

**Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Innere Medizin IV  
an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg  
(Direktor: Prof. Dr. med. H.-J. Schmoll)**



**Untersuchungen zur Häufigkeit von Pilzinfektionen bei immunsupprimierten  
hämatologisch-onkologischen Patienten und mykologisch-hygienische Untersuchungen  
zur Expositionsprophylaxe**

**Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizin (Dr. med.)**

vorgelegt  
der Medizinischen Fakultät  
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Hanka Laue - Gizzi  
geboren am 18.04.1975 in Halle

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. H.-J. Schmoll
2. Prof. Dr. med. M. Borneff-Lipp
3. PD Dr. med. W. Krüger

verteidigt am 05.07.2006

**urn:nbn:de:gbv:3-000010481**

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000010481>]

Referat:

Pilzinfektionen stellen häufige infektiöse Komplikation bei hämatologisch-onkologischen Patienten dar. Da die diagnostischen und therapeutischen Möglichkeiten bei systemischen Pilzinfektionen unbefriedigend sind, kommt der Prophylaxe eine erhebliche Bedeutung zu. In der vorliegenden Arbeit erfolgte eine Analyse von Pilzinfektionen bei hämatologisch-onkologischen Patienten, die von Januar 1995 bis Dezember 1999 in der Klinik für Hämatologie/ Onkologie des Klinikum Kröllwitz stationär behandelt wurden, unter besonderer Berücksichtigung der Prophylaxe und der Eruiierung von Risikofaktoren. Mykologisch-hygienische Untersuchungen sollten gleichzeitig die Kontamination der Station KIM 10 mit Pilzregern dokumentieren und die Effektivität der 1997 eingeführten raumluftechnischen Anlage mit Hochleistungs-Schwebstoff- Filtern und Überdruckbelüftung belegen. In der ersten mykologisch-hygienischen Untersuchung der Station KIM 10 unter natürlicher Belüftung (29.05.1997) wurden insgesamt 379 Pilzkolonien (davon 20 KBE/m<sup>3</sup> Aspergillus spp. in der Raumluft) gefunden. Nach Installation der Klimaanlage wurden zu drei verschiedenen Untersuchungszeitpunkten zwischen 4 und 8 Pilzkolonien und kein Aspergillus spp. mehr nachgewiesen, was die Effizienz der raumluftechnischen Anlage klar belegt.

87 Patienten (27,2%) erkrankten im Verlauf ihrer Behandlung an einer oder mehreren Pilzinfektionen. Bei 29 Patienten wurde eine nachgewiesene tiefe, bei 25 eine suspekte tiefe und bei 43 eine oberflächliche Pilzinfektion diagnostiziert. Aufgrund langwieriger Behandlungen und Rezidiven der Grunderkrankung wurden 174 von 319 Patienten mehrfach therapiert, sodass die Auswertung nach Behandlungsepisoden erfolgte. In 127 von 842 Episoden (15,1%) traten Pilzinfektionen auf.

Obwohl die Inzidenz tiefer Pilzinfektionen abgesehen vom Jahr 1997 im Verlauf abnahm, stieg sie für tiefe Aspergillosen bis zum Jahr 1997 zunehmend an. Dies ist wahrscheinlich auf die umfangreichen Baumassnahmen auf dem Klinikgelände zurückzuführen. Durch den Einbau der raumluftechnischen Anlage konnte die Häufung der Aspergillosen 1997 wirkungsvoll kontrolliert werden.

In einer multifaktoriellen Risikoanalyse erwies sich die Granulozytopenie als wichtigster Risikofaktor für das Auftreten von Mykosen. Im Vergleich der systemischen antimykotischen Prophylaxe zeigte sich Itraconazol tendenziell effektiver als Fluconazol.

Pilzinfektionen bei hämatologisch-onkologischen Patienten und insbesondere Aspergillosen stellen ein multifaktorielles Problem dar. Es muss davon ausgegangen werden, dass diese Infektionen nie vollständig verhindert werden können. Jedoch kann das Risiko durch optimale Präventionsmaßnahmen und Kenntnis der Risikofaktoren deutlich minimiert werden.

Laue-Gizzi, Hanka: Untersuchungen zur Häufigkeit von Pilzinfektionen bei immunsupprimierten hämatologisch-onkologischen Patienten und mykologisch-hygienische Untersuchungen zur Expositionsprophylaxe.

Halle, Univ., Med. Fak., Diss.: 78 Seiten, 2005

<b>1. EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Pilzinfektionen bei hämatologisch-onkologischen Patienten.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2. Pilzerreger und ihre Klassifikation.....</b>	<b>1</b>
1.2.1. <i>Hefen</i>	2
1.2.2. <i>Schimmelpilze</i>	2
<b>1.3. Prädisponierende Faktoren für Pilzinfektionen.....</b>	<b>2</b>
<b>1.4. Klinische Krankheitsbilder.....</b>	<b>2</b>
1.4.1. <i>Candidia-Infektionen</i>	2
1.4.2. <i>Aspergillosen</i>	4
1.4.3. <i>Mukormykosen</i>	4
1.4.4. <i>Kryptokokkose</i>	4
<b>1.5. Prophylaxe von Pilzinfektionen.....</b>	<b>5</b>
1.5.1. <i>Allgemeine Maßnahmen</i>	5
1.5.2. <i>Expositionsprophylaxe mit Luftfiltersystemen</i>	5
1.5.3. <i>Chemoprophylaxe</i>	6
1.5.4. <i>Supportive Maßnahmen</i>	9
<b>1.6. Diagnostik von Pilzinfektionen.....</b>	<b>9</b>
1.6.1. <i>Klinische und apparative Diagnostik</i>	9
1.6.2. <i>Mikroskopie und Kultur</i>	10
1.6.3. <i>Serologie</i>	10
1.6.4. <i>Molekulargenetische Diagnostik</i>	11
1.6.5. <i>Organbiopsie</i>	11
<b>1.7. Therapie von Pilzinfektionen.....</b>	<b>11</b>
1.7.1. <i>Candidosen</i>	11
1.7.2. <i>Aspergillosen</i>	12
1.7.3. <i>Mukormykosen</i>	13
1.7.4. <i>Infektionen durch Cryptococcus neoformans</i>	13
1.7.3. <i>Antimykotische Frühtherapie (empirische versus gezielte Therapie)</i>	13
<b>2. ZIELSETZUNG</b>	<b>15</b>
<b>3. MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>16</b>
<b>3.1. Mykologisch-hygienische Untersuchungen der Station KIM 10.....</b>	<b>16</b>
3.1.1. <i>Untersuchungsablauf</i>	17
3.1.2. <i>Nährboden</i>	17
3.1.3. <i>Luftkeimeinsammler (RCS Plus, Biotest)</i>	18

3.1.4. <i>Abklatschpräparate</i>	18
3.1.5. <i>Inkubationsdauer und Bebrütungstemperatur</i>	18
3.1.6. <i>Kolonienzählung und Identifizierung der Pilze</i>	18
<b>3.2. Patientencharakteristik.....</b>	<b>19</b>
<b>3.3. Definitionen.....</b>	<b>20</b>
3.3.1. <i>Neutropenische Episoden</i>	20
3.3.2. <i>Pilzinfektionen</i>	20
3.3.3. <i>Bakterielle Infektionen</i>	21
3.3.4. <i>Fieber unklarer Genese</i>	21
<b>3.4. Diagnostik der Infektionen und Therapiekomplicationen.....</b>	<b>21</b>
<b>3.5. Diagnose der Grunderkrankung.....</b>	<b>22</b>
<b>3.6. Zytostatische Therapie.....</b>	<b>22</b>
<b>3.7. Supportive Maßnahmen.....</b>	<b>24</b>
<b>3.8. Datenverarbeitung und statistische Auswertung.....</b>	<b>25</b>
<b><u>4. ERGEBNISSE</u></b>	<b>26</b>
<b>4.1. Mykologisch-hygienische Untersuchungen.....</b>	<b>26</b>
4.1.1. <i>Kolonienzählung</i>	26
4.1.2. <i>Vergleich der Patientenzimmer</i>	27
4.1.3. <i>Nachweis der verschiedenen Aspergillus-Spezies</i>	28
4.1.4. <i>Vergleich der 3 Messorte innerhalb der Patientenzimmer</i>	28
4.1.5. <i>Vergleich der Messmethoden</i>	28
4.1.6. <i>Einfluss der Bebrütungstemperatur auf den Pilznachweis</i>	30
4.1.7. <i>Witterungsbedingte Einflussgrößen</i>	30
<b>4.2. Analyse der aufgetretenen Infektionen zwischen 1995 und 1999.....</b>	<b>31</b>
4.2.1. <i>Patientendaten</i>	31
4.2.2. <i>Untersuchungen zur Häufigkeit von Pilzinfektionen</i>	31
4.2.3. <i>Auftreten und Verteilung von Pilzinfektionen im Zeitverlauf</i>	32
4.2.4. <i>Spektrum aller infektiöser Komplikationen</i>	33
4.2.5. <i>Manifestation der Pilzinfektionen</i>	35
4.2.6. <i>Pilzinfektionen in Abhängigkeit von der Grunderkrankung und der Therapie</i>	36
4.2.7. <i>Pilzinfektionen bei verstorbenen Patienten</i>	37
4.2.8. <i>Einfluss von Risikofaktoren auf Pilzinfektionen</i>	38
4.2.9. <i>Vergleich der antimykotischen Prophylaxe</i>	40
4.2.10. <i>Erregerspektrum aller nachgewiesenen Candida-Isolate und der Mykosen</i>	41
4.2.11. <i>Resistenzverhalten getesteter Sprosspilzisolat</i>	43

<b>5. DISKUSSION</b>	<b>45</b>
<b>5.1. Exposition von Risikopatienten gegenüber Aspergilluspezies.....</b>	<b>45</b>
<b>5.2. Analyse der aufgetretenen Pilzinfektionen zwischen 1995 und 1999.....</b>	<b>48</b>
5.2.1. Häufigkeit von Pilzinfektionen	48
5.2.2. Einfluss der Klimaanlage mit Überdruckbelüftung und HEPA-Filtern auf das Auftreten von Pilzinfektionen	49
5.2.3. Pilzinfektionen in Abhängigkeit von Grunderkrankung und Therapie	51
5.2.4. Pilzinfektionen bei verstorbenen Patienten	52
5.2.5. Patienten- und therapiebezogenen Risikofaktoren von Mykosen	53
5.2.6. Erregerspektrum von Pilzinfektionen	54
5.2.7. Resistenzverhalten von Sprosspilzen	56
5.2.8. Antimykotische Prophylaxe	56
<b>5.3. Schlussfolgerung.....</b>	<b>57</b>
<b>6. ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>59</b>
<b>7. LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>61</b>
<b>8. THESEN</b>	<b>77</b>

## Abkürzungen

AK	Aspergilluskolonien
ALL	Akute Lymphatische Leukämie
AML	Akute Myeloische Leukämie
AraC	Arabinosylcytosin
BAL	bronchoalveoläre Lavage
CDC	chronisch disseminierte Candidiasis
CHAT	Candida-Hämagglutinationstest
CIFT	Candida-Immunfluoreszenztest
CLL	Chronische lymphatische Leukämie
CML	Chronische myeloische Leukämie
CMV	Cytomegalievirus
CT	Computertomogramm
DGHO	Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie
FUO	fever of unknown origin
G-CSF	granulozyte colony stimulating factor
GM-CSF	granulozyte macrophage colony stimulating factor
Gpt/l	Gigapartikel/ Liter
HEPA	High Efficiency Particulate Arrestance
HR-CT	High Resolution Computertomogramm
iv	intravenös
K	Kolonien
KBE	Kolonienbildende Einheiten
KIM	Klinik für Innere Medizin
KMT	Knochenmarktransplantation
LAF	Laminar Air Flow
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MRT	Magnetresonanztomogramm
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
NNH	Nasennebenhöhlen

OR	Odds Ratio
p.o.	per os
PCR	polymerase chain reaction
PEG	Paul-Ehrlich-Gesellschaft
SDD	Selektive Darmdekontamination
spp.	Spezies
vs	versus
ZNS	Zentralnervensystem

# **1. Einleitung**

## **1.1. Pilzinfektionen bei hämatologisch-onkologischen Patienten**

In den letzten drei Jahrzehnten hat die Häufigkeit invasiver Pilzinfektionen bei Patienten mit hämatologischen Neoplasien drastisch zugenommen [4, 19, 53, 54, 138, 156, 175, 182]. Dies ist auf die aggressiveren Therapien wie z.B. Hochdosischemotherapien und Transplantationen bei mehreren Entitäten mit der Folge einer wochenlang anhaltenden Neutropenie, der Selektion durch Antibiotika und invasiven Maßnahmen wie die weit verbreitete Verwendung von zentralen Venenkatheten zurückzuführen [123, 130, 131]. Die Neutropenie ist der wichtigste Risikofaktor, wobei der Neutropeniedauer die entscheidende Bedeutung zukommt, das neben einer initialen bakteriellen Infektion während der Therapie eine Pilzinfektion auftritt [21, 105, 123, 125]. In einer Studie bei Patienten mit einer 3 Wochen anhaltenden Granulozytopenie  $<100/\mu\text{l}$  war das Infektionsrisiko nahezu 100% [22].

Hämatologisch-onkologische Patienten, insbesondere Patienten mit Leukämien, myelodysplastischen Syndromen, Lymphomen und Multiplem Myelom, sind besonders gefährdet für Pilzinfektionen, da diese durch ihre Grundkrankheit einen meist ausgeprägten Immundefekt aufweisen. Besonders häufig werden Mykosen bei akuten Leukämien und nahezu gleich häufig bei myelodysplastischen Erkrankungen angetroffen [60, 138]. Bei niedrigmalignen Non-Hodgkin-Lymphomen (NHL) ist die Mykosehäufigkeit doppelt so hoch wie bei hochmalignen NHL [138].

Autopsiestudien belegen nicht nur die steigende Inzidenz systemischer Pilzinfektionen, sondern auch die Bedeutung für die Mortalität dieser Patientengruppe [18, 60, 175]. Die Letalität durch Pilzinfektionen nach Knochenmarktransplantation bzw. Stammzelltransplantationen ist besonders hoch [103, 113, 182]. Durch eine invasive Pilzinfektion kommt es bei überlebenden Patienten zu einer zeitlichen Verzögerung und meistens auch Deeskalation der tumorspezifischen Therapie mit eingeschränkter Wirkung auf die maligne Grunderkrankung.

Am häufigsten kommt es dabei zu Candidainfektionen, wobei der relative Anteil der an zweiter Stelle stehenden Aspergillusinfektionen zunimmt [4, 117, 130, 138, 161]. Weiterhin wurden in den letzten Jahren eine Zunahme der Infektionen mit Fusarium und C. non-albicans-Arten beobachtet [131, 192].

## **1.2. Pilzerreger und ihre Klassifikation**

Die wichtigsten humanpathogenen Pilze werden für klinische und therapeutische Zwecke nach dem DHS-System differenziert: Dermatophyten (Hautpilze, die keine Systemmykosen verursachen), Hefen und Schimmelpilze. Bei einigen Pilzarten gibt es einen Dimorphismus bei denen sowohl Hefen als auch Hyphen zusammen vorkommen können (z. B. Histoplasma, Coccidoides).

Für immunsupprimierte granulozytopenische Patienten sind besonders opportunistische Pilze wie Candida und Aspergillus von Bedeutung, die bei prädisponierten Patienten zu schweren Krankheitsbilder führen [83, 192].

### 1.2.1. Hefen

Wichtige Vertreter dieser Gruppe stellen *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *Cryptococcus neoformans* und die selteneren *Trichosporon capitatum* und *Rhodotorula rubra* dar. *Candida* spp. gehören zur normalen Körperflora und besiedeln Haut, Mund, Vagina und Intestinum [121]. *Cryptococcus neoformans* kommt vor allem im Kot von Vögeln vor [16].

### 1.2.2. Schimmelpilze

Schimmelpilze zeichnen sich durch ein schnelles Wachstum und eine typische Pigmentierung aus. Die wichtigsten Schimmelpilze gehören der Gattung *Aspergillus* an. Pathogene *Aspergillus*-Arten wie *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *A. terreus*, *A. flavus* und *A. niger* finden sich als Saprophyten in der Umgebung des Menschen und als Besiedler toter organischer Substanzen. Das Hauptreservoir ist der humushaltige Erdboden. Als *Aspergillus*streuherde in der Krankenhausumwelt kommen Topfpflanzenerde [170], kontaminierte Nahrungsmittel [41], Feuerschutzmaterial [1] und Bauarbeiten [75] in Betracht.

*Mucorales* spp. (*Mucor*, *Rhizopus*) finden sich auf Früchten, Stroh, vermoderten Pflanzen und Lebensmitteln.

## **1.3. Prädisponierende Faktoren für Pilzinfektionen**

Etwa 70-80 % aller opportunistischen Pilzinfektionen treten bei Patienten mit geschwächtem Immunsystem auf. Wie bereits erwähnt stellt die chemotherapieinduzierte Neutropenie den wichtigsten Risikofaktor für das Auftreten einer systemischer Pilzinfektion bei hämatologisch-onkologischen Patienten dar [21]. Das Zusammentreffen mit anderen Risikofaktoren wie Dauer des stationären Krankenhausaufenthaltes, Verwendung zentraler Venenkatheter [89], parenterale Ernährung [39], Breitspektrumantibiose, immunsuppressive Therapie mit Glukokortikoiden [13], früher stattgehabte systemische Pilzinfektion [154], intestinale Kolonisierung mit *Candida* spp. und Operationen des Gastrointestinaltraktes erhöhen das Risiko, an einer Pilzinfektion zu erkranken [123]. Umweltbezogene Faktoren wie die Exposition gegenüber *Aspergillus*sporen in der Luft bei Bauarbeiten [13, 57], durch Pflanzen und Nahrungsmittel oder die Exposition gegenüber *Candida* spp. durch nosokomiale Übertragung und Nahrungsmittel stellen weitere wichtige Risikofaktoren dar.

## **1.4. Klinische Krankheitsbilder**

Das klinische Bild von Mykosen wird entscheidend von der Immunkompetenz des Patienten und der Art des Erregers beeinflusst [151]. Die Symptomatik systemischer Mykosen ist - vor allem zu Beginn - oft unspezifisch.

### 1.4.1. Candidia-Infektionen

Die Pathogenese der Candidainfektion kann sowohl exogen als auch endogen sein. Der endogene Infektionsweg geht meist vom Gastrointestinaltrakt aus [121]. Nach Überwucherung der normalen

Darmflora durch Pilze kommt es zum invasiven Wachstum durch die Darmwand und zum Eindringen der Erreger in die Blutbahn. Die durch eine Chemotherapie hervorgerufenen Schäden der Mucosa im Gastrointestinaltrakt sind eine weitere Eintrittspforte. Exogene Infektionen können z.B. durch Verweilkatheter und unsterile Infusionslösungen entstehen [89].

Die Candidainfektionen werden in zwei Gruppen eingeteilt: zum einen in die oberflächlich lokalisierten (Mund-Soor, Ösophagitis, intestinale Candidiasis, Haut- und Nagelinfektionen) und zum anderen in systemische Formen (Fungämie, Septikämie, isolierter Organbefall z.B. in Leber, Lunge, Niere, ZNS, Herz, Knochenmark und Disseminierung).

Eine der häufigsten Candidainfektionen ist die oropharyngeale und Ösophagus-Candidose. Ausgangspunkt für eine Candida-Ösophagitis ist oft Mundsoor mit typischen weißen Belägen auf rotem Grund. Schluckbeschwerden, Singultus und retrosternales Brennen besonders im Liegen weisen auf eine Ösophagitis hin.

Bei 11-25% aller onkologischen Patienten findet sich autopsisch eine gastrointestinale Candidose, die aufgrund von uncharakteristischen Symptomen klinisch selten diagnostiziert wird. Symptome wie blutige Diarrhoen oder eine Darmperforation können auftreten.

Das am häufigsten befallene Organ bei Systemmykosen ist die Lunge [138], wobei je nach Krankenhaus 33-50% auf Candida-Pneumonien entfallen. Die mikrobiologische Diagnose wird durch Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage (BAL) gestellt.

Das klinische Bild der Candida-Sepsis als weitere Form einer invasiven Candidainfektion ist unspezifisch, die Körpertemperatur ist meist nur wenig erhöht. Weitere Infektzeichen wie eine Anämie oder eine Leukozytose sind ebenfalls oft nur geringgradig ausgeprägt. Häufige Zielorgane einer septischen Manifestation sind Lunge, Leber, Milz, Nieren, ZNS und Retina. Obwohl *C. albicans* der häufigste Verursacher einer Candidämie ist, haben in den letzten Jahren die non-*albicans* Candida Spezies an Bedeutung zugenommen [72, 85, 103, 110, 193].

Zunehmend häufig wird bei Hämoblastosen eine hepatolienale Candidiasis beobachtet, die durch Mikroabszesse in der Leber, Milz und manchmal auch in der Niere gekennzeichnet ist und oft erst nach Erholung aus der Neutropenie diagnostiziert wird [161]. Da mehrere Organe betroffen sind, hat sich der Begriff „chronisch disseminierte Candidiasis“ (CDC) durchgesetzt. Neben persistierendem unklarem Fieber und erhöhten Leberwerten (insbesondere der alkalischen Phosphatase) sind die typischen Befunde der bildgebenden Verfahren wegweisend für die Diagnose [15]. Der histologische Nachweis von *Candida* spp. aus Biopsiematerial eines befallenen Organes oder aus einer Blutkultur können die Diagnose sichern [115]. Im Spätverlauf der systemischen Candidainfektion kann es auch zu einer Endokarditis kommen [77].

Harnwegsinfektionen durch *Candida* spp. bleiben oft klinisch stumm oder zeigen Symptome einer Niereninsuffizienz, Zystitis oder eines Steinleidens [166].

Die Pilzendophthalmitis manifestiert sich als Uveitis posterior mit weißlichen Glaskörperinfiltraten.

#### 1.4.2. Aspergillosen

Aspergillen werden als aerogen übertragene Pilze durch Inhalation aufgenommen [83, 166]. Aspergillus spp. können im Respirationstrakt drei unterschiedliche Krankheitsbilder verursachen: die invasive Aspergillose, das Aspergillom und die allergische Aspergillose.

Bei hämatologischen Patienten kommt es in zunehmenden Maße zu invasiven Aspergillosen der Lunge mit raschem Verlauf und hoher Mortalität [99, 131]. Das klinische Bild verläuft wie bei einer akuten bakteriellen Pneumonie mit atemabhängigen Thoraxschmerzen, Fieber, Husten, Dyspnoe und Tachykardien. Hämoptysen treten im Frühstadium selten auf, dafür typischerweise während und nach der Knochenmarkregeneration (Gefahr der Gefäßwandruptur durch Einwanderung von neutrophilen Granulozyten) [131].

Bei Patienten mit chronisch pulmonalen Erkrankungen (Tuberkulose, Sarkoidose, Asbestose, Emphysemen oder anderen Tumoren der Lunge) kann es zur Ausbildung von Aspergillomen in präformierten Kavernen der Lunge kommen. Die Invasionstendenz des Aspergilloms bleibt gering. Die Patienten sind häufig beschwerdefrei oder zeigen Symptome wie produktiven Husten, Dyspnoe und Gewichtsverlust.

Eine Aspergillussinusitis geht oft einher mit Fieber, Gesichtsschwellung und Gesichtsschmerzen und führt zur Obstruktion der Nasennebenhöhlen durch fötide Pseudomembranen und pilzhaltige tumoröse Massen.

Die hochletale disseminierte Aspergillose verursacht zunächst Symptome einer Sepsis. Sie kann zum Befall von ZNS, Niere, Herz, Magen und Haut führen.

#### 1.4.3. Mukormykosen (Zygomycose)

Im Vergleich zu Aspergillosen sind Mukormykosen relativ selten. Als wichtigster Erreger gilt Rhizopus arrhizius. Der Ausgangspunkt der Infektion befindet sich meist im oberen (Sinusitis, rhinozerebrale Manifestation) oder unteren Respirationstrakt (Pneumonie). Bei der pulmonalen Manifestation der Erkrankung sind Symptome wie Husten, Dyspnoe, Hämoptysen, Pleuraschmerzen und Tachykardien vorrangig. Pulmonale Massenblutungen kommen nicht selten vor.

#### 1.4.4. Kryptokokkose

Kryptokokkus-Infektionen sind überwiegend bei Patienten mit chronischer zellulärer Immunsuppression anzutreffen und befallen typischerweise HIV-infizierte Personen. Die ZNS-Infektion durch Kryptokokken stellt die häufigste Ursache einer Pilzmeningitis dar. Über die Inhalation kontaminierter Luft gelangt der Erreger zunächst in die Lungen und kann hier zu einer Pneumonie führen mit möglicher anschließender cerebraler Disseminierung. Symptome können Kopfschmerzen, Verwirrtheit, Hirndruckzeichen oder Hirnnervenpareesen sein.

## **1.5. Prophylaxe von Pilzinfektionen**

Die hohe Inzidenz, die begrenzten diagnostischen und therapeutischen Möglichkeiten, und die hohe Letalität von Mykosen bei immunsupprimierten Patienten legen die große Bedeutung der antimykotischen Prophylaxe nahe. Dazu gehören:

- Allgemeine Maßnahmen
- Expositionsprophylaxe
- Chemoprophylaxe
- Supportive Maßnahmen

### **1.5.1. Allgemeine Maßnahmen**

Allgemeine Maßnahmen zur Prophylaxe von Pilzinfektionen müssen sich nach dem Übertragungsmodus des jeweiligen Erregers richten [147]. Sproßpilze, besonders *Candida* spp. kommen als Kommensale im Gastrointestinaltrakt vor [121]. Maßnahmen wie regelmäßige Händedesinfektion von Ärzten und Pflegepersonal [31, 118], kritischer Umgang mit Antibiotika, Vermeidung zentralvenöser und Blasenkatheter, keimarme Nahrung und Vermeidung der Anwendung verunreinigter Infusionslösungen, können zur Reduktion systemischer Pilzinfektionen, vor allem Candidainfektionen führen [82, 147].

Aspergilluspezies werden aerogen übertragen. Ihr Reservoir sind in erster Linie organische Materialien wie Pflanzen, Lebensmittel (z.B. Nüsse, Pfeffer, Vollkornprodukte u.ä.) oder das Erdreich. Eine Luftkontamination mit Aspergillussporen kann durch die Eliminierung von Topfpflanzen, die Einschränkung von Bauarbeiten in der Umgebung [1] und das Schließen von Fenstern auf natürlich belüfteten Stationen, eingeschränkt werden [150]. Beim Verlassen der Station sollten alle infektionsgefährdeten Patienten einen Mundschutz tragen.

### **1.5.2. Expositionsprophylaxe mit Luftfiltersystemen**

Da Aspergillussporen in der normalen Raumluft nachweisbar sind, muss insbesondere in Räumen, in denen Hochrisikopatienten behandelt werden, die Konzentration an Sporen in der Luft gesenkt werden. Dazu gibt es Klimaanlage mit Hochleistungs-Schwebstoff-Filtern (HEPA-Filter, high-efficiency particulate air filtration), wobei die Luft mehrfach pro Minute den Filter passiert und Partikel bis zu einer Größe von 0,3 µm aufhält. Eine zusätzliche LAF-Einheit (laminar air flow) bedeutet einen gerichteten Luftstrom mit Luftzu- und ableitung, welche garantiert, dass sich die Luft gradlinig und parallel durch den Raum bewegt. Eine Überdruckbelüftung ist ebenfalls sinnvoll, denn dabei wird der Luftdruck in den Patientenzimmern über dem des Korridors gehalten (10-20% mehr zuzus abgeleitete Luft).

Durch die Unterbringung von Hochrisikopatienten in Räumen mit Hochleistungsluftfiltration, LAF und Überdruckbelüftung kann die Inzidenz von invasiven Aspergillosen gesenkt werden [38, 62, 84, 128, 134, 150].

Rhame (et al. 1984) berichtet von einer Reduktion der Aspergillose-Inzidenz bei KMT-Patienten aufgrund von dezentralen raumständigen HEPA-Filtern von 18 auf 5%. Cornet (et al. 1999) zeigte die Wirksamkeit von HEPA-Filtern unter normalen Bedingungen auf, weist jedoch daraufhin, dass während einer Renovierungsphase zusätzliche Maßnahmen (laminar air flow) erforderlich waren.

### 1.5.3. Chemoprophylaxe

Die lokale Chemoprophylaxe, besonders für Hefepilze scheint sinnvoll, da Hefepilzmykosen meist endogenen Ursprungs sind und durch die Prophylaxe eine Überwucherung und Ausbreitung der Pilze verhindert werden kann. Nicht resorbierbare Polyene wie **Amphotericin B** und **Nystatin** wirken nach oraler Gabe nur lokal im Verdauungstrakt. Das Wirkspektrum von Nystatin erfasst nur *Candida* und *Cryptococcus*. Im Gegensatz dazu richtet sich Amphotericin B zusätzlich gegen andere klinisch relevante Pilze wie *Aspergillus* spp. [178]. Da der Oropharynx und das Ileum häufig mit *Candida* spp. kolonisiert sind, wurde schon frühzeitig im Rahmen der selektiven Darmdekontamination eine Kombination aus einer nicht-resorbierbaren Amphotericin B Suspension und Nystatin Dragees erfolgreich eingesetzt [181]. Bei der selektiven Darmdekontamination (SDD) soll eine möglichst weitgehende Beseitigung der normalen mikrobiellen, auch fakultative Krankheitserreger enthaltenden Darmflora und/oder von fakultativen Pilzerregern (z.B. *Candida*) durch orale nichtresorbierbare Antibiotika und/oder Antimykotika erreicht werden. Die Erfahrungen haben gezeigt, dass orale Polyene die Kolonisierungsrate und die Inzidenz oberflächlicher Mykosen verringern konnten, ohne aber die Inzidenz von systemischen Mykosen zu beeinflussen. Eine prophylaktische Wirksamkeit gegenüber Aspergillusinfektionen kann aufgrund der fehlenden Resorption von oralem Amphotericin B und des aerogenen Übertragungsweges nicht erwartet werden [159].

Eine Reduktion invasiver Aspergillosen durch die Sanierung des Respirationstraktes, der Nase und der Nasennebenhöhlen als Eintrittspforte für Aspergilluspezies, kann mit Amphotericin B Intranasal-Sprays [112] und inhalativen Amphotericin B-Aerosolen [2, 12, 14] erreicht werden.

Das zur systemischen Prophylaxe intravenös verabreichte **Miconazol** konnte sowohl die Kolonisierungsrate durch *Candida*-Spezies senken als auch die Inzidenz oberflächlicher und systemischer Infektionen [195]. Da eine Wirksamkeit gegenüber *Aspergillus* spp. fehlt und Nebenwirkungen wie Herzrhythmusstörungen und gastrointestinale Beschwerden auftreten können, wurde diese Art der Prophylaxe wieder verlassen [111].

**Ketoconazol**, ein Azolderivat zeigt oral appliziert eine systemisch-fungistatische Wirkung. Die Kolonisierung mit *Candida*-Spezies, das Auftreten oberflächlicher Schleimhautinfektionen und die Inzidenz systemischer Mykosen werden durch Ketoconazol vermindert [167]. Nachteile der Substanz liegen in der fehlenden Wirksamkeit gegenüber *Aspergillus*-Spezies, variablen oralen Bioverfügbarkeit, potentiellen Hepatotoxizität, möglicher Selektion von *Torulopsis glabrata*, welche unempfindlich gegen Azolderivate sind, starker Interaktion mit anderen Medikamenten und der Steroidsynthese [110]. Aus diesen Gründen wurde die antimykotische Prophylaxe mit Ketoconazol bei neutropenischen Patienten weitgehend wieder verlassen [37].

