

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

DISSERTATION

Anti-Aspergillus-IgG-Bestimmung zur Vorhersage der pulmonalen invasiven
Aspergillose nach allogener Stammzelltransplantation

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor rerum medicinalium (Dr. rer. medic.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Jan-Hendrik Erdmann
aus Hamburg

Datum der Promotion: 16.06.2018

INHALTSVERZEICHNIS

1. INHALTSVERZEICHNIS

1.	INHALTSVERZEICHNIS	2
2.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	4
3.	DEUTSCHER ABSTRACT	5
4.	ABSTRACT	6
5.	EINLEITUNG	7
5.1.	Diagnostische Maßnahmen	10
5.1.1.	Klinische Symptome	10
5.1.2.	Mikroskopischer Nachweis und Nachweis im Kulturmedium	10
5.1.3.	Antigen- und Antikörpernachweise	10
5.1.4.	Diagnostisches Vorgehen gemäß Leitlinie	11
5.2.	Erregerspektrum und Prophylaxe	12
5.3.	Risikofaktoren	15
6.	ZIEL DIESER ARBEIT UND FRAGESTELLUNG	16
7.	METHODEN	17
7.1.	Studiendesign und -material	17
7.2.	Studienpatienten und Materialgewinnung	17
7.3.	Antimikrobielle Prophylaxe	18
7.4.	Statistische Methoden	19
7.4.1.	Zweistichproben T-Test	19
7.4.2.	Mann-Whitney U-Test	19
7.4.3.	Minitab	20
7.4.4.	R Studio	20
7.4.5.	ROC-Analyse	20
7.5.	Outcome	20
8.	ERGEBNISSE	21
8.1.	Blutproben und Patienteneigenschaften	21

INHALTSVERZEICHNIS

8.2. Anamnese der IA und Inzidenz der IA	24
8.3. Vorhersage der IA anhand der aA-IgG-Werte.....	26
8.3.1. Überprüfung des Cut-Off.....	27
8.3.2. Subgruppe ohne antimykotische Prophylaxe	28
8.3.3. Subgruppe mit antimykotischer Prophylaxe	29
8.4. aA-IgG-Werte bei Patienten mit IA in der Anamnese	30
8.5. Kinetik der aA-IgG-Werte nach allo-HSCT	31
9. DISKUSSION	34
10. LITERATURVERZEICHNIS.....	40
11. ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	49
12. TABELLENÜBERSICHT	50
13. EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG	51
14. LEBENSLAUF	53
15. PUBLIKATIONSLISTE	55
16. DANKSAGUNG	56

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

2. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

aA	Anti- <i>Aspergillus</i>
aA-IgG	Anti- <i>Aspergillus</i> -IgG
ABPA	Allergische pulmonale Aspergillose
BG	1→3-β-D-Glucan
CIE	Counterimmunoelektrophorese
CPA	Chronische pulmonale Aspergillose
IA	Invasive pulmonale Aspergillose
IC	Invasive Candidose
IFD	Invasive fungal disease / Invasive Pilz-Erkrankung
GM	Galactomannan
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
allo-HSCT	Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation/ Allogene Blutstammzelltransplantation
NPV	Negative predictive value / negativer Vorhersagewert
PPV	Positive predictive value / positiver Vorhersagewert
ROC	Receiver-Operating-Characteristics
SOT	Solid Organ Transplantation / Organtransplantation

3. DEUTSCHER ABSTRACT

Die invasive pulmonale Aspergillose (IA) ist eine schwerwiegende Komplikation bei Patienten nach allogener Stammzelltransplantation (allo-HSCT). Um eine IA durch die Inhalation luftgetragener Sporen zu verhindern, werden in allen Transplantationszentren Luftfiltersysteme eingesetzt. In aktuellen Veröffentlichungen wurde demonstriert, dass die Aktivierung einer bestehenden *Aspergillus*-Kolonisierung einen relevanten Risikofaktor darstellt. In dieser Studie wurde eine positive Korrelation zwischen dem Anstieg an Serumimmunglobulinen gegen verschiedene *Aspergillus-fumigatus*-Proteine vor Beginn der allo-HSCT und einem Auftreten von IA unter beziehungsweise nach der allo-HSCT gefunden.

Unser Ziel war es, den klinischen Nutzen von Anti-*Aspergillus*-IgG zur Prädiktion der IA zu untersuchen. Wir verwendeten einen kommerziell verfügbaren und standardisierten Test (Platelia® *Aspergillus* IgG) zur Bestimmung von Anti-*Aspergillus*-IgG (aA-IgG) im Serum. Der Test hat bereits eine hohe Sensitivität und Spezifität zum Nachweis von Anti-*Aspergillus*-IgG unter Beweis gestellt und ist als Medizinprodukt zur Diagnostik bei nichtinvasiver Aspergillose bei immunkompetenten Personen deklariert.

In unserer Untersuchung wurden von 104 allo-HSCT-Empfängern während der Behandlung wöchentlich aA-IgG und *Aspergillus*-Antigen-Titer bestimmt. Die Gesamtinzidenz der möglichen, wahrscheinlichen und bewiesenen IA während des Aufenthalts lag bei 10%, 6% und 0%. Bei allo-HSCT-Patienten ohne IA-Anamnese und ohne primäre Prophylaxe gegen Schimmelpilze fanden wir eine Inzidenz für eine mögliche, wahrscheinliche und bewiesene IA während des Aufenthalts von 6%, 5% und 0%. Wir fanden keinen Zusammenhang zwischen den aA-IgG-Werten vor Beginn oder nach der allo-HSCT und dem Auftreten von IA während des Aufenthalts. Die medianen aA-IgG-Werte von Patienten mit wahrscheinlicher oder bewiesener IA in der Anamnese unterscheiden sich nicht von denen der Patienten ohne IA-Anamnese.

Zusammengefasst konnten wir in unserer Untersuchung keine Hinweise finden, dass mit dem Platelia® *Aspergillus* IgG-Tests in einem klinischen Setting bei allo-HSCT-Patienten eine Vorhersage für das Auftreten einer IA getroffen werden kann.

4. ABSTRACT

Invasive pulmonary aspergillosis (IA) is a major clinical problem in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT). Acquisition of IA during allo-HSCT by inhalation of spores is the rationale for the widespread use of air filtration systems. Recent data suggest that activation of fungal growth in already colonized patients is a relevant factor and a recent study found a positive correlation of serum immunoglobulin responses against purified recombinant *Aspergillus-fumigatus*-proteins before allo-HSCT with the incidence of IA after allo-HSCT.

To investigate the clinical utility of this approach we performed a prospective study. We used a commercially available and standardized assay for detection of anti-*Aspergillus*-IgG (aA-IgG) in serum (Platelia® *Aspergillus* IgG) that has previously demonstrated high sensitivity and specificity.

In a cohort of 104 allo-HSCT-recipients we measured aA-IgG and *Aspergillus*-antigen serum levels prior to allo-HSCT and weekly during hospital stay. Overall incidences of possible, probable and proven IA during hospital stay were 10%, 6% and 0%. In allo-HSCT recipients without history of previous IA, who received no primary anti-mold active prophylaxis during transplantation the incidence of possible, probable and proven IA during hospital stay was 6%, 5% and 0%, respectively. We found no correlation between aA-IgG-levels before or after allo-HSCT and the incidence of IA during hospital stay. Furthermore, median aA-IgG-levels do not differ between patients with history of probable or proven IA as compared to patients without history of IA.

Taken together our data argue against the clinical utility of measuring aA-IgG-levels for diagnosis or prediction of IA in patients undergoing allo-HSCT.

5. EINLEITUNG

Die invasive pulmonale Aspergillose (IA) ist eine mögliche schwerwiegende Komplikation bei Patienten unter allogener Stammzelltransplantation (allo-HSCT) (1). Die publizierten Inzidenzen der IA schwanken stark zwischen 5% bis 30% in dieser Patientenpopulation, jeweils abhängig von der durchführenden Klinik sowie von patientenspezifischen Risiken (2; 3; 4; 5). Die IA wird häufig unterteilt in frühauf tretende (≤ 40 Tage nach der HSCT) oder spätauf tretende IA (> 40 Tage nach der HSCT) (5). Die Letalität der IA bei allo-HSCT-Patienten schwankt ebenfalls zwischen 20-60%, abhängig von verschiedenen patientenbezogenen Faktoren (6), später Diagnose (5), unerkannter/latenter IA und spätem Ausbruch (später als Tag +40 nach allo-HSCT) (1).

Ob eine IA hauptsächlich als Folge einer primären Infektion in der neutropenen Phase während der allo-HSCT oder aufgrund einer vorherigen Kolonisierung oder latenten Infektion, begünstigt durch die starke Immunsuppression ausbricht, wird aktuell diskutiert. Frühere Studien stützten das Konzept der primären Infektion, in dem ein Zusammenhang zwischen erhöhter Inzidenz und Bauarbeiten in der Nähe der Transplantationsstation gezeigt wurde. So fanden Oren et al. bei größeren Bau- und Renovierungsarbeiten am Krankenhaus einen Anstieg der Inzidenz auf 50%, die auch unter dem Einsatz von niedrig dosiertem Amphotericin B i.v. nur auf 43% gesenkt werden konnte (7). Mit diesen Erkenntnissen untersuchten Krüger et al. während einer Renovierung in unmittelbarer Nähe zur Station die Menge und Art luftgetragener Pilzsporen mittels Sedimentationsplatten. Dabei wurde ein Anstieg der *Aspergillus*-Sporen während der Bauarbeiten festgestellt, der nach Beendigung der Maßnahmen wieder abfiel (8). Die steigende Inzidenz der IA wurde mit dem erhöhten Gehalt an Pilzsporen in der Atemluft der Patienten assoziiert (7; 8; 9).

Als Konsequenz wurden in den meisten allo-HSCT-Zentren Luftfilter installiert, um die Konzentration luftgetragener Sporen zu vermindern (10). Tatsächlich konnte gezeigt werden, dass der Effekt steigender Infektionen bedingt durch Bauarbeiten am Krankenhaus durch die Verwendung von HEPA-Filtern verhindert werden kann (7; 8). Ob die Verwendung von HEPA-Filtern oder anderer Schutzmaßnahmen die Inzidenz der IA unter regulären Betriebsbedingungen (ohne Bautätigkeiten in der Nähe des Krankenhauses) senkt, konnte bisher jedoch nicht gezeigt werden. In einer Studie von Maschmeyer et al. wurde überprüft, ob die Verwendung von FFP2-Masken sobald die Patienten den Bereich mit HEPA-filtrierter Luft verlassen die Inzidenz der IA weiter senken kann. In dieser Studie konnte keine Abnahme der invasiven Pilzinfektionen durch

EINLEITUNG

die FFP2-Masken gezeigt werden (9). Vergleiche mit historischen Daten sind aufgrund der unterschiedlichen Verwendung von antimykotischer Prophylaxe nur bedingt möglich. Aktuelle Daten stellen zudem den Stellenwert der primären Infektion mit *Aspergillus ssp.* unter allo-HSCT in Frage. So schwanken die Angaben der Inzidenzen stark abhängig von Land und Klinik, obwohl vergleichbare Luftfiltersysteme und hygienische Bedingungen angegeben werden (2; 3; 4; 11). Basierend auf dieser Beobachtung erscheint es nachvollziehbar, zu vermuten, dass die primäre Infektion bereits vor Behandlung und dem damit verbundenen Aufenthalt in Räumen mit gefilterter Luft aufgetreten sein kann (12; 13). Gemäß dieser Hypothese kommt einer vorherigen latenten Infektion oder einer Kolonisierung eine entscheidende Rolle zu. Das Konzept der endogenen Reaktivierung von opportunistischen Erregern findet sich beispielsweise häufig bei viralen Erregern wie HSV oder CMV (**Abbildung 5-1**). Die CMV-Viren persistieren dabei im Körper bis es zu einem erneuten Ausbruch kommen kann (14). Einige Viren können dafür in den Zellen überdauern, etwa durch episomale Genomreplikation. So können sich CMV-Viren in das Genom von Lymphozyten und Granulozyten einbauen (15). *Aspergillus ssp.* sind ubiquitär vorkommende opportunistische Erreger (16; 17; 18). Bedingt durch die andauernde Exposition finden sich *Aspergillus ssp.* an einigen Patienten als Teil der kommensalen Keimflora (17). Im einfachsten Fall befinden sich die Kulturen auf der Haut, in einer Untersuchung von Einsele et al. konnte aber auch eine asymptomatische Besiedlung der unteren Atemwege mit *Aspergillus ssp.* gezeigt werden (19). Die Bedeutung einer asymptomatischen Besiedlung bei immunkompetenten Personen ist aktuell noch unklar (20), so gibt es aktuell keine Studien die das Langzeitoutcome von besiedelten Personen ohne Begleiterkrankungen betrachten. Ebenso besteht Unklarheit wie der Nachweis von erhöhten aA-IgG-Werten bei asymptomatischen Patienten zu bewerten ist (20). In einer Untersuchung zu aA-IgG-Werten in unterschiedlichen Populationen zeigten Patienten mit allergischer pulmonaler Aspergillose (ABPA) und chronischer Aspergillose (CPA) deutlich erhöhte aA-IgG-Werte (Sensitivität 74,4-76,9%; abhängig von Erkrankung und verwendetem Test) wohingegen die Kontrollgruppe negativ blieb (Spezifität 91,0-100,0%, abhängig vom verwendeten Test) (21; 22). Patienten mit nachgewiesener *Aspergillus*-Besiedlung der Lunge zeigten mit dem Test zum Teil hohe Ergebnisse, lagen im Median jedoch unter dem Cut-Off der verwendeten Tests (21).

Kommt es zu einer starken Immunsuppression, etwa durch Chemotherapie, können sich die Pilze ausbreiten und eine Infektion hervorrufen.

EINLEITUNG

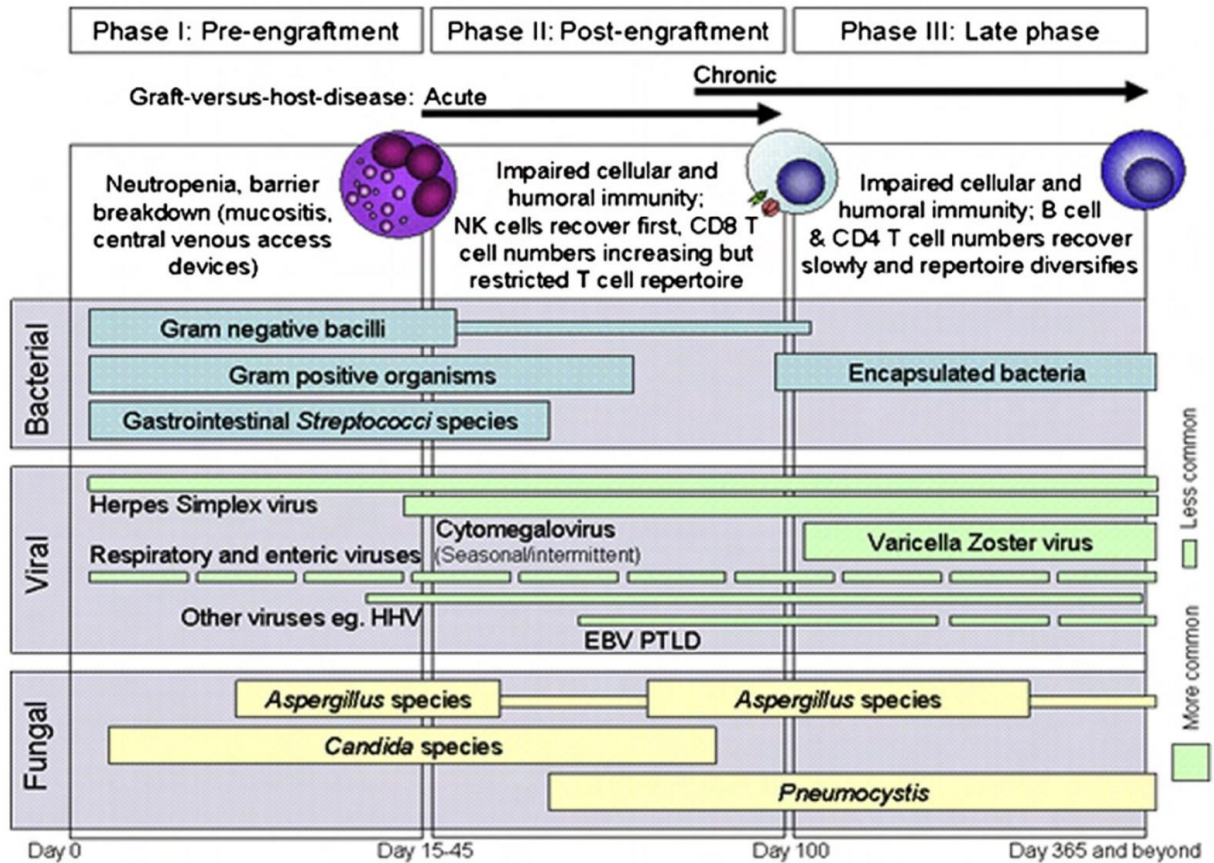


Abbildung 5-1: Phasen der opportunistischen Infektionen bei allo-HSCT-Patienten. EBV: Epstein-Barr-Virus; HHV6: humanes Herpesvirus 6; PTLD: posttransplant lymphoproliferative disease; entnommen aus (23).

