

Klinik und Poliklinik für Innere Medizin C
Hämatologie und Onkologie, Transplantationszentrum Greifswald
(Univ.- Prof. Dr. G. Dölken)
Medizinische Fakultät der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

Molekularbiologischer Virusnachweis bei allogenen
stammzelltransplantierten Patienten
Inzidenz und klinische Bedeutung

Dissertation
zur
Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin
(Dr.med.)
der
Medizinischen Fakultät
der
Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald
2009

vorgelegt von: Meike Heskamp
geb. am: 24.07.1981
in: Wesel

Dekan: Prof. Dr. med. Claus-Dieter Heidecke

1. Gutachter: Prof. Dr. med. William Krüger

2. Gutachter: Prof. Dr. med. Walter Fiedler

Ort, Raum: Raum-Nr. 055.0, Sauerbruchstrasse

Datum der Disputation: 06 Juli 2009

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	- 1 -
	Zielstellung der Arbeit	- 13 -
2	PATIENTEN UND METHODEN	- 14 -
2.1	Daten	- 14 -
2.2	Patienten	- 16 -
2.2.1	Geschlecht, Alter und Diagnosen	- 16 -
2.2.2	Verwandtschaftsgrad und HLA-Kompatibilität	- 17 -
2.2.3	Cytomegalievirus-Serosatus	- 18 -
2.2.4	Konditionierung	- 19 -
2.2.5	Klinische Einteilung der akuten GvHD	- 19 -
2.2.6	Antivirale Prophylaxe	- 20 -
2.2.7	Antimikrobiologische Prophylaxe	- 21 -
2.2.8	GvHD-Prophylaxe	- 21 -
2.2.9	Antivirale Therapie	- 22 -
2.2.10	Antibiotische und antimykotische Therapie	- 22 -
2.2.11	Therapie der akuten GvHD	- 23 -
2.3	Methoden	- 23 -
2.3.1	Allgemeines Prinzip der PCR	- 23 -
2.3.2	Allgemeines Prinzip der Real-time PCR	- 24 -
2.3.3	Anwendung der Real-time PCR	- 25 -
2.3.4	Virologie	- 26 -
2.3.5	Laborchemische Parameter und Körpertemperatur	- 30 -
2.3.6	Klinische Diagnosen	- 30 -
2.3.7	Statistik	- 32 -
3	ERGEBNISSE	- 33 -
3.1	Übersicht: Virusnachweise bei den Patienten	- 33 -
3.2	Cytomegalievirus (CMV)	- 40 -
3.2.1	CMV-Reaktivierung/-Infektion	- 40 -
3.2.2	Nachweiszeitpunkt und Engraftment bei den Patienten	- 44 -
3.2.3	CMV und der Nachweis anderer Virusspezies	- 45 -
3.2.4	Klinische Symptomatik im Zusammenhang mit CMV	- 46 -
3.2.5	Korrelation von CMV und Thrombozytenzahl	- 49 -
3.2.6	CMV als Einflussfaktor auf das Engraftment	- 50 -
3.2.7	Monitoring auf CMV-DNA im Urin	- 52 -
3.2.7.1	Patienten und CMV-Nachweise	- 52 -
3.2.7.2	Vergleich von Patienten mit und ohne CMV-Nachweis im Urin	- 55 -
3.3	Adenovirus (ADV)	- 57 -
3.3.1	ADV-Infektion	- 57 -
3.3.2	Zeitpunkt der ADV-Nachweise	- 60 -
3.3.3	Klinische Symptomatik im Zusammenhang mit ADV	- 60 -
3.3.4	ADV-Infektion und Thrombozytenanzahl	- 67 -
3.3.5	ADV-assoziierte Symptomatik und Leukozytenanzahl	- 68 -
3.3.6	ADV und Mortalität	- 68 -

3.4	Andere Viren	- 69 -
3.4.1	Enterovirus (ENV)	- 69 -
3.4.2	Herpes-simplex-Virus Typ I (HSV)	- 74 -
3.4.3	Parvovirus B19 (PBV19)	- 77 -
3.4.4	JC-Virus (JCV)	- 79 -
3.4.5	Epstein-Barr-Virus (EBV)	- 80 -
3.5	Klinische Symptomatik und Mortalität	- 81 -
3.5.1	Virusnachweise im Knochenmark und Symptomatik	- 81 -
3.5.2	Weitere Erkrankungen/Symptomatik bei den Patienten	- 83 -
3.5.3	Mortalität in den ersten 100 Tagen nach SZT	- 86 -
4	DISKUSSION	- 89 -
4.1	Cytomegalievirus (CMV)	- 89 -
4.1.1	Inzidenz von CMV-Reaktivierung/-Infektion	- 89 -
4.1.2	Erkrankung	- 90 -
4.1.3	Risikofaktoren	- 91 -
4.1.4	CMV-Monitoring im Urin	- 92 -
4.2	Adenovirus (ADV)	- 94 -
4.2.1	Inzidenz von ADV-Infektionen	- 94 -
4.2.2	Erstnachweis	- 96 -
4.2.3	Probenmaterialien	- 97 -
4.2.4	Symptomatik von ADV-Infektionen	- 98 -
4.2.5	Risikofaktoren	- 100 -
4.2.6	Mortalität	- 102 -
4.3	Enterovirus (ENV)	- 103 -
4.4	Herpes-simplex-Virus (HSV)	- 105 -
4.5	Parvovirus B19 (PVB19)	- 106 -
4.6	JC-Virus (JCV)	- 108 -
4.7	Virusnachweis im Knochenmark und Körpertemperatur	- 109 -
	Zusammenfassung	- 111 -
	Anhang	- 114 -
	Literaturverzeichnis	- 116 -
	Abbildungsverzeichnis	- 129 -
	Tabellenverzeichnis	- 129 -
	Abkürzungsverzeichnis	- 131 -
	Eidesstattliche Erklärung	- 134 -
	Lebenslauf	- 135 -
	Danksagung	- 136 -

1 Einleitung

Die allogene Stammzelltransplantation (SZT), d.h. die Transplantation von humanen hämatopoetischen Stammzellen in einen fremden Empfängerorganismus nach vorangegangener Konditionierungstherapie, stellt derzeit für einige maligne Erkrankungen des hämatopoetischen Systems die einzige Therapieoption mit kurativem Ansatz dar (56, 84). Des Weiteren findet die Methode der allogenen SZT Anwendung in der Therapie nicht maligner hämatologischer Erkrankungen wie der Thalassämie und der angeborenen schweren kombinierten Immundefizienz sowie in der Therapie lysosomaler und peroxisomaler Speicherkrankheiten. In einzelnen Fällen und im Rahmen von Studien werden allogene Stammzelltransplantationen auch bei Patienten mit soliden Tumoren durchgeführt (4, 61, 72, 100, 174, 201). Insgesamt ist in Deutschland die Anzahl allogener Stammzelltransplantationen im Zeitraum 1998-2006 von 1198 auf 2196 Fallzahlen gestiegen. Im Jahr 2006 stellten mit insgesamt 82,9% Akute Leukämien, Myeloproliferative und Myelodysplastische Syndrome, Non-Hodgkin-Lymphome und Multiple Myelome die führenden Indikationen für eine allogenen SZT dar. Bei diesen Erkrankungen ist seit 1998 ein Anstieg der Transplantationsfallzahlen festzustellen. Weitere Indikationen zur allogenen SZT waren im Jahr 2006 mit insgesamt 17,1% Chronisch Myeloische und Lymphatische Leukämien, Immundefizite und andere Erkrankungen (s.o.). Bemerkenswert ist hierbei eine erhebliche Reduktion der Chronisch Myeloischen Leukämie als Indikation zur allogenen SZT (201).

Experimentelle Knochenmarktransplantationen wurden bereits Mitte der fünfziger Jahre, u.a. von Lindsley und Nowell, am Tiermodell durchgeführt (112, 144). Nach den ersten allogenen Knochenmarktransplantationen bei fünf Opfern eines Reaktorunfalls im Jahr 1959 ohne gesichertes Engraftment, veröffentlichte 1963 die Arbeitsgruppe um Mathé den ersten Fall einer erfolgreichen allogenen SZT bei einem 26-jährigen, an akuter Leukämie erkrankten Patienten mit nachgewiesenem Engraftment und einem Überleben von 20 Monaten (85, 129). Die jedoch überwiegende Erfolglosigkeit der ersten Transplantationen wird in einer von Bortin 1970 publizierten Synopsis von über 200 Knochenmarktransplantationen deutlich, bei welchen mehrheitlich (61,6%) kein Engraftment nachgewiesen werden konnte. Die Mortalität aufgrund schwer verlaufender Graft-versus-Host-Erkrankung (GvHD),

progredienter Grunderkrankung und unbeherrschbaren Infektionen, vor allem bei Panzytopenie, war hoch (19, 162). Weitere Komplikationen nach allogener Knochenmark- bzw. Stammzelltransplantation waren und sind konditionierungsbedingte Früh- und Spättoxizität mit multiplen Organmanifestationen (9), primäres oder sekundäres Transplantatversagen (42) sowie ein Rezidiv der Grunderkrankung (179).

Die Entdeckung des ersten Humanen Leukozytenantigens (HLA) durch Dausset Ende der 50er Jahren und die 1968 von Epstein gezeigte Relevanz der Antigen-Kompatibilität für den Erfolg einer Transplantation am Tiermodell bildeten die theoretische Grundlage für das Verständnis des Graft failures (Transplantatversagen) und der GvHD. Die auf diesen Erkenntnissen basierende Ausarbeitung der Gewebstypisierung führte zu besseren Resultaten in der Transplantationsmedizin (41, 54). Ferner waren die Einführung der Immunsuppressiva Methotrexat und Cyclosporin A in die GvHD-Prophylaxe (148, 177) sowie die Anwendung neuer Antibiotika und Granulozytentransfusionen ausschlaggebend für verbesserte Transplantationsergebnisse mit konsekutiver Reduktion der Mortalität (163).

Im Jahr 2005 veröffentlichte Grathwohl eine retrospektive Analyse von 14.403 an Leukämie erkrankten Patienten, bei denen im Zeitraum von 1980 bis 2001 allogene, HLA-kompatible Stammzelltransplantationen durchgeführt wurden. In der Untersuchung konnte eine signifikante Reduktion der gesamten transplantationsassoziierten Mortalität aufgrund einer weiteren Senkung der infektionsbedingten Mortalität aufgezeigt werden (73).

Die Anfälligkeit der Patienten in der gesamten Posttransplantationsphase gegenüber verschiedenen Erregern ist von der hämatopoetischen Rekonstitution abhängig, die bei unkomplizierten Verläufen in charakteristischer Weise erfolgt (122).

Formal kann die hämatologische und immunologische Rekonstitution in drei Phasen Neutropenie, Post-Engraftment-Phase und Spätphase gegliedert werden (siehe Abbildung 1).

Abbildung 1: Phasen der Immunrekonstitution nach SZT

Phase 1	Prä-Engraftment-Phase / Phase der Neutropenie	Dauer: bis zum Engraftment bzw. bis Tag +30 nach SZT
Engraftment: Leukozyten $>1,0 \times 10^9/L$		
Phase 2	Post-Engraftment-Phase	Dauer: Tag +30 bis Tag +100
Phase 3	Spätphase	Dauer: Tag +100 bis zur vollständigen Immunrekonstitution

Der typischerweise in den jeweiligen Phasen im Vordergrund stehende Immundefekt und die zu erwartenden Erreger werden im Folgenden beschrieben und in Abbildung 2 dargestellt:

Phase 1 / Prä-Engraftment-Phase

Neutropenie und konditionierungstherapeutisch bedingte Schleimhautschädigungen mit konsekutivem Verlust der physiologischen Schutzbarrieren sind in dieser Phase die dominierenden Infektionsrisiken. Zentralvenöse Katheter als Eintrittspforte für Keime der Residualflora stellen ein weiteres Risiko dar (206).

90% der Infektionen dieser Phase werden von überwiegend grampositiven, bakteriellen Erregern verursacht. Candida und Asperillus spezieis als Erreger invasiver Mykosen sind bedeutsam bei prolongierter Neutropeniedauer (49). Reaktivierungen von Herpes-simplex-Viren (HSV) finden ebenfalls überwiegend in der neutropenischen Phase statt (82) und verursachen lokale und seltener invasive Erkrankungen (49).

Phase 2 / Post-Engraftment-Phase

In der Phase nach erfolgtem Engraftment stehen immunologische Defizite aufgrund numerischer und funktioneller Defekte der T- und B-Lymphozyten im Vordergrund. Daher sind Reaktivierungen von Cytomegalieviren (CMV) sowie Infektionen durch Pilze und Parasiten wie z.B. Pneumocystis jiroveci und Toxoplasma gondii in dieser Phase von Bedeutung (48). Neuinfektionen durch CMV können ebenfalls in dieser Phase auftreten, sind jedoch im Gegensatz zu CMV-Reaktivierungen selten.

Phase 3 / Spätphase

Faktoren wie HLA-Kompatibilität, GvHD, ihre Prophylaxe und Therapie sowie Art des Transplantats und Infektionen beeinflussen die Geschwindigkeit der vollständigen und funktionellen immunologischen Rekonstitution und somit auch indirekt das Infektionsrisiko (76, 178, 182, 197, 200). Bei unkomplizierten Verläufen ist die Lymphozytenrekonstitution nach circa zwei Jahren abgeschlossen (105). In der Spätphase überwiegen Cytomegalieviren, Varizella-zoster-Viren (VZV), bekapselte Bakterien, Pilze und Parasiten als Erreger von Infektionserkrankungen. Bjorklund et al. konnten zeigen, dass Viren als Erreger letaler Infektionen der Spätphase (definiert als länger als sechs Monate nach SZT) die höchste Inzidenz aufweisen (14, 49). Opportunistische Infektionen durch respiratorische und enteritische Viren können in allen Phasen nach der Transplantation auftreten.

Abbildung 2: Phasen der SZT mit vorherrschendem Erregerspektrum

	Phase 1 Prä-Engraftment-Phase bis Tag +30	Phase 2 Post-Engraftment-Phase Tag +30 bis Tag +100	Phase 3 Spätphase nach +100 Tagen
Immundefekt	Neutropenie, Mukositis, akute GvHD, zentraler Venenkatheter	Reduzierte zelluläre und humorale Immunität, akute GvHD, zentraler Venenkatheter	Reduzierte zelluläre und humorale Immunität, akute und chronische GvHD
Vorherrschende Infektionserreger	Respiratorische und enteritische Viren		
	Herpes-simplex-Virus		
	Cytomegalievirus		
			Varizella-zoster-Virus
	grampositive Bakterien		
	gramnegative Bakterien		bekapselte Bakterien
	Candida-Spezies		
	Aspergillus-Spezies		
	Toxoplasma gondii		
	Pneumocystis jiroveci		

Obwohl in den letzten 20 Jahren enorme Fortschritte in der Prävention und Therapie verschiedenster infektiöser Komplikationen nach allogener SZT erzielt worden sind, tragen Infektionen noch immer wesentlich zur Gesamtmorbidität nach allogener SZT bei (25, 106). Bemerkenswert hierbei ist eine weitestgehende Konstanz der bedeutsamsten Erreger mit Cytomegalievirus und Aspergillus als dominierende Pathogene (25). Grathwohl stellte ferner eine gleichbleibende Rangordnung der verschiedenen Erreger (Bakterien>Viren>Pilze>Parasiten) bei letal verlaufenden Infektionen nach allogener SZT fest, wobei Viren nach Bakterien die zweithöchsten Inzidenzen aufweisen (73). Während die Bedeutung von Cytomegalievirus, Herpes-simplex-, Epstein-Barr- und Varizella-zoster-Virus nach allogener SZT ausführlich untersucht wurde und entsprechende prophylaktische und therapeutische Strategien entwickelt worden sind, ist die Relevanz von Virusspezies wie Adeno-, Entero-, Respiratory-syncytial-Virus, Influenza- und Parainfluenzavirus mit offensichtlich steigender Inzidenz nach SZT ungeklärt (15, 21, 25, 52, 68, 70, 123). Ob die Verbreiterung des Artenspektrums und der Anstieg der Inzidenzen neuer Virusspezies nach allogener SZT auf eine reale Ausdehnung des Virusspektrums respektive auf einen realen Anstieg der Inzidenzen zurückzuführen ist, kann bisher nicht sicher gesagt werden. Möglicherweise können sowohl die Ausdehnung des Artenspektrums als auch Auftretenshäufigkeit der einzelnen Virusspezies in der Entwicklung fortschrittlicher Nachweisttechnologien und/oder in einer neuen klinischen Bewertung begründet liegen (34, 58, 81).

Die Schwerpunkte vorliegender Arbeit sollen auf der Untersuchung von Cytomegalie- und Adenovirus im Kontext der allogenen SZT liegen. Dementsprechend werden die beiden Virusarten sowie ihre Bedeutung für allogene stammzelltransplantierte Patienten im Folgenden detaillierter dargestellt.

Cytomegalievirus (CMV)

Cytomegalieviren sind behüllte Doppelstrang-DNA-Viren und gehören zu der Familie der Herpesviridae. Aufgrund der Persistenz des Virus in Zellen des Knochenmarks oder des peripheren Blutes nach Primärinfektion sind eine Reaktivierung des Virus und eine prolongierte Ausscheidungsdauer, vorwiegend bei reduzierter Immunität, möglich. Neben zumeist klinisch inapparent verlaufenden Infektionen verursachen Cytomegalieviren bei immunkompetenten Patienten eine Erkrankung mit dem klinischem Bild einer akuten Mononukleosis, deren Hauptcharakteristika Fieber,

zervikale Lymphknotenschwellung, Pharyngitis sowie Hepato- und Splenomegalie sind (94). Nach allogener SZT können bei den immunkompromittierten Patienten schwere und letale Krankheitsverläufe mit Beteiligung multipler Organe und Organsysteme wie dem Respirationstrakt, Gastrointestinaltrakt, Leber, Retina und seltener dem Zentralen Nervensystem durch CMV verursacht werden (24). CMV-Reaktivierungen können ferner zu schweren Zytopenien führen (77). Die Reaktivierung des Virus sowie eine Neu- oder Reinfektion sind daher gefürchtete Komplikationen nach allogener SZT (94).

Die durch Cytomegalieviren verursachten einzelnen klinischen Krankheitsbilder wie interstitielle Pneumonie, Gastroenteritis und Hepatitis sind nicht pathognomonisch. Aufgrund dieser Tatsache wurden 1993 und 1995 in der vierten bzw. fünften Internationalen Cytomegalievirus-Konferenz von Paris bzw. Stockholm Definitionen und Diagnosekriterien zu Cytomegalieviruserkrankungen erarbeitet, die in ihrer Anwendung insbesondere für die Vergleichbarkeit klinischer Studien von Bedeutung sind. Ljungman et al. publizierten 2002 eine aktualisierte Version dieser Definitionen, die die seit 1995 progressiven diagnostischen Techniken und neuen wissenschaftlichen Erkenntnisse berücksichtigen (119).

Das Infektionsrisiko und somit die Inzidenz von CMV-Reaktivierung/-Infektion und CMV-Erkrankung nach allogener SZT werden von verschiedenen Faktoren beeinflusst. Maßgeblich für das Infektionsrisiko und das Risiko einer CMV-Erkrankung ist die Konstellation der CMV-Serostatus für Anti-CMV-IgG von Spender und Empfänger. Ohne Präventionsmaßnahmen haben Stammzellempfänger mit einem positiven CMV-Serostatus ein Risiko von 45-86% für eine CMV-Reaktivierung und ein Risiko von 20-30% für eine CMV-Erkrankung (24, 161). Patienten mit negativem CMV-Serostatus haben ein sehr geringes Risiko für eine primäre CMV-Infektion und ein Erkrankungsrisiko von 0-2,5%, sofern nach erfolgter SZT ausschließlich gefilterte und/oder CMV-negative Blutprodukte verwendet werden (26, 27, 141). Patienten mit negativem CMV-Serostatus und CMV-seropositivem Spender entwickeln ohne präventive Interventionen in etwa 30% der Fälle eine primäre CMV-Infektion (24). Hinsichtlich der Bedeutung eines CMV-seropositiven Spenders für einen ebenfalls CMV-positiven Empfänger bezüglich CMV-Erkrankung und CMV-assoziiertes Mortalität wurden in früheren Studien kontroverse Untersuchungsergebnisse erzielt. So zeigten Grob et al. 1986, dass die Mortalität und die Inzidenz von CMV-Erkrankungen durch den CMV-Serostatus des Spenders signifikant beeinflusst

werden. Diese Resultate konnten in der Untersuchung von Kollmann 2001 nicht bestätigt werden (74, 98). Ljungman et al. konnten 2003 in einer Studie mit 7018 Patienten zeigen, dass der CMV-Serostatus des Spenders bei Transplantationen mit HLA-kompatiblen und familiären Spendern keinen Einfluss auf das Überleben der Patienten hat. Jedoch stellte er eine signifikant höhere Überlebenschance bei Patienten mit CMV-positiven Spendern fest, wenn es sich um nichtfamiliäre Transplantationen handelte (118). Zwei neuere Studien geben ebenfalls Hinweise auf die positiven Auswirkungen eines CMV-positiven Spenders (64, 149). Außer dem CMV-Serostatus wurden GvHD, der Verwandtschaftsgrad (fremd versus familiär) und die HLA-Kompatibilität zwischen Spender und Empfänger, höheres Alter, die transplantierte Zellanzahl sowie durchgemachte CMV-Erkrankungen vor SZT als Risikofaktoren für CMV-Infektionen bzw. für CMV-Erkrankungen nach allogener SZT identifiziert (117, 120, 128, 134, 136, 187). Bezüglich der Vorteile einer dosisreduzierten Konditionierungstherapie gegenüber einem myeloablativen Verfahren hinsichtlich der Prävention von CMV-Infektionen und -Erkrankungen besteht derzeit kein Konsens. Nachbaur et al. identifizierten die dosisreduzierte Konditionierungstherapie als einen signifikanten Risikofaktor für CMV-Infektionen im Vergleich zu einem myeloablativen Regime (137). Im Gegensatz dazu publizierten Martino et al. und Junghans et al. jeweils eine Studie mit reduzierten Inzidenzen von CMV-Infektion und -Erkrankung nach dosisreduzierter Konditionierungstherapie (86, 128). Jedoch zeigte Junghans auch, dass sich die 1-Jahres-Inzidenz der CMV-Erkrankung bei Patienten mit myeloablativer und nichtmyeloablativer Konditionierung nicht signifikant voneinander unterscheiden. In zwei weiteren Untersuchungen konnte kein Unterschied hinsichtlich CMV-Infektion und -Erkrankung zwischen dosisreduzierter und myeloablativer Konditionierungstherapie festgestellt werden (88, 164). Weiterhin konnte eine Assoziation zwischen höheren Raten von CMV-Reaktivierungen und T-Zell-Depletion des Transplantats oder T-Zell-Depletion in vivo mittels Anti-Thymozyten-Globulin (ATG) festgestellt werden (137, 194).

Mittels Einführung präventiver Strategien konnte die Inzidenz von CMV-Erkrankungen in den ersten drei Monaten nach allogenen Stammzelltransplantationen bei Patienten mit positivem CMV-Serostatus sowie bei Patienten mit negativem CMV-Serostatus und positivem Spender in den meisten Untersuchungen auf unter 5,5% gesenkt werden (50, 51, 69, 115, 157). So beobachteten Goodrich et al. in einer doppel-verblindeten, Placebo-kontrollierten

Studie eine Inzidenz von 0% CMV-Erkrankungen bei den Patienten, die eine Ganciclovirprophylaxe nach allogener Knochenmark-transplantation erhielten, gegenüber der Placebo-Gruppe (29% CMV-Erkrankungen) (69). Obgleich das Risiko einer CMV-Erkrankung von Patienten mit positivem und negativem CMV-Serostatus nach Einführung der Präemptiven Therapie annähernd identisch ist, wurde in verschiedenen Studien gezeigt, dass Patienten mit positivem CMV-Serostatus gegenüber CMV-seronegativen Patienten (mit CMV-negativem Spender) einen signifikanten Überlebensnachteil aufweisen, wobei in den entsprechenden Studien das absolute und relative Überleben, das relative erkrankungsfreie Überleben sowie die absolute und relative Therapie-assoziierte Mortalität untersucht wurden (28, 39, 98, 103, 131, 140). Die aufgeführten Studien weisen hinsichtlich der untersuchten Patientenkohorten und der angewandten Methodik einige Unterschiede auf. Jedoch zeigten zwei weitere, übereinstimmendere Untersuchungen ähnliche Resultate (40, 130). Boeckh und Nichols subanalysierten die zitierten Studien und kamen zu dem Resultat, dass der CMV-Serostatus des Empfängers trotz Einführung von Prophylaxe und Präemptiver Therapie einen gewichtigen Einflussfaktor des Gesamtüberlebens nach allogener SZT darstellt, wobei spezielle Patientensubgruppen ein erhöhtes Risiko für Therapie-assoziierte Mortalität aufweisen. Charakteristika dieser Subgruppen scheinen eine T-Zell-Depletion des Transplantats, der Grad der Übereinstimmung von Spender und Empfänger bezüglich HLA-Kompatibilität und Verwandtschaftsgrad sowie eine intensive Immunsuppression zu sein (17).