Tabelle 1: Antimykotische Substanzen

	Wirkspektrum	Nebenwirkungen	Applik. form
<b>Azole</b>			
Miconazol	Candida spp. Aspergillus spp. (mäßig)	gastrointestinal, kardiotoxisch, lokale Thrombophlebitis	iv
Ketoconazol	Candida spp. (mäßig) Cryptococcus	nephrotoxisch, gastrointestinal, endokrine Störungen	p.o. topisch
Fluconazol	Candida spp., aber Resistenz gegen C. krusei Cryptococcus	gelegentlich gastrointestinal, kurzfristiger Anstieg der Leberenzyme	iv p.o.
Itraconazol	Candida spp. Aspergillus spp. Cryptococcus Coccidoides	gastrointestinal, hepatotoxisch	iv p.o.
Voriconazol	Candida spp. Aspergillus spp. Cryptococcus Coccidoides	Sehstörung (dosisabhängig), Exantheme, Anstieg der Leberenzyme	iv p.o.
<b>Polyene</b>			
Amphotericin B	Candida spp. Aspergillus spp. Cryptococcus Coccidoides Mucorales	nephrotoxisch, myelotoxisch, hepatotoxisch, Fieber, Schüttelfrost, Hypokaliämie	iv p.o.
Nystatin	Candida spp.	Hypokaliämie	p.o. iv- (liposomal)
<b>Echinocandin</b>			
Caspofungin	Candida spp. (auch azol- resistente Stämme) Aspergillus spp.	gering Fieber, Thrombophlebitis, Anstieg der Leberenzyme	iv
<b>Antimetabolite</b>			
Flucytosin	Candida spp. Aspergillus spp. Cryptococcus Cave: rasche Resistenzentwicklung	gastrointestinal, hepatotoxisch, myelotoxisch	iv p.o.

Die Einführung des Azolderivates **Fluconazol** brachte die Möglichkeit einer oralen und parenteralen antimykotischen Prophylaxe. Es ist oral und iv schnell bioverfügbar und verteilt sich gut in Gewebe und Liquor. Allerdings weist es eine unzureichende Wirksamkeit gegenüber einigen seltenen non-albicans Candida Arten (*C. krusei* und *C. glabrata*) sowie *Aspergillus* spp. auf. Die antimykotische Prophylaxe mit Fluconazol wurde in verschiedenen Dosierungen (50-400 mg/d) untersucht, wobei die Empfehlungen uneinheitlich bleiben [81, 139]. Einige Autoren berichten auch über eine Zunahme von *Candida krusei* und *Candida glabrata* Infektionen unter Fluconazol-Prophylaxe [107, 110, 193], sowie einer möglichen Selektion von *Candida glabrata* [194]. Weiterhin zeigen einige *Candida* spp., speziell auch *Candida albicans* eine zunehmende Resistenz gegenüber Fluconazol [126, 146]. Die prophylaktische Gabe von Fluconazol kann das Auftreten von Pilzinfektionen vermindern [51, 58, 97, 108, 139, 191, 196]. Die Substanz ist zur Prophylaxe invasiver Mykosen dort gut geeignet, wo *Aspergillus*-, *Candida krusei*- oder *Candida glabrata*-Infektionen nur selten zu erwarten sind.

**Itraconazol** ist im Vergleich zu Fluconazol auch gegen *Aspergillus* spp. wirksam. Die Resorption aus dem Gastrointestinaltrakt ist schlecht vorhersehbar, da diese abhängig von der Nahrungsaufnahme und dem Magensaft-pH variieren kann. Die Kapsel-Form hat im Vergleich zur Itraconazol-Schlucklösung besonders bei neutropenischen Patienten eine deutlich schlechtere Bioverfügbarkeit [27]. Die antimykotische Prophylaxe mit 400 mg Itraconazol-Kapseln konnte keine Reduktion von systemischen Mykosen, insbesondere auch keinen messbaren Effekt auf die Inzidenz von *Aspergillus*infektionen zeigen [122, 159]. Die Itraconazol-Schlucklösung scheint in der Prophylaxe ähnlich effektiv zu sein wie Fluconazol [100]. Eine prophylaktische Wirksamkeit gegenüber invasiven *Aspergillo*sen war nicht zu erzielen [109]. In einer Metaanalyse zur antimykotischen Prophylaxe mit Itraconazol konnte allerdings gezeigt werden, dass invasive Pilzinfektionen bei neutropenischen Patienten seltener auftreten und bei Gabe der Schlucklösung auch die Mortalität durch invasive Pilzinfektionen gesenkt wird [56]. Weitere Studien bleiben abzuwarten, bevor eine abschließende Beurteilung der Substanz in der antimykotischen Prophylaxe bei neutropenischen Patienten möglich ist.

In der Hoffnung, durch eine systemische antimykotische Prophylaxe, auch *Aspergillus*infektionen vorzubeugen, wurde prophylaktisch intravenöses **Amphotericin B** in niedrigen Dosierungen von 0,1 mg/kg Körpergewicht pro Tag bis 0,5 mg/kg Körpergewicht dreimal pro Woche eingesetzt [20]. Allerdings scheint die prophylaktische Wirksamkeit nicht besser als die von Fluconazol (400 mg täglich) zu sein, bei schlechter Verträglichkeit. Ob niedrig dosiertes systemisches Amphotericin B auch Wirksamkeit gegen *Aspergillen* zeigt, muss derzeit noch offen bleiben, da bisher nur überwiegend retrospektive Untersuchungen vorliegen [125, 157]. Die iv Applikationsform des konventionellen Amphotericin B mit dem Lösungsvermittler Desoxycholat ist schlecht verträglich [157]. Aufgrund der Toxizität, besonders der Nephrotoxizität des intravenösen Amphotericin B wird die Routine-Anwendung als antimykotische Prophylaxe bei neutropenischen Patienten nicht empfohlen. Zur Sekundärprophylaxe bei Patienten mit stattgehabten *Aspergillus*infektionen wurde intravenöses Amphotericin B in therapeutischen Dosierungen (bis zu 1,0 mg/kg Körpergewicht)

eingesetzt. Das deutlich geringere Toxizitätsprofil von liposomalem Amphotericin B ermöglicht eine Dosissteigerung. Der Einsatz von liposomalen Amphotericin B als antimykotische Prophylaxe scheint effektiv [176], kann aber aufgrund hoher Kosten nicht routinemäßig für die prophylaktische Anwendung eingesetzt werden (Rote Liste: konventionelles Amphotericin B<sup>®</sup> 50 mg 84,75 € AmBisome<sup>®</sup> 50 mg 204,15 €).

#### 1.5.4. Supportive Maßnahmen

Die hämatopoetischen Wachstumsfaktoren G-CSF und GM-CSF fördern die Proliferation und Differenzierung von Vorläuferzellen der Granulopoese bzw. der Monozytopoese. Der Einsatz hämatopoetischer Wachstumsfaktoren G-CSF und GM-CSF nach myeloablativer Chemotherapie fördert die Neubildung von Granulozyten und verkürzt die Neutropeniedauer mit daraus resultierender Senkung der Neutropenie-assoziierten Infektionsrate [23, 92, 129]. G-CSF und GM-CSF führen in vitro zu einer Steigerung der phagozytischen und fungiziden Eigenschaften der neutrophilen Granulozyten [119].

### **1.6. Diagnostik von Pilzinfektionen**

Die Diagnostik systemischer Pilzinfektionen gestaltet sich schwierig, häufig wird eine sichere Diagnose erst post mortem gestellt. Da eine nur auf klinischen Kriterien basierende Diagnostik für systemische Pilzinfektionen nicht existiert, sind weitere Untersuchungen unerlässlich, dazu zählen:

- Direkte mikroskopische Untersuchung des Primärpräparates
- Kulturelle Untersuchungen zur Erregerdifferenzierung
- Immunologische Untersuchungsmethoden
- Molekularbiologische Verfahren

#### 1.6.1. Klinische und apparative Diagnostik

Das persistierende neutropenische Fieber trotz Breitspektrumantibiose ist oft das erste Anzeichen für das Vorliegen einer systemischen Pilzinfektion. Der Nachweis von lokalen Infektzeichen, wie eine Pilzbesiedelung des Oropharynx, der Haut und Ösophagiten können hilfreich für die Diagnostik sein. Abdominelle Beschwerden und Durchfälle geben Hinweise für eine Candidainfektion des Darmes.

Die konventionelle röntgenologische Thoraxdiagnostik steht an erster Stelle der bildgebenden Verfahren in der Diagnostik pulmonaler Infektionen. Da ein negativer Befund bei bestehender klinischer Symptomatik eine solche Infektion nicht ausschließt, sollte ein hochauflösendes Computertomogramm der nächste diagnostische Schritt sein. Bei 40-50% febriler neutropenischer Patienten, die nicht auf eine Breitspektrumantibiose ansprechen, kann trotz normalem Röntgenthorax-Befund im HR-CT der Verdacht einer invasiven pulmonalen Aspergillose gestellt werden [68].

Zur Erregersicherung oder Abgrenzung nichtinfektiöser Lungeninfiltrate dient die Bronchoskopie mit einer bronchoalveolären Lavage (BAL), wobei dieses invasive diagnostische Verfahren aufgrund eines

schlechten klinischen Zustandes des Patienten oder einer transfusionsrefraktären Thrombozytopenie oft nur begrenzt einsetzbar ist.

Bei Fieberpersistenz trotz adäquater antibiotischer Therapie und fehlendem Nachweis eines pulmonalen Infiltrates im konventionellen Röntgenbild, sollten klinische und radiologische Untersuchungen der Nasennebenhöhlen, des Thorax (CT), des Abdomen (Sonographie ggf. MRT/ CT), eine Untersuchung des Augenhintergrundes (zum Ausschluss einer Candida-Endophthalmitis) und der Herzklappen (Echokardiographie) erfolgen [24, 94].

### 1.6.2. Mikroskopie und Kultur

Eine mikroskopische Untersuchung sollte aus jedem Untersuchungsmaterial erfolgen. Der Vorteil besteht in der schnellen und einfachen Methodik, die aber nur zu einer Vermutungsdiagnose führen kann [189] und lediglich die Abgrenzung von Schimmelpilzen gegenüber Hefen ermöglicht.

Der kulturelle Pilznachweis gilt als das sicherste und empfindlichste diagnostische Verfahren, mit allerdings erheblichen Zeitaufwand [189]. Kulturen sind weiterhin notwendig um Sensibilitätstestungen vorzunehmen.

Blutkulturen bleiben die wichtigste Quelle um Candida spp. und andere Hefen im Blut nachzuweisen. Im Gegensatz dazu werden Schimmelpilze äußerst selten gefunden [102]. Die Differenzierung des Kulturmaterials in C. albicans und C. non-albicans ist zu empfehlen.

### 1.6.3. Serologie

Die Serodiagnostik von Pilzinfektionen umfasst den Nachweis von Antikörpern gegen Pilzantigene und den Nachweis von Antigenen. Die serologischen Methoden sind in der Diagnostik unverzichtbar, erlauben jedoch keine zuverlässigen Aussagen und können insbesondere bei neutropenischen Patienten nicht wesentlich zur Frühdiagnose beitragen [43].

Der Pastorex<sup>®</sup> Aspergillus-Test erfasst mit hoher Spezifität aber unbefriedigender Sensitivität ein Zellwand-Galactomannan-Antigen. Ein negativer Nachweis des Aspergillus-Antigen besitzt keinen Ausschlusswert. Der Platelia<sup>®</sup> Test ist im Vergleich dazu deutlich sensitiver und spezifischer [96]. Aspergillus-Antikörper können durch den indirekten Hämagglutinationstest nachgewiesen werden. Während die Spezifität dieser Tests akzeptabel ist, muss die Sensitivität als unbefriedigend bewertet werden [78].

Der Pastorex<sup>®</sup> Candida-Test weist ein Mannan-Antigen bei guter Spezifität, während die Sensitivität jedoch unbefriedigend bleibt [67]. Da auch pathogene Hefen beim Menschen in der Transientflora vorkommen können, liegt der Grenzwert im indirekten Candida-Hämagglutinationstest (CHAT) mit 1:160 und im indirekten Immunfluoreszenztest (CIFT) mit 1:80 relativ hoch. Der CHAT weist überwiegend Antikörper der Immunglobulinklasse IgM nach, aber auch IgA und IgG, während der CIFT Antikörper der Immunglobulinklasse IgG erfasst. Ein Vergleich ermöglicht Aussagen über die Krankheitsphase [116]. Von der Arbeitsgemeinschaft Infektionen in der Hämatologie und Onkologie

wird die Bestimmung von Candida Antikörpern- und Antigenen als Routineparameter nicht empfohlen [24].

In Abhängigkeit von der Immunsituation der Patienten sind Antikörperbestimmungen nur bedingt aussagefähig. Wie bei allen serologischen Bestimmungen ist nur die Titerdynamik wegweisend. In der Phase der Neutropenie sind Antigenbestimmungen zu bevorzugen [64]. Insgesamt ist der Wert der derzeit zur Verfügung stehenden serologischen Methoden umstritten, zumal auch der Vergleich verschiedener Labore erhebliche Unterschiede gezeigt hat [179].

#### 1.6.4. Molekularbiologische Diagnostik

Da Blutkulturen z.B. bei der disseminierten Candidiasis bis zu 75% falsch negativ sein können, versucht man molekularbiologische Methoden in die Candida-Diagnostik einzuführen. Die PCR ermöglicht das Candida-Genom nachzuweisen. Für die Untersuchung kommen ausschließlich sterile Körperflüssigkeiten in Frage. Jedoch ist die PCR angesichts der extrem großen Nachweisempfindlichkeit zugleich auch eine äußerst störanfällige Methode und kann zur Zeit noch nicht als Routinemethode betrachtet werden [24]. Mit einem anderen Aspergillus-spezifischen PCR-Assay konnte im Blut eine Sensitivität von 91,6% und eine Spezifität von 81,4%, in der BAL von 100% bzw. 93,2% gefunden werden [30].

#### 1.6.5. Organbiopsie

Sofern es der klinische Zustand des Patienten erlaubt, sollten pilzverdächtige Herde biopsiert und histologisch sowie mikrobiologisch aufgearbeitet werden [177]. Dies betrifft vor allem Hautstanzen bei verdächtigen Effloreszenzen sowie Biopsien von Lungen- oder Leberherden.

### **1.7. Therapie von Pilzinfektionen**

#### 1.7.1. Candidosen

Bei immunsupprimierten Patienten mit **oropharyngealen Candidainfektionen** kann sowohl eine topische als auch eine systemische antimykotische Therapie durchgeführt werden. Die kostengünstige topische Behandlung (z.B. mit Nystatinlösung) erfolgt nach dem „Spül- und Schlucken Prinzip“. Bei Intolerabilität oder Versagen wird eine systemische Therapie mit Azolderivaten (Fluconazol, Itraconazol) durchgeführt [25].

Für die **Candida-Ösophagitis** sollte Fluconazol (200 mg/ Tag) oder Itraconazol-Lösung (200 mg/Tag) gegeben werden [148, 190]. Bei Versagen der Azole hat sich Amphotericin B (0,5 mg/kg pro Tag iv) oder Caspofungin (50 mg/Tag, loading dose Tag 1: 70 mg) als erfolgreich erwiesen. Alternativ kann bei schweren, fluconazolresistenten Infektionen Voriconazol (2x4 mg/kg/Tag iv/p.o., loading dose Tag 1: 2x6 mg/kg iv/p.o.) eingesetzt werden [3].

Für die Initialtherapie der **Candidämie** stehen Fluconazol (falls keine Azol-Prophylaxe durchgeführt wurde), konventionelles Amphotericin B, Caspofungin und Voriconazol zur Verfügung. *C. krusei* ist in aller Regel Fluconazol-resistent und darf nicht mit Fluconazol behandelt werden [25].

Zur Therapie der **hepatolienalen Candidiasis** stehen Fluconazol und Amphotericin B (Ansprechen in 50 %) zur Verfügung. Da Fluconazol bei Amphotericin B-Versagern mit Erfolg eingesetzt wurde, hat sich die Primärtherapie des nicht mehr neutropenischen Patienten in klinisch stabilen Zustand mit Fluconazol (400-800 mg/ Tag) durchgesetzt und erst bei Progredienz wird ein Wechsel auf Amphotericin B (0,7-1,0 mg/kg/Tag) empfohlen [5]. Randomisierte Therapiestudien dazu oder Vergleiche einer Therapie mit Itraconazol liegen allerdings nicht vor [25].

Zur Therapie der **Candidameningitis** wird in Anlehnung an die Ergebnisse bei Kindern eine Kombination aus Amphotericin B (0,7-1 mg/kg/Tag) und 5-Flucytosin (4x37,5 mg/kg/Tag) empfohlen [148]. Die Therapie sollte 4 Wochen über den Rückgang der Manifestationen hinaus durchgeführt werden [148]. Über Therapieversuche mit liposomalem Amphotericin B und Fluconazol liegen lediglich Fallberichte vor. Aufgrund der guten Liquorgängigkeit könnte Voriconazol eine therapeutische Alternative darstellen [25].

Es besteht Konsens, eine systemische antimykotische Therapie bei persistierender oder symptomatischer **Fungurie** zu beginnen [25]. Medikation der Wahl ist Fluconazol über 7-14 Tage, das vorwiegend unverändert renal ausgeschieden wird. Als Dosis wird zumeist 200 mg/Tag empfohlen. Amphotericin B (0,7-1mg/kg/Tag) stellt die therapeutische Alternative dar [169].

### 1.7.2. Aspergillosen

Bei immunsupprimierten Patienten treten am häufigsten Aspergillusinfektionen der Lunge, der Nasennebenhöhlen, des Gehirns, der Haut und die disseminierten Krankheitsformen auf. Die invasive pulmonale Aspergillose zeichnet sich durch einen raschen Verlauf und eine hohe Mortalität aus.

Die Therapie mit konventionellem Amphotericin B in Dosen von 1-1,5 mg/kg pro Tag stellt bisher den therapeutischen Standard dar, wobei die optimale Dauer der Therapie unbekannt und individuell verschieden ist [45, 147, 171]. Das entscheidende Kriterium ist das Ansprechen auf die Therapie. Bei neutropenischen Patienten sollte die Therapie mindestens bis zum Ende der Neutropenie fortgeführt werden. Nebenwirkungen der Amphotericin B-Therapie wie Fieber und Schüttelfrost lassen sich durch Prä- und Komedikation in der Regel gut beherrschen. Langzeitnebenwirkungen wie Anämie, Nierenschädigung und Hypokaliämie führen oft zur Dosislimitierung.

Die Kombinationstherapie von Amphotericin B mit 5-Flucytosin wird nicht selten praktiziert, es gibt jedoch keinen Beleg für eine höhere klinische Effektivität.

Alternativ kann liposomales Amphotericin B (1-5 mg/kg, Herstellerempfehlung: 3 mg/kg) angewendet werden, das sich durch weniger Nebenwirkungen auszeichnet, aber auch deutlich teurer ist [185]. Die therapeutische Effektivität kann im Vergleich zum konventionellen Amphotericin B als mindestens ebenbürtig belegt werden [90, 185].

Therapeutische Alternativen liegen auch im Bereich der Azol-Derivate. Therapieerfolge durch Itraconazol sind beschrieben [32, 172], wobei randomisierte Studien mit größeren Patientenzahlen noch fehlen. Zur Überbrückung eines ambulanten Intervalls bis zur Fortsetzung einer Chemotherapie

oder einer Hochdosistherapie mit Knochenmark- oder Stammzelltransplantation bietet sich eine dauerhafte orale Verabreichung von Itraconazol (2x200 mg/ Tag) an [45, 135, 171].

Voriconazol ein anderes Azol-Derivat ist wirksam in der Therapie invasiver Aspergillosen. In einer Vergleichsstudie zur Primärtherapie invasiver Aspergillosen mit konventionellem Amphotericin B war Voriconazol signifikant besser [66].

Eine weitere seit Oktober 2001 zugelassene Therapieoption ist Caspofungin in einer Startdosis von 70 mg iv am ersten Tag und anschließend 50 mg iv täglich. Caspofungin ein neues Echinocandin-Antimykotikum zeichnet sich durch Verträglichkeit aus. Die Ansprechraten betragen bei invasiven Aspergillosen nahezu 50% [61, 79]. In einer Vergleichsstudie von Caspofungin mit Amphotericin B in der Therapie der invasiven Candidiasis zeigte sich Caspofungin mindestens gleichwertig zu Amphotericin B mit besserer Verträglichkeit [114].

Die Studienergebnisse deuten daraufhin, dass Amphotericin B als Standardtherapie in der Behandlung der invasiven Aspergillose durch die neuen antimykotischen Substanzen ersetzt werden könnte [160].

Die Therapieempfehlungen für Aspergillome bleiben nach wie vor uneinheitlich und reichen von der konservativen Therapie über eine lokale oder systemische antimykotische Therapie bis hin zur chirurgischen Resektion.

### 1.7.3. Mucormykosen

Die medikamentöse Therapie besteht aus Amphotericin B in einer Dosierung von 1-1,5 mg/kg Körpergewicht pro Tag. Bei zusätzlicher operativer Sanierung besteht eine geringere Letalität als mit antimykotischer Therapie alleine [25]. Nach bisherigen Erfahrungen mit den derzeit zur Verfügung stehenden Azolen besteht keine ausreichende Aktivität gegen Mucoraceae.

### 1.7.4. Infektionen durch Cryptococcus neoformans

Die Behandlung besteht in einer Kombination aus systemischer Amphotericin B Gabe mit einer Tagesdosis von 0,7-1,0 mg/kg mit 5-Flucytosin (100-150 mg/kg/Tag) über einen Zeitraum von 6 bis 8 Wochen, gefolgt von einer Erhaltungstherapie mit Fluconazol [25].

### 1.7.5. Antimykotische Frühtherapie (empirische versus gezielte Therapie)

Die Prognose systemischer Mykosen hängt entscheidend von der schnellen Initiierung einer wirksamen antimykotische Behandlung ab. Der Nachweis einer Pilzinfektion, besonders von Aspergillosen gestaltet sich schwierig. Beispielsweise sind bei histologisch oder autoptisch gesicherten Aspergilluspnemonien nur in weniger als 50% der Fälle eine Diagnosesicherung durch Bronchoskopie mit BAL erzielt worden.

Eine empirische antimykotische Therapie definiert sich durch das Einleiten einer systemischen Therapie bei einem neutropenischen und febrilen Patienten nach 3-7 Tagen Breitspektrumantibiose ohne klinische, laborchemische oder radiologische Hinweise auf den Infektionsherd [160].

In Studie 2 der Paul-Ehrlich-Gesellschaft wurde festgestellt, dass durch die empirische Therapie mit Amphotericin B bei neutropenischen Patienten mit Lungeninfiltraten deutlich bessere Ansprechraten

von knapp 80% gegenüber dem früheren Vorgehen einer antimykotischen Therapie erst bei Versagen einer breiten antibakteriellen Therapie erreicht werden konnte [104].

Der frühzeitige Einsatz einer empirischen antimykotischen Therapie mit Amphotericin B reduziert die Inzidenz und Mortalität von systemischen Pilzinfektionen [186]. Im Vergleich von intravenös verabreichtem Itraconazol (2x200 mg/d) mit konventionellem Amphotericin B (0,7-1,0 mg/kg/d) war das Ausbrechen der Pilzinfektion und die Mortalität in beiden Gruppen gleich, wobei das Ansprechen auf die Therapie und die Verträglichkeit für Itraconazol besser erschien [26]. In einer Vergleichsstudie von Voriconazol und liposomalem Amphotericin B bei neutropenischen Patienten mit Antibiotika-refraktärem Fieber kam es bei 33% unter Voriconazol versus 36% unter Amphotericin B zur Entfieberung. Unter Voriconazol wurden im Vergleich zu Amphotericin B weniger Durchbruchspilzinfektionen (8 vs. 21; p=0,02) beobachtet. Das Gesamtansprechen war allerdings nicht signifikant unterschiedlich (26% vs 31%), allerdings zeichnete sich ein Trend zum Vorteil von liposomalem Amphotericin B ab [187].

Amphotericin B (konventionelles und liposomales), Itraconazol und Voriconazol sind für die empirische antimykotische Therapie einsetzbar.

## **2. Zielsetzung**

1. Systemische Pilzinfektionen stellen für hämatologische Patienten eine besondere Gefahr dar und sind mit einer hohen Mortalität assoziiert. In den letzten Jahrzehnten hat die Inzidenz dieser Infektionen bei prädisponierten Patienten deutlich zugenommen [11, 17, 48, 54, 103, 175]. Ziel der vorliegenden Arbeit war eine Analyse der zwischen Januar 1995 und Dezember 1999 aufgetretenen Pilzinfektionen auf einer hämatologisch-onkologischen Station der Martin-Luther Universität Halle (KIM 10). Dabei sollte die Frage beantwortet werden, ob die 1997 auf der hämatologisch onkologischen Station installierte Klimaanlage mit Überdruckbelüftung und Hochleistungs-Schwebstoff-(HEPA-) Filtern die Inzidenz invasiver Pilzinfektionen, insbesondere der invasiven Aspergillosen, senken konnte. Untersucht wurden weiterhin epidemiologische Trends, Erregerspektrum, Risikofaktoren, antimykotische Prophylaxeergebnisse und Resistenzverhalten von Pilzinfektionen.
2. Im letzten Jahrzehnt ist die Inzidenz invasiver Aspergillosen deutlich gestiegen [83, 99, 103, 188]. Da die diagnostischen und therapeutischen Möglichkeiten bei dieser Infektion unbefriedigend sind, kommt der Prophylaxe eine erhebliche Bedeutung zu [82, 128, 161, 197]. Invasive Aspergillosen werden in der Regel durch Inhalation von Sporen erworben. Daher spielt die Exposition mit Aspergillussporen für die Pathogenese dieser opportunistischen Infektion eine entscheidende Rolle [150]. Durch mykologisch-hygienische Untersuchungen vor und nach Installation einer Klimaanlage mit Überdruckbelüftung und Hochleistungs-Schwebstoff-(HEPA-) Filtern auf der hämatologisch-onkologischen Station (KIM 10) wurde die Kontamination mit Pilzsporen, insbesondere Aspergillus spp. dokumentiert. Dabei sollte erfasst werden, wie effizient diese Klimaanlage Aspergillussporen in verschiedene Stationsbereichen und zu unterschiedlichen Zeitpunkten eliminieren kann.
3. Ein zuverlässiger Zusammenhang zwischen dem Sporengehalt der Luft und der Häufigkeit von Aspergillusinfektionen ist bislang nicht nachgewiesen worden [73, 98, 152]. Die vorliegende Arbeit analysiert gleichzeitig die Ergebnisse der mykologisch-hygienischen Untersuchungen und aufgetretenen Pilzinfektionen, um eine mögliche Korrelation zu erfassen.

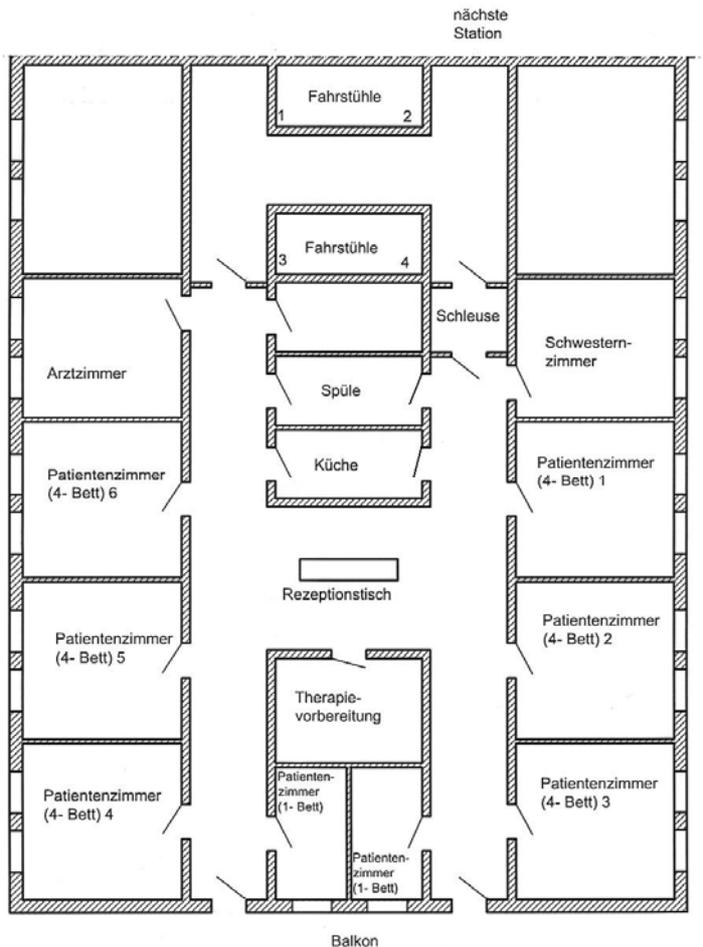
### 3. Material und Methoden

#### 3.1. Mykologisch-hygienische Untersuchungen zur Kontamination der Station KIM 10

Zwischen Juni 1997 und Dezember 1997 wurde die Station Hämatologie/ Onkologie der Klinik für Innere Medizin der Universität Halle-Wittenberg (KIM 10) einer umfangreichen Renovierung mit Einbau einer Klimaanlage mit Hochleistungs-Schwebstoff- (HEPA-) Filtern und Überdruckbelüftung

(Luft entweicht bei Türöffnung nach außen) unterzogen. Die Station befindet sich im obersten Stockwerk eines zehngeschossigen Hochhauses, das in den 70iger Jahren erbaut wurde. Die acht Patientenzimmer der Station bestehen aus sechs Vier-Bett-Zimmern und zwei Einzelzimmern. Die ersten drei der Vier-Bett-Zimmer befinden sich auf der Nordost (NO)-Seite des Gebäudes und drei weitere Zimmer auf der gegenüberliegenden Südwest (SW)-Seite. Auf beiden Seiten befinden sich Flure, die miteinander verbunden sind.

In der Umbauphase wurden die Patienten auf einer anderen Station mit natürlicher Belüftung behandelt. Diese Station befindet sich in einem anderen Gebäude mit ähnlichen baulichen Voraussetzungen.



**Die Station vor dem Umbau:** Die Belüftung der Räume erfolgte manuell, d.h. durch Öffnen und Schließen der Fenster.

**Die Station nach dem Umbau:** Die installierte Klimaanlage funktioniert nach dem Prinzip des Überdruckes und ist mit Hochleistungs-Schwebstoff-Filtern ausgestattet. Dadurch wird eine gezielte Regulation der Ventilation ermöglicht. Die Station ist durch einen Schleusenraum vom restlichen Krankenhausbereich abgegrenzt.

### 3.1.1. Untersuchungsablauf

In der Zeit zwischen Mai 1997 und September 2002 wurde die hämatologisch-onkologische Station vierfach auf Pilzerreger untersucht (29.05.1997; 09.12.1997; 20.05.1998; 18.09.2002). Dabei stand die Identifikation von Aspergillusarten im Vordergrund.