In einer Arbeit von Maar et al. wurde vermutet, dass Serum IgG-Aktivität gegen *Aspergillus-fumigatus*-Antigene als Risikofaktor für early-onset IA (Auftreten der IA bis zum 40. Tag nach der HSCT) genutzt werden kann (2). Die Arbeitsgruppe um Chazalet et al. analysierte die Genotypen von *Aspergillus fumigatus* in verschiedenen Krankenhäusern und konnte bei 40% der IA-Infektionen einen nosokomialen Ursprung feststellen. In den restlichen Fällen (60%) konnten die Stämme nicht in der Umgebung nachgewiesen werden, was zu der Schlussfolgerung führte, dass die Patienten diese bereits vor dem Aufenthalt an sich getragen haben müssen (17). In einer aktuellen Studie von Du et al. nutzen die Autoren einen internen Assay zur Bestimmung der Anti-*Aspergillus*-IgG-Aktivität bei Aufnahme zur HSCT. Sie berechneten eine Sensitivität von 67-84% und eine Spezifität von 52-67% (24). Zudem konnte gezeigt werden, dass die Kolonisierung mit *Aspergillus*-Spezies einen Risikofaktor für IA bei Patienten mit HSCT darstellt (19).

5.1. Diagnostische Maßnahmen

Um eine IA sicher zu diagnostizieren wird ein histologischer Nachweis oder das Anzüchten in einem Kulturmedium einer Gewebe- oder Blutprobe gefordert (25; 26). Diese Kriterien sind jedoch in der frühen Phase einer Infektion eventuell nicht anwendbar, daher wird die Entscheidung zur Einleitung einer antimykotischen Therapie bei immunsupprimierten Patienten in der Granulozytopenie meist aufgrund von klinischen Symptomen wie Antibiotika-resistentem Fieber oder pulmonalen Symptomen wie dem Nachweis von Infiltraten im Röntgen-Thorax oder im CT getroffen (26).

5.1.1. Klinische Symptome

Pilzinfektionen können trotz Breitspektrum-Antibiotikagabe mit anhaltendem oder wiederholt auftretendem Fieber einhergehen (26). Die klinischen Symptome einer invasiven Pilzerkrankung der Atemwege oder des Ösophagus sind dabei diffus (z.B. Husten, pleurale oder retrosternale Schmerzen, Dysphagie) (26). Sie überschneiden sich beispielsweise mit Anzeichen für virale Ulzerationen nach Gaben von Hoch-Dosis-Cytarabin (26).

5.1.2. Mikroskopischer Nachweis und Nachweis im Kulturmedium

Der direkte Nachweis von Pilzen in einer Gewebeprobe mittels Mikroskop kann die Diagnose belegen (25). Durch Färbungen (27) oder immunhistochemische Methoden (28) kann die Unterscheidung der Typen weiter verdeutlicht werden. Bei Patienten unter HSCT muss jedoch, bedingt durch die Thrombozytopenie, auf invasive Probennahmen verzichtet werden (29), wodurch der direkte Nachweis weitestgehend unmöglich wird. Eine Besonderheit der *Aspergillus*-Infektion ist dabei, dass sich der Erreger nur in sehr wenigen Fällen direkt oder in Kultur nachweisen lässt (6; 30). Aussagekräftige Proben können von normal sterilen Körperflüssigkeiten (wie Blut oder Pleurasekret) entnommen werden (25; 26). Proben, die durch bronchoalveoläre Lavage erhalten wurden, werden in der europäischen Leitlinie als Beweis einer Pilzinfektion sowohl für Hefen als auch für Schimmelpilze explizit ausgeschlossen (25). Während Hefen als Teil der physiologischen Keimflora vorkommen können, kann der Nachweis von Schimmelpilzen im Sputum einen Hinweis aber keinen Nachweis für eine IFD liefern (31).

5.1.3. Antigen- und Antikörpernachweise

Obwohl der Nachweis von Antigenen nicht als Beweis einer IFD gewertet werden kann (25), können sich auf diesem Wege bereits Hinweise für das Vorliegen einer Infektion

EINLEITUNG

ergeben, bevor es zu radiologischen Symptomen kommt (32; 33). Zum Nachweis von *Aspergillus ssp.* zeigt der Nachweis von Galactomannan-Antigen (GM) hohe Sensitivität (73%-90%) und Spezifität (72%-90%) (34). Das GM-Antigen wird von den gängigen *Aspergillus ssp.* freigesetzt und ist nicht spezifisch für *Aspergillus fumigatus* (35).

Neben dem GM-Antigen kann auf 1→3-β-D-Glucan (BG) getestet werden. Ein positives Ergebnis im BG-Test kann bei IFD durch verschiedene Pilze hervorgerufen werden, etwa *Candida ssp.*, *Aspergillus ssp.*, *Fusarium ssp.*, *Acremonium ssp.* und *Pneumocystis jirovecii* (36; 37). BG konnte als diagnostischer Marker für IA eine höhere Sensitivität als GM zeigen (38). Zum Nachweis einer IFD werden GM und BG als gleichwertig angesehen (25).

Antikörpertests sind etabliert in der Diagnose von nichtinvasiver Aspergillose wie CPA und ABPA (20; 39; 40), der Nachweis von aA-IgG zeigt hier hohe Sensitivität und Spezifität (20). Für die Verwendung zur Vorhersage oder Diagnose der IA gibt es aktuell keine Empfehlungen (25). Ältere Untersuchungen zeigten sogar, dass aA-IgG bei immunsupprimierten Patienten häufig nicht nachgewiesen werden können (41; 42).

Die Methoden zur Bestimmung der Antikörper sind dabei sehr unterschiedlich und reichen von der Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen in Gelen über Counterimmunelektrophorese (CIE) bis zu ELISA (20). Wichtig ist dabei die Unterscheidung ob ein Test standardisiert ist und wie er ausgewertet wird. So werden CIE und Immunoblot-Verfahren visuell ausgewertet wohingegen ELISA-Kits automatisiert durchgeführt und über ein Spektrometer ausgewertet werden (20). Bei den Antikörpertests handelt es sich häufig um interne Assay, welche einen Vergleich der Ergebnisse erschweren (16; 24). Doch selbst kommerzielle Tests sind nur bedingt miteinander vergleichbar. Es unterscheiden sich zum Teil die Einheiten des Ergebnisses. Zudem zeigten vergleichende Untersuchungen, dass unterschiedliche Test beim Vermessen derselben Probe zu unterschiedlichen Ergebnissen führten (39; 21).

5.1.4. Diagnostisches Vorgehen gemäß Leitlinie

Aufgrund der oben beschriebenen Eigenschaften und Einschränkungen der diagnostischen Maßnahmen empfiehlt die „Arbeitsgemeinschaft Infektionen in der Hämatologie und Onkologie“ eine Diagnostik aus Bildgebung (möglichst CT) und Bronchoskopie. Ist eine Bronchoskopie nicht durchführbar, etwa aufgrund einer

EINLEITUNG

Thrombozytopenie, soll auf Grundlage der Bildgebung eine empirische Therapie gestartet werden. Weitere diagnostische Prozeduren können durchgeführt werden, bleiben in ihrem Stellenwert jedoch hinter der Bildgebung oder einer invasiven Diagnostik (29).

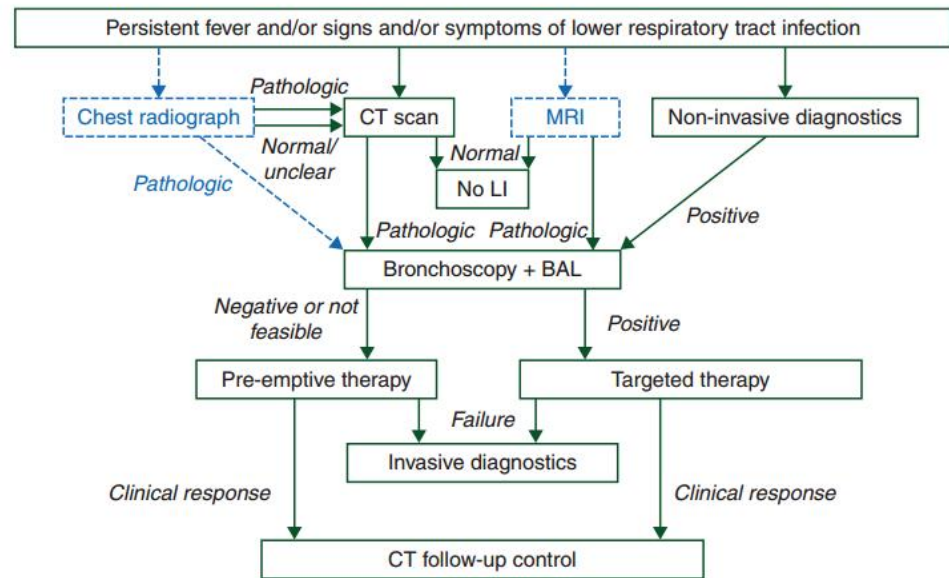


Figure 1. Diagnostic procedures and treatment of neutropenic patients with fever and suspected or proven lung infiltrates.

Abbildung 5-2: Empfehlung zum Vorgehen bei Verdacht auf Infiltrate der Lunge; entnommen aus (29).

5.2. Erregerspektrum und Prophylaxe

Das Erregerspektrum, besonders der invasiven Mykosen, variiert sehr stark abhängig von der Erkrankung des Patienten. In einer Arbeit konnte gezeigt werden, dass invasive *Aspergillus*-Infektionen bei Patienten mit hämatologischen Erkrankungen und speziell HSCT mit Häufigkeiten von ca. 50% eine entscheidende Rolle spielen (**Abbildung 5-3**), wohingegen bei nicht hämatologischen Erkrankungen *Aspergillus* ssp. nur eine sehr untergeordnete Rolle spielen (43). Dieser Effekt wird vermutlich durch die bei diesem Krankheitsbild sehr lange Neutropenie der Patienten sowie (früher) dem Einsatz von Fluconazol zur Primärprophylaxe bei hämatologischen Patienten gegen *Candida*-Arten hervorgerufen. Durch die Primärselektion von Nicht-*Candida*-Arten können sich diese im hämatologischen Patientenkollekt häufiger ausbreiten (44).

EINLEITUNG

Aufgrund der hohen Letalität und der erschwerten Diagnose wird bei Hochrisikopatienten häufig eine antimykotische Prophylaxe verabreicht (3; 45; 46). Durch die Einführung der antimykotischen Prophylaxe mit Fluconazol wurde die Inzidenz der invasiven Candidose deutlich gesenkt (44), im Gegenzug stieg jedoch der Anteil der Aspergillosen (43). Durch die Behandlung entstehen zudem andere Probleme wie unerwünschte Arzneimittelwirkungen, Arzneimittelinteraktionen und steigende Arzneimittelkosten.

N. Azie et al. / Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 73 (2012) 293–300

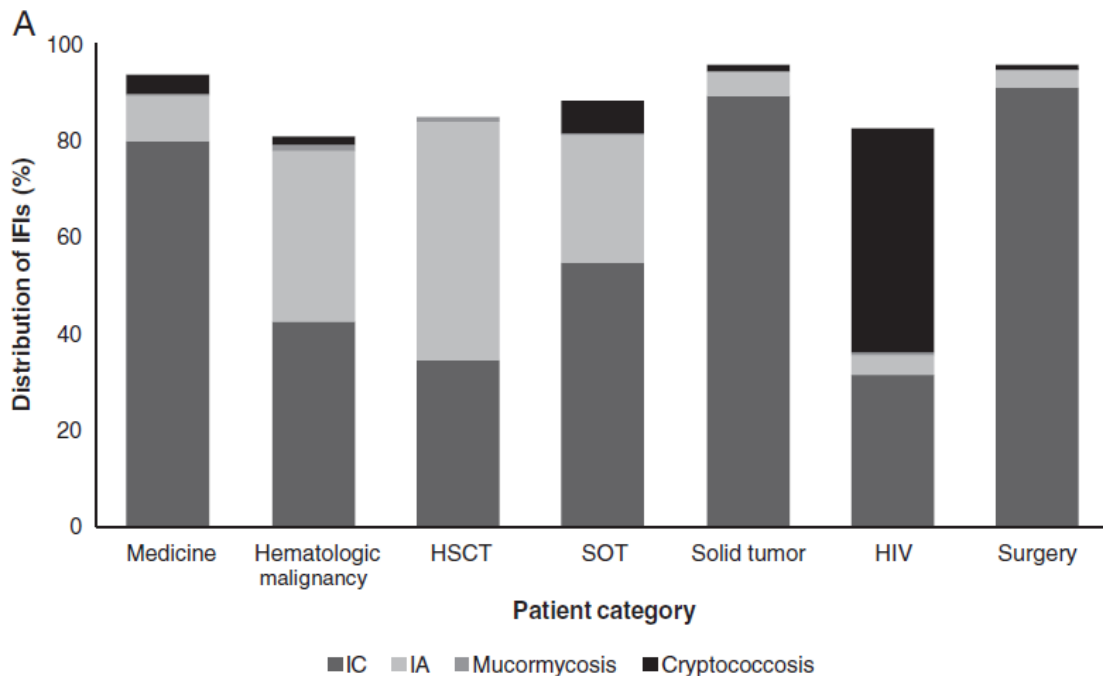


Abbildung 5-3: Erregerspektrum der invasiven Pilzinfektionen in Abhängigkeit von der Erkrankung; SOT: Solid organ transplantation; entnommen aus (43).

Ein weiteres Problem sind die regionalen Unterschiede im Erregerspektrum. Wir gehen in unserem Setting von einem vergleichbaren Erregerspektrum mit dem der Vergleichspublikationen aus. Es konnte jedoch bereits gezeigt werden, dass das Erregerspektrum sich im intensivmedizinischen Setting durchaus innerhalb der USA oder zwischen EU und USA merklich unterscheiden kann (47). In einer Studie von Vincent et al. zeigen sich auch Unterschiede in der Häufigkeit von IA zwischen Nordamerika, West- und Osteuropa (**Tabelle 1**).

EINLEITUNG

Tabelle 1: Infektionsraten und Organismen bei Intensiv-Patienten nach geografischen Regionen; Auszug aus (47)

	Alle	West- Europa	Ost- Europa	Zentral- /Süd- amerika	Nord- amerika	Ozeanien	Afrika	Asien
Infektionen insgesamt (%)	7087 (51.4)	3683 (49)	426 (56.4)	1290 (60.3)	607 (48.4)	285 (48.2)	89 (46.1)	707 (52.6)
<i>Candida</i> (%)	843 (17)	495 (18.5)	66 (18.5)	92 (12.8)*	83 (18.2)	26 (12.7)	6 (11.1)	75 (15.7)
<i>Aspergillus</i> (%)	70 (1.4)	44 (1.6)	1 (0.3)	5 (0.7)	12 (2.6)	3 (1.5)	0	5 (1)
Andere Pilze (%)	50 (1)	22 (0.8)	5 (1.4)	7 (1)	10 (2.2)	2 (1)	0	4 (0.8)

* signifikant gegen Westeuropa

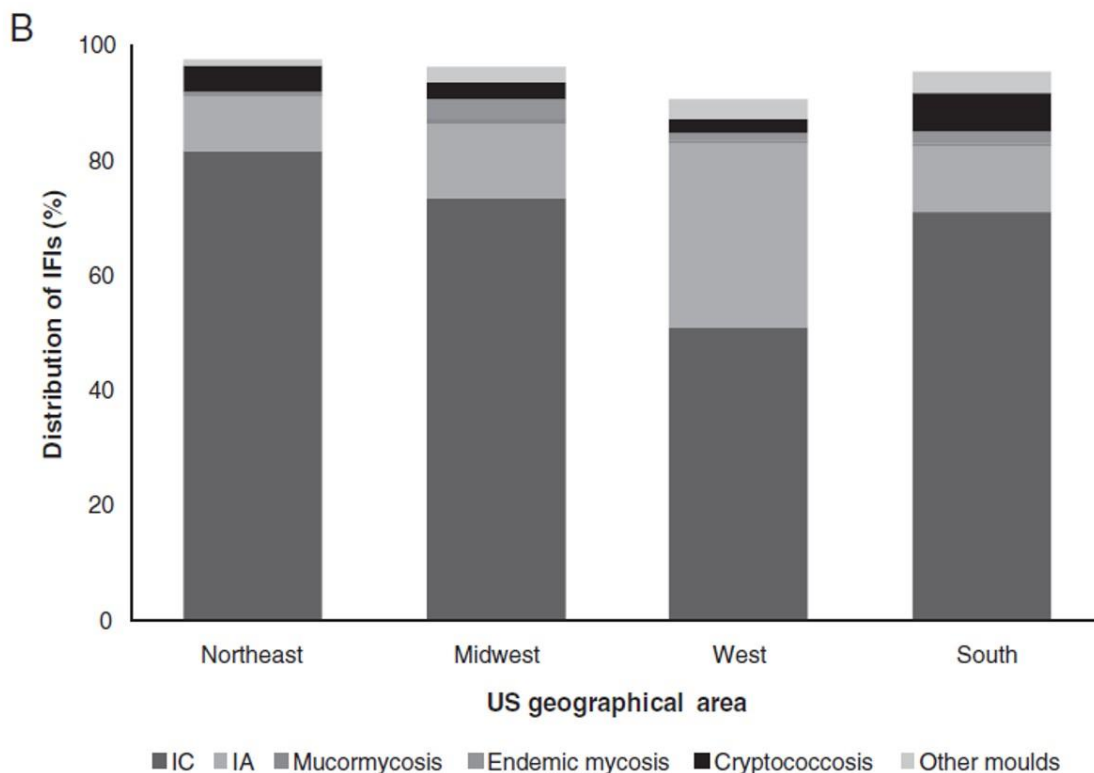


Abbildung 5-4: Erregerspektrum der invasiven Pilzinfektionen in Abhängigkeit von der Region; entnommen aus (43).

