diagnosestellung genutzt werden, jedoch nicht als Follow-Up. Ein negatives Ergebnis kann bei Patienten mit einem Risiko helfen eine PCP auszuschließen, während ein positives Ergebnis auch auf andere Pilzinfektionen hinweisen kann. Die Genotypisierung mit Multilocus-Sequenzmarkern kann bei Verdacht auf einen Ausbruch verwendet werden. Da die Tests in erster Linie für Patienten mit HIV-Infektionen entwickelt wurden, erscheint die Interpretation dieser Tests bei anderen Patienten schwierig. Da eine PCP bei hämatologischen Patienten im Vergleich zu HIV-Patienten mit einer wesentlich geringeren Pilzbelastung assoziiert ist, sind sowohl Mikroskopie als auch DIF nicht empfindlich genug, um diese zuverlässig nachzuweisen. Die evidenzbasierte Überprüfung der derzeit verfügbaren PCR-Assays unterstützt nachdrücklich deren Verwendung für die Diagnose einer PCP. Es gibt wenig Zweifel daran, dass die qPCR das Potential hat, aufgrund der Zuverlässigkeit der Ergebnisse, Quantifizierung und geringem Arbeitsaufwand, die Mikroskopie und Immunfluoreszenz zu ersetzen, wenn die Automatisierung für die Nukleinsäureextraktion und Amplifikation möglich wird. Gegenwärtig ist die qPCR jedoch in vielen Laboratorien noch nicht möglich. Die BAL ist die bevorzugte Probe für die Diagnose von PCP und anderen Atemwegspathogenen, allerdings gibt es aktuell keinen klinischen Cut-Off-Wert. Es müssen Schwellenwerte für nicht HIV-infizierte Patienten definiert werden, um zwischen Kolonisation und Infektion zu unterscheiden [97].

#### 5.8. Bedeutung von Mykobakterien für pulmonale Infektionen

Bei drei Patienten (6,6 %) wurden Mykobakterien festgestellt. Dies ist vergleichbar mit der Studie von Hohennadel et al., in der bei 6 von 95 Patienten (6,6 %) Mykobakterien isoliert wurden [17]. In verschiedenen anderen Fallserien kam es jedoch zu keinem Nachweis von Mykobakterien, was wahrscheinlich durch Unterschiede der Patientencharakteristika und zugrundeliegender Erkrankungen erklärt werden kann [16,114]. Eine klinisch signifikante virale Infektion wurde nur bei einem Patienten gefunden. Auch in vielen anderen Studien spielten diese eine weniger wichtige Rolle [4,16,17,114]. Eine frühe Diagnose einer TB ist für die Behandlung von entscheidender Bedeutung, kann aber bei schwer immunsupprimierten Patienten, bei denen sich TB

unterschiedlich präsentieren kann, eine Herausforderung darstellen [100]. Bei fast allen Patienten wurde in der vorliegenden Studie eine Mykobakterien-Diagnostik in der BAL durchgeführt (93,3 %). Die Diagnose einer TB kann mit direkten und indirekten Verfahren gestellt werden. Der Nachteil indirekter Verfahren wie dem Interferon-Gamma-Test ist die fehlende Unterscheidungsmöglichkeit zwischen Infektion und Krankheitsaktivität. Die häufigste direkte Methode weltweit ist die mikroskopische Untersuchung eines Sputumausstriches, die vor mehr als 100 Jahren entwickelt wurde [135]. In der vorliegenden Studie wurde bei 42 von 45 Patienten (93,3 %) eine Mykobakterien-Färbung durchgeführt, die in allen Fällen negativ war. Säurefestigkeit ist eines der Hauptmerkmale von Mykobakterien, die eine schnelle Identifizierung ermöglicht. Folglich bleibt die Sputumkultur der Goldstandard für die Diagnose von pulmonalem TB [135]. In der vorliegenden Arbeit wurde bei 42 von 45 Patienten eine Mykobakterium-Kultur angelegt, die in drei Fällen positiv und in 39 Fällen negativ war. Flüssige Medien gelten als Standardmethode für die Isolierung und Kultur von *M. tuberculosis*, da sie eine bessere Isolationsqualität im Vergleich zu festen Medien aufweisen. Die Einführung von Flüssigkultur-basierten Techniken war eine große Verbesserung für die Diagnose und verkürzt die Zeit bis zur Erkennung von Mykobakterien auf zehn bis 14 Tage anstelle von mehreren Wochen, die für herkömmliche Medien benötigt wurden [135]. Auch in der vorliegenden Arbeit war ein kultureller Nachweis in den drei positiven Fällen erst im Verlauf möglich. Einen weiteren bedeutenden Fortschritt stellt die molekulare Diagnostik von Mykobakterien dar, die einen schnellen Nachweis ermöglicht [135]. Die PCR-Diagnostik aus dem Serum zur Detektion der TB-DNA ist schnell und hochspezifisch [136]. Dies hat sich auch in der vorliegenden Studie gezeigt, in der die Mykobakterien-PCR bei 42 von 45 Patienten durchgeführt wurde und dreimal positiv und in 39 Fällen negativ war. Der PCR-Nachweis gelang in den positiven Fällen schneller als der Nachweis in der Kultur. In allen positiven Fällen einer Infektion mit Mykobakterien waren sowohl die PCR als auch der Nachweis in der Kultur im Gegensatz zur Färbung positiv. Die am häufigsten durchgeführten molekularen Tests sind die *M. tuberculosis*-specific-nucleic-acid amplification tests (NAATs) [135]. Diese wurden in der vorliegenden Studie nicht verwendet. Die NAATs sind zwar schnell, haben aber eine geringe Sensitivität und erfordern die Isolierung einer ortsspezifischen Probe, die schwierig zu erhalten ist (z. B. keine Sputumproduktion) oder invasive diagnostische Tests und Biopsien, die aufgrund von Anämie, Neutropenie und Thrombozytopenie riskant sein können [136].

## 5.9. Bedeutung der Lungenbiopsie in der Diagnostik pulmonaler Infiltrate

Der Goldstandard zum Nachweis einer Fadenpilzinfektion der Lunge ist der histologische Nachweis. Es gibt prinzipiell drei verschiedene Methoden in dieser Situation eine Gewebeprobe zu gewinnen: 1) Die transbronchiale Biopsie; 2) die CT gesteuerte Biopsie und 3) die chirurgische Resektion von Lungenanteilen. Alle Methoden haben verschiedene Vor- und Nachteile. Die Resektion wird in der Regel dann angewendet wenn eine therapeutische Indikation besteht. Dies ist während der akuten Transplantationsphase sehr selten. Bei einer CT-gesteuerten Biopsie kann das Infiltrat sehr genau lokalisiert werden. Nachteilig ist, dass häufig durch relativ viel Lungengewebe punktiert werden muss, mit entsprechendem Risiko von Blutungen und Pneumothorax. In dieser Arbeit wurden alle Biopsien (N=9) transbronchial gewonnen. Komplikationen traten nicht auf. Allerdings konnte nur bei einem Patienten mittels Lungenbiopsie eine definitive infektiologische Diagnose gestellt werden. Dies ist vergleichbar mit einer Studie von Peikert et al., in der retrospektiv 35 febrile hämatologische Patienten untersucht wurden, bei denen 35 BALs und neun Lungenbiopsien durchgeführt wurden und sich die Behandlung aufgrund einer durchgeführten Lungenbiopsie nur in einem Fall änderte [30]. Auch in dieser Studie lag eine geringe Komplikationsrate (N=3) vor. Auch in einer Arbeit von Dunn et al., die 18 Lungenbiopsien ausgewertet haben, konnten zwar verschiedene Diagnosen wie Pneumonitis oder Bronchiolitis obliterans durch die Lungenbiopsie gestellt werden, jedoch war dies nur in einem Fall therapeutisch relevant [137]. Obwohl in dieser Studie keine Todesfälle direkt auf das Verfahren zugeordnet werden konnten, stellten die Autoren aufgrund der hohen Sterblichkeit nach HSZT und der geringen Ausbeute der Lungenbiopsie fest, dass der Nutzen der Lungenbiopsie bei diesen Patienten sehr begrenzt ist [137]. Hofmeister et al. stellten in ihrer Studie eine sehr geringe diagnostische Ausbeute durch die transbronchiale Lungenbiopsie von 5 % fest, zudem traten sechs von sieben Bronchoskopiekomplikationen direkt mit dem Verfahren auf, weswegen in ihrer Klinik aufgrund der geringen diagnostischen Ausbeute und der hohen Komplikationen Lungenbiopsien weitgehend vermieden werden sollen [138]. Gilbert et al. stellten zwar eine hohe diagnostische Ausbeute durch die transbronchiale Lungenbiopsie gegenüber der BAL (81,8 % vs. 53,1 %), die bei 22 Patienten durchgeführt wurde, fest. Jedoch konnte auch in dieser Studie nur bei einem Patienten eine infektiologische Diagnose, eine Staphylokokken-Pneumonie, gestellt werden. Die

anderen Befunde waren nicht-infektiologisch, wie GvHD oder diffuser Alveolarschaden [139].