Die **erste Untersuchung** erfolgte vor dem Umbau der Station und während des normalen Stationsbetriebes, d.h. die Räume waren mit Patienten belegt.

Die **zweite Untersuchung** wurde nach dem Umbau durchgeführt. Die Patientenräume waren einzugsfertig, d.h. möbliert, aber noch nicht bezogen. Eine erste Desinfektion der gesamten Station wurde vorgenommen und die hygienisch-mikrobiologische Überprüfung durch den Krankenhaushygieniker der in Betrieb genommenen Klimaanlage, war erfolgreich abgeschlossen.

Die **dritte Untersuchung** erfolgte während des normalen Stationsbetriebes und funktionierender Klimaanlage. Die Patienten befanden sich während der Messung in den Zimmern.

Die **vierte Untersuchung** erfolgte ebenfalls während des normalen Stationsbetriebes, 5 Jahre nach Inbetriebnahme der Klimaanlage.

Für die Messungen wurden ein Luftkeimeinsammler und Abklatschpräparate verwendet. In jedem der sechs Vierbett-Patientenzimmer erfolgten 2 Luftmessungen und 4 Abklatschuntersuchungen. Damit ergaben sich jeweils 36 Proben an 4 verschiedenen Untersuchungstagen, die alle am Vormittag durchgeführt wurden. Der Luftkeimsammler wurde in etwa einem Meter Höhe auf dem Fensterbrett aufgestellt, wobei während der Messung die Türen und Fenster geschlossen blieben. Auf einem der Fensterbretter und an der Wand, ca. 5 cm vom Fenster entfernt, wurden die Abklatschpräparate angefertigt.

Die Witterungsbedingungen zum Zeitpunkt der Untersuchungen wurden erfasst. Die Wetterdaten stammen von der Wetterstation Halle-Kröllwitz und wurden freundlicherweise vom Deutschen Wetterdienst zur Verfügung gestellt.

### 3.1.2. Nährboden

Für die Abklatschpräparate und die Luftkeimbestimmung wurden der Agarstreifen YM (Biotest®) für Hefen und Schimmelpilze verwendet. Das darin enthaltene Rosa Bengal und Streptomycin hemmen das Bakterienwachstum und gewähren somit Pilzen eine unbeeinträchtigte Entwicklung. Rosa Bengal hemmt das Wachstum grampositiver Bakterien, Streptomycin das Wachstum gramnegativer Bakterien. Die Agarstreifen befanden sich vor ihrer Verwendung in einer etwa 20 cm langen und 34 cm<sup>2</sup> großen Plastikhülle, die durch eine Deckfolie steril verschlossen war.

Die Reinkulturen für die Aspergillusarten wurden auf Kimmig-Agar angelegt, welcher Penicillin, Streptomycin und Griseofulvin als antibiotische Hemmsubstanzen enthält. Dieser Selektivagar eignet sich besonders für pathogene Schimmelpilze. Bei dieser Selektivkultur geht es darum, aus dem Material, dem naturgemäß seiner Herkunft nach eine Mischflora von Mikroben anhaftet, den zu züchtenden Schimmelpilz selektiv als Reinkultur zu gewinnen.

### 3.1.3. Luftkeimsammler (RCS Plus, Biotest)

Der RCS Plus Luftkeimsammler ist ein batteriebetriebenes Gerät, das nach dem Impaktionsprinzip mittels einer Rotorschraube Luft ansaugt und diese auf einen sich im Rotorkopf befindenden Agarstreifen bläst. Für jede Luftprobe wurden 200 Liter Luft angesaugt, was ca. 4 Minuten Sammeldauer entspricht. Danach wurde der Agarstreifen herausgezogen, in die Plastikhülle zurückgeschoben und mit Klebeband verschlossen.

Die Luftkeimzahlen wurden nach folgender Formel berechnet:

$$\text{KBE/ m}^3 = \frac{\text{KBE auf Luftkeimindikator} \times 1000}{\text{angesaugtes Luftvolumen in Liter}}$$

### 3.1.4. Abklatschpräparate

Agarstreifen wurden verwendet, um Wände und Fensterbänke der Patientenzimmer zu untersuchen, indem der Agarstreifen an die zu untersuchende Stelle leicht angedrückt, abgenommen und anschließend sofort in der Plastikhülle verschlossen wurde.

### 3.1.5. Inkubationsdauer und Bebrütungstemperatur

Nach Exposition wurden die Agarstreifen bei 22°C Zimmer- oder 37°C Körpertemperatur für mindestens 7 Tage bebrütet. Am zweiten und siebenten Tag fand eine Kolonienauszählung statt. Die Bebrütungstemperatur gilt als zusätzliches Selektivverfahren, da einige Schimmelpilze wie Aspergillus spp. ein optimales Wachstum bei 37°C zeigen. Um eine Verfälschung der Probenergebnisse durch Lichtschwankungen zu vermeiden, wurden die Kolonien bei völliger Dunkelheit bebrütet.

### 3.1.6. Kolonienzählung und Identifizierung der Pilze

Auf jedem Agarstreifen wurden die Kolonien ausgezählt, dabei entsprach eine Kolonie einer Koloniebildenden Einheit (KBE). Nach der ersten makroskopischen Identifizierung und Kolonienzählung wurden von beiden Gruppen Reinkulturen für Schimmelpilze auf Kimmig-Agar angelegt und bei 37°C bebrütet. Da Aspergillusarten sehr schnell wachsen, waren die Kulturplatten nach 4-6 Tagen vollständig überwuchert.

Auf Grund des sehr schnellen Wachstums und der typischen Pigmentierung können Schimmelpilze bereits makroskopisch leicht von anderen Pilzen unterschieden werden. Für die Beurteilung spielen

Wachstumszeit, Wuchsform, Farbe und Peripherie der Kolonien eine Rolle. Die Schimmelpilze *Aspergillus* und *Penicillium* wachsen samtartig flach auf der Oberfläche eines Nährsubstrates. Auch die verschiedenen *Aspergillus*-Arten können bereits makroskopisch differenziert werden. *Aspergillus fumigatus* wächst anfänglich blau-grün, verfärbt sich aber dann später rauchig-bräunlich. *Aspergillus nidulans* zeigt karamelfarbenes Myzel, während *Aspergillus flavus* eine deutlich olivgrüne Farbe aufweist. *Aspergillus niger* ist an seiner Oberfläche durch tief braun-schwarze Konidien dunkel verfärbt.

Die lichtmikroskopische Identifikation erfolgte mit einer 100- und 400-fachen Vergrößerung. Die für die Gruppen- und Artdiagnose erstellten Prästab- und Agarquetschpräparate wurden nach dem Baumwoll-Laktophenolblau-Verfahren angefärbt. *Aspergillus* spp. bildet Konidienköpfchen aus, welche die Unterscheidung zu anderen Pilzen erleichtert.

Die Betrachtung der Proben, das Anfertigen von Einzelkulturen und mikroskopischen Präparaten erfolgte aufgrund der Kontaminationsgefahr unter einer Laminar-Air-Flow-Sicherheitskabine. Die endgültige Bewertung erfolgte in Zusammenarbeit mit der Universitätsklinik für Dermatologie.

### **3.2. Patientencharakteristik**

In die vorliegende Analyse gingen die Daten von stationären Patienten der Klinik für Innere Medizin IV der Universität Halle-Wittenberg ein.

Die Patienten wurden nach folgenden Kriterien erfasst:

1. Diagnose einer hämatologischen Neoplasie
2. Stationäre Behandlung in der Abteilung für Hämatologie/ Onkologie in der Zeit vom 01.01.1995 - 31.12.1999
3. Durchführung einer Chemotherapie oder stationäre Aufnahme in einer neutropenen Phase

Tabelle 2: Patientendaten

Patientenzahl (n)	319
Anzahl der Behandlungsepisoden (n)	842
Behandlungsepisoden mit Chemotherapie	745
Behandlungsepisoden ohne Chemotherapie	97
Alter: Medianwert	55,0 Jahre
Schwankungsbreite	18-92 Jahre
Geschlecht: männlich	512
weiblich	330

**Retrospektive Untersuchungen:** Die Daten aller in dieser Untersuchung erfassten Patienten wurden zur Betrachtung von Erkrankungsspektrum, Häufigkeit, Inzidenzentwicklung, Prophylaxe, Therapie, Prognose und Erregern von Mykosen genutzt. Es wurden insgesamt 319 Patienten mit 842 Behandlungsepisoden erfasst.

### **3.3. Definitionen**

174 von 319 Patienten wurden wegen langwieriger Therapie, Rezidiven oder Komplikationen mehrfach stationär behandelt. Damit kam es zur Erfassung von insgesamt 842 Behandlungsepisoden.

**Behandlungsepisoden mit Chemotherapie:** Diese wurden als Zeitraum definiert, der mit dem ersten Tag eines Chemotherapiezykluses begann und entweder mit Beginn eines neuen Chemotherapiezykluses oder der stationären Entlassung endete.

**Behandlungsepisoden ohne Chemotherapie:** Dabei wurden stationäre Aufenthalte erfasst, bei denen eine durch die Grunderkrankung bedingte Neutropenie vorlag oder eine weitere stationäre Aufnahme wegen therapiebedingter Komplikationen erfolgte.

#### **3.3.1. Neutropenische Episoden**

Eine neutropenische Episode wurde als Zeitraum definiert, in dem die Anzahl der neutrophilen Granulozyten im peripheren Blut kleiner als 1,0 Gpt/l war. 97 Neutropenie-Episoden wurden erfasst. Davon traten 30 Episoden bei AML-Patienten, 8 bei ALL-Patienten, 6 bei CML-Patienten, 28 bei NHL-Patienten, 7 bei Myelom-Patienten, 11 bei Patienten mit MDS, 5 bei Hodgkin-Lymphom-Patienten und 2 bei Patienten mit aplastischer Anämie auf.

#### **3.3.2. Pilzinfektionen**

Die Diagnose wurde mit Hilfe von klinischen, mikrobiologischen und radiologischen Untersuchungen gestellt und wie folgt definiert:

##### **Nachgewiesene tiefe Pilzinfektion**

- positive Histologie einer Biopsie aus einem tiefem Gewebe oder
- mindestens eine positive Blutkultur mit klinischen Zeichen oder
- klinische Zeichen und radiologische Abweichungen und ein positiver BAL-Befund oder
- andere Nachweise wie z.B. ein positiver Autopsiefund

### **Verdächtige tiefe Pilzinfektion**

- klinische Zeichen (mit oder ohne radiologische Abweichungen) und Fieber unklarer Ursache, das nicht durch Breitspektrumantibiotika zu beeinflussen ist
- verdächtige radiologische Abweichungen für eine tiefe Pilzinfektion ohne mikrobiologischen Nachweis
- klinische Zeichen (die nicht spezifisch sind für eine Pilzinfektionen) mit einem mikrobiologischen Nachweis (z.B. Nachweis von Aspergillus aus Sputum oder Nase)
- Entfieberung unter Amphotericin B oder andere Antimykotika

Wegen der problematischen Diagnostik und der geringen Sensitivität von Pilzkulturen wurden die nachgewiesenen und verdächtigen tiefen Pilzinfektionen in der weiteren Auswertung zusammengefasst.

Folgende indirekte klinische Zeichen wurden bei der Befundbewertung berücksichtigt:

- anhaltende subfebrile Temperaturen
- schwere Mukositis, mit trotz Breitspektrumantibiotika anhaltendem Fieber
- neu aufgetretene pulmonale Infiltrate

### **Lokalisierte bzw. oberflächliche Schleimhautmykosen**

- Infektionen, die auf eine bestimmte Körperregion bzw. Organsystem beschränkt blieben (z.B.: Mykosen des Oropharynx, des Ösophagus, der Haut oder des Harntraktes).

#### 3.3.3. Bakterielle Infektionen

Die bakteriellen Infektionen wurden wie folgt eingeteilt:

- Bronchopulmonale Infektionen
- Infektionen der Nasennebenhöhlen
- Gastrointestinale Infektionen
- Infektionen des ZNS
- Urogenitale Infektionen
- Haut- und Weichteilinfektionen

#### 3.3.4. Fieber unklarer Genese

Fieber unklarer Genese lag vor bei Temperaturen  $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$ , wobei weder klinisch, mikrobiologisch noch radiologisch eine Fieberursache bzw. der Infektherd gefunden wurde [65].

## **3.4. Diagnostik der Infektionen und Therapiekomplicationen**

### Klinische Untersuchung

Die Patienten wurden stets eingehend klinisch untersucht. Die Körpertemperatur wurde 3 x täglich gemessen. Bei pulmonalen Infektionszeichen (z.B. Fieber, Schüttelfrost) wurden Thoraxröntgenaufnahmen in zwei Ebenen durchgeführt sowie eine weitere vom Krankheitsbild abhängige Diagnostik (z.B. Sonographie, Bronchoskopie, CT).

### Laborchemische Untersuchungen

Im Verlauf der Therapie wurden fast täglich Blutbilder und Differentialblutbilder angefertigt.

### Mykologische Untersuchungen

Es erfolgten routinemäßig kulturelle und mikroskopische Untersuchungen von Stuhl, Urin, Rachenabstrichen und weiteren klinisch sinnvoll erscheinenden Regionen auf Pilzerreger. Bei unklaren Fieber- und Infektzuständen wurden zusätzlich Blutkulturen, Abstriche von Katheteraustrittsstellen angefertigt. Weiterhin erfolgten Empfindlichkeitsprüfungen für Fluconazol, Amphotericin B, Clotrimazol, Econazol, Flucytosin, Miconazol und Nystatin.

### Serologie und molekularbiologische Methoden

Je nach klinischer Symptomatik wurden zur Vervollständigung der Diagnostik Antikörper gegen *Candida albicans* und *Aspergillus* und Antigennachweise mit herangezogen. Bei Verdacht auf *Aspergillus*-Infektionen wurde zusätzlich eine PCR zum Erregernachweis verwendet.

## **3.5. Diagnose der Grunderkrankung**

Die Diagnose der Grunderkrankung wurde anhand des klinischen Bildes, Blutwerten, Knochenmarkzytologie bzw. -histologie, Lymphknotenhistologie gestellt und ergänzt durch zytochemische, radiologische und sonographische Untersuchungen (Tab. 3).

Tabelle 3: Art und Anzahl der Diagnosen der hämatologisch-onkologischen Patienten

	AML	ALL	CML	NHL	Mb. Hodgkin	Myelom	MDS	Aplast. Anämie
Patienten	69	29	14	137	18	37	13	2
Episoden	175	131	23	380	35	74	21	3

## **3.6. Zytostatische Therapie**

745 Behandlungsepisoden gingen mit einer Chemotherapie einher. Diese wurden in AML- und ALL Induktionstherapien, wenig- mäßig und hochaggressive Chemotherapien eingeteilt (Abbildung 1 und 2). Die Unterteilung der Therapiezyklen erfolgte nach Eigenschaften wie Anzahl, Dosis und Aggressivität der Chemotherapeutika.

Tabelle 4: Anzahl der verschiedenen Therapiezyklen

AML-Induktions-Therapie	ALL-Induktions-Therapie	Wenig aggressive Chemotherapie	Mäßig aggressive Chemotherapie	Hoch aggressive Chemotherapie
n=55	n=32	n=176	n=468	n=14

<b>AML-Induktionszyklen</b>	<b>ALL-Induktionszyklen</b>
<p><u>Hölzer-Protokoll</u></p> <p>Cytarabin 100 mg/ m<sup>2</sup> iv Tag 1-7                      Idarubicin 10 oder 12 mg/ m<sup>2</sup> iv Tag 3-5                      Etoposid 100 mg/ m<sup>2</sup> iv Tag 3-7</p> <p><u>Leipziger-Protokoll</u></p> <p>AraC 2 g/ m<sup>2</sup> iv Tag 1,3,5,7                      Idarubicin 12 mg/ m<sup>2</sup> iv Tag 1-3</p> <p><u>HAM</u></p> <p>Cytarabin 3g/ m<sup>2</sup> iv Tag 1-3                      Mitoxantron 10 mg/ m<sup>2</sup> iv Tag 3-5</p> <p><u>DA</u></p> <p>Daunorubicin 45 mg/ m<sup>2</sup> iv                      Cytarabin 100 mg/ m<sup>2</sup> iv</p>	<p><u>ALL-Protokoll (Niedrigrisiko) Phase 1</u></p> <p>Prednisolon 3 mal 20 mg/ m<sup>2</sup> po Tag 1-28                      Vincristin 2 mg iv Tag 1,8, 15, 22                      Daunorubicin 45 mg/ m<sup>2</sup> Tag 1, 8, 15, 22                      L-Asparaginase 5.000 E jeden 2. Tag</p> <p><u>ALL-Protokoll (Niedrigrisiko) Phase 2</u></p> <p>Cyclophosphamid 1000 mg/ m<sup>2</sup> iv Tag 29, 43, 57                      Cytarabin 75 mg/ m<sup>2</sup> iv Tag 31-34, 38-41, 45-48, 52-55                      6-Mercaptopurin 60 mg/ m<sup>2</sup> p.o. Tag 29-57</p> <p><u>ALL-Protokoll (Hochrisiko) Phase 2</u></p> <p>Cytarabin 3 g/ m<sup>2</sup> iv Tag 1-4                      Mitoxantron 10 mg/ m<sup>2</sup> iv Tag 3-5</p>

Abbildung 1: Übersicht zu hochaggressiven AML- und ALL- Induktionstherapien

<p><b>Hoch aggressive Zyklen</b></p> <p><u>HD-BEAM</u></p> <p>BCNU 300 mg/ m<sup>2</sup> iv Tag 1  Ara-C 200 mg/ m<sup>2</sup> iv Tag 2-5  Etoposid 100 mg/ m<sup>2</sup> iv Tag 3-5  Melphalan 140 mg/ m<sup>2</sup> iv Tag 5</p> <p><b>Wenig aggressive Zyklen</b></p> <p><u>Alexenian</u></p> <p>Melphalan 16 mg/ m<sup>2</sup> iv Tag 1  Prednison 60 mg/ m<sup>2</sup> po. Tag 1-4</p> <p><u>COP</u></p> <p>Cyclophosphamid 400 mg/m<sup>2</sup> iv Tag 1-5  Vincristin 1,4 mg/ m<sup>2</sup> Tag 1  Prednison 100 mg/ m<sup>2</sup> po. Tag 1-5</p>	<p><b>Mäßig aggressive Zyklen</b></p> <p><u>CHOP</u></p> <p>Cyclophosphamid 750 mg/ m<sup>2</sup> iv Tag 1  Adriamycin 50 mg/ m<sup>2</sup> iv Tag 1  Vincristin 1,4 mg/ m<sup>2</sup> iv Tag 1  Prednisolon 100 mg po. Tag 1-5</p> <p><u>Dexa-BEAM</u></p> <p>Dexamethason 3 x 8 mg po. Tag 1-10  BCNU 60 mg/ m<sup>2</sup> iv Tag 2  Etoposid 75-250 mg/ m<sup>2</sup> iv Tag 4-7  Ara-C 2 x 100 mg/ m<sup>2</sup> iv Tag 4-7  Melphalan 20 mg/ m<sup>2</sup> iv Tag 3</p>
---	--

Abbildung 2: Beispiele höher-, mäßig- und wenig aggressiver Chemotherapien (außer AML-/ ALL Induktionstherapien)

### **3.7. Supportive Maßnahmen**

Zu den supportiven Maßnahmen zählen eine selektive Darmdekontamination bzw. Infektprophylaxe zum einen mit Cotrimoxazol und Colistin oder Ciprofloxacin und zum anderen mit Fluconazol oder Itraconazol. Die antimykotische Prophylaxe wurde in manchen Fällen durch die lokale Anwendung von Polyenen wie Nystatin und Amphotericin B ergänzt.

Weitere supportive Maßnahmen sind die frühzeitige antibiotische, antivirale und antimykotische Therapie bei Auftreten von neutropenischem Fieber. Entsprechend einer neueren Studie der Paul-Ehrlich-Gesellschaft erfolgte die empirische Therapie initial in der Regel mit einem Acylaminopenicillin (Piperacillin) und einem Aminoglykosid (Gentamycin) oder einem Dritt-/ Viertgenerationscephalosporin (z.B. Ceftazidim) und einem Aminoglykosid. Bei fehlendem Rückgang der Symptomatik wurde die Therapie auf Imipenem und ein Glykopeptid umgesetzt. Systemische Antimykotika wie Amphotericin B, Fluconazol und 5-Flucytosin wurden frühzeitig auch in die Behandlung einbezogen. Wenn auch dieses Regime keine Besserung der klinischen Symptomatik erbrachte, wurde eine neue Therapie mit einem Cephalosporin, Aminoglykosid, Amphotericin B und 5-Flucytosin versucht oder zusätzlich ein Acylaminopenicillin und 5-Flucytosin gegeben. Bei Erregernachweis erfolgte eine Therapieanpassung entsprechend dem Resistogramm.

Bei schwerer Neutropenie wurde zur Regeneration der Granulozytopoese G-CSF verabreicht, um die Neutropeniedauer zu verkürzen und damit die auf die Neutropenie zurückzuführenden Infektionen zu senken.

Als weitere supportive Maßnahme wurden Blutbestandteile substituiert. Bei Hämoglobinwerten unter 6 mmol/l und klinischer Anämiesymptomatik wie Tachykardie und allgemeine Schwäche erfolgte die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten. Thrombozytentransfusionen wurden Patienten bei Thrombozytenwerten unter  $10-20 \times 10^9/l$  verabreicht.

### **3.8. Datenverarbeitung und statistische Auswertung**

Die gesammelten Daten wurden mit Hilfe des Statistikprogrammes SPSS (Version 10.0 und 11.0) ausgewertet.

Um die Pilzkolonien der mykologisch-hygienischen Untersuchung im Seitenvergleich (Ost/ West) zu betrachten, wurde der T-Test für unabhängige Stichproben angewendet.

Um die Inzidenz der Pilzinfektionen im Zeitverlauf zu beurteilen, kam das Verfahren der logistischen Regression zur Anwendung. Dabei wurde eine einfaktorielle Analyse benutzt, bei der die Jahre 1995 bis 1997 mit den beiden Jahren 1998 und 1999 als Referenz verglichen wurden. Das jeweilige gefundene Odds Ratio galt als Schätzer für die Risikoerhöhung. Dabei wurden neben den Episoden mit einer Pilzinfektion die tiefen und davon die Aspergillusinfektionen gesondert betrachtet.

Um den Einfluss von Risikofaktoren für das Auftreten einer Pilzinfektion darzustellen, wurde eine multifaktorielle Analyse durchgeführt, wobei erneut die logistische Regression angewendet wurde. Die logistische Regression erfolgte nach der bedingten Rückwertsselektion mit den häufigsten Risikofaktoren. Das jeweilige gefundene adjustierte Odds Ratio galt als Prädiktor für die Risikoerhöhung. Der Risikofaktor Neutropeniedauer wurde noch einmal einzeln als einfaktorielle Analyse einer logistischen Regression dargestellt.

Mit dem Chi-Quadrat-Test für Vierfeldertafeln erfolgte die Auswertung der Effektivität im Vermeiden von Pilzinfektionen unter der antimykotischen Prophylaxe mit Itraconazol und Fluconazol.

## **4. Ergebnisse**

### **4.1. Mykologisch-hygienische Untersuchungen**

#### **4.1.1. Kolonienzählung**

Für jede Untersuchung wurden insgesamt 36 Proben in 6 Patientenzimmern entnommen (jeweils 24 Streifen Abklatschpräparate und 12 Luftkeimeinsammler-Streifen).

Von den 36 untersuchten Proben wurden nach der **ersten Untersuchung** (vor Einbau der Klimaanlage nach dem Prinzip der Überdruckbelüftung mit HEPA-Filtern) 379 Pilzkolonien, nach der **zweiten Untersuchung** (nach dem Umbau und vor Einzug der Patienten) 8 Pilzkolonien und für die **dritte und vierte Untersuchung** (nach dem Umbau und während normalem Stationsbetrieb mit insgesamt 20 Patienten) jeweils 4 Pilzkolonien ausgezählt.

Der zusätzliche Personen- und Materialverkehr und die dabei zu erwartende zusätzliche Staubaufwirbelung bei der 3. und 4. Untersuchung beeinflusste die Messwerte nicht negativ. Im Gegenteil lag die gemessene Kolonienzahl mit 4 Kolonien erneut unter der Kolonienanzahl der 2. Untersuchung.

Bei der 1. Untersuchung wurden 16 Aspergilluskolonien nachgewiesen, während die Untersuchungen, die bei funktionierender Klimaanlage durchgeführt wurden, keine Aspergilluskolonien zeigten (s. Tab. 5). Damit ergab sich eine deutliche Reduktion der Pilzkolonien und besonders der Aspergilluskolonien in den Zimmern mit aufbereiteter Luft durch die Klimaanlage gegenüber den natürlich belüfteten Räumen (1. Untersuchung).

Tabelle 5: Anzahl der Kolonien auf allen Agarstreifen (AK=Aspergilluskolonien)

	<b>1. Untersuchung</b> normale Belüftung mit Patienten 29.05.1997	<b>2. Untersuchung</b> Klimaanlage ohne Patienten 09.12.1997	<b>3. Untersuchung</b> Klimaanlage mit Patienten 20.05.1998	<b>4. Untersuchung</b> Klimaanlage mit Patienten 18.09.2002
<b>Kolonien (insg.)</b>	<b>379</b>	<b>8</b>	<b>4</b>	<b>4</b>
<b>AK</b>	<b>16</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

#### 4.1.2. Vergleich der Patientenzimmer

Die Belastung mit Pilzsporen kann von Zimmer zu Zimmer schwanken. Von Interesse war, ob sich die einzelnen Patientenzimmer und Stationsseiten (West und Ost) in ihrer Sporenbelastung unterschieden. Jeweils 3 Patientenzimmer befanden sich auf der West- und Ostseite des Gebäudes. Für die erste Untersuchung fiel auf, dass in den Zimmern auf der Westseite (64,3%) mehr Kolonien nachgewiesen wurden als auf der Ostseite (35,7%). Betrachtet man davon nur die Aspergilluskolonien war die Ostseite mit 56% etwas mehr belastet als die Westseite (s. Tab.6). Bei der 2.- 4. Untersuchung fanden sich insgesamt weniger Kolonien. Die insgesamt niedrige Kolonienzahl unterschied sich hier nicht in Abhängigkeit von der Ost- oder Westseite. Die Differenz der Mittelwerte der Ost- und Westseite wurde für alle 4 Untersuchungen mit dem T-Test für unabhängige Stichproben verglichen (95% Konfidenzintervall). Dabei war bei allen Untersuchungen kein statistisch signifikanter Unterschied, für die Differenz der Mittelwerte der beiden Seiten bezogen auf alle Kolonien zu belegen ( $p=0,096$  für die erste Untersuchung). Betrachtet man nur die Aspergilluskolonien war die Differenz der Mittelwerte ebenfalls nicht statistisch signifikant ( $p=0,423$ ).

Tabelle 6: Vergleich der Patientenzimmer zwischen Ost- und Westseite

	West - Seite				Ost - Seite			
	Zi 1	Zi 2	Zi 3	Mittelwert	Zi 4	Zi 5	Zi 6	Mittelwert
1. Untersuchung	84	83	80	82,3 K	57	21	59	45,6 K
	3	1	3	2,3 AK	3	3	3	3 AK
2. Untersuchung	0	0	1	0,3 K	1	1	4	2 K
	0	0	0	0 AK	0	0	0	0 AK
3. Untersuchung	1	1	0	0,6 K	0	2	0	0,6 K
	0	0	0	0 AK	0	0	0	0 AK
4. Untersuchung	0	0	1	0,3 K	1	1	1	1 K
	0	0	0	0 AK	0	0	0	0 AK

(K=Kolonien insg., AK=Aspergilluskolonien)

Betrachtete man die einzelnen Patientenzimmer war für die 1. Untersuchung zwischen den Zimmern auf der Westseite kein Unterschied zu finden. Dahingegen fiel auf der Ostseite eine Schwankung von 21 bis 59 Kolonien auf. Die Zimmer 4 und 6 waren höher belastet als das Zimmer 5. Ein Balkon, der von den Patienten genutzt wurde, befand sich jeweils neben Zimmer 3 und 4. Die Aspergilluskolonien waren relativ gleich verteilt.

Für die 2. bis 4. Untersuchung wurde zwischen den Zimmern der durch die Klimaanlage belüfteten Station bei insgesamt niedriger Kolonienzahl kein Unterschied festgestellt. Nur bei der 2. Untersuchung schien das Zimmer 6 mit 4 Kolonien höher belastet. Aspergilluskolonien wurden nicht nachgewiesen.

#### 4.1.3. Nachweis der verschiedenen Aspergillus-Spezies

Aspergillus fumigatus machte 44% der isolierten Aspergilluskolonien aus (s. Tab. 7). Aspergillus parasiticus (31% aller Aspergilluskolonien), Aspergillus nidulans (6%) und Aspergillus spp. (19%) wurden insgesamt weniger nachgewiesen. Die Fensterbretter waren die häufigste Lokalisation (69%) für den Nachweis der Aspergillus spp..

Tabelle 7: Nachweis von verschiedenen Aspergillus-Arten (in Kolonien)

	<b>A. fumigatus</b>	<b>A. parasiticus</b>	<b>A. nidulans</b>	<b>A. spezies</b>	<b>Insgesamt</b>
Luft	2	0	1	1	<b>4 (25%)</b>
Fensterbrett	4	5	0	2	<b>11 (69%)</b>
Wand	1	0	0	0	<b>1 (6%)</b>
	<b>7 (44%)</b>	<b>5 (31%)</b>	<b>1 (6%)</b>	<b>3 (19%)</b>	<b>16</b>

#### 4.1.4. Vergleich der 3 Messorte innerhalb der Patientenzimmer

Für alle Untersuchungen zusammengenommen, wurden die meisten Kolonien an den Fensterbrettern gemessen (64,8% aller Kolonien). 21,5% der Kolonien ließen sich in der Luft und 13,6% an den Wänden nachweisen. Auf der Station mit natürlicher Fensterbelüftung (1. Untersuchung) war der Anteil der Kolonien an den Fensterbrettern besonders hoch (66,1%). Bei der 2. und 3. Untersuchung wurden die meisten Kolonien an der Wand gemessen (2. Untersuchung: 62,5%, 3. Untersuchung: 75%). In der letzten Untersuchung wurden 75% in der Luft und 25% der Kolonien an den Fensterbrettern gefunden, wobei die Kolonienzahl insgesamt niedriger lag (s. Tab. 8).

Aspergillus spp. wurden nur bei der 1. Untersuchung identifiziert. Dabei gelang der Nachweis zu 68,8% der Aspergilluskolonien auf den Fensterbrettern, zu 25% in der Luft und zu 6,2% an den Wänden.

#### 4.1.5. Vergleich der Messmethoden

Bei den ersten drei Untersuchungen wurden auf den Abklatschpräparaten mehr Kolonien gezählt (s. Tab. 9). Nur bei der 4. Untersuchung wurden mit dem Luftkeimeinsammler mehr Kolonien nachgewiesen. Die Aspergillusnachweise erfolgten ebenfalls zumeist (75%) mit den Abklatschpräparaten und zu 25% mit dem Luftkeimeinsammler.