Abbildung 5-3, Abbildung 5-4 sowie **Tabelle 1** zeigen anschaulich, dass sich das Erregerspektrum nach Region und Krankheitsbild zum Teil stark verändert und sich besonders im Bereich der Mykosen Ergebnisse aus anderen Regionen oder mit anderen Patientengruppen unter Umständen nicht übertragen lassen. Speziell für das

hämatologische Setting oder gar Transplantationspatienten stehen vergleichbare Daten wie in **Tabelle 1** unseres Wissens nicht zur Verfügung.

5.3. Risikofaktoren

Die Hauptrisikofaktoren für invasive Pilzkrankungen sind Neutropenie >10 Tage, allo-HSCT, Glukokortikoidtherapie über mehr als 3 Wochen in Dosierungen von mehr als 0,3 mg/kg/Tag Prednisolonäquivalent und Behandlung mit T-Zelldepletion (25). Zusätzliche Risikofaktoren sind Graft-versus-Host-Reaktion (GvHD) (6) und Infektionen mit beziehungsweise Reaktivierung des Zytomegalievirus (CMV) (5), wohingegen andere Autoren keine Korrelation zwischen dem Auftreten von CMV und invasiven Pilzkrankungen (IFD) fanden (1). Insgesamt haben Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (4) sowie Patienten, die eine allogene Stammzelltransplantation erhalten, ein deutlich erhöhtes Risiko (48).

Risikofaktoren für Letalität durch IA bei Patienten nach HSCT bestehen durch die verzögerte Diagnose (6), HLA-mismatch ($p < 0,0001$ (1)), nicht myeloablativer Konditionierung ($p = 0,05$ (1)), Hyperbilirubinämie ($> 6,5$ mg/dl, $p = 0,03$ (1)), erhöhte Kreatinin-Spiegel ($> 2,5$ mg/dl (1)), Glukokortikoidtherapie in Dosierungen > 2 mg/kg Prednisolonäquivalent pro Tag (1), disseminierte IA ($p < 0,0001$ (1)) und spätes Auftreten der IA (> 40 Tage nach HSCT) ($p = 0,02$ (1)). Die Wahrscheinlichkeit 30 Tage, 90 Tage und 1 Jahr nach Diagnose der IA zu überleben wurde von 1990-2001 zu 2002-2004 signifikant verbessert: 30 Tage: 69% versus 33% ($p < 0,0001$), 90 Tage: 44% versus 22% ($p < 0,0001$) und 1 Jahr: 28% versus 13% ($p < 0,0001$) (1). In einer aktuellen Leitlinie wird die Letalität mit 30-60% angegeben (45).

6. ZIEL DIESER ARBEIT UND FRAGESTELLUNG

Thema dieser Arbeit ist die Untersuchung, ob eine Besiedlung oder latente Infektion mit *Aspergillus ssp.* zu einem erhöhten Auftreten von IA nach allo-HSCT führt. Da der direkte Nachweis von *Aspergillus ssp.* wie vorab beschrieben nur selten gelingt (6), haben wir in unserer Untersuchung einen Test auf aA-IgG verwendet, mit der Hypothese, dass eine Besiedlung des Patienten zu häufigem Antigen-Kontakt führt, der in einem erhöhten aA-IgG-Wert resultiert. Die Studie soll untersuchen, ob die Bestimmung der aA-IgG-Aktivität im Serum vor allo-HSCT als prädiktiver Marker für das Auftreten von IA unter allo-HSCT dienen kann.

Bestärkt durch frühere Ergebnisse von aA-IgG-Bestimmungen bei HSCT-Patienten (24), wollten wir einen kommerziell verfügbaren und standardisierten Test in einer großen Patientengruppe nutzen. Zu diesem Zweck untersuchten wir in einer prospektiven Beobachtungsstudie an unserer Klinik Blutproben von HSCT-Patienten mit dem Test-Kit Platelia® *Aspergillus* IgG zur Bestimmung der aA-IgG. Der Test wird von der Firma Bio-Rad Laboratories GmbH vertrieben. Der Platelia® *Aspergillus* IgG Test zeigte in vorangegangenen Studien bei immunkompetenten Patienten mit nicht invasiver Aspergillose oder IA bereits gute Ergebnisse beim Nachweis von aA-IgG-Aktivität (21; 49).

Es ergaben sich folgende Fragestellungen:

- 1) Ist ein Nachweis von erhöhten aA-IgG-Titer mit einer erhöhten Inzidenz von invasiver Aspergillose nach allo-HSCT assoziiert? Da sich der Grenzwert für den Test auf immunkompetente Patienten bezieht wurde zusätzlich eine ROC-Analyse durchgeführt, um die Plausibilität des Grenzwerts zu überprüfen.
- 2) Kann der Test eine asymptomatische Besiedlung oder latente Infektion der Patienten identifizieren? Zu diesem Zweck wurden die Ergebnisse des aA-IgG-Tests mit den Erkenntnissen aus der Anamnese verglichen.
- 3) Wie verhält sich der aA-IgG-Wert während der allo-HSCT und auftretender IA?

7. METHODEN

7.1. Studiendesign und -material

Die Studie ist als prospektive, single-center Beobachtungsstudie angelegt. Das Personal der Station wurde für die Testergebnisse verblindet. Die Studie wurde von der lokalen Ethikkommission genehmigt (EA2/030/12). Alle Studienteilnehmer gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme an der Studie. Blutproben wurden wöchentlich während des Aufenthalts bis zur Entlassung des Patienten genommen.

Die Proben wurden bis zur Auswertung bei -80°C gelagert. Der Test wurde in Chargen durchgeführt, um eine möglichst geringe Abweichung der Ergebnisse, bedingt durch inter-operator-Variabilität, zu erreichen. Die Proben wurden unter Verwendung von Platelia® *Aspergillus* Ag - #62794 und Platelia® *Aspergillus* IgG - #62783 der Firma Bio-Rad Laboratories GmbH auf *Aspergillus*-Antigen (Asp-Ag) und *Aspergillus*-IgG (aA-IgG) getestet. *Aspergillus*-Antigen-Ergebnisse galten als positiv wenn der OD-Index $\geq 0,5$ ergab. Der Hersteller deklariert den aA-IgG-Test als positiv, wenn das Ergebnis ≥ 5 AU/ml überschreitet. Dieser Wert gilt jedoch für immunkompetente Patienten und wurde daher von uns auf seine Verwendbarkeit überprüft (siehe **8.1 Blutproben und Patienteneigenschaften**). Der Asp-Ag-Test dient als Kontrollwert zur Bewertung des Outcomes (siehe **7.5 Outcome**). Für die Untersuchung des Verlaufs des aA-IgG wurden alle Proben auf aA-IgG geprüft. Für die Bewertung der Fragestellungen 1) und 2) wurde nur der jeweils erste gemessene Wert vor der allo-HSCT verwendet.

7.2. Studienpatienten und Materialgewinnung

Aufgrund fehlender Studien zur Verwendung von aA-IgG-Tests mittels Platelia® *Aspergillus* IgG bei allo-HSCT-Patienten und den schwankenden Angaben zur Inzidenz der IA, konnten wir keine Berechnungen zur Stichprobengröße vornehmen. Wir wählten daher einen Umfang von mindestens 100 auswertbaren Patienten, um klinisch aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Zur Datenerhebung wurden alle Patienten im Zeitraum 1.9.2012 – 31.5.2013 rekrutiert. Insgesamt wurden während dieses Zeitraums 113 Patienten zur allo-HSCT auf der Station aufgenommen. 9 Patienten wurden von der Auswertung ausgeschlossen, da weniger als 3 Blutproben zur Analyse zur Verfügung standen und eine Beurteilung des Verlaufs gemäß den Vorgaben nicht möglich war (siehe **7.5 Outcome**). Die Primärdaten wurden aus der elektronischen Patientenakte

METHODEN

entnommen. Die patientenbezogenen Parameter wurden aus dem COPRA System entnommen, wo alle klinischen Parameter und Anordnungen primär dokumentiert werden. Die mikrobiologischen Daten wurden anhand der Primärbefunde im SAP-System gewonnen. Alle Daten wurden mit den Angaben in den Arztbriefen abgeglichen.

7.3. Antimikrobielle Prophylaxe

Alle Patienten wurden isoliert und in einem Einbett-Zimmer mit HEPA-filtrierter Zuluft versorgt. Die Chemoprophylaxe erfolgte im Einklang mit den Vorgaben der Arbeitsgemeinschaft Infektionen (AGIHO) der DGHO (50). Die Patienten erhielten keine primäre Prophylaxe gegen Schimmelpilze. Patienten mit positiver Anamnese auf IA erhielten eine Sekundärprophylaxe mit Voriconazol. Patienten mit residualen Infiltraten der Lunge erhielten eine kontinuierliche antimykotische Behandlung gemäß der Entscheidung der/des behandelnden Ärztin/Arztes. Alle Patienten erhielten eine antimikrobielle Prophylaxe mit Ciprofloxacin, Aciclovir und oralem Amphotericin B. Die Pneumocystis-jirovecii-Prophylaxe erfolgte mit inhalativem Pentamidin und oralem Cotrimoxazol.

METHODEN

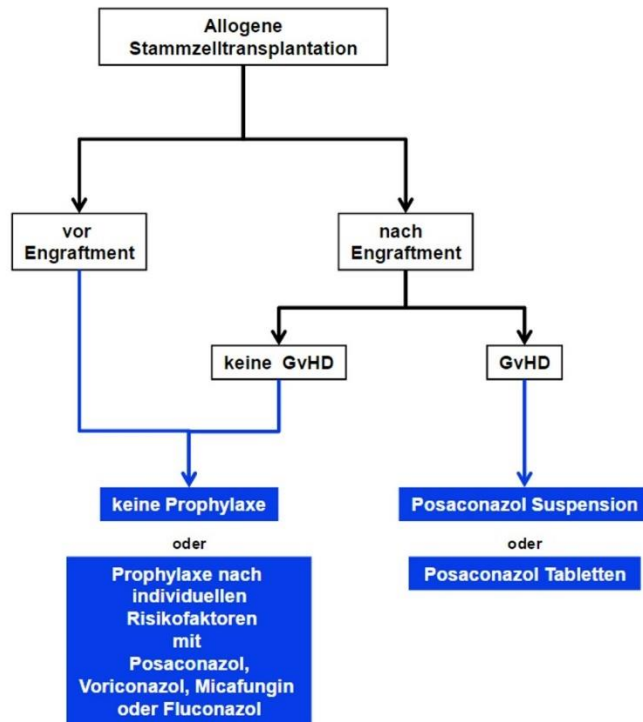


Abbildung 7-1: Fließschema zur Auswahl der Prophylaxe bei Patienten mit allo-HSCT; entnommen aus (50).

7.4. Statistische Methoden

7.4.1. Zweistichproben T-Test

Der Zweistichproben T-Test vergleicht zwei Stichproben aus normalverteilten Gesamtheiten. Die Prüfung auf Signifikanz beim Vergleich der Inzidenzen der IA erfolgten auf Grundlage des Zweistichproben T-Tests. Der Alpha-Fehler wurde auf 5% festgesetzt. Zur Prüfung der Anwendbarkeit wurde ein Test auf Normalverteilung der Testergebnisse durchgeführt.

7.4.2. Mann-Whitney U-Test

Da für die Ergebnisse des aA-IgG-Test keine Normalverteilung angenommen werden kann, wurde ein nicht parametrischer Test verwendet. Der Mann-Whitney U-Test ermittelt, ob zwei Stichproben, bei denen eine vergleichbare Form der Streuung angenommen werden kann, derselben Grundgesamtheit entstammen. Es wurde zweiseitig auf Gleichheit getestet. Der Alpha-Fehler wurde auf 5% festgesetzt.

7.4.3. Minitab

Minitab ist eine proprietäre Statistik-Software zur Berechnung und Darstellung statistischer Daten. Verwendet wurde die Version Minitab® 17.2.1 der Firma Minitab. Mit dem Programm wurde der Mann-Whitney U-Test durchgeführt.

7.4.4. R Studio

R Studio ist ein etabliertes Open Source Statistikprogramm. Mit dem Programm wurde der Test auf Normalverteilung sowie die ROC-Analyse durchgeführt.

7.4.5. ROC-Analyse

Die Receiver-Operating-Characteristics-Kurve zeigt, wie ein Grenzwert sich auf Effizienz und Fehlerrate auswirkt. Dabei wird die Sensitivität gegen die Falsch-Positivrate der möglichen Grenzwerte aufgetragen. Die Diagonale symbolisiert eine zufällige Verteilung, bei der korrekte und falsche Vorhersagen gleich häufig vorkommen. Für eine Aussage über die Qualität des gemessenen Wertes wird die Area-under-the-curve (AUC) berechnet. Ergibt die AUC 0,5 entspricht dies einer zufälligen Verteilung (51).

7.5. Outcome

Das primäre Outcome wurde definiert als mögliche, wahrscheinliche oder bewiesene Aspergillose gemäß den Vorgaben der *European Organization for Research and Treatment of Cancer / Invasive Fungal Infections cooperative group and the National Institute of Allergy and Infectious Disease Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group* (25). Die Einteilung erfolgte auf Grundlage der Patientenakte nach der Entlassung. Die Kategorisierung erfolgte durch die Studienautoren ohne Kenntnis der aA-IgG-Testergebnisse.

8. ERGEBNISSE

8.1. Blutproben und Patienteneigenschaften

571 Blutproben von 104 Patienten wurden auf aA-IgG und *Aspergillus*-Ag getestet. Für alle Patienten waren ≥ 1 Probe vor Beginn der allo-HSCT und ≥ 2 Proben nach allo-HSCT verfügbar.

Unsere Patienten waren im Alter zwischen 22-72 Jahren (Median 55 Jahre) und in der Tendenz häufiger männlich (65,4%), das Patientenkollektiv ist damit ähnlich zu denen anderer großer Zentren (1; 52). Die meisten Patienten erhielten die allo-HSCT aufgrund einer AML (n=54), waren in der ersten Remission (n=69) und in der Mehrheit wurde von HLA-identen Fremd Spendern (n=54) transplantiert. Eine Übersicht der Patienteneigenschaften ist in **Tabelle 2** aufgeführt. Die Patienten wurden myeloablativ (n=25) (TBI 6 x 2 Gy, Cyclophosphamid 2 x 60 mg/kg), mit reduzierter Intensität (n=77) (*BU/FLU* - Busulfan 2 x 4 mg/kg, Fludarabin 6 x 30 mg/m²; *FLU/MEL* - Fludarabin 3x30 mg/m², Melphalan 140 mg/m²; *FLAMSA-RIC* - Fludarabin 30 mg/m²/d, Cytarabin 2000 mg/m², Amsacrin 100 mg/m², TBI 2 x 2 Gy/d, Endoxan 50 mg/kg/d; *FLU/TBI* - TBI 4 x 2 Gy, Fludarabin 4 x 30 mg/m²), oder nicht-myeloablativ (n=2) (TBI 1 x 2 Gy, Fludarabin 3 x 30 mg/m²) behandelt. 87 Patienten erhielten Antithymozytenglobulin (ATG) zur in-vivo-T-Zellverminderung.

Während der Behandlung entwickelten 95 Patienten Temperaturen $\geq 38,3^{\circ}\text{C}$, im Median an Tag 9 nach der Transplantation. Die Leukopenie ($<1/\text{nl}$) dauerte im Median 16 Tage. Eine Zusammenfassung der klinischen Daten befindet sich in **Tabelle 3**.