In den 1980er Jahren stellte die Lungenbiopsie den diagnostischen Goldstandard nach Stammzelltransplantation dar [140,141]. Eine transbronchiale Biopsie wird in den aktuellen Leitlinien von Maschmeyer et al. bei Patienten mit febriler Neutropenie nicht mehr empfohlen [2]. Bei der Diagnosestellung von infektiologischen Ursachen ist die BAL der Lungenbiopsie überlegen, was sich bei nicht infektiologischen Ursachen jedoch umgekehrt verhält [1]. Bei V.a. einer Pilzpneumonie und der Unterscheidung von Aspergillus und Mukormykosen ist die Lungenbiopsie dennoch ein sinnvolles Verfahren. Beide Erreger präsentieren sich in der Bildgebung und in der Klinik sehr ähnlich. Nur durch einen histologischen Nachweis kann eine definitive Diagnose gestellt werden. Diese histologische Unterscheidung ist auch therapeutisch relevant, da Mukormykosen in der Regel resistent gegen Echinocandine sind und zur Behandlung nur Amphotericin B und einige Azole, z.B. Posaconazol und Isavuconazol verwendet werden können [32]. Sharma et al. sehen einen großen Vorteil der Lungenbiopsie in der sofortigen Diagnosestellung und bewerten die Nebenwirkungen in der Regel nicht als schwerwiegend [32]. Sie führten die Lungenbiopsie jedoch erst nach strenger Indikationsstellung durch. Bei 235 febrilen hämatologischen Patienten, von denen bei 178 Patienten eine Lungenbiopsie empfohlen wurde, wurde diese lediglich bei 34 Patienten durchgeführt. Gründe für die Nicht-Durchführung waren Thrombozytopenie, zu kleine Knötchen im radiologischen Befund, Verbesserung der Infektion unter empirischer Behandlung oder zu starke Beeinträchtigung des Patienten. In ihrer Studie traten als Komplikationen ein Pneumothorax bei drei Patienten auf, die aber hierdurch nicht beatmungspflichtig waren, sowie bei 11 Patienten Schmerzen, die mit angemessener Analgesie zu behandeln waren. Blutungen traten nicht auf [32].

Ein aktueller Review des Fred Hutchinson Cancer Research Centers beschreibt den Rückgang von Lungenbiopsien bei Patienten nach HSZT zugunsten wenig invasiver Verfahren [142]. Eine Ursache ist die Verbesserung dieser diagnostischen Verfahren. Untersuchungen wie der GM-Test oder die PCR haben die diagnostische Ausbeute durch erhöhte Sensitivität und Spezifität gegenüber älteren Verfahren wie der Kultur oder Färbung erheblich gesteigert [97,127,135]. Die andere Ursache ist das Aufkommen von neueren Antimykotika wie Breitspektrum-Triazol-Antimykotika oder Polyenen in den früheren 2000er Jahren, die weniger toxische Nebenwirkungen haben und einen häufigeren empirischen Einsatz bei Patienten mit vermuteter Pilzinfektion



erlauben [142,143]. In Situationen, in denen die klinische Beurteilung nicht eindeutig ist und weniger invasive Verfahren nicht genug Informationen über die Krankheitsursachen liefern, sollte die Durchführung einer Lungenbiopsie jedoch immer in Betracht gezogen werden [142].

#### 5.10. Bedeutung der radiologischen Diagnostik für pulmonale Infiltrate

Bei hämatologischen Patienten mit pulmonalen Infiltraten sind die radiologischen Befunde häufig unspezifisch und zeigen Lungenknötchen oder andere Lungenbefunde [1]. Konventionelle Röntgen-Thorax-Aufnahmen zeigen Anomalien bei weniger als 2 % der Patienten mit febriler Neutropenie und ohne klinischer Pneumonie-Symptomatik [144]. Bei Patienten mit anhaltendem Fieber über 48 h und nach der Gabe von antibakterielle Breitspektrum-Therapie sind ca. 10 % der Röntgenaufnahmen der Brust pathologisch, während hochauflösende CT-Scans zu diesem Zeitpunkt pathologische Befunde bei ca. 50 % der Patienten zeigen [145]. Aufgrund dessen wird von manchen Autoren von der Durchführung eines Röntgen-Thorax zugunsten eines CTs abgeraten [146]. CT-Befunde wie das „halo sign“ oder das „air-crescent-sign“ können wichtige Anzeichen für eine Fadenpilzinfektion sein [31]. In einer aktuellen Studie von Cornetto et al. wurde die fehlende Spezifität von CT-Zeichen für Ursachen von Lungenentzündungen bei der frühen Phase nach der allo-HSCT bestätigt. Ausgenommen hiervon sind Anomalien im Zusammenhang mit invasiven Pilzinfektionen, wie Knötchen oder Halo-Zeichen [5]. Das Halo-Zeichen und das umgekehrte Halo-Zeichen können jedoch auch mit einer Mukormykose der Lunge verbunden sein [31]. Eine Unterscheidung zwischen diesen beiden Diagnosen ist also allein durch die Bildgebung nicht möglich und erfordert eine weitere Abklärung durch eine Bronchoskopie mit BAL oder Biopsie, da beide Erkrankungen mit einer hohen Sterblichkeit assoziiert sind und mit unterschiedlichen Antimykotika therapiert werden müssen [32]. Differentialdiagnostisch kommen außerdem viele weitere Erkrankungen der Lunge infrage, wie die PCP-Pneumonie, TB, Granulomatose mit Polyangiitis oder Sarkoidose [147]. Seltener können auch kavitäre Läsionen ein Hinweis auf eine Pilzinfektion sein, wobei auch hier differentialdiagnostisch andere Erreger wie Mykobakterien infrage kommen [148]. Der Vergleich zu vorherigen CT-Aufnahmen bei einzelnen Patienten ist aufgrund der großen Anzahl an Differentialdiagnosen unerlässlich [2]. Kleine zentrilobuläre Knötchen, Verdichtungen oder Milchglastrübungen können auf eine virale Infektion der Lunge hinweisen [149]. Ein

weiteres Problem ist, dass radiologische Untersuchungen häufig falsch positive Befunde ergeben. So haben z.B. 88 % der asymptomatischen Patienten mit AML ein pathologisches CT [33]. Es wird deutlich, dass eine Bildgebung bei febrilen hämatologischen Patienten zwar erste Hinweise geben kann, jedoch aufgrund diagnostischer Besonderheiten in dieser Patientengruppe immer kritisch betrachtet werden muss und es aufgrund der hohen Mortalität und Morbidität zwingend notwendig ist, weitere Diagnostik wie Bronchoskopie mit BAL und bei bestimmten Indikationen die Lungenbiopsie durchzuführen.

#### 5.11. Komplikationen der BAL

In der vorliegenden Studie wurde keine Procedere-assoziierte Komplikationen durch die Bronchoskopie mit BAL beobachtet, was mit vielen Studien in der Literatur übereinstimmt, welche keine bzw. nur geringe Komplikationen beschrieben haben [4,9,14,16,17,21,114]. Hummel et al. legen in ihrer Studie nahe, dass die BAL, wenn man einige klinische Vorsichtsmaßnahmen beachtet, auch bei Patienten durchführbar ist, die eine Neutropenie oder geringe Thrombozytenzahl haben [16]. Sie beschrieben drei nicht letale Komplikationen (Blutung und Arrhythmie), weswegen die Bronchoskopie früher beendet werden musste [16]. Auch Hohennadel et al. beschrieben in ihrer Studie eine geringe Komplikationsrate von limitierten Blutungen bei 15 % der Patienten, obwohl über 80 % der Patienten eine Thrombopenie hatten [17]. Svenson et al. stellten das Auftreten von milden Komplikationen (13 %) fest, jedoch wurden auch in dieser Studie keine größeren Blutungskomplikationen festgestellt, trotzdem viele Patienten eine Thrombozytopenie hatten [4]. Azouley et al. stellten in ihrer prospektiven multizentrischen Studie fest, dass ein diagnostischer Vorteil der BAL bei hämatologischen Patienten mit Lungeninfiltraten besteht und es eine geringe Rate von Komplikationen gab [9]. Auch Seneviratna et al. beschrieben eine Komplikationsrate von lediglich 7,7 % [114].