Nach Einführung von Prophylaxe und Präemptiver Therapie konnte, wie oben bereits beschrieben, die Inzidenz von CMV-Erkrankungen in der Post-Engraftment-Phase deutlich gesenkt werden. In der Spätphase ist die Inzidenz von CMV-Erkrankungen jedoch auf bis zu 31% angestiegen. Die CMV-assoziierte Mortalität wird mit bis zu 46% angegeben. Chronische GvHD, ein unverwandter Spender, vorangegangene antivirale Therapie über einen Zeitraum von mehr als vier Wochen, CMV-Seronegativität des Spenders und mehrere vorangegangene Episoden von CMV-Reaktivierungen wurden als Risikofaktoren für eine CMV-Erkrankung in der Spätphase identifiziert (51, 99, 139, 149). Weiterhin zeigten Boeckh et al. einen Zusammenhang zwischen spät auftretender CMV-Erkrankung und einer Lymphozytopenie (<100 Zellen/mm³ bzw. nach 3 Monaten <300 Zellen/mm³), einer CD4 T-Zellzahl von $<50/\mu\text{l}$ sowie einer fehlenden CMV-spezifischen T-Zell Antwort (16).

Nach den Richtlinien der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie (DGHO) von 2006 sollte bis Tag +100 nach allogener SZT ein wöchentliches Monitoring mittels PCR- oder Antigen pp65-Nachweis auf CMV erfolgen und gegebenenfalls eine antivirale Therapie mit Ganciclovir begonnen werden (161). Reusser et al. konnten 2002 zeigen, dass Foscarnet in der Präemptiven Therapie die gleiche Wirksamkeit wie Ganciclovir bei reduzierten Medikamentennebenwirkungen aufweist (154). Neuere Studien stellen die orale Therapie mit Valganciclovir, dem Prodrug von Ganciclovir, als sichere und effektive Alternative zu Ganciclovir intra venös (i.v.) in der Präemptiven Therapie in Aussicht (30, 189). Wie bereits dargestellt, sind die Mortalität bei CMV-seropositiven Empfängern und Späterkrankungen durch CMV weiterhin klinisch relevante Komplikationen nach allogener SZT. Multiple Faktoren konnten als Risikofaktoren einer CMV-Infektion und CMV-Erkrankung bzw. der assoziierten Mortalität identifiziert werden (s.o.). Aufgrund dieser Tatsache werden zunehmend risikoadaptierte Strategien in der Prävention von CMV-Erkrankungen eingesetzt. Avery et al. führten 1998 eine Befragung zu Präventionsstrategien von CMV in allen allogenen Knochenmarkstransplantationskliniken der USA durch, die im National Marrow Donor Program registriert waren. Schon damals verwendeten 19% der Kliniken risikoadaptierte präventive Strategien. Als Risikofaktoren für CMV-Infektionen und CMV-Erkrankungen wurden hierbei der Grad der Übereinstimmung von Spender und Empfänger hinsichtlich Verwandtschaft und HLA-Kompatibilität sowie der CMV-Serostatus berücksichtigt. Die aktuellen Richtlinien der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie (DGHO) enthalten ebenfalls Empfehlungen zu einem risikoadaptierten Procedere. Dementsprechend wird die Fortführung der Präemptiven Therapie über den Tag +100 nach SZT hinaus für Patienten mit chronischer GvHD, prolongierter Immunsuppression sowie nach T-Zell-Depletion empfohlen. Weiterhin sollten Patienten, die in den ersten 100 Tagen nach SZT über mehrere Wochen antiviral therapiert wurden sowie Patienten, die eine nichtmyeloablative Konditionierungstherapie erhalten haben, über den Tag +100 hinaus nach dem Verfahren der Präemptiven Therapie behandelt werden. Eine generelle prophylaktische Applikation von Ganciclovir kann bei schwerer chronischer GvHD, nach T-Zell-Depletion und bei einer hochdosierten Steroidtherapie erwogen werden (161).

Zur individuellen Risikoabschätzung einer CMV-Reaktivierung bzw. -Erkrankung stellen Loeffler et al. die Bestimmung von Genpolymorphismen mittels genetischer Analysen in Aussicht (121).

Adenovirus (ADV)

Adenoviren sind sich im Zellkern reproduzierende, unbehüllte Doppelstrang-DNA-Viren (92). Bei immunkompetenten Menschen verursachen sie überwiegend asymptomatische Infektionen oder lokale Infektionen des Respirations- und Gastrointestinaltraktes mit unspezifischer Begleitsymptomatik (59). Meistens findet eine Erstinfektion mit einem der 51 humanpathogenen Serotypen in der Kindheit statt. Da Adenoviren in lymphatischem Gewebe und Lymphozyten persistieren können, ist eine Reaktivierung des Virus sowie eine Langzeitausscheidung möglich (92). Neben asymptomatisch oder komplikationslos verlaufenden Infektionen via Reaktivierung oder Neuinfektion können Adenoviren bei immunkompromittierten Patienten schwere und unter Umständen letal verlaufende Erkrankungen verursachen. Verschiedene organspezifische Manifestationen wie Enzephalitis, Pneumonie, Hepatitis, Nephritis sowie Multi-Organ-Versagen bei Sepsis sind nach allogener SZT beobachtet worden (3, 6, 13, 43, 109, 142, 169).

Zur Inzidenz von ADV-Infektionen nach allogener SZT liegen aus verschiedenen Untersuchungen unterschiedliche Angaben von 6-29% vor (29, 35, 57, 83, 108, 158, 180). Runde et al. stellten in einer prospektiv angelegten Studie von 2001 eine Inzidenz von 29% ADV-Infektionen nach allogener SZT fest (158). Im Gegensatz dazu veröffentlichten La Rosa et al. im gleichen Jahr eine retrospektive Untersuchung mit einer Inzidenz von 6% (108). Die Untersuchungsergebnisse bezüglich der Inzidenz symptomatischer ADV-Erkrankungen weisen eine noch größere Schwankungsbreite von etwa 80% auf. Bruno et al. diagnostizierten bei 42 (9,3%) von 450 infizierten Patienten eine ADV-assoziierte Erkrankung (29). Im Gegensatz dazu stellte La Rosa eine Häufigkeit von 60 (87,0%) Erkrankungen bei 69 ADV-infizierten Patienten fest, wobei insgesamt bei weniger als 8% der entsprechenden Patienten eine als „definitiv“ klassifizierte ADV-assoziierte Erkrankung diagnostiziert werden konnte (108). Die unterschiedlichen Inzidenzen sind möglicherweise durch die uneinheitlichen Nachweismethoden, die differierenden Indikationen und Zeitpunkte der Probenentnahme sowie durch unterschiedliche Probenmaterialien in den angeführten Studien erklärbar. Zusätzlich stellen die in den

verschiedenen Studien uneinheitlichen Definitionen einer ADV-Erkrankung und die zu erfüllenden Diagnosekriterien einen Erklärungsansatz der stark inhomogenen Inzidenzen von ADV-Erkrankungen dar.

Es scheint aufgrund der Unterschiede in Definitionen und Diagnosekriterien von ADV-Erkrankungen zwischen den einzelnen Studien gerechtfertigt, die Häufigkeiten der jeweilig beschriebenen Manifestationen von ADV-Erkrankungen nur mit Vorbehalt zu vergleichen. La Rosa und Runde stellten in ihren Patientenkohorten hauptsächlich ADV-assoziierte Manifestationen des oberen Respirationstraktes fest. An zweiter Stelle als Hauptmanifestationsort von ADV-assoziiierter Symptomatik stand in beiden Studien der Gastrointestinaltrakt. Während bei La Rosa der tiefe Respirationstrakt an dritter Stelle gefolgt vom Urogenitaltrakt stand, fand Runde bei den von ihm untersuchten Patienten den Urogenitaltrakt an dritter Stelle in der Rangfolge verschiedener Organmanifestationen (108, 158). Im Gegensatz zu Runde und La Rosa beschrieben sowohl Baldwin als auch Bruno, dass sich ADV-Erkrankungen überwiegend im Gastrointestinaltrakt oder mit gastrointestinalen Symptomen manifestierten (8, 29). Chakrabarti et al. diagnostizierten ferner bei zwei von drei definitiv an ADV erkrankten Patienten eine durch ADV-verursachte Hepatitis (35).

Für ADV-Infektionen und -Erkrankungen nach allogener SZT sind bis dato verschiedene potentielle Einflussfaktoren beschrieben worden. Als signifikante Risikofaktoren für das Auftreten von *ADV-Infektionen* konnten bislang jüngeres Alter, ADV-Seropositivität des Spenders vor SZT, das Auftreten einer GvHD Grad II-IV sowie eine zweite allogene SZT identifiziert werden (29, 57, 158). Bezüglich der von Runde beschriebenen Assoziation von ADV-Seropositivität des Spenders und ADV-Infektionen besteht derzeit kein Konsens, so dass aktuell die Durchführung einer ADV-Serologie bei Spender oder Empfänger vor SZT nicht empfohlen wird (116).

Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass Patienten mit GvHD (Grad II-IV) und prolongierter Immunsuppression signifikant häufiger *ADV-Erkrankungen* entwickelten als Patienten der entsprechenden Vergleichsgruppe. Patienten mit unverwandtem oder HLA-inkompatiblem Spender erkrankten ebenfalls häufiger an einer ADV-Infektion (6, 57). Eine Lymphozytopenie von $<300/\mu\text{l}$ zum Zeitpunkt des ADV-Erstnachweises sowie der Nachweis von ADV in zwei oder mehr verschiedenen Probenmaterialien konnten als weitere Risikofaktoren für das Auftreten einer ADV-Erkrankung identifiziert werden (6, 35, 83). Sowohl bei pädiatrischen als auch bei

erwachsenen stammzelltransplantierten Patienten konnte eine Assoziation zwischen dem Nachweis von ADV-DNA im Blut und der Entwicklung einer schweren, teilweise letal verlaufenden ADV-Erkrankungen aufgezeigt werden (35, 46, 114). Mittels weiterführender Untersuchungen gelang eine Spezifizierung dieses Resultates hinsichtlich einer Korrelation des viral loads und dem Auftreten fataler ADV-Erkrankungen (37, 55, 165). In zwei neueren Studien aus dem Jahr 2007 stellten Kalpoe et al. und Takayama et al. bei den von Ihnen untersuchten Patienten hingegen fest, dass eine ADV-Virämie nach allogener SZT sowohl bei den pädiatrischen als auch bei den erwachsenen Patienten relativ häufig auftrat und nicht mit einer schwerwiegenden und therapiebedürftigen ADV-Erkrankung assoziiert war (87, 181).

In den Untersuchungen von La Rosa und Runde lag mit 26% bzw. 54% jeweils eine hohe Mortalität bei Patienten mit ADV-Erkrankung vor, wobei Runde einen signifikanten Unterschied zwischen der Mortalität der Patientengruppen mit und ohne ADV-Erkrankungen feststellen konnte (108, 158). Ein entsprechendes Resultat zeigte die Untersuchung von Chakrabarti. Er fand eine signifikant höhere 1-Jahres-Überlebenschance bei Patienten ohne ADV-Erkrankung gegenüber erkrankten Patienten (35). Ebenso beschrieben Howard et al. eine auf ADV zurückzuführende Mortalität von 17% (11/64). Indessen lag in der Studie von Baldwin eine Mortalität von nur 1% (6/572) aufgrund von ADV-Infektionen vor (8, 83).

Die Frage nach der durch ADV verursachten Morbidität und vor allem der Mortalität nach allogenen Stammzelltransplantationen ist hinsichtlich der Weiterentwicklung und der Bewertung spezifischer, antiviraler Therapiestrategien von Bedeutung (58). Aufgrund der bislang unvollständig geklärten Relevanz von neueren Virusinfektionen, wie z.B. Adenoviren für immunkompromittierte Patienten nach allogener SZT, müssen klinische Studien folgen, die eine Korrelation von Virusnachweis mittels hochsensitiver und spezifischer Nachweismethodik und klinischer Symptomatik belegen.

Zielstellung der Arbeit

Seit 1998 werden in der Klinik für Hämatologie und Onkologie der Universitätsklinik Greifswald allogene Stammzelltransplantationen durchgeführt. In der vorliegenden retrospektiven Arbeit soll die Inzidenz von viralen Infektionen innerhalb der ersten 100 Tagen nach allogener SZT bei den von 1999-2004 allogenen transplantierten Patienten erhoben werden. Folgende Virusspezies sollen hierbei berücksichtigt werden: Cytomegalievirus (CMV), Adenovirus (ADV9), Enterovirus (ENV), Herpes-simplex-Virus (HSV), Parvovirus B19 (PVB19), JC-Virus (JCV), Epstein-Barr-Virus (EBV), Varizella-zoster-Virus (VZV), humanes Herpesvirus 6 (HHV6), Respiratory-syncytial-Virus (RSV) und Influenza-virus (IV). Bei den aufgeführten Virusspezies erfolgten, mit Ausnahme von CMV und ADV, Polymerase-Ketten-Reaktion Analysen (PCR) ausschließlich bei klinischer Indikation. Daher soll bei diesen Virusarten das Vorliegen einer klinischen Symptomatik zum Zeitpunkt des Virusnachweises untersucht werden, um die klinische Relevanz der molekularbiologischen Nachweise mittels PCR bei den Patienten einzuordnen.

Einer der Schwerpunkte der vorliegenden Arbeit soll in der Untersuchung der Inzidenz von CMV-Reaktivierung/-Infektion und CMV-Erkrankungen unter der Strategie der Präemptiven Therapie bestehen. Potentielle Risikofaktoren für CMV-Reaktivierung/-Infektion und -Erkrankung sollen bei den untersuchten Transplantationspatienten identifiziert werden.

Den zweiten Schwerpunkt soll die Untersuchung der klinischen Bedeutung von Adenoviren nach allogener SZT bilden. Zu prüfen sind hierbei die Korrelation von ADV-Nachweis und Infektionssymptomatik sowie Faktoren, die das Auftreten von ADV-Infektionen bei den untersuchten Patienten möglicherweise beeinflusst haben könnten.

2 Patienten und Methoden

2.1 Daten

Es wurden retrospektiv 58 Patienten untersucht, die im Zeitraum 1999-2004 in der Klinik für Hämatologie und Onkologie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität eine fremd-allogene oder familiär-allogene SZT erhalten haben. Ein Patient mit Akuter Lymphatischer Leukämie wurde zwölf Monate nach der ersten allogenen SZT aufgrund eines Rezidivs erneut transplantiert. Da die beiden allogenen Stammzelltransplantationen mit zwei verschiedenen Spendern durchgeführt worden sind, wurden sie in vorliegende Untersuchungen als zwei separate Stammzelltransplantationen eingeschlossen. Für die Untersuchung wurden die stationären und ambulanten Patientenakten der Klinik für Hämatologie und Onkologie sowie der entsprechenden Fachabteilungen der Universitätsklinik bei Verlegung der Patienten ausgewertet. Folgende Daten wurden erfasst:

1. Transplantationsdaten

(Geschlecht, Alter, zur SZT führende Diagnose der Patienten, HLA-Kompatibilität und Verwandtschaftsgrad von Spendern und Empfängern, CMV-Serostatus von Spendern und Empfängern, Konditionierungsregime und Prophylaxen)

2. Mikrobiologische Befunde

(mittels PCR gewonnene Virusnachweise)

3. Laborparameter

(Blutbild, C-reaktives Protein [CRP], Bilirubin, Alanin-Aminotransferase [ALT], Aspartat-Amino-Transferase [AST], Gamma-Glutamyl-Transferase [gGT], Alkalische Phosphatase [AP])

4. Klinische Manifestationen

(Effloreszenzen, Mukositis, Körpertemperatur, Enteritis/Colitis, Diarrhö, atypische Pneumonie, hämorrhagische Cystitis, HSV-Läsionen, Gastritis, Pneumonie, Hepatitis, Konjunktivitis, Enzephalitis, Retinitis, Myokarditis, akute GvHD mit Organmanifestationen)

5. Antivirale Therapie

6. Anderweitige Laborbefunde

7. Mikrobiologische Befunde

(Befunde bakterieller, mykotischer und parasitärer Infektionen)

8. Klinische Angaben

(Emesis, Stuhlmenge, Stuhlfrequenz, Stuhlkonsistenz, Dysurie, Schmerzen, Blutungen und andere Beschwerden)

9. Internistische und neurologische Untersuchungsbefunde

10. Zusätzliche Untersuchungsbefunde

(bildgebende Verfahren [Röntgen, Computertomographie, Magnetresonanztomographie], Elektrokardiographie (EKG), Lungenfunktionstest, Echokardiographie, Endoskopie, Histologie, Autopsie)

11. Arztbriefe, Eintragungen in den Kurvenblättern und den Ambulanzakten

Die analysierte Zeitspanne war für jeden Patienten das Zeitintervall von Konditionierungsbeginn bis Tag +100 nach SZT. Verstarb ein Patient vor Tag +100, so verkürzte sich das Intervall entsprechend. Die allogene SZT, die nachfolgende Behandlung sowie die ambulante Nachsorge erfolgten in der Klinik für Hämatologie und Onkologie der Universitätsklinik. Erforderlichenfalls erfolgte die Verlegung, z.B. zur intensivmedizinischen Behandlung, in eine andere Fachabteilung.

2.2 Patienten

2.2.1 Geschlecht, Alter und Diagnosen

Die untersuchte Patientenkohorte (n=58) bestand aus 40 (69,0 %) männlichen und 18 (31,0 %) weiblichen Patienten. Das mittlere Alter der Patienten zum Zeitpunkt der SZT war 46,4 Jahre (Minimum: 18 Jahre, Maximum: 65 Jahre). Als Indikationen für die entsprechenden 58 Stammzelltransplantationen lagen folgende Diagnosen vor:

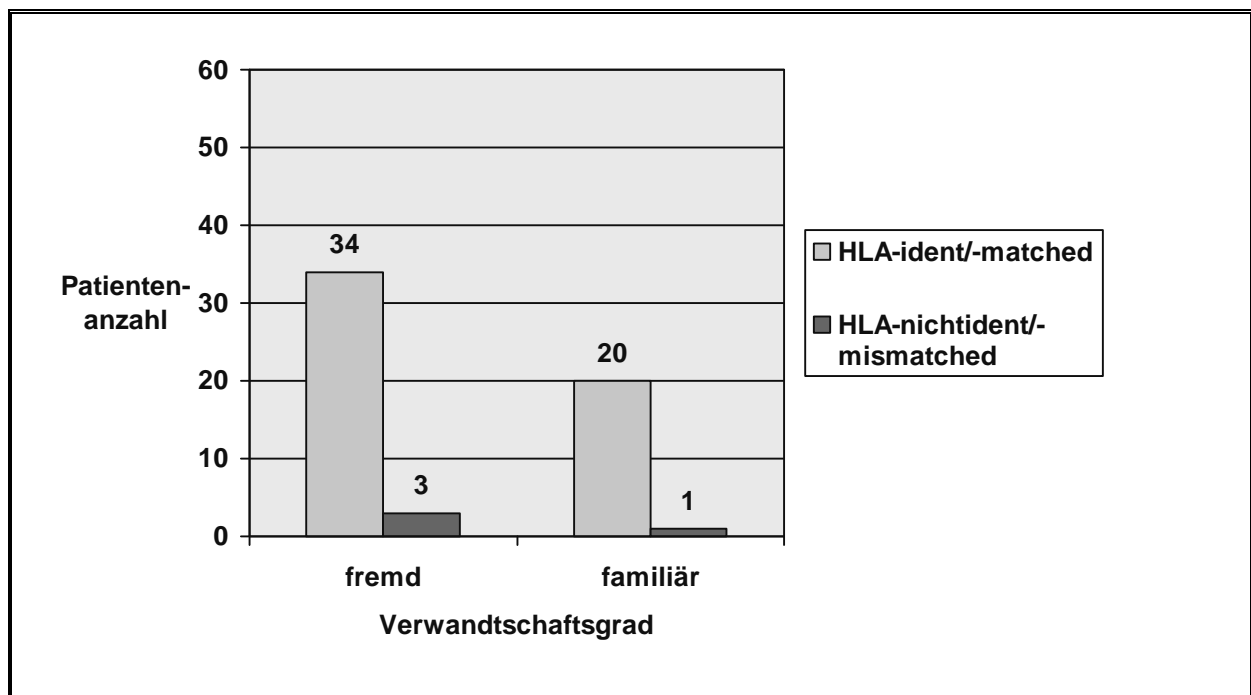
1. Non-Hodgkin-Lymphom (n=18)
 - Lymphome der B-Zell-Reihe (n=17)
 - a. indolente Lymphome (n=7)
 - b. aggressive Lymphome (n=10)
 - Lymphom der T-Zell-Reihe (n=1) (aggressives Lymphom)
2. Myeloproliferatives Syndrom (n=11)
3. Akute Myeloische Leukämie (n=10)
4. Myelodysplastisches Syndrom (n=10)
5. Akute Lymphatische Leukämie (n=6)
6. Morbus Hodgkin (n=1)
7. Hämophagozytose Syndrom (n=1)
8. Rhabdomyosarkom (n=1)

2.2.2 Verwandtschaftsgrad und HLA-Kompatibilität

In dem beobachteten Patientenkollektiv wurde bei 37 Patienten eine fremd-allogene und bei 21 Patienten eine familiär-allogene SZT durchgeführt. Vier der 58 Patienten erhielten eine HLA-*inkompatible* SZT, wobei als kompatibel eine molekularbiologische Übereinstimmung der HLA-A- und HLA-B-Allele (zweistellig) und der HLA-DRB1- und DQB1-Allele (vierstellig) angesehen wurden. Bei den 58 Patienten lagen insgesamt folgende Kombinationen aus Verwandtschaft und HLA-Kompatibilität vor (siehe Abbildung 3):

1. fremd-allogene, HLA-matched SZT (n=34)
2. fremd-allogene, HLA-mismatched SZT (n=3)
3. familiär-allogene, HLA-idente SZT (n=20)
4. familiär-allogene, HLA-nichtidente SZT (n=1)

Abbildung 3: Verwandtschaftliche Übereinstimmungsgrad von Spendern und Empfängern
Abkürzungen: fremd: fremd-allogene SZT, familiär: familiär-allogene SZT



2.2.3 Cytomegalievirus-Serosatus

In der untersuchten Patientenkohorte lag bei 38 Patienten vor SZT ein positiver und bei 20 Patienten ein negativer CMV-Serostatus vor. Von den entsprechenden 38 CMV-seropositiven Patienten erhielten 20 Patienten einen ebenfalls CMV-seropositiven Spender und 18 Patienten einen CMV-seronegativen Spender. In der CMV-seronegativen Patientengruppe (n=20) wurden elf Stammzelltransplantationen mit einem CMV-seronegativen und neun Stammzelltransplantationen mit einem CMV-seropositiven Spender durchgeführt (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: CMV-Serostatuskonstellationen von Spendern und Empfängern

Abkürzungen: CMV: Cytomegalievirus, SZT: Stammzelltransplantation, +: positiver CMV-Serostatus, -: negativer CMV-Serostatus

CMV-Serostatus des Patienten vor SZT	CMV-Serostatus des Spenders vor SZT	Patienten- Anzahl	
		absolut	Prozent
+	-	18	31,0 %
+	+	20	34,5 %
-	+	9	15,5 %
-	-	11	19,0 %

2.2.4 Konditionierung

Die der SZT vorausgehende Konditionierungstherapie wurde bei 20 Patienten als myeloablative (10, 102, 104, 132, 155, 159) und bei 38 Patienten als dosisreduzierte Konditionierung (31, 75, 101, 171, 183, 188) durchgeführt (siehe Tabelle 2). Die myoablative Konditionierungsschemata enthielten eine Busulfandosis von 14-16 mg/kg Körpergewicht. Bei den dosisreduzierten Konditionierungstherapien wurde Busulfan in einer Dosis von 8 mg/kg Körpergewicht verwendet.

Tabelle 2: Konditionierungsschemata bei den untersuchten Patienten (n=58)

Abkürzungen: ATG: Anti-Thymozyten-Globulin/Anti-Leukozyten-Globulin, TBI: Ganzkörperbestrahlung, Gy: Gray, *¹ Bei einem Patienten wurde aufgrund einer allergischen Reaktion nur die Hälfte des vorgesehenen ATG verabreicht

Konditionierungsart	Regime	Patienten-Anzahl
konventionelle Konditionierung (n=20)	Busulfan+Cyclophosphamid (+ATG)	10 (5)
	Busulfan+Cyclophosphamid+Etoposid	1
	Busulfan+Fludarabin+Thiotepa (+ATG)	1
	Busulfan+Fluarabin (+ATG)	4 (3)
	TBI (12 Gy)+Fludarabin (+ATG)	1
	TBI (12 Gy)+Cyclophosphamid	2
	TBI (12 Gy)	1
dosisreduzierte Konditionierung (n=38)	Treosulfan+Fludarabin (+ATG* ¹)	31 (21)
	Busulfan+Fludarabin	1
	Fludarabin+Cyclophosphamid	1
	Busulfan+Cyclophosphamid	1
	TBI (2 Gy)+Fludarabin (+ATG)	3 (2)
	TBI (2 Gy)+Fludarabin+Thiotepa+ATG	1

Eine Übersicht der beschriebenen Patientendaten zu allen 58 Patienten befindet sich im Anhang (siehe Tabelle 39 und 40).