ERGEBNISSE

Tabelle 2: Patienteneigenschaften

Gesamtanzahl Patienten	104
Alter	[Jahre]
Median	55
Min - Max	22-72
Geschlecht	Anzahl [%]
Weiblich - Anzahl (%)	36 (34,6)
Männlich - Anzahl (%)	68 (65,4)
Dauer des Aufenthalts	[Tage]
Median	40
Range	22-108
Diagnose	Anzahl
Akute lymphatische Leukämie	13
Akute myeloische Leukämie	54
Non-Hodgkin Lymphom	10
Multiples Myelom	6
Myelodysplastisches Syndrom	11
Chronisch myeloische Leukämie	4
Andere	6
Behandlung	Anzahl
Myeloablative Konditionierung	25
Konditionierung mit reduzierter Intensität	77
Nicht-myeloablative Konditionierung	2
Antithymozytenglobulin	Anzahl
Nein	17
Ja	87
HLA Match	Anzahl
HLA-identer Verwandter	27
HLA-identer Fremdspender	54
HLA-mismatch Fremdspender	22
Haploider Verwandter	1
Remission	Anzahl
Erste komplette Remission	69
Zweite komplette Remission	20
Keine Remission	15

ERGEBNISSE

Tabelle 3: Klinische Daten

Fieber (Temp $\geq 38,3^{\circ}\text{C} = 101^{\circ}\text{F}$)	Anzahl Patienten (Medianer Beginn [Tag])
Ja	95 (+9)
Nein	9
Auftreten der IA	Anzahl Patienten
Keine invasive Aspergillose	89
Mögliche invasive Aspergillose	9
Wahrscheinliche invasive Aspergillose	6
Bewiesene invasive Aspergillose	0
Auftreten der IA bei Patienten ohne antimykotische Prophylaxe	Anzahl Patienten
Keine invasive Aspergillose	56
Mögliche invasive Aspergillose	4
Wahrscheinliche invasive Aspergillose	3
Bewiesene invasive Aspergillose	0
Dauer der Leukopenie $<1/nl$	Tage
Min	10
Median	16
Max	55
Akute GvHD	Anzahl Patienten
Keine	71
Grad I	21
Grad II	10
Grad III	1
Grad IV	1
Tag der Diagnose GvHD	Tag nach der allo-HSCT
Frühester	5
Median	20
Spätester	58
Glukokortikoidtherapie (Prednisolonäquivalent) [mg/kg/d]	Anzahl Patienten
Keine	74
$< 0,5\text{mg}$	0
$\geq 0,5\text{mg}$	2
$\geq 1\text{mg}$	28

8.2. Anamnese der IA und Inzidenz der IA

Die Gesamtinzidenz der möglichen, wahrscheinlichen oder bewiesenen IA während des Aufenthalts lag bei 10%, 6% und 0% (**Abbildung 8-1**).

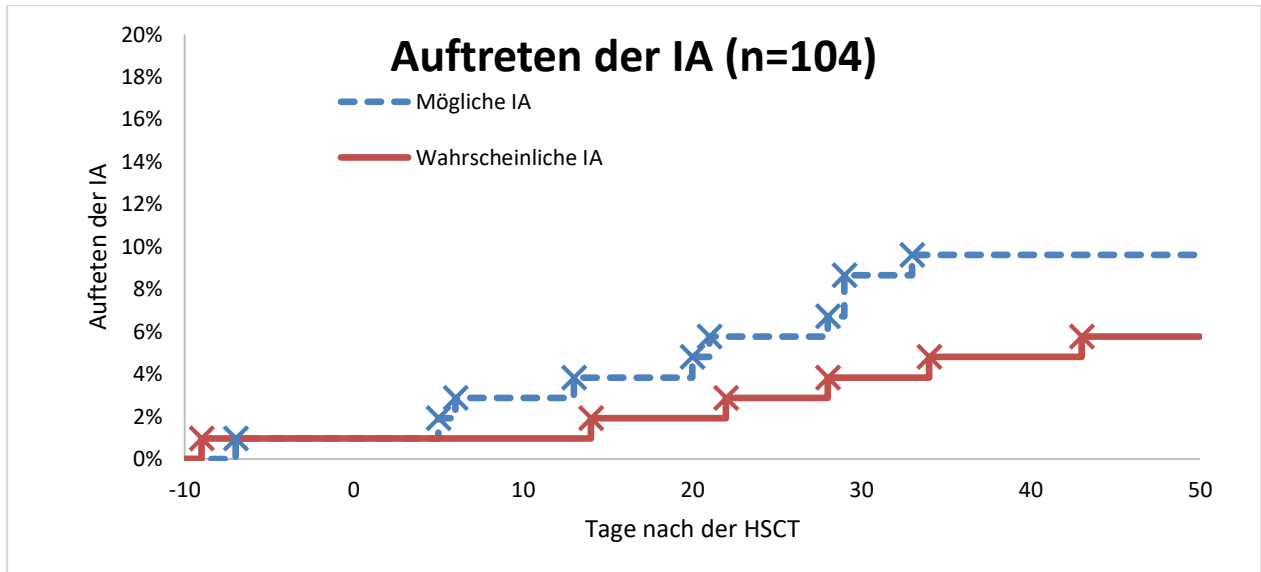


Abbildung 8-1: Auftreten von möglicher und wahrscheinlicher IA während der Behandlung. Bei keinem der Patienten konnte eine IA bewiesen werden.

Patienten ohne Anamnese einer IA vor der allo-HSCT erhielten keine primäre Prophylaxe gegen Schimmelpilze. Bei Patienten ohne Anamnese einer IA (n=63) lag die Inzidenz für mögliche, wahrscheinliche oder bewiesene IA während des Aufenthalts bei 6%, 5% und 0% (**Abbildung 8-2**). In der Gruppe der Patienten mit positiver Anamnese der IA vor der HSCT (n=41) lag die Inzidenz der möglichen, wahrscheinlichen oder bewiesenen IA während des Aufenthalts bei 14%, 7% und 0% (**Abbildung 8-3**). Der Unterschied der Inzidenz der IA nach allo-HSCT zwischen Patienten mit und ohne präexistente invasive Aspergillose in der Krankengeschichte war nicht statistisch signifikant (p=0,286).

ERGEBNISSE

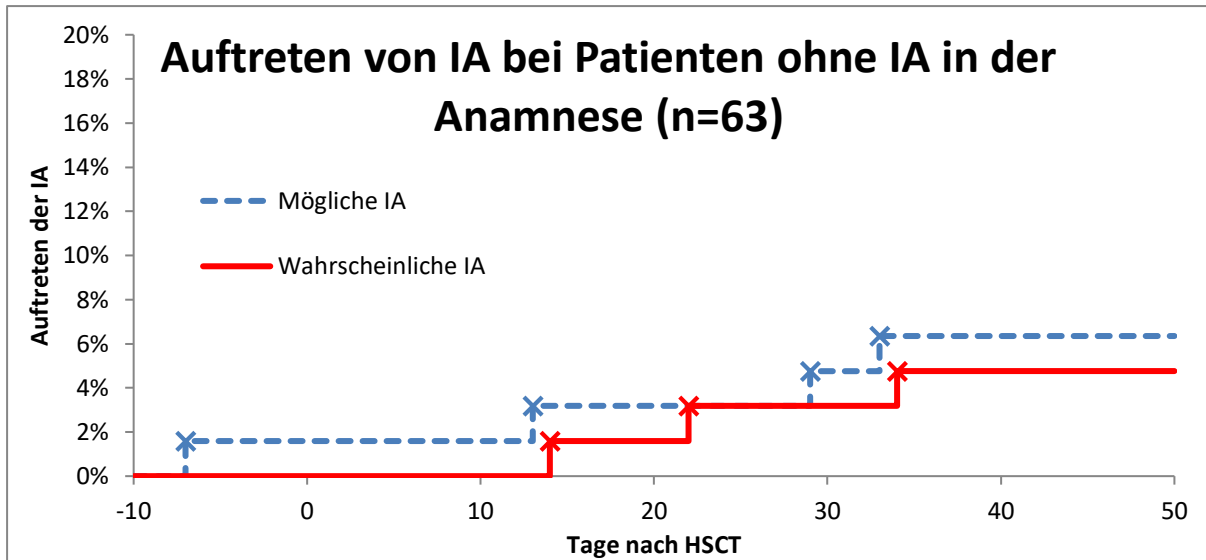


Abbildung 8-2: Inzidenz der möglichen und wahrscheinlichen IA während der Behandlung bei Patienten ohne IA in der Anamnese. Bei keinem der Patienten konnte eine IA bewiesen werden.

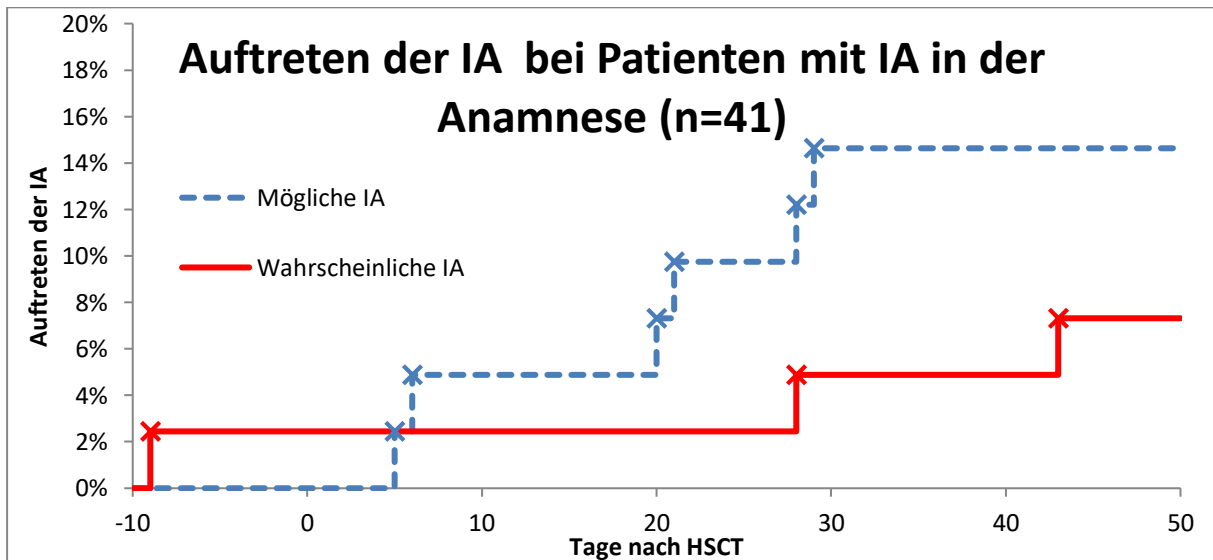


Abbildung 8-3: Inzidenz der möglichen und wahrscheinlichen IA während der Behandlung bei Patienten mit IA in der Anamnese. Diese Patienten erhielten eine Sekundärprophylaxe mit Voriconazol. Bei keinem der Patienten konnte eine IA bewiesen werden.

ERGEBNISSE

Die Häufigkeit der IA bei Patienten mit reduzierter Intensität der Konditionierung und Patienten mit myeloablativer Konditionierung unterschieden sich nicht signifikant ($p=0,51$). Bei Patienten mit reduzierter Intensität der Konditionierung ($n=77$) lag die Inzidenz der möglichen, wahrscheinlichen oder bewiesenen IA während des Aufenthalts bei 9%, 5% und 0%. Bei allo-HSCT-Patienten mit myeloablativer Konditionierung ($n=25$) lag die Inzidenz der möglichen, wahrscheinlichen oder bewiesenen IA während des Aufenthalts bei 12%, 8% und 0%.

8.3. Vorhersage der IA anhand der aA-IgG-Werte

Wir untersuchten, ob anhand der aA-IgG-Werte vor der allo-HSCT eine Vorhersage über das Auftreten der IA während und nach der allo-HSCT getroffen werden kann. Der Cut-Off-Wert des Tests von ≥ 5 AU/ml gilt für die nichtinvasive Aspergillose bei immunkompetenten Personen, daher wird im Folgenden die Verwendbarkeit dieses Grenzwertes überprüft.

Wir fanden keinen signifikanten Unterschied bei den medianen aA-IgG-Werten vor der allo-HSCT zwischen Patienten, die keine IA oder eine mögliche IA entwickelten ($p=0,1376$) sowie zwischen Patienten, die keine IA oder eine wahrscheinliche IA entwickelten ($p=0,9138$). (**Abbildung 8-4**).

ERGEBNISSE

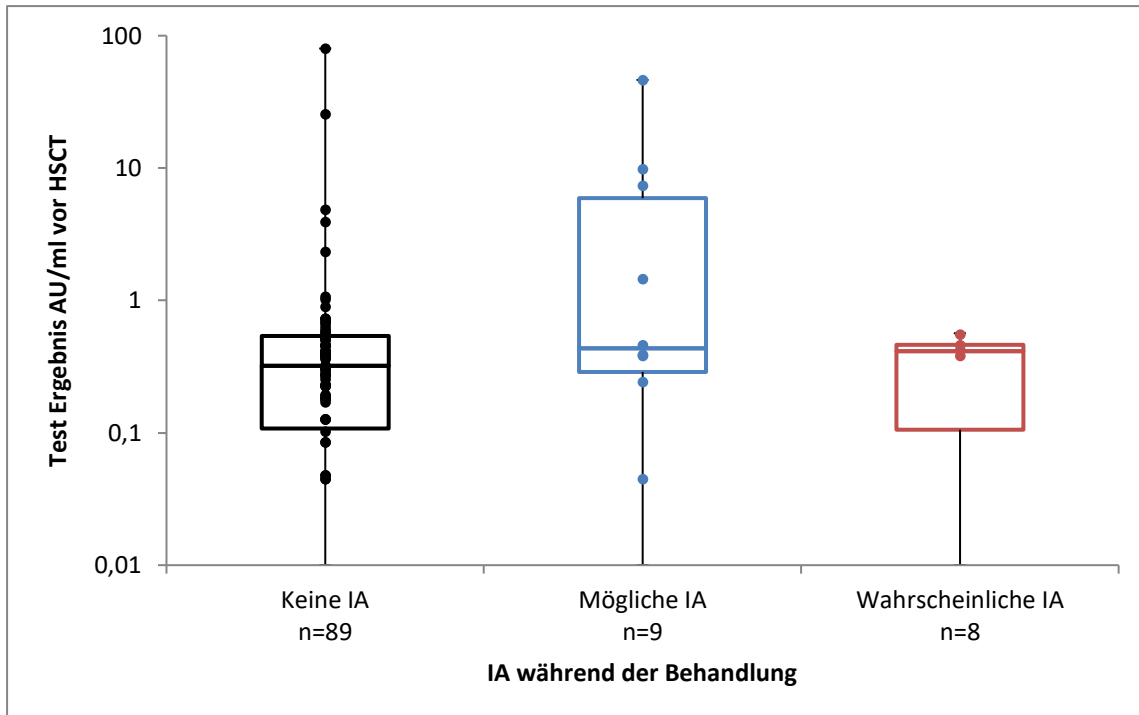


Abbildung 8-4: aA-IgG-Spiegel vor der allo-HSCT und klinisches Outcome während des Aufenthalts. Geprüft nach Mann-Whitney fanden wir keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (keine zu mögliche IA ($p=0,1376$), keine zu wahrscheinliche IA ($p=0,9138$)).

In der Gesamtpopulation ergibt sich bei erhöhten aA-IgG-Werten ($>5,0$ AU/ml) ein positiver Vorhersagewert (PPV) für eine mögliche IA von 60% (3/5) und für eine wahrscheinliche IA von 0% (0/5). Der negative Vorhersagewert (NPV) ergibt 86,9% (86/99). Die Sensitivität für eine mögliche oder wahrscheinliche IA beträgt 20% (3/15), die Sensitivität für eine wahrscheinliche IA beträgt 0% (0/6), die Spezifität beträgt 96,6% (86/89).

8.3.1. Überprüfung des Cut-Off

Bei Patienten ohne IA in der Anamnese ergibt sich bei erhöhten aA-IgG-Werten ($>5,0$ AU/ml) ein positiver Vorhersagewert (PPV) für eine mögliche IA von 100% (2/2) und wahrscheinlicher IA von 0% (0/2). Der negative Vorhersagewert (NPV) ergibt 91,8% (56/61). Die Sensitivität für mögliche oder wahrscheinliche IA beträgt 28,5% (2/7), die Sensitivität für wahrscheinliche IA beträgt 0% (0/3), die Spezifität beträgt 100% (56/56). Bedingt durch die geringe Sensitivität haben wir zudem PPV, NPV, Sensitivität und

ERGEBNISSE

Spezifität mit einem geringeren Grenzwert ($>1,0$ AU/ml) ermittelt, was jedoch nicht zu einer Verbesserung des PPV und NPV führte.

Da die Testergebnisse sehr dicht beisammen liegen und da der Grenzwert des *Aspergillus*-IgG-Tests für immunkompetente Patienten entwickelt wurde, wurde im nächsten Schritt der Grenzwert überprüft. Eine ROC-Analyse wurde durchgeführt, um einen idealen Grenzwert für die Unterscheidung der Gruppen zu finden. Die ROC-Analyse zeigte keine Vorteile gegenüber einer zufälligen Vorhersage (**Abbildung 8-5**, AUC 0,53). Es konnte daher kein geeigneter Grenzwert bestimmt werden.