#### 5.12. Limitationen

Zu den Limitationen dieser Arbeit zählt das retrospektive und monozentrische Studiendesign, so dass die Ergebnisse nicht multizentrisch verallgemeinert werden können. Auch die geringe Fallzahl, die in der Seltenheit der hämatologischen Erkrankungen begründet ist, sollte an dieser Stelle erwähnt werden. Zudem wurden auch Patienten in die Studie eingeschlossen, die nicht transplantiert wurden. Viele Patienten wurden vor der BAL bereits mit Antibiotika und Antimykotika behandelt,

wodurch die diagnostische Ausbeute und die therapeutische Konsequenz beeinflusst wurden. Einige Erreger kamen selten vor, z.B. wurde nur in einem Fall eine PCP diagnostiziert. Die klinische Dokumentation war zum Teil lückenhaft, so dass verschiedene klinische Zeichen, wie z.B. atemabhängige Schmerzen, Hämoptysen und die Atemfrequenz nicht systematisch untersucht werden konnten. Unter klinischer Symptomatik konnte lediglich der Parameter Fieber zuverlässig erfasst werden. Zudem wurde auf einige Erreger bei jedem Patienten der Studienpopulation getestet, auf die Diagnostik anderer wurde teilweise verzichtet. Die Vergleichbarkeit ist deswegen eingeschränkt. Für generelle klinische Aussagen sind multizentrische Studien erforderlich.

Zu den Stärken der vorliegenden Studie zählt die Nähe zu den klinischen Patientendaten. Diese konnten am Zentrum selbst erhoben werden, da alle Patienten auf den Stationen des Zentrums behandelt wurden. Die Datenqualität ist daher insgesamt sehr gut. Es wurde ein klarer, überschaubarer Beobachtungszeitraum von 2013 bis 2015 definiert, in welchem die Patienten und die medizinischen Bedingungen gut vergleichbar sind. Welche mikrobiologischen Erreger untersucht werden sollten, wurde vorher festgelegt und dadurch war eine systematische Erhebung möglich.

### 5.13. Zusammenfassung, Schlussfolgerungen und Ausblick

Die diagnostische Ausbeute der BAL betrug in der vorliegenden Arbeit 44 %. Es traten keine Komplikationen bei der Bronchoskopie mit BAL bei hämatologischen Patienten mit Lungeninfiltraten auf. Die diagnostische Ausbeute der Lungenbiopsie lag bei 11,1 %. Zusätzlich wurden in der Lungenbiopsie bei verschiedenen Patienten wichtige Differentialdiagnosen ausgeschlossen, wie z.B. Infektionen bei Verdacht auf eine GvHD der Lunge. Auch hier traten keine Prozedere-assoziierten Komplikationen auf. Die hohe Ausbeute an wegweisenden klinischen Befunden ist ein starkes Argument für den zukünftigen Einsatz der Bronchoskopie mit BAL in dieser Situation. Die Indikation für die Durchführung einer Lungenbiopsie sollte trotz der fehlenden Komplikationen in unserer kleinen Fallserie weiterhin streng gestellt werden. Für bestimmte Indikationen, wie z.B. die Differentialdiagnose zwischen Bronchilitis obliterans und infektiösen Lungenveränderungen, ist die Biopsie jedoch von zentraler Bedeutung.

## Literaturverzeichnis

- 1 Chellapandian D, Lehrnbecher T, Phillips B, Fisher BT, Zaoutis TE, Steinbach WJ, Beyene J, Sung L: Bronchoalveolar lavage and lung biopsy in patients with cancer and hematopoietic stem-cell transplantation recipients: A systematic review and meta-analysis. *Blood* 2015;33:501-509.
- 2 Maschmeyer G, Carratala J, Buchheidt D, Hamprecht A, Heussel CP, Kahl C, Lorenz J, Neumann S, Rieger C, Ruhnke M, Salwender H, Schmidt-Hieber M, Azoulay E: Diagnosis and antimicrobial therapy of lung infiltrates in febrile neutropenic patients (allogeneic sct excluded): Updated guidelines of the infectious diseases working party (agiho) of the german society of hematology and medical oncology (dgho). *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 2015;26:21-33.
- 3 Sahin U, Toprak SK, Atilla PA, Atilla E, Demirer T: An overview of infectious complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Journal of infection and chemotherapy : official journal of the Japan Society of Chemotherapy* 2016;22:505-514.
- 4 Svensson T, Lundstrom KL, Hoglund M, Cherif H: Utility of bronchoalveolar lavage in diagnosing respiratory tract infections in patients with hematological malignancies: Are invasive diagnostics still needed? *Upsala journal of medical sciences* 2016:1-5.
- 5 Cornetto MA, Chevret S, Abbes S, de Margerie-Mellon C, Hussenet C, Sicre de Fontbrune F, Tazi A, Ribaud P, Bergeron A: Early lung computed tomography scan after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* 2016;22:1511-1516.
- 6 Afessa B, Peters SG: Noninfectious pneumonitis after blood and marrow transplant. *Current opinion in oncology* 2008;20:227-233.
- 7 Aguilar-Guisado M, Jimenez-Jambrina M, Espigado I, Rovira M, Martino R, Oriol A, Borrell N, Ruiz I, Martin-Davila P, de la Camara R, Salavert M, de la Torre J, Cisneros JM: Pneumonia in allogeneic stem cell transplantation recipients: A multicenter prospective study. *Clinical transplantation* 2011;25:E629-638.

- 8 Murray PV, O'Brien ME, Padhani AR, Powles R, Cunningham D, Jeanes A, Ashley S: Use of first line bronchoalveolar lavage in the immunosuppressed oncology patient. *Bone marrow transplantation* 2001;27:967-971.
- 9 Azoulay E, Mokart D, Lambert J, Lemiale V, Rabbat A, Kouatchet A, Vincent F, Gruson D, Bruneel F, Epinette-Branche G, Lafabrie A, Hamidfar-Roy R, Cracco C, Renard B, Tonnelier JM, Blot F, Chevret S, Schlemmer B: Diagnostic strategy for hematology and oncology patients with acute respiratory failure: Randomized controlled trial. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2010;182:1038-1046.
- 10 Azoulay E, Thiery G, Chevret S, Moreau D, Darmon M, Bergeron A, Yang K, Meignin V, Ciroidi M, Le Gall JR, Tazi A, Schlemmer B: The prognosis of acute respiratory failure in critically ill cancer patients. *Medicine* 2004;83:360-370.
- 11 Azoulay E, Schlemmer B: Diagnostic strategy in cancer patients with acute respiratory failure. *Intensive care medicine* 2006;32:808-822.
- 12 Azoulay E, Mokart D, Rabbat A, Pene F, Kouatchet A, Bruneel F, Vincent F, Hamidfar R, Moreau D, Mohammedi I, Epinette G, Beduneau G, Castelain V, de Lassence A, Gruson D, Lemiale V, Renard B, Chevret S, Schlemmer B: Diagnostic bronchoscopy in hematology and oncology patients with acute respiratory failure: Prospective multicenter data. *Critical care medicine* 2008;36:100-107.
- 13 Hilbert G, Gruson D, Vargas F, Valentino R, Gbikpi-Benissan G, Dupon M, Reiffers J, Cardinaud JP: Noninvasive ventilation in immunosuppressed patients with pulmonary infiltrates, fever, and acute respiratory failure. *The New England journal of medicine* 2001;344:481-487.
- 14 Shannon VR, Andersson BS, Lei X, Champlin RE, Kontoyiannis DP: Utility of early versus late fiberoptic bronchoscopy in the evaluation of new pulmonary infiltrates following hematopoietic stem cell transplantation. *Bone marrow transplantation* 2010;45:647-655.
- 15 Kim SW, Rhee CK, Kang HS, Lee HY, Kang JY, Kim SJ, Kim SC, Lee SY, Kim YK, Lee JW: Diagnostic value of bronchoscopy in patients with hematologic malignancy and pulmonary infiltrates. *Annals of hematology* 2015;94:153-159.
- 16 Hummel M, Rudert S, Hof H, Hehlmann R, Buchheidt D: Diagnostic yield of bronchoscopy with bronchoalveolar lavage in febrile patients with hematologic malignancies and pulmonary infiltrates. *Annals of hematology* 2008;87:291-297.