2.2.5 Klinische Einteilung der akuten GvHD

Auf Grund des in dieser Studie auf +100 Tage nach SZT beschränkten Beobachtungsintervalls wurde definitionsgemäß nur die akute Form der GvHD berücksichtigt. Die Einteilung des Schweregrades der akuten GvHD erfolgt üblicherweise aufgrund der Intensität des Befalls von Haut, Leber und Gastrointestinaltrakt. Aus der Kombination der einzelnen Organstadien in Verbindung

mit dem klinischen Bild wird der Gesamtschweregrad der akuten GvHD nach Glucksberg (68) festgelegt (siehe Abbildung 4). Bei der Datenerhebung zeigte sich, dass nicht in alle Fällen bei Verdacht auf eine akute GvHD eine histologische Untersuchung durchgeführt wurde. Retrospektiv konnte daher ein Beitrag einer anderen Ursache zur Symptomatik nicht in allen Fällen vollständig ausgeschlossen werden. Wegen der hieraus resultierenden retrospektiv unzureichend exakten Abgrenzbarkeit der einzelnen GvHD-Stadien wurde, bei der statistischen Auswertung des Merkmals „Ausprägung der akuten GvHD“, auf ein niedrigeres Skalenniveau zurückgegriffen. Entsprechend wurde in den statistischen Berechnungen nicht die graduelle Ausprägung der akuten GvHD nach Glucksberg, sondern lediglich die Anzahl der von einer akuten GvHD betroffenen Organe verwendet.

Abbildung 4: Klinische Einteilung und Schweregrad der akuten GvHD

Abkürzungen: mg: Milligramm, dl: Deziliter, ml: Milliliter, µmol: Mikromol, l: Liter

Klinisches Stadium	Haut	Leber – Bilirubin, µmol/l (mg/dl)	Darm
1	Erythem <25% der Körperoberfläche	34-51 (2-3)	Diarrhö 500-1000 ml/dl
2	Erythem 25-50% der Körperoberfläche	51-103 (3-6)	Diarrhö 1000-1500 ml/dl
3	Generalisierte Erythrodermie	103-257 (6-15)	Diarrhö >1500 ml/dl
4	Desquamation und Bullae	>257 (>15)	Zusätzlich Ileus, Blutungen, Koliken
Klinischer Schweregrad	Hautstadium	Leberstadium	Darmstadium
I (leicht)	1-2	0	0
II (mäßig)	1-3	1	1
III (schwer)	2-3	2-3	2-3
IV (lebensbedrohlich)	2-4	2-4	2-4

2.2.6 Antivirale Prophylaxe

Alle Patienten erhielten eine antivirale Prophylaxe mit Aciclovir von Tag +1 bis Tag +30 nach allogener SZT. Unverträglichkeitsreaktionen oder der Beginn einer antiviralen Therapie mit Ganciclovir führten zu einer frühzeitigen Beendigung der Prophylaxe. Über den Tag +30 andauernde Mukositis oder ein positiver Nachweis von Herpes-simplex-Virus waren Gründe für eine über Tag +30 andauernde Gabe von Aciclovir. Als CMV-Expositionsprophylaxe wurden filtrierte Blutprodukte verwendet.

2.2.7 Antimikrobiologische Prophylaxe

Die antibiotische Prophylaxe mit Fluorchinolonen per os (p.o.) oder i.v. wurde bis zum Engraftment oder dem Auftreten von neutropenischem Fieber und entsprechender Initiierung einer antibiotischen Therapie durchgeführt. Als Pneumocystis jiroveci-Infektionsprophylaxe wurde Pentamidin-Inhalation (n=55) oder Sulfmethoxazol/Trimethoprim p.o. oder i.v. (n=3) angewandt (113, 198). Die antimykotische Prophylaxe erfolgte mit Fluconazol oder Itraconazol p.o. oder i.v. (199). Alle Patientenzimmer waren Einzelzimmer mit separater Nasszelle und High-Efficiency-Particulate-Air (HEPA)-Filtern (107).

2.2.8 GvHD-Prophylaxe

Alle Patienten erhielten zur GvHD-Prophylaxe Cyclosporin A (CSA). Die Cyclosporin A-Gabe wurde bei neun Patienten als Monotherapie durchgeführt. In 49 Fällen wurde eine der folgenden Kombinationen zur GvHD-Prophylaxe gegeben:

1. Cyclosporin A / Methotrexat / Anti-Thymozyten-Globulin (n=25)
2. Cyclosporin A / Methotrexat (n=10)
3. Cyclosporin A / Anti-Thymozyten-Globulin (n=8)
4. Cyclosporin A / Mycophenolat mofetil (n=3)
5. Cyclosporin A / Mycophenolat mofetil / Prednisolon (n=2)
6. Cyclosporin A / Mycophenolat mofetil / Methotrexat / Anti-Thymozyten-Globulin (n=1)

Alle Patienten erhielten ab Tag -3 oder -2 vor SZT eine Tagesdosis von 3 mg/kg Körpergewicht Cyclosporin A. Je nach Protokoll wurde die CSA-Prophylaxe zwischen Tag +100 und +180 ausschleichend beendet. Von den 37 fremd-allogen transplantierten Patienten erhielten 30 Patienten zusätzlich zu CSA ein Anti-Thymozyten-Globulin (ATG). Konditionierungsprotokolle von familiären Stammzellempfängern (n=21) enthielten in vier Fällen ATG. Additiv zu CSA erhielten 36 Patienten im Rahmen der GvHD-Prophylaxe drei Methotrexatinjektionen (sogenannte „short-course-MTX“), 15 mg/m² an Tag +1 und ≤10 mg/m² an Tag +3 und +6. Eine Dosisreduktion von CSA und MTX erfolgte bei renaler Dysfunktion oder ausgeprägter Hepato- oder Neurotoxizität. Nach definierten dosisreduzierten

Konditionierungsprotokollen erhielten die Patienten zusätzlich Mycophenolat mofetil (MMF), welches nach familiärer SZT in einer Tagesdosis von 30mg/kg Körpergewicht bis Tag +28 gegeben wurde. Nach unverwandter SZT erhielten die Patienten bis Tag +40 eine Dosis von 2x15mg/kg bis 3x1g MMF täglich. Hiernach erfolgte jede zweite Woche eine Dosisreduktion um 500 mg bis das Medikament am Tag +83 nach SZT abgesetzt wurde.

2.2.9 Antivirale Therapie

Bei allen Patienten wurde nach der Strategie der Präemptiven Therapie verfahren. Entsprechend wurde bei zwei aufeinander folgenden positiven Nachweisen von CMV mittels PCR eine Therapie mit Ganciclovir und Valganciclovir eingeleitet. Bei Unverträglichkeitsreaktion oder Therapieversagen unter Ganciclovir wurde in drei Fällen Foscarnet appliziert. Ein Patient wurde aufgrund von Therapieversagen mit Cidofovir therapiert (49, 107). HSV-Reaktivierungen wurden p.o. oder i.v. und fakultativ lokal mit Aciclovir behandelt (49). Aufgrund eines Versagens der Primärtherapie erfolgte bei einem Patienten die weitere Therapie mit Brivudin (44).

2.2.10 Antibiotische und antimykotische Therapie

Eine antibiotische und/oder antimykotische Behandlung wurde unter Berücksichtigung des klinischen Verlaufs, des jeweiligen Stadiums der Immunrestitution sowie des zu erwartenden Erregerspektrums nach den Empfehlungen der DGHO, Arbeitsgemeinschaft für Infektiologie, durchgeführt (49). Dementsprechend wurde bei neutropenen Patienten nach einmaligem Fieber über 38,3 °C (oder 38 °C über eine Stunde bzw. zweimalig innerhalb von 24 Stunden) oder klinischen und/oder radiologischen Hinweisen auf eine Infektion innerhalb von zwei Stunden nach erfolgter Initialdiagnostik mit einer antibiotischen Breitbandtherapie begonnen. Zumeist wurde mit einer β -Lactam-Monotherapie z.B. mit Ceftazidim angefangen. Bei Verdacht auf eine gram-positive Infektion oder bei Vorliegen eines hohen Risikos für eine solche (Mukositis oder liegender zentraler Venenkatheter) wurde zusätzlich mit Vancomycin therapiert. Bei Vorliegen eines Lungeninfiltrates oder Verdacht auf eine mykotische Infektion wurde zusätzlich ein Antimykotikum, überwiegend Amphotericin B oder liposomales Amphotericin B,

appliziert. Alternative Antimykotika waren Fluconazol oder Voriconazol. Nach Erregernachweis wurde eine dem Antibiogramm entsprechende Therapieeskalation vorgenommen. Eine Therapiemodifikation erfolgte außerdem bei erfolgloser Initialtherapie nach spätestens 48-72 Stunden. Die antibiotische Therapie wurde frühestens nach Erfüllung folgender Kriterien beendet: Fieberfreiheit über mindestens 48 Stunden, negative mikrobiologische Befunde, unauffällige bildgebende Diagnostik und Neutrophilenzahl über 1000/ μ l.

2.2.11 Therapie der akuten GvHD

Alle Patienten mit einer akuten GvHD im Stadium II nach Glucksberg (67) wurden nach mit einer Initialdosis von 1-2 mg pro kg Körpergewicht/Tag Prednisolon oder Methylprednisolon therapiert. Patienten mit akuter GvHD in den Stadien III-IV erhielten eine höhere Initialdosis. Eine individuelle symptomatische Therapie erfolgte bei Bedarf.

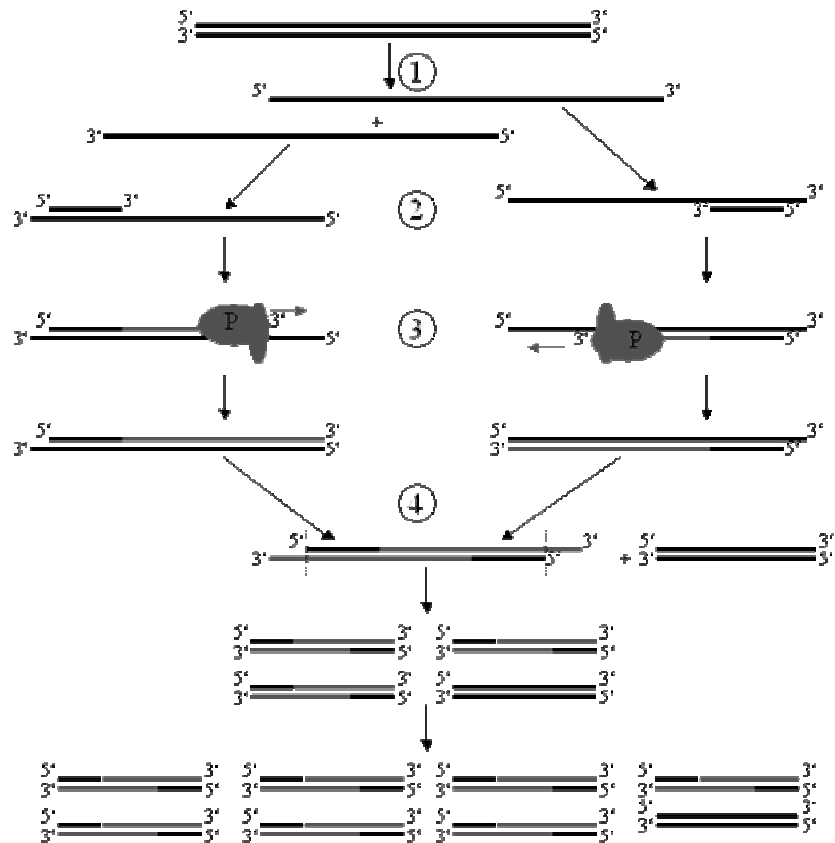
2.3 Methoden

2.3.1 Allgemeines Prinzip der PCR

Das Grundprinzip der Polymerase-Ketten-Reaktion ist in Abbildung 5 dargestellt. Im ersten Schritt wird ein doppelsträngiges DNA-Molekül durch Hitzeeinwirkung denaturiert. Hiernach erfolgt die Anlagerung eines synthetischen Oligonukleotids (Primer) als Startmoleküle für die DNA-Synthese (Primerhybridisierung). Die Primer definieren hierbei den zu kopierenden Sequenzabschnitt. Im Folgenden dienen die Einzelstränge als Matrize für die enzymatisch katalysierte Polymerisation von Desoxyribonukleotiden, wodurch wieder doppelsträngige DNA-Moleküle entstehen. Nach jedem so durchlaufendem PCR-Zyklus erfolgt im Idealfall eine Verdopplung der DNA-Zielsequenz. Da die Syntheseprodukte ihrerseits als Matrizen für nachfolgende Polymerisationen dienen, kommt es zu einer exponentiellen Vermehrung der Syntheseprodukte (90, 160).

Abbildung 5: Schema der Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

1. Denaturierung der Doppelstrang-DNA
2. Primerhybridisierung
3. Neusynthese mittels Polymerase (P)
4. Ende des 1. Zyklus und Verdopplung der DNA-Zielsequenz

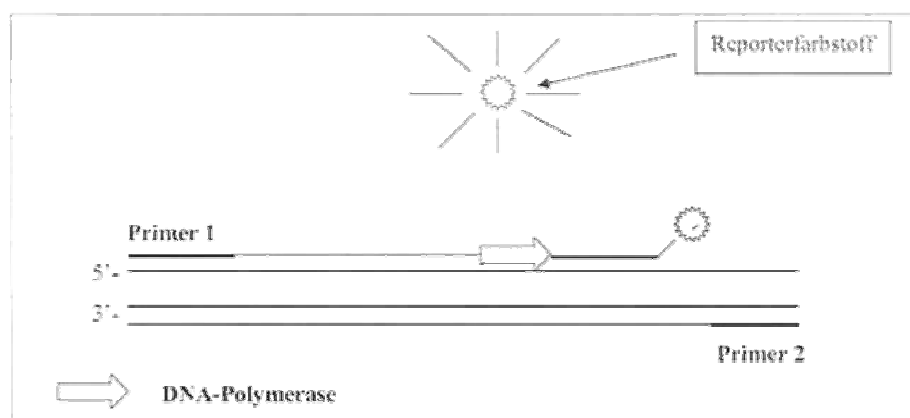


2.3.2 Allgemeines Prinzip der Real-time PCR

Der Methode der Real-time PCR liegt das beschriebene Prinzip der herkömmlichen PCR zur Vervielfältigung von Nukleinsäuren zugrunde. Bei der Real-time PCR ist eine Quantifizierung mit Hilfe von Fluoreszenzmessungen während der einzelnen Zyklen möglich. Hierzu werden aus Oligonukleotiden bestehende Sonden, z.B. TaqMan[®]-Sonden, die an ihrem 5'-Ende ein Donator-Fluorochrom (Reporterfarbstoff) und an ihrem 3'-Ende ein Akzeptor-Fluorochrom (Quencher) besitzen und auf der Zielsequenz hybridisieren, verwendet. Nach Anregung mittels kurzweiligen Lichts gibt das Donator-Fluorochrom seine Emissionsenergie an das Akzeptor-Fluorochrom ab, sofern es sich in ausreichender Nähe befindet (Resonance energy transfer).

Während des ablaufenden PCR-Zyklus und somit der Verlängerung des Primers trifft die *Taq* DNA-Polymerase auf die Sonde, die dann durch die Exonuclease (Polymerase) hydrolysiert wird. Durch die Hydrolyse der Sonde wird der Reporter räumlich vom Quencher getrennt (siehe Abbildung 6). Die nun nach Anregung entstehende Fluoreszenz kann mittels Fluoreszenz-Spektrophotometer gemessen werden. Da die Fluoreszenzintensität proportional zur Menge des PCR-Syntheseprodukts ist kann die ursprüngliche DNA-Kopienanzahl berechnet werden (66, 79, 80, 93, 138).

Abbildung 6: Hydrolyse der Sonde und Freisetzung des Reporterfarbstoffes



2.3.3 Anwendung der Real-time PCR

Die mikrobiologischen Untersuchungen wurden im Institut für Medizinische Mikrobiologie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität in der Abteilung sowie im Molekularbiologischen Labor der Klinik für Hämatologie und Onkologie und dem Institut für Medizinische Diagnostik Greifswald durchgeführt.

Es wurden Aliquots von Material entweder sofort analysiert oder bei -50 °C bis zur Analyse aufbewahrt. Die DNA Extraktion aus klinischem Material erfolgte mittels QIAamp[®]DNA Blood Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland) entsprechend der Ausführungen des Herstellers. Für die Anwendung der Real-time PCR bei RNA-Viren (z.B. Enterovirus) erfolgte primär eine Umschreibung in DNA.

Primer und Probe für ADV wurden unter Nutzung der Primer Express version 1.0 Software (Applied Biosystems) vom Hexon-Gen abgeleitet. Bei dem

Cytomegalievirus wurden die Primer aus dem UL97-Gen abgeleitet (126). Das Nukleotidalignment des Primer/Probe-Design, die interne Kontroll-DNA sowie ihre Konzentrationen sind für Adenoviren in Tabelle 3 und für Cytomegalieviren in Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 3: Oligonukleotide und Konzentrationen für Adenovirus

Primer/ Probe	Sequenz	Menge
AD1	5`-CCGCAGTGGTCTTACATCA	25 pmol
AD2	5`-AAACTTGTTATTCAGGCTGAAGTACGT-	25 pmol
AD3	5`-6-FAM-TGCACCAGCCCGGGGCTCAGGTACTCCGA-TAMRA 3`	15 pmol

Tabelle 4: Oligonukleotide und Konzentrationen für Cytomegalievirus

Primer/ Probe	Sequenz	Menge
CMV1	5`-GCGTGCTTTTTAGCCTCTGCA	15 pmol
CMV2	5`-AAAAGTTTGTGCCCAACGGTA	15 pmol
CMV3	5`-6-FAM-CTATCGGCGTTATCGCGTTCTTGATCXT-PH	10 pmol

Die Synthese erfolgte durch TIB MolBiol (Berlin). Das Cyclyer-Profil war 2 Minuten 50 °C, 10 Minuten 95 °C gefolgt von 50 Zyklen 15 Sekunden bei 95 °C und 1 Minute bei 60 °C unter Nutzung des TaqMan® Universal Master Mix. Die Real-time PCR wurde durchgeführt auf einem der folgenden Cyclyer: iCyclyer (BioRad) oder MX3000P (Stratagene).

2.3.4 Virologie

Es wurden alle vorliegenden, mittels PCR gewonnenen Testresultate der ersten 100 Tage nach SZT erfasst. Auf Virus-DNA oder -RNA getestet wurden Blut, Stuhl, Urin, Knochenmark (KM), Liquor (Liq.), Gastrointestinalsekret (GITS), Rachenspülwasser (RSW), Rachenabstrich (RAS), Erbrochenes (EB), Sputum, Abstriche sowie aus Bronchoalveolären Lavage (BAL) und Biopsien gewonnenes Material.

Cytomegalievirus (CMV)

Alle in den Jahren 1999-2000 transplantierten Patienten erhielten nach SZT mindestens einmal pro Woche ein Routine-Monitoring auf CMV. In den folgenden Jahren wurde dieses Monitoring in der Regel mindestens zweimal pro Woche durchgeführt. Die Routineanalysen wurden mittels PCR aus peripheren Blutproben durchgeführt. Bei klinischer Indikation erfolgten Testungen auf CMV-DNA in weiteren Materialien und/oder quantitative Bestimmung der DNA-Kopienanzahl mit Hilfe von quantitativer PCR. Insgesamt wurden 1440 Proben auf CMV getestet, wobei 985 (68,4%) der Proben aus peripherem Blut und 455 (31,6%) der Proben aus anderen Materialien stammten (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5: Übersicht der durchgeführten PCR-Testungen auf CMV

Abkürzungen: CMV: Cytomegalievirus, BAL: Bronchoalveoläre Lavage, GITS: Gastrointestinalesekret, RSW: Rachenspülwasser, RAS: Rachenabstrich

Probenmaterial (CMV)				
	Probenanzahl			Probenanzahl
Blut	985 (68,4%)		BAL	8 (0,6%)
Stuhl	18 (1,3%)		GITS	4 (0,3%)
Urin	329 (22,9%)		RSW	16 (1,1%)
Knochenmark	38 (2,6%)		RAS	2 (0,1%)
Liquor	10 (0,7%)		Biopsie	4 (0,3%)
Sputum	5 (0,3%)		Erbrochenes	15 (1,0%)
Abstrich	6 (0,4%)			
Gesamtprobenanzahl: 1440				

24 Patienten, die in den Jahren 1999-2002 transplantiert worden sind, wurden zusätzlich an den Tagen des CMV-Monitorings mittels PCR auf CMV-DNA im Urin getestet, wovon 15 Patienten in die statistische Auswertung des Urin-Monitorings einbezogen werden konnten.

Adenovirus (ADV)

Innerhalb des Beobachtungsintervalls wurde bei klinischer Indikation z.B. bei hämorrhagischer Cystitis entsprechendes Patientenmaterial, z.B. Urin, auf ADV-DNA analysiert. Ein routinemäßig organisiertes Monitoring auf ADV im peripherem Blut sowie eine quantitative Bestimmung der ADV-DNA wurden nicht durchgeführt. Zusätzlich zu der beschriebenen, akuten ADV-Diagnostik wurden für vorliegende Arbeit kryokonservierte Blutproben mittels PCR auf ADV getestet. Soweit möglich wurden von jedem Patienten Blutproben aus einem Abstand von 14 Tagen nachträglich analysiert. Insgesamt wurden Proben von 39 der 58 Patienten auf diese Weise nachuntersucht. Die Zahl der nachträglich getesteten Patienten (n=39) wurde ausschließlich durch das Vorhandensein von konservierten Blutproben bestimmt. Insgesamt ergab sich eine Anzahl von 471 auf ADV getesteten Proben. Von diesen Proben wurden 368 (78,1%) aus peripherem Blut und 103 (21,9%) aus anderen Materialien gewonnen (siehe Tabelle 6).

Tabelle 6: Übersicht der durchgeführten PCR-Testungen auf ADV

Abkürzungen: BAL: Bronchoalveoläre Lavage, GITS: Gastrointestalsekret, RSW: Rachenspülwasser, RAS: Rachenabstrich, Biopsie: 2x aus Gastrointestinaltrakt

Probenmaterial (ADV)				
	Proben- anzahl			Proben- anzahl
Blut	368 (78,1%)		BAL	10 (2,1%)
Stuhl	19 (4,0%)		GITS	1 (0,2%)
Urin	19 (4,0%)		RSW	7 (1,5%)
Knochenmark	33 (7,0%)		RAS	3 (0,6%)
Liquor	6 (1,3%)		Biopsie	2 (0,4%)
Sputum	2 (0,4%)		Abstrich	1 (0,2%)
Gesamtprobenanzahl: 471				

Weitere Virusarten

Im Verlauf der ersten 100 Tage nach SZT wurde Patientenmaterial bei klinischer Indikation oder im Rahmen einer Ausschlussdiagnostik auf DNA bzw. RNA weiterer Virusarten untersucht. Testergebnisse lagen für ENV, HSV, PVB19, JCV, EBV, HHV6, VZV, IV und RSV vor (siehe Tabelle 7). Quantifizierungen der Virusnukleinsäuren wurden bei genannten Virusspezies nicht durchgeführt.