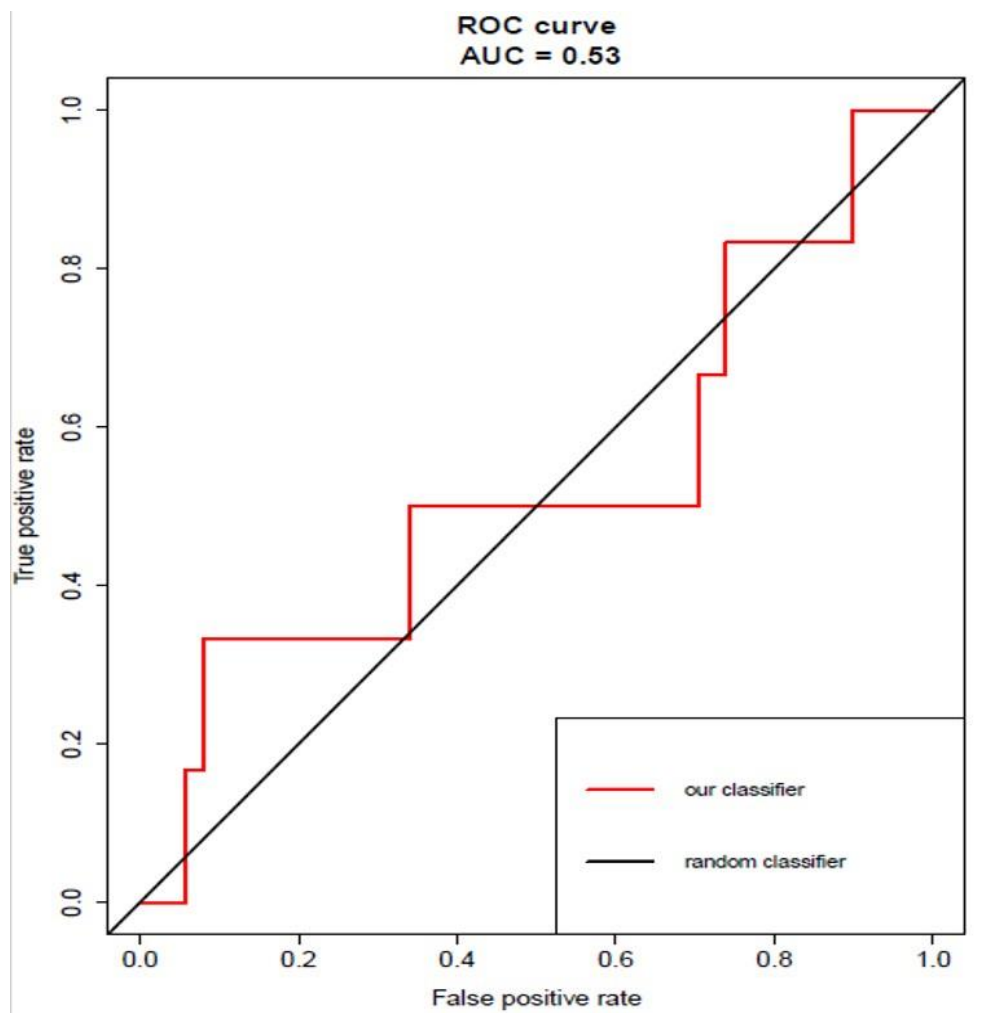


Abbildung 8-5: ROC-Kurve mit AUC

8.3.2. Subgruppe ohne antimykotische Prophylaxe

Wir analysierten die aA-IgG-Werte und das klinische Outcome von 63 Patienten ohne Fälle von IA in der Anamnese, da diese Patienten ohne *Aspergillus* wirksame

ERGEBNISSE

antimykotische Prophylaxe behandelt wurden. Wir fanden keinen Unterschied der aA-IgG-Werte bei Patienten mit wahrscheinlicher oder ohne IA (**Abbildung 8-6**). Vor der allo-HSCT hatten Patienten mit wahrscheinlicher IA einen medianen aA-IgG-Wert von 0,382 AU/ml, Patienten mit möglicher IA hatten einen medianen Wert von 3,899 AU/ml und Patienten ohne IA während des Aufenthalts hatten einen medianen Wert von 0,338 AU/ml. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede bei den medianen aA-IgG-Werten vor der allo-HSCT zwischen Patienten, die keine IA oder eine mögliche IA entwickelten ($p=0,1063$) sowie zwischen Patienten die keine IA oder eine wahrscheinliche IA entwickelten ($p=0,6663$). (**Abbildung 8-6**).

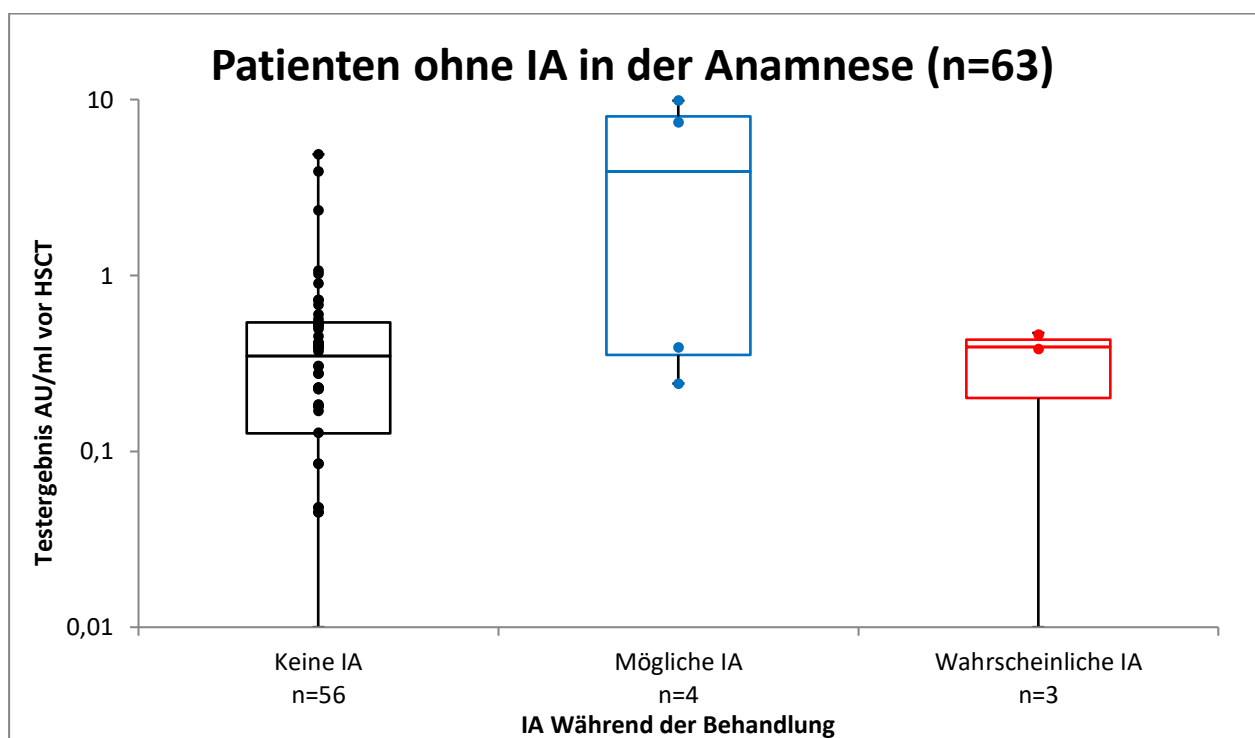


Abbildung 8-6: aA-IgG-Werte vor allo-HSCT und klinisches Outcome während des Aufenthalts von Patienten ohne primäre Prophylaxe gegen Schimmelpilze. Geprüft nach Mann-Whitney fanden wir keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (keine zu mögliche IA ($p=0,1063$), keine zu wahrscheinliche IA ($p=0,6663$)).

8.3.3. Subgruppe mit antimykotischer Prophylaxe

Im nächsten Schritt haben wir überprüft, ob aA-IgG-Werte einen prädiktiven Wert für das Auftreten von IA bei Patienten mit IA in der Anamnese haben. Bei diesen Patienten wurde Voriconazol zur sekundären antimykotischen Prophylaxe verabreicht. Auch in dieser

ERGEBNISSE

Gruppe fanden wir keinen Zusammenhang zwischen aA-IgG-Werten und dem Auftreten von IA unter allo-HSCT. Der mediane aA-IgG-Wert vor der allo-HSCT mit wahrscheinlicher IA lag bei 0,425 AU/ml, bei Patienten mit möglicher IA bei 0,421 AU/ml und bei Patienten ohne Anzeichen einer IA bei 0,304 AU/ml. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede bei den medianen aA-IgG-Werten vor der allo-HSCT zwischen Patienten, die keine IA oder eine mögliche IA entwickelten ($p=0,4233$) sowie zwischen Patienten, die keine IA oder eine wahrscheinliche IA entwickelten ($p=0,8597$). (Abbildung 8-7)

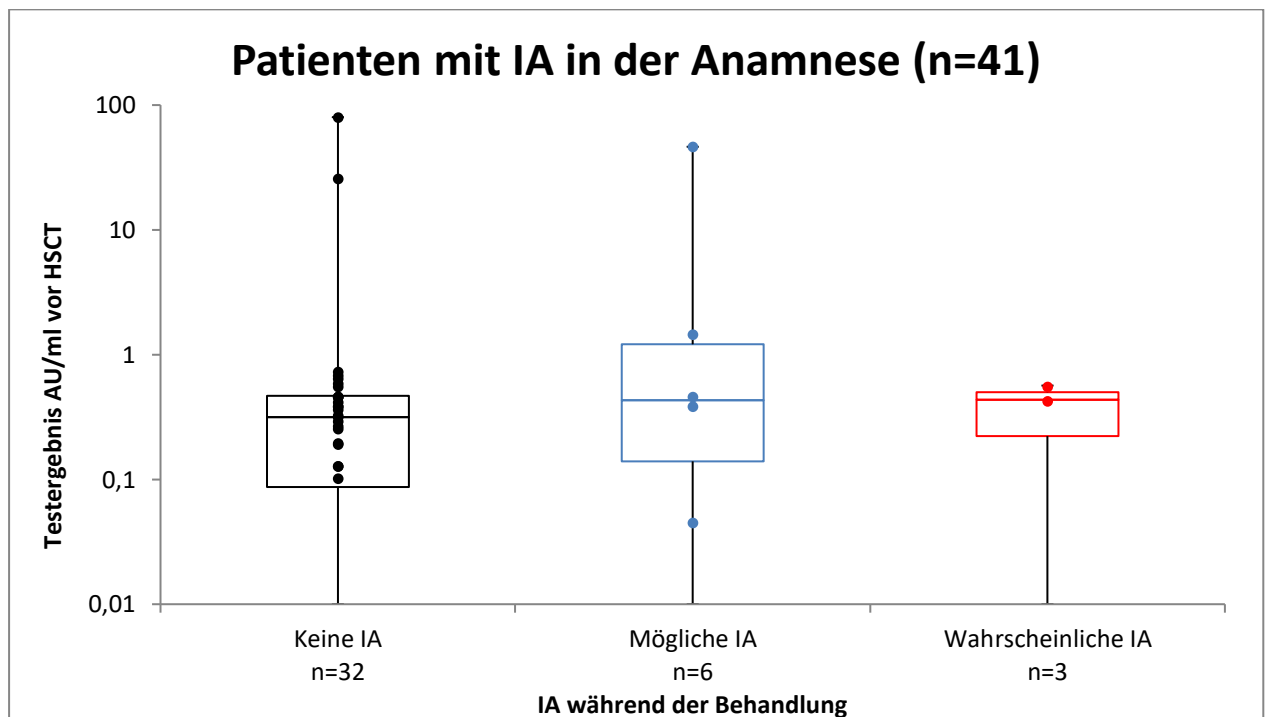


Abbildung 8-7: Anti-Aspergillus-IgG-Werte vor der allo-HSCT und klinisches Outcome während des Aufenthalts von Patienten mit IA in der Anamnese. Geprüft nach Mann-Whitney fanden wir keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (keine zu mögliche IA ($p=0,4233$), keine zu wahrscheinliche IA ($p=0,4161$)).

8.4. aA-IgG-Werte bei Patienten mit IA in der Anamnese

Aufgrund der geringen Aussagekraft der aA-IgG-Werte überprüften wir den Einfluss einer IA in der Vorgeschichte auf die aA-IgG-Werte. Dafür wurden aA-IgG-Werte und die Angaben aus der Anamnese miteinander verglichen. Dabei fiel auf, dass sich bei allen Patienten, mit oder ohne IA in der Anamnese, ähnliche aA-IgG-Werte zeigten

ERGEBNISSE

(**Abbildung 8-8**). Patienten mit wahrscheinlicher oder bewiesener IA hatten mediane aA-IgG-Werte von 0,370 AU/ml, Patienten mit möglicher IA in der Anamnese hatten mediane aA-IgG-Werte von 0,383 AU/ml und bei Patienten ohne IA in der Anamnese lagen die medianen Werte bei 0,361 AU/ml. Patienten mit IA in der Anamnese hatten also keine erhöhten aA-IgG-Werte im Vergleich zu Patienten ohne IA in der Anamnese. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den medianen aA-IgG-Werten vor der allo-HSCT zwischen Patienten ohne IA in der Anamnese oder mit möglicher IA in der Anamnese ($p=0,7331$) sowie zwischen Patienten ohne IA in der Anamnese oder mit wahrscheinlicher oder bewiesener IA in der Anamnese ($p=0,4101$).

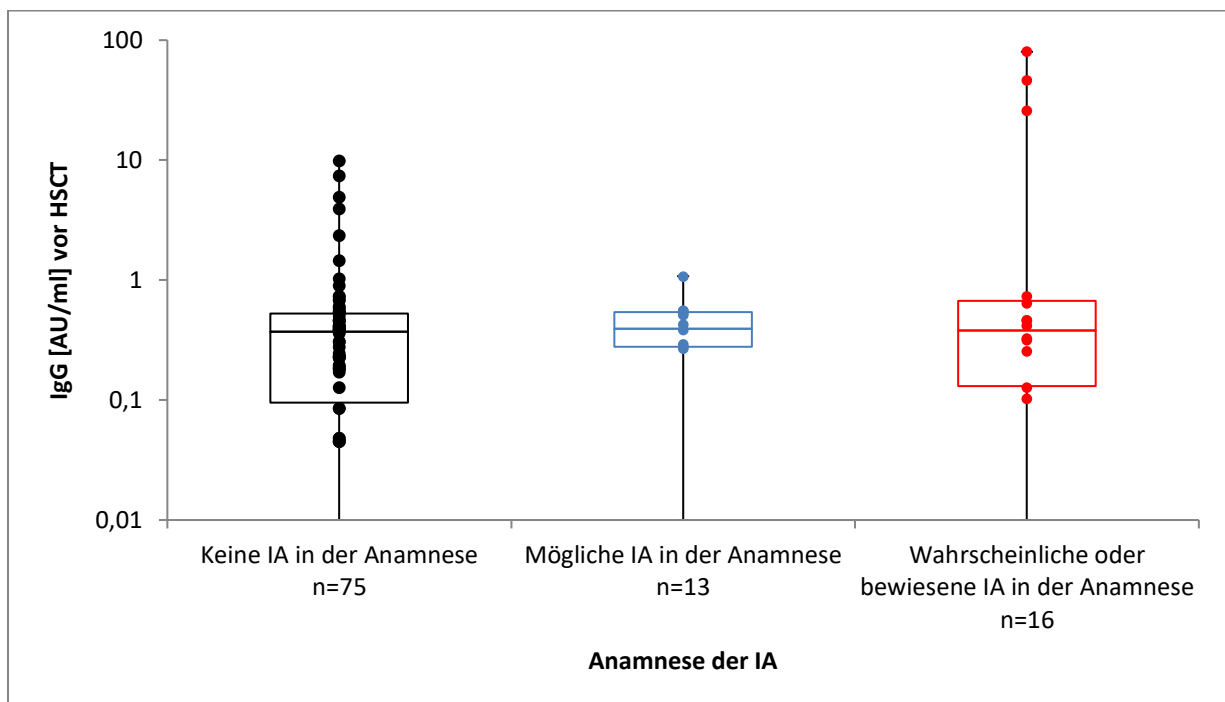


Abbildung 8-8: Anti-Aspergillus-IgG-Werte von allo-HSCT Patienten in Abhängigkeit zur Anamnese. Geprüft nach Mann-Whitney fanden wir keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen (keine zu mögliche IA ($p=0,7331$), keine zu wahrscheinliche IA ($p=0,4101$)).

8.5. Kinetik der aA-IgG-Werte nach allo-HSCT

Serum-aA-IgG-Werte wurden fortlaufend nach der allo-HSCT gemessen. **Abbildung 8-9** zeigt den Verlauf der aA-IgG-Werte der sieben Patienten mit den höchsten aA-IgG-Werten (>5 AU/ml). Fünf Patienten hatten bereits vor der allo-HSCT erhöhte aA-IgG-Werte (**Abbildung 8-9**, durchgehende Linien), zwei Patienten hatten erhöhte aA-IgG-

ERGEBNISSE

Werte nach der allo-HSCT (**Abbildung 8-9**, gestrichelte Linien). Bei den Patienten mit initial erhöhten aA-IgG-Werten zeigten sich abnehmende oder gleichbleibend niedrige Werte im Verlauf. Drei der Patienten mit initial erhöhten aA-IgG-Werten hatten in den vergangenen 2 bis 22 Monaten eine IA in der Anamnese und wurden daher mit Voriconazol zur Sekundärprophylaxe behandelt. Die zwei Patienten mit initial erhöhtem aA-IgG ohne IA in der Anamnese zeigten Anzeichen einer Pilzinfektion im CT jedoch ohne positiven *Aspergillus*-Ag-Test und wurden daher als mögliche IA kategorisiert.