Tabelle 8: Vergleich der Messorte

	<b>Luft</b>	<b>Fensterbrett</b>	<b>Wand</b>
1. Untersuchung	84 K (420 KBE/m <sup>3</sup> ) 4 AK (20 KBE/m <sup>3</sup> )	254 K 11 AK	46 K 1 AK
2. Untersuchung	0 K (0 KBE/m <sup>3</sup> ) 0 AK (0 KBE/m <sup>3</sup> )	3 K 0 AK	5 K 0 AK
3. Untersuchung	1 K (5 KBE/m <sup>3</sup> ) 0 AK (0 KBE/m <sup>3</sup> )	0 K 0 AK	3 K 0 AK
4. Untersuchung	3 K (15 KBE/m <sup>3</sup> ) 0 AK (0 KBE/m <sup>3</sup> )	1 K 0 AK	0 K 0 AK
<b>insgesamt</b>	<b>88 K (440 KBE/m<sup>3</sup>)</b> <b>4 AK (20 KBE/m<sup>3</sup>)</b>	<b>257 K</b> <b>11 AK</b>	<b>54 K</b> <b>1 AK</b>

(K= Kolonien insg. auf Agarstreifen, AK= Aspergilluskolonien auf Agarstreifen, KBE/m<sup>3</sup> = Kolonienbildende Einheiten pro m<sup>3</sup>)

Tabelle 9: Vergleich der Methoden

	<b>Abklatschpräparate (jeweils 24 Agarstreifen)</b>	<b>Luftkeimeinsammler (jeweils 12 Agarstreifen)</b>
1. Untersuchung	300 K 12 AK	84 K 4 K
2. Untersuchung	8 K 0 AK	0 K 0 K
3. Untersuchung	3 K 0 AK	1 K 0 K
4. Untersuchung	1 K 0 AK	3 K 0 K
<b>insgesamt</b>	<b>312 K</b> <b>12 AK</b>	<b>88 K</b> <b>4 K</b>

(K= Kolonien insg., AK= Aspergilluskolonien)

#### 4.1.6. Einfluss der Bebrütungstemperatur auf den Pilznachweis

Jede Probe wurde doppelt entnommen, um bei Zimmertemperatur (22°C) und Körpertemperatur (37°C) bebrütet zu werden. 377 Kolonien (94,3% aller Kolonien) wuchsen bei Zimmertemperatur und 23 Kolonien (5,8 %) bei Körpertemperatur an (s. Tab. 10).

Das Temperaturoptimum für das Wachstum richtete sich nach dem nachzuweisenden Pilz. Bei Aspergilluspezies handelt es sich um thermostabile Pilze, deren optimale Temperatur bei 37°C liegt. Von den 16 der gefundenen Aspergilluskolonien wurden jeweils 50% auf den bei Zimmertemperatur und Körpertemperatur bebrüteten Agarplatten nachgewiesen.

In 25,8% aller bei Körpertemperatur bebrüteten Kolonien waren Aspergillus spp. nachzuweisen. Im Vergleich dazu waren nur 2,1% aller bei Zimmertemperatur bebrüteten Kolonien positiv für Aspergillus spp..

Tabelle 10: Pilz- und Aspergilluskolonien in Abhängigkeit von der Bebrütungstemperatur

	<b>Zimmertemperatur</b>		<b>Körpertemperatur</b>	
	Kolonien (insg.)	Aspergillus- kolonien	Kolonien (insg.)	Aspergillus- kolonien
1. Untersuchung	363	8	21	8
2. Untersuchung	7	0	1	0
3. Untersuchung	3	0	1	0
4. Untersuchung	4	0	0	0
insgesamt	<b>377</b>	<b>8</b> <b>(2,1 %)</b>	<b>23</b>	<b>8</b> <b>(25,8 %)</b>

#### 4.1.7. Witterungsbedingte Einflussgrößen

Meteorologische Größen wie Temperatur, Luftfeuchtigkeit und Luftdruck haben einen Einfluss auf die Konzentration der Pilzsporen in der Raumluft. Aus diesem Grund wurden die Witterungsbedingungen zu den Untersuchungszeitpunkten erfasst.

Für die 1. Untersuchung (natürliche Belüftung durch Öffnen und Schließen von Fenstern und Türen) fiel auf, dass die Westseite stärker belastet war als die Ostseite (s. Tab. 11). Zum Untersuchungszeitpunkt kam auch der Wind aus westlicher Richtung, was die Messung beeinflussen haben könnte.

Für die 2.- 4. Untersuchung auf der durch die Klimaanlage mit HEPA-Filtern belüfteten Station fand sich ein solcher von den Außenbedingungen abhängiger Unterschied erwartungsgemäß nicht, da

Temperatur, Luftfeuchte und Luftdruck durch die Klimaanlage reguliert und konstant gehalten wurden.

Die Wetterdaten stammen aus der Wetterstation Halle-Kröllwitz und wurden freundlicherweise vom Deutschen Wetterdienst zur Verfügung gestellt.

Tabelle 11: Die Wetterbedingungen (jeweils 12.00 Uhr, Wetterstation Halle-Kröllwitz)

	<b>1. Untersuchung 29.05.1997</b>	<b>2. Untersuchung 09.12.1997</b>	<b>3. Untersuchung 20.05.1998</b>	<b>4. Untersuchung 18.09.2002</b>
Lufttemperatur	15,6°	4,9°	16,2°	15,7°
Luftfeuchte	55%	83%	68%	68%
Luftdruck	1013,3 hPa	999,1 hPa	1009,1 hPa	1003,8 hPa
Windrichtung	290°	19°	32°	270°
Wind (10-Min-Mittel)	2,3 m/sec.	2,8 m/sec.	4,4 m/sec.	3 m/sec.

## **4.2. Analyse der aufgetretenen Infektionen zwischen 1995 und 1999**

### 4.2.1. Patientendaten

In dieser retrospektiven Studie wurden 319 Patienten mit einer hämatologischen Neoplasie erfasst, die vom 01.01.1995-31.12.1999 in der Abteilung für Hämatologie/Onkologie des Klinikum Kröllwitz behandelt wurden. Dabei wurden 842 Behandlungsepisoden (746 Episoden mit Chemotherapie und 96 Episoden ohne Chemotherapie mit Neutropenie) ausgewertet.

### 4.2.2. Untersuchungen zur Häufigkeit von Pilzinfektionen

Von insgesamt 319 Patienten erkrankten 87 (27,2%) im Verlauf Ihrer Behandlung an einer oder mehreren Pilzinfektionen. Bei 29 Patienten wurde eine nachgewiesene tiefe, bei 25 eine suspekta tiefe und bei 43 eine oberflächliche Pilzinfektion diagnostiziert.

Wegen langwieriger Behandlungen und Rezidiven der Grunderkrankung wurden 174 Patienten mehrfach behandelt, daher erfolgte die Auswertung nach Behandlungsepisoden. In 842 Behandlungsepisoden traten in 127 Episoden (15,1%) Pilzinfektionen auf. Berücksichtigt wurden nachgewiesene und verdächtige tiefe Pilzinfektionen sowie oberflächliche Mykosen.

#### 4.2.3. Auftreten und Verteilung von Pilzinfektionen im Zeitverlauf

Werden alle aufgetretenen tiefen und oberflächlichen Pilzinfektionen betrachtet, fiel auf, dass abgesehen vom Jahr 1997 mit einer erhöhten Inzidenz (24,8% der Behandlungsepisoden) die Infektionshäufigkeit von 1995 - 1999 abnahm (s. Tab. 12). 1999 waren mit 6,1% die wenigsten Pilzinfektionen nachzuweisen.

Auch der Anteil tiefer Pilzinfektionen nahm im Verlauf kontinuierlich ab und war 1999 mit 3,0% der Behandlungsepisoden am geringsten. Nur 1997 zeigte sich mit 16,1% eine Häufung tiefer Pilzinfektionen, wobei die meisten durch *Aspergillus* spp. verursacht wurden (10,2% der Behandlungsepisoden). Die Inzidenz tiefer *Aspergillus*infektionen stieg von 1995 bis 1997 stetig an. Im Vergleich dazu wurden 1998 und 1999 deutlich weniger *Aspergillus*infektionen dokumentiert. Für die oberflächlichen Pilzinfektionen betrug die Häufigkeit in den Jahren 1995 - 1998 zwischen 7,4% und 10,9%.

Um die Inzidenz der Pilzinfektionen in Bezug auf den Einbau der Klimaanlage zu beurteilen, wurde eine logistische Regression angewendet. Dabei wurden die neu aufgetretenen Pilzinfektionen der einzelnen Jahre von 1995-1997 (Jahre ohne Klimaanlage) mit den Jahren 1998 und 1999 zusammen genommen als Referenz verglichen.

Tabelle 12: Inzidenz von Pilzinfektionen von 1995-1999

	1995	1996	1997	1998	1999
Behandlungsepisoden	211	159	117	190	165
Episoden mit Mykose (gesamt)	40 18,9%	22 13,8%	30 25,6%	25 13,1%	10 6,1%
Episoden mit tiefer Pilzinfektion	17 8,1%	10 6,3%	19 16,2%	11 5,8%	5 3,0%
Candida- Infektionen	7 3,3%	5 3,1%	6 5,1%	6 3,2%	4 2,4%
Aspergillus- Infektionen	4 1,9%	4 2,5%	12 10,2%	3 1,6%	1 0,6%
ohne Erregernachweis	6 2,8%	1 0,6%	1 0,9%	2 1,0%	0 0%
Episoden mit oberflächlicher Pilzinfektion	23 10,9%	12 7,5%	11 9,4%	14 7,4%	5 3,0%

Die Wahrscheinlichkeit an einer Pilzinfektion zu erkranken, war vor Einbau der Klimaanlage 1,2 bis 2,8 fach erhöht (s. Odds Ratio = OR in Tab. 13). Statistische Signifikanz zeigten die Ergebnisse für die Jahre 1995 und 1997. Das Risiko für tiefe Pilzinfektionen war von 1995 bis 1997 ebenfalls erhöht. Dabei lag die Wahrscheinlichkeit im Jahr 1997 an einer tiefen Pilzinfektion zu erkranken mit einer Odds Ratio von 3,6 besonders hoch und statistisch signifikant ( $p < 0,001$ ). Die Erkrankungswahrscheinlichkeit für eine Aspergillose war in diesem Jahr 10,1 fach erhöht ( $OR = 10,0$ ,  $p < 0,001$ ). Für die tiefen Candidainfektionen und die oberflächlichen Mykosen lag die Risikoerhöhung zwischen 1,1 und 1,9 gegenüber den Referenzjahren 1998 und 1999, wobei sich kein statistisch signifikanter Unterschied belegen lies.

Tabelle 13: Risikoeinschätzung für Pilzinfektionen vor Einbau der Klimaanlage

	Episoden ohne Klimaanlage		
	1995	1996	1997
Episoden mit mindestens einer Pilzinfektion	OR 1,9 P=0,016	OR 1,2 P=0,485	OR 2,8 P<0,0001
Episoden mit tiefer Pilzinfektion	OR 1,9 P=0,093	OR 1,5 P=0,321	OR 3,6 P<0,001
Episoden mit tiefen Aspergillus Infektionen	OR 2,3 P=0,286	OR 3,0 P=0,151	OR 10,1 P<0,001

(einfaktorielle logistische Regression, Referenzjahre 1998/99, OR= Odds Ratio)

#### 4.2.4. Spektrum aller infektiöser Komplikationen

Im gesamten Beobachtungszeitraum konnten insgesamt 412 infektiöse Komplikationen nachgewiesen werden. Als infektiöse Komplikationen galten oberflächliche und tiefe Pilzinfektionen, bakterielle Infektionen und Fieber ungeklärter Ursache (FUO). Dabei handelte es sich um 127 Pilzinfektionen, 226 bakterielle Infektionen und 59 x um Fieber ungeklärter Ursache. Das Spektrum der bakteriellen Infektionen ist in Tabelle 14 dargestellt. In 321 von 842 Behandlungsepisoden (38,1%) war es zu mindestens einer infektiösen Komplikation gekommen, darunter waren 116 Behandlungsepisoden (13,8% aller Behandlungsepisoden) mit einer Pilzinfektion. In 258 Behandlungsepisoden traten 1 infektiöse Komplikation und in 63 Episoden mehr als zwei infektiöse Komplikationen auf. Von 319 behandelten Patienten zeigten über alle Behandlungsepisoden hinweg nur 125 Patienten (39,2%) keine infektiöse Komplikation. 86 Patienten (27,0%) erlitten eine Pilzinfektion, 151 Patienten (47,3%) eine bakterielle Infektion und 44 (13,8%) Fieber ungeklärter Ursache. 55 Patienten erlitten mehrere infektiöse Komplikationen in einem der Behandlungszyklen.

Tabelle 14: Spektrum aller bakteriellen Infektionen (Anzahl und %)

Sepsis	39	17,3%
Bronchopulmonale Infektionen	71	31,4%
Urogenitale Infektionen	53	23,5%
Infektionen des ZNS	3	1,3%
Haut- und Weichteilinfektionen	54	23,9%
Sinusitis oder Angina tonsillaris	6	2,6%
Bakterielle Infektionen (gesamt)	226	100%

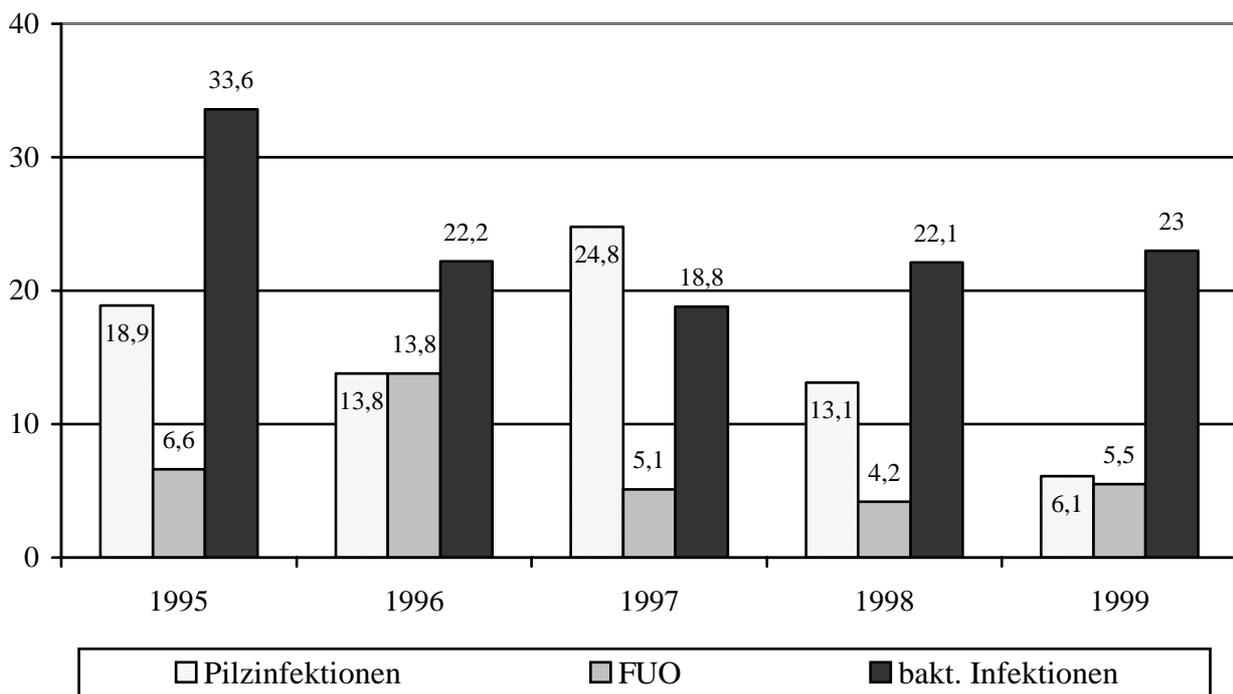


Abbildung 3: Infektiöse Komplikationen in % aller Behandlungsepisoden pro Jahr

#### 4.2.5. Manifestation der Pilzinfektionen

51% aller Pilzinfektionen waren oberflächlich, wobei der Mundsoor den mit Abstand größten Anteil ausmachte (s. Abb. 4).

Von den 62 tiefen Pilzinfektionen manifestierten sich 75,8% bronchopulmonal, 19,4% disseminiert, 3,2% gastrointestinal und 1,6% in den Nasennebenhöhlen. Von den bronchopulmonalen Infektionen wurden jeweils 44,7 % von *Candida* spp. und *Aspergillus* spp. verursacht. Für die übrigen 10,6% der bronchopulmonalen Infektionen blieb der genaue Erreger der Mykose unklar. 41,6% der disseminierten Pilzinfektionen entfielen auf *Candida* spp. und 16,6% auf *Aspergillus* spp. und bei 41,6% konnte kein Erreger gefunden werden. Die gastrointestinalen Infektionen wurden durch *Candida* spp. und die Mykose der Nasennebenhöhlen durch *Aspergillus* spp. hervorgerufen.

Abbildung 4: Art aller aufgetretenen Pilzinfektionen = PI (n=127)

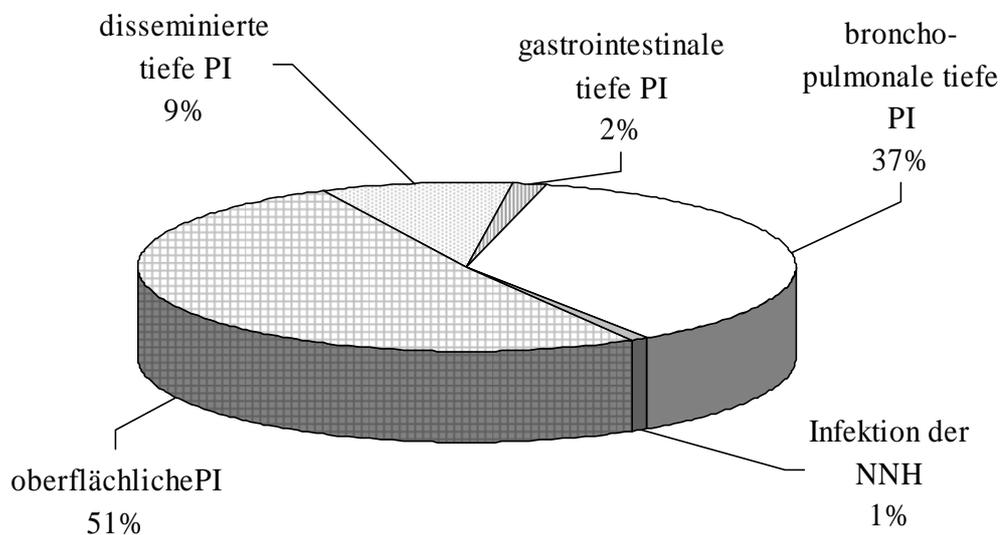


Tabelle 15: Anzahl und Art von oberflächlichen Pilzinfektionen

Oberflächl. Mykosen (insg.)	Mundmykose	Anal- oder Vaginalmykose	Gastrointestinale Mykose	Harnwegsinfekt	Hautmykose
65	57 87,7%	3 4,6%	1 1,5%	2 3,1%	2 3,1%

#### 4.2.6. Pilzinfektionen in Abhängigkeit von der Grunderkrankung und der Therapie

Am häufigsten erkrankten Patienten mit einem myelodysplastischen Syndrom (MDS) und Leukämiepatienten mit einer AML oder CML an einer Pilzinfektion. 17,1% der AML-Behandlungen und 19,0% der Therapien von MDS-Patienten gingen mit einer tiefen Pilzinfektion einher. Die durch Aspergillus hervorgerufenen tiefen Pilzinfektion waren mit 9,1 % in der AML Gruppe am höchsten (s. Tab. 16).

Tabelle 16: Anzahl und Art der Pilzinfektion in Abhängigkeit von der Diagnose

	Mit Mykose gesamt	Episoden mit tiefer Pilzinfektion				Episoden mit oberflächlicher Mykose
		Gesamt	Aspergillus spp.	Candida spp.	Ohne Erregernachweis	
AML n=175	41 23,4%	30 17,1%	16 9,1%	10 5,7%	4 2,3%	11 6,3%
ALL n=131	9 6,9%	4 3,1%	2 1,5%	2 1,5%	0 0%	5 3,8%
CML n=23	5 21,7%	2 8,6%	0 0%	1 4,3%	1 4,3%	3 13,0%
NHL n=380	44 1,2%	18 4,7%	6 1,6%	10 2,6%	2 0,5%	26 6,8%
Morbus Hodgkin n=35	7 20,0%	3 8,6%	0 0%	2 5,7%	1 2,9%	4 11,4%
Myelome n=74	9 12,2%	1 1,4%	0 0%	0 0%	1 1,4%	8 10,8%
MDS n=21	6 28,6%	4 19,0%	0 0%	3 14,3%	1 4,8%	2 9,5%
Aplastische Anämie n=3	0 0%	0 0%	0 0%	0 0%	0 0%	0 0%

Die Untersuchung des Einflusses der Therapieform auf die Häufigkeit von Pilzinfektionen ergab, dass das Risiko für eine Mykose und besonders für tiefe Pilzinfektionen am größten nach AML-Induktionstherapien war (s. Tab. 17). Die unterschiedliche Gefährdung für oberflächliche Mykosen spiegelte sich in Raten von 8,5% bei wenig aggressiven Chemotherapien bis 3,1% bei ALL-Induktionstherapien wieder.

Tabelle 17: Anzahl und Art der Pilzinfektionen in Abhängigkeit von der Therapie

	Mit Mykose gesamt	Episoden mit tiefer Pilzinfektion				Episoden mit oberflächlicher Mykose
		Gesamt	Aspergillus spp.	Candida spp.	Ohne Erregernachweis	
AML-Induktions-Therapie n=55	18 32,7%	14 25,5%	9 16,4%	4 7,4%	1 1,8%	4 7,3%
ALL-Induktions-Therapie n=32	2 6,3%	1 3,1%	0 0%	1 3,1%	0 0%	1 3,1%
Wenig aggressive Chemoth. n=176	17 9,7%	2 1,1%	0 0%	0 0%	2 1,1%	15 8,5%
Mäßig aggressive Chemoth. n=468	56 11,9%	25 5,3%	8 1,7%	14 3,0	3 0,6%	31 6,6%
Hoch aggressive Chemoth. n=14	2 14,3%	1 7,1%	0 0%	1 7,1	0 0%	1 7,1%

#### 4.2.7. Pilzinfektionen bei verstorbenen Patienten

Im untersuchten Zeitraum starben 67 von 319 untersuchten Patienten während ihres stationären Aufenthaltes. 36 Patienten verstarben nachweislich an einer Infektion. Davon waren 5 (13,8% der Infektionen) tiefe Pilzinfektionen (4 Pneumonien und eine Pilzsepsis), 12 bakterielle Infektionen, 3 Mischinfektionen und 2 Pneumocystis carinii-Infektion. Bei 14 Patienten konnte der Erreger mikrobiologisch oder autoptisch nicht identifiziert werden.

Bei 23 Patienten wurde eine Autopsie durchgeführt (siehe Tab. 18). Bei 11 dieser Patienten bestand zum Todeszeitpunkt eine Pilzinfektion. 5 der Pilzinfektionen wurden erst autoptisch gesichert. Bei allen Infektionen bestand vor dem Tode zumindest der Verdacht auf eine Pilzinfektion, sodass eine empirische antimykotische Therapie begonnen wurde.

Tabelle 18: Tiefe Pilzinfektionen bei verstorbenen Patienten

	<b>Patienten mit einer tiefen Mykose hervorgerufen durch:</b>		
	Aspergillus (n=18)	Candida (n=26)	unbekannten Erreger (n=10)
Verstorben (n=67)	7	7	4
Infektion als Todesursache (n=36)	6	6	2
Pilzinfektion als Haupttodesursache (n=8)	5	1	0
Durchführung einer Autopsie (n=23)	4	6	1
Nachweis der Mykose erst durch Autopsie (n=5)	3	2	0

#### 4.2.8. Einfluss von Risikofaktoren auf Pilzinfektionen

Zu den bekannten Risikofaktoren für das Auftreten einer Pilzinfektion zählen unter anderem die Dauer der Neutropenie, Antibiotikagebrauch, Kortikoidtherapie, Mukositis und stattgehabte Pilzinfektionen in der Anamnese (siehe Tab. 19).

Um eine Analyse dieser Risikofaktoren durchzuführen, wurde die logistische Regression angewendet. Damit besteht die Möglichkeit, den Einfluss mehrerer Risikofaktoren für das Auftreten einer Pilzinfektion in einem Modell darzustellen.

Die logistische Regression der Behandlungszyklen erfolgte nach der bedingten Rückwärtsselektion der in Tabelle 19 aufgeführten Risikofaktoren. In Tabelle 20 sind die signifikanten nach der Rückwärtsselektion ausgewählten Risikofaktoren dargestellt. Durch die Faktoren Neutropenie > 15 Tage, zusätzlicher anderer Risikofaktor und Blasenkatheter wurde das Risiko einer oberflächlichen oder tiefen Pilzinfektion besonders erhöht (3,7- 8,1 fach).

Für die tiefen Pilzinfektionen stellte die Neutropenie den mit Abstand größten Risikofaktor dar. Mit zunehmender Granulozytopeniedauer stieg das Risiko bis auf das 125,8 fache an. Diese Werte sind statistisch signifikant ( $p < 0,0001$ ). Die Wahrscheinlichkeit einer Mykose stieg mit zunehmender Granulozytopeniedauer besonders in den ersten drei Wochen kontinuierlich an (s. Tab. 21).

Tabelle 19: Risikofaktoren von Pilzinfektionen

Risikofaktor	Anzahl der Pilzinfektionen	
	gesamt	tiefe
1. keine Neutropenie (n=320)	24 (7,5%)	1 (0,3%)
1-7 Tage Neutropenie (n=248)	36 (14,5%)	14 (5,6%)
8-14 Tage Neutropenie (n=142)	27 (19,0%)	18 (12,7%)
15-21 Tage Neutropenie (n=79)	24 (30,4%)	17 (21,5%)
> 21 Tage Neutropenie (n=53)	16 (30,2%)	12 (22,6%)
2. Risikoalter (> 60 Jahre) (n=317)	54 (17,0%)	31 (9,8%)
3. Kortikoid-Therapie (n=483)	68 (14,1)	25 (5,2%)
4. Breitspektrumantibiose (n=710)	114 (16,1%)	60 (8,5%)
5. Rezidiv der Grunderkrankung (n=169)	28 (16,6%)	17 (10,1%)
6. Chronisch pulmonale Erkrankung (n=41)	7 (17,1%)	3 (7,3%)
7. Tuberkulose in der Anamnese (n=17)	3 (17,6%)	2 (11,8%)
8. Stammzelltransplantation (n=46)	4 (8,7)	2 (4,3%)
9. Zentralvenöser Katheter (n=423)	82 (19,4%)	47 (11,1%)
10. Blasenkatheter (n=28)	15 (53,6)	12 (42,9%)
11. Parenterale Ernährung (n=34)	11 (32,4%)	6 (17,6%)
12. CMV Infektion (n=141)	27 (19,1%)	14 (9,9%)
13. Mukositis während der Therapie (n=99)	28 (28,3%)	9 (9,1%)
14. Tiefe Pilzinfektionen in der Anamnese (n=63)	19 (30,2%)	14 (22,2%)
15. Oberflächliche Pilzinfektionen in der Anamnese (n=77)	26 (33,8%)	6 (7,8%)
16. Zusätzlicher anderer Risikofaktor (n=16)	6 (37,5%)	5 (31,3%)

Tabelle 20: Signifikante Risikofaktoren aller Pilzinfektionen

<b>Risikofaktor</b>	<b>Odds Ratio</b>	<b>Signifikanz</b>
1-7 Tage Neutropenie	1,9	p=0,048
8-14 Tage Neutropenie	3,3	p<0,0001
15-21 Tage Neutropenie	4,8	p<0,0001
> 21 Tage Neutropenie	4,2	p<0,0001
Blasenkatheter	3,1	p<0,0001
Mukositis während der Therapie	2,3	p=0,002
Tiefe Pilzinfektionen in der Anamnese	2,4	p=0,034
Oberflächliche Pilzinfektionen vor Therapie	2,9	p<0,0001
Zusätzlicher anderer Risikofaktor	3,7	p=0,05

(mehrfaktorielle logistische Regression, Rückwärtsselektion)

Tabelle 21: Signifikante Risikofaktoren tiefer Pilzinfektionen

<b>Risikofaktor</b>	<b>Odds Ratio</b>	<b>Signifikanz</b>
1-7 Tage Neutropenie	23,7	p=0,003
8-14 Tage Neutropenie	59,2	p<0,0001
15-21 Tage Neutropenie	125,8	p<0,0001
> 21 Tage Neutropenie	92,9	p<0,0001
Risikoalter	2,4	p=0,006
Blasenkatheter	9,7	p<0,0001
Zentraler Venenkatheter	2,5	p=0,008
Tiefe Pilzinfektionen in der Anamnese	3,2	p=0,022

(multifaktorielle logistische Regression, Rückwärtsselektion)

#### 4.2.9. Vergleich der antimykotischen Prophylaxe

In 642 von 842 Behandlungsepisoden erhielten die Patienten eine antimykotische Prophylaxe. Dabei wurden 283 antimykotische Prophylaxen mit Fluconazol in Dosierungen zwischen 100-400 mg verabreicht. In 147 Behandlungsepisoden wurde Itraconazol (als Kapsel) in Dosierungen zwischen 300 und 600 mg gegeben und in 185 Behandlungsepisoden wurde eine antimykotische Prophylaxe mit Amphotericin oral (Amphomoronal) allein durchgeführt. In 26 Behandlungsepisoden bestand noch eine therapeutische antimykotische Medikation vor Chemotherapiebeginn. Sowohl in der Fluconazol als auch in der Itraconazol Gruppe wurde zum Teil zusätzlich Amphomoronal zur topischen Prophylaxe gegeben.

In der Gruppe der mit Itraconazol behandelten Patienten traten deutlich weniger Pilzinfektionen auf als in der Fluconazolgruppe ( $p=0,034$ , Chi-Quadrat-Vierfelder-Test). Die tiefen Pilzinfektionen traten in der Fluconazolgruppe etwas häufiger auf, wobei sich kein statistisch signifikanter Unterschied belegen ließ (s. Tab. 22). Das Verhältnis von Candida-Infektionen zu Aspergillus- Infektionen in der Gruppe der tiefen Pilzinfektionen war für die mit Itraconazol und Fluconazol behandelten Patienten gleich. Oberflächliche Infektionen traten in der Fluconazolgruppe häufiger auf, ohne signifikanten Unterschied ( $p=0,089$ ).

Der Einsatz einer systemischen Prophylaxe mit Fluconazol oder Itraconazol verteilt sich über den Untersuchungszeitraum wie folgt: 1995 – 39,8%; 1996 – 59,1%; 1997 – 42,7%; 1998 – 47,9%; 1999 – 67,3%.