- 17 Hohenadel IA, Kiworr M, Genitsariotis R, Zeidler D, Lorenz J: Role of bronchoalveolar lavage in immunocompromised patients with pneumonia treated with a broad spectrum antibiotic and antifungal regimen. *Thorax* 2001;56:115-120.
- 18 Mulabecirovic A, Gaulhofer P, Auner HW, Popper H, Krause R, Hesse C, Sill H: Pulmonary infiltrates in patients with haematologic malignancies: Transbronchial lung biopsy increases the diagnostic yield with respect to neoplastic infiltrates and toxic pneumonitis. *Annals of hematology* 2004;83:420-422.
- 19 Schnabel RM, van der Velden K, Osinski A, Rohde G, Roekaerts PM, Bergmans DC: Clinical course and complications following diagnostic bronchoalveolar lavage in critically ill mechanically ventilated patients. *BMC pulmonary medicine* 2015;15:107.
- 20 Fagon JY: Diagnosis and treatment of ventilator-associated pneumonia: Fiberoptic bronchoscopy with bronchoalveolar lavage is essential. *Seminars in respiratory and critical care medicine* 2006;27:34-44.
- 21 Forslow U, Remberger M, Nordlander A, Mattsson J: The clinical importance of bronchoalveolar lavage in allogeneic sct patients with pneumonia. *Bone marrow transplantation* 2010;45:945-950.
- 22 Orsi CF, Bettua C, Pini P, Venturelli C, La Regina A, Morace G, Luppi M, Forghieri F, Bigliardi S, Luppi F, Codeluppi M, Girardis M, Blasi E: Detection of pneumocystis jirovecii and aspergillus spp. Dna in bronchoalveolar lavage fluids by commercial real-time pcr assays: Comparison with conventional diagnostic tests. *The new microbiologica* 2015;38:75-84.
- 23 Maertens JA, Klont R, Masson C, Theunissen K, Meersseman W, Lagrou K, Heinen C, Crepin B, Van Eldere J, Tabouret M, Donnelly JP, Verweij PE: Optimization of the cutoff value for the aspergillus double-sandwich enzyme immunoassay. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2007;44:1329-1336.
- 24 Guo YL, Chen YQ, Wang K, Qin SM, Wu C, Kong JL: Accuracy of bal galactomannan in diagnosing invasive aspergillosis: A bivariate metaanalysis and systematic review. *Chest* 2010;138:817-824.
- 25 Reinwald M, Spiess B, Heinz WJ, Vehreschild JJ, Lass-Flörl C, Kiehl M, Schultheis B, Krause SW, Wolf HH, Bertz H, Maschmeyer G, Hofmann WK, Buchheidt D: Diagnosing pulmonary aspergillosis in patients with hematological malignancies: A multicenter prospective evaluation of an aspergillus pcr assay and a galactomannan

elisa in bronchoalveolar lavage samples. *European journal of haematology* 2012;89:120-127.

26 Avni T, Levy I, Sprecher H, Yahav D, Leibovici L, Paul M: Diagnostic accuracy of pcr alone compared to galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: A systematic review. *Journal of clinical microbiology* 2012;50:3652-3658.

27 Eckmanns T, Ruden H, Gastmeier P: The influence of high-efficiency particulate air filtration on mortality and fungal infection among highly immunosuppressed patients: A systematic review. *The Journal of infectious diseases* 2006;193:1408-1418.

28 Kruger WH, Zollner B, Kaulfers PM, Zander AR: Effective protection of allogeneic stem cell recipients against aspergillosis by hepa air filtration during a period of construction--a prospective survey. *Journal of hematotherapy & stem cell research* 2003;12:301-307.

29 Libbrecht C, Goutagny MP, Bacchetta J, Ploton C, Bienvenu AL, Bleyzac N, Mialou V, Bertrand Y, Domenech C: Impact of a change in protected environment on the occurrence of severe bacterial and fungal infections in children undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *European journal of haematology* 2016;97:70-77.

30 Peikert T, Rana S, Edell ES: Safety, diagnostic yield, and therapeutic implications of flexible bronchoscopy in patients with febrile neutropenia and pulmonary infiltrates. *Mayo Clinic proceedings* 2005;80:1414-1420.

31 Georgiadou SP, Sipsas NV, Marom EM, Kontoyiannis DP: The diagnostic value of halo and reversed halo signs for invasive mold infections in compromised hosts. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2011;52:1144-1155.

32 Sharma SK, Kumar S, Singh AK, Seth T, Mishra P, Mahapatra M, Sharma S, Tyagi S, Xess I, Ray R: Feasibility and outcome of ct-guided lung biopsy in patients with hematological diseases and suspected fungal pneumonia. *Journal of infection in developing countries* 2013;7:748-752.

33 Vallipuram J, Dhalla S, Bell CM, Dresser L, Han H, Husain S, Minden MD, Paul NS, So M, Steinberg M, Vallipuram M, Wong G, Morris AM: Chest ct scans are frequently abnormal in asymptomatic patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia. *Leukemia & lymphoma* 2016:1-8.

- 34 Boch T, Spiess B, Cornely OA, Vehreschild JJ, Rath PM, Steinmann J, Heinz WJ, Hahn J, Krause SW, Kiehl MG, Egerer G, Liebrechts T, Koldehoff M, Klein M, Nolte F, Mueller MC, Merker N, Will S, Mossner M, Popp H, Hofmann WK, Reinwald M, Buchheidt D: Diagnosis of invasive fungal infections in haematological patients by combined use of galactomannan, 1,3-beta-d-glucan, aspergillus pcr, multifungal DNA-microarray, and aspergillus azole resistance pcrs in blood and bronchoalveolar lavage samples: Results of a prospective multicentre study. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2016.
- 35 Erdmann JH, Graf B, Blau IW, Fischer F, Timm G, Hemmati P, Arnold R, Penack O: Anti-aspergillus immunoglobulin-g testing in serum of hematopoietic stem cell transplant recipients. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society* 2016;18:354-360.
- 36 Kimura S: Invasive aspergillosis in hematological patients. *Medical mycology journal* 2016;57:J77-88.
- 37 Kontoyiannis DP, Marr KA, Park BJ, Alexander BD, Anaissie EJ, Walsh TJ, Ito J, Andes DR, Baddley JW, Brown JM, Brumble LM, Freifeld AG, Hadley S, Herwaldt LA, Kauffman CA, Knapp K, Lyon GM, Morrison VA, Papanicolaou G, Patterson TF, Perl TM, Schuster MG, Walker R, Wannemuehler KA, Wingard JR, Chiller TM, Pappas PG: Prospective surveillance for invasive fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients, 2001-2006: Overview of the transplant-associated infection surveillance network (transnet) database. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2010;50:1091-1100.
- 38 Karthaus M, Buchheidt D: Invasive aspergillosis: New insights into disease, diagnostic and treatment. *Current pharmaceutical design* 2013;19:3569-3594.
- 39 Pagano L, Caira M, Candoni A, Offidani M, Fianchi L, Martino B, Pastore D, Picardi M, Bonini A, Chierichini A, Fanci R, Caramatti C, Invernizzi R, Mattei D, Mitra ME, Melillo L, Aversa F, Van Lint MT, Falcucci P, Valentini CG, Girmenia C, Nosari A: The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: The seifem-2004 study. *Haematologica* 2006;91:1068-1075.
- 40 Baddley JW, Andes DR, Marr KA, Kontoyiannis DP, Alexander BD, Kauffman CA, Oster RA, Anaissie EJ, Walsh TJ, Schuster MG, Wingard JR, Patterson TF, Ito JI, Williams OD, Chiller T, Pappas PG: Factors associated with mortality in transplant



patients with invasive aspergillosis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2010;50:1559-1567.

41 Boch T, Buchheidt D, Spiess B, Miethke T, Hofmann WK, Reinwald M: Direct comparison of galactomannan performance in concurrent serum and bronchoalveolar lavage samples in immunocompromised patients at risk for invasive pulmonary aspergillosis. *Mycoses* 2016;59:80-85.

42 Johnson GL, Sarker SJ, Nannini F, Ferrini A, Taylor E, Lass-Florl C, Mutschlechner W, Bustin SA, Agrawal SG: Aspergillus-specific lateral-flow device and real-time pcr testing of bronchoalveolar lavage fluid: A combination biomarker approach for clinical diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *Journal of clinical microbiology* 2015;53:2103-2108.

43 Lass-Florl C, Resch G, Nachbaur D, Mayr A, Gastl G, Auberger J, Bialek R, Freund MC: The value of computed tomography-guided percutaneous lung biopsy for diagnosis of invasive fungal infection in immunocompromised patients. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2007;45:e101-104.

44 Shah AA, Hazen KC: Diagnostic accuracy of histopathologic and cytopathologic examination of aspergillus species. *American journal of clinical pathology* 2013;139:55-61.

45 Caillot D, Casasnovas O, Bernard A, Couaillier JF, Durand C, Cuisenier B, Solary E, Piard F, Petrella T, Bonnin A, Couillault G, Dumas M, Guy H: Improved management of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients using early thoracic computed tomographic scan and surgery. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 1997;15:139-147.

46 Ascoglu S, Rex JH, de Pauw B, Bennett JE, Bille J, Crokaert F, Denning DW, Donnelly JP, Edwards JE, Erjavec Z, Fiere D, Lortholary O, Maertens J, Meis JF, Patterson TF, Ritter J, Selleslag D, Shah PM, Stevens DA, Walsh TJ: Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: An international consensus. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2002;34:7-14.