Bei den Patienten mit initial niedrigem aA-IgG-Wert stieg der Wert erst nach der allo-HSCT auf >5 AU/ml (**Abbildung 8-9**, gestrichelte Linien). Klinisch waren die Patienten jedoch unauffällig und wurden daher als keine IA kategorisiert. Beide Patienten hatten keine IA in der Anamnese und erhielten keine Immunglobuline, was einen aA-IgG-Anstieg hätte erklären können.

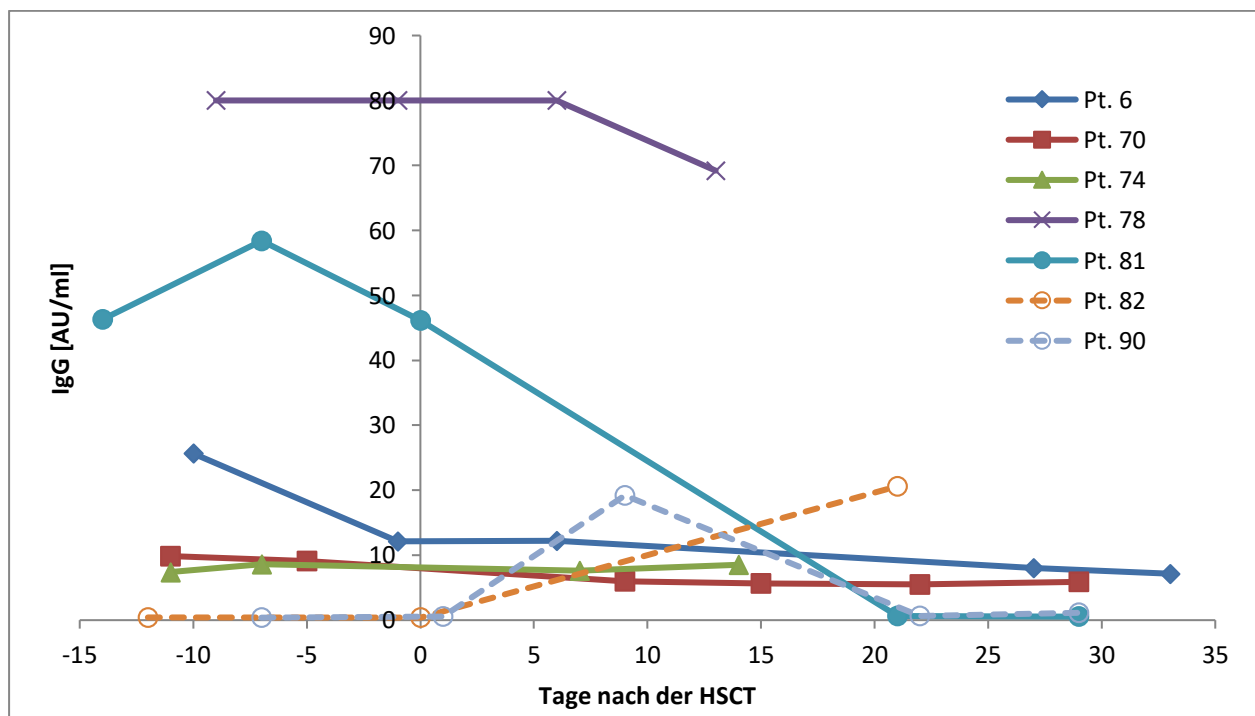


Abbildung 8-9: Anti-*Aspergillus*-IgG-Werte der Patienten, die während der Behandlung positiv auf aA-IgG getestet wurden. Bei fünf Patienten war der aA-IgG-Wert vor der allo-HSCT (durchgezogene Linien) erhöht, bei zwei Patienten stieg der aA-IgG-Wert während der Behandlung über 5 AU/ml (gestrichelte Linien).

ERGEBNISSE

Als Nächstes betrachteten wir die Patienten, die nach der Transplantation eine wahrscheinliche IA entwickelten. **Abbildung 8-10** zeigt die aA-IgG-Werteverläufe aller Patienten, die während der Behandlung eine wahrscheinliche IA entwickelten. Keiner der Patienten entwickelte im Verlauf aA-IgG-Werte >5 AU/ml.

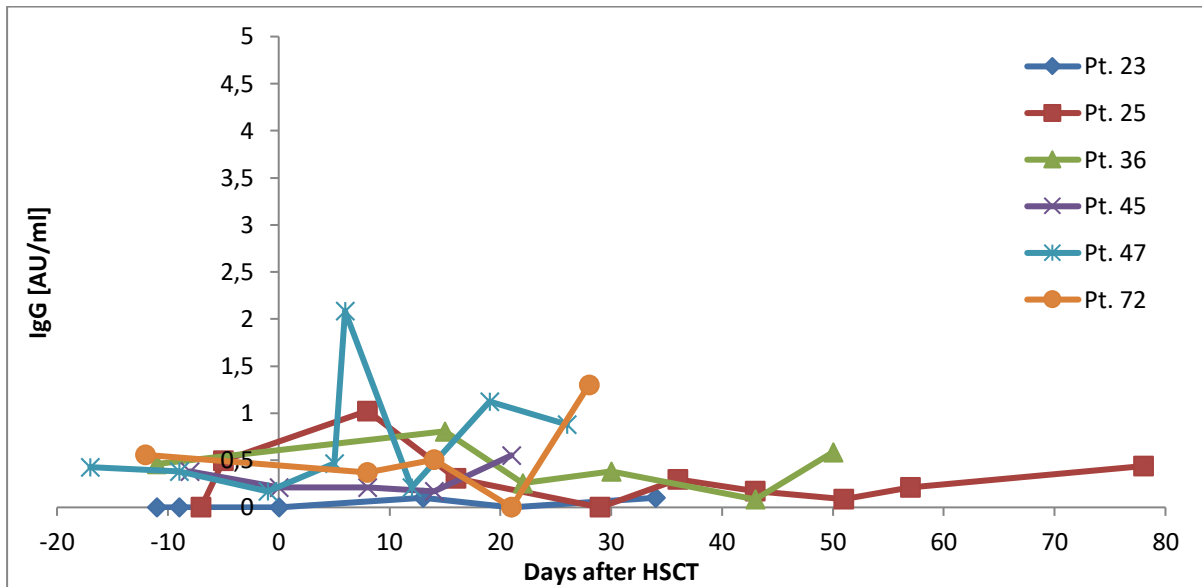


Abbildung 8-10: aA-IgG-Werte von Patienten mit wahrscheinlicher IA während der Behandlung. Die aA-IgG-Werte gelten als positiv wenn >5 AU/ml. Keiner der Patienten mit wahrscheinlicher IA hatte positive aA-IgG-Werte. Wir fanden keinen Zusammenhang zwischen dem Verlauf der aA-IgG-Werte und dem Ausbruch der IA. Die Patienten #23, #36 und #45 hatten keine IA in der Anamnese und erhielten keine antimykotische Prophylaxe.

9. DISKUSSION

Die Bestimmung von Antikörpern ist ein wichtiger Bestandteil zur Diagnostik der nichtinvasiven Aspergillose bei immunkompetenten Patienten (49; 16). Zur Bestimmung der Anti-*Aspergillus*-Immunantwort werden verschiedene Verfahren wie Immunelektrophorese, Counter-Immunelektrophorese oder Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) verwendet (49). In einer aktuellen Publikation wurden Hinweise gefunden, dass das Vorhandensein von Anti-*Aspergillus*-IgG vor der Transplantation auf das Auftreten einer IA während oder nach der allo-HSCT hindeuten kann (24). Aufgrund fehlender Standardisierung der verwendeten Tests sind die publizierten Daten jedoch nur bedingt übertragbar.

Ziel unserer Untersuchungen war es, den diagnostischen Nutzen eines Nachweises von Anti-*Aspergillus*-IgG vor allo-HSCT zur Prädiktion der IA nach allo-HSCT zu testen. Aufgrund des hohen Risikos für das Auftreten einer IA (1; 4; 6) sowie der kontrollierten Umgebungsbedingungen (8; 11), wie Luftfiltration zur Reduzierung externer Einflüsse, ist das Setting der allo-HSCT für diese Zwecke gut geeignet (7). Zur Bestimmung der aA-IgG-Werte haben wir uns für einen standardisierten und kommerziell verfügbaren Test entschieden, um eine maximale Stabilität und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu erreichen. Der Platelia® *Aspergillus* IgG-Test ist ein rekombinanter Antigen-basierter-EIA zur Bestimmung von Anti-*Aspergillus*-IgG im Serum (21). Der Test wurde wöchentlich durchgeführt. Lagen mehr als ein Testergebnis vor der allo-HSCT vor wurde nur der erste Wert berücksichtigt. Der Test auf GM diene uns als zusätzlicher diagnostischer Marker, um eine Klassifizierung des Outcomes gemäß EORTC durchführen zu können (25).

In unserem Patientenkollektiv konnten wir keinen Zusammenhang zwischen aA-IgG-Werten vor der Transplantation und dem Auftreten von IA während der Behandlung finden. Dies zeigte sich auch in der Subgruppe der Patienten ohne IA in der Anamnese. Lediglich in dieser Subgruppe wurde keine antimykotische Prophylaxe verabreicht, welche den Ausbruch einer Aspergillose hätte beeinflussen können.

Des Weiteren finden wir keinen signifikanten Unterschied der aA-IgG-Werte zwischen Patienten mit wahrscheinlicher und erwiesener IA in der Anamnese gegenüber Patienten ohne IA in der Anamnese. Dieser Punkt ist besonders interessant, weil er suggeriert, dass eine vorangegangene Infektion in diesem Patientenkollektiv keine IgG-Antwort induziert. Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen konnte jedoch bereits gezeigt werden, dass eine Besiedlung der unteren Atemwege mit *Aspergillus*-Arten bei Patienten mit

DISKUSSION

hämatologischen Krankheiten zu erhöhter Prävalenz und vermehrten Todesfällen durch invasive Pilzinfektionen führte (19; 45). So liegt auch in unserer Untersuchung die Inzidenz der möglichen und wahrscheinlichen IA trotz antimykotischer Prophylaxe bei Patienten mit IA in der Anamnese (nicht signifikant ($p=0,286$)) im Trend etwas höher als bei Patienten ohne IA in der Anamnese. Wir vermuten daher, dass ein Grund für die geringe Aussagekraft des Platelia® *Aspergillus* IgG-Tests die bei diesen Patienten reduzierte oder fehlende Fähigkeit Antikörper zu bilden ist. So kann bedingt durch das Krankheitsbild und die intensive antineoplastische Vortherapie ein Mangel an B-Zellen zu der verminderten Antikörperproduktion führen. Bei der Betrachtung des Verlaufs der aA-IgG-Werte unter der allo-HSCT zeigen die Patienten mit initial erhöhten Werten einen gleichbleibenden bis abfallenden Verlauf. Nur ein Patient, der vor der allo-HSCT einen erhöhten aA-IgG-Wert hatte, war nach der Behandlung aA-IgG negativ. Bei den Patienten #6, #70 und #74 blieb der aA-IgG-Wert in allen Proben relativ konstant >5 AU/ml. Es ist daher möglich, dass ein erhöhter aA-IgG-Wert die Chemotherapie sowie die HSCT überstehen könnte, dies müsste jedoch in weiteren Studien belegt werden.

Wie zu erwarten war, entwickeln Patienten in der Neutropenie keine Antikörperantwort auf eine akute IA. Warum es bei zwei Patienten zu einem Anstieg der aA-IgG gekommen ist konnte nicht geklärt werden, beide Patienten zeigten keine klinischen Anzeichen einer IA. Eine Nutzung des aA-IgG-Test zur Diagnose akuter IA ist daher nicht möglich.

Des Weiteren zeigte bereits eine frühere Untersuchung, dass eine Besiedlung der Lunge, im Gegensatz zu Patienten mit CPA und ABPA, im Median nicht mit einem positiven aA-IgG-Wert verbunden ist (21), eine asymptomatische Besiedlung führt also scheinbar nicht zu einem aA-IgG-Anstieg. Wie Patienten mit asymptomatischer Besiedlung einzugruppieren sind, also ob diese eine Antikörperantwort erzeugen oder nicht, wird von Kollegen unterschiedlich interpretiert, so werden sie manchmal der positiven (53) und in anderen Arbeiten der negativen (54) Kontrollgruppe zugeordnet. Unsere Erwartung war, dass eine zurückliegende IA zur Bildung von aA-IgG führt, so wie dies bei CPA-Patienten der Fall ist (Sensitivität 90-94%) (21; 22).

Es ist zudem möglich, dass die Antikörper durch den Test nicht erkannt wurden. So zeigte eine vergleichende Studie, dass ein anderes Testsystem (ImmunoCap *Aspergillus* IgG) *Aspergillus*-IgG findet, selbst wenn der Platelia IgG negativ bleibt (39). Dies begründet sich vermutlich in der unterschiedlichen Antigen-Zusammensetzung der Tests. Die geringere Nachweisgrenze geht jedoch mit einem höheren Cut-Off einher, so wurden mit beiden Test gleich viele Fälle von CPA identifiziert (Platelia *Aspergillus* IgG 85% vs.

DISKUSSION

ImmunoCap Aspergillus IgG 86%) (39). Ob ein anderer Test zu anderen Ergebnissen geführt hätte ist unklar.

Unsere Ergebnisse bei stark immunkomprimierten Patienten stehen im Gegensatz zu den bekannten Daten zur nichtinvasiven Aspergillose bei immunkompetenten Patienten, die zur Erprobung des Tests erhoben und publiziert wurden. Der Platelia® *Aspergillus* IgG-Test zeigt eine hohe Sensitivität von 90,6-93,8% und Spezifität von 99,5-100% zur Diagnose der allergischen bronchopulmonalen Aspergillose und der chronischen pulmonalen Aspergillose (21).

Unsere Ergebnisse weichen zudem von einer zuvor publizierten Arbeit ab, bei der die Immunantwort gegen 6 rekombinante *Aspergillus fumigatus*-Proteine einen prädiktiven Wert für das Auftreten von IA nach einer allo-HSCT geben konnte (24). Unsere Untersuchung unterscheidet sich jedoch von der vorangegangenen Arbeit in einigen Punkten:

- 1) Es wurden unterschiedliche Methoden zur Bestimmung der aA-IgG-Werte verwendet. In der Arbeit von Du et al. wurden 6 unterschiedliche Antigene beschrieben und separat ausgewertet. Einige der verwendeten Antigene waren auch sensibel für *Candida albicans*-Antikörper. Der Platelia® *Aspergillus* IgG-Test ist sensibel für einen oder mehrere *Aspergillus fumigatus*-Antikörper (49). Eine präzisere Charakterisierung der beiden Tests ist leider nicht möglich, da die genaue Zusammensetzung oder Durchführung jeweils nicht veröffentlicht wurde.
- 2) Das Patientenkollektiv war unterschiedlich. So wurden bei Du et al. HSCT-Empfänger und Patienten mit „intensiver“ Chemotherapie eingeschlossen. In unserer Beobachtung wurden nur Patienten eingeschlossen, die eine allo-HSCT erhalten haben. Eine mögliche Ursache für die unterschiedliche Antikörperexpression kann demzufolge die Intensität der Chemotherapie sein. In vorhergehenden Studien konnte bereits gezeigt werden, dass Antikörperspiegel nach HSCT abnehmen und vorangegangene Immunitäten aufgehoben werden können (55; 56; 23). Dabei ist nicht eindeutig, in wie weit das Immunsystem der Patienten bereits vor der HSCT noch in der Lage war Antikörper zu bilden. Zu dieser Fragestellung liegen Daten vor, welche zeigen,

DISKUSSION

dass eine ausreichende Immunantwort auf eine Impfung erst 12 bis 24 Monate nach einer HSCT wieder besteht (55; 57). Dies zeigt sich auch in den Empfehlungen der Fachgesellschaften, bei Patienten unter Chemotherapie keine Impfungen durchzuführen (23). Eine Aussage über die Immunantwort von Patienten nach Induktion und/oder Konsolidierung lässt sich aufgrund der unterschiedlichen Schemata nicht treffen. Es ist jedoch davon auszugehen, dass es durch die antineoplastische Behandlung zu einer eingeschränkten Immunantwort kommt.

- 3) Dritter Unterschied war der Beobachtungszeitraum. Du et al. berichten vom medianen Auftreten einer IA an Tag 26, beobachtet wurde über mindestens ein Jahr. So wurden auch IA bis zum 322. Tag nach der HSCT dokumentiert. In unserem Setting wurde nur während des Aufenthalts auf der Transplantationsstation beobachtet. Ein Follow-up fand nicht statt. Dadurch hatten wir einen medianen Beginn der IA an Tag 18. Dafür wurden die Patienten in unserem Setting täglich überwacht und wöchentlich auf *Aspergillus*-Antigene und aA-IgG überprüft. Bedingt durch die kurze Beobachtungsdauer waren wir nicht in der Lage, später auftretende IA (late-onset IA, >40 post-HSCT) zu erfassen. Unser Ziel bestand vorrangig darin, einen Zusammenhang zwischen Besiedlung und Ausbruch während der Immunsuppression zu zeigen, daher haben wir von einem Follow-up abgesehen. Nach unserer Einschätzung steigt bei späteren Ausbrüchen der IA, also nach Entlassung aus dem Krankenhaus, die Wahrscheinlichkeit einer Primärinfektion bedingt durch den Anstieg der Pilzexposition in der Umwelt (16).
- 4) Zudem machen Du et al. keine Angaben über Prophylaxe und Therapien. Wir verwendeten keine Primärprophylaxe gegen Schimmelpilze und betrachteten die Patientengruppe sowohl in ihrer Gesamtheit, als auch als Subgruppen mit oder ohne Sekundärprophylaxe. Die Einteilung in Subgruppen führte zu kleineren Gesamtzahlen und damit zu einer geringeren Aussagekraft. Im Gegenzug können wir jedoch in der Gruppe der Patienten ohne antimykotische Prophylaxe einen Bias durch die Selbige ausschließen.

DISKUSSION

In Ermangelung großer und aussagekräftiger Studien über die Anwendung von antimykotischer Prophylaxe, wird die Anwendung zwischen den Zentren unterschiedlich gehandhabt. In unserer Untersuchung erhielten Patienten ohne IA in der Anamnese keine Primärprophylaxe gegen Schimmelpilze und zeigten trotzdem eine geringere Prävalenz als Patienten mit IA in der Anamnese und Prophylaxe. Dies deckt sich mit einer weiteren aktuellen Arbeit, in der vermutet wurde, dass eine antimykotische Primärprophylaxe bei Patienten mit niedrigem IA-Risiko nicht notwendig ist (58).

In unserer Studie war die Inzidenz der IA nach allo-HSCT bei Patienten mit IA in der Vorgeschichte gering. Diese Patienten wurden mit einer sekundären antimykotischen Prophylaxe (Voriconazol) behandelt. Diese Daten sind gut vergleichbar mit einer aktuellen Arbeit an einem großen Patientenkollektiv, bei dem der Einfluss einer vorherigen IA auf den Verlauf einer allo-HSCT untersucht wurde. Es wurden retrospektive Daten aus dem Register der European Society for Blood and Marrow Transplantation analysiert, dabei zeigte sich lediglich ein nicht signifikanter Trend ($p=0,078$) zu geringeren Gesamtüberlebensraten (59). Die Häufigkeit der IA wird in der Studie jedoch nicht angegeben, da aufgrund der Registerdaten bei vielen Patienten keine Informationen über die IA vorhanden waren. Die Daten stehen im Gegensatz zu älteren Untersuchungen, in denen noch große Unterschiede in den Überlebensraten von 56% zu 77% ($p=0,0001$) bei HSCT-Patienten mit und ohne IA in der Anamnese gefunden wurden (60; 61). Die Verbesserung des Überlebens von allo-HSCT Patienten mit präexistenter invasiver Aspergillose zeigt sich als stetiger Trend seit den 1990er Jahren (6). Die Begründung liegt wahrscheinlich in Fortschritten bei der Prophylaxe, Diagnose und Behandlung der IA, so zeigten Voriconazol und Posaconazol im Vergleich zu Fluconazol deutlich bessere Ansprechraten bei Aspergillose (62) und sind auch in der Langzeitprophylaxe einsetzbar. Zudem können durch verbesserte radiologische Verfahren und serologische Marker Aspergillose schneller erkannt werden (63).

Zusammengefasst konnten wir in unserer Untersuchung keine Hinweise finden, dass mit dem Platelia® *Aspergillus* IgG-Tests in einem klinischen Setting bei allo-HSCT-Patienten eine Vorhersage für das Auftreten einer IA getroffen werden kann. Unsere Ergebnisse widersprechen jedoch nicht grundsätzlich dem Konzept der Aktivierung latenter Infektionen oder Kolonisierung, da bedingt durch die Erkrankung und die antineoplastische Behandlung viele Störeffekte zum Tragen kommen. Unsere Ergebnisse zeigen, dass ein reiner Fokus auf die Antikörperdiagnostik in diesem

DISKUSSION

Patientenkollektiv als schwierig anzusehen ist, da eine zurückliegende IA oder asymptomatische Besiedlung mit den bekannten Tests nicht beziehungsweise nicht ausreichend erfasst werden. Ein Schwerpunkt sollte weiter auf der Identifikation von Risikopopulationen liegen, um für diese Patienten eine optimale Versorgung zu gewährleisten und Patienten mit niedrigem Risiko von unnötigen Therapien und Untersuchungen zu entlasten. Aktuell liefert z.B. die Identifizierung von Patienten mit PTX3-Rezeptormangel vielversprechende Ergebnisse (64; 65). Neben der Einteilung in Risikogruppen sollten auch die analytischen Nachweismethoden weiterentwickelt werden. Hierbei sind derzeit insbesondere Fortschritte bei der bildgebenden Diagnostik und bei den verbesserten Nachweismethoden von Pilz-DNA, wie z.B. multiplex Assays, zu erwarten (66; 67).

10. LITERATURVERZEICHNIS

1. **Upton A, Kirby KA, Carpenter P, Boeckh M, Marr KA.** Invasive Aspergillosis following HCT: Outcomes and Prognostic Factors Associated with Mortality. *Clin Infect Dis.* 2007, 44, S. 531-540.
2. **Maar KA, Carter RA, Boeckh M, Martin P, Coray L.** Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: change in epidemiology and Risk factors. *Blood.* 2002, 100, S. 4358-66. DOI 10.1182.
3. **Wald A, Leisenring W, van Burik JA, Bowden RA.** Epidemiology of Aspergillus infections in a large cohort of patients undergoing bone marrow transplantation. *J Infect Dis.* 1997, 175, S. 1459-1466.
4. **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 infection in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM-2004 study. *Haematologica.* 2006, 91, S. 1068-75.
5. **Fukuda T, Boeckh M, Carter RA, Sandmaier BM, Maris MB, Maloney DG, Martin PJ, Storb RF, Marr KA.** Risk and outcomes of invasive fungal infections in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants after nonmyeloablative conditioning. *Blood.* 2003, 102, S. 827-33. DOI 10.1182.
6. **Barnes PD, Marr KA.** Risk, diagnosis and outcomes of invasive fungal infections in haematopoietic stem cell transplant recipients. *Br J Haematol.* 2007, 139, S. 519-531.
7. **Oren I, Haddad N, Finkelstein R, Rowe JM.** Invasive Pulmonary Aspergillosis in Neutropenic Patients During Hospital Construction: Before and After Chemoprophylaxis and Institution of HEPA Filters. *Am J Hematol.* 2001, 66, S. 257-262. DOI 10.1002.
8. **Krüger WH, Zöllner 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. *J Hematother Stem Cell Res.* 2003, 12, S. 301-7.
9. **Maschmeyer G, Neuburger S, Fritz L, Böhme A, Penack O, Schwerdtfeger R, Buchheidt D, Ludwig WD und Oncology., Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Haematology and.** A prospective, randomised study

on the use of well-fitting masks for prevention of invasive aspergillosis in high-risk patients. *Annals of oncology*. 2009, S. 1560-4.

10. **Hicheri Y, Einsele H, Martino R, Cesaro S, Ljungman P, Cordonnier C.** Environmental prevention of infection in stem cell transplant recipients: a survey of the infectious Disease Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2013, S. 251-8.

11. **Vokurka S, Bystrická E, Svoboda T, Škoda Gorican IK, Sever M, Mazur E, Kopinska A, Pavlicová V, Mocanu O, Tanase A, Ghelase R, Zítková M, Labudíková M, Raida L, Hrabánková-Navrátilová D, Bocková J.** The availability of HEPA-filtered rooms and the incidence of pneumonia in patients after Haematopoietic stem cell transplantation (HSCT): results from a prospective, multicentre, eastern European study. *J Clin Nurs*. 2014, 23, S. 1648-1652. DOI 10.1111.

12. **Robertson MJ, Larson RA.** Recurrent fungal pneumonias in patients with acute nonlymphocytic leukemia undergoing multiple courses of intensive chemotherapy. *Am J Med*. 1988, 84, S. 233-9.

13. **Nawada R, Amitani R, Tanaka E, Niimi A, Suzuki K, Murayama T, Kuze F.** Murine model of invasive pulmonary aspergillosis following an earlier stage, noninvasive *Aspergillus* infection. *J Clin Microbiol*. 1996, 34, S. 1433-9.

14. **Bundesministerium für Gesundheit, Arbeitskreis Blut.** Humanes Cytomegalovirus (HCMV). *Bundesgesundheitsbl*. 2000, 70, S. 653-9.

15. **Rosetto CC, Tarrant-Elorza M, Pari GS.** Cis and Trans Acting Factors Involved in Human Cytomegalovirus Experimental and Natural Latent Infection of CD14 (+) Monocytes and CD34 (+) Cells. *PLOS Pathogens*. 2013, 9, S. 1-21.

16. **Hope WW, Walsh TJ, Denning DW.** Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis*. 2005, S. 609-22.

17. **Chazalet V, Debeauvais JP, Sarfati J, Lortholary J, Ribaud P, Shah P, Cornet M, Vu Thien H, Gluckman E, Brücker G, Latgé JP.** Molecular Typing of Environmental and Patient Isolates of *Aspergillus fumigatus* from Various Hospital Settings. *Journal of Clin Microbiology*. 1998, S. 1494-1500.

18. **Guinea J, Peláez T, Alcalá L, Bouza E.** Outdoor environmental levels of *Aspergillus* spp. conidia over a wide geographical area. *Med Mycol.* 2006, Bd. 44, 4, S. 349-56.
19. **Einsele H, Quabeck K, Müller K-D, Hebart H, Rothenhöfer I, Löffler J, Schaefer UW.** Prediction of invasive pulmonary aspergillosis from colonisation of lower respiratory tract before marrow transplantation. *Lancet.* 1998, 352, S. 1443.
20. **Page ID, Richardson M, Denning DW.** Antibody testing in aspergillosis - quo vadis? *Med Mycol.* 2015, Bd. 53, 5, S. 417-39.
21. **Guitard J, Sendid B, Thorez S, Gits M, Hennequin C.** Evaluation of a Recombinant Antigen-Based Enzyme Immunoassay for the Diagnosis of Noninvasive Aspergillosis. *J Clin Microbiol.* 2012, 50, S. 762-5. DOI 10.1128.
22. **Page ID, Richardson MD, Denning DW.** Comparison of six *Aspergillus*-specific IgG assays for the diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis (CPA). *J Infect.* 2016, Bd. 72, 2, S. 240-9.
23. **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. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009, 15, S. 1143-238.
24. **Du C, Wingard JR, Cheng S, Nguyen MH, Clancy CJ.** Serum IgG Responses against *Aspergillus* Proteins before Hematopoietic Stem Cell Transplantation or Chemotherapy Identify Patients Who Develop Invasive Aspergillosis. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2012, 18, S. 1927-1934. DOI 10.1016.
25. **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, Muñoz P, Odds FC, Perfect JR, Restrepo A, Ruhnke M, Segal BH, Sobel D, Sorrell TC, Viscoli C, Wingard JR, Zoutoutis T, Bennet 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). *Clin Infect Dis.* 2008, 46, S. 1813-21. DOI 10.1086.

26. **Ruhnke M, Böhme 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*. 2012, S. 823-33.
27. **Andreas S, Heindl S, Watzky C, Möller K, Rüchel R.** Diagnosis of pulmonary aspergillosis using optical brighteners. *Eur Respir J*. 2000, Bd. 15, 2, S. 407-11.
28. **Hayden RT, Isotalo PA, Parrett T, Wolk DM, Qian X, Roberts GD, Lloyd RV.** In Situ Hybridization for the Differentiation of *Aspergillus*, *Fusarium*, and *Pseudallescheria* Species in Tissue Section. *Diagnostic Molecular Pathology*. 2003, Bd. 12, 1, S. 21-6.
29. **Maschmeyer G, Carratalà 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). *Ann Oncol*. 2015, Bd. 26, 1, S. 21-33.
30. **Donnelly JP.** Polymerase chain reaction for diagnosing invasive aspergillosis: getting closer but still a ways to go. *Clin Infect Dis*. 2006, Bd. 42, 2, S. 487-9.
31. **Perfect JR, Cox GM, Lee JY, Kauffman CA, de Repentigny L, Chapman SW, Morrison VA, Pappas P, Hiemenz JW, Stevens DA und Group, Mycoses Study.** The impact of culture isolation of *Aspergillus* species: a hospital-based survey of aspergillosis. *Clin Infect Dis*. 2001, Bd. 33, 11, S. 1824-33.
32. **Maertens J, Theunissen K, Verhoef G, Verschakelen J, Lagrou K, Verbeken E, Wilmer A, Verhaegen J, Boogaerts M, Van Eldere J.** Galactomannan and computed tomography-based preemptive antifungal therapy in neutropenic patients at high risk for invasive fungal infection: a prospective feasibility study. *Clin Infect Dis*. 2005, Bd. 41, 9, S. 1242-50.
33. **Maertens J, Buvé K, Theunissen K, Meersseman W, Verbeken E, Verhoef G, Van Eldere J, Lagrou K.** Galactomannan serves as a surrogate endpoint for outcome of

LITERATURVERZEICHNIS

pulmonary invasive aspergillosis in neutropenic hematology patients. *Cancer*. 2009, Bd. 115, 2, S. 355-62.

34. **Leeflang MM, Debets-Ossenkopp YJ, Visser CE, Scholten RJ, Hooft L, Bijlmer HA, Reitsma JB, Bossuyt PM, Vandenbroucke-Grauls CM.** Galactomannan detection for invasive aspergillosis in immunocompromized patients. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008, 4.

35. **Mennink-Kersten MA, Donnelly JP, Verweij PE.** Detection of circulating galactomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis*. 2004, Bd. 4, 6, S. 349-57.

36. **Yoshida M, Obayashi T, Iwama A, Ito M, Tsunoda S, Suzuki T, Muroi K, Ohta M, Sakamoto S, Miura Y.** Detection of plasma (1 → 3)-beta-D-glucan in patients with *Fusarium*, *Trichosporon*, *Saccharomyces* and *Acremonium* fungaemias. *J Med Vet Mycol*. 1997, Bd. 35, 5, S. 371-4.

37. **Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E, Kantarjian H, Saeki F, Ridge RJ, Ketchum PA, Finkelman MA, Rex JH, Ostrosky-Zeichner L.** Beta-D-glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: validation, cutoff development, and performance in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Clin Infect Dis*. 2004, Bd. 39, 2, S. 199-205.

38. **Hachem RY, Kontoyiannis DP, Chemaly RF, Jiang Y, Reitzel R, Raad I.** Utility of galactomannan enzyme immunoassay and (1,3) beta-D-glucan in diagnosis of invasive fungal infections: low sensitivity for *Aspergillus fumigatus* infection in hematologic malignancy patients. *J Clin Microbiol*. 2009, Bd. 47, 1, S. 129-33.

39. **Baxter CG, Denning DW, Jones AM, Todd A, Moore CB, Richardson MD.** Performance of two *Aspergillus* IgG EIA assays compared with the precipitin test in chronic and allergic aspergillosis. *Clin Microbiol Infect*. 2003, Bd. 19, 4, S. 197-204.

40. **Richardson MD, Page ID.** *Aspergillus* serology: Have we arrived yet? *Med Mycol*. 2017, Bd. 55, 1, S. 48-55.

41. **Kappe R, Schulze-Berge A, Sonntag HG.** Evaluation of eight antibody tests and one antigen test for the diagnosis of invasive aspergillosis. *Mycoses*. 1996, Bd. 39, 1, S. 13-23.

LITERATURVERZEICHNIS

42. **Young RC, Bennett JE.** Invasive aspergillosis. Absence of detectable antibody response. *Am Rev Respir Dis.* 1971, Bd. 104, 5, S. 710-6.
43. **Azie N, Neofytos D, Pfaller M, Meier-Kriesche HU, Quan SP, Horn D.** The PATH (Prospective Antifungal Therapy) Alliance registry and invasive fungal infections: update 2012. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* 2012, S. 293-300.
44. **Marr KA, Seidel K, White TC, Bowden RA.** Candidemia in allogenic blood and marrow transplant recipients: evolution of risk factors after the adoption of prophylactic fluconazol. 2000, Bd. 181, S. 309-16.
45. **Böhme A, Ruhnke M, Buchheidt D, Cornely OA, Einsele H, Enzensberger R, Hebart H, Heinz W, Junghanss C, Karthaus M, Krüger W, Krug U, Kubin T, Penack O, Reichert D, Reuter S, Silling G, Südhoff T, Ullmann AJ, Maschmeyer G.** Treatment of invasive fungal infections in cancer patients - Recommendations of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO). *Ann Hematol.* 2009, 88, S. 97-110. DOI 10.1007.
46. **Maschmeyer G, Beinert T, Buchheidt D, Cornely OA, Einsele H, Heinz W, Heussel CP, Kahl C, Kiehl M, Lorenz J, Hof H, Mattiuzzi G.** Diagnosis and antimicrobial therapy of lung infiltrates in febrile neutropenic patients: Guidelines of the infectious diseases working party of the German Society of Haematology and Oncology. *European journal of cancer.* 2009, S. 2462-72.
47. **Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, Moreno R, Lipman J, Gomersall C, Sakr Y, Reinhart K und Investigators., EPIC II Group of.** International Study of the Prevalence and Outcomes of Infection in Intensive Care Units. 2008, Bd. 302, 21, S. 2323-9.
48. **Grow WB, Moreb JS, Roque D, Manion K, Leather H, Reddy V, Khan SA, Finiewicz KJ, Nguyen H, Clancy CJ, Mehta PS, Wingard JR.** Late onset of invasive aspergillus infection in bone marrow transplant patients at a university hospital. *Bone Marrow Transplantation.* 2002, S. 15-9.
49. **Sarfati J, Monod M, Recco P, Sulahian A, Pinel C, Candolfi E, Fontaine T, Debeaupuis JP, Tabouret M, Latgé JP.** Recombinant antigens as diagnostic markers for aspergillosis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2006, 55, S. 279-29. DOI 10.1016.