Tabelle 7: Übersicht der durchgeführten PCR-Testungen bei anderen Viren

Abkürzungen: ENV: Enterovirus, HSV: Herpes-simplex-Virus, PVB19: Parvovirus B19, JCV: JC-Virus, EBV: Epstein-Barr-Virus, VZV: Varizella-zoster-Virus, HHV: humanes Herpesvirus 6, RSV: Respiratory-syncytial-Virus, IV: Influenzavirus, BAL: Bronchoalveoläre Lavage, GITS: Gastrointestinalesekret, RSW: Rachenspülwasser, Biopsie: aus dem Gastrointestinaltrakt

* Abstriche: HSV-verdächtigen Läsionen im Oropharyngealtrakt (n=6), Auge (n=1), Haut (n=1)

Probenmaterial (andere Viren)									
	ENV	HSV	PVB19	JCV	EBV	VZV	HHV	RSV	IV
Blut	62 37,8%	42 28,2%	23 51,1%	2	5 25,0%	24 49,0%	29 66,0%	2	3
Stuhl	28 17,1%	1 0,7%	1 2,2%	0	2 10%	0 0,0%	0 0,0%	0	0
Urin	15 9,2%	2 1,3%	0 0,0%	6	1 5,0%	0 0,0%	1 2,3%	0	0
Knochenmark	31 18,9%	11 7,4%	18 40,0%	2	5 25,0%	9 18,4%	18 41,0%	0	0
BAL	4 2,4%	8 5,4%	1 2,2%	0	1 5,0%	3 6,1%	2 4,5%	7	3
GITS	1 0,6%	1 0,7%	0 0,0%	0	1 5,0%	0 0,0%	0 0,0%	0	0
RSW	9 5,5%	60 40,3%	0 0,0%	0	2 10,0%	4 8,2%	1 2,3%	1	0
Rachenabstrich	2 1,2%	7 4,7%	1 2,2%	0	1 5,0%	1 2,0%	1 2,3%	0	0
Liquor	6 3,7%	9 5,5%	0 0,0%	0	2 10,0%	5 10,2	2 4,5%	0	0
Sputum	1 0,6%	1 0,7%	1 2,2	0	0 0,0%	1 2,0%	0 0,0%	0	0
Abstrich*	0 0,0%	6 4,0%	0 0,0%	0	0 0,0%	2 4,1%	0 0,0%	0	0
Biopsie	2 1,2%	1 0,7%	0 0,0%	1	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0	0
Erbrochenes	3 1,8%	0 0,0%	0 0,0%	0	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0	0
Gesamtprobenanzahl	164	149	45	11	20	49	44	10	6

2.3.5 Laborchemische Parameter und Körpertemperatur

Neben dem C-reaktiven Protein (CRP) als Entzündungsparameter wurden an den Tagen, an denen eine Probe zur Virusdiagnostik entnommen worden ist, Bilirubinwerte, ALT-, AST-, gGT-, AP-Werte, Leukozytenzahl und Thrombozytenzahl erfasst. Weiterhin wurde die Körpertemperatur aus den Fieberkurven der Patientenakten erhoben. Bei Patienten in ambulanter Betreuung wurden stattdessen die anamnestischen Angaben der Patienten verwendet. Bei Mehrfachbestimmung desselben Parameters an einem Tag wurde der höhere numerische Wert für die Datenanalyse verwendet. Die laborchemische Diagnostik erfolgte im Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der Ernst-Moritz-Arndt-Universität, sowie in dem Institut für Medizinische Diagnostik Greifswald.

2.3.6 Klinische Diagnosen

Bei den untersuchten Patienten (n=58) wurde auf der Grundlage ärztlicher Dokumentation in den Kurven und den stationären sowie den ambulanten Patientenakten festgestellt, ob und welche klinische Symptomatik an den Tagen der Probenentnahme vorlagen. Erfasst wurden klinisch relevante Entzündungen wie Enzephalitis, Konjunktivitis, Retinitis, Mukositis, Pneumonie, atypische Pneumonie, Gastritis, Enteritis/Colitis, Myokarditis, Hepatitis und hämorrhagische Cystitis. Weiterhin wurde das Auftreten von HSV-Läsionen, Diarrhöe, Varizella-zoster-Virus-Läsionen, akuter GvHD und Exanthenen aufgenommen. Die Diagnosen wurden jeweils zum Zeitpunkt des Auftretens von den behandelnden Ärzten der Transplantationsstation gestellt. Klinische Untersuchung, bildgebende Verfahren, Endoskopie, EKG und histologische Untersuchungen dienten der Diagnosefindung. Bei den nachträglich auf ADV getesteten Patienten (n=39) wurden die anamnestischen und ärztlichen Angaben der Kurvenblätter, Pflegeprotokolle und Eintragungen der Ambulanz retrospektiv auf das Vorliegen einer entsprechenden Infektionssymptomatik beurteilt.

Entsprechend der von Ljungman publizierten CMV-Infektions-Definition wurde der Nachweis von CMV-DNA in Körperflüssigkeit oder Gewebe als CMV-Infektion angesehen (119). In Anlehnung an diese Publikation und unter Berücksichtigung gängiger Definitionen anderer Untersuchungen (29, 33, 35) wurde der Nachweis von

ADV und weiterer Virusspezies in Körperflüssigkeit oder Gewebe als Infektion definiert. Der Zusammenhang zwischen klinischer Symptomatik und deren viraler Genese wurde von den behandelten Ärzten beurteilt und als *kein*, *möglich*, *sehr wahrscheinlich* oder *sicher* klassifiziert. Im Falle einer Bewertung *kein* bestand kein Anhalt für eine Assoziation der Symptomatik mit einer viralen Infektion. In den entsprechenden Fällen wurde entweder eine andere Ursache der Symptomatik nachgewiesen oder es lag kein positiver Virusnachweis vor. Bei der Klassifizierung einer Manifestation als *möglich* viral bedingt, lag ein positiver Virusnachweis bei gleichzeitig bestehender Symptomatik vor, welche prinzipiell durch diesen Virus bedingt sein könnte. Differenzialdiagnostisch in Frage kommende Ursachen der Symptomatik wurden jedoch als wahrscheinlicher erachtet. Die Klassifikation als *sehr wahrscheinlich* erfolgte, wenn das Virus aus Material des entsprechenden Organsystems nachgewiesen werden konnte und keine andere Ursache der Symptomatik als wahrscheinlicher erachtet wurde. Als *sicher* wurde ein Virus als Verursacher einer Manifestation eingeordnet, wenn die klinische Diagnose eindeutig war und das Virus in dem entsprechenden Organ bioptisch oder autoptisch nachgewiesen werden konnte. Die beschriebenen Klassifizierungskriterien sind in Abbildung 7 dargestellt.

Abbildung 7: Klassifizierung der klinischen Symptomatik in Bezug auf ihre virale Genese

Abkürzungen: PCR: Polymerase-Ketten-Reaktion

Klassifizierung			
kein	möglich	sehr wahrscheinlich	sicher
Kein PCR-Virusnachweis <i>oder</i> positiver PCR-Virusnachweis bei fehlender Symptomatik <i>oder</i> gesicherte andere Ursache der Symptomatik	PCR-Virusnachweis <i>und</i> zeitgleiche Symptomatik, die prinzipiell durch dieses Virus verursacht sein könnte, andere Symptomursachen aber wahrscheinlicher waren	PCR-Virusnachweis aus Material des entsprechenden Organsystems <i>und</i> Symptomatik die am wahrscheinlichsten durch das nachgewiesene Virus hervorgerufen wurde	Bioptischer oder autoptischer Virusnachweis in dem entsprechenden Organsystem <i>und</i> eindeutige klinische Diagnose

2.3.7 Statistik

Die Erfassung der erhobenen Daten erfolgte in tabellarischer Form, mit Hilfe des PC-Programms Microsoft Excel[®] aus dem Softwarepaket Microsoft Office XP Professional 2003. Zur Auswertung wurde das Statistikprogramm SAS9.1 verwendet. Die statistische Bearbeitung wurde unter Beratung des Institutes für Medizinische Biometrie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität durchgeführt. Mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests und des Exakten-Tests nach Fisher wurde die Existenz eines Zusammenhanges zwischen qualitativen Merkmalen geprüft. Zum Vergleich von unverbundenen Stichproben wurde der nicht-parametrische U-Test von Mann und Whitney verwendet. Verbundene Stichproben wurden mittels Rangsummentests nach Wilcoxon verglichen. Als statistisch signifikant im Sinne einer explorativen Datenanalyse mit orientierendem Testen wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von <5% angesehen (2).

3 Ergebnisse

3.1 Übersicht: Virusnachweise bei den Patienten

1. Cytomegalievirus (CMV)

Es wurden 1140 Proben von 58 Patienten auf CMV getestet. Bei 39 (67,2%) Patienten konnte CMV-DNA nachgewiesen werden. Hiervon lag bei 37 (94,9%) Patienten ein positives Testresultat aus peripherem Blut, bei neun (23,1%) Patienten aus Urin und bei fünf (12,8%) Patienten aus Knochenmark vor. Je bei einem (2,6%) Patienten konnte CMV in einer BAL bzw. in einem Abstrich der Wangenschleimhaut nachgewiesen werden. Insgesamt lag bei 167 (11,6%) von den 1440 getesteten Proben ein positives und bei 1273 (88,4%) Proben ein negatives Testergebnis für CMV vor.

2. Adenovirus (ADV)

Insgesamt wurden 471 Proben von 55 (94,8%) der 58 Patienten auf ADV getestet. Bei 40 (72,7%) Patienten wurde ADV-DNA nachgewiesen. Der Nachweis gelang bei allen Patienten aus peripherem Blut. Zusätzlich konnte ADV bei drei (7,5%) Patienten im Urin, bei sechs (15,0%) Patienten im Knochenmark und bei zwei (5,0%) Patienten im Stuhl festgestellt werden. Je in einem Fall (2,5%) konnte ADV im Liquor, Gastrointestalsekret, Rachenspülwasser und BAL-Material nachgewiesen werden. Von der Gesamtzahl getesteter Proben (n=471) waren insgesamt 91 (19,3 %) positiv und 380 (80,3%) negativ.

3. Enterovirus (ENV)

Es wurden 164 Proben von 30 (51,7%) Patienten auf ENV untersucht. Bei elf (36,7%) Patienten konnte ENV-RNA nachgewiesen werden. Positive Testresultate lagen bei sieben Patienten aus Blut, bei zwei Patienten aus Knochenmark und bei drei Patienten aus Stuhl vor. Bei drei Patienten wurde ENV im Rachenspülwasser und bei je einem Patienten im Urin bzw. Erbrochenem nachgewiesen. Insgesamt lagen 22 (13,4%) positive und 142 (86,6%) negative Proben für ENV vor.

4. Herpes-simplex-Virus (HSV)

Bei insgesamt 149 auf HSV getestete Proben von 43 (74,1%) Patienten konnte bei 13 (30,2%) Patienten HSV-DNA im untersuchten Material festgestellt werden. HSV wurde bei zwölf (92,3%) von 13 Patienten aus Rachenspülwasser, bei drei (23,1%) von 13 Patienten aus Abstrichen des Oropharyngealtraktes und bei je einem (7,7%) der 13 Patienten aus Blut bzw. Stuhl nachgewiesen. Je ein (7,7%) Patient war in Gastrointestinalesekret bzw. in Material einer BAL HSV-positiv. Zusammen waren von den 149 getesteten Proben 29 (19,5%) positiv und 120 (80,5%) negativ.

5. Parvovirus B19 (PVB19)

Insgesamt wurden 45 Proben von 20 (34,5%) Patienten auf PVB19-DNA getestet. Bei drei (15,0%) Patienten wurde PVB19 im Knochenmark nachgewiesen. Ein Patient war zusätzlich im Blut PVB19-positiv. Die Gesamtanzahl PVB19-positiver Proben betrug 4 (8,9%), bei 41 (91,1%) negativen Proben.

6. JC-Virus (JCV)

Es wurden elf Proben von sieben (12,1%) Patienten auf JCV-DNA analysiert. Bei drei (42,9%) Patienten lagen positive Testresultate für JCV aus Urinproben vor. Insgesamt waren vier der elf getesteten Proben positiv und sieben (63,6%) Proben negativ für JCV.

7. Epstein-Barr-Virus (EBV)

Insgesamt wurden 20 Proben von 13 (22,4%) der 58 Patienten auf EBV-DNA getestet. Bei einem (7,7%) Patienten wurde EBV nachgewiesen, wobei Blut, Knochenmark, Rachenspülwasser, Gastrointestinalesekret und Material aus einer BAL positiv für EBV waren. Die Gesamtanzahl positiver Proben betrug sieben (35,0%) und die der negativen Proben 13 (65,0%).

8. Varizella-zoster-Virus (VZV)

Bei 49 auf VZV durchgeführten Testung von 23 (39,7%) Patienten wurde bei einem der Patienten (4,3%) VZV-DNA in einem Augenabstrich nachgewiesen. Von den 49 getesteten Proben waren 48 (98,0%) negativ.

9. Humanes Herpesvirus 6 (HHV)

Es wurden 44 Proben von 21 (36,2%) Patienten auf HHV-DNA getestet. Bei keinem der Patienten wurde HHV-DNA in dem analysierten Material festgestellt, so dass sich eine Anzahl von 44 (100%) negativen Proben ergab.

10. Respiratory-syncytial-Virus (RSV)

Insgesamt zehn Proben von sechs (10,3%) Patienten wurden auf RSV-RNA getestet. Aus Material einer BAL eines Patienten konnte das Virus detektiert werden. In neun (90,0%) der analysierten Proben wurde RSV nicht nachgewiesen.

11. Influenzavirus (IV)

Von sechs auf IV getesteten Proben von fünf (8,6%) Patienten wurde in keiner der Proben Influenzavirus-RNA nachgewiesen. Entsprechend lagen sechs (100%) Proben mit negativem Testresultat vor.

In Abbildung 8 ist der prozentuale Anteil getesteter und positiver Patienten bezogen auf die gesamte Patientenkohorte (n=58) dargestellt. Die nachfolgenden Tabellen (Tabelle 8 und 9) zeigen die oben beschriebenen Resultate der PCR-Analysen.

Abbildung 8: Prozentualer Anteil getesteter und Virus-positiver Patienten

Abkürzungen: CMV: Cytomegalievirus, ADV: Adenovirus, ENV: Enterovirus, HSV: Herpes-simplex-Virus, PVB19: Parvovirus B19, JCV: JC-Virus, EBV: Epstein-Barr-Virus, VZV: Varizella-zoster-Virus, HHV: humanes Herpesvirus 6, RSV: Respiratory-syncytial-Virus, IV: Influenzavirus

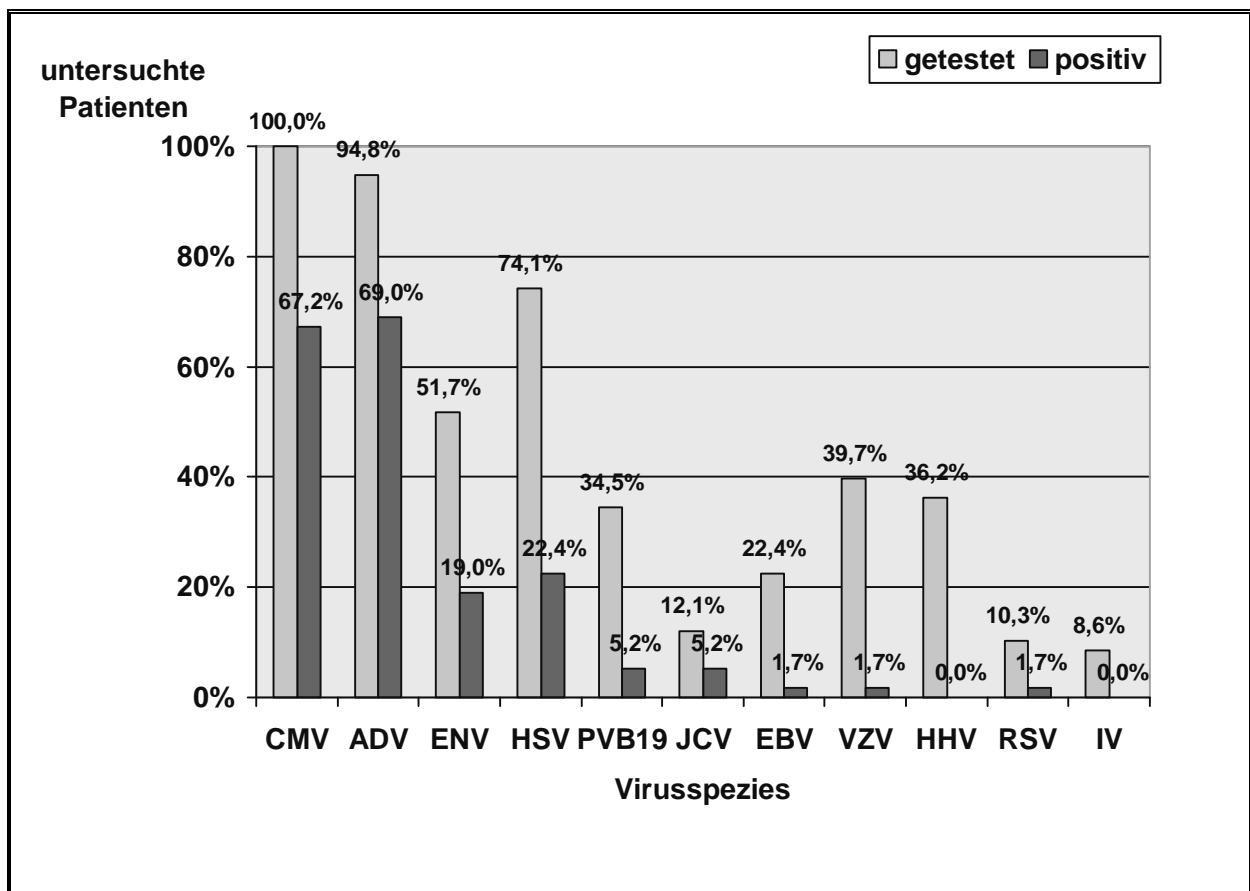


Tabelle 8: Ergebnisse der PCR-Testungen bei den 58 Patienten

Abkürzungen: CMV: Cytomegalievirus, ADV: Adenovirus, ENV: Enterovirus, HSV: Herpes-simplex-Virus, PVB19: Parvovirus B19, JCV: JC-Virus, EBV: Epstein-Barr-Virus, VZV: Varizella-zoster-Virus, HHV: humanes Herpesvirus 6, RSV: Respiratory-syncytial-Virus, IV: Influenzavirus, KM: Knochenmark, Liq.: Liquor, RSW: Rachen-spülwasser, BAL: Bronchoalveoläre Lavage, GITS: Gastrointestinalessekret, EB: Erbrochenes

* Prozentangabe bezieht sich auf die Anzahl der getesteten Patienten

Virus	Anzahl getesteter Patienten	Anzahl der Patienten mit positivem Virusnachweis	Material, in dem das Virus nachgewiesen werden konnte (Anzahl der Patienten)
	Absolut (%)	Absolut (%*)	
CMV	58(100,0%)	39 (67,2%)	Blut(37), Urin(9), KM(5), BAL(1), Abstrich(1)
ADV	55 (94,8%)	40 (72,7%)	Blut(40), Urin(3), KM(6), Stuhl(2), Liq (1), RSW (1), BAL (1), GITS (1)
ENV	30 (51,7%)	11 (36,7%)	Blut(7), KM(2), RSW(3),Stuhl(3), EB(1), Urin(1)
HSV	43 (74,1%)	13 (30,2%)	Abstrich(3), Blut(1), RSW(12), Stuhl(1), BAL(1), GITS(1)
PB19	20 (34,5%)	3 (15,0%)	KM(3), Blut(1)
JCV	7 (12,1%)	3 (42,9%)	Urin(3)
EBV	13 (22,4%)	1 (7,7%)	Blut(1), KM(1), RSW(1), BAL(1), GITS(1)
VZV	23 (39,7%)	1 (4,4%)	Augenabstrich(1)
HHV	21 (36,2%)	0 (0,0%)	-
RSV	6 (10,3%)	1 (16,7%)	BAL(1)
IV	5 (8,6%)	0 (0,0%)	-

Tabelle 9: Übersicht über die getesteten Probenmaterialien und ihre Resultate

Abkürzungen: CMV: Cytomegalievirus, ADV: Adenovirus, ENV: Enterovirus, HSV: Herpes-simplex-Virus, PVB19: Parvovirus B19, JCV: JC-Virus, EBV: Epstein-Barr-Virus, VZV: Varizella-zoster-Virus, HHV: humanes Herpesvirus 6, RSV: Respiratory-syncytial-Virus, IV: Influenzavirus, pos: Anzahl der Probetestungen mit positivem Ergebnis, neg: Anzahl der Probetestungen mit negativem Ergebnis

Virus	Proben-anzahl absolut	Virusnachweis		Blutproben absolut	Virus-Nachweis		andere Proben absolut	Virus-Nachweis	
		pos (%)	neg (%)		pos (%)	neg (%)		pos (%)	neg (%)
CMV	1440	167 (11,6)	1273 (88,4)	985	144 (14,6)	841 (85,4)	455	23 (5,1)	432 (94,9)
ADV	471	91 (19,3)	380 (80,7)	368	75 (20,4)	293 (79,6)	103	16 (15,5)	87 (84,5)
ENV	164	22 (13,4)	142 (86,6)	61	10 (16,4)	51 (83,6)	103	12 (11,7)	91 (88,3)
HSV	149	29 (19,5)	120 (80,5)	42	1 (2,4)	41 (97,6)	107	28 (26,2)	79 (73,8)
PVB19	45	4 (8,9)	41 (91,1)	23	1 (4,5)	22 (95,5)	22	3 (13,6)	19 (86,4)
JCV	11	4 (36,4)	7 (63,6)	2	0 (0,0)	2 (100,0)	9	4 (44,4)	5 (55,6)
EBV	20	7 (35,0)	13 (65,0)	5	2 (40,0)	3 (60,0)	15	5 (33,3)	10 (66,7)
VZV	49	1 (2,0)	48 (98,0)	24	0 (0,0)	24 (100,0)	25	1 (4,0)	24 (96,0)
HHV	44	0 (0,0)	44 (100,0)	29	0 (0,0)	29 (100,0)	15	0 (0,0)	15 (100,0)
RSV	10	1 (10,0)	9 (90,0)	2	0 (0,0)	2 (100,0)	8	1 (12,5)	7 (87,5)
IV	6	0 (0,0)	6 (100,0)	3	0 (0,0)	3 (100,0)	3	0 (0,0)	3 (100,0)

Innerhalb der ersten 100 Tage nach SZT wurden bei 28 (48,3%) der beobachteten Patienten (n=58) zwei verschiedene Virusspezies nachgewiesen. Bei 13 Patienten (22,4%) lag der Nachweis von nur einer Virusart und bei zwölf Patienten (20,7%) von drei Virusspezies vor. Je bei einem Patienten (1,7%) konnten vier bzw. sechs verschiedene Virusspezies nachgewiesen werden. In drei Fällen wurde kein Virus mittels PCR festgestellt (siehe Abbildung 9 und Tabelle 10).

Eine detaillierte Zuordnung der nachgewiesenen Virusspezies bei den einzelnen Patienten befindet sich in der Übersichtstabelle im Anhang (siehe Tabelle 39 und 40).

Abbildung 9: Nachweis verschiedener Virusspezies bei den untersuchten Patienten

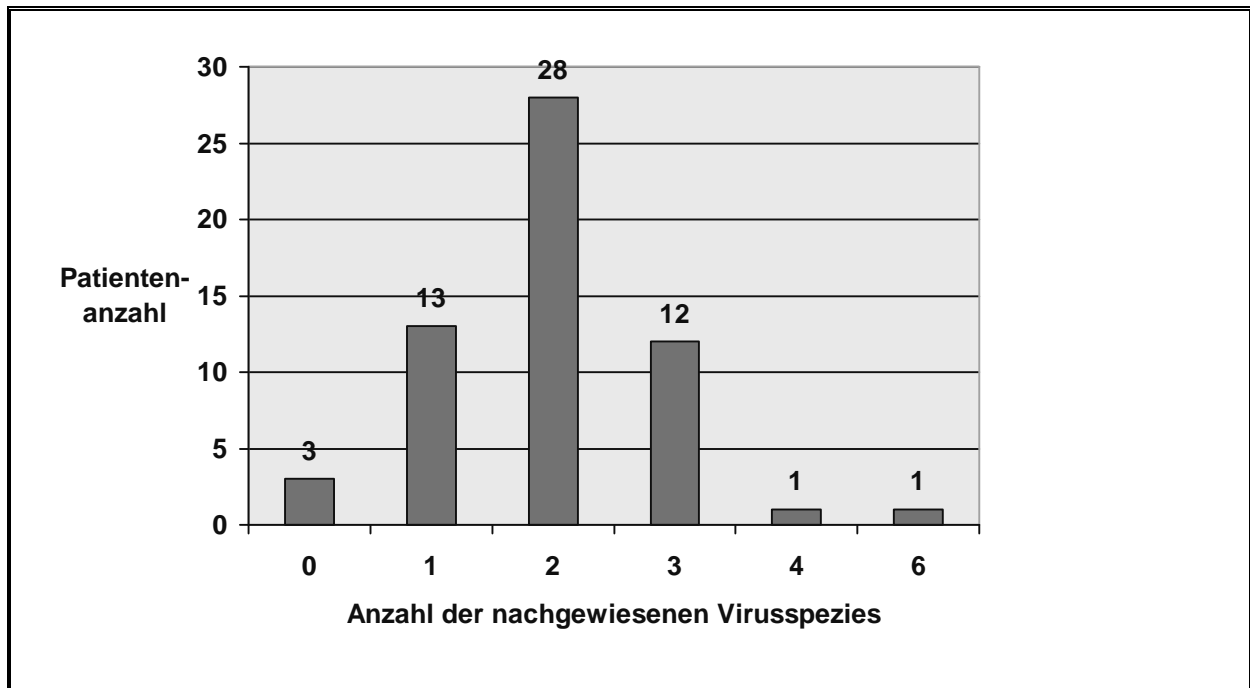


Tabelle 10: Nachweis der verschiedenen Virusarten bei den Patienten (n=58)

Abkürzungen: CMV: Cytomegalievirus, ADV: Adenovirus, HSV: Herpes-simplex-Virus, ENV: Enterovirus, JCV: JC-Virus, PVB19: Parvovirus B19, EBV: Epstein-Barr-Virus, RSV: Respiratory-syncytial-Virus, VZV: Varizella-zoster-Virus

	CMV +ADV	CMV +HSV	CMV +JCV	CMV +VZV	CMV +PVB19	ADV +ENV	ADV +HSV
Patienten- zahl	17	3	1	1	1	3	2
	CMV +ADV +HSV	CMV +ADV +ENV	CMV +ADV +PVB19	ADV +HSV +ENV	ADV +HSV +EBV	ADV +ENV +RSV	
Patienten- zahl	4	3	1	2	1	1	
	CMV+ADV +ENV+HSV +JCV+PVB19	CMV+ADV +HSV+JCV	CMV	ADV	ENV	kein Virus	
Patienten- zahl	1	1	6	6	1	3	

3.2 Cytomegalievirus (CMV)

3.2.1 CMV-Reaktivierung/-Infektion

Es wurden von allen Patienten (n=58) insgesamt 1440 Proben auf CMV getestet. Bei 39 (67,2%) der Patienten konnte CMV-DNA in mindestens einer Probe nachgewiesen werden. Bei den übrigen 19 (32,8%) Patienten wurde CMV nicht festgestellt. Von den 39 Patienten mit positivem Virusnachweis konnte bei 37 (94,9%) Patienten CMV im peripheren Blut, bei neun (23,1%) Patienten im Urin, bei fünf (12,8%) Patienten im Knochenmark, und bei einem (2,6%) Patienten im Material einer Bronchoalveolären Lavage nachgewiesen werden. Der CMV-Nachweis gelang bei der Mehrzahl von 26 (66,7%) Patienten aus nur einer Art von Probenmaterial und bei 13 (33,3%) Patienten aus zwei verschiedenen Probenmaterialien. Die entsprechenden Untersuchungsmaterialien positiver (n=167; 11,6 %) und negativer (n=1273; 88,4 %) Proben sind in Tabelle 11 aufgeführt.