47 De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, Pappas PG, Maertens J, Lortholary O, Kauffman CA, Denning DW, Patterson TF, Maschmeyer G, Bille J, Dismukes WE, Herbrecht R, Hope WW, Kibbler CC, Kullberg

BJ, Marr KA, Munoz P, Odds FC, Perfect JR, Restrepo A, Ruhnke M, Segal BH, Sobel JD, Sorrell TC, Viscoli C, Wingard JR, Zaoutis T, Bennett JE: 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. *Clinical infectious diseases* : an official publication of the Infectious Diseases Society of America 2008;46:1813-1821.

48 Ruhnke M, Rickerts V, Cornely OA, Buchheidt D, Glockner A, Heinz W, Hohl R, Horre R, Karthaus M, Kujath P, Willinger B, Presterl E, Rath P, Ritter J, Glasmacher A, Lass-Flörl C, Groll AH, German Speaking Mycological S, Paul-Ehrlich-Society for C: Diagnosis and therapy of candida infections: Joint recommendations of the german speaking mycological society and the paul-ehrlich-society for chemotherapy. *Mycoses* 2011;54:279-310.

49 Köhler D, Schönhofer B, Voshaar T: *Pneumologie: Ein Leitfaden für rationales Handeln in Klinik und Praxis*. Georg Thieme Verlag, 2014.

50 Pfaller M, Neofytos D, Diekema D, Azie N, Meier-Kriesche HU, Quan SP, Horn D: Epidemiology and outcomes of candidemia in 3648 patients: Data from the prospective antifungal therapy (path alliance(r)) registry, 2004-2008. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2012;74:323-331.

51 Ruhnke M, Bohme A, Buchheidt D, Cornely O, Donhuijsen K, Einsele H, Enzensberger R, Hebart H, Heussel CP, Horger M, Hof H, Karthaus M, Krüger W, Maschmeyer G, Penack O, Ritter J, Schwartz S: Diagnosis of invasive fungal infections in hematology and oncology--guidelines from the infectious diseases working party in haematology and oncology of the german society for haematology and oncology (agiho). *Annals of oncology* : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO 2012;23:823-833.

52 Dewan E, Biswas D, Kakati B, Verma SK, Kotwal A, Oberoi A: Epidemiological and mycological characteristics of candidemia in patients with hematological malignancies attending a tertiary-care center in india. *Hematology/oncology and stem cell therapy* 2015;8:99-105.

53 Keikawus Arastéh H-WB, Christiane Bieber, Roland Brandt, Tushar Thomas Chatterjee: *Duale Reihe Innere Medizin*, 6. Auflage 2012. Thieme, 2012.

- 54 Glasmacher A, Marklein G, Just-Nubling G, Leutner C, Ewig S: [diagnosis of invasive mycoses in neutropenic patients with systemic hematologic diseases]. *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)* 1998;123:157-160.
- 55 Robin C, Alanio A, Cordonnier C: Mucormycosis: A new concern in the transplant ward? *Current opinion in hematology* 2014;21:482-490.
- 56 Petrikos G, Skiada A, Lortholary O, Roilides E, Walsh TJ, Kontoyiannis DP: Epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2012;54 Suppl 1:S23-34.
- 57 Skiada A, Pagano L, Groll A, Zimmerli S, Dupont B, Lagrou K, Lass-Flörl C, Bouza E, Klimko N, Gaustad P, Richardson M, Hamal P, Akova M, Meis JF, Rodriguez-Tudela JL, Roilides E, Mitrousia-Ziouva A, Petrikos G: Zygomycosis in europe: Analysis of 230 cases accrued by the registry of the european confederation of medical mycology (ecmm) working group on zygomycosis between 2005 and 2007. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2011;17:1859-1867.
- 58 Bitar D, Van Cauteren D, Lanternier F, Dannaoui E, Che D, Dromer F, Desenclos JC, Lortholary O: Increasing incidence of zygomycosis (mucormycosis), france, 1997-2006. *Emerging infectious diseases* 2009;15:1395-1401.
- 59 Mousset S, Buchheidt D, Heinz W, Ruhnke M, Cornely OA, Egerer G, Krüger W, Link H, Neumann S, Ostermann H, Panse J, Penack O, Rieger C, Schmidt-Hieber M, Silling G, Sudhoff T, Ullmann AJ, Wolf HH, Maschmeyer G, Bohme A: Treatment of invasive fungal infections in cancer patients—updated recommendations of the infectious diseases working party (agiho) of the german society of hematology and oncology (dgho). *Annals of hematology* 2014;93:13-32.
- 60 Pagano L, Offidani M, Fianchi L, Nosari A, Candoni A, Picardi M, Corvatta L, D'Antonio D, Girmenia C, Martino P, Del Favero A: Mucormycosis in hematologic patients. *Haematologica* 2004;89:207-214.
- 61 Zajac-Spychala O, Wachowiak J, Pieczonka A, Siewiera K, Fraczkiewicz J, Kalwak K, Górczyska E, Chybicka A, Czyżewski K, Jachna-Sawicka K, Wysocki M, Klepacka J, Goździk J, Zaucha-Prażmo A, Kowalczyk JR, Styczynski J: Bacterial infections in pediatric hematopoietic stem cell transplantation recipients: Incidence, epidemiology, and spectrum of pathogens: Report of the polish pediatric group for

hematopoietic stem cell transplantation. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society* 2016;18:690-698.

62 Heidenreich D, Kreil S, Nolte F, Reinwald M, Hofmann WK, Klein SA: Allogeneic hematopoietic cell transplantation without fluconazole and fluoroquinolone prophylaxis. *Annals of hematology* 2016;95:287-293.

63 Ortega M, Rovira M, Almela M, Marco F, de la Bellacasa JP, Martinez JA, Carreras E, Mensa J: Bacterial and fungal bloodstream isolates from 796 hematopoietic stem cell transplant recipients between 1991 and 2000. *Annals of hematology* 2005;84:40-46.

64 Mikulska M, Del Bono V, Raiola AM, Bruno B, Gualandi F, Occhini D, di Grazia C, Frassoni F, Bacigalupo A, Viscoli C: Blood stream infections in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients: Reemergence of gram-negative rods and increasing antibiotic resistance. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* 2009;15:47-53.

65 Gustinetti G, Mikulska M: Bloodstream infections in neutropenic cancer patients: A practical update. *Virulence* 2016;7:280-297.

66 Dalhoff K, Marxsen J, Steinhoff J: [pneumonias and immunosuppression]. *Der Internist* 2007;48:507-508, 510-508.

67 Hayes-Lattin B, Leis JF, Maziarz RT: Isolation in the allogeneic transplant environment: How protective is it? *Bone marrow transplantation* 2005;36:373-381.

68 Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, Gress R, Sepkowitz K, Storek J, Wingard JR, Young JA, Boeckh MJ: Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplantation recipients: A global perspective. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* 2009;15:1143-1238.

69 Kruger WH, Bohlius J, Cornely OA, Einsele H, Hebart H, Massenkeil G, Schuttrumpf S, Silling G, Ullmann AJ, Waldschmidt DT, Wolf HH: Antimicrobial prophylaxis in allogeneic bone marrow transplantation. Guidelines of the infectious diseases working party (agiho) of the german society of haematology and oncology. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 2005;16:1381-1390.

70 Zaia JA: Viral infections associated with bone marrow transplantation. *Hematology/oncology clinics of North America* 1990;4:603-623.