Tabelle 22: Pilzinfektionen in Abhängigkeit von der antimykotischen Prophylaxe

	<b>Itraconazol</b> <b>n=142</b>		<b>Fluconazol</b> <b>n=277</b>		<b>Signifikanz</b>
Tiefe Pilzinfektionen	8	(5,6%)	21	(7,6%)	$p=0,368$
Candida spp.	3	(2,1%)	9	(3,2%)	$p=0,792$
Aspergillus spp.	3	(2,1%)	9	(3,2%)	$p=0,391$
Kein Erregernachweis	2	(1,4%)	3	(1,1%)	$p=0,697$
Oberflächliche Pilzinfektion	5	(3,5%)	24	(8,7%)	$p=0,089$
Pilzinfektionen insgesamt	13	(9,2%)	45	(16,2%)	$p=0,034$

#### 4.2.10. Erregerspektrum aller nachgewiesenen Candida-Isolate und der Mykosen

Die meisten Candida-Infektionen wurden durch *C. albicans* hervorgerufen. Der Anteil der Non-Candida-albicans-Arten war deutlich geringer. *C. albicans* wurde insgesamt (Infektions- und Überwachungskulturen) am häufigsten isoliert. Der zweithäufigste Keim war *C. glabrata* (s. Abb. 5). 17,8% der *C. albicans* Nachweise zeigten eine Infektion an. Der Anteil der Infektionen für die *C. krusei*-Isolate betrug 38,5%, für *C. tropicalis* 22,2%, für *C. famata* 66,7% und für *C. glabrata* 4,2%. Für die tiefen Candidainfektionen isoliert betrachtet, zeigen einige Non-Candida-albicans-Arten im Vergleich zu *C. albicans* und *C. glabrata* noch häufiger eine Infektion an (s. Tab. 23). Weiterhin fällt auf, dass die Non-Candida-albicans-Arten anteilig weiter in den Vordergrund treten. Bei einem Nachweis der Non-Candida-albicans-Arten schien die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Pilzinfektionen größer, insbesondere galt dies für *C. krusei* und *Candida famata* (s. Abb. 5).

Tabelle 23: Spektrum der Candida spp. für die tiefen Candida-Infektionen

	Isolate bei tiefen Candida-Infektionen (Anzahl)	Anteil der Infektions-Isolate an allen Nachweisen der jeweiligen Spezies in Prozent
C. glabrata (n=24)	1	4,2
C. albicans (n=129)	7	5,4
Candida spp. (n=89)	5	5,6
C. tropicalis (n=9)	1	11,1
C. krusei (n=13)	2	15,4
C. parapsilosis (n=3)	1	33,3
C. famata (n=3)	2	66,7

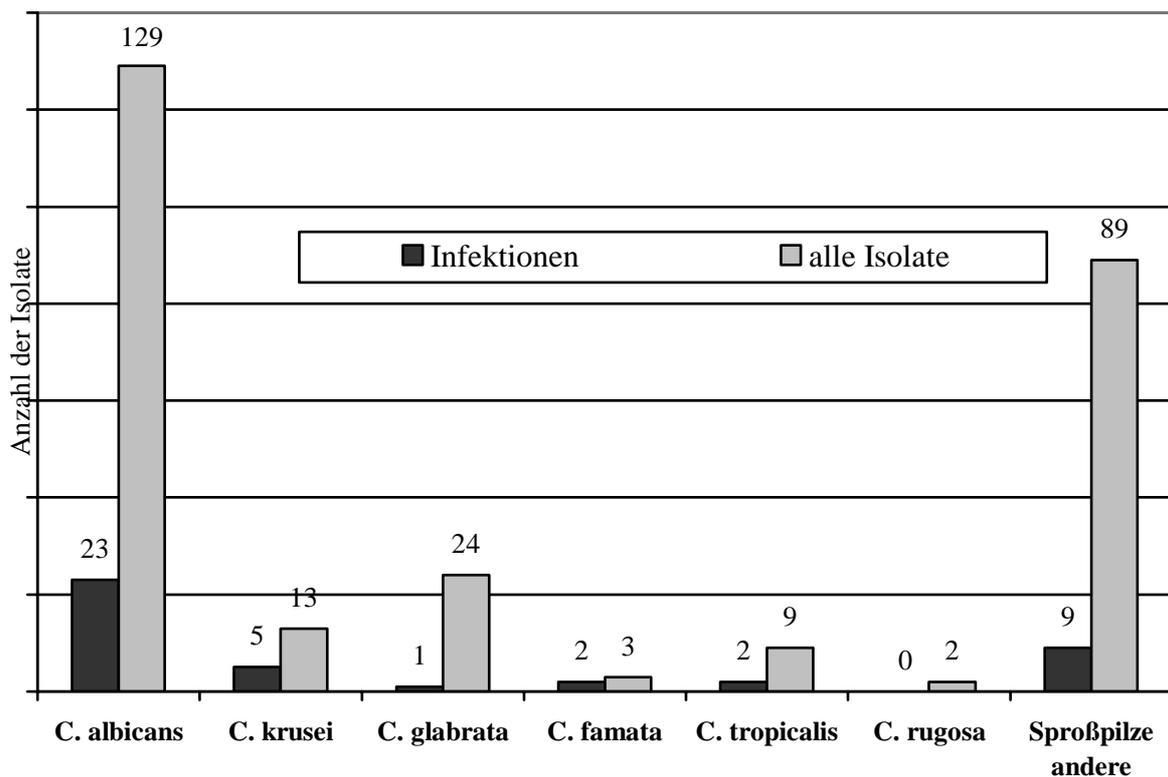


Abbildung 5: Erregerspektrum der aufgetretenen Pilzinfektionen und Überwachungskulturen mit Sprosspilzen

#### 4.2.11. Resistenzverhalten getesteter Sproßpilzisolat

In 532 klinischen Untersuchungsmaterialien aus Infektionsepisoden und Überwachungsproben wurden in 268 Proben Sprosspilze isoliert. Von 210 Sprosspilzisolaten wurden Antibiogramme durchgeführt. Die Isolate stammen aus folgenden Untersuchungsmaterialien: 128 Stuhlproben, 19 Urin, 18 BAL, 13 Sputum, 17 Nasen- oder Mundabstriche, 9 andere Abstriche, 3 Blutkulturen, 3 mal Trachealsekret. Gegen Flucytosin zeigte sich am häufigsten eine primäre Resistenz mit 69%. 14% aller Sprosspilzisolat waren gegen Clotrimazol, Miconazol und Ketoconazol resistent. Die Resistenzraten von Amphotericin (2,9%), Nystatin (3,7%) und Econazol (8,8%) lagen deutlich niedriger. Fluconazol wurde nur an 14 Isolaten getestet, wobei 14% Resistenzen zeigten (s. Abb. 6). Bei der Betrachtung der Resistenzsituation für *Candida* spp. fällt auf, dass 13,8% der Non-*Candida albicans*-Arten gegen Amphotericin B resistent waren, während keine Resistenz bei *C. albicans* Isolaten nachgewiesen werden konnte. Auch für Nystatin bestand eine deutlich höhere Resistenzrate für Non-*Candida albicans*-Arten (komplette Partialresistenz). Für Flucytosin lag in beiden Gruppen eine hohe Resistenzrate vor, wobei diese für *Candida albicans* am größten war (s. Abb. 7). Tabelle 24 zeigt das Resistenzverhalten der verschiedenen Non-*Candida-albicans*-Arten.

Tabelle 24: Resistenzverhalten in % bei den Non-*albicans*-Arten der getesteten *Candida* spp.

	<b><i>C. famata</i></b>	<b><i>C. rugosa</i></b>	<b><i>C. tropicalis</i></b>	<b><i>C. glabrata</i></b>	<b><i>C. krusei</i></b>
Ampho B	2/3	0/2	0/3	0/19	3/9
Clotrimazol	3/3	0/2	0/3	0/12	3/9
Econazol	1/1	0/2	0/3	0/12	3/9
Flucytosin	2/3	2/2	1/3	7/16	6/9
Ketoconazol	1/1	0/2	0/3	0/12	3/9
Miconazol	3/3	0/2	0/3	0/12	3/9
Nystatin	1/3	0/2	0/3	0/12	3/9
Fluconazol	0/0	0/0	0/0	0/3	0/1

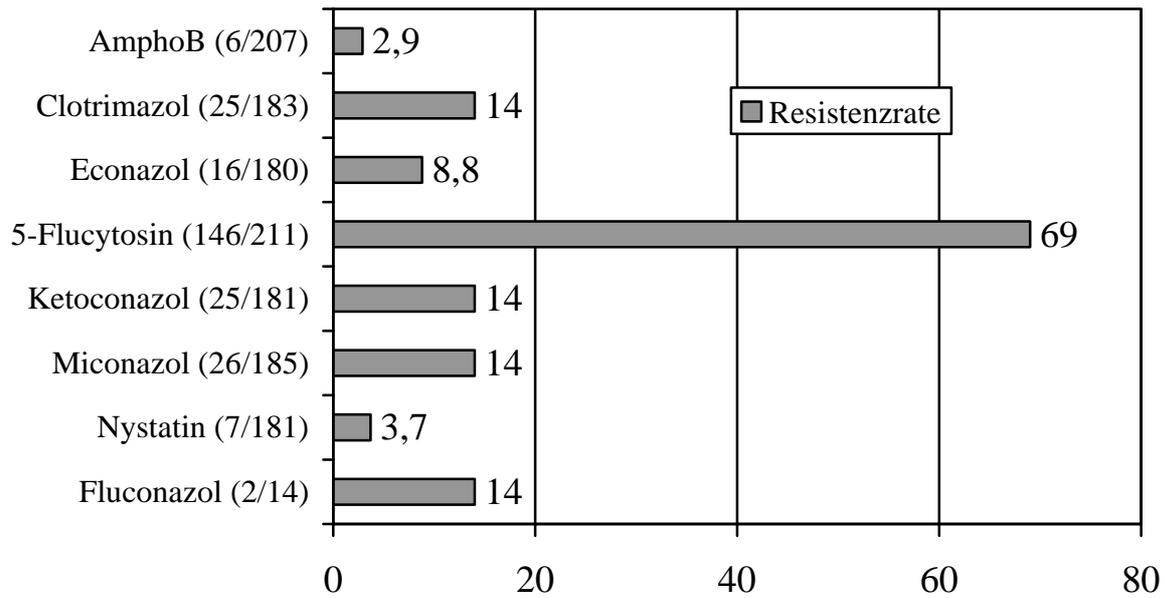


Abbildung 6: Resistenzverhalten aller isolierten Sprosspilzisolat in %

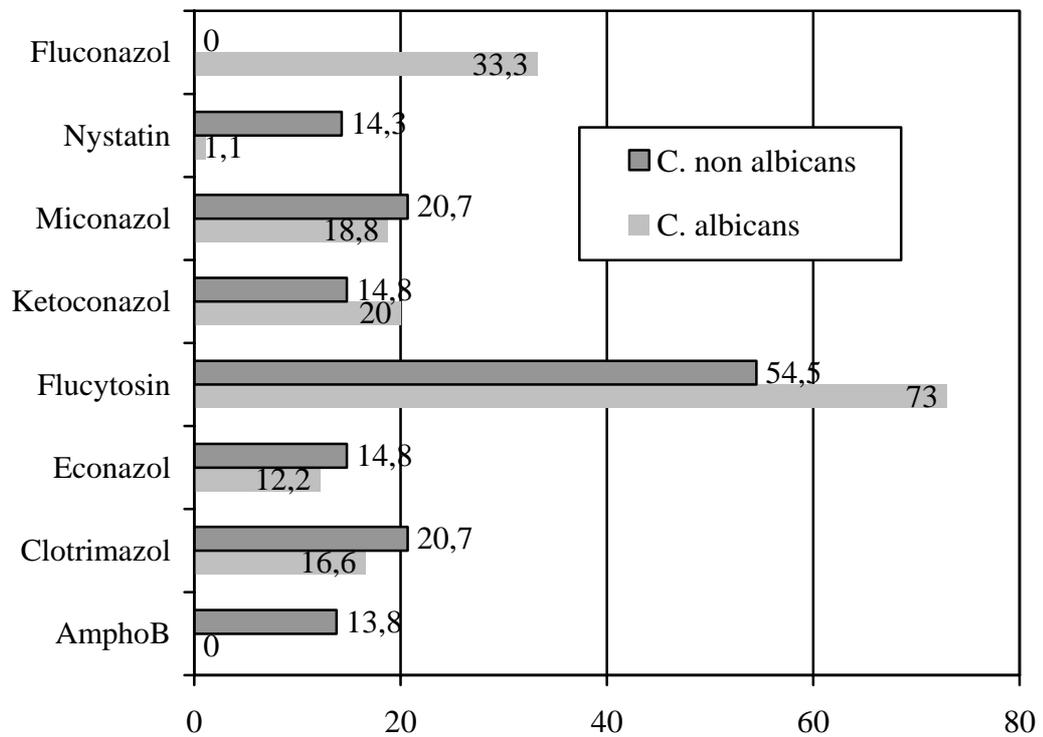


Abbildung 7: Resistenzverhalten von Non-C. albicans und C. albicans-Arten in %

## **5. Diskussion**

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Analyse von Pilzinfektionen bei immunsupprimierten hämatologisch-onkologischen Patienten. Dazu wurden zwischen Januar 1995 und Dezember 1999 in der Klinik für Hämatologie/ Onkologie des Klinikum Kröllwitz alle stationär behandelten Patienten mit einer hämatologisch-onkologischen Grunderkrankung und die dabei aufgetretenen Pilzinfektionen erfasst und analysiert. Zusätzliche mykologisch-hygienische Untersuchungen sollten gleichzeitig die Kontamination der Station KIM 10 mit Pilzregern dokumentieren. Neben der Analyse der Sporenbelastung insbesondere durch Aspergillen sollte die Effektivität einer 1997 installierten raumluftechnischen Anlage, die mit Hochleistungs-Schwebstoff- (HEPA-) Filtern und Überdruckbelüftung ausgerüstet ist, im Verlauf aufgezeigt werden.

In den letzten drei Jahrzehnten hat die Inzidenz invasiver Pilzinfektionen bei Patienten mit hämatologisch-onkologischen Erkrankungen drastisch zugenommen [11, 19, 48, 103, 182]. Zwar treten invasive Pilzinfektionen im Vergleich zu bakteriellen Infektionen seltener auf, doch ist die erregerassoziierte Mortalität insbesondere in der Phase der schweren Granulozytopenie hoch [158]. Die Diagnostik invasiver Pilzinfektionen ist schwierig, häufig wird eine sichere Diagnose erst *post mortem* gestellt [24]. Da nicht nur die diagnostischen sondern auch die therapeutischen Möglichkeiten bei systemischen Pilzinfektionen unbefriedigend sind, kommt der Prophylaxe eine erhebliche Bedeutung zu. Für die medikamentöse Prophylaxe systemischer Candidainfektionen stehen wirksame Medikamente wie Fluconazol und Itraconazol zur Verfügung. Im Gegensatz dazu kann die Inzidenz und Mortalität von Schimmelpilzinfektionen durch den Einsatz einer systemischen antimykotischen Prophylaxe nicht gesenkt werden. Da invasive Aspergillosen typischerweise durch Inhalation von Aspergillussporen aus der Umgebungsluft entstehen, spielt die Expositionsprophylaxe bei dieser bedrohlichen Systemmykose eine besonders große Rolle.

### **5.1. Exposition von Risikopatienten gegenüber Aspergilluspezies**

Es besteht weitgehende Übereinstimmung darüber, dass die invasiven Aspergillosen bei prädisponierten Patienten überwiegend exogenen Ursprungs sind [10, 83, 127, 150]. In der Regel entwickeln sich diese Infektionen durch Inhalation von Aspergillussporen, die überall in der Umwelt vorkommen, wo totes organisches Material, ausreichende Luftfeuchtigkeit sowie entsprechenden Temperaturen existieren [150, 161].

In ungefilterter Luft befinden sich in Europa und Nordamerika gewöhnlich zwischen 0,2 – 3,5 KBE/m<sup>3</sup> Aspergillus spp.. Höhere Keimzahlen mit 15 und mehr KBE/m<sup>3</sup> entstehen bei Freisetzung der Sporen aus organischen Substraten [150, 168]. Höchste Aspergillus fumigatus-Konzentrationen werden beispielsweise in der Luft von Kompostwerken mit bis zu  $9 \times 10^6/\text{m}^3$  nachgewiesen [95]. Obwohl es keinen verbindlichen Grenzwert bezüglich der Luftkonzentration für Aspergillussporen gibt, sind Aspergilluskonzentrationen  $> 10 \text{ KBE}/\text{m}^3$  im Innenraumbereich für Risikopatienten als Warnzeichen aufzufassen [149, 150].

Es wird davon ausgegangen, dass auch eine nur kurz dauernde Exposition gegenüber hoher Konzentrationen mit Aspergillussporen von prädisponierten Patienten mit einem erhöhtem Infektionsrisiko einhergeht [53, 149]. Aufgrund der wenigen Daten und der von Untersucher zu Untersucher unterschiedlichen Methodik (Luftkeimeinsammler, Nährmedium, Bebrütungstemperatur usw.) ist es derzeit nicht möglich, einen verbindlichen Grenzwert bezüglich der Luftkonzentrationen für Aspergillussporen festzusetzen.

In unserer Untersuchung wurden während der ersten Messung der Station (29.05.1997) unter natürlicher Belüftung 20 KBE/m<sup>3</sup> Aspergillus spp. in der Raumluft gefunden. 41,7% der Abklatschplatten waren positiv für Aspergilluspezies. Cornet et al [38] dokumentierten ähnliche Ergebnisse in mykologisch-hygienischen Untersuchungen innerhalb eines Krankenhauses während Baumassnahmen (24 KBE/m<sup>3</sup> in 1047 Luftproben und 51,5% Aspergillus-positive Abklatschproben). In einer über 2 Jahre verlaufenden Untersuchung von Chazalet wurden in 4 verschiedenen Krankenhäusern, ohne zusätzliche Freisetzung von Aspergillus-Sporen (z.B. im Zusammenhang mit Bauarbeiten), entsprechend deutlich niedrigere Konzentrationen (zwischen 0 und 3 KBE/m<sup>3</sup>) gefunden [34].

Raumlufttechnische Anlagen mit HEPA-Filtern können Aspergillussporen in der Raumluft reduzieren [38, 98, 155, 168]. Sherertz beschreibt eine Reduktion der Aspergillussporen nach Einbau einer Klimaanlage mit Überdruckbelüftung und HEPA-Filtern auf 0,009 KBE/m<sup>3</sup> [168]. In der vorliegenden Arbeit konnte nach Installation der Klimaanlage mit Überdruckbelüftung und Hochleistungs-Schwefstoff-(HEPA-) Filtern zu drei verschiedenen Untersuchungszeitpunkten kein Aspergillus spp. mehr nachgewiesen werden. Durchgangsverkehr kann die Keimzahlen von Mikroorganismen in der Luft erhöhen [59]. Trotzdem hat der zusätzliche Material- und Personenverkehr während der 3. und 4. Untersuchung die Messergebnisse im Vergleich zur 2. Untersuchung (funktionierende Klimaanlage ohne Patienten) nicht negativ beeinflusst.

Im gesamten Untersuchungszeitraum wurden umfangreiche Baumassnahmen auf dem Krankenhausgelände des Klinikum Kröllwitz (Neubau und Renovierung von Gebäuden) durchgeführt. Die Ergebnisse der ersten Messung (29.05.1997, Station unter natürlicher Belüftung) zeigten hohe Konzentrationen von Aspergillussporen an. Der Zusammenhang zwischen Bauarbeiten und dem damit verbundenen Anstieg der Aspergilluskonzentration in der Luft ist vielfach beschrieben [1, 9, 75, 80, 98]. Trotz der andauernden Bauaktivitäten und der damit verbundenen Freisetzung von Aspergillussporen wurden während der 2. - 4. Messung dieser Arbeit keine weitere Aspergillus-kolonien nachgewiesen. Damit konnte die Effizienz der installierten raumlufttechnischen Anlage belegt werden.

Von den isolierten Aspergillus spp. während der ersten Untersuchung dieser Arbeit lies sich Aspergillus fumigatus am häufigsten (7/16 Aspergilluskolonien) nachweisen. Dies ist mit anderen mykologisch-hygienischen Überwachungskulturen vergleichbar [34, 57, 152]. Der von uns weiterhin gefundene Aspergillus parasiticus und nidulans spielte in den aufgeführten Überwachungskulturen in

der Literatur keine größere Rolle. Von den mehr als 180 bekannten Aspergilluspezies, sind *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus* und *A. niger* besonders häufig Verursacher von invasiven Mykosen des Menschen [45]. Von diesen 4 Vertretern ist *A. fumigatus* für über 90% der pulmonalen Pilzinfektionen verantwortlich [45, 88]. Interessanterweise macht *A. fumigatus* nur einen Anteil von 0,3% der in der Luft vorkommenden saprophytischen Pilzsporen aus [164]. *Aspergillus fumigatus* spielt als Krankheitserreger für den Menschen eine wichtige Rolle, da er sich durch ein schnelles Wachstumsverhalten und kleine Sporengröße (2-3 µm) auszeichnet.

Die häufigste Methode zum Nachweis von Aspergillussporen sind Luftmessungen [80]. Kontaktmethoden wie Abklatschpräparate an Wänden und Fensterbänken der Patientenzimmer können ebenfalls benutzt werden und messen eine stattgehabte Kontamination nachdem sich die Sporen an Raumboflächen abgesetzt haben. Für jede Messung unserer Untersuchung wurden jeweils 12 Proben aus der Luft, von den Fensterbrettern und den Wänden gewonnen. 75% der Aspergillusnachweise wurden durch Abklatschpräparate gesichert. In den meisten veröffentlichten Untersuchungen zur Exposition mit *Aspergillus* spp. wurden allerdings nur Luftmessungen durchgeführt [10, 57, 62, 73, 75, 136, 152, 155, 162, 173]. Die zusätzliche Durchführung von Abklatschproben scheint, bei Betrachtung unserer Untersuchungsergebnisse, hilfreich für das Detektieren von Schimmelpilzerregern zu sein. Eine Erklärung dafür ist, dass sich Aspergillussporen an vielen Oberflächen wie Bettlagen, Kleidung, Teppichen, Zimmerdecken festsetzen und lebensfähig bleiben [63].

Alle Proben unserer Messungen wurden jeweils bei Zimmer- und Körpertemperatur bebrütet. Von den 16 gefundenen Aspergilluskolonien waren jeweils 50% bei Zimmer- und bei Körpertemperatur nachgewiesen worden (s. Tab. 10). Der Anteil aller bei Körpertemperatur bebrüteten Kolonien enthielt allerdings deutlich mehr *Aspergillus* spp. (25% vs 2,1%). Bei höheren Temperaturen kommt den thermotoleranten humanpathogenen Aspergilluspezies ein Selektionsvorteil zugute. Die optimale Wachstumstemperatur von *Aspergillus fumigatus* liegt beispielsweise über 35°C. Die Bebrütung bei Zimmertemperatur ist daher ungünstig für die Quantifizierung von thermotoleranten Aspergillusarten, da die in der Luft meist in höheren Konzentrationen vorhandenen mesophilen Arten einen Wachstumsvorteil besitzen und durch Überwucherung der Nährböden, Nahrungskonkurrenz oder Hemmeffekte das Wachstum thermotoleranter Arten einschränken. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Analyse.

Aus den publizierten Daten verschiedener Autoren über Luftmessungen von Aspergilluskolonien wird deutlich, dass keine standardisierten Verfahren eingesetzt wurden und damit ein Vergleich nur bedingt möglich ist [10, 38, 57, 80, 127, 149, 173]. Eine Standardisierung der Messmethoden und die Entwicklung von Überwachungsprotokollen zur Exposition gegenüber Pilzerregern in der Umgebung von Patienten sind deshalb unbedingt notwendig [38, 141].

Bislang gibt es keine klaren Empfehlungen zur Durchführung von regelmäßigen mykologisch-hygienischen Untersuchungen, da deren Analyse keine sichere Risiko- bzw. Situationsbeurteilung ermöglicht [75, 98, 145, 152, 184]. Da eine mykologisch-hygienische Messung zu einem Zeitpunkt

nur eine Momentaufnahme darstellt, kann auch ein negatives Ergebnis keine Sicherheit bieten. Kurzzeitige Spitzenkonzentrationen von Pilzsporen werden so nicht zwangsläufig miterfasst. Weiterhin besteht keine strenge Korrelation zwischen dem Sporengehalt der Luft und der Häufigkeit von Aspergillusinfektionen [73, 86, 98, 152]. Jedoch kann eine umfangreiche krankenhaushygienische Überwachung mit Untersuchungen der Lüftungssysteme sowie Messung der Luftbelastung durch Aspergillus-Sporen helfen, im Falle einer Häufung von nosokomialen Aspergillosen, bisher noch nicht entdeckte Streuherde zügig zu detektieren und gezielte Korrekturmaßnahmen durchzuführen [49, 136, 152]. Dafür ist eine gute Kooperation der Kliniker und Krankenhaushygiene notwendig, die in enger Zusammenarbeit die Zahl vermeidbarer Infektionen reduzieren helfen.

## **5.2. Analyse der aufgetretenen Pilzinfektionen zwischen 1995 und 1999**

### **5.2.1. Häufigkeit von Pilzinfektionen**

Invasive Pilzinfektionen stellen häufige infektiöse Komplikationen bei Patienten mit hämatologischen Neoplasien dar und zeichnen sich durch eine hohe Morbidität und Letalität aus. Die Einschätzung der Inzidenz systemischer Mykosen ist aufgrund unterschiedlicher Definitionskriterien, Risikofaktorkonstellationen sowie Diagnostikprogramme schwierig [24].

In der vorliegenden retrospektiven Auswertung von 319 stationär behandelten hämatologisch-onkologischen Patienten im Zeitraum von 1995 bis 1999 erkrankten 87 (27,2%) an tiefen und/oder oberflächlichen Pilzinfektionen. Bei 54 Patienten (16,9%) wurde eine tiefe Pilzinfektion und bei 49 Patienten (15,4%) eine oberflächliche Pilzinfektion diagnostiziert. Der Anteil der oberflächlichen Mykosen erscheint vergleichsweise gering [58]. Es ist anzunehmen, dass ein großer Anteil oberflächlicher Mykosen, wie z.B. Mundsoor der Dokumentation in der Krankenakte entgangen ist. Achtzehn Patienten erlitten eine tiefe Aspergillusinfektion (5,6%) und 28 Patienten eine tiefe Candidainfektion (8,2%). Die Inzidenz tiefer Aspergillosen variiert zwischen und auch innerhalb der Behandlungszentren weltweit von 0% bis über 25% [17, 132, 163, 168]. Im Fred Hutchinson Cancer Research Center in Seattle lag die Inzidenz invasiver Aspergillosen in den Jahren 1992 bis 1998 zwischen 1,1% und 5,3% bei Patienten mit autologer Stammzelltransplantation [99]. Wenn man davon ausgeht, dass diese Patienten ein Transplantations-bedingtes höheres Infektionsrisiko hatten als die Patienten unserer Untersuchung, sind in der vorliegenden Analyse vergleichsweise viele Fälle mit Aspergillosen (5,6% der Patienten) aufgetreten.

Ein weiterer Vergleich der Infektionshäufigkeit mit den Literaturdaten ist schwierig, da sich unsere Untersuchung primär auf die Zahl der Behandlungsepisoden und nicht auf die Anzahl der Patienten bezieht. Dieses Vorgehen wurde gewählt, da die mit den Behandlungsepisoden einhergehende Neutropenie den wichtigsten Risikofaktor für invasive Pilzinfektionen darstellt und weil manche Patienten im Untersuchungszeitraum mehrmals hospitalisiert wurden. In 15,1% aller Behandlungsepisoden (n=842) traten oberflächliche oder tiefe Pilzinfektionen auf. Von den 62

Behandlungsepisoden mit einer tiefen Pilzinfektionen wurden 24 durch *Aspergillus* spp. und 28 durch *Candida* spp. verursacht.

Bei einer methodisch ähnlichen Analyse von Pilzinfektionen bei Patienten mit akuter Leukämie in der Universitätsklinik Bonn von 1992-1994 gingen 20 von 236 der Chemotherapiezyklen (8,5%) mit einer tiefen Pilzinfektion einher. Aspergillosen traten in 5,1% der Chemotherapiezyklen auf [153]. Die bei uns gefundene Häufigkeit der an tiefen Pilzinfektionen (11,1% der Behandlungsepisoden) und Aspergillusinfektionen erkrankten Patienten (5,9% der Behandlungsepisoden) mit einer akuten Leukämie ist vergleichbar.

Die Inzidenz von Pilzinfektionen nimmt stetig zu, wobei sich die meisten Studien vorwiegend auf systemische Infektionen beziehen [60, 103, 182]. Groll et al beschreibt in einer Analyse von Autopsiedaten eine signifikante Zunahme an invasiven Mykosen von 1978-1992, wobei dies vorwiegend auf Aspergillosen zurückzuführen war. Die Inzidenz der tiefen Candidainfektionen blieb gleich und fiel sogar zum Ende des Beobachtungszeitraums ab.

Betrachtet man alle tiefen Pilzinfektionen der vorliegenden Analyse über den Untersuchungszeitraum von 1995 bis 1999, so ist mit Ausnahme des Jahres 1997 eine kontinuierliche Abnahme der Erkrankungshäufigkeit von 8,1% auf 3,0% der Behandlungsepisoden zu verzeichnen (s. Tab. 12). Das Häufigkeitsmaximum lag für tiefe Pilzinfektionen mit 16,2% der Behandlungsepisoden im Jahr 1997. Für die tiefen Aspergillosen getrennt betrachtet, fällt im Gegensatz dazu eine Zunahme der Erkrankungshäufigkeit bis 1997 auf und geht mit den Literaturdaten zur steigenden Inzidenz konform. Der Erkrankungsgipfel tiefer Aspergillosen im Jahr 1997 ist wahrscheinlich auf die Baumassnahmen außerhalb des Krankenhauses zurückzuführen. Zu diesem Zeitpunkt befanden sich die Patienten auf einer alternativen Station mit natürlicher Belüftung. Die Häufung von Aspergillusinfektionen während Baumassnahmen mit einhergehender Freisetzung von Sporen ist in der Literatur mehrfach beschrieben und wird durch diese Analyse bestätigt [10, 91, 98, 173]. Die Inzidenz tiefer Candidainfektionen blieb relativ konstant (3,1% - 5,1% der Behandlungsepisoden) und zeigte sich 1999 mit 2,4% sogar fallend. Eine mögliche Erklärung könnte der in diesem Jahr häufigste Einsatz der systemischen Prophylaxe mit Fluconazol oder Itraconazol sein (1995 – 39,8%; 1996 – 59,1%; 1997 – 42,7%; 1998 – 47,9%; 1999 – 67,3%). Für die tiefen Pilzinfektionen ohne Erregernachweis lässt sich keine Dynamik postulieren. Allerdings fällt die Häufigkeitsverteilung mit dem höchsten Wert 1995 und dem niedrigsten Wert 1999 auf. Dies könnte auf die diagnostischen Fortschritte z.B. auf dem Gebiet der bildgebenden Verfahren und der zunehmenden Akzeptanz invasiver Diagnostik zurückzuführen sein [24, 33, 103]. Die Gründe für die dramatische Zunahme an invasiven Aspergillosen sind nicht vollständig geklärt.