50. **Tacke D, Buchheidt D, Karthaus M, Krause SW, Maschmeyer G, Neumann S, Ostermann H, Penack O, Rieger C, Ruhnke M, Sandherr M, Schweer KE, Ullmann AJ, Cornely OA.** Primary prophylaxis of invasive fungal infections in patients with haematologic malignancies. 2014 update of the recommendations of the Infectious Diseases Working Party of the German Society for Haematology and Oncology. *Ann Hematology*. 2014, 93, S. 1449-56.
51. **Tomz M, King G, Zeng L.** *ReLogit: Rare Events Logistic Regression*. [Journal of Statistical Software] 2008.
52. **Ribaud P, Chastang C, Latgé JP, Baffroy-Lafitte L, Parquet N, Devergie A, Espérou H, Sélimi F, Rocha V, Espérou H, Sélimi F, Rocha V, Derouin F, Socié G, Gluckman E.** Survival and prognostic factors of invasive aspergillosis after allogeneic bone marrow transplantation. *Clin Infect Dis*. 1999, 181, S. 322-30.
53. **Oliva A, Flori P, Hennequin C, Dubus JC, Reynaud-Gaubert M, Charpin D, Vergnon JM, Gay P, Colly A, Piarroux R, Pelloux H, Ranque S.** Evaluation of the Aspergillus Western blot IgG kit for diagnosis of chronic aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 2015, Bd. 53, 1, S. 248-54.
54. **Dumollard C, Bailly S, Perriot S, Brenier-Pinchart MP, Saint-Raymond C, Camara B, Gangneux JP, Persat F, Valot S, Grenouillet F, Pelloux H, Pinel C, Cornet M.** Prospective Evaluation of a New Aspergillus IgG Enzyme Immunoassay Kit for Diagnosis of Chronic and Allergic Pulmonary Aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 2016, Bd. 54, 5, S. 1236-42.
55. **Johnston BL, Conly JM.** Immunization for bone marrow transplant recipients. *Can J Infect Dis*. 2002, 13, S. 353-7.
56. **Storek J, Saxon A.** Reconstitution of B cell immunity following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 1992, 9, S. 395-408.
57. **Vance E, George S, Guinan EC, Wheeler C, Antin JH, Ambrosino DM, Molrine DC.** Comparison of multiple immunization schedules for Haemophilus influenzae type b-conjugate and tetanus toxoid vaccines following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation*. 1998, 22, S. 735-41.

58. **Brissot E, Cahu X, Guillaume T, Delaunay J, Ayari S, Peterlin P, Le Bourgeois A, Harousseau JL, Milpied N, Bene MC, Moreau P, Mohty M, Chevallier P.** Initial fluconazole prophylaxis may not be required in adults with acute leukemia or myelodysplastic/myeloproliferative disorders after reduced intensity conditioning peripheral blood stem cell allogeneic transplantation. *Ann Hematol.* 2015, 94, S. 663-669. DOI 10.1007.
59. **Penack O, Tridello G, Hoek J, Socié G, Blaise D, Passweg J, Chevallier P, Craddock C, Milpied N, Veelken H, Maertens J, Ljungman P, Cornelissen J, Thiebaut-Bertrand A, Lioure B, Michallet M, Iacobelli S, Nagler A, Mohty M, Cesaro S.** Influence of pre-existing invasive Aspergillosis on allo-HSCT outcome: a retrospective EBMT analysis by the Infectious Diseases and Acute Leukemia Working Parties. 2015, S. 1-6.
60. **Fukuda T, Boeckh M, Guthrie KA, Mattson DK, Owens S, Wald A, Sandmaier BM, Corey L, Storb RF, Marr KA.** Invasive Aspergillosis before Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: 10-Year Experience at a Single Transplant Center. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2004, S. 494-503.
61. **Offner F, Cordonnier C, Ljungman P, Prentice HG, Engelhard D, De Bacquer D, Meunier F, De Pauw B.** Impact of previous Aspergillosis on the outcome of Bone Marrow Transplantation. *CID.* 1998, 26, S. 1098-103.
62. **Lass-Flörl C, Mayr A, Perkhofer S, Hinterberger G, Hausdorfer J, Speth C, Fille M.** Activities of Antifungal Agents against Yeasts and Filamentous Fungi: Assessment according to the Methodology of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2008, 52, S. 3637-41.
63. **Nucci M, Nouér SA, Cappone D, Anaissie E.** Early diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in hematologic patients: an opportunity to improve the outcome. *Haematologica.* 2013, 98, S. 1657-60.
64. **Cunha C, Aversa F, Lacerda JF, Busca A, Kurzai O, Grube M, Löffler J, Maertens JA, Bell AS, Inforzato A, Barbati E, Almeida B, Santos e Sousa P, Barbui A, Potenza L, Caira M, Rodrigues F, Salvatori G, Pagano L, Luppi M, Mantovani A, Velardi A, Romani L, Carvalho, A.** Genetic PTX3 deficiency and aspergillosis in stem-cell transplantation. *N Engl J Med.* 2014, 370, S. 421-32.

65. **Wójtowicz A, Lecompte TD, Bibert S, Manuel O, Rüeger S, Berger C, Boggian K, Cusini A, Garzoni C, Hirsch H, Khanna N, Mueller NJ, Meylan PR, Pascual M, van Delden C, Bochud PY und Study., Swiss Transplant Cohort.** PTX3 Polymorphisms and Invasive Mold Infections After Solid Organ Transplant. *Clin Infect Dis.* 2015, 61, S. 619-22.
66. **Boch T, Reinwald M, Postina P, Cornely OA, Vehreschild JJ, Heußel CP, Heinz WJ, Hoenigl M, Eigl S, Lehrnbecher T, Hahn J, Claus B, Lauten M, Egerer G, Müller MC, Will S, Merker N, Hofmann WK, Buchheidt D, Spiess B.** Identification of invasive fungal diseases in immunocompromised patients by combining an *Aspergillus* specific PCR with a multifungal DNA-microarray from primary clinical samples. *Mycoses.* 2015, Bd. 58, S. 735-45.
67. **von Lilienfeld-Toal M, Lehmann LE, Raadts AD, Hahn-Ast C, Orlopp KS, Marklein G, Purr I, Cook G, Hoefft A, Glasmacher A, Stüber F.** Utility of a commercially available multiplex real-time PCR assay to detect bacterial and fungal pathogens in febrile neutropenia. *J Clin Microbiol.* 2009, Bd. 47, S. 2405-10.

11. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 5-1: Phasen der opportunistischen Infektionen bei allo-HSCT-Patienten. EBV: Epstein-Barr-Virus; HHV6: humanes Herpesvirus 6; PTLD: posttransplant lymphoproliferative disease; entnommen aus (23).9

Abbildung 5-2: Empfehlung zum Vorgehen bei Verdacht auf Infiltrate der Lunge; entnommen aus (29). 12

Abbildung 5-3: Erregerspektrum der invasiven Pilzinfektionen in Abhängigkeit von der Erkrankung; SOT: Solid organ transplantation; entnommen aus (43). 13

Abbildung 5-4: Erregerspektrum der invasiven Pilzinfektionen in Abhängigkeit von der Region; entnommen aus (43). 14

Abbildung 7-1: Fließschema zur Auswahl der Prophylaxe bei Patienten mit allo-HSCT; entnommen aus (50). 19

Abbildung 8-1: Auftreten von möglicher und wahrscheinlicher IA während der Behandlung. Bei keinem der Patienten konnte eine IA bewiesen werden.24

Abbildung 8-2: Inzidenz der möglichen und wahrscheinlichen IA während der Behandlung bei Patienten ohne IA in der Anamnese. Bei keinem der Patienten konnte eine IA bewiesen werden.25

Abbildung 8-3: Inzidenz der möglichen und wahrscheinlichen IA während der Behandlung bei Patienten mit IA in der Anamnese. Diese Patienten erhielten eine Sekundärprophylaxe mit Voriconazol. Bei keinem der Patienten konnte eine IA bewiesen werden.25

Abbildung 8-4: aA-IgG-Spiegel vor der allo-HSCT und klinisches Outcome während des Aufenthalts. Geprüft nach Mann-Whitney fanden wir keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (keine zu mögliche IA ($p=0,1376$), keine zu wahrscheinliche IA ($p=0,9138$)).27

Abbildung 8-5: ROC-Kurve mit AUC.....28

Abbildung 8-6: aA-IgG-Werte vor allo-HSCT und klinisches Outcome während des Aufenthalts von Patienten ohne primäre Prophylaxe gegen Schimmelpilze. Geprüft nach Mann-Whitney fanden wir keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (keine zu mögliche IA ($p=0,1063$), keine zu wahrscheinliche IA ($p=0,6663$))......29

Abbildung 8-7: Anti-Aspergillus-IgG-Werte vor der allo-HSCT und klinisches Outcome während des Aufenthalts von Patienten mit IA in der Anamnese. Geprüft nach Mann-Whitney fanden wir keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (keine zu mögliche IA ($p=0,4233$), keine zu wahrscheinliche IA ($p=0,4161$)).30

TABELLENÜBERSICHT

Abbildung 8-8: Anti-Aspergillus-IgG-Werte von allo-HSCT Patienten in Abhängigkeit zur Anamnese. Geprüft nach Mann-Whitney fanden wir keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen (keine zu mögliche IA ($p=0,7331$), keine zu wahrscheinliche IA ($p=0,4101$)).	31
Abbildung 8-9: Anti-Aspergillus-IgG-Werte der Patienten, die während der Behandlung positiv auf aA-IgG getestet wurden. Bei fünf Patienten war der aA-IgG-Wert vor der allo-HSCT (durchgezogene Linien) erhöht, bei zwei Patienten stieg der aA-IgG-Wert während der Behandlung über 5 AU/ml (gestrichelte Linien).	32
Abbildung 8-10: aA-IgG-Werte von Patienten mit wahrscheinlicher IA während der Behandlung. Die aA-IgG-Werte gelten als positiv wenn >5 AU/ml. Keiner der Patienten mit wahrscheinlicher IA hatte positive aA-IgG-Werte. Wir fanden keinen Zusammenhang zwischen dem Verlauf der aA-IgG-Werte und dem Ausbruch der IA. Die Patienten #23, #36 und #45 hatten keine IA in der Anamnese und erhielten keine antimykotische Prophylaxe.	33

12. TABELLENÜBERSICHT

Tabelle 1: Infektionsraten und Organismen bei Intensiv-Patienten nach geografischen Regionen; Auszug aus (47)	14
Tabelle 2: Patienteneigenschaften	22
Tabelle 3: Klinische Daten	23

EIDESSTÄTTLICHE ERKLÄRUNG

13. EIDESSTÄTTLICHE ERKLÄRUNG

Ich, Jan-Hendrik Erdmann, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Anti-Aspergillus-IgG-Bestimmung zur Vorhersage der pulmonalen invasiven Aspergillose nach allogener Stammzelltransplantation" 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 Vorträge anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Grafiken 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 Betreuer, 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

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Jan-Hendrik Erdmann, Barbara Graf, Igor Wolfgang Blau, Frank Fischer, Gabriele Timm, Philipp Hemmati, Renate Arnold, Olaf Penack. Anti-Aspergillus IgG Testing in Serum of Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients. *Transplant Infectious Disease, Transpl Infect Dis.* 2016 Mar 21. DOI: 10.1111/tid.12529.

Beitrag im Einzelnen: Der Artikel wurde von mir als Erstautor geschrieben. Dr. Olaf Penack war an der Erstellung beteiligt und hat Vorgaben und Empfehlungen zu Inhalt, Umfang und Layout gegeben. Fr. Dr. Graf war bei der Auswertung der Testergebnisse beratend tätig. Alle genannten Koautoren haben den Artikel gereviewed und inhaltliche Kommentare beigesteuert.

Axel Nogai, Yu Shi, Daniel Pérez-Hernandez, Steffen Cordes, Jörg Mengwasser, Sarah Mertlitz, Katarina Riesner, Martina Kalupa, Jan-Hendrik Erdmann, Reinhard Ziebig, Gunnar Dittmar and Olaf Penack. *Organsiderosis and Hemophagocytosis during acute GVHD. Haematologica.* 2016 Mai 19. DOI:10.3324/haematol.2016.144519

Beitrag im Einzelnen: Ich war an der Datenanalyse, der Erstellung von Tabellen und Abbildungen sowie am Schreiben des Manuskripts beteiligt.

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers

Unterschrift des Doktoranden

14. LEBENS LAUF

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

Komplette Publikationsliste

Jan-Hendrik Erdmann, Barbara Graf, Igor Wolfgang Blau, Frank Fischer, Gabriele Timm, Philipp Hemmati, Renate Arnold, Olaf Penack. Anti-Aspergillus IgG Testing in Serum of Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients. *Transplant Infectious Disease, Transpl Infect Dis.* 2016 Mar 21. DOI: 10.1111/tid.12529.

Axel Nogai, Yu Shi, Daniel Pérez-Hernandez, Steffen Cordes, Jörg Mengwasser, Sarah Mertlitz, Katarina Riesner, Martina Kalupa, **Jan-Hendrik Erdmann**, Reinhard Ziebig, Gunnar Dittmar und Olaf Penack. Organsiderosis and Hemophagocytosis during acute GVHD. *Haematologica.* 2016 Mai 19. DOI: 10.3324/haematol.2016.144519

Jan-Hendrik Erdmann, Tilman Schöning, Dominic Störzinger, Torsten Hoppe-Tichy. Therapieoptimierung durch kontinuierliche Gabe von Beta-Lactam-Antibiotika; *Krankenhauspharmazie* 2012; 33:286-90

Katharina Schega, Tilman Schöning, Lena Paukner, **Jan-Hendrik Erdmann**, Mieke Mertens, Martin Ehmman, Michael Ober und Torsten Hoppe-Tichy. Einfluss eines CPOE-Systems auf die Verordnungssicherheit in der Onkologie; ADKA-Kongress 2014 Hamburg; Poster #48

Jan-Hendrik Erdmann, Michael Ober und Beate Ackermann. Moderne Herstellung kindgerechter Arzneimittel; *Pharm. Ztg.* 2015; 160:2986-92

15. PUBLIKATIONSLISTE

Ergebnisse dieser Promotion sollen vor Abschluss des Promotionsverfahrens mit Genehmigung des Promotionsausschusses der Charité Universitätsmedizin Berlin in folgender Originalarbeit publiziert werden:

Jan-Hendrik Erdmann, Barbara Graf, Igor Wolfgang Blau, Frank Fischer, Gabriele Timm, Philipp Hemmati, Renate Arnold, Olaf Penack. Anti-Aspergillus IgG Testing in Serum of Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients. *Transplant Infectious Disease, Transpl Infect Dis.* 2016 Mar 21. DOI: 10.1111/tid.12529.

Axel Nogai, Yu Shi, Daniel Pérez-Hernandez, Steffen Cordes, Jörg Mengwasser, Sarah Mertlitz, Katarina Riesner, Martina Kalupa, **Jan-Hendrik Erdmann**, Reinhard Ziebig, Gunnar Dittmar und Olaf Penack. Organsiderosis and Hemophagocytosis during acute GVHD. *Haematologica.* 2016 Mai 19. DOI: 10.3324/haematol.2016.144519

DANKSAGUNG

16. DANKSAGUNG

Zuerst möchte ich mich herzlichst bei PD Dr. Olaf Penack für die Überlassung des Themas, die freundliche Unterstützung und die wertvollen fachlichen Anregungen bedanken. Es war mir eine große Ehre und Freude mit ihm und seinem Team an diesem Thema zu arbeiten.

Mein Dank gilt auch Frau Dr. Barbara Graf für die Unterstützung bei analytischen Fragestellungen sowie dem gesamten Personal der Station 50 für die gute Zusammenarbeit bei der Datenerhebung.

Besonderer Dank gilt meiner Frau für jegliche Unterstützung während der Promotionszeit.

Ebenfalls bedanke ich mich bei Stefan Pieper für die Unterstützung bei der sprachlichen Anpassung der Texte sowie meinem Bruder Tore Erdmann für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Daten.