- 71 Wasserman R, August CS, Plotkin SA: Viral infections in pediatric bone marrow transplant patients. *The Pediatric infectious disease journal* 1988;7:109-115.
- 72 Bohorquez SP, Diaz J, Rincon CM, Estupinan M, Chaparro M, Low-Calle AM, Castellanos JE: Shedding of hsv-1, hsv-2, cmv, and ebv in the saliva of hematopoietic stem cell transplant recipients at fundacion homi - hospital de la misericordia, bogota, d.C. *Biomedica : revista del Instituto Nacional de Salud* 2016;36:201-210.
- 73 Ljungman P, de la Camara R, Cordonnier C, Einsele H, Engelhard D, Reusser P, Styczynski J, Ward K: Management of cmv, hhv-6, hhv-7 and kaposi-sarcoma herpesvirus (hhv-8) infections in patients with hematological malignancies and after sct. *Bone marrow transplantation* 2008;42:227-240.
- 74 Community acquired respiratory virus infections in cancer patients-Guideline on diagnosis and management by the Infectious Diseases Working Party of the German Society for haematology and Medical Oncology. von Lilienfeld-Toal M, Berger A, Christopeit M, Hentrich M, Heussel CP, Kalkreuth J, Klein M, Kochanek M, Penack O, Hauf E, Rieger C, Silling G, Vehreschild M, Weber T, Wolf HH, Lehnert N, Schalk E, Mayer K. *Eur J Cancer*. 2016 Nov;67:200-212
- 75 Schmidt-Hieber M, Schwarck S, Stroux A, Ganepola S, Reinke P, Thiel E, Uharek L, Blau IW: Immune reconstitution and cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplantation: The important impact of in vivo t cell depletion. *International journal of hematology* 2010;91:877-885.
- 76 von Lilienfeld-Toal M, Berger A, Christopeit M, Hentrich M, Heussel CP, Kalkreuth J, Klein M, Kochanek M, Penack O, Hauf E, Rieger C, Silling G, Vehreschild M, Weber T, Wolf HH, Lehnert N, Schalk E, Mayer K: Community acquired respiratory virus infections in cancer patients-guideline on diagnosis and management by the infectious diseases working party of the german society for haematology and medical oncology. *European journal of cancer* 2016;67:200-212.
- 77 Peck AJ, Corey L, Boeckh M: Pretransplantation respiratory syncytial virus infection: Impact of a strategy to delay transplantation. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2004;39:673-680.
- 78 Ljungman P, de la Camara R, Perez-Bercoff L, Abecasis M, Nieto Campuzano JB, Cannata-Ortiz MJ, Cordonnier C, Einsele H, Gonzalez-Vicent M, Espigado I, Halter J, Martino R, Mohty B, Sucak G, Ullmann AJ, Vazquez L, Ward KN, Engelhard D: Outcome of pandemic h1n1 infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Haematologica* 2011;96:1231-1235.

- 79 Chemaly RF, Vigil KJ, Saad M, Vilar-Compte D, Cornejo-Juarez P, Perez-Jimenez C, Mubarak S, Salhab M, Jiang Y, Granwehr B, Adachi JA, Raad, II: A multicenter study of pandemic influenza a (h1n1) infection in patients with solid tumors in 3 countries: Early therapy improves outcomes. *Cancer* 2012;118:4627-4633.
- 80 Choi SM, Xie H, Campbell AP, Kuypers J, Leisenring W, Boudreault AA, Englund JA, Corey L, Boeckh M: Influenza viral rna detection in blood as a marker to predict disease severity in hematopoietic cell transplant recipients. *The Journal of infectious diseases* 2012;206:1872-1877.
- 81 Schnell D, Mayaux J, de Bazelaire C, Legoff J, Feuillet S, Scieux C, Andreu-Gallien J, Darmon M, Baruchel A, Schlemmer B, Azoulay E: Risk factors for pneumonia in immunocompromised patients with influenza. *Respiratory medicine* 2010;104:1050-1056.
- 82 Chu HY, Englund JA, Podczervinski S, Kuypers J, Campbell AP, Boeckh M, Pergam SA, Casper C: Nosocomial transmission of respiratory syncytial virus in an outpatient cancer center. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* 2014;20:844-851.
- 83 Nichols WG, Guthrie KA, Corey L, Boeckh M: Influenza infections after hematopoietic stem cell transplantation: Risk factors, mortality, and the effect of antiviral therapy. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2004;39:1300-1306.
- 84 Nichols WG, Corey L, Gooley T, Davis C, Boeckh M: Parainfluenza virus infections after hematopoietic stem cell transplantation: Risk factors, response to antiviral therapy, and effect on transplant outcome. *Blood* 2001;98:573-578.
- 85 Ustun C, Slaby J, Shanley RM, Vydra J, Smith AR, Wagner JE, Weisdorf DJ, Young JA: Human parainfluenza virus infection after hematopoietic stem cell transplantation: Risk factors, management, mortality, and changes over time. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* 2012;18:1580-1588.
- 86 Maschmeyer G, Helweg-Larsen J, Pagano L, Robin C, Cordonnier C, Schellongowski P: Ecil guidelines for treatment of pneumocystis jirovecii pneumonia in non-hiv-infected haematology patients. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 2016;71:2405-2413.
- 87 Cordonnier C, Cesaro S, Maschmeyer G, Einsele H, Donnelly JP, Alanio A, Hauser PM, Lagrou K, Melchers WJ, Helweg-Larsen J, Matos O, Bretagne S, Maertens

J: *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: Still a concern in patients with haematological malignancies and stem cell transplant recipients. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 2016;71:2379-2385.

88 Edman JC, Kovacs JA, Masur H, Santi DV, Elwood HJ, Sogin ML: Ribosomal rna sequence shows *pneumocystis carinii* to be a member of the fungi. *Nature* 1988;334:519-522.

89 Siegel SE, Nesbit ME, Baehner R, Sather H, Hammond GD: Pneumonia during therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. *American journal of diseases of children* (1960) 1980;134:28-34.

90 McKinnell JA, Cannella AP, Kunz DF, Hook EW, 3rd, Moser SA, Miller LG, Baddley JW, Pappas PG: *Pneumocystis pneumonia* in hospitalized patients: A detailed examination of symptoms, management, and outcomes in human immunodeficiency virus (hiv)-infected and hiv-uninfected persons. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society* 2012;14:510-518.

91 Mansharamani NG, Garland R, Delaney D, Koziel H: Management and outcome patterns for adult *pneumocystis carinii* pneumonia, 1985 to 1995: Comparison of hiv-associated cases to other immunocompromised states. *Chest* 2000;118:704-711.

92 Sepkowitz KA: *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients without aids. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 1993;17 Suppl 2:S416-422.

93 Roblot F, Imbert S, Godet C, Kauffmann C, Ragot S, Le Moal G, Roblot P, Rodier MH, Robert R, Becq-Giraudon B, Guilhot F: Risk factors analysis for *pneumocystis jirovecii* pneumonia (pcp) in patients with haematological malignancies and pneumonia. *Scandinavian journal of infectious diseases* 2004;36:848-854.

94 Martin-Garrido I, Carmona EM, Specks U, Limper AH: *Pneumocystis pneumonia* in patients treated with rituximab. *Chest* 2013;144:258-265.

95 Pagano L, Fianchi L, Mele L, Girmenia C, Offidani M, Ricci P, Mitra ME, Picardi M, Caramatti C, Piccaluga P, Nosari A, Buelli M, Allione B, Cortelezzi A, Fabbiano F, Milone G, Invernizzi R, Martino B, Masini L, Todeschini G, Cappucci MA, Russo D, Corvatta L, Martino P, Del Favero A: *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with malignant haematological diseases: 10 years' experience of infection in gimema centres. *British journal of haematology* 2002;117:379-386.

96 Matsumura Y, Ito Y, Yamamoto M, Matsushima A, Nagao M, Takakura S, Iinuma Y, Ichiyama S: *Pneumocystis* polymerase chain reaction and blood (1-->3)-beta-d-

glucan assays to predict survival with suspected pneumocystis jirovecii pneumonia. *Journal of infection and chemotherapy : official journal of the Japan Society of Chemotherapy* 2014;20:109-114.

97 Alanio A, Hauser PM, Lagrou K, Melchers WJ, Helweg-Larsen J, Matos O, Cesaro S, Maschmeyer G, Einsele H, Donnelly JP, Cordonnier C, Maertens J, Bretagne S: Ecul guidelines for the diagnosis of pneumocystis jirovecii pneumonia in patients with haematological malignancies and stem cell transplant recipients. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 2016;71:2386-2396.

98 Ostendorf BN, Jehn CF, Vuong LG, Nogai H, Hemmati PG, Gebauer B, Penack O, Blau IW, Anagnostopoulos I, Arnold R: Synchronous tuberculosis, epstein-barr virus-associated lymphoproliferative disorder and cytomegalovirus infection in an allogeneic transplant recipient: A case report. *SpringerPlus* 2014;3:278.

99 Al-Anazi KA, Al-Jasser AM, Alsaleh K: Infections caused by mycobacterium tuberculosis in recipients of hematopoietic stem cell transplantation. *Frontiers in oncology* 2014;4:231.

100 Ramos JF, Batista MV, Costa SF: Tuberculosis in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases* 2013;5:e2013061.

101 Budak-Alpdogan T, Tangun Y, Kalayoglu-Besisik S, Ratip S, Akan H, Baslar Z, Soysal T, Bayik LA, Koc H: The frequency of tuberculosis in adult allogeneic stem cell transplant recipients in turkey. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* 2000;6:370-374.

102 Akan H, Arslan O, Akan OA: Tuberculosis in stem cell transplant patients. *The Journal of hospital infection* 2006;62:421-426.

103 Russo RL, Dulley FL, Suganuma L, Franca IL, Yasuda MA, Costa SF: Tuberculosis in hematopoietic stem cell transplant patients: Case report and review of the literature. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases* 2010;14 Suppl 3:e187-191.