### 5.2.2. Einfluss der Klimaanlage mit Überdruckbelüftung und HEPA-Filtern auf das Auftreten von Pilzinfektionen

Aspergillosen entwickeln sich in der Regel durch Inhalation von Aspergillussporen. Ventilationssysteme können Aspergillussporen fast vollständig aus der Raumluft entfernen [149]. Zwischen Juni und Dezember 1997 erfolgte eine umfangreiche Renovierung der hämatologischen

Station mit Einbau einer Klimaanlage mit Überdruckbelüftung und Hochleistungs-Schwebstoff-(HEPA-) Filtern. In dieser Zeit wurden die Patienten in einem anderen Gebäude mit natürlicher Belüftung behandelt. Anhand der durchgeführten mykologisch-hygienischen Untersuchungen der Station KIM 10 konnte gezeigt werden, dass dieses Ventilationssystem in der Lage ist Aspergillussporen wirksam aus der Raumluft zu filtern. In der vorliegenden retrospektiven Analyse sollte analysiert werden, ob die verminderte Exposition der hämatologischen Patienten gegenüber Pilzsporen während des stationären Aufenthaltes zu einer Reduktion der Pilzinfektionen führt. Dabei wurden die Jahre 1995, 1996 und 1997 (Station mit natürlicher Belüftung) mit den Jahren 1998/ 1999 zusammen (Station mit Klimaanlage) als Referenz verglichen.

Die Wahrscheinlichkeit an einer Pilzinfektion zu erkranken, war vor Einbau der Klimaanlage 1,2 bis 2,8 fach erhöht, mit statistischer Signifikanz der Ergebnisse für die Jahre 1995 und 1997 (s. Tab. 13). Das Risiko für tiefe Pilzinfektionen allein zeigte sich von 1995 bis 1997 ebenfalls erhöht (1995 und 1996 ohne statistische Signifikanz). Die Erkrankungswahrscheinlichkeit für eine invasive Aspergillose erreichte 1997 den höchsten Wert mit einer Odds Ratio von 10,1 ( $p < 0,001$ ) gegenüber den Referenzjahren 1998 und 1999. Für die tiefen Candidainfektionen und die oberflächlichen Mykosen lag eine diskrete Risikoerhöhung ohne statistisch signifikanten Unterschied vor (OR zwischen 1,1 und 1,8).

Ventilationssysteme können das Auftreten von Pilzinfektionen minimieren [128, 134, 168, 197]. Oren et al beschrieb bei Patienten mit akuter Leukämie und Knochenmarktransplantation sogar einen Rückgang der Aspergillosen von 50% auf 0% durch Installation einer Klimaanlage mit HEPA-Filtern [128]. Die Effizienz von raumluftechnischen Anlagen wurde insbesondere durch die Kontrolle von gehäuft aufgetretenen Aspergillusinfektionen z.B. im Rahmen von Baumassnahmen mit erhöhter Staubentwicklung gezeigt [7, 62, 127, 137, 168]. Diese Untersuchungen beziehen sich meist auf Beobachtungen einer Infektionshäufung und retrospektive Analysen. Dazu muss erwähnt werden, dass neben der Installation von Klimaanlagen häufig auch andere präventive Massnahmen umgesetzt wurden und es daher schwer ist, den alleinigen Effekt der raumluftechnischen Anlage auf die Reduktion der Aspergillosen zu konstatieren. In der Literatur gibt es nur wenige kontrollierte prospektive Studien, die den präventiven Effekt solcher Klimaanlagen auf invasive Aspergillosen darlegen [74].

Die hohe Inzidenz an Aspergillosen, die in der vorliegenden Arbeit gefunden wurde, konnte durch den Einbau einer raumluftechnischen Anlage, mit Überdruckbelüftung und Hochleistungs-Schwebstoff-(HEPA-) Filtern im Jahr 1997 wirkungsvoll gesenkt werden. Parallel konnte durch die erhobenen mykologisch-hygienischen Daten eine Reduktion der initial hohen Sporenbelastung dokumentiert werden (s. Tab. 5). Dennoch bleibt es schwierig einen kausalen Zusammenhang zwischen der nosokomialen Exposition mit Aspergillussporen und den dadurch hervorgerufenen Aspergillosen zu beweisen. In der bisher größten epidemiologische Studie wurden *A. fumigatus*-Stämme neutropener Patienten mit Mukoviszidosepatienten und *A. fumigatus* Proben innerhalb des Krankenhauses

genotypisiert und verglichen. Insgesamt konnte dabei nur für 40% der *A. fumigatus* Stämme der Patienten eine nosokomiale Herkunft postuliert werden [44].

Obwohl in den mykologisch-hygienischen Untersuchungen keine Asperillussporen auf der Station bei funktionierender Klimaanlage nachzuweisen waren, konnte das weitere Auftreten von Aspergillosen nicht vollständig verhindert werden. Ein eindeutiger Zusammenhang zwischen dem Sporengehalt der Luft und der Häufigkeit von Aspergillusinfektionen konnte bisher nicht konstatiert werden [73, 98, 152]. Eine Kolonisation des Patienten außerhalb der Station, zum Beispiel auf dem Weg zu Untersuchungen innerhalb des Krankenhauses mit natürlich belüfteten Räumen oder vor stationärer Aufnahme, ist in der Literatur beschrieben [29, 50, 183, 188]. So kann eine nur kurz dauernde Exposition gegenüber hoher Konzentrationen von Asperillussporen bei prädisponierten Patienten zur Auslösung von Infektionen ausreichend sein [149]. Darüber hinaus gibt es endogene Infektionsquellen z.B. die Kolonisation des Nasenrachenraumes, die asymptomatische Besiedelung des oberen Respirationstraktes und Lungenaspergillome [17, 87]. Dies belegt die Notwendigkeit, Risikopatienten frühzeitig d.h. nicht erst zum Zeitpunkt einer Neutropenie vor exogenen Streuquellen zu schützen.

Dennoch besteht Übereinstimmung darin, dass für die am stärksten gefährdeten Patienten (z.B. bei Knochenmarkstransplantation) die Unterbringung in Räumen mit Luftfilterung eine wesentliche Maßnahme zum Schutz vor Aspergillosen darstellt und daher empfohlen wird [82, 84, 150, 161, 168, 174]. Voraussetzung ist allerdings eine regelmäßige Wartung der raumlufttechnischen Anlage, da diese selbst zur Infektionsquelle werden kann.

### 5.2.3. Pilzinfektionen in Abhängigkeit von Grunderkrankung und Therapie

Hämatologische Patienten sind in Abhängigkeit von der Art der Diagnose und der Therapie unterschiedlich stark von Pilzinfektionen betroffen. Ein wichtiger Faktor ist die therapie- oder erkrankungsbedingte Granulozytopenie. Leukämiepatienten erleiden aufgrund dessen am häufigsten eine Mykose [138]. In Obduktionsstudien wird die Häufigkeit mit 24-37% angegeben [138]. Die besondere Mykosegefährdung für Leukämiepatienten fand sich in der vorliegenden Untersuchung bestätigt (s. Tab. 16). 23,4% der Behandlungsepisoden bei AML-Patienten und 21,7% bei CML-Patienten gingen mit einer Mykose einher. Patienten mit myelodysplastischen Syndromen erkrankten am häufigsten an einer Mykose (28,6% der Behandlungszyklen).

Die besonders hohe Aggressivität der Induktionstherapien bei Leukämien ist mit einem hohen Mykoserisiko verbunden. Insbesondere Hochdosis-AraC in der AML-Therapie ist mit einer erhöhten Inzidenz an invasiven Mykosen assoziiert, vermutlich gefördert durch die verstärkte Kolonisierung mit Pilzen im Falle einer häufig schweren, therapie-assoziierten Mukositis [28]. Diese Beobachtung lies sich in unserer Untersuchung bestätigen. Die Mykoseinzidenz bei AML-Induktionstherapien war mit 32,7% am höchsten. Im Vergleich dazu traten Mykosen nur bei 6,3% der ALL-Induktionstherapien auf (s. Tab. 17). Die deutlich geringere Inzidenz an neutropenischen Episoden in dieser Gruppe im Vergleich zu AML-Induktionstherapien könnte eine Erklärung sein (Neutropenie > 7 Tage: 50,0% versus 78,2%).

Auch oberflächliche Mykosen traten bei ALL-Induktionstherapien im Vergleich zu den übrigen Therapien deutlich weniger auf. Das könnte ebenfalls an der bereits erwähnten geringeren Anzahl neutropenischer Episoden in dieser Gruppe liegen.

#### 5.2.4. Pilzinfektionen bei verstorbenen Patienten

Bei 15-50% der Autopsien hämatologischer Patienten sind Pilzinfektionen nachweisbar und werden in ca. 76% der Fälle als maßgebliche Todesursache eingeschätzt [60, 138]. In unserer Analyse der 23 obduzierten Patienten bestand in 11 Fällen eine tiefe Pilzinfektion (48,0%). Davon wurde die Pilzinfektion bei 5 Patienten (45,5%) als Haupttodesursache angegeben.

Der Anteil systemischer Pilzinfektionen an infektbedingten Todesfällen bei Patienten mit Leukämie wurde durch de Pauw mit etwa 25% beschrieben [42]. Das Ergebnis unserer Untersuchung zeigte sich ähnlich. 23,1% der durch eine Infektion hervorgerufenen Todesfälle der AML-Patienten war auf eine Pilzinfektion zurückzuführen.

In der Autopsiestudie von Bodey et al ließen sich 30% aller Pilzinfektionen bei Krebspatienten auf *Aspergillus* spp. und 58% auf *Candida* spp. zurückführen [17]. In der vorliegenden Analyse der obduzierten Patienten war der Anteil der *Aspergillus*-Infektionen (33%) gleich hoch und der Anteil der *Candida*-Infektionen (48%) vergleichsweise geringer (s. Tab. 18). Eine mögliche Erklärung kann die inzwischen verbreitete Praxis des Einsatzes von Azolderivaten, wie Fluconazol in der antimykotischen Prophylaxe von Candidosen, sein. Weiterhin ist durch die zunehmende Inzidenz an *Aspergillose*, ein epidemiologischer Shift zugunsten der Fadenpilzinfektionen zu beobachten, der sich auch in unseren Daten zeigt [156, 183].

Aufgrund der zu Lebzeiten oft eingeschränkten diagnostischen Methoden werden *Aspergillose* oft erst post mortem diagnostiziert [175]. Einschränkend muss bemerkt werden, dass durch den Rückgang der Autopsieraten in Deutschland eine exakte epidemiologische Aussage mittlerweile sehr schwierig ist.

Autopsiestudien aus Deutschland und anderen Ländern belegen nicht nur die steigende Inzidenz, sondern auch die Bedeutung systemischer Pilzinfektionen für die Mortalität von Patienten mit hämatologischen Systemerkrankungen. Die Daten des amerikanischen „Center for disease control“ zeigen neben einer numerischen Zunahme von Pilzinfektionen auch einen Anstieg der erregerassoziierten Mortalität [106].

Die Mortalität von invasiven *Aspergillose* beträgt 50% und mehr, für knochenmarktransplantierte Patienten sogar bis 94% [46, 93, 132]. In unserem Patientengut verstarben 7 von 18 Patienten (41,2%) mit einer tiefen *Aspergillose*. Bei 5 der verstorbenen Patienten war die Pilzinfektion Haupttodesursache. In drei dieser Fälle wurde die Diagnose erst post mortem gesichert. Die meist langwierige antimykotischen Therapie verzögerte die Behandlung der malignen Grunderkrankung. Dadurch verschlechtert sich die Prognose zusätzlich zu der hohen infektassoziierten Mortalität invasiver *Aspergillose*.

Die Mortalität der invasiven Candidainfektionen wurde häufig im Zusammenhang mit Candidämien untersucht und wird für onkologische Patienten mit ca. 39% angegeben [180]. In unserer Klinik verstarben im Untersuchungszeitraum 7 von 26 Patienten (26,9%) mit einer tiefen Candidainfektion (3 x *Candida albicans*, 1 x *C. krusei* und *glabrata*, 2 x positive Histologie). Die Gruppe unserer Patienten mit Candidainfektionen war im Vergleich zu den Candidämiepatienten in den Literaturdaten inhomogener, da neben den disseminierten Infektionen wie der Candidämie (n=5) sowohl bronchopulmonale (n=21) als auch gastrointestinale (n=2) Manifestationen miterfasst wurden. In 1 Fall war die Mykose Haupttodesursache und in weiteren 2 Fällen teilverantwortlich. In einer großen europäischen Candidämiestudie war *C. glabrata* mit der höchsten Mortalitätsrate unter den *Candida* spp. assoziiert [180]. Trotz der kleinen Fallzahlen für tiefe Candidainfektionen bei obduzierten Patienten unserer Untersuchung fällt auf, dass die einzige durch *C. glabrata* hervorgerufenen tiefe Mykose zum Tode führte und stützt damit die Annahme von Viscoli et al.

Die Mortalität der vermuteten Mykosen ohne Erregernachweis war mit 40% hoch und erklärt sich zumindest zum Teil durch die fehlende Möglichkeit einer erregerspezifischen und antibiogramm-gerechten Therapie.

#### 5.2.5. Patienten- und therapiebezogene Risikofaktoren von Mykosen

Der Ausprägungsgrad und die Dauer einer Neutropenie gehören zu den wichtigsten Einflussgrößen auf das Risiko einer Pilzinfektion [6, 104, 161]. Daher wird das mögliche Erkrankungsrisiko von der Arbeitsgruppe Infektiologie in der DGHO unterteilt in [82]: **Niedrigrisiko** (Granulozytopenie < 500/µl über einen Zeitraum < 5 Tage), **Standardrisiko** (Granulozytopenie < 500/µl über einen Zeitraum von 5-10 Tage) und **Hochrisiko** (Granulozytopenie < 500/µl über einen Zeitraum > 10 Tage). In der vorliegenden Arbeit konnte das mit zunehmender Dauer der Neutropenie erhöhte Risiko für eine Pilzinfektion bestätigt werden. Das Risiko an einer tiefen Pilzinfektionen zu erkranken (OR 125,8, p<0,0001) zeigte sich in der dritten granulozytopenischen Woche außerordentlich hoch (s. Tab. 21). Daraus abzuleiten ist die Wichtigkeit einer schnellen Regeneration der Granulozytopenie für die Überwindung einer Infektion. Der Einsatz von G-CSF und GM-CSF zur Verbesserung der Immunabwehr ist untersucht worden, dabei konnte ein positiver Einfluss sowohl auf die Granulozytenregeneration, als auch die Dauer und den Schweregrad von bakteriellen und Pilzinfektionen gezeigt werden. Es liegt derzeit jedoch kein eindeutiger Hinweis auf eine Reduktion von Morbidität und Mortalität vor [23, 36, 55, 119, 129].

Intensive Chemotherapien mit erheblicher Schleimhauttoxizität erhöhen das Infektionsrisiko. In unserer Untersuchung fand sich der Risikofaktor Mukositis ebenfalls, mit einer Odds Ratio von 2,3 (p=0,002) bestätigt (s. Tab. 20).

Eine früher durchgemachte systemische Pilzinfektion bedeutet ein hohes Risiko für ein Infektrezidiv bei erneuter intensiver Chemotherapie [154] und zeigt sich in der vorliegenden Untersuchung mit einer OR von 3,2 (p=0,022) (s. Tab. 21).

Zentralvenöse Katheter die Ausgangspunkt hämatogener Streuungen sein können, sind ein weiterer Risikofaktor [89], der in unserer Untersuchung mit einer OR von 2,5 ( $p=0,008$ ) für tiefe Pilzinfektionen angegeben werden konnte (s. Tab. 21).

Für den Risikofaktor Blasenkatheeter wurde eine unerwartet hohe Odds Ratio von 3,1 ( $p<0,0001$ ) für alle Pilzinfektionen und 9,7 ( $p<0,0001$ ) für tiefe Pilzinfektionen gefunden. Da viele Patienten *Candida* spp. mit dem Stuhl ausscheiden, können Infektionen durch Kontamination des Blasenkatheeters gefördert werden. Eine weitere mögliche Erklärung ist die Annahme, dass Patienten häufiger mit einem Blasenkatheeter versorgt wurden, die sich durch die Grunderkrankung, Therapie und/ oder Mykose in einem kritischen Zustand befanden und die Notwendigkeit einer intensivierten Überwachung bestand.

Auch das Alter zählt im Sinne eines physiologischen Immundefektes zu den Risikofaktoren für Mykosen [165] und wurde in unserer Analyse als Risikofaktor für tiefe Pilzinfektionen bestätigt (OR 2,4;  $p=0,006$ ).

Die Therapie mit Breitspektrumantibiotika zählt zu den prädisponierenden Faktoren, da durch die sinkende Rate bakterieller Infektionen ein längeres Überleben in eine granulozytopenischen Phase ermöglicht wird und zudem ein Selektionsvorteil für Pilzerreger entsteht [40, 124]. Trotz des häufigen Gebrauches von Breitspektrumantibiotika in unserer Klinik (84,4%) in allen Behandlungsepisoden wurde kein signifikantes Ergebnis für diesen Risikofaktor gefunden.

Von mehreren Autoren sind weitere Risikofaktoren für Mykosen bei hämatologisch-onkologischen Patienten wie z.B. eine Glukocorticosteroidmedikation [13], hochkalorische parenterale Ernährung [39] und Remissionsstatus der Grunderkrankung [151] beschrieben worden. Für diese Risikofaktoren wurden in der vorliegenden Analyse keine statistisch signifikanten Ergebnisse erzielt, was an dem heterogenen Patientengut und an der beschränkten Fallzahl liegen könnte.

Die Kenntnis der Risikofaktoren kann helfen, die Wahrscheinlichkeit einer invasiven Mykose für den individuellen Patienten einzuschätzen. Im Sinne der Lebensqualität der Patienten sowie der Kosten-Nutzen-Abwägung ist es sinnvoll verschiedene Risikofaktoren zu definieren, an denen die Intensität des diagnostischen Vorgehens ausgerichtet werden kann [24].

#### 5.2.6. Erregerspektrum von Pilzinfektionen

*Candida albicans* und *Aspergillus* spp. sind die häufigsten Verursacher von tiefen Pilzinfektionen bei hämatologisch-onkologischen Patienten [4, 17, 76, 161]. *Candida* spp. führen vorrangig zu lokalen Schleimhautmykosen sowie tiefen Pilzinfektionen. *Aspergillus* spp. sind die häufigste Ursache von bronchopulmonalen Infektionen bei prädisponierten Patienten [4, 17]. In einer 1992 veröffentlichten internationalen Autopsiestudie entfielen 58% der invasiven Mykosen auf *Candida* spp. und 30% auf *Aspergillus* spp.. Durch die ständig steigende Inzidenz von Aspergillosen kommt es zunehmend zu einer Verschiebung des Mykosespektrums [60, 138, 183]. In einer prospektiven Untersuchung (März 2001-Dezember 2002) bei Patienten nach Stammzelltransplantation wurden bereits 70% aller invasiven Pilzinfektionen durch Schimmelpilze wie *Aspergillus* verursacht [133]. Ursachen für diesen

epidemiologischen Trend sind neben der steigenden Zahl von prädisponierten Patienten die besseren prophylaktischen und therapeutischen Möglichkeiten nicht nur für Candidosen sondern auch für virale und bakterielle Infektionen [63, 83].

Von den 62 tiefen Pilzinfektionen unserer Untersuchung (1995-1999) wurden 28 (45%) durch *Candida* spp. und 24 (39%) durch *Aspergillus* spp. verursacht. Für die übrigen 10 tiefen Mykosen konnte kein Erreger gesichert werden. Diese Angaben unterstreichen den beschriebenen epidemiologischen Trend. Unter den Sprosspilzen nimmt der Anteil der Non-*Candida albicans*-Arten (z.B. *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*) zu [71, 103, 120]. Obwohl *C. albicans* die am häufigsten nachzuweisende Spezies ist, scheint die Virulenz der einzelnen Arten unterschiedlich und auch therapierelevant zu sein. Eine intestinale Kolonisierung mit *C. tropicalis* beispielsweise führt bei entsprechender Prädisposition sehr viel häufiger zur systemischen Infektion als dies bei *C. albicans* oder *C. glabrata* zu beobachten ist [158]. Der Nachweis von *C. krusei* und *C. tropicalis* zeigte in der vorliegenden Analyse häufiger eine Infektion an (38,5% und 22,2%), als bei *C. albicans* (17,8%) und *C. glabrata* (4,2%). Betrachtet man die nachgewiesenen *Candida* spp. der tiefen Candidainfektionen allein, war dieser Unterschied besonders deutlich (s. Tab. 23). Ein Grund für den höheren Anteil der Non-*Candida albicans*-Arten unter den Infektionen im Vergleich zu den Überwachungskulturen könnte die häufig durchgeführte antimykotische Prophylaxe und die damit mögliche Selektion der Non-*Candida albicans*-Arten sein. Weiterhin zeigen Spezies wie *C. krusei*, *C. glabrata* häufig eine primäre Fluconazol-Resistenz und werden daher durch die zurzeit übliche antimykotische Prophylaxe nicht erfasst [120, 146].

In einer Untersuchung von Fegeler wurde das Spektrum der Pilzerreger aus klinischen Untersuchungsmaterialien für die Jahre 1988 (n=5965) und 1992 (n=7236) verglichen. Dabei fiel eine Zunahme der Nachweise für *C. glabrata* (15,6% vs. 25,2%) und geringer auch für *C. krusei* (1,0% vs 1,2%) auf [52]. Eine seit Einführung von Fluconazol viel diskutierte Frage ist die der möglichen Selektion von Non-*Candida albicans*-Arten, insbesondere *C. krusei* und *C. glabrata*. Dazu existieren unterschiedliche Beobachtungen [35, 71, 85, 193]. In den Untersuchungsmaterialien unserer Klinik aus Infektionsepisoden und Überwachungsproben wurden aus 268 Sprosspilzisolaten 9,0% *C. glabrata*, 4,9% *C. krusei* und 3,4% *C. tropicalis* identifiziert. Angaben zu Häufigkeiten der Non-*Candida albicans*-Arten in unserer Klinik vor Einführung der Fluconazolprophylaxe stehen nicht zur Verfügung. Trotz der im Untersuchungszeitraum häufig durchgeführten Fluconazolprophylaxe schien der Anteil von *C. glabrata* (n=24) im Vergleich zu den Daten von Fegeler nicht erhöht. Der *C. krusei*-Anteil war relativ hoch, wobei die insgesamt geringe Anzahl der Isolate einschränkend bemerkt werden muss (n=13).

Der Nachweis von Non-*Candida albicans*-Arten ist therapeutisch wichtig, da meist höhere Dosierungen der systemischen Antimykotika nötig sind und teilweise primäre Resistenzen bestehen. Möglicherweise lässt sich die umstrittene Wirksamkeit von Fluconazol gegenüber der Non-*Candida albicans*-Arten durch eine Prophylaxe mit Itraconazol ausgleichen, das sowohl *Candida* als auch *Aspergillus* spp. erfasst [82, 100, 142, 143].

### 5.2.7. Resistenzverhalten von Sprosspilzen

Von 532 Pilzisolaten aus Infektionsepisoden und Überwachungskulturen wurden 210 Antibiogramme erstellt. In unserem Untersuchungsmaterial lagen die Flucytosin-Resistenzraten mit 54,5% für *C. albicans* und 73% für die Non-*Candida albicans*-Arten sehr hoch. Im Vergleich dazu wurde die Häufigkeit Flucytosin-resistenter Stämme in Europa für *C. albicans* zwischen 6 und 9% und für Non-*Candida albicans* bis 20% angegeben [140].

Im Laufe der letzten Jahre wurde vermehrt über Therapiemisserfolge verbunden mit dem Auftreten von Fluconazol-resistenten *Candida* spp. berichtet. Die Resistenzraten für *C. krusei* und *glabrata* sind besonders hoch [69, 70]. Da Fluconazol nicht im Routineantibiogramm enthalten war, konnten in der vorliegenden Untersuchung nur unzureichende Testzahlen gesammelt werden, die keine zuverlässige Aussage zulassen. In 2 von 14 getesteten Sprosspilzisolaten lies sich eine Resistenz auf Fluconazol feststellen, die allein *C. albicans* betraf. Bei den untersuchten *C. glabrata* und *C. krusei*-Isolaten (n=4) waren entgegen den Literaturangaben keine Resistenzen gegen Fluconazol nachweisbar, obwohl Fluconazol in der antimykotischen Prophylaxe regelmässig eingesetzt wurde.

Trotz seiner extensiven Anwendung in der antimykotischen Therapie seit über 40 Jahren ist die sekundäre Resistenz gegen Amphotericin B ein seltenes Phänomen. Rex et al. konstatieren, dass Resistenzen von Amphotericin B bei Sprosspilzen praktisch nicht vorkommen. Allerdings werden zunehmend auch Amphotericin B resistente Sprosspilze identifiziert [47, 144]. In unserem Untersuchungsmaterial zeigten sich 2,9% der Sprosspilzisolatete resistent gegen Amphotericin B, wobei nur Non-*Candida albicans*-Arten betroffen waren.

### 5.2.8. Antimykotische Prophylaxe

Für die antimykotische Prophylaxe neutropenischer Risikopatienten mit hämatologischen Neoplasien werden in den Leitlinien der DGHO sowohl Fluconazol als auch Itraconazol in einer Dosierung von 400 mg/Tag empfohlen. Eine wirksame Prophylaxe von systemischen Candidainfektionen mit Fluconazol konnte nur für Patienten nach allogener Stammzelltransplantation eindeutig nachgewiesen werden [101]. Für Itraconazol-Kapseln in einer Dosis von 400 mg pro Tag konnte keine Reduktion von oberflächlichen und systemischen Candidainfektionen gezeigt werden [181]. Itraconazol zeigt eine In-vitro-Wirksamkeit gegen *Candida* spp. als auch Aspergillen. Allerdings ist die Resorption von Itraconazol aus dem Gastrointestinaltrakt schlecht vorhersehbar. Eine prophylaktische Wirksamkeit von Itraconazol per os gegenüber invasiven Aspergillosen konnte bisher nicht gezeigt werden.

In einer vergleichenden Untersuchung von Itraconazol-Kapseln (400 mg/ Tag) und Fluconazol p.o. (300 mg/Tag) in der antimykotischen Prophylaxe konnte kein Unterschied für das Auftreten von Pilzinfektionen gefunden werden [8]. In der vorliegenden Analyse wurden in 283 Behandlungsepisoden Fluconazol und in 147 Behandlungsepisoden Itraconazol als antimykotische Prophylaxe verabreicht. Obwohl für oberflächliche und tiefe Pilzinfektionen gemeinsam betrachtet unter der Itraconazol-Prophylaxe signifikant weniger Infektionen auftraten, war dieser Unterschied für die oberflächlichen und tiefen Pilzinfektionen einzeln betrachtet nicht signifikant und die

Überlegenheit von Itraconazol nur tendenziell nachzuvollziehen (s. Tab. 22). Ein Grund dafür könnte die zu geringe Fallzahl gewesen sein.

Bei intravenöser Applikation oder als Schlucklösung (seit 1998 für die antimykotische Prophylaxe von Systemmykosen zugelassen) scheint Itraconazol eine bessere prophylaktische Wirksamkeit mit Reduktion systemischer Pilzinfektionen im Vergleich zu Fluconazol zu haben. Allerdings zeigten sich die Mortalitätsraten nicht verbessert und es traten mehr hepatotoxische Nebenwirkungen auf [100].

Eine medikamentöse Prophylaxe ist mit einigen relevanten Nachteilen wie der Selektion von primär resistenten *Candida* spp. verbunden. Für die topische antimykotische Prophylaxe werden orale Polyene (z.B. Amphotericin B) empfohlen. Patienten mit einer zu erwarteten Neutropeniedauer von mehr als 10 Tagen und zusätzlichen Risikofaktoren sollten mit Beginn der Neutropenie eine Prophylaxe mit Fluconazol oder Itraconazol erhalten. Da eine wirksame medikamentöse Prophylaxe von Schimmelpilzinfektionen derzeit noch nicht zur Verfügung steht, ist zu hoffen, dass sich die neuen Azole (Voriconazol u.a.) oder Echinokandine (Caspofungin u.a.) als wirksam erweisen.

### **5.3. Schlussfolgerung**

- Klimaanlage mit Hochleistungs-Schwebstoff- (HEPA-) Filtern und Überdruckbelüftung sind in der Lage, Aspergilluskonidien wirksam aus der Luft zu filtern. Durch mykologisch-hygienische Untersuchungen vor und nach Einbau einer solchen raumluftechnischen Anlage auf der hämatologisch-onkologischen Station konnte die vollständige Entfernung der Fadenpilzsporen aus der Luft und von Zimmeroberflächen demonstriert werden.
- 1997 wurde die im Untersuchungszeitraum (1995-1999) höchste Anzahl an tiefen Pilzinfektionen, insbesondere an tiefen Aspergillosen, verzeichnet. Dies ist vermutlich auf gleichzeitige Baumassnahmen zurückzuführen. Durch die Installation der raumluftechnischen Anlage mit HEPA-Filtern und Überdruckbelüftung konnte diese Ausbruchssituation wirkungsvoll kontrolliert werden. Diese Beobachtung bestätigt, dass Hochrisikopatienten z.B. nach Stammzelltransplantation während eines stationären Aufenthaltes in HEPA-filtrierten Räumen untergebracht werden sollten.

Allerdings konnte das weitere Auftreten von Aspergillosen nicht vollständig verhindert werden. Es ist davon auszugehen, dass eine Vielzahl an Aspergillosen ambulant erworben sind. Weiterhin kann eine kurzdauernde Exposition gegenüber hoher Konzentrationen von Aspergilluskonidien bereits zu Infektionen führen. Da sich Patienten auch außerhalb der Station aufhalten, z.B. auf dem Weg zu Untersuchungen, kann eine vollständige Isolierung des Patienten selten realisiert werden.

- Neben Umweltfaktoren spielen patientenbezogene Faktoren eine wichtige Rolle für die Entstehung von Pilzinfektionen. In der mehrfaktoriellen Risikoanalyse erwies sich die Granulozytopenie als wichtigster Risikofaktor. Daher stellt die Wiederherstellung der Immunabwehr des Patienten einen entscheidenden prophylaktischen Aspekt dar. Weitere

wichtige Risikofaktoren wie Breitspektrumantibiotika, Blasenkatheter, zentrale Venenkatheter, tiefe Pilzinfektion in der Anamnese und Mukositis sollten bei der Einschätzung des individuellen Risikoprofils Berücksichtigung finden.

- Im Vergleich der durchgeführten antimykotischen Prophylaxe mit Itraconazol und Fluconazol traten unter Itraconazol weniger Pilzinfektionen auf. Statistische Signifikanz war nur bei Betrachtung aller Pilzinfektionen gemeinsam nachzuweisen. Bei getrennter Analyse der tiefen und oberflächlichen Infektionen traten in der Itraconazolgruppe weniger Infektionen auf, allerdings ohne statistische Signifikanz.

Für Risikopatienten z.B. bei erwarteter Neutropenie >10 Tage ist eine antimykotische Prophylaxe sinnvoll. Allerdings existiert zurzeit kein Prophylaxeregime, welches auch sicher gegen Aspergillen wirksam ist.

Pilzinfektionen bei hämatologisch-onkologischen Patienten und insbesondere Aspergillosen stellen ein multifaktorielles Problem dar. Es muss davon ausgegangen werden, dass diese Infektionen nie vollständig vermieden werden können, da Aspergillen ubiquitär vorkommen. Jedoch kann das Risiko einer Aspergillusinfektion durch optimale Präventionsmaßnahmen deutlich minimiert werden.