Tabelle 11: Probenmaterialien und ihre Testresultate für CMV

Abkürzungen: BAL: Bronchoalveoläre Lavage, GITS: Gastrointestinales Sekret, RSW: Rachenpülwasser, RAS: Rachenabstrich

Probenmaterial (CMV)			
	Anzahl positiver Proben	Anzahl negativer Proben	Summe
Blut	144 (14,6%)	841 (85,4%)	985
Stuhl	0 (0,0%)	18 (100,0%)	18
Urin	15 (5,6%)	314 (95,4%)	329
Knochenmark	6 (15,8%)	32 (84,2%)	38
BAL	1	7	8
GITS	0	4	4
RSW	0	16	16
RAS	0	2	2
Liquor	0	10	10
Sputum	0	5	5
Abstrich	1	5	6
Biopsie	0	4	4
Erbrochenes	0	15	15
Summe	167 (11,6%)	1273 (88,4%)	1440

In der CMV-positiven Patientengruppe (n=39) waren 31 (79,5%) Patienten vor SZT CMV-seropositiv und acht (20,5%) Patienten CMV-seronegativ. Von den entsprechenden 39 Transplantationen wurden 17 (43,6%) Transplantationen mit einem CMV-seronegativen Spender und 22 (56,4%) mit einem CMV-seropositiven Spender durchgeführt. Hieraus resultierten folgende Kombinationen der CMV-Serostatus von Spendern und Empfängern:

- | | |
|---|------------|
| 1. Spender und Empfänger CMV-seronegativ: | 2 (5,1%) |
| 2. Spender und Empfänger CMV-seropositiv: | 16 (41,0%) |
| 3. Spender CMV-seropositiv und Empfänger CMV-seronegativ: | 6 (15,4%) |
| 4. Spender CMV-seronegativ und Empfänger CMV-seropositiv: | 15 (38,5%) |

Bezogen auf das jeweilige numerische Vorkommen der einzelnen Serostatus-Kombinationen in der gesamten Patientenkohorte (n=58) ergaben sich folgende Anteile in der Patientengruppe mit positivem CMV-Nachweis:

- | | |
|---|-------------------|
| 1. Spender und Empfänger CMV-seronegativ: | 2 von 11 (18,2%) |
| 2. Spender und Empfänger CMV-seropositiv: | 16 von 20 (80,0%) |
| 3. Spender CMV-seropositiv und Empfänger CMV-seronegativ: | 6 von 9 (66,7%) |
| 4. Spender CMV-seronegativ und Empfänger CMV-seropositiv: | 15 von 18 (83,3%) |

Bei Patienten mit positivem CMV-Serostatus trat in etwa 80% der Fälle eine CMV-Reaktivierung/-Infektion unabhängig vom Serostatus des Spenders auf ($p=0,79$). In der Patientengruppe ohne CMV-Nachweis (n=19) waren in neun Fällen Spender und Empfänger CMV-seronegativ, in vier Fällen Spender und Empfänger CMV-seropositiv und in je drei Fällen Spender CMV-seronegativ und Empfänger CMV-seropositiv bzw. Spender CMV-seropositiv und Empfänger CMV-seronegativ. In der untersuchten Patientenkohorte zeigte sich ein signifikant geringeres Auftreten von CMV-Nachweisen bei Patienten mit negativem CMV-Serostatus und ebenfalls CMV-seronegativen Spender ($p=0,001$). Die CMV-Nachweise in dieser Subgruppe wurden auf Neuinfektionen mit CMV zurückgeführt.

Von 39 Patienten mit CMV-Reaktivierung/-Infektion waren 27 (69,2%) männlich und zwölf (30,8%) Patienten weiblich. In der Patientengruppe ohne CMV-Nachweis (n=19) befanden sich 13 (68,4%) Männer und 6 (31,6%) Frauen. Die

Geschlechterverteilung in den beiden Patientengruppen zeigte keinen signifikanten Unterschied ($p=1,00$). Das mittlere Alter zum Zeitpunkt der Transplantation der Patienten mit CMV-Reaktivierung/-Infektion war 48,6 Jahre (Minimum: 18 Jahre, Maximum: 65 Jahre) und in der Gruppe von Patienten ohne CMV-Reaktivierung/-Infektion 42 Jahre (Minimum: 18 Jahre, Maximum: 62 Jahre). Der Altersunterschied in den beiden Gruppen war nicht signifikant ($p=0,15$).

In der CMV-positiven Patientengruppe wurden 28 (71,8%) Patienten fremd-allogen und elf (28,2%) familiär-allogen stammzelltransplantiert. Von den 28 fremd-allogenen SZT waren 26 HLA-matched und zwei SZT HLA-mismatched. In der CMV-negativen Patientengruppe wurden alle SZT mit HLA-identen bzw. HLA-matched Spendern durchgeführt, wobei zehn Transplantationen familiär-allogen und neun Transplantationen fremd-allogen waren. Es konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem verwandtschaftlichen Übereinstimmungsgrad von Spendern und Empfängern und dem Auftreten einer CMV-Reaktivierung/-Infektion festgestellt werden ($p=0,14$), wobei als verwandtschaftlicher Übereinstimmungsgrad HLA-Kompatibilität und fremd- versus familiäre-SZT analysiert wurde. Tendenziell entwickelten Patienten nach familiär-allogener SZT seltener CMV-Reaktivierungen/-Infektionen als Patienten nach fremd-allogener SZT ($p=0,086$). Eine signifikante Häufung von CMV-Reaktivierungen/-Infektionen trat bei Patienten mit positivem CMV-Serostatus und einer unverwandten Stammzellspende gegenüber Patienten mit CMV-negativem Serostatus und/oder familiärer Stammzellspende auf ($p=0,001$) (siehe Tabelle 12).

Tabelle 12: Kreuztabelle: CMV-Nachweis und CMV-Serostatus/fremd-allogene SZT
 Abkürzungen: SZT: Stammzelltransplantation, CMV: Cytomegalievirus, *: Signifikanz

		CMV-Serostatus des Empfängers positiv und fremd-allogene SZT		Summe
		ja	nein	
CMV-Nachweis	ja	23	16	39
	nein	3	16	19
Summe		26	32	58
$p=0,001^*$				

In der CMV-positiven Patientengruppe (n=39) erhielten 13 (33,3%) Patienten eine konventionelle und 26 (66,6%) Patienten eine dosisreduzierte Konditionierungstherapie. Von den 19 CMV-negativen Patienten wurden sieben (36,8%) Patienten mit einem konventionellen und zwölf (63,2%) Patienten mit einem dosisreduzierten Konditionierungsregime therapiert. Der Unterschied zwischen Patienten mit konventioneller und dosisreduzierter Konditionierung hinsichtlich einer CMV-Reaktivierung/-Infektion war bei den untersuchten Patienten nicht signifikant ($p=1,00$). Aus der Patientengruppe mit CMV-Reaktivierung/-Infektion entwickelten 22 (56,4%) Patienten in den ersten 100 Tagen nach SZT eine akute GvHD, während 17 (43,6%) Patienten nicht erkrankten. Bei 13 (59,1%) der betroffenen Patienten war ein Organ und bei neun (40,9%) Patienten mehr als ein Organ von einer GvHD betroffen. Bezogen auf die Patientenzahl mit akuter GvHD (n=33) der gesamten Patientenkohorte (n=58) ergab sich ein prozentualer Anteil von 66,7% Patienten mit akuter GvHD und CMV-Reaktivierung/-Infektion. Von den 19 CMV-negativen Patienten erkrankten elf (57,9%) Patienten an einer akuten GvHD, acht (42,1%) Patienten entwickelten keine akute GvHD. Die Erkrankung an einer akuten GvHD stand bei den untersuchten Patienten in keinem signifikanten Zusammenhang mit dem Auftreten von CMV-Reaktivierung/-Infektion ($p=1,00$).

Von den Patienten mit CMV-Reaktivierung/-Infektion lebten 29 (74,4%) Patienten länger als 100 Tage nach SZT. Zehn (25,6%) Patienten verstarben in der beobachteten Zeitspanne. Bezogen auf die Anzahl der verstorbenen Patienten (n=16) in der Gesamtkohorte (n=58) ergab sich ein Anteil von annähernd 2/3 verstorbener Patienten mit CMV-Reaktivierung/-Infektion. In der Gruppe von Patienten ohne positiven CMV-Nachweis überlebten 13 (68,4%) Patienten den Tag +100 nach SZT. Die übrigen sechs Patienten (21,6%) verstarben vor Tag +100. Der Unterschied zwischen den beiden Patientengruppen hinsichtlich dem Auftreten von tödlichen Komplikationen in dem untersuchten Zeitraum war nicht signifikant ($p=0,75$).

Die beschriebenen Charakteristika der Patienten mit und ohne CMV-Reaktivierung/-Infektion sind in Tabelle 13 zusammengefasst.

Tabelle 13: Charakteristika: Patienten mit und ohne CMV-Reaktivierung/-Infektion

Abkürzungen: GvHD: Graft-versus-Host-Erkrankung, fam: familiär, SZT: Stammzelltransplantation, DON: Spender, REC: Empfänger, *: Signifikanz

		Auf CMV getestete Patienten (n=58)		p-Werte
		Patienten ohne CMV-Reaktivierung/-Infektion (n=19)	Patienten mit CMV-Reaktivierung/-Infektion (n=39)	
Geschlecht	weiblich	6	12	1,00
	männlich	13	27	
Alter	(Mittelwert in Tagen)	42,0	48,6	0,15
Verwandschaft zum Spender	fremd-matched	8	26	0,14
	fremd-mismatched	1	2	
	fam-ident	9	11	
	fam-nichtident	1	0	
Serostatus von Spender und Empfänger vor SZT	DON + / REC -	3	6	0,001*
	DON + / REC +	4	16	
	DON - / REC +	3	15	
	DON - / REC -	9	2	
Konditionierung	dosisreduziert	12	26	1,00
	konventionell	7	13	
Akute GvHD	ja	11	22	1,00
	nein	8	17	
Tod in den ersten 100 Tagen nach SZT	ja	6	10	0,75
	nein	13	29	

3.2.2 Nachweiszeitpunkt und Engraftment bei den Patienten

Der mittlere Erstnachweistag war Tag +35,7 (Median: Tag +34, Spannweite [range]: 2-86) nach allogener SZT. Zum Zeitpunkt des Erstnachweises lag bei 30 (76,9%) Patienten eine Thrombozytenzahl von >20GPT/L und eine Leukozytenzahl von >1GPT/L vor. Bei neun (23,1%) Patienten waren diese Zellzahlen am Tag des

Erstnachweises nicht erreicht. Der Median der Erstdetektion lag bei diesen Patienten am Tag +25.

3.2.3 CMV und der Nachweis anderer Virusspezies

Bei 22 (56,4%) der 39 CMV-positiven Patienten wurde außer CMV noch eine weitere Virusspezies und bei sieben (18,0%) Patienten noch zwei voneinander verschiedene Virusarten nachgewiesen. Sechs (15,4%) Patienten waren in den ersten 100 Tagen nach SZT ausschließlich für CMV positiv. Bei je einem (2,6%) Patienten konnten noch drei bzw. fünf andere Virusspezies festgestellt werden. In der beobachteten Zeitspanne wurde ADV bei 26 (66,7%) der CMV-positiven Patienten nachgewiesen. Ebenso bei acht (20,5%) Patienten das HSV, bei drei (7,7%) Patienten JCV, bei vier (10,3%) Patienten ENV, bei drei (7,7%) Patienten PVB19 und bei einem (2,6%) Patienten VZV. Bei den untersuchten Patienten konnte für ADV ($p=0,11$) und für HSV ($p=0,58$) kein signifikanter Zusammenhang mit dem Auftreten einer CMV-Reaktivierung/-Infektion festgestellt werden. Wenngleich das Resultat für Enteroviren ebenfalls nicht signifikant war, zeigte sich die tendenzielle Assoziation einer geringeren Anzahl ENV-Infektionen bei Patienten mit CMV-Reaktivierung/-Infektion gegenüber Patienten ohne CMV-Reaktivierung/-Infektion ($p=0,08$). Bei zehn (38,5 %) der 26 Patienten, die sowohl für CMV als auch für ADV positiv waren, konnte CMV früher als ADV nachgewiesen werden. In drei (11,5%) Fällen gelang der erstmalige Nachweis von CMV und ADV am selben Tag und bei 13 (50,0 %) Patienten war ADV das zuerst nachgewiesene Virus (siehe Tabelle 14).

Tabelle 14: Zeitpunkte der Erstdetektion von CMV und ADV bei den Patienten

Abkürzungen: CMV: Cytomegalievirus, ADV: Adenovirus

	Patientenanzahl absolut (%)
Erstnachweis von CMV früher als Erstnachweis von ADV	10 (38,5 %)
Erstnachweis von ADV früher als Erstnachweis von CMV	13 (50,0 %)
gleichzeitiger Erstnachweis von CMV und ADV	3 (11,5 %)

Bei den 26 Patienten die sowohl für ADV als auch für CMV positiv waren, konnte ADV im Mittel am Tag +31,6 (Median: 28, Spannweite [range]: 1-97) nach SZT nachgewiesen werden. Der mittlere Tag des Erstdachweises von ADV bei 14 Patienten, die ADV-positiv, nicht aber CMV-positiv waren, war Tag +32,3 (Median: 24,5; Spannweite [range]: 1-90) nach SZT. Der Unterschied zwischen Patienten mit und ohne CMV-Reaktivierung/-Infektion hinsichtlich des Zeitpunktes des ADV-Erstmachweises war nicht signifikant ($p=1,00$).

3.2.4 Klinische Symptomatik im Zusammenhang mit CMV

Von den Patienten mit positivem CMV-Nachweis ($n=39$) hatten sieben (18,0%) Patienten Symptome bzw. Diagnosen, die als *sicher*, *sehr wahrscheinlich* oder *möglicherweise* in einem kausalen Zusammenhang mit CMV stehend klassifiziert wurden. Hierbei wurde bei zwei Patienten mehr als eine mit CMV im Zusammenhang stehende Erkrankung diagnostiziert, so dass sich insgesamt eine Anzahl von neun Diagnosen ergab, welche mit CMV assoziiert werden konnten. Der Nachweis von CMV gelang bei sechs der sieben Patienten aus peripherem Blut, bei drei Patienten aus Knochenmark und bei einem Patienten aus Material einer BAL. Keiner der sieben Patienten hatte eine für CMV positive Urinprobe. Zum Zeitpunkt des CMV-Erstdachweises lag bei vier Patienten ein Engraftment des Transplantats vor. Die übrigen drei Patienten hatten an den Tagen des erstmaligen CMV-Nachweises (+2, +42 und +56) noch kein Engraftment.

Das mittlere Alter der fünf männlichen und zwei weiblichen Patienten war zum Zeitpunkt der SZT 51,3 Jahre. Von den sieben Patienten erhielten fünf Patienten fremd-allogene, HLA-matched Stammzelltransplantationen. Bei je einem Patienten wurde eine familiär-allogene, HLA-idente bzw. eine fremd-allogene, HLA-mismatched SZT durchgeführt. Alle sieben Patienten hatten vor der SZT einen positiven CMV-Serostatus. Drei Patienten erhielten ein Transplantat von einem CMV-seropositiven Spender, so dass sich insgesamt eine Anzahl von drei Patienten mit CMV-positivem Serostatus und ebenfalls CMV-seropositivem Spender und eine Anzahl von vier CMV-seropositiven Patienten mit CMV-seronegativen Spendern ergab. Bei fünf der sieben Patienten wurde eine dosisreduzierte und bei zwei Patienten eine konventionelle Konditionierungstherapie durchgeführt. Eine akute GvHD trat bei einem der sieben Patienten auf.

Bei allen sieben Patienten wurde mindestens noch eine weitere Virusspezies in den ersten 100 Tagen nach SZT festgestellt. So konnte bei fünf der Patienten außer CMV noch ADV oder HSV nachgewiesen werden, und bei zwei Patienten noch ADV und ENV oder HSV (siehe Tabelle 15).

Tabelle 15: Patienten mit CMV-Nachweis und assoziierter Symptomatik/Erkrankung

Abkürzungen: m: männlich, w: weiblich, fam: familiär, DON: Spender, REC: Empfänger, K: Konventionell, DR: dosisreduziert, (m): möglicher Zusammenhang mit CMV, (s/w): sicherer oder wahrscheinlicher Zusammenhang mit CMV, GvHD: Graft-versus-Host-Erkrankung

Patient	Alter/ Geschlecht	Verwandtschaft zum Spender	CMV-Sero- status: DON / REC	Konditio- nierung	GvHD	CMV- Erkrank- ung	andere Viren
1	33 / m	fam-ident	+ / +	K	nein	(m)	ADV
16	57 / m	fremd-matched	- / +	DR	ja	(m)	HSV
23	56 / w	fremd-matched	- / +	DR	nein	(s/w)	ADV/ HSV
27	65 / m	fremd-matched	- / +	DR	nein	(m)	ADV
28	49 / w	fremd-mismatched	+ / +	DR	nein	(s/w)	ADV/ ENV
38	61 / m	fremd-matched	+ / +	DR	nein	(m)	ADV
47	38 / m	fremd-matched	- / +	K	nein	(m)	ADV

Als *möglicherweise* in einem kausalen Zusammenhang mit CMV stehend wurden bei fünf Patienten folgende Diagnosen klassifiziert: atypische Pneumonie (n=3), Diarrhöe/Enteritis (n=1) und Thrombozytopenie (n=2).

Patient 1 (siehe Tabelle 16) erkrankte an einer Enteritis mit Diarrhöe bei Vorliegen eines positiven CMV-Nachweises im Blut. Die Diagnosekriterien einer *sicher* durch CMV-verursachten gastrointestinalen Erkrankung waren aufgrund fehlender Endoskopie mit Biopsieentnahme nicht erfüllt. Daher wurde die vorliegende Symptomatik als *möglicherweise* CMV-assoziiert klassifiziert. *Patient 38* hatte eine atypische Pneumonie, deren Ätiologie letztendlich unklar geblieben ist. Bei Vorliegen von negativen Befunden für eine bakterielle und fungale Infektion und zeitgleicher therapiebedürftigen CMV-Reaktivierung war eine durch CMV-verursachte atypische Pneumonie nicht auszuschließen. In der BAL konnte CMV nicht nachgewiesen werden. Der kausale Zusammenhang zwischen Erkrankung und CMV wurde als *möglich* bewertet. Weiterhin hatte derselbe Patient eine Thrombozytopenie, deren

Ursache nicht eindeutig identifiziert werden konnte. Bei gleichzeitigem Nachweis von CMV im Blut und Knochenmark ist der kausale Zusammenhang aufgrund eines fehlenden Ausschlusses einer HHV-6-Infektion als *möglich* beurteilt worden. *Patient 16* hatte eine atypische Pneumonie, deren Genese durch CMV aufgrund des klinischen Gesamteindrucks nicht wahrscheinlich war, und somit CMV als *möglicher* Erreger eingestuft wurde. *Patient 47* entwickelte 20 Tage nach SZT ebenfalls eine atypische Pneumonie. In diesem Fall wurde CMV in geringer Kopienanzahl in der BAL detektiert. Da der Patient kurze Zeit später verstarb und in Autopsie eine massive Aspergillose der Lunge ohne Hinweis von CMV der Lunge festgestellt wurde, ist der Zusammenhang von Diagnose und CMV nur als *möglich* bewertet worden. *Patient 27* zeigte eine verzögerte hämatopoetische Regeneration mit Thrombozytopenie, deren Genese durch CMV als *möglich* eingestuft wurde, da erstens eine HHV-6-Infektion nicht ausgeschlossen wurde und zweitens die verzögerte Regeneration auch auf die Verwendung von Knochenmarkzellen und eine ADV-Infektion zurückgeführt wurde. Als *sehr wahrscheinlich/sicher* durch CMV verursacht wurden bei zwei Patienten eine atypische Pneumonie (n=1), eine Retinitis (n=1) sowie eine Thrombozytopenie (n=1) bewertet. Bei *Patient 28* wurde bei gleichzeitigem Nachweis von CMV im Knochenmark eine Thrombozytopenie diagnostiziert. CMV wurde als *sehr wahrscheinlicher* Verursacher identifiziert, da keine weiteren Infektionszeichen vorlagen und die Thrombozyten unter der eingeleiteten Therapie mit Ganciclovir anstiegen. *Patient 23* hatte bei ausschließlichem Nachweis von CMV im Blut eine atypische Pneumonie sowie eine Retinitis, die ophtalmologisch als CMV-typisch diagnostiziert wurde. Am Tag +49 nach SZT, 15 Tage nach Erstnachweis des Virus, verstarb dieser Patient an Multiorganversagen. In der Autopsie wurde eine generalisierte CMV-Reaktivierung bestätigt, daher wurde trotz fehlender Erfüllung der Diagnosekriterien die Pneumonie als *sehr wahrscheinlich* CMV-verursacht klassifiziert.

Alle sieben Patienten erhielten eine antivirale Therapie mit Ganciclovir. Ein Patient wurde bei unzureichender Wirkung des Ganciclovirs mit Foscarnet behandelt. Von den sieben Patienten verstarben vier Patienten innerhalb der ersten 100 Tage nach SZT. Der Tod trat 15, 16, 29 und 32 Tage nach Erstnachweis von CMV ein. In einem Fall (*Patient 23, s.o.*) konnte ein kausaler Zusammenhang mit einer generalisierten CMV-Reaktivierung diagnostiziert werden. Bei den drei anderen Patienten wurde eine Assoziation von CMV mit dem Versterben als unwahrscheinlich angesehen. Als

Todesursachen wurden in diesen Fällen Rezidiv/Grunderkrankung, Sepsis bei Aspergillose der Lunge und bakterieller Sepsis festgestellt.

Tabelle 16: CMV-Nachweis bei den Patienten mit CMV-assoziiierter Symptomatik

Abkürzungen: KM: Knochenmark, EB: Erbrochenes, BAL: Bronchoalveoläre Lavage, RSW: Rachenspülwasser, Biopsie: aus Gastrointestinaltrakt, s: sicher durch CMV verursacht, w: sehr wahrscheinlich durch CMV verursacht, m: möglich durch CMV verursacht

Patient	Material, das auf CMV getestet wurde	Anzahl positiver Proben (getestete Proben)	Material, in dem CMV nachgewiesen wurde	CMV- Erst-Nachweis: (+Tag nach SZT / Engraftment)	Symptomatik/ Diagnose	Therapie	Tod
1	Blut/ Stuhl/ Urin	1 (9)	Blut	+2/ nein	Diarrhöe/ Enteritis (m)	Ganciclovir	ja
38	Blut/ Urin/ EB/ KM/ Liquor/ BAL/ Biopsie	8 (37)	Blut/ KM	+56/ nein	atypische Pneumonie (m), Thrombozytopenie (m)	Ganciclovir Foscarnet	nein
16	Blut/ Urin/ RSW/ RAS/ KM	1 (31)	Blut	+49/ ja	atypische Pneumonie (m)	Ganciclovir	ja
47	Blut/ Urin/ BAL	1 (10)	BAL	+35/ ja	atypische Pneumonie (m)	Ganciclovir	ja
27	Blut/ Stuhl/ EB/ KM	7 (34)	Blut/ KM	+30/ ja	Thrombozytopenie (m)	Ganciclovir Valganciclovir	nein
28	Blut/ Stuhl/ EB/ KM/ RSW	5 (29)	Blut/ KM	+42/ nein	Thrombozytopenie (w)	Ganciclovir Valganciclovir	nein
23	Blut/ Urin/ RSW	1 (10)	Blut	+34/ ja	atypische Pneumonie (s), Retinitis (s)	Ganciclovir	ja

3.2.5 Korrelation von CMV und Thrombozytenzahl

Für die statistische Auswertung eines möglichen Zusammenhanges zwischen CMV-Reaktivierung/-Infektion und Thrombozytenzahl wurden Patienten, die länger als +30 Tage nach SZT lebten (n=49), am Tag +30 bzw. dem nächsten Tag, an dem ein Thrombozytenwert vorlag, je nach Thrombozytenanzahl in die Kategorien <20 GPT/L, <50 GPT/L oder größer >GPT/L eingeteilt. Der Tag, von dem der Thrombozytenwert dokumentiert wurde, wurde mit Ty bezeichnet. Ein positiver

Nachweis von CMV aus Blut bzw. aus Knochenmark (KM) am Tag Ty plus oder minus drei Tage wurde notiert. Bei den untersuchten Patienten waren niedrige Thrombozytenanzahlen (<20 PT/L bzw. <50 PT/L) nicht signifikant mit dem Auftreten von CMV-Reaktivierungen/-Infektionen assoziiert ($p=1,00$; $p=0,53$) (siehe Tabelle 17).