104 Cordonnier C, Martino R, Trabasso P, Held TK, Akan H, Ward MS, Fabian K, Ullmann AJ, Wulfraat N, Ljungman P, Alessandrino EP, Pretnar J, Gmur J, Varela R, Vitek A, Sica S, Rovira M: Mycobacterial infection: A difficult and late diagnosis in stem cell transplant recipients. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2004;38:1229-1236.



- 105 Garcia-Goez JF, Linares L, Benito N, Cervera C, Cofan F, Ricart MJ, Navasa M, Perez-Villa F, Gonzalez J, Moreno A: Tuberculosis in solid organ transplant recipients at a tertiary hospital in the last 20 years in barcelona, spain. *Transplantation proceedings* 2009;41:2268-2270.
- 106 Jung JI, Lee DG, Kim YJ, Yoon HK, Kim CC, Park SH: Pulmonary tuberculosis after hematopoietic stem cell transplantation: Radiologic findings. *Journal of thoracic imaging* 2009;24:10-16.
- 107 Biral E, Faraci M, Lanino E, Morreale G, Giardino S, Moroni C, Losurdo G, Magnano GM, Senno E, Castagnola E: Mycobacterium tuberculosis pneumonia and bacteremia after allogeneic hematopoietic stem cell transplant: Report of an instructive pediatric case. *The new microbiologica* 2012;35:353-357.
- 108 Ullah K, Raza S, Ahmed P, Satti TM, Ikram A, Chaudhry QU, Kamal MK, Akhtar FM: Pulmonary tuberculosis in allogeneic stem cell transplant recipients. *JPMA The Journal of the Pakistan Medical Association* 2007;57:567-569.
- 109 Dolai TK, Kumar R, Bhargava R, Mahapatra M, Mishra P, Seth T, Kar R, Rathi S, Pati HP, Saxena R, Tyagi S: Multi-organ failure due to mycobacterium tuberculosis and aspergillus flavus infection after allogeneic bone marrow transplantation. *Indian journal of hematology & blood transfusion : an official journal of Indian Society of Hematology and Blood Transfusion* 2008;24:78-80.
- 110 Yew WW, Lange C, Leung CC: Treatment of tuberculosis: Update 2010. *The European respiratory journal* 2011;37:441-462.
- 111 Walscher J, Gompelmann D: [bronchoscopy]. *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)* 2016;141:1236-1238.
- 112 Meyer KC, Raghu G, Baughman RP, Brown KK, Costabel U, du Bois RM, Drent M, Haslam PL, Kim DS, Nagai S, Rottoli P, Saltini C, Selman M, Strange C, Wood B: An official american thoracic society clinical practice guideline: The clinical utility of bronchoalveolar lavage cellular analysis in interstitial lung disease. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2012;185:1004-1014.
- 113 Hecker E, Dienemann H: Lungenbiopsie. *Der Chirurg* 2003;74:776-784.
- 114 Seneviratna A, O'Carroll M, Lewis CA, Milne D: Diagnostic yield of bronchoscopic sampling in febrile neutropenic patients with pulmonary infiltrate and haematological disorders. *Internal medicine journal* 2012;42:536-541.
- 115 Rossini F, Verga M, Pioltelli P, Giltri G, Sancassani V, Pogliani EM, Corneo G: Incidence and outcome of pneumonia in patients with acute leukemia receiving first

induction therapy with anthracycline-containing regimens. *Haematologica* 2000;85:1255-1260.

116 Marr KA, Laverdiere M, Gugel A, Leisenring W: Antifungal therapy decreases sensitivity of the aspergillus galactomannan enzyme immunoassay. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2005;40:1762-1769.

117 Radhakrishna N, Farmer M, Steinfort DP, King P: A comparison of techniques for optimal performance of bronchoalveolar lavage. *Journal of bronchology & interventional pulmonology* 2015;22:300-305.

118 Seijo LM, Flandes J, Somiedo MV, Naya A, Manjon J, Alvarez S, Fernandez-Navamuel I: A prospective randomized study comparing manual and wall suction in the performance of bronchoalveolar lavage. *Respiration; international review of thoracic diseases* 2016;91:480-485.

119 Rosas-Salazar C, Walczak SA, Winger DG, Kurland G, Spahr JE: Comparison of two aspiration techniques of bronchoalveolar lavage in children. *Pediatric pulmonology* 2014;49:978-984.

120 Marchetti O, Lamoth F, Mikulska M, Viscoli C, Verweij P, Bretagne S: Eciil recommendations for the use of biological markers for the diagnosis of invasive fungal diseases in leukemic patients and hematopoietic sct recipients. *Bone marrow transplantation* 2012;47:846-854.

121 Pfeiffer CD, Fine JP, Safdar N: Diagnosis of invasive aspergillosis using a galactomannan assay: A meta-analysis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2006;42:1417-1427.

122 Wheat LJ: Rapid diagnosis of invasive aspergillosis by antigen detection. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society* 2003;5:158-166.

123 Herbrecht R, Letscher-Bru V, Oprea C, Lioure B, Waller J, Campos F, Villard O, Liu KL, Natarajan-Ame S, Lutz P, Dufour P, Bergerat JP, Candolfi E: Aspergillus galactomannan detection in the diagnosis of invasive aspergillosis in cancer patients. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2002;20:1898-1906.

124 Maertens J, Theunissen K, Verbeken E, Lagrou K, Verhaegen J, Boogaerts M, Eldere JV: Prospective clinical evaluation of lower cut-offs for galactomannan detection

in adult neutropenic cancer patients and haematological stem cell transplant recipients. *British journal of haematology* 2004;126:852-860.

125 Maertens J, Maertens V, Theunissen K, Meersseman W, Meersseman P, Meers S, Verbeken E, Verhoef G, Van Eldere J, Lagrou K: Bronchoalveolar lavage fluid galactomannan for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematologic diseases. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2009;49:1688-1693.

126 Mennink-Kersten MA, Donnelly JP, Verweij PE: Detection of circulating galactomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis. *The Lancet Infectious diseases* 2004;4:349-357.

127 Eigl S, Hoenigl M, Spiess B, Heldt S, Prattes J, Neumeister P, Wolfler A, Rabensteiner J, Pruessler F, Krause R, Reinwald M, Flick H, Buchheidt D, Boch T: Galactomannan testing and aspergillus pcr in same-day bronchoalveolar lavage and blood samples for diagnosis of invasive aspergillosis. *Medical mycology* 2016.

128 Hoenigl M, Prattes J, Spiess B, Wagner J, Pruessler F, Raggam RB, Posch V, Duettmann W, Hoenigl K, Wolfler A, Koidl C, Buzina W, Reinwald M, Thornton CR, Krause R, Buchheidt D: Performance of galactomannan, beta-d-glucan, aspergillus lateral-flow device, conventional culture, and pcr tests with bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *Journal of clinical microbiology* 2014;52:2039-2045.

129 Camps Serra M, Cervera C, Pumarola T, Moreno A, Perello R, Torres A, Jimenez de Anta MT, Marcos MA: Virological diagnosis in community-acquired pneumonia in immunocompromised patients. *The European respiratory journal* 2008;31:618-624.

130 Ebihara T, Endo R, Ma X, Ishiguro N, Kikuta H: Detection of human metapneumovirus antigens in nasopharyngeal secretions by an immunofluorescent-antibody test. *Journal of clinical microbiology* 2005;43:1138-1141.

131 Costa C, Libertucci D, Solidoro P, Sinesi F, Bergallo M, Margio S, Piana F, Baldi S, Cavallo R: Rapid shell vial culture for the detection of respiratory viruses from bronchoalveolar lavage in immunocompromised patients. *Panminerva medica* 2007;49:1-6.

132 Mayer JL, Lehnert N, Egerer G, Kauczor HU, Heussel CP: Ct-morphological characterization of respiratory syncytial virus (rsv) pneumonia in immune-compromised

adults. *RoFo : Fortschritte auf dem Gebiete der Rontgenstrahlen und der Nuklearmedizin* 2014;186:686-692.

133 Cowling BJ, Chan KH, Fang VJ, Cheng CK, Fung RO, Wai W, Sin J, Seto WH, Yung R, Chu DW, Chiu BC, Lee PW, Chiu MC, Lee HC, Uyeki TM, Houck PM, Peiris JS, Leung GM: Facemasks and hand hygiene to prevent influenza transmission in households: A cluster randomized trial. *Annals of internal medicine* 2009;151:437-446.

134 Jefferson T, Del Mar CB, Dooley L, Ferroni E, Al-Ansary LA, Bawazeer GA, van Driel ML, Nair S, Jones MA, Thorning S, Conly JM: Physical interventions to interrupt or reduce the spread of respiratory viruses. *The Cochrane database of systematic reviews* 2011:Cd006207.