## **6. Zusammenfassung**

Pilzinfektionen stellen häufige infektiöse Komplikation bei hämatologisch-onkologischen Patienten dar. Zwar treten invasive Pilzinfektionen im Vergleich zu bakteriellen Infektionen seltener auf, doch ist die erregerassoziierte Mortalität insbesondere in der Phase einer schweren Granulozytopenie deutlich höher. Die Diagnostik invasiver Pilzinfektionen ist schwierig, häufig kann eine sichere Diagnose erst *post mortem* gestellt werden. Da nicht nur die diagnostischen sondern auch die therapeutischen Möglichkeiten bei systemischen Pilzinfektionen unbefriedigend sind, kommt der Prophylaxe eine erhebliche Bedeutung zu.

In der vorliegenden Arbeit erfolgte eine Analyse von Pilzinfektionen bei hämatologisch-onkologischen Patienten unter besonderer Berücksichtigung der medikamentösen und expositionellen Prophylaxe sowie von Risikofaktoren für das Auftreten dieser Infektionen. Dazu wurden 319 hämatologisch-onkologische Patienten, die von Januar 1995 bis Dezember 1999 in der Klinik für Hämatologie/ Onkologie des Klinikum Kröllwitz stationär behandelt wurden, mit 842 Behandlungsepisoden (746 Episoden mit Chemotherapie und 96 Episoden ohne Chemotherapie mit Neutropenie) erfasst. Zusätzliche mykologisch-hygienische Untersuchungen sollten gleichzeitig die Kontamination der Station mit Pilzerregern dokumentieren. Neben der Analyse der Sporenbelastung insbesondere durch Aspergillen sollte weiterhin die Effektivität der 1997 eingeführten raumluftechnischen Anlage, die mit Hochleistungs-Schwebstoff- (HEPA-) Filtern und Überdruckbelüftung ausgerüstet ist, aufgezeigt werden.

In einer mykologisch-hygienischen Untersuchung wurden während der ersten Messung der Station (29.05.1997) unter natürlicher Belüftung 379 Pilzkolonien nachgewiesen und davon 20 KBE/m<sup>3</sup> Aspergillus spp. in der Raumluft gefunden. Nach Installation der Klimaanlage wurden zwischen 4 und 8 Pilzkolonien zu drei verschiedenen Untersuchungszeitpunkten und kein Aspergillus spp. mehr nachgewiesen. Damit konnte die Effizienz der installierten raumluftechnischen Anlage zur Verminderung der Luftkontamination mit Aspergillus spp. klar belegt werden.

87 Patienten (27,2%) erkrankten im Verlauf Ihrer Behandlung an einer oder mehreren Pilzinfektionen. Bei 29 Patienten wurde eine nachgewiesene tiefe, bei 25 eine suspekte tiefe und bei 43 eine oberflächliche Pilzinfektion diagnostiziert. Wegen langwieriger Behandlungen und Rezidiven der Grunderkrankung wurden 174 Patienten mehrfach therapiert, so dass die Auswertung nach Behandlungsepisoden erfolgte. Von 842 Behandlungsepisoden traten in 127 Episoden (15,1%) Pilzinfektionen auf.

Im Zeitverlauf zeigte sich abgesehen vom Jahr 1997 eine Abnahme der Inzidenz tiefer Pilzinfektionen. Bei Betrachtung der tiefen Aspergillosen allein fällt im Vergleich dazu eine steigende Inzidenz bis zum Jahr 1997 auf. Der besonders deutliche Anstieg der Aspergillose-Inzidenz im Jahr 1997 ist wahrscheinlich auf die umfangreichen Baumassnahmen auf dem Klinikgelände zurückzuführen. Mit Einbau einer raumluftechnischen Anlage, die mit Hochleistungs-Schwebstoff- (HEPA-) Filtern und Überdruckbelüftung ausgestattet wurde, traten tiefe Aspergillusinfektionen deutlich weniger auf. Es

konnte insbesondere gezeigt werden, dass die Ausbruchssituation der Aspergillosen 1997 durch den Einbau der Klimaanlage wirkungsvoll kontrolliert werden konnte.

In einer multifaktoriellen Risikoanalyse erwies sich eine Granulozytopenie als wichtigster Risikofaktor für das Auftreten von Mykosen. Weitere wichtige Risikofaktoren wie z.B. Breitspektrumantibiotika, zentrale Venenkatheter, Blasenkateter, tiefe Pilzinfektion in der Anamnese und Mukositis sollten bei der Einschätzung des individuellen Risikoprofils Berücksichtigung finden, auch wenn diese Faktoren in der vorliegenden Analyse nicht mit einem erhöhten Risiko für Pilzinfektionen assoziiert waren.

In der Analyse der systemischen antimykotischen Prophylaxe erwies sich Itraconazol im Vergleich zu Fluconazol als tendenziell effektiver. In 283 Behandlungsepisoden wurde Fluconazol und in 147 Behandlungsepisoden Itraconazol als antimykotische Prophylaxe verabreicht. Obwohl für oberflächliche und tiefe Pilzinfektionen gemeinsam betrachtet unter der Itraconazol-Prophylaxe signifikant weniger Infektionen auftraten, war dieser Unterschied für die oberflächlichen und tiefen Pilzinfektionen einzeln betrachtet nicht signifikant und die Überlegenheit von Itraconazol somit nur tendenziell nachzuvollziehen.

Pilzinfektionen bei hämatologisch-onkologischen Patienten und insbesondere Aspergillosen stellen ein multifaktorielles Problem dar. Es muss davon ausgegangen werden dass diese Infektionen nie vollständig verhindert werden können, da Aspergillen ubiquitär vorkommen. Jedoch kann das Risiko einer Aspergillusinfektion durch optimale Präventionsmaßnahmen und Kenntnis der Risikofaktoren deutlich minimiert werden.

## **7. Literaturverzeichnis**

1. Aisner J, Schimpff SC, Bennett JE, Young VM and Wiernik PH: Aspergillus infections in cancer patients. Association with fireproofing materials in a new hospital. *Jama* 235, No 4 (1976) 411-12.
2. Allen SD, Sorensen KN, Nejdil MJ, Durrant C and Proffit RT: Prophylactic efficacy of aerosolized liposomal (AmBisome) and non-liposomal (Fungizone) amphotericin B in murine pulmonary aspergillosis. *J Antimicrob Chemother* 34, No 6 (1994) 1001-13.
3. Ally R, Schurmann D, Kreisel W, Carosi G, Aguirrebengoa K, Dupont B, Hodges M, Troke P and Romero AJ: A randomized, double-blind, double-dummy, multicenter trial of voriconazole and fluconazole in the treatment of esophageal candidiasis in immunocompromised patients. *Clin Infect Dis* 33, No 9 (2001) 1447-54.
4. Anaissie E: Opportunistic mycoses in the immunocompromised host: experience at a cancer center and review. *Clin Infect Dis* 14 Suppl 1 (1992) S43-53.
5. Anaissie E, Bodey GP, Kantarjian H, David C, Barnett K, Bow E, Defelice R, Downs N, File T, Karam G and et al.: Fluconazole therapy for chronic disseminated candidiasis in patients with leukemia and prior amphotericin B therapy. *Am J Med* 91, No 2 (1991) 142-50.
6. Anaissie EJ and Bodey GP: Fungal infections in patients with cancer. *Pharmacotherapy* 10, No 6 ( Pt 3) (1990) 164S-169S.
7. Anderson K, Morris G, Kennedy H, Croall J, Michie J, Richardson MD and Gibson B: Aspergillosis in immunocompromised paediatric patients: associations with building hygiene, design, and indoor air. *Thorax* 51, No 3 (1996) 256-61.
8. Annaloro C, Oriana A, Tagliaferri E, Bertolli V, Della Volpe A, Soligo D, Ibatucci A, Pozzoli E and Lambertenghi Delilieri GL: Efficacy of different prophylactic antifungal regimens in bone marrow transplantation. *Haematologica* 80, No 6 (1995) 512-7.
9. Arnow PM, Andersen RL, Mainous PD and Smith EJ: Pulmonary aspergillosis during hospital renovation. *Am Rev Respir Dis* 118, No 1 (1978) 49-53.
10. Arnow PM, Sadigh M, Costas C, Weil D and Chudy R: Endemic and epidemic aspergillosis associated with in-hospital replication of Aspergillus organisms. *J Infect Dis* 164, No 5 (1991) 998-1002.
11. Beck-Sague C and Jarvis WR: Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. National Nosocomial Infections Surveillance System. *J Infect Dis* 167, No 5 (1993) 1247-51.
12. Behre GF, Schwartz S, Lenz K, Ludwig WD, Wandt H, Schilling E, Heinemann V, Link H, Trittin A, Boenisch O and et al.: Aerosol amphotericin B inhalations for prevention of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic cancer patients. *Ann Hematol* 71, No 6 (1995) 287-91.

13. Berenguer J, Allende MC, Lee JW, Garrett K, Lyman C, Ali NM, Bacher J, Pizzo PA and Walsh TJ: Pathogenesis of pulmonary aspergillosis. Granulocytopenia versus cyclosporine and methylprednisolone-induced immunosuppression. *Am J Respir Crit Care Med* 152, No 3 (1995) 1079-86.
14. Beyer J, Schwartz S, Barzen G, Risse G, Dullenkopf K, Weyer C and Siegert W: Use of amphotericin B aerosols for the prevention of pulmonary aspergillosis. *Infection* 22, No 2 (1994) 143-8.
15. Blade J, Lopez-Guillermo A, Rozman C, Granena A, Bruguera M, Bordas J, Cervantes F, Carreras E, Sierra J and Montserrat E: Chronic systemic candidiasis in acute leukemia. *Ann Hematol* 64, No 5 (1992) 240-4.
16. Blaschke-Hellmessen R: Cryptococcus species-etiological agents of zoonoses or sapronosis? *Mycoses* 43 Suppl 1 (2000) 48-60.
17. Bodey G, Bueltmann B, Duguid W, Gibbs D, Hanak H, Hotchi M, Mall G, Martino P, Meunier F, Milliken S and et al.: Fungal infections in cancer patients: an international autopsy survey. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 11, No 2 (1992) 99-109.
18. Bodey GP: Fungal infections complicating acute leukemia. *J Chronic Dis* 19, No 6 (1966) 667-87.
19. Bodey GP: The emergence of fungi as major hospital pathogens. *J Hosp Infect* 11 Suppl A (1988) 411-26.
20. Bodey GP, Anaissie EJ, Elting LS, Estey E, O'Brien S and Kantarjian H: Antifungal prophylaxis during remission induction therapy for acute leukemia fluconazole versus intravenous amphotericin B. *Cancer* 73, No 8 (1994) 2099-106.
21. Bodey GP, Buckley M, Sathe YS and Freireich EJ: Quantitative relationships between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. *Ann Intern Med* 64, No 2 (1966) 328-40.
22. Bodey GP, Powell RD, Jr., Hersh EM, Yeterian A and Freireich EJ: Pulmonary complications of acute leukemia. *Cancer* 19, No 6 (1966) 781-93.
23. Bohlius J, Reiser M, Schwarzer G and Engert A: Granulopoiesis-stimulating factors to prevent adverse effects in the treatment of malignant lymphoma. *Cochrane Database Syst Rev*, No 3 (2004) CD003189.
24. Böhme A, Buchheidt D, Donhuijsen K, Einsele H, Enzensberger R, Glasmacher A, Gümber H, Heußel CP, Karthaus M, Lambrecht E, Ruhnke M, Südhoff T, Szélenyi H: Diagnostik invasiver Pilzinfektionen in der Hämatologie und Onkologie: Leitlinien der Arbeitsgemeinschaft Infektionen in der Hämatologie und Onkologie (AGIHO) der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie (DGHO), (2000).
25. Böhme A, Ruhnke M, Buchheidt D, Karthaus M, Einsele H, Guth S, Heussel G, Heussel CP, Junghanss C, Kern WK, Kubin T, Maschmeyer G, Sezer O, Silling G, Südhoff T, Szelenyi

- Dagger H and Ullmann AJ: Treatment of fungal infections in hematology and oncology-guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO). *Ann Hematol* 82 Suppl 2 (2003) 133-40.
26. Boogaerts M, Winston DJ, Bow EJ, Garber G, Reboli AC, Schwarzer AP, Novitzky N, Boehme A, Chwetzoff E and De Beule K: Intravenous and oral itraconazole versus intravenous amphotericin B deoxycholate as empirical antifungal therapy for persistent fever in neutropenic patients with cancer who are receiving broad-spectrum antibacterial therapy. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 135, No 6 (2001) 412-22.
  27. Boogaerts MA, Verhoef GE, Zachee P, Demuynck H, Verbist L and De Beule K: Antifungal prophylaxis with itraconazole in prolonged neutropenia: correlation with plasma levels. *Mycoses* 32 Suppl 1 (1989) 103-8.
  28. Bow EJ, Loewen R, Cheang MS and Schacter B: Invasive fungal disease in adults undergoing remission-induction therapy for acute myeloid leukemia: the pathogenetic role of the antileukemic regimen. *Clin Infect Dis* 21, No 2 (1995) 361-9.
  29. Bretagne S, Bart-Delabesse E, Wechsler J, Kuentz M, Dhedin N and Cordonnier C: Fatal primary cutaneous aspergillosis in a bone marrow transplant recipient: nosocomial acquisition in a laminar-air flow room. *J Hosp Infect* 36, No 3 (1997) 235-9.
  30. Buchheidt D, Baust C, Skladny H, Ritter J, Suedhoff T, Baldus M, Seifarth W, Leib-Moesch C and Hehlmann R: Detection of *Aspergillus* species in blood and bronchoalveolar lavage samples from immunocompromised patients by means of 2-step polymerase chain reaction: clinical results. *Clin Infect Dis* 33, No 4 (2001) 428-35.
  31. Burnie JP, Lee W, Williams JD, Matthews RC and Odds FC: Control of an outbreak of systemic *Candida albicans*. *Br Med J (Clin Res Ed)* 291, No 6502 (1985) 1092-3.
  32. Caillot D, Bassaris H, McGeer A, Arthur C, Prentice HG, Seifert W and De Beule K: Intravenous itraconazole followed by oral itraconazole in the treatment of invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematologic malignancies, chronic granulomatous disease, or AIDS. *Clin Infect Dis* 33, No 8 (2001) e83-90.
  33. Caillot D, Casasnovas O, Bernard A, Couaillier JF, Durand C, Cuisenier B, Solary E, Piard F, Petrella T, Bonnin A, Couillault G, Dumas M and Guy H: Improved management of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients using early thoracic computed tomographic scan and surgery. *J Clin Oncol* 15, No 1 (1997) 139-47.
  34. Chazalet V, Debeauvais JP, Sarfati J, Lortholary J, Ribaud P, Shah P, Cornet M, Vu Thien H, Gluckman E, Brucker G and Latge JP: Molecular typing of environmental and patient isolates of *Aspergillus fumigatus* from various hospital settings. *J Clin Microbiol* 36, No 6 (1998) 1494-500.

35. Chen YC, Chang SC, Luh KT and Hsieh WC: Stable susceptibility of *Candida* blood isolates to fluconazole despite increasing use during the past 10 years. *J Antimicrob Chemother* 52, No 1 (2003) 71-7.
36. Clark OA, Lyman GH, Castro AA, Clark LG and Djulbegovic B: Colony-stimulating factors for chemotherapy-induced febrile neutropenia: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Oncol* 23, No 18 (2005) 4198-214.
37. Como JA and Dismukes WE: Oral azole drugs as systemic antifungal therapy. *N Engl J Med* 330, No 4 (1994) 263-72.
38. Cornet M, Levy V, Fleury L, Lortholary J, Barquins S, Coureul MH, Deliere E, Zittoun R, Brucker G and Bouvet A: Efficacy of prevention by high-efficiency particulate air filtration or laminar airflow against *Aspergillus* airborne contamination during hospital renovation. *Infect Control Hosp Epidemiol* 20, No 7 (1999) 508-13.
39. Curry CR and Quie PG: Fungal septicemia in patients receiving parenteral hyperalimentation. *N Engl J Med* 285, No 22 (1971) 1221-5.
40. D'Antonio D, Iacone A, Schioppa FS, Bonfini T and Romano F: Effect of the current antimicrobial therapeutic strategy on fungal colonization in patients with hematologic malignancies. *Curr Microbiol* 33, No 2 (1996) 118-22.
41. De Bock R, Gyssens I, Peetermans M and Nolard N: *Aspergillus* in pepper. *Lancet* 2, No 8658 (1989) 331-2.
42. De Pauw BE and Meunier F: The challenge of invasive fungal infection. *Chemotherapy* 45 Suppl 1 (1999) 1-14.
43. De Repentigny L: Serodiagnosis of candidiasis, aspergillosis, and cryptococcosis. *Clin Infect Dis* 14 Suppl 1 (1992) S11-22.
44. Debeauvais JP, Sarfati J, Chazalet V and Latge JP: Genetic diversity among clinical and environmental isolates of *Aspergillus fumigatus*. *Infect Immun* 65, No 8 (1997) 3080-5.
45. Denning DW: Invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 26, No 4 (1998) 781-803; quiz 804-5.
46. Denning DW and Stevens DA: Antifungal and surgical treatment of invasive aspergillosis: review of 2,121 published cases. *Rev Infect Dis* 12, No 6 (1990) 1147-201.
47. Diekema DJ, Messer SA, Brueggemann AB, Coffman SL, Doern GV, Herwaldt LA and Pfaller MA: Epidemiology of candidemia: 3-year results from the emerging infections and the epidemiology of Iowa organisms study. *J Clin Microbiol* 40, No 4 (2002) 1298-302.
48. Donhuijsen K, Pfaffenbach B, Samandari S and Leder LD: Deep mycoses in leukemia and malignant lymphoma. *Verh Dtsch Ges Pathol* 75 (1991) 214-7.
49. Drevova J, Hanulakova D, Kolarova M, Racil Z and Mayer J: Monitoring the occurrence of fungi in the air at the Department of internal hematooncology, Teaching hospital Brno - Bohunice, Czech Republic. *Klin Mikrobiol Infekc Lek* 10, No 2 (2004) 88-95.

50. Einsele H, Quabeck K, Muller KD, Hebart H, Rothenhofer I, Loffler J and Schaefer UW: Prediction of invasive pulmonary aspergillosis from colonisation of lower respiratory tract before marrow transplantation. *Lancet* 352, No 9138 (1998) 1443.
51. Ellis ME, Clink H, Ernst P, Halim MA, Padmos A, Spence D, Kalin M, Hussain Qadri SM, Burnie J and Greer W: Controlled study of fluconazole in the prevention of fungal infections in neutropenic patients with haematological malignancies and bone marrow transplant recipients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 13, No 1 (1994) 3-11.
52. Fegeler W: Aspects in the diagnosis of deep-seated opportunistic mycoses. *Mycoses* 37 Suppl 2 (1994) 8-19.
53. Fridkin SK and Jarvis WR: Epidemiology of nosocomial fungal infections. *Clin Microbiol Rev* 9, No 4 (1996) 499-511.
54. Funai N, Shimamoto Y, Tokunaga O, Sugihara W and Yamaguchi M: Ten-year survey of incidence of infection as a cause of death in hematologic malignancies: study of 90 autopsied cases. *Acta Haematol* 93, No 1 (1995) 25-30.
55. Giles FJ: Monocyte-macrophages, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, and prolonged survival among patients with acute myeloid leukemia and stem cell transplants. *Clin Infect Dis* 26, No 6 (1998) 1282-9.
56. Glasmacher A, Hahn C, Molitor E, Marklein G, Schmidt-Wolf I: Itraconazole for Antifungal Prophylaxis in Neutropenic Patients: a Meta-Analysis of 2181 Patients: 41st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Chicago, USA, vol Presentation No. 681, (2001).
57. Goodley JM, Clayton YM and Hay RJ: Environmental sampling for aspergilli during building construction on a hospital site. *J Hosp Infect* 26, No 1 (1994) 27-35.
58. Goodman JL, Winston DJ, Greenfield RA, Chandrasekar PH, Fox B, Kaizer H, Shaddock RK, Shea TC, Stiff P, Friedman DJ and et al.: A controlled trial of fluconazole to prevent fungal infections in patients undergoing bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 326, No 13 (1992) 845-51.
59. Greene VW, Vesley D, Bond RG and Michaelsen GS: Microbiological contamination of hospital air. I. Quantitative studies. *Appl Microbiol* 10 (1962) 561-6.
60. Groll AH, Shah PM, Mentzel C, Schneider M, Just-Nuebling G and Huebner K: Trends in the postmortem epidemiology of invasive fungal infections at a university hospital. *J Infect* 33, No 1 (1996) 23-32.
61. Groll AH and Walsh TJ: Caspofungin: pharmacology, safety and therapeutic potential in superficial and invasive fungal infections. *Expert Opin Investig Drugs* 10, No 8 (2001) 1545-58.
62. Hahn T, Cummings KM, Michalek AM, Lipman BJ, Segal BH and McCarthy PL, Jr.: Efficacy of high-efficiency particulate air filtration in preventing aspergillosis in immunocompromised

- patients with hematologic malignancies. *Infect Control Hosp Epidemiol* 23, No 9 (2002) 525-31.
63. Hajjeh RA and Warnock DW: Counterpoint: invasive aspergillosis and the environment-rethinking our approach to prevention. *Clin Infect Dis* 33, No 9 (2001) 1549-52.
  64. Haynes K and Rogers TR: Retrospective evaluation of a latex agglutination test for diagnosis of invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 13, No 8 (1994) 670-4.
  65. Heidemann E, Höffken K, Hossfeld DK, Illiger J, Kleeber UK, Kloke M, Link H, Maschmeier G, Niederle N, Schumacher N, Schütte J, Steinke B, Wander E, Weh HJ: Infektionen bei Neutropenie: Leitlinien der Arbeitsgemeinschaft Infektionen in der Hämatologie und Onkologie (AGIHO) der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie (DGHO), (1996).
  66. Herbrecht R, Denning DW, Patterson TF, Bennett JE, Greene RE, Oestmann JW, Kern WV, Marr KA, Ribaud P, Lortholary O, Sylvester R, Rubin RH, Wingard JR, Stark P, Durand C, Caillot D, Thiel E, Chandrasekar PH, Hodges MR, Schlamm HT, Troke PF and de Pauw B: Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *N Engl J Med* 347, No 6 (2002) 408-15.
  67. Herent P, Stynen D, Hernando F, Fruit J and Poulain D: Retrospective evaluation of two latex agglutination tests for detection of circulating antigens during invasive candidosis. *J Clin Microbiol* 30, No 8 (1992) 2158-64.
  68. Heussel CP, Kauczor HU, Heussel G, Fischer B, Mildenerger P and Thelen M: Early detection of pneumonia in febrile neutropenic patients: use of thin-section CT. *AJR Am J Roentgenol* 169, No 5 (1997) 1347-53.
  69. Hitchcock CA, Pye GW, Troke PF, Johnson EM and Warnock DW: Fluconazole resistance in *Candida glabrata*. *Antimicrob Agents Chemother* 37, No 9 (1993) 1962-5.
  70. Hof H and Kretschmar M: Rational use of antimycotics against yeast infections. *Immun Infekt* 23, No 6 (1995) 209-15.
  71. Hope W, Morton A and Eisen DP: Increase in prevalence of nosocomial non-*Candida albicans* candidaemia and the association of *Candida krusei* with fluconazole use. *J Hosp Infect* 50, No 1 (2002) 56-65.
  72. Hoppe JE, Klingebiel T and Niethammer D: Selection of *Candida glabrata* in pediatric bone marrow transplant recipients receiving fluconazole. *Pediatr Hematol Oncol* 11, No 2 (1994) 207-10.
  73. Hospenthal DR, Kwon-Chung KJ and Bennett JE: Concentrations of airborne *Aspergillus* compared to the incidence of invasive aspergillosis: lack of correlation. *Med Mycol* 36, No 3 (1998) 165-8.

74. Humphreys H: Positive-pressure isolation and the prevention of invasive aspergillosis. What is the evidence? *J Hosp Infect* 56, No 2 (2004) 93-100; quiz 163.
75. Iwen PC, Davis JC, Reed EC, Winfield BA and Hinrichs SH: Airborne fungal spore monitoring in a protective environment during hospital construction, and correlation with an outbreak of invasive aspergillosis. *Infect Control Hosp Epidemiol* 15, No 5 (1994) 303-6.
76. Jahagirdar BN and Morrison VA: Emerging fungal pathogens in patients with hematologic malignancies and marrow/stem-cell transplant recipients. *Semin Respir Infect* 17, No 2 (2002) 113-20.
77. Johnston PG, Lee J, Domanski M, Dressler F, Tucker E, Rothenberg M, Cunnion RE, Pizzo PA and Walsh TJ: Late recurrent *Candida* endocarditis. *Chest* 99, No 6 (1991) 1531-3.
78. Kappe R, Schulze-Berge A and Sonntag HG: Evaluation of eight antibody tests and one antigen test for the diagnosis of invasive aspergillosis. *Mycoses* 39, No 1-2 (1996) 13-23.
79. Keating GM and Jarvis B: Caspofungin. *Drugs* 61, No 8 (2001) 1121-9; discussion 1130-1.
80. Kennedy HF, Michie JR and Richardson MD: Air sampling for aspergillus spp. during building activity in a paediatric hospital ward. *J Hosp Infect* 31, No 4 (1995) 322-5.
81. Kern W, Behre G, Rudolf T, Kerkhoff A, Grote-Metke A, Eimermacher H, Kubica U, Wormann B, Buchner T and Hiddemann W: Failure of fluconazole prophylaxis to reduce mortality or the requirement of systemic amphotericin B therapy during treatment for refractory acute myeloid leukemia: results of a prospective randomized phase III study. German AML Cooperative Group. *Cancer* 83, No 2 (1998) 291-301.
82. Kern WV, Beyer J, Bohme A, Buchheidt D, Cornely O, Einsele H, Kisro J, Kruger W, Maschmeyer G, Ruhnke M, Schmidt CA, Schwartz S and Szelenyi H: Prophylaxis of infection in neutropenic patients. Guidelines of the Working Party on Infections in Hematology and Oncology. *Dtsch Med Wochenschr* 125, No 51-52 (2000) 1582-8.
83. Kontoyiannis DP and Bodey GP: Invasive aspergillosis in 2002: an update. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 21, No 3 (2002) 161-72.
84. Kruger WH, Zollner B, Kaulfers PM and 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* 12, No 3 (2003) 301-7.
85. Kunova A, Trupl J, Spanik S, Drgona L, Sufliarsky J, Lacka J, Studena V, Hlavacova E, Studena M, Kukuckova E and et al.: *Candida glabrata*, *Candida krusei*, non-*albicans Candida* spp., and other fungal organisms in a sixty-bed national cancer center in 1989-1993: no association with the use of fluconazole. *Chemotherapy* 41, No 1 (1995) 39-44.
86. Lai KK: A cluster of invasive aspergillosis in a bone marrow transplant unit related to construction and the utility of air sampling. *Am J Infect Control* 29, No 5 (2001) 333-7.

87. Lass-Flörl C, Salzer GM, Schmid T, Rabl W, Ulmer H and Dierich MP: Pulmonary Aspergillus colonization in humans and its impact on management of critically ill patients. *Br J Haematol* 104, No 4 (1999) 745-7.
88. Latge JP: Aspergillus fumigatus and aspergillosis. *Clin Microbiol Rev* 12, No 2 (1999) 310-50.
89. Lecciones JA, Lee JW, Navarro EE, Witebsky FG, Marshall D, Steinberg SM, Pizzo PA and Walsh TJ: Vascular catheter-associated fungemia in patients with cancer: analysis of 155 episodes. *Clin Infect Dis* 14, No 4 (1992) 875-83.
90. Leenders AC, Daenen S, Jansen RL, Hop WC, Lowenberg B, Wijermans PW, Cornelissen J, Herbrecht R, van der Lelie H, Hoogsteden HC, Verbrugh HA and de Marie S: Liposomal amphotericin B compared with amphotericin B deoxycholate in the treatment of documented and suspected neutropenia-associated invasive fungal infections. *Br J Haematol* 103, No 1 (1998) 205-12.
91. Lentino JR, Rosenkranz MA, Michaels JA, Kurup VP, Rose HD and Rytel MW: Nosocomial aspergillosis: a retrospective review of airborne disease secondary to road construction and contaminated air conditioners. *Am J Epidemiol* 116, No 3 (1982) 430-7.
92. Lieschke GJ and Burgess AW: Granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (2). *N Engl J Med* 327, No 2 (1992) 99-106.
93. Lin SJ, Schranz J and Teutsch SM: Aspergillosis case-fatality rate: systematic review of the literature. *Clin Infect Dis* 32, No 3 (2001) 358-66.
94. Link H, Blumenstengel K, Bohme A, Cornely O, Kellner O, Nowrousian MR, Ostermann H, Schiel X and Wilhelm M: Antimicrobial therapy for fever of unknown origin in neutropenia. Standard recommendations of the Work Group of Infections in Hematology and Oncology of the German Association of Hematology and Oncology. *Dtsch Med Wochenschr* 124 Suppl 1 (1999) S3-8.
95. Lukassowitz I: Hygienefragen beim Umgang mit (Bio-) Abfall. *Bundesgesundheitsblatt* 35 (1992) 413-114.
96. Machetti M, Feasi M, Mordini N, Van Lint MT, Bacigalupo A, Latge JP, Sarfati J and Viscoli C: Comparison of an enzyme immunoassay and a latex agglutination system for the diagnosis of invasive aspergillosis in bone marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 21, No 9 (1998) 917-21.
97. MacMillan ML, Goodman JL, DeFor TE and Weisdorf DJ: Fluconazole to prevent yeast infections in bone marrow transplantation patients: a randomized trial of high versus reduced dose, and determination of the value of maintenance therapy. *Am J Med* 112, No 5 (2002) 369-79.
98. Mahieu LM, De Dooy JJ, Van Laer FA, Jansens H and Ieven MM: A prospective study on factors influencing aspergillus spore load in the air during renovation works in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect* 45, No 3 (2000) 191-7.