Tabelle 17: Korrelation von CMV und Thrombozytenanzahl

Abkürzungen: CMV: Cytomegalievirus, GPT/L: Gigapartikel pro Liter, p: Irrtumswahrscheinlichkeit, Ty: Tag von dem der Thrombozytenwert für die Auswertung genommen wurde

Ty +/- 3 Tage	Thrombozyten <20GPT/L	Thrombozyten <50GPT/L
CMV-positiv im Blut	$p=1,00$	$p=0,53$

3.2.6 CMV als Einflussfaktor auf das Engraftment

Statistisch wurde geprüft, inwiefern sich die allogenen transplantierten Patienten ($n=58$) mit und ohne CMV-Reaktivierung/-Infektion in der Phase der Neutropenie hinsichtlich des Zeitpunktes des späteren Engraftments unterschieden. Für jeden Patienten wurde der Tag des CMV-Erstnachweises, der Tag des Engraftments (definiert als: Leukozyten >1GPT/L und Thrombozyten >50GPT/L) bzw. der zuletzt beobachtete Tag, für den Fall, dass ein Patient verstarb oder nie Engraftment eintrat (=zensierte Daten), festgestellt. Folgende Einteilung der Patienten wurde vorgenommen:

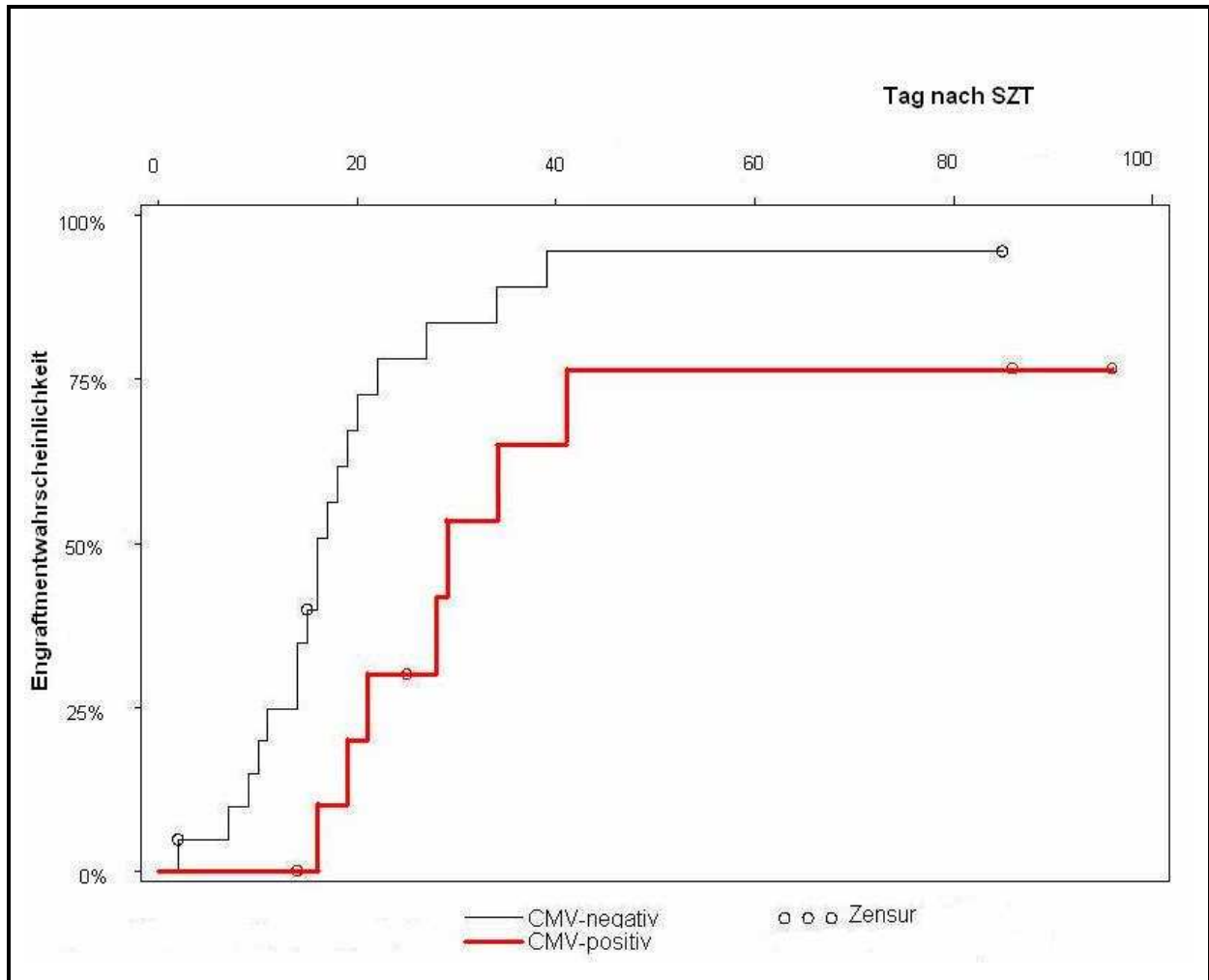
CMV-positive Patienten: Bei den Patienten wurde vor stattgefundenem Engraftment CMV mittels PCR nachgewiesen.

CMV-negative Patienten: Bei den Patienten wurde zu keiner Zeit CMV nachgewiesen.

Mit Hilfe der Methode nach Kaplan-Meier wurde für beide Patientengruppen zu den verschiedenen Zeitpunkten nach SZT (Tag +1 bis Tag +100) die Wahrscheinlichkeit eines noch nicht stattgefundenen Engraftments errechnet. Mittels Logranktest wurden die beiden Kurven der CMV-positiven und CMV-negativen Patienten statistisch miteinander verglichen. Es ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen: Patienten mit CMV-Reaktivierung/-Infektion engrafteten im Vergleich zu Patienten ohne CMV-Reaktivierung/-Infektion zu einem signifikant späteren Zeitpunkt nach allogener SZT ($p=0,014$) (siehe Abbildung 10).

Abbildung 10: Vergleich von CMV-positiven und -negativen Patienten bezüglich des Engraftments von Leukozyten und Thrombozyten

Abkürzungen: CMV: Cytomegalievirus, SZT: Stammzelltransplantation



3.2.7 Monitoring auf CMV-DNA im Urin

3.2.7.1 Patienten und CMV-Nachweise

Bei 24 Patienten, die im Zeitraum von 1999-2002 transplantiert worden sind, wurde regelmäßig, additiv zu den CMV-Testungen aus peripherem Blut, Urin mittels PCR auf CMV getestet. Wie unter Punkt 2.3.4 beschrieben, konnten insgesamt 15 Patienten in die statistische Auswertung eingeschlossen werden. Von den im Mittel 45,5 Jahre (Minimum: 18 Jahre, Maximum: 59 Jahre) alten Patienten waren neun (60%) Patienten männlich und sechs (40%) weiblich. Alle 15 Patienten wurden HLA-matched bzw. HLA-ident stammzelltransplantiert, neun (60%) fremd-allogen und sechs (40%) familiär-allogen.

In der untersuchten Patientengruppe hatten sieben (46,7%) Patienten einen positiven CMV-Serostatus und einen CMV-seronegativen Spender. Drei (20%) ebenfalls CMV-seropositive Patienten hatten einen gleichfalls positiven Stammzellspender. Von den CMV-seronegativen Patienten (n=5) hatten vier Patienten einen CMV-seropositiven und ein Patient einen CMV-seronegativen Spender (siehe Tabelle 18).

Tabelle 18: Verteilung der CMV-Serostatus von Spendern und Empfängern

Abkürzungen: (+): positiv, (-): negativ

	Spender (+)	Spender (-)
Empfänger (+)	3	7
Empfänger (-)	4	1

Bei einer Mehrzahl von acht (53,3%) Patienten erfolgte die SZT nach einer dosisreduzierten und bei sieben (46,7%) Patienten nach einer konventionellen Konditionierung. Von 15 Patienten entwickelten 13 (86,7%) Patienten in den ersten 100 Tagen nach allogener SZT eine akute GvHD. Bei neun der erkrankten Patienten lag ein Befall nur eines Organsystems und bei vier Patienten ein Befall von zwei oder mehr Organen vor. Insgesamt wurde bei elf (73,3%) der 15 Patienten außer CMV noch mindestens eine andere Virusspezies in den ersten 100 Tagen nach SZT nachgewiesen. Hierbei konnte bei zehn Patienten je nur eine weitere Virusart nachgewiesen werden und bei einem Patienten noch zwei verschiedene Spezies. Bei vier (26,7%) Patienten wurde in der beobachteten Zeit ausschließlich CMV

nachgewiesen. Adenovirus wurde bei neun Patienten und HSV bei drei Patienten zusätzlich festgestellt.

Bei keinem der 15 Patienten wurde eine CMV-assoziierte Erkrankung diagnostiziert. Bei zehn der Patienten erfolgte eine antivirale Therapie, wobei in neun Fällen Ganciclovir, in einem Fall Valganciclovir und in einem Fall von Therapieversagen unter Ganciclovir Cidofovir appliziert wurde. Von den 15 Patienten verstarben vier Patienten innerhalb der ersten 100 Tage nach SZT, wobei in keinem Fall CMV als Todesursache diagnostiziert wurde.

Von allen Patienten (n=15) wurde regelmäßig peripheres Blut und Urin auf CMV-DNA getestet. Weitere analysierte Proben stammten aus Stuhl, Knochenmark, Gastrointestinalsekret, Rachenspülwasser, Liquor und Material, das bei einer Biopsie, einem Abstrich der Wangenschleimhaut oder aus Erbrochenem gewonnen wurde (siehe Tabelle 19). Insgesamt 60 (26,1%) Blutproben und 11 (5,1%) Urinproben waren CMV-positiv. Der relative Anteil untersuchter Blutproben an der Gesamtprobenzahl war mit 49,1% um 3,4% ebenfalls höher als der Anteil der getesteten Urinproben.

Tabelle 19: Auf CMV gestestetes Probenmaterial von Patienten mit gleichzeitigen Urinmonitoring

Abkürzungen: GITS: Gastrointestinalsekret, RSW: Rachenspülwasser

Probenmaterial (CMV Urin)			
	Anzahl positiver Proben	Anzahl negativer Proben	Summe
Blut	60 (26,1%)	170 (73,9%)	230
Stuhl	0	3	3
Urin	11 (5,1%)	203 (94,9%)	214
Knochenmark	0	2	2
GITS	0	1	1
RSW	0	1	1
Liquor	0	1	1
Abstrich	1	1	2
Biopsie	0	1	1
Erbrochenes	0	3	3
Summe	72 (15,4%)	386 (84,6%)	468

Der mittlere Tag des CMV-Erstnachweises im Urin war Tag +38 nach SZT (Median: Tag +30, Spannweite [range]: 3-86). Bei sieben (46,7%) Patienten wurde CMV ausschließlich im Blut und bei einem (6,7%) Patienten ausschließlich im Urin nachgewiesen. Die übrigen sieben Patienten hatten sowohl positive Testresultate aus Blut- als auch aus Urinproben. Bei den Patienten, bei denen CMV-DNA im Blut und im Urin nachweisbar war (n=7), konnte das Virus in drei Fällen früher im Blut als im Urin festgestellt werden. Die Zeitspanne zwischen dem Nachweis von CMV im Blut und Urin betrug 2, 15 und 61 Tage. In vier Fällen gelang der erstmalige CMV-Nachweis zeitgleich im Blut und Urin. Der letzte positive CMV-Nachweis stammte bei vier der sieben Patienten aus Blutproben und bei einem Patienten aus Urin. Hierbei betrug die Zeitspanne, in der nur noch eine Probenart positiv für CMV war 4, 7, 7, 26 und 56 Tage. Bei zwei von sieben Patienten wurde CMV zuletzt zeitgleich aus Blut und Urin detektiert (siehe Tabelle 20).

Tabelle 20: CMV-Nachweise bei den Patienten mit Urin-Monitoring (n=15)

Abkürzungen: CMV: Cytomegalievirus, *¹: Zeit (in Tagen) zwischen Erstnachweis von CMV im Blut und Nachweis von CMV im Urin, *²: Zeit (in Tagen) zwischen letztmaligem Nachweis von CMV im Blut und Urin und letzter Probe insgesamt, die positiv für CMV war

Patient	positiver CMV-Nachweis			Material mit erstmaligem CMV-Nachweis	Zeit-spanne* ¹ in Tagen	Material mit letztmaligem CMV-Nachweis	Zeit-spanne* ² in Tagen
	Urin	Blut	Urin und Blut				
5			x	Blut	15	Blut	56
7		x					
11			x	Blut / Urin		Blut	7
14			x	Blut	61	Blut / Urin	
15		x					
17		x					
20			x	Blut / Urin		Urin	26
35			x	Blut / Urin		Blut / Urin	
39		x					
42			x	Blut	2	Blut	4
45		x					
48		x					
50		x					
51	x						
57			x	Blut / Urin		Blut	7

3.2.7.2 Vergleich von Patienten mit und ohne CMV-Nachweis im Urin

Von den 15 untersuchten Patienten konnte bei acht Patienten CMV-DNA im Urin nachgewiesen werden. Bei sieben Patienten wurde CMV-DNA nicht im Urin nachgewiesen. Letzt genannte Patientengruppe (n=7) mit einem mittleren Alter von 48,1 Jahren, bestand aus zwei Frauen und fünf Männern. In der Gruppe, bei der CMV im Urin nachgewiesen werden konnte, waren je vier Männer und Frauen mit einem Durchschnittsalter von 44,3 Jahren zum Zeitpunkt der SZT. Der statistische Vergleich beider Gruppen zeigte keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Geschlechtsverteilung ($p=0,37$) und des Alters ($p=0,81$). In der Patientengruppe mit positivem CMV-Urinnachweis wurden bei sechs Patienten fremd-allogene und bei zwei Patienten familiär-allogene SZT durchgeführt. In der Gruppe ohne Nachweis von CMV im Urin wurde die Mehrzahl der Patienten familiär-allogen stammzelltransplantiert (n=4). Drei Patienten aus dieser Gruppe erhielten fremd-allogene Transplantate. Bezüglich des Zusammenhanges zwischen verwandtschaftlicher Übereinstimmung von Spender und Empfänger und dem Auftreten von CMV-DNA im Urin konnte bei den untersuchten Patientengruppen kein signifikantes Resultat festgestellt werden ($p=0,23$). Hinsichtlich der Verteilung weiterer Merkmale wie CMV-Serostatus von Spendern und Empfängern, Art der Konditionierungstherapie, Auftreten einer akuter GvHD, Nachweis weiterer Virusspezies und Tod in den ersten 100 Tagen zeigten beide Patientenkohorten keine signifikanten Unterschiede (siehe Tabelle 21). Bezüglich des Zeitpunktes der Erstdetektion von CMV konnte bei Patienten mit positivem CMV-Nachweis im Urin und bei Patienten ohne positiven CMV-Nachweis im Urin kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=0,81$). Eine antivirale Therapie erfolgte bei vier der sieben Patienten ohne positiven Urin-Nachweis aufgrund des CMV-DNA-Nachweises im Blut. In der Patientengruppe mit CMV-Nachweis im Urin wurden sieben von acht Patienten antiviral therapiert.

Die ausgeführten Ergebnisse sind in Tabelle 21 zusammengestellt.

Tabelle 21: Charakteristika: Patienten mit und ohne CMV-Nachweis im Urin
 Abkürzungen: GvHD: Graft-versus-Host-Erkrankung, fam: familiär, SZT: Stammzelltransplantation, DON: Spender, REC: Empfänger

		Patienten mit CMV-Urinmonitoring (n=15)		p-Werte
		CMV-positiv im Urin (n=8)	CMV-negativ im Urin (n=7)	
Geschlecht	weiblich	4	2	0,37
	männlich	4	5	
CMV-Erstnachweis (Median)		+34,0	+24,0	0,86
Alter (Mittelwert in Jahren)		44,3	48,1	0,81
Verwandtschaft zum Spender	fremd-matched	6	3	0,23
	fam-ident	2	4	
Serostatus von Spender und Empfänger vor SZT	DON + / REC -	2	2	0,44
	DON + / REC +	2	2	
	DON - / REC +	4	3	
	DON - / REC -	0	1	
Konditionierung	dosisreduziert	4	4	0,59
	konventionell	4	3	
Akute GvHD	ja	7	6	0,73
	nein	1	1	
Tod in den ersten 100 Tagen nach SZT	ja	2	2	0,66
	nein	6	5	
Anzahl der Patienten, bei denen weitere Virusspezies nachgewiesen wurden		6	6	
Anzahl der antiviral therapierten Patienten		7	4	

3.3 Adenovirus (ADV)

3.3.1 ADV-Infektion

Es wurden insgesamt 471 Proben von 55 (94,8%) Patienten auf ADV analysiert. Von 55 auf ADV getesteten Patienten konnte bei 40 (72,7%) Patienten ADV-DNA nachgewiesen werden. 15 (27,3%) Patienten waren in der beobachteten Zeitspanne ADV-negativ. Bei 29 (72,5%) der 40 Patienten war ADV ausschließlich in einem Probenmaterial (Blut) nachweisbar. Vier (10%) Patienten waren in zwei und sieben (17,5%) Patienten in drei unterschiedlichen Probenmaterialien positiv für ADV. Bei allen 40 ADV-positiven Patienten lag der Nachweis von ADV-DNA aus einer Blutprobe vor. Zusätzlich wurde ADV bei sechs (15%) Patienten im Knochenmark, bei zwei (5%) Patienten im Urin und ebenfalls bei zwei (5%) Patienten im Stuhl nachgewiesen. Je bei einem (2,5%) Patienten war ADV im Material einer Bronchoalveolären Lavage, Gastrointestinalsekret, Rachenspülwasser und Liquor nachweisbar. Von der Gesamtanzahl auf ADV getesteter Proben (n=471) waren 366 (77,7%) nachträglich analysierte, kryokonservierte Proben, wobei die entsprechenden Anteile positiver und negativer Proben bei 69 (18,9%) bzw. 297 (81,1%) Proben lagen. Die Zusammensetzung der positiven und negativen Testresultate ist in Tabelle 22 aufgeführt.

Tabelle 22: Probenmaterialien und ihre Testresultate für ADV

Abkürzungen: BAL: Bronchoalveoläre Lavage, GITS: Gastrointestinalsekret, RSW: Rachenspülwasser, RAS: Rachenabstrich, Biopsie: 2x aus Gastrointestinaltrakt

Probenmaterial (ADV)			
	Anzahl positiver Proben	Anzahl negativer Proben	Summe
Blut	75 (20,4%)	293 (79,6%)	368
Stuhl	3 (15,8%)	16 (84,2%)	19
Urin	3 (15,8%)	16 (84,2%)	19
Knochenmark	6 (18,2%)	27 (81,8%)	33
BAL	1	9	10
GITS	1	0	1
RSW	1	6	7
RAS	0	3	3
Liquor	1	5	6
Sputum	0	2	2
Abstrich	0	1	1
Biopsie	0	2	2
Summe	91 (19,3%)	380 (80,7%)	471

Bei fünf (12,5%) der Patienten mit ADV-Infektion (n=40) war ADV das einzige mittels PCR nachgewiesene Virus innerhalb der ersten 100 Tage nach SZT. 22 (55%) weitere Patienten waren außer für ADV noch für eine weitere Virusart positiv, elf (27,5%) Patienten noch für zwei weitere Virusspezies. Bei jeweils einem Patienten waren noch drei bzw. fünf verschiedene Virusarten nachweisbar. So wurde CMV bei 26 (54%) Patienten, ENV bei (25%) Patienten, HSV bei (25%) Patienten, PVB19 bei zwei (5%) Patienten, JCV bei zwei (5%) Patienten und EBV sowie Respiratory-syncytial-Virus bei je einem (2,5%) Patienten nachgewiesen. In der Patientengruppe mit ADV-Infektion (n=40) waren 27 (67,5%) Patienten männlich und 13 (32,5%) weiblich. Von den Patienten ohne ADV-Infektion (n=15) waren 13 (86,7%) Patienten Männer und zwei (13,4%) Frauen. Der Unterschied bezüglich der Geschlechtsverteilung in den beiden Gruppen war nicht signifikant ($p=0,19$). Das mittlere Alter der Patienten mit ADV-Infektion betrug zum Zeitpunkt der SZT 45,6 Jahre (Minimum: 18 Jahre, Maximum: 65 Jahre). Bei den Patienten ohne ADV-Infektion lag das Durchschnittsalter bei 47,6 Jahren. Der Altersunterschied zwischen den beiden Patientengruppen war nicht signifikant ($p=0,83$). In der Gruppe der Patienten mit ADV-Nachweis erhielten 29 (72,5%) Patienten eine fremd-allogene und elf (27,5%) Patienten eine familiär-allogene SZT. Von den 29 fremd-allogenen Transplantationen wurden 27 Transplantationen HLA-matched und zwei HLA-mismatched durchgeführt. Zehn der elf familiär-allogenen SZT waren HLA-identische Transplantationen und eine war HLA-nichtidentisch. Bei der Patientengruppe ohne ADV-Nachweis (n=15) wurde in acht Fällen eine familiär-allogene, HLA-identische SZT und in sieben Fällen eine fremd-allogene, HLA-matched SZT durchgeführt. Bei den untersuchten Patienten wurde kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Übereinstimmungsgrad von Spendern und Empfängern hinsichtlich Verwandtschaft und HLA-Kompatibilität und dem Auftreten einer ADV-Infektion festgestellt ($p=0,24$). 27 (67,5%) Patienten mit ADV-Infektion erhielten eine dosisreduzierte Konditionierungstherapie. Bei 13 (32,5%) der ADV-positiven Patienten wurde eine konventionelle Konditionierung durchgeführt. In der Patientengruppe ohne ADV-Infektion wurden neun (60%) Patienten nach dosisreduzierter und sechs (40%) Patienten nach konventioneller Konditionierungstherapie stammzelltransplantiert. Die Intensität der Konditionierungstherapie und das Auftreten von ADV-Infektionen standen bei den beobachteten Patienten in keinem signifikanten Zusammenhang ($p=0,75$).

Von den 40 ADV-positiven Patienten erkrankten 22 (55,0%) Patienten an einer akuten GvHD. Die übrigen 18 (45,0%) Patienten entwickelten diese Erkrankung nicht. Bei den erkrankten Patienten war in 14 Fällen nur ein Organ und in acht Fällen zwei oder mehr Organe von einer akuten GvHD betroffen. In der Patientengruppe ohne ADV-Infektion (n=15) erkrankten zehn Patienten an einer akuten GvHD und fünf Patienten nicht. Die unterschiedliche Häufigkeit des Auftretens einer akuten GvHD in den beiden Patientengruppe war nicht signifikant (p=0,54). Die beschriebenen Daten sind in Tabelle 23 zusammengefasst.

Tabelle 23: Charakteristika: Patienten mit und ohne ADV-Infektion
 Abkürzungen: GvHD: Graft-versus-Host-Erkrankung, fam: familiär

		Auf ADV getestete Patienten (n=55)		p-Werte
		ADV-positiv (n=15)	ADV-negativ (n=40)	
Geschlecht	männlich	13	27	0,19
	weiblich	2	13	
Alter (Mittelwert in Jahren)		49,1	45,6	0,37
Verwandtschaft zum Spender	fremd-matched	7	27	0,24
	fremd-mismatched	0	2	
	fam-ident	8	10	
	fam-nichtident	0	1	
Konditionierung	dosisreduziert	9	27	0,75
	konventionell	6	13	
Akute GvHD	ja	10	22	0,54
	nein	5	18	
Tod in den ersten 100 Tagen nach SZT	ja	5	8	0,30
	nein	10	32	

3.3.2 Zeitpunkt der ADV-Nachweise

Bei 40 von 55 untersuchten Patienten wurde ADV-DNA in mindestens einer Probe nachgewiesen, wobei bei 26 dieser Patienten ADV in mehr als in einer Probe nachgewiesen werden konnte. ADV wurde im Mittel erstmalig am Tag +31,9 nach SZT nachgewiesen (Median: Tag +28, Spannweite [range]: 1-97). Der Unterschied zum CMV-Erstnachweis bei den Patienten mit CMV-Reaktivierung/-Infektion (Mittelwert: +35,7; Median: Tag +34, Spannweite [range]: 2-86) war nicht signifikant ($p=0,149$). Bei den Patienten mit nachgewiesener ADV-Infektion ($n=40$) wurde der Zusammenhang von Aufenthaltsort nach SZT (stationär versus ambulant) und der Auftretenshäufigkeit von ADV-Infektionen statistisch untersucht. In die Analyse wurden 28 Patienten eingeschlossen, die 1. mindestens einen positiven ADV-Nachweis aufwiesen und 2. bei denen Testungen auf ADV sowohl in der ambulanten als auch in der stationären Phase durchgeführt wurden. Für jeden Patienten erfolgte die Ermittlung des relativen Anteils positiver ADV-Nachweise an der Gesamtzahl durchgeführter ADV-Testungen in der jeweiligen Phase (stationär und ambulant). Mittels Wilcoxon-Rang-Test für verbundene Stichproben wurden die sich ergebenden Datenreihen verglichen. Bei den untersuchten Patienten konnte kein signifikanter Unterschied der relativen Häufigkeit von ADV-Infektionen zwischen den ambulanten und stationären Phase festgestellt werden ($p=0,24$).

3.3.3 Klinische Symptomatik im Zusammenhang mit ADV

Bei 27 (67,5%) der 40 Patienten mit ADV-Infektion wurde *keine* manifeste ADV-assoziierte Erkrankung/Symptomatik diagnostiziert. 13 (32,5%) Patienten hatten klinische Manifestationen, die als *möglich* oder *sehr wahrscheinlich* in einem kausalen Zusammenhang mit ADV stehend klassifiziert wurden (siehe Tabelle 24).

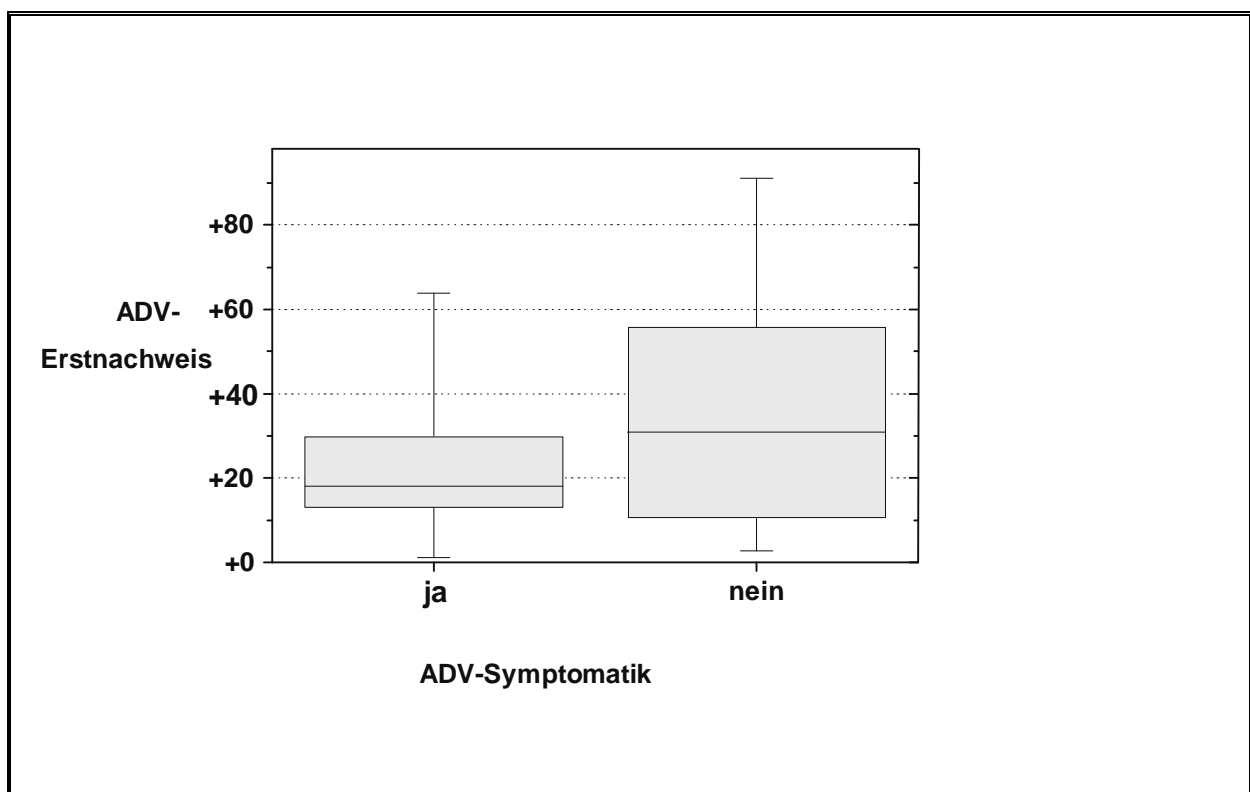
Von den entsprechenden 13 Patienten waren zehn Patienten männlich und drei weiblich. In der Patientengruppe ohne ADV-Manifestationen ($n=27$) waren 17 Männer und zehn Frauen. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen bezüglich der Geschlechterverteilung war nicht signifikant ($p=0,48$). Bei den 13 Patienten mit Symptomatik war das mittlere Alter zum Zeitpunkt der SZT 42,5 Jahre (Minimum: 18 Jahre, Maximum: 65 Jahre) und bei den Patienten ohne Symptomatik 47 (Minimum: 18 Jahre, Maximum: 65 Jahre) Jahre. Der Altersunterschied zwischen den beiden

Gruppen war ebenfalls nicht signifikant ($p=0,50$). Von den 13 Patienten mit ADV-Manifestation erhielten neun Patienten eine fremd-allogene, HLA-matched SZT, zwei Patienten eine familiär-allogene, HLA-idente SZT und je ein Patient eine familiär-allogene, HLA-nichtidente bzw. eine fremd-allogene, HLA-mismatched SZT. In der Patientengruppe ohne ADV-Manifestation wurden 18 Transplantationen fremd-allogen, HLA-matched, acht Transplantationen familiär-allogen, HLA-ident und eine Transplantation fremd-allogen, HLA-mismatched durchgeführt. Bei den untersuchten Patienten konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Übereinstimmungsgrad von Spendern und Empfängern und dem Auftreten einer symptomatischen ADV-Infektion festgestellt werden ($p=0,33$). Als Übereinstimmungsgrad wurden hierbei die HLA-Kompatibilität und die Verwandtschaft (fremd versus familiär) von Spender und Empfänger analysiert. Von den Patienten mit ADV-assoziiertes Symptomatik ($n=13$) erhielten acht Patienten eine dosisreduzierte und fünf Patienten eine konventionelle Konditionierungstherapie. In der Patientengruppe ohne ADV-assoziiertes Symptomatik/Erkrankung wurde in 19 Fällen ein dosisreduziertes und in acht Fällen ein konventionelles Konditionierungsregime verwandt. Bei einem um etwa 10% höheren Anteil konventioneller Konditionierungen in der Patientengruppe mit klinischer ADV-Symptomatik gegenüber der Gruppe ohne ADV-Symptomatik wurde kein diesbezüglicher signifikanter Unterschied festgestellt ($p=0,72$). Von den 13 symptomatischen Patienten erkrankten sechs Patienten an einer akuten GvHD. Die übrigen sieben Patienten erkrankten nicht. In der Patientengruppe ohne ADV-assoziiertes klinischer Symptomatik entwickelten 16 der 27 Patienten eine akute GvHD, während bei elf Patienten keine akute GvHD auftrat. In vorliegender Untersuchung unterschieden sich Patienten mit und ohne akuter GvHD nicht signifikant im Auftreten von ADV-assoziiertes Symptomatik ($p=0,50$).

Der mittlere Tag des Erstdnachweises von ADV in der symptomatischen Patientengruppe (n=13) war Tag +21,3 (Median: Tag +18, Spannweite [range]: 1-69) nach SZT. Bei den Patienten ohne ADV-assoziiertes Symptomatik wurde ADV im Durchschnitt am Tag 36,9 (Median: Tag +31, Spannweite [range]: 1-97) nach SZT und somit 15,6 Tage später nachgewiesen. Der Unterschied im Zeitpunkt des ADV-Erstdnachweises zwischen den beiden Patientengruppen war jedoch nicht signifikant ($p=0,12$) (siehe Abbildung 11).

Abbildung 11: ADV-Erstdnachweis bei Patienten mit und ohne ADV-Manifestation

Abkürzungen: ADV: Adenovirus



Bei allen 13 Patienten mit ADV-assoziiertes Symptomatik wurden ADV-DNA im Blut nachgewiesen. Zusätzlich lag bei zwei von vier getesteten Patienten ein positiver Nachweis aus Stuhl, bei fünf von acht getesteten Patienten aus Knochenmark, bei drei von sieben getesteten Patienten aus Urin, bei einem von drei getesteten

Patienten aus Material einer BAL und bei einem von fünf getesteten Patienten aus Liquor vor. In der nachfolgenden Tabelle sind die beschriebenen Resultate als Übersicht dargestellt (siehe Tabelle 24).

Tabelle 24: Charakteristika: Patienten mit und ohne ADV-assoziiertes Symptomatik
 Abkürzungen: GvHD: Graft-versus-Host-Erkrankung, *13 Patienten mit Symptomatik, die sicher oder sehr wahrscheinlich oder möglicherweise durch ADV verursacht worden ist.

		Patienten mit positivem ADV-Nachweis (n=40)		p-Werte
		Patienten ohne ADV-Erkrankung (n=27)	Patienten mit ADV-Erkrankung* (n=13)	
Geschlecht	männlich	17	10	0,48
	weiblich	10	3	
Alter (Mittelwert in Jahren)		47,0	42,5	0,43
Verwandtschaft zum Spender	fremd-matched	18	9	0,33
	fremd-mismatched	1	1	
	fam-ident	8	2	
	fam-nichtident	0	1	
Konditionierung	dosisreduziert	19	8	0,72
	konventionell	8	5	
Akute GvHD	ja	16	6	0,5
	nein	11	7	
ADV-Ersnachweis (Mittelwert)		+35,6	+21,3	0,06
Tod in den ersten 100 Tage nach SZT	ja	5	3	1,00
	nein	22	10	

Von den insgesamt 13 symptomatischen Patienten hatten zwei Patienten drei bzw. zwei klinische Manifestationen einer ADV-Infektion, welche hinsichtlich ihres kausalen Zusammenhangs mit ADV unterschiedlich klassifiziert wurden. Daher ergab sich eine Anzahl von neun Patienten, bei denen eine aufgetretene klinische Symptomatik als *möglicherweise* durch ADV verursacht bewertet wurde und eine Anzahl von sechs Patienten, bei denen eine aufgetretene klinische Symptomatik als *sehr wahrscheinlich* durch ADV verursacht beurteilt wurde. Tabelle 25 zeigt eine Übersicht der symptomatischen Patienten (n=13), der jeweiligen Diagnosen sowie der jeweilig auf ADV getesteten und positiven Probenmaterialien. Als *möglicherweise* durch ADV verursachte Erkrankungen konnten diagnostiziert werden: atypische Pneumonie (n=2), Enteritis/Diarrhöe (n=2), hämorrhagische Cystitis (n=2) und Thrombozytopenie (n=4).

Sehr wahrscheinlich durch ADV verursacht wurden eine Enzephalitis (n=1), eine atypische Pneumonie (n=1), eine Enteritis/Diarrhöe (n=1) sowie drei Fälle von hämorrhagischer Cystitis (n=3).

Tabelle 25: ADV-positives Probenmaterial und assoziierte Symptomatik

Abkürzungen: KM: Knochenmark, BAL: Bronchoalveoläre Lavage, RAS: Rachenabstrich, RSW: Rachenspülwasser, Biopsie: aus dem Gastrointestinaltrakt, häm. Cystitis: hämorrhagische Cystitis, w: sehr wahrscheinlich durch ADV verursacht, m: möglicherweise durch ADV verursacht

Patient	Material in dem ADV nachgewiesen werden konnte	getestetes Material	Diagnosen	Tod in 100 Tagen nach SZT
1	Blut	Blut	atypische Pneumonie (m)	ja
2	Blut	Blut/KM/BAL	Thrombozytopenie (m)	nein
10	Blut/KM	Blut/KM	Thrombozytopenie (m)	nein
13	Blut/Stuhl	Blut/RAS/Urin/ Stuhl/RSW/Liquor	Diarrhöe/Enteritis (w)	nein
19	Blut/KM/Stuhl	Blut/Urin/KM/ Stuhl/Sputum	atypische Pneumonie (w) Diarrhöe/Enteritis (m)/ Thrombozytopenie (m)	nein
21	Blut/Urin	Blut/RAS/Urin/ Stuhl	häm. Cystitis (w)	nein
24	Blut	Blut/Urin	häm. Cystitis (m)	nein
38	Blut	Blut/KM/Urin/BAL/ Liquor/Biopsie	häm. Cystitis (m)	nein
25	Blut/KM/Urin	Blut/KM/Urin/ Stuhl/RSW	häm. Cystitis (w)	nein
32	Blut/Liquor	Blut/KM/Liquor	Enzephalitis (w)	nein
34	Blut/KM	Blut/KM	Diarrhöe/Enteritis (m)	nein
43	Blut/KM/Urin	Blut/KM/RSW/Urin/ Liquor/Biopsie	häm. Cystitis (w)/ Thrombozytopenie (m)	ja
54	Blut/BAL	Blut/BAL/Liquor	atypische Pneumonie (m)	ja

Patient 1 (siehe Tabelle 25) entwickelte ab Tag +23 eine pulmonale Symptomatik, die aufgrund der vordergründigen Verdachtsdiagnose einer Pilzinfektion und nur einmaligem positiven ADV-Nachweis aus peripherem Blut als *möglicherweise* durch ADV verursacht klassifiziert wurde. *Patient 2* wurde am Tag +62 nach SZT mit febriler Panzytopenie stationär aufgenommen. Der Knochenmarkbefund war, bei positivem Nachweis des Virus im peripheren Blut, ADV-negativ. Die Ätiologie der

Symptomatik konnte letztendlich nicht sicher geklärt werden. Da jedoch unter Antibiose eine rasche Entfieberung eintrat, ist ADV als nur *möglicher* Verursacher der Symptomatik eingestuft worden. Bei *Patient 10* wurde der Zusammenhang von Thrombozytopenie und ADV-Infektion retrospektiv ebenfalls als *möglich* eingestuft. Die Patientin wurde 66 Tage nach allogener SZT aufgrund einer Neuropathie und einer Thrombozytopenie stationär aufgenommen. Zu dem Zeitpunkt wurden keine Proben auf ADV getestet. Eine CMV-Infektion des Knochenmarks wurde ausgeschlossen. Aufgrund der Histologie des Knochenmarkes war am ehesten von einem peripheren Thrombozytenverbrauch auszugehen. Die Symptomatik wurde zu dem Zeitpunkt als nicht-viraler Genese klassifiziert. Die durchgeführten Nachtestungen auf ADV ergaben positive Resultate für die Analyse zweier Blutproben, so dass retrospektiv eine Verursachung der Thrombozytopenie durch ADV als *möglich* eingestuft wurde. *Patient 13* entwickelte während eines stationären Aufenthaltes am Tag +86 eine Enteritis mit Diarrhöe. ADV konnte sowohl im Blut als auch im Stuhl nachgewiesen werden. Eine akute GvHD konnte in der durchgeführten Biopsie nicht sicher ausgeschlossen werden. Die Symptomatik wurde daher aufgrund des klinischen Verlaufs als *sehr wahrscheinlich* durch ADV verursacht diagnostiziert.

Bei *Patient 19* trat während der neutropenischen Phase eine röntgenologisch diagnostizierte asymptomatische Pneumonie auf. Bei zeitgleichem Nachweis von ADV im peripheren Blut als einzigem potentiellen Erreger wurde der Zusammenhang als *wahrscheinlich* klassifiziert. Derselbe Patient entwickelte im weiteren Verlauf eine Thrombozytopenie und eine starke Diarrhöe. Während der thrombozytopenen Phase wurde zeitgleich ein anderer Erreger (PVB19) im Knochenmark nachgewiesen, so dass ein Zusammenhang der Symptomatik mit ADV als nur *möglich* bewertet wurde. Die aufgetretene Diarrhöe wurde bei positivem ADV-Nachweis im Stuhl ebenfalls nur als *möglich* durch ADV verursacht klassifiziert, da die Diarrhöe auf die Therapie mit Laxantien bei einem paralytischen Ileus zurückgeführt wurde. Bei *Patient 21* wurde eine hämorrhagische Cystitis diagnostiziert, die aufgrund positiver Nachweise von ADV im Blut und Urin als *wahrscheinlich* durch ADV verursacht eingestuft wurde. *Patient 24* entwickelte unmittelbar nach der SZT eine hämorrhagische Cystitis. Nach einer Hochdosischemotherapie mit Busulfan und Cyclophosphamid wurde diese Symptomatik als medikamentös-toxischer Genese eingeordnet. Erst die nachträglichen Testungen zeigten, dass eine ADV-Infektion zum Zeitpunkt der

Symptomatik vorgelegen hatte. Daher war die ADV-Infektion als Ursache der Syptomatik retrospektiv nicht auszuschließen und die Einstufung des Zusammenhangs erfolgte als *möglich*. Ebenfalls als *möglich* mit ADV in einem Zusammenhang stehend wurde bei *Patient 38* die am Tag +12 nach SZT aufgetretene hämorrhagische Cystitis klassifiziert. Bei diesem Patienten wurde ADV im Blut, nicht aber im Urin nachgewiesen. Während eine Infektion mit CMV und ENV ausgeschlossen wurde, erfolgten keine Testungen auf BKV. Die hämorrhagische Cystitis wurde insgesamt auf eine medikamentös-toxische Genese zurückgeführt. *Patient 25* entwickelte 37 Tage nach allogener SZT eine hämorrhagische Cystitis. Bei positivem Urinbefund für ADV und der Abwesenheit von wahrscheinlicheren Ätiologien wurde die Cystitis als *sehr wahrscheinlich* ADV verursacht klassifiziert. Die bei *Patient 32* aufgetretene symptomatische Enzephalitis wurde aufgrund des Nachweises von ADV-DNA im Liquor und fehlenden anderweitigen möglicheren Ursachen der Symptomatik als *sehr wahrscheinlich* durch ADV verursacht eingestuft. Bei *Patient 34* traten im Verlauf nach SZT Diarrhöen auf, die bei positivem Nachweis von Clostridium difficile und Enterohämorrhagische Escherichia coli nach einer initiierten Antibiose sistierten. Die Nachtestungen von Proben aus dieser Zeit auf ADV ergaben positive Testresultate, so dass eine Mitverursachung der Symptomatik durch ADV als *möglich* bewertet wurde. *Patient 43* entwickelte, bei zeitgleichem Nachweis von ADV im Knochenmark, am Tag +55 nach SZT eine Thrombozytopenie. Der Zusammenhang zwischen insuffizienter Hämatopoese und positivem Virus-Nachweis wurde als *möglich* beurteilt, da als Differentialdiagnosen eine Thrombotisch-thrombozytopenische Purpura und ein sekundäres Graft failure im Vordergrund standen. Die am Tag +60 aufgetretene hämorrhagische Cystitis bei demselben Patienten wurde bei positivem Urinbefund und mangelnden wahrscheinlicheren Differentialdiagnosen als *sehr wahrscheinlich* durch ADV verursacht klassifiziert. Bei *Patient 54* trat am Tag +6 nach SZT eine klinisch-radiologisch diagnostizierte atypische Pneumonie auf. ADV konnte zu dem Zeitpunkt in der durchgeführten BAL und Blut nachgewiesen werden. Die mikrobiologischen Befunde waren negativ. Letztendlich wurde aufgrund des klinischen Verlaufs eine alveoläre Hämorrhagie diagnostiziert. Daher ist eine ADV-assoziierte atypische Pneumonie allenfalls als *möglich* zu klassifizieren gewesen.

Geringgradige Symptomatik in Assoziation mit ADV

Von 53 der 58 untersuchten Patienten wurde nachträglich kryokonserviertes Blut auf ADV getestet. Die nachträglichen Testungen ergaben 69 positive Proben von insgesamt 39 Patienten. An 52 der 69 Tage mit positivem ADV-Nachweis lag keine Dokumentation von Symptomen oder Beschwerden, die mit ADV assoziiert werden konnten, vor. Bei 17 der 69 Tage waren Symptome und Beschwerden dokumentiert, die durch ADV verursacht gewesen sein könnten. In sechs der 17 Fälle lag bereits eine die Symptomatik erklärende Diagnose vor. Die Genese der Symptomatik wurde in den entsprechenden Fällen als nicht wahrscheinlich durch ADV bedingt erachtet, so dass insgesamt elf ADV-positive Proben von zehn verschiedenen Patienten in einen Zusammenhang mit unspezifischer Beschwerdesymptomatik gebracht werden konnten/können. Folgende Symptome und Beschwerden wurden festgestellt: Müdigkeit, Halsschmerzen, Husten, Schnupfen, Heiserkeit, Sinusitis, Übelkeit, Brechreiz, Meteorismus, reduzierte Stuhlkonsistenz und Dysurie. Aufgrund der beschriebenen Manifestationen erfolgte eine rein symptomatische Therapie.

3.3.4 ADV-Infektion und Thrombozytenanzahl

Für ADV wurde nach der gleichen Methode wie für CMV (siehe Punkt 3.2.4) untersucht, ob ein positiver ADV-Nachweis im Blut bzw. Knochenmark innerhalb des bestimmten Zeitintervalls von sieben Tagen mit einem Thrombozytenwert von <50 GPT/L bzw. <20 GPT/L korreliert. Für eine statistische Analyse der ADV-Nachweise aus Knochenmark waren die erhobenen Daten unzureichend. Zwischen den Patienten mit und ohne ADV-Nachweis im Blut konnte kein signifikanter Unterschied hinsichtlich ihrer Thrombozytenwerte festgestellt werden (siehe Tabelle 26).

Tabelle 26: Korrelation von ADV-Nachweis und Thrombozytenanzahl

Abkürzungen: ADV: Adenovirus, GPT/L: Gigapartikel pro Liter, p: Irrtumswahrscheinlichkeit, KM: Knochenmark, Ty: Tag von dem der Thrombozytenwert für die Auswertung genommen wurde

Ty +/- 3 Tage	Thrombozyten <20 GPT/L	Thrombozyten <50 GPT/L
ADV-positiv im Blut	p=0,31	p=1,00

3.3.5 ADV-assoziierte Symptomatik und Leukozytenanzahl

Bei den 40 ADV-positiven Patienten wurde geprüft, ob eine Leukozytenzahl von <1 GPT/L bzw. $<0,3$ GPT/L am Tag des erstmaligen ADV-Nachweises mit dem Auftreten einer ADV-Symptomatik/Erkrankung im weiteren klinischen Verlauf assoziiert war. Bei 26 der 40 Patienten lag am Tag des ADV-Erstnachweises eine Leukozytenanzahl von >1 GPT/L und bei 14 Patienten eine Anzahl von <1 GPT/L Leukozyten vor. Von den entsprechenden 14 Patienten hatten acht Patienten eine Leukozytenanzahl von $<0,3$ GPT/L. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Patientengruppen bezüglich einer ADV-assoziierten Symptomatik im weiteren Verlauf konnte nicht festgestellt werden ($p=1,00$).

3.3.6 ADV und Mortalität

In der gesamten Patientengruppe ($n=58$) verstarben 16 Patienten innerhalb der ersten 100 Tagen nach allogener SZT. Testungen auf ADV wurden bei 13 der 16 Patienten durchgeführt. Bei acht (61,5%) der 13 Patienten konnte in der beobachteten Zeitspanne ADV-DNA im peripheren Blut nachgewiesen werden. Bezogen auf die Gesamtheit der Sterbefälle ($n=16$) in der untersuchten Patientengruppe ergab sich ein Anteil von acht (50%) ADV-infizierten Patienten. Das Auftreten einer ADV-Infektion stand bei den untersuchten Patienten nicht im Zusammenhang mit einem Versterben innerhalb der ersten 100 Tagen nach SZT ($p=0,30$). Von den 13 auf ADV getesteten und verstorbenen Patienten zeigten drei Patienten Symptome/Erkrankungen, die als *wahrscheinlich* oder *möglicherweise* durch ADV verursacht klassifizierte worden sind. Eine ADV-Infektion/-Erkrankung war bei keinem der Patienten die zum Tode führende Ursache. Ein statistischer Unterschied zwischen Patienten mit und ohne ADV-assoziierte Symptomatik hinsichtlich dem Auftreten tödlicher Komplikationen in den ersten 100 Tagen nach SZT konnte nicht festgestellt werden ($p=1,00$).

3.4 Andere Viren

3.4.1 Enterovirus (ENV)

Es wurden 164 Proben von 30 Patienten auf EVN untersucht. Von den 30 getesteten Patienten wurde bei elf (36,7%) Patienten ENV-RNA nachgewiesen. 19 getestete Patienten waren ENV-negativ. ENV wurde bei sieben Patienten im Blut, bei vier Patienten im Stuhl, bei drei Patienten im Rachenspülwasser sowie bei zwei Patienten im Knochenmark festgestellt. Bei je einem Patienten wurde ENV im Urin bzw. in Erbrochenem nachgewiesen. Tabelle 27 gibt einen Überblick über die bei den elf ENV-positiven Patienten durchgeführten Testungen und ihre Ergebnisse.

Tabelle 27: ENV-positives Probenmaterial und assoziierte Symptomatik

Abkürzungen: ENV: Enterovirus, KM: Knochenmark, EB: Erbrochenes, RSW: Rachenspülwasser, RAS: Rachenabstrich, Biopsie: aus dem Gastrointestinaltrakt, m: möglicher Zusammenhang mit ENV, w: sehr wahrscheinlicher Zusammenhang mit ENV

Patient	Erstnachweis +Tag	ENV getestetes Material (getesteten Proben)	ENV-positives Material (positive Proben)	Durch ENV verursachte Symptomatik (Zusammenhang)
2	+64	Blut(3), KM (1), RSW(1), BAL(1)	KM(1)	Panzytopenie(m)
4	+59	Blut(1)	Blut(1)	-
10	+34	Blut(2), KM(2)	Blut(1)	-
12	+9	Blut(1), Stuhl(1)	Stuhl(1)	-
19	+11	Blut(1), Stuhl(2), Urin(3), KM(1)	Urin(2)	-
21	+17	RAS(1), Blut(5), KM(1), Stuhl(3), Urin(4)	KM(1), Blut(2), Stuhl(1)	-
25	+37	Blut(3), KM(3),Urin(2), Stuhl(2)	Blut(1)	-
28	+30	Blut(4), KM(2), RSW(1),EB(1), Stuhl(1), Urin(1)	Blut(1), RSW(1), EB(1)	Gastroenteritis(w)
29	+11	Blut(4), RSW(1), Stuhl(2),	Blut(3), RSW(1), Stuhl(1)	Enteritis/Diarrhöe(m)
43	+70	RSW(2), Stuhl(4), KM(1), Urin(1), Biopsie(1)	Stuhl(1)	Pneumonie(m)
55	+33	RSW(2), Blut(2), KM(1)	RSW(1), Blut(1)	Enteritis/Diarrhöe(w)

Die Zusammensetzung der Probenmaterialien und ihre Testresultate sind in Tabelle 28 aufgeführt.

Tabelle 28: Probenmaterialien und ihre Testresultate für ENV

Abkürzungen: BAL: Bronchoalveoläre Lavage, GITS: Gastrointestinalsekret, RSW: Rachenspülwasser, RAS: Rachenabstrich

Probenmaterial (ENV)			
	Anzahl positiver Proben	Anzahl negativer Proben	Summe
Blut	10 (19,2%)	52 (80,8%)	62
Stuhl	4 (16,7%)	24 (83,3%)	28
Urin	2 (13,3%)	13 (86,7%)	15
Knochenmark	2 (6,5%)	29 (93,5%)	31
BAL	0	4	4
GITS	0	1	1
RSW	3	6	9
RAS	0	2	2
Liquor	0	6	6
Sputum	0	1	1
Biopsie	0	2	2
Erbrochenes	1	2	3
Summe	22 (13,4%)	142 (86,6%)	164

Der Erstdnachweis von ENV gelang im Durchschnitt am Tag +34,1 nach allogener SZT (Median: Tag +33, Spannweite [range]: 9-64). Die Gruppe der Patienten mit positivem ENV-Nachweis (n=11) bestand aus acht Männern und drei Frauen, die der Patienten ohne positiven ENV-Nachweis bestand aus 13 männlichen und sechs weiblichen Patienten. Zwischen den beiden Patientengruppen wurde bei Vorliegen eines fast identischen Geschlechterverhältnisses kein signifikanter Unterschied festgestellt (p=1,00). Das durchschnittliche Alter zum Zeitpunkt der SZT der Patienten mit positivem ENV-Nachweis (n=11) war 45,8 Jahre (Minimum: 18 Jahre, Maximum: 65 Jahre), das der Patienten ohne ENV-Nachweis 52,6 Jahre (Minimum: 22 Jahre, Maximum: 65 Jahre). Dieser Altersunterschied beider Gruppen war nicht signifikant (p=0,41).

Bei sieben der elf ENV-positiven Patienten wurden fremd-allogene und bei vier Patienten familiär-allogene SZT durchgeführt. Von den fremd-allogenen SZT waren vier HLA-matched und drei HLA-mismatched. In der Patientengruppe ohne positiven ENV-Nachweis wurden 15 fremd-allogene, HLA-idente und vier familiär-allogene, ebenfalls HLA-idente Stammzelltransplantationen durchgeführt. Patienten mit ENV-Infektion wiesen signifikant häufiger das Merkmal „HLA-mismatched Spender“ auf ($p=0,01$) (siehe Tabelle 29).

Tabelle 29: ENV-Infektion und verwandtschaftlicher Übereinstimmungsgrad von Spender und Empfänger

Abkürzungen: HLA: Humanes Leukozyten-Antigen, *: Signifikanz

		Verwandschaft und HLA-Kompatibilität von Spendern und Empfängern				Summe
		familiär-idente SZT	familiär-nichtidente SZT	fremd-matched SZT	fremd-mismatched SZT	
Enterovirus-Infektion	ja	3	1	4	3	11
	nein	4	0	15	0	19
	Summe	7	1	19	3	30
					p=0,01*	

In beiden Patientengruppen wurde bei je vier Patienten eine konventionelle Konditionierungstherapie durchgeführt. Die übrigen sieben bzw. 15 Patienten erhielten eine dosisreduzierte Konditionierung. Der Unterschied der beiden Patientengruppen bezüglich der angewandten Konditionierungsintensitäten war nicht signifikant ($p=0,41$). In der Patientengruppe mit ENV-Infektion ($n=11$) entwickelten sieben Patienten eine akute GvHD. Bei den betroffenen Patienten trat in vier Fällen eine Beteiligung von zwei oder mehr Organsystemen auf und in drei Fällen eine Beteiligung nur eines Organs. Von den ENV-negativen Patienten ($n=19$) erkrankten neun Patienten an akuter GvHD, wobei in fünf Fällen eine Beteiligung von zwei oder mehr Organen und in vier Fällen eine Beteiligung nur eines Organs auftrat. Die übrigen zehn Patienten dieser Gruppe entwickelten keine GvHD. Insgesamt war der relative Anteil an Patienten, die eine akute GvHD entwickelten, in der Gruppe von Patienten mit ENV-Infektion um etwa 15% höher als in der Patientengruppe ohne ENV-Infektion. Jedoch war dieser Unterschied nicht signifikant ($p=0,70$). Bei vier der

ENV-positiven Patienten konnte außer ENV noch eine weitere Virusspezies nachgewiesen werden, bei fünf Patienten noch zwei und bei einem Patienten noch fünf verschiedene Virusarten. Es ergaben sich zehn Patienten mit zusätzlichem Nachweis von ADV, vier Patienten mit CMV und zwei Patienten mit einem Nachweis von HSV. Bei je einem Patienten wurden außer ENV noch PVB19, JCV und RSV nachgewiesen. Aus der Patientengruppe mit ENV-Infektion (n=11) verstarben drei Patienten in den ersten 100 Tagen nach SZT. Von den 19 ENV-negativen Patienten verstarben vier Patienten in der beobachteten Zeitspanne. Ein statistischer Zusammenhang zwischen ENV-Infektion und einem Versterben in den ersten 100 Tagen nach allogener SZT konnte bei den untersuchten Patienten nicht festgestellt werden ($p=1,00$). Die oben ausgeführten Resultate sind in Tabelle 30 zusammengefasst.

Tabelle 30: Charakteristika: Patienten mit und ohne ENV-Infektion

Abkürzungen: ENV: Enterovirus, GvHD: Graft-versus-Host-Erkrankung, fam: familiär, *: Signifikanz

		Auf Enterovirus getestete Patienten (n=30)		p-Werte
		Patienten ohne ENV-Infektion (n=19)	Patienten mit ENV-Infektion (n=11)	
Geschlecht	männlich	13	8	1,00
	weiblich	6	3	
Alter (Mittelwert in Tagen)		52,6	45,8	0,41
Verwandtschaft zum Spender	fremd-matched	15	4	0,01*
	fremd-mismatched	0	3	
	fam-ident	4	3	
	fam-nichtident	0	1	
Konditionierung	dosisreduziert	15	7	0,41
	konventionell	4	4	
Akute GvHD	ja	10	7	0,70
	nein	9	4	
Tod in den ersten 100 Tagen nach SZT	ja	4	3	1,00
	nein	15	8	

In der Patientengruppe mit positivem ENV-Nachweis (n=11) traten bei zwei Patienten (*Patient 28* und *Patient 55*) gastrointestinale Beschwerden auf, die als *sehr wahrscheinlich* in einem kausalen Zusammenhang mit ENV stehend klassifiziert wurden. Bei *Patient 28* (siehe Tabelle 29) wurde bei Nachweis des Virus aus Blut, Erbrochenem und Rachenspülwasser am Tag +26 eine Gastroenteritis diagnostiziert. Es lag eine typische klinische Symptomatik mit Übelkeit, Erbrechen und reduzierter Stuhlkonsistenz vor. Das CRP war bei dem afebrilen Patienten auf 10,2 mg/l erhöht. *Patient 55* entwickelte am Tag +29 nach SZT eine Enteritis mit Diarrhöe und Fatigue-ähnlicher Symptomatik. ENV wurde im Blut und im Rachenspülwasser nachgewiesen. Die mehrfachen Testungen auf ADV waren während der klinischen Symptomatik negativ. In diesem Fall wurde die Symptomatik ebenfalls als *sehr wahrscheinlich* durch ENV verursacht beurteilt. Bei drei weiteren ENV-positiven Patienten (*Patient 2*, *Patient 29* und *Patient 43*) wurde der Zusammenhang mit einer aufgetretenen Symptomatik als *möglich* klassifiziert. *Patient 2* wurde am Tag +62 nach SZT aufgrund einer Thrombozytopenie und Körpertemperaturen von über 38 °C stationär aufgenommen. Bis auf ENV im Knochenmark wurden keine potentiellen Erreger und anderen Ursachen der Symptomatik identifiziert. Der kausale Zusammenhang zwischen Thrombozytopenie und ENV wurde als *möglich* bewertet, da ENV nicht typischerweise eine Knochenmarksuppression verursacht und sich schließlich unter der antibiotischen Therapie eine deutliche Besserung der klinischen Symptomatik zeigte. Bei *Patient 29* trat eine Enterocolitis mit massiven blutigen Diarrhöen auf. Diese Symptomatik wurde primär auf eine bestehende akute GvHD zurückgeführt. Daher kann der kausale Zusammenhang dieser Symptomatik mit Enteroviren, trotz positiver Nachweise für ENV im Blut und Stuhl, maximal als *möglich* beurteilt werden. *Patient 43* entwickelte ab Tag +67 nach SZT eine Pneumonie bei progredienter Verschlechterung des Allgemeinzustandes. ENV konnte als einziges Virus im Stuhl nachgewiesen werden. Nach einem epileptischen Anfall und unklarer progredienter Somnolenz erfolgte die Verlegung auf eine Intensivstation, wo der Patient eine Woche später im septischen Schock verstarb. Da keine weitere Dokumentation über einen positiven ENV-Nachweis vorlag, wurde der kausale Zusammenhang zwischen Symptomatik und ENV allenfalls als *möglich* klassifiziert.

3.4.2 Herpes-simplex-Virus Typ I (HSV)

Insgesamt wurden 149 Proben von 43 (74,1%) Patienten auf HSV getestet. Bei 13 (28,9%) Patienten wurde HSV-DNA nachgewiesen, wobei zwölf der entsprechenden Patienten positive HSV-Testresultate aus Rachenspülwasserproben aufwiesen. Hiervon war bei acht Patienten Rachenspülwasser das einzige Probenmaterial, in dem HSV nachgewiesen werden konnte. Bei drei Patienten konnte HSV zusätzlich in Abstrichmaterial einer oralen Läsion und bei einem Patienten in einem Rachenabstrich festgestellt werden. Ein weiterer Patient war zusätzlich im Blut, Urin, gastrointestinalem Sekret sowie im Material einer BAL HSV-positiv. Bei einem Patienten wurde HSV ausschließlich in einer Stuhlprobe festgestellt. Die Zusammenfassung positiver (n=29) und negativer (n=120) Probenmaterialien ist in Tabelle 31 aufgeführt.

Tabelle 31: Probenmaterialien und ihre Testresultate auf HSV

Abkürzungen: BAL: Bronchoalveoläre Lavage, GITS: Gastrointestinales Sekret, RSW: Rachenspülwasser, RAS: Rachenabstrich, Abstrich: von HSV-verdächtiger Läsion im Mundbereich

Probenmaterial (HSV)			
	Anzahl positiver Proben	Anzahl negativer Proben	Summe
Blut	1 (2,4%)	41 (97,6%)	42
Stuhl	1	0	1
Urin	0	2	2
Knochenmark	0	11	11
BAL	2	6	8
GITS	1	0	1
RSW	20 (33,3%)	40 (66,7%)	60
RAS	1	6	7
Liquor	0	9	9
Sputum	0	1	1
Abstrich	3	3	6
Biopsie	0	1	1
Summe	29 (19,5%)	120 (80,5%)	149

Der HSV-Erstnachweis gelang im Mittel am Tag +33 (Median: Tag +15, Spannweite [range]: 2-99) nach allogener SZT. Zum Zeitpunkt des ersten positiven Testergebnisses waren sieben der 13 HSV-positiven Patienten engraftet. Von den HSV-positiven Patienten (n=13) wurde bei zehn Patienten zusätzlich ADV, bei acht

Patienten CMV und bei drei Patienten ENV nachgewiesen. Bei jeweils einem Patienten waren zusätzlich JCV, PVB19 oder VZV nachweisbar. Von den 13 HSV-positiven Patienten waren zehn männlich und drei Patienten weiblich. Die Patientengruppe ohne positiven HSV-Nachweis bestand aus 18 Männern und zwölf Frauen. Der Unterschied der Geschlechterverteilung war bei den beiden Gruppen nicht signifikant ($p=0,48$). Der Altersdurchschnitt der Patienten zum Zeitpunkt der SZT lag in beiden Patientengruppen bei etwa 47 Jahren. Es konnte kein signifikanter Altersunterschied zwischen Patienten mit und ohne HSV-Reaktivierung festgestellt werden ($p=0,73$). In der Patientengruppe mit HSV-Reaktivierung ($n=13$) wurden neun Patienten fremd-allogen, HLA-matched und zwei Patienten familiär-allogen, HLA-ident stammzelltransplantiert. Jeweils ein Patient erhielt ein fremd-allogenes, HLA-mismatched bzw. ein familiär-allogenes, HLA-nichtidentisches Transplantat. Von den 30 Patienten ohne positiven HSV-Nachweis wurden 19 Patienten fremd-allogen, HLA-matched transplantiert. Bei zehn Patienten wurde eine familiär-allogene, HLA-idente und bei einem Patienten eine fremd-allogene, HLA-mismatched SZT durchgeführt. Der Unterschied zwischen den untersuchten Patientengruppen bezüglich des verwandtschaftlichen Übereinstimmungsgrad von Spendern und Empfängern war nicht signifikant ($p=0,24$). Als verwandtschaftlicher Übereinstimmungsgrad wurden die HLA-Kompatibilität und die Verwandtschaft (fremd versus familiär) geprüft. In beiden Patientengruppen wurde bei der Mehrzahl der Patienten (7 von 13 Patienten bzw. 25 von 30 Patienten) eine dosisreduzierte Konditionierung durchgeführt. Ein konventionelles Konditionierungsregime wurde bei sechs der 13 HSV-positiven und bei fünf der 30 HSV-negativen Patienten verwendet. Zwischen der Konditionierungsintensität und dem Auftreten einer HSV-Reaktivierung wurde bei den untersuchten Patienten kein signifikanter Zusammenhang festgestellt ($p=0,06$). Von den 13 HSV-positiven Patienten entwickelten zehn Patienten in dem beobachteten Zeitraum eine akute GvHD. Sechs der betroffenen Patienten zeigten Manifestationen an nur einem Organ und vier Patienten an zwei oder mehr Organen. In der Gruppe der Patienten ohne HSV-Nachweis erkrankte die Hälfte der Patienten ($n=15$) an akuter GvHD, wobei in acht Fällen nur ein Organ und in sieben Fällen zwei oder drei Organe befallen waren. Das Auftreten von HSV-Reaktivierung stand bei den beobachteten Patienten in keinem signifikanten Zusammenhang mit der Entwicklung einer akuten GvHD ($p=0,17$).

Bei acht von 13 Patienten manifestierte sich eine symptomatische HSV-Reaktivierung mit HSV-Läsionen/Mukositis im oberen Oropharyngealtrakt. In sieben der Fälle erfolgte eine Therapie mit Aciclovir. In der Patientengruppe ohne Nachweis von HSV lag in vier Fällen eine Dokumentation fraglicher HSV-Läsionen vor, weswegen bei den Patienten eine antivirale Therapie mit Aciclovir eingeleitet wurde. Aus der Patientengruppe ohne HSV-Reaktivierung (n=30) verstarben vier (13,3%) Patienten in den ersten 100 Tagen nach SZT. Von den 13 Patienten mit HSV-Reaktivierung verstarben fünf innerhalb des Beobachtungsintervalls. Der Unterschied zwischen den beiden Patientengruppen war nicht signifikant (p=0,10). Die beschriebenen Daten sind in nachfolgender Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 32: Charakteristika: Patienten mit und ohne HSV-Reaktivierung

Abkürzungen: HSV: Herpes-simplex-Virus, fam: familiär, GvHD: Graft-versus-Host-Erkrankung

		Auf HSV getestete Patienten (n=43)		p-Werte
		Patienten mit HSV-Reaktivierung/-Infektion (n=13)	Patienten ohne HSV-Reaktivierung/-Infektion (n=30)	
Geschlecht	männlich	10	18	0,48
	weiblich	3	12	
Alter (Mittelwert in Jahren)		47,1	47,8	0,73
Verwandtschaft zum Spender	fremd-matched	9	19	0,24
	fremd-mismatched	1	1	
	fam-ident	2	10	
	fam-nichtident	1	0	
Konditionierung	dosisreduziert	7	25	0,06
	konventionell	6	5	
Akute GvHD	ja	10	15	0,17
	nein	3	15	
Tod in den ersten 100 Tagen	ja	5	4	0,10
	nein	8	26	

3.4.3 Parvovirus B19 (PVB19)

Insgesamt wurden 45 Proben von 20 (34,5%) Patienten aus der beobachteten Patientenkohorte (n=58) auf PVB19 getestet; 17 Patienten waren PVB19-negativ und drei Patienten positiv. PVB19 wurde bei den drei Patienten im Knochenmark (n=3) und Blut (n=1) nachgewiesen. Entsprechend wurde in 41 (91,1%) der 45 analysierten Proben PVB19 nicht nachgewiesen. Die Tage des Erstnachweises von PVB19 waren Tag +38, +57 und +66 nach allogener SZT. Von den drei Patienten waren zwei männlich (24 Jahre und 46 Jahre) und ein Patient weiblich (42 Jahre). Bei den Patienten wurden eine familiär-allogene, HLA-idente, eine fremd-allogene, HLA-matched und eine fremd-allogene, HLA-mismatched SZT durchgeführt. Zwei der drei Patienten erhielten ein konventionelles und ein Patient ein dosisreduziertes Konditionierungsregime. Keiner der Patienten entwickelte eine akute GvHD in der beobachteten Zeitspanne. Bei allen drei Patienten wurde mindestens noch eine weitere Virusspezies nachgewiesen. In einem Fall wurde noch CMV und in einem Fall noch CMV und ADV festgestellt. Bei dem dritten Patienten wurden zusätzlich ADV, CMV, ENV, HSV und JCV nachgewiesen.

Bei den beiden männlichen Patienten wurde jeweils eine Thrombozytopenie diagnostiziert, deren kausaler Zusammenhang mit PVB19 als *möglich* klassifiziert wurde. In beiden Fällen wurde PVB19 im Knochenmark nachgewiesen. Bei *Patient 20* wurde zeitgleich ADV im Knochenmark festgestellt, so dass die Symptomatik zwar als viraler Genese beurteilt wurde, die alleinige Verursachung durch PVB19 jedoch nur als *möglich* klassifiziert wurde. *Patient 35* wurde am Tag +50 nach SZT aufgrund einer Thrombozytopenie von 32,3 GPT/L stationär aufgenommen. Ein Focus konnte nicht identifiziert werden. Weitere Testungen auf PVB19 waren negativ. Der Nachweis von PVB19 wurde zu dem Zeitpunkt nicht primär in einen Zusammenhang mit der Symptomatik gebracht, so dass retrospektiv der Zusammenhang von PVB19-Nachweis und Thrombozytopenie nur als *möglich* klassifiziert wurde. Keiner der drei Patienten mit positivem PVB19-Nachweis verstarb innerhalb der ersten 100 Tage nach SZT.

Eine Übersicht der beschriebenen Resultate gibt nachfolgende Tabelle 33.

Tabelle 33: Nachweis von Parvovirus B19 und klinische Symptomatik

Abkürzungen: K: Konventionell, DR: dosisreduziert, fam: familiär, KM: Knochenmark, ADV: Adenovirus, ENV: Enterovirus, HSV: Herpes-simplex-Virus, CMV: Cytomegalievirus, JCV: JC-Virus, (m): möglicher Zusammenhang mit PVB19

Patient	Konditionierung	Verwandschaft zum Spender	Material, in dem PB19 nachgewiesen wurde	Erstnachweis +Tag	Nachweis von anderen Viren	Symptomatik in Zusammenhang mit PVB19
20	K	fremd-mismatched	KM	+38	ADV,CMV, ENV,HSV,JCV	(m)
35	K	fremd-matched	KM	+57	ADV,CMV	(m)
54	DR	fam-ident	KM / Blut	+66	CMV	-

3.4.4 JC-Virus (JCV)

Von insgesamt sieben (12,1%) auf JCV getesteten Patienten lagen bei drei Patienten positive Testresultate für JCV vor. Vier Patienten waren JCV-negativ. Das Virus wurde in vier von insgesamt elf getesteten Proben nachgewiesen, wobei ausschließlich Urinproben JCV-positiv waren. In Tabelle 34 sind alle auf JCV getesteten Patienten, ihre Transplantationsdaten und die jeweiligen JCV-positiven und -negativen Probenmaterialien aufgeführt.

Tabelle 34: Vorstellung der auf JCV getesteten Patienten

Abkürzungen: JCV: JC-Virus, m: männlich, fam: familiär, DR: dosisreduzierte Konditionierung, K: Konventionelle Konditionierung, GvHD: Graft-versus-Host-Erkrankung, KM: Knochenmark

Patient	Alter/ Geschlecht	Verwandtschaft zum Spender	Kondi- tionierung	GvHD	JCV- positives Material (Anzahl)	Auf JCV getestetes Material (Anzahl)	Tod in den ersten 100 Tagen
6	28/m	fremd- matched	K	ja	Urin(1)	Urin(1)	nein
30	60/m	fam-ident	DR	ja	Urin(2)	Urin(2)	nein
19	46/m	fremd- mismatched	K	nein	Urin(1)	KM(1), Blut(1), Urin(1)	nein
16	57/m	fremd- matched	DR	ja	-	Urin(1)	ja
25	23/m	fam- nichtident	DR	ja	-	Urin(1)	nein
32	56/m	fremd- matched	DR	ja	-	Blut(1)	nein
43	44/m	fremd- matched	DR	ja	-	KM(1), Biopsie(1)	ja

JCV wurde bei den drei positiven Patienten erstmalig an den Tagen +21, +39 und +41 nach SZT im Urin nachgewiesen. Während bei *Patient 30* innerhalb der ersten +100 Tage nach SZT außer JCV noch CMV nachgewiesen wurde, konnten bei *Patient 6* noch drei weitere Virusspezies (CMV, ADV, HSV) und bei *Patient 19* noch fünf andere Virusspezies (CMV, ADV, HSV, ENV, PVB19) nachgewiesen werden. Bei allen drei Patienten (*Patient 6*, *Patient 30*, *Patient 19*) wurde eine hämorrhagische Cystitis diagnostiziert, die in einem Fall (*Patient 6*) als *möglich* und

in zwei Fällen (*Patient 19 und Patient 30*) als *sehr wahrscheinlich* durch JCV verursacht klassifiziert wurde.

Patient 6 wurde am Tag +34 nach SZT aufgrund einer CMV-Reaktivierung erneut stationär aufgenommen. Bei positivem Urinbefund für JCV und Enterokokken trat während der Hospitalisierung eine hämorrhagische Cystitis auf. Zusätzlich bestanden eine Mukositis und eine akute GvHD mit Hautmanifestation. Der Patient wurde zu dem Zeitpunkt des JCV-Nachweises mit Foscarnet, Prednisolon und antibiotisch therapiert. Bei *Patient 30* wurde eine um den Tag +20