135 Molicotti P, Bua A, Zanetti S: Cost-effectiveness in the diagnosis of tuberculosis: Choices in developing countries. *Journal of infection in developing countries* 2014;8:24-38.

136 Zhang J, Mosunjac M, Moon A, Nooka A, Waller EK: Tuberculosis in umbilical cord blood transplant recipients: Clinical characteristics and challenges. *Bone marrow transplantation* 2015;50:465-468.

137 Dunn JC, West KW, Rescorla FJ, Tres Scherer LR, Engum SA, Rouse TM, Smith JW, Grosfeld JL: The utility of lung biopsy in recipients of stem cell transplantation. *Journal of pediatric surgery* 2001;36:1302-1303.

138 Hofmeister CC, Czerlanis C, Forsythe S, Stiff PJ: Retrospective utility of bronchoscopy after hematopoietic stem cell transplant. *Bone marrow transplantation* 2006;38:693-698.

139 Gilbert CR, Lerner A, Baram M, Awsare BK: Utility of flexible bronchoscopy in the evaluation of pulmonary infiltrates in the hematopoietic stem cell transplant population -- a single center fourteen year experience. *Archivos de bronconeumologia* 2013;49:189-195.

140 Cockerill FR, 3rd, Wilson WR, Carpenter HA, Smith TF, Rosenow EC, 3rd: Open lung biopsy in immunocompromised patients. *Archives of internal medicine* 1985;145:1398-1404.

141 Crawford SW, Hackman RC, Clark JG: Open lung biopsy diagnosis of diffuse pulmonary infiltrates after marrow transplantation. *Chest* 1988;94:949-953.

142 Cheng GS, Stednick Z, Madtes DK, Boeckh M, McDonald GB, Pergam SA: Decline in the use of surgical biopsy for diagnosis of pulmonary disease in hematopoietic cell transplant recipients in an era of improved diagnostics and empirical

therapy. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* 2016.

143 Maertens JA: History of the development of azole derivatives. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2004;10 Suppl 1:1-10.

144 Oude Nijhuis CS, Gietema JA, Vellenga E, Daenen SM, De Bont ES, Kamps WA, Groen HJ, van der Jagt EJ, van der Graaf WT: Routine radiography does not have a role in the diagnostic evaluation of ambulatory adult febrile neutropenic cancer patients. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)* 2003;39:2495-2498.

145 Heussel CP, Kauczor HU, Heussel GE, Fischer B, Begrich M, Mildemberger P, Thelen M: Pneumonia in febrile neutropenic patients and in bone marrow and blood stem-cell transplant recipients: Use of high-resolution computed tomography. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 1999;17:796-805.

146 Maschmeyer G: Pneumonia in febrile neutropenic patients: Radiologic diagnosis. *Current opinion in oncology* 2001;13:229-235.

147 Godoy MC, Viswanathan C, Marchiori E, Truong MT, Benveniste MF, Rossi S, Marom EM: The reversed halo sign: Update and differential diagnosis. *The British journal of radiology* 2012;85:1226-1235.

148 Georgiadou SP, Kontoyiannis DP: Concurrent lung infections in patients with hematological malignancies and invasive pulmonary aspergillosis: How firm is the aspergillus diagnosis? *The Journal of infection* 2012;65:262-268.

149 Gasparetto EL, Escuissato DL, Marchiori E, Ono S, Frare e Silva RL, Muller NL: High-resolution ct findings of respiratory syncytial virus pneumonia after bone marrow transplantation. *AJR American journal of roentgenology* 2004;182:1133-1137.

## Abkürzungsverzeichnis

AG	Antigen
AGIHO	Arbeitsgemeinschaft Infektionen in der Hämatologie und Onkologie
ALL	Akute lymphatische Leukämie
allo-HSZT	allogener Blutstammzelltransplantation
allo-TX	Allogene Transplantation
AML	Akute myeloische Leukämie
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
ATS	American Thoracic Society
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BDG	beta-d-glucan-Test
CML	Chronische myeloische Leukämie
CMV	Cytomegalievirus
CRV	Community acquired respiratory virus
CT	Computertomographie
DD	Differentialdiagnose
DGHO	Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Medizinische Onkologie e.V.
DIF	direkte Immunfluoreszenz
EBMT	European Group for Blood and Marrow Transplantation
EBV	Epstein-Barr-Virus
EORTC/MSG	European Organisation for Research and Treatment of Cancer / Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group
GM	Galactomannan-Test
GvHD	Graft-versus-host-disease
hMPV	humanes Metapneumovirus
HSZT	hämatopoetische Stammzelltransplantation

HHV-6	Humanes Herpesvirus Typ 6
HSV	Herpes-Simplex-Virus
IA	Invasive Aspergillose
LFD	lateral-flow-device- Test
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MM	Multiplres Myelom
MPS	Myeloproliferatives Syndrom
NAATs	M. tuberculosis-specific-nucleic-acid amplification tests
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
PCP	Pneumocystis jirovecii Pneumonie
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PIV	Parainfluenza-1E4
PKZ	Patientenkennziffer
qPCR	Quantitative Echtzeit-PCR
RSV	Respiratory Syncytial Virus
TBLB	transbronchiale Lungenbiopsie
V.a.	Verdacht auf
VZV	Varizella-Zoster-Virus
ZVK	Zentraler Venenkatheter

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Diagnosen der gesamten Patientengruppe .....	32
Abbildung 2: Verteilung der immunsuppressiven Therapie * .....	33
Abbildung 3: Die Verteilung der positiven Ergebnisse des Galactomannan-Immunoassays .....	34
Abbildung 4: Vergleich der verschiedenen Untersuchungsmethoden des Aspergillusnachweises .....	35
Abbildung 5: Häufigkeit der Aspergillusinfektion nach der EORTEC-Klassifikation (bei Patienten mit durchgeführtem GM-Test) .....	35
Abbildung 6: CT-Aufnahme des Thorax: Hohlraumbildung .....	38
Abbildung 7: CT-Aufnahme des Thorax: Regredienz der Hohlraumbildung .....	38
Abbildung 8: CT-Aufnahme des Thorax: verdichtetes Areal mit Halo-Bildung.....	39
Abbildung 9: Vergleich der verschiedenen Untersuchungsmethoden des Candidanachweises .....	40
Abbildung 10: Ergebnisse der Gramfärbung.....	41
Abbildung 11: Erregerwachstum der Bakterienkultur.....	41
Abbildung 12: Vergleich der verschiedenen nachgewiesenen Viren .....	44
Abbildung 13: Ergebnisse der Pneumocystis jirovecii Diagnostik.....	45
Abbildung 14: Ergebnisse der Mykobakteriendiagnostik .....	46
Abbildung 15: Erregerausbeute der BAL .....	48
Abbildung 16: Diagnosenübersicht der Patienten mit Lungenbiopsie.....	51
Abbildung 17: Verteilung der immunsuppressiven Therapie * .....	52



## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Wahrscheinlichkeit einer Mykose nach der EORTC-Klassifikation .....	10
Tabelle 2: Patienten-individuelle Faktoren der EORTC-Klassifikation .....	10
Tabelle 3: Kriterien im CT-Thorax der EORTC-Klassifikation .....	11
Tabelle 4: Mikrobiologische Gewebediagnostik der EORTC-Klassifikation .....	11
Tabelle 5: Diagnosekriterien einer Candidapneumonie [54] .....	12
Tabelle 6: Aufarbeitung der BAL [2].....	19
Tabelle 7: Patientencharakteristika.....	24
Tabelle 8: Empfohlene Diagnostik aus respiratorischen Sekreten.....	31
Tabelle 9: Einteilung der invasiven Mykosen nach der EORTC-Klassifikation bei positivem Aspergillus-Antigen-Test bzw. positiver Kultur .....	36
Tabelle 10: Klinisch relevante bakterielle Erreger.....	43
Tabelle 11: Bakterielle Erreger in der Blutkultur .....	43
Tabelle 12: Gesamtauswertung der BAL .....	49

## Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Katja Hochhäuser versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Die Bedeutung der bronchoalveolären Lavage bei Patienten mit hämatologischen Malignomen selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -[www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

## **Lebenslauf**

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

## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die meine Promotion ermöglicht haben. Mein Dank gilt besonders meinem Doktorvater Herrn PD Dr. Olaf Penack für die Vergabe dieses spannenden Dissertationsthemas und für die exzellente Betreuung. Danken möchte ich auch Herrn Dr. med. D. Schürmann für die fachgerechte Durchführung der BALs, die Bereitstellung der Bronchoskopie-Bücher und die freundliche Unterstützung. Von Herzen danke ich auch meinem Freund, meiner Familie und meinen Freunden für ihre immerwährende Unterstützung.