99. Marr KA, Carter RA, Crippa F, Wald A and Corey L: Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis* 34, No 7 (2002) 909-17.
100. Marr KA, Crippa F, Leisenring W, Hoyle M, Boeckh M, Balajee SA, Nichols WG, Musher B and Corey L: Itraconazole versus fluconazole for prevention of fungal infections in patients receiving allogeneic stem cell transplants. *Blood* 103, No 4 (2004) 1527-33.
101. Marr KA, Seidel K, Slavin MA, Bowden RA, Schoch HG, Flowers ME, Corey L and Boeckh M: Prolonged fluconazole prophylaxis is associated with persistent protection against candidiasis-related death in allogeneic marrow transplant recipients: long-term follow-up of a randomized, placebo-controlled trial. *Blood* 96, No 6 (2000) 2055-61.
102. Martino P, Girmenia C, Micozzi A, Raccach R, Gentile G, Venditti M and Mandelli F: Fungemia in patients with leukemia. *Am J Med Sci* 306, No 4 (1993) 225-32.
103. Martino R and Subira M: Invasive fungal infections in hematology: new trends. *Ann Hematol* 81, No 5 (2002) 233-43.
104. Maschmeyer G, Link H, Hiddemann W, Meyer P, Helmerking M, Eisenmann E, Schmitt J and Adam D: Empirical antimicrobial therapy in neutropenic patients. Results of a multicenter study by the Infections in Hematology Study Group of the Paul Ehrlich Society. *Med Klin* 89, No 3 (1994) 114-23.
105. Maschmeyer G, Link H, Hiddemann W, Meyer P, Helmerking M, Eisenmann E, Schmitt J and Adam D: Pulmonary infiltrations in febrile patients with neutropenia. Risk factors and outcome under empirical antimicrobial therapy in a randomized multicenter study. *Cancer* 73, No 9 (1994) 2296-304.
106. McNeil MM, Nash SL, Hajjeh RA, Phelan MA, Conn LA, Plikaytis BD and Warnock DW: Trends in mortality due to invasive mycotic diseases in the United States, 1980-1997. *Clin Infect Dis* 33, No 5 (2001) 641-7.
107. McQuillen DP, Zingman BS, Meunier F and Levitz SM: Invasive infections due to *Candida krusei*: report of ten cases of fungemia that include three cases of endophthalmitis. *Clin Infect Dis* 14, No 2 (1992) 472-8.
108. Menichetti F, Del Favero A, Martino P, Bucaneve G, Micozzi A, D'Antonio D, Ricci P, Carotenuto M, Liso V, Nosari AM and et al.: Preventing fungal infection in neutropenic patients with acute leukemia: fluconazole compared with oral amphotericin B. The GIMEMA Infection Program. *Ann Intern Med* 120, No 11 (1994) 913-8.
109. Menichetti F, Del Favero A, Martino P, Bucaneve G, Micozzi A, Girmenia C, Barbabietola G, Pagano L, Leoni P, Specchia G, Caiozzo A, Raimondi R and Mandelli F: Itraconazole oral solution as prophylaxis for fungal infections in neutropenic patients with hematologic malignancies: a randomized, placebo-controlled, double-blind, multicenter trial. *GIMEMA*

- Infection Program. Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell' Adulto. *Clin Infect Dis* 28, No 2 (1999) 250-5.
110. Merz WG, Karp JE, Schron D and Saral R: Increased incidence of fungemia caused by *Candida krusei*. *J Clin Microbiol* 24, No 4 (1986) 581-4.
  111. Meunier-Carpentier F, Cruciani M and Klastersky J: Oral prophylaxis with miconazole or ketoconazole of invasive fungal disease in neutropenic cancer patients. *Eur J Cancer Clin Oncol* 19, No 1 (1983) 43-8.
  112. Meunier-Carpentier F, Snoeck R, Gerain J, Muller C and Klastersky J: Amphotericin B nasal spray as prophylaxis against aspergillosis in patients with neutropenia. *N Engl J Med* 311, No 16 (1984) 1056.
  113. Meyers JD: Fungal infections in bone marrow transplant patients. *Semin Oncol* 17, No 3 Suppl 6 (1990) 10-3.
  114. Mora-Duarte J, Betts R, Rotstein C, Colombo AL, Thompson-Moya L, Smietana J, Lupinacci R, Sable C, Kartsonis N and Perfect J: Comparison of caspofungin and amphotericin B for invasive candidiasis. *N Engl J Med* 347, No 25 (2002) 2020-9.
  115. Mudad R, Vredenburgh J, Paulson EK, Ross M, Meisenberg B, Hussein A and Peters WP: A radiologic syndrome after high dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation, with clinical and pathologic features of systemic candidiasis. *Cancer* 74, No 4 (1994) 1360-6.
  116. Muller J: The laboratory diagnosis of deep localized candidiasis. *Mycoses* 33 Suppl 1 (1990) 7-13.
  117. Muller J, Kappe R, Kubitzka D, Fessler R and Scheidecker I: The incidence of deep-seated mycoses in Freiburg i. Br. (Federal Republic of Germany). *Mycoses Suppl* 1 (1988) 9-28.
  118. Murphy ME, Armstrong D: Prevention of infection in patients with hematologic malignancy: Neoplastic disease of the blood. Churchill Livingstone, New York, 1994, vol, S. 1007-1025.
  119. Nemunaitis J: Use of macrophage colony-stimulating factor in the treatment of fungal infections. *Clin Infect Dis* 26, No 6 (1998) 1279-81.
  120. Nguyen MH, Peacock JE, Jr., Morris AJ, Tanner DC, Nguyen ML, Snyderman DR, Wagener MM, Rinaldi MG and Yu VL: The changing face of candidemia: emergence of non-*Candida albicans* species and antifungal resistance. *Am J Med* 100, No 6 (1996) 617-23.
  121. Nolting S, Stanescu-Siegmund A and Schwantes PA: *Candida* and the gastrointestinal tract. A medical-research evaluation. *Fortschr Med* 116, No 6 (1998) 22-8.
  122. Nucci M, Biasoli I, Akiti T, Silveira F, Solza C, Barreiros G, Spector N, Derossi A and Pulcheri W: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of itraconazole capsules as antifungal prophylaxis for neutropenic patients. *Clin Infect Dis* 30, No 2 (2000) 300-5.
  123. Nucci M and Colombo AL: Risk factors for breakthrough candidemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 21, No 3 (2002) 209-11.

124. Nucci M, Schechter M, Spector N, Pulcheri W, Caiuby MJ, Morais JC, Maceira J, de Carvalho DM and de Oliveira HP: Antibiotic regimen as an independent risk factor for disseminated fungal infections in neutropenic patients in Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 89, No 1 (1995) 107-10.
125. O'Donnell MR, Schmidt GM, Tegtmeier BR, Faucett C, Fahey JL, Ito J, Nademanee A, Niland J, Parker P, Smith EP and et al.: Prediction of systemic fungal infection in allogeneic marrow recipients: impact of amphotericin prophylaxis in high-risk patients. *J Clin Oncol* 12, No 4 (1994) 827-34.
126. Odds FC: Resistance of yeasts to azole-derivative antifungals. *J Antimicrob Chemother* 31, No 4 (1993) 463-71.
127. Opal SM, Asp AA, Cannady PB, Jr., Morse PL, Burton LJ and Hammer PG, 2nd: Efficacy of infection control measures during a nosocomial outbreak of disseminated aspergillosis associated with hospital construction. *J Infect Dis* 153, No 3 (1986) 634-7.
128. Oren I, Haddad N, Finkelstein R and Rowe JM: Invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients during hospital construction: before and after chemoprophylaxis and institution of HEPA filters. *Am J Hematol* 66, No 4 (2001) 257-62.
129. Ozer H, Armitage JO, Bennett CL, Crawford J, Demetri GD, Pizzo PA, Schiffer CA, Smith TJ, Somlo G, Wade JC, Wade JL, 3rd, Winn RJ, Wozniak AJ and Somerfield MR: 2000 update of recommendations for the use of hematopoietic colony-stimulating factors: evidence-based, clinical practice guidelines. American Society of Clinical Oncology Growth Factors Expert Panel. *J Clin Oncol* 18, No 20 (2000) 3558-85.
130. Pagano L, Girmenia C, Mele L, Ricci P, Tosti ME, Nosari A, Buelli M, Picardi M, Allione B, Corvatta L, D'Antonio D, Montillo M, Melillo L, Chierichini A, Cenacchi A, Tonso A, Cudillo L, Candoni A, Savignano C, Bonini A, Martino P and Del Favero A: Infections caused by filamentous fungi in patients with hematologic malignancies. A report of 391 cases by GIMEMA Infection Program. *Haematologica* 86, No 8 (2001) 862-70.
131. Pagano L, Ricci P, Nosari A, Tonso A, Buelli M, Montillo M, Cudillo L, Cenacchi A, Savignana C and Melillo L: Fatal haemoptysis in pulmonary filamentous mycosis: an underevaluated cause of death in patients with acute leukaemia in haematological complete remission. A retrospective study and review of the literature. *Gimema Infection Program (Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto)*. *Br J Haematol* 89, No 3 (1995) 500-5.
132. Pannuti CS, Gingrich RD, Pfaller MA and Wenzel RP: Nosocomial pneumonia in adult patients undergoing bone marrow transplantation: a 9-year study. *J Clin Oncol* 9, No 1 (1991) 77-84.
133. Pappas PG, Morgan, J, Hajjeh RA: Prospektive Surveillance for Invasive Fungal Infections in Hematopoietic Stem Cell and Solid Organ Transplant Recipients in the United States: 43rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Chicago Illinois, (2003).

134. Passweg JR, Rowlings PA, Atkinson KA, Barrett AJ, Gale RP, Gratwohl A, Jacobsen N, Klein JP, Ljungman P, Russell JA, Schaefer UW, Sobocinski KA, Vossen JM, Zhang MJ and Horowitz MM: Influence of protective isolation on outcome of allogeneic bone marrow transplantation for leukemia. *Bone Marrow Transplant* 21, No 12 (1998) 1231-8.
135. Patterson TF, Kirkpatrick WR, White M, Hiemenz JW, Wingard JR, Dupont B, Rinaldi MG, Stevens DA and Graybill JR: Invasive aspergillosis. Disease spectrum, treatment practices, and outcomes. I3 Aspergillus Study Group. *Medicine (Baltimore)* 79, No 4 (2000) 250-60.
136. Paugam A, Renaud B, Bousset B, Salmon D and Dupouy-Camet J: Contribution of air mycological control for the prevention of invasive nosocomial aspergillosis. *Pathol Biol (Paris)* 45, No 5 (1997) 410-3.
137. Perraud M, Piens MA, Nicoloyannis N, Girard P, Sepetjan M and Garin JP: Invasive nosocomial pulmonary aspergillosis: risk factors and hospital building works. *Epidemiol Infect* 99, No 2 (1987) 407-12.
138. Pfaffenbach B, Donhuijsen K, Pahnke J, Bug R, Adamek RJ, Wegener M and Ricken D: Systemic fungal infections in hematologic neoplasms. An autopsy study of 1,053 patients. *Med Klin* 89, No 6 (1994) 299-304.
139. Philpott-Howard JN, Wade JJ, Mufti GJ, Brammer KW and Ehninger G: Randomized comparison of oral fluconazole versus oral polyenes for the prevention of fungal infection in patients at risk of neutropenia. Multicentre Study Group. *J Antimicrob Chemother* 31, No 6 (1993) 973-84.
140. Polak A: *Die antimykotische Therapie zum Beginn des dritten Jahrtausends*. Herbert Utz Verlag, München, 2001.
141. Portnoy JM, Barnes CS and Kennedy K: Sampling for indoor fungi. *J Allergy Clin Immunol* 113, No 2 (2004) 189-98; quiz 199.
142. Potter M: European experience with oral solution and intravenous itraconazole. *Oncology (Huntingt)* 15, No 11 Suppl 9 (2001) 27-32.
143. Potter M and Donnelly JP: The role of itraconazole in preventing and treating systemic fungal infections in immunocompromised patients. *Acta Haematol* 111, No 3 (2004) 175-80.
144. Powderly WG, Kobayashi GS, Herzig GP and Medoff G: Amphotericin B-resistant yeast infection in severely immunocompromised patients. *Am J Med* 84, No 5 (1988) 826-32.
145. Rath PM and Ansorg R: Value of environmental sampling and molecular typing of aspergilli to assess nosocomial sources of aspergillosis. *J Hosp Infect* 37, No 1 (1997) 47-53.
146. Rex JH, Rinaldi MG and Pfaller MA: Resistance of *Candida* species to fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 39, No 1 (1995) 1-8.
147. Rex JH, Walsh TJ and Anaissie EJ: Fungal infections in iatrogenically compromised hosts. *Adv Intern Med* 43 (1998) 321-71.

148. Rex JH, Walsh TJ, Sobel JD, Filler SG, Pappas PG, Dismukes WE and Edwards JE: Practice guidelines for the treatment of candidiasis. Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 30, No 4 (2000) 662-78.
149. Rhame FS: Prevention of nosocomial aspergillosis. J Hosp Infect 18 Suppl A (1991) 466-72.
150. Rhame FS, Streifel AJ, Kersey JH, Jr. and McGlave PB: Extrinsic risk factors for pneumonia in the patient at high risk of infection. Am J Med 76, No 5A (1984) 42-52.
151. Ribrag V, Dreyfus F, Venot A, Leblong V, Lanore JJ and Varet B: Prognostic factors of invasive pulmonary aspergillosis in leukemic patients. Leuk Lymphoma 10, No 4-5 (1993) 317-21.
152. Richardson MD, Rennie S, Marshall I, Morgan MG, Murphy JA, Shankland GS, Watson WH and Soutar RL: Fungal surveillance of an open haematology ward. J Hosp Infect 45, No 4 (2000) 288-92.
153. Risse F, Glasmacher A, Gorschlüter M and Mezger J: Invasive Aspergillus-Infektionen in der hämatologischen Onkologie - eine Einführung. Hygiene + Medizin 20, No 11 (1995) 543-48.
154. Robertson MJ and Larson RA: Recurrent fungal pneumonias in patients with acute nonlymphocytic leukemia undergoing multiple courses of intensive chemotherapy. Am J Med 84, No 2 (1988) 233-9.
155. Rose HD and Hirsch SR: Filtering hospital air decreases Aspergillus spore counts. Am Rev Respir Dis 119, No 3 (1979) 511-3.
156. Rosen GP, Nielsen K, Glenn S, Abelson J, Deville J and Moore TB: Invasive fungal infections in pediatric oncology patients: 11-year experience at a single institution. J Pediatr Hematol Oncol 27, No 3 (2005) 135-40.
157. Rousey SR, Russler S, Gottlieb M and Ash RC: Low-dose amphotericin B prophylaxis against invasive Aspergillus infections in allogeneic marrow transplantation. Am J Med 91, No 5 (1991) 484-92.
158. Ruhnke M: Systemmykosen bei hämatologischen Patienten. Klinikarzt 32, No 2 (2003) 62-67.
159. Ruhnke M and Beyer J: Preventive antimycotic therapy of neutropenic and immunosuppressed patients. Med Klin 92, No 1 (1997) 28-36.
160. Ruhnke M and Maschmeyer G: Management of mycoses in patients with hematologic disease and cancer - review of the literature. Eur J Med Res 7, No 5 (2002) 227-35.
161. Saral R: Candida and Aspergillus infections in immunocompromised patients: an overview. Rev Infect Dis 13, No 3 (1991) 487-92.
162. Sarubbi FA, Jr., Kopf HB, Wilson MB, McGinnis MR and Rutala WA: Increased recovery of Aspergillus flavus from respiratory specimens during hospital construction. Am Rev Respir Dis 125, No 1 (1982) 33-8.
163. Saugier-Veber P, Devergie A, Sulahian A, Ribaud P, Traore F, Bourdeau-Esperou H, Gluckman E and Derouin F: Epidemiology and diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis

- in bone marrow transplant patients: results of a 5 year retrospective study. *Bone Marrow Transplant* 12, No 2 (1993) 121-4.
164. Schmitt HJ, Blevins A, Sobeck K and Armstrong D: *Aspergillus* species from hospital air and from patients. *Mycoses* 33, No 11-12 (1990) 539-41.
165. Schwenke H: Fungal infections in granulocytopenic and immunocompromised patients. *Z Gesamte Inn Med* 47, No 9 (1992) 422-37.
166. Seebacher C, Blaschke-Hellmessen R: *Mykosen, Epidemiologie-Diagnostik-Therapie*. Gustav-Fischer-Verlag, Jena, 1990.
167. Shepp DH, Klosterman A, Siegel MS and Meyers JD: Comparative trial of ketoconazole and nystatin for prevention of fungal infection in neutropenic patients treated in a protective environment. *J Infect Dis* 152, No 6 (1985) 1257-63.
168. Sherertz RJ, Belani A, Kramer BS, Elfenbein GJ, Weiner RS, Sullivan ML, Thomas RG and Samsa GP: Impact of air filtration on nosocomial *Aspergillus* infections. Unique risk of bone marrow transplant recipients. *Am J Med* 83, No 4 (1987) 709-18.
169. Sobel JD and Vazquez JA: Fungal infections of the urinary tract. *World J Urol* 17, No 6 (1999) 410-4.
170. Staib F, Tompak B, Thiel D and Blisse A: *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus niger* in two potted ornamental plants, cactus (*Epiphyllum truncatum*) and clivia (*Clivia miniata*). Biological and epidemiological aspects. *Mycopathologia* 66, No 1-2 (1978) 27-30.
171. Stevens DA, Kan VL, Judson MA, Morrison VA, Dummer S, Denning DW, Bennett JE, Walsh TJ, Patterson TF and Pankey GA: Practice guidelines for diseases caused by *Aspergillus*. Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 30, No 4 (2000) 696-709.
172. Stevens DA and Lee JY: Analysis of compassionate use itraconazole therapy for invasive aspergillosis by the NIAID Mycoses Study Group criteria. *Arch Intern Med* 157, No 16 (1997) 1857-62.
173. Streifel AJ, Lauer JL, Vesley D, Juni B and Rhame FS: *Aspergillus fumigatus* and other thermotolerant fungi generated by hospital building demolition. *Appl Environ Microbiol* 46, No 2 (1983) 375-8.
174. Tablan OC, Anderson LJ, Besser R, Bridges C and Hajjeh R: Guidelines for preventing health-care-associated pneumonia, 2003: recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. *MMWR Recomm Rep* 53, No RR-3 (2004) 1-36.
175. Tietz HJ, Martin H and Koch S: Incidence of endomycoses in autopsy material. *Mycoses* 44, No 11-12 (2001) 450-4.
176. Uhlenbrock S, Zimmermann M, Fegeler W, Jurgens H and Ritter J: Liposomal amphotericin B for prophylaxis of invasive fungal infections in high-risk paediatric patients with chemotherapy-related neutropenia: interim analysis of a prospective study. *Mycoses* 44, No 11-12 (2001) 455-63.

177. van Burik JA, Colven R and Spach DH: Cutaneous aspergillosis. *J Clin Microbiol* 36, No 11 (1998) 3115-21.
178. Van Cutsem J: Prophylaxis of Candida and Aspergillus infections with oral administration of itraconazole. *Mycoses* 37, No 7-8 (1994) 243-8.
179. Verweij PE, Erjavec Z, Sluiter W, Goessens W, Rozenberg-Arska M, Debets-Ossenkopp YJ, Guiot HF and Meis JF: Detection of antigen in sera of patients with invasive aspergillosis: intra- and interlaboratory reproducibility. The Dutch Interuniversity Working Party for Invasive Mycoses. *J Clin Microbiol* 36, No 6 (1998) 1612-6.
180. Viscoli C, Girmenia C, Marinus A, Collette L, Martino P, Vandercam B, Doyen C, Lebeau B, Spence D, Krcmery V, De Pauw B and Meunier F: Candidemia in cancer patients: a prospective, multicenter surveillance study by the Invasive Fungal Infection Group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Clin Infect Dis* 28, No 5 (1999) 1071-9.
181. Vreugdenhil G, Van Dijke BJ, Donnelly JP, Novakova IR, Raemaekers JM, Hoogkamp-Korstanje MA, Koster M and de Pauw BE: Efficacy of itraconazole in the prevention of fungal infections among neutropenic patients with hematologic malignancies and intensive chemotherapy. A double blind, placebo controlled study. *Leuk Lymphoma* 11, No 5-6 (1993) 353-8.
182. Wakayama M, Shibuya K, Ando T, Oharaseki T, Takahashi K, Naoe S and Coulson WF: Deep-seated mycosis as a complication in bone marrow transplantation patients. *Mycoses* 45, No 5-6 (2002) 146-51.
183. Wald A, Leisenring W, van Burik JA and Bowden RA: Epidemiology of Aspergillus infections in a large cohort of patients undergoing bone marrow transplantation. *J Infect Dis* 175, No 6 (1997) 1459-66.
184. Walsh TJ: Role of surveillance cultures in prevention and treatment of fungal infections. *NCI Monogr*, No 9 (1990) 43-5.
185. Walsh TJ, Hiemenz JW, Seibel NL, Perfect JR, Horwith G, Lee L, Silber JL, DiNubile MJ, Reboli A, Bow E, Lister J and Anaissie EJ: Amphotericin B lipid complex for invasive fungal infections: analysis of safety and efficacy in 556 cases. *Clin Infect Dis* 26, No 6 (1998) 1383-96.
186. Walsh TJ, Lee J, Lecciones J, Rubin M, Butler K, Francis P, Weinberger M, Roilides E, Marshall D, Gress J and et al.: Empiric therapy with amphotericin B in febrile granulocytopenic patients. *Rev Infect Dis* 13, No 3 (1991) 496-503.
187. Walsh TJ, Pappas P, Winston DJ, Lazarus HM, Petersen F, Raffalli J, Yanovich S, Stiff P, Greenberg R, Donowitz G, Schuster M, Reboli A, Wingard J, Arndt C, Reinhardt J, Hadley S, Finberg R, Laverdiere M, Perfect J, Garber G, Fioritoni G, Anaissie E and Lee J: Voriconazole

- compared with liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with neutropenia and persistent fever. *N Engl J Med* 346, No 4 (2002) 225-34.
188. Warnock DW, Hajjeh RA and Lasker BA: Epidemiology and Prevention of Invasive Aspergillosis. *Curr Infect Dis Rep* 3, No 6 (2001) 507-516.
  189. Wegemann T: *Medizinische Mykologie- ein praktischer Leitfaden*. Editiones Roche, Basel, Grenzach-Wyhlen, 1994.
  190. Wilcox CM, Darouiche RO, Laine L, Moskovitz BL, Mallegol I and Wu J: A randomized, double-blind comparison of itraconazole oral solution and fluconazole tablets in the treatment of esophageal candidiasis. *J Infect Dis* 176, No 1 (1997) 227-32.
  191. Wingard JR: The use of fluconazole prophylaxis in patients with chemotherapy-induced neutropenia. *Leuk Lymphoma* 8, No 4-5 (1992) 353-9.
  192. Wingard JR: Importance of *Candida* species other than *C. albicans* as pathogens in oncology patients. *Clin Infect Dis* 20, No 1 (1995) 115-25.
  193. Wingard JR, Merz WG, Rinaldi MG, Johnson TR, Karp JE and Saral R: Increase in *Candida krusei* infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treated prophylactically with fluconazole. *N Engl J Med* 325, No 18 (1991) 1274-7.
  194. Wingard JR, Merz WG, Rinaldi MG, Miller CB, Karp JE and Saral R: Association of *Torulopsis glabrata* infections with fluconazole prophylaxis in neutropenic bone marrow transplant patients. *Antimicrob Agents Chemother* 37, No 9 (1993) 1847-9.
  195. Wingard JR, Vaughan WP, Braine HG, Merz WG and Saral R: Prevention of fungal sepsis in patients with prolonged neutropenia: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial of intravenous miconazole. *Am J Med* 83, No 6 (1987) 1103-10.
  196. Winston DJ, Chandrasekar PH, Lazarus HM, Goodman JL, Silber JL, Horowitz H, Shadduck RK, Rosenfeld CS, Ho WG, Islam MZ and et al.: Fluconazole prophylaxis of fungal infections in patients with acute leukemia. Results of a randomized placebo-controlled, double-blind, multicenter trial. *Ann Intern Med* 118, No 7 (1993) 495-503.
  197. Withington S, Chambers ST, Beard ME, Inder A, Allen JR, Ikram RB, Schousboe MI, Heaton DC, Spearing RI and Hart DN: Invasive aspergillosis in severely neutropenic patients over 18 years: impact of intranasal amphotericin B and HEPA filtration. *J Hosp Infect* 38, No 1 (1998) 11-8.

## **8. Thesen**

1. In den letzten Jahrzehnten ist es zu einer Zunahme an opportunistischen Pilzinfektionen bei Patienten mit hämatologisch-onkologischen Erkrankungen gekommen. Diese stellen häufige infektiöse Komplikationen bei prädisponierten hämatologisch-onkologischen Patienten dar und zeichnen sich durch eine hohe Morbidität und Letalität aus.
2. In einer Analyse von 319 Patienten, die vom 01.01.1995 – 31.12.1999 in der Abteilung für Hämatologie/ Onkologie des Klinikum Kröllwitz behandelt wurden, erkrankten 87 (27%) Patienten an einer oder mehreren Pilzinfektionen. Der Erkrankungsgipfel für tiefe Pilzinfektionen im Untersuchungszeitraum lag mit 16,2% der Behandlungsepisoden im Jahr 1997.
3. Die Aspergillose bei hämatologisch-onkologischen Patienten stellt ein multifaktorielles Problem dar. Die Gründe der dramatischen Zunahme dieser bedrohlichsten invasiven Mykose sind nicht vollständig geklärt. Die Inzidenz invasiver Aspergilloser lag im Untersuchungszeitraum (1995-1999) zwischen 0,6 bis 10,2% der Behandlungsepisoden, mit einem Erkrankungsgipfel im Jahr 1997.
4. Pilzinfektionen bei prädisponierten Patienten werden vorwiegend durch *Candida albicans* und *Aspergillus fumigatus* hervorgerufen. Allerdings ist ein epidemiologischer Shift zugunsten der Fadenpilze wie *Aspergillus fumigatus* und der Non-*Candida-albicans*-Arten zu beobachten.
5. Die Behandlungsepisoden der Patienten mit akuter myeloischer Leukämie und myelodysplastischen Syndromen zeigten die höchste Mykoseinzidenz (23,4% und 28,6% der Behandlungsepisoden). Auch traten in der Folge einer AML-Induktionstherapie am häufigsten Pilzinfektionen auf (32,7% der Behandlungsepisoden).
6. Durch optimale Präventionsmaßnahmen kann das Risiko einer Aspergillusinfektion minimiert werden. Da Aspergilloser typischerweise durch Inhalation von Aspergillussporen aus der Umgebungsluft entstehen, spielt die Expositionsprophylaxe eine besonders große Rolle.
7. Raumluftechnische Anlagen sind in der Lage Aspergilluskonidien wirksam aus der Luft zu filtern. Durch mehrfache mykologisch-hygienische Untersuchungen vor und nach Einbau einer Klimaanlage mit Hochleistungs-Schwebstoff- (HEPA-) Filter und Überdruckbelüftung auf der hämatologisch-onkologischen Station im Jahr 1997 wurde deren Effektivität untersucht. Bei funktionierender raumluftechnischen Anlage wurden deutlich weniger Pilzkolonien (379 vs 16) und in keiner der Proben mehr *Aspergillus* spp. nachgewiesen.

8. Die Ausbruchssituation invasiver Aspergillosen im Jahr 1997 konnte durch die installierte raumluftechnische Anlage wirkungsvoll kontrolliert werden.
9. Baumassnahmen gelten als besonders wichtige Streuquelle für Aspergilluskolonien und können zur Häufung von invasiven Aspergillosen führen.
10. Da keine strenge Korrelation zwischen dem Sporengelalt der Luft und der Häufigkeit von Aspergillusinfektionen existiert, bleiben die Empfehlungen, ob regelmäßige Luftkeimmessungen auf Stationen mit Risikopatienten durchgeführt werden sollten, uneinheitlich. Orientierende Messungen in Risikobereichen sind allerdings zu empfehlen, um Streuherde rechtzeitig zu entdecken und entfernen.
11. Für mykologisch-hygienische Untersuchungen sind neben Luftkeimmessungen Abklatschproben eine wertvolle Ergänzung, um Fadenpilze in der Krankenhausumgebung nachzuweisen.
12. Eine Vielzahl an Aspergillosen sind ambulant erworben. Eine kurzdauernde Exposition gegenüber hohen Konzentrationen von Aspergilluskonidien können bereits zu Infektionen führen. Daher müssen zusätzliche Präventionsmassnahmen eingeleitet werden, welche Risikopatienten frühzeitig und konsequent vor Aspergillusstreuquellen sowohl im häuslichen Bereich als auch im Krankenhaus schützen.
13. Bei der mehrfaktoriellen Risikoanalyse für das Auftreten von Pilzinfektionen erwies sich die Granulozytopenie als der wichtigste Risikofaktor. Für eine mehr als 2 Wochen anhaltende Neutropenie wurde ein 125-fach erhöhtes Risiko für tiefe Pilzinfektionen in dieser Arbeit gezeigt.
14. Die Resistenzraten der untersuchten Sprosspilzisolat waren für Flucytosin mit 69% am höchsten. Die Non-Candida-albicans-Arten zeigten für Nystatin, Miconazol, Econazol und Clotrimazol höhere Resistenzraten als die C. albicans-Isolate.
15. Im Vergleich der durchgeführten systemischen antimykotischen Prophylaxe zeigte sich Itraconazol gegenüber Fluconazol effektiver. Obwohl für oberflächliche und tiefe Pilzinfektionen gemeinsam betrachtet unter der Itraconazol-Prophylaxe signifikant weniger Infektionen auftraten, war dieser Unterschied für die oberflächlichen und tiefen Pilzinfektionen einzeln betrachtet nicht signifikant und die Überlegenheit von Itraconazol nur tendenziell nachzuvollziehen.

## **Lebenslauf**

Name: Hanka Laue - Gizzi  
Geb. am/in: 18.04.1975 in Halle/ Saale,

### **Schulbildung**

1981 - 1987 POS Otto Grotewohl, Halle/ Saale  
1987 - 1990 POS Kröllwitz, Halle/ Saale  
1990 - 1993 Thomas-Müntzer-Gymnasium, Halle/ Saale

### **Studium der Humanmedizin**

1993 – 2000 Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg  
September 1995 Ärztliche Vorprüfung  
September 1996 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
September 1998 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

### **Famulaturen**

Hämatologie/ Onkologie – Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (März 1996)  
Pädiatrie – Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (März 1997)  
Clinical Oncology - Royal North Shore Hospital, University of Sydney (August 1997)  
Neurologie - Städtisches Krankenhaus Martha-Maria, Halle-Dölau (Februar 1998)

### **Praktisches Jahr (Oktober 1999 - September 2000)**

Chirurgie – West Cumberland Hospital, University of Newcastle upon tyne  
Neurologie – Städtisches Krankenhaus Martha-Maria, Halle-Dölau  
Innere Medizin – Städtisches Krankenhaus Martha-Maria, Halle-Dölau

### **Ärztin im Praktikum**

Dez. 2000 - Mai 2002 Neurologische Klinik des Städtischen Krankenhauses Martha-Maria Halle-Dölau

### **Berufliche Laufbahn**

Seit Juni 2002 Assistenzärztin der Neurologischen Klinik des Städtischen Krankenhauses Martha-Maria Halle-Dölau

## **Selbständigkeitserklärung**

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet.

Ich versichere, dass ich für die inhaltliche Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen habe. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwertige Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Hanka Laue - Gizzi

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. H.-J. Schmoll für die Überlassung des Dissertationsthema und die stete Förderung.

Für die maßgebliche Betreuung möchte ich mich zunächst bei Herrn OA Dr. med. Ch. Schöber bedanken, der mich auch noch während seiner schweren Erkrankung bis zuletzt unterstützt und motiviert hat.

Weiterhin möchte ich mich für die Übernahme der weiteren Betreuung durch Herrn OA Dr. med. A. Grothey besonders bedanken, der mir auch noch nach seinem Weggang in die USA sehr zur Seite gestanden hat.

Des Weiteren möchte ich mich bei Frau Dr. med. B. Scheller aus dem Institut für Hygiene bedanken, die das mykologisch-hygienischen Untersuchungskonzept wesentlich mitgeprägt hat.

Für die geduldige und gewissenhafte Auswertung der mykologisch-hygienischen Untersuchungsproben danke ich Frau B. Schöne aus dem mykologischen Labor der Universitätsklinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie.

Auch danke ich Frau Dr. Ch. Lautenschläger für die geduldige und kompetente Beratung in statistischen Fragen.

Abschließend möchte ich mich auch bei meiner Familie bedanken, die mir den nötigen Rückhalt für meine Doktor-Arbeit gegeben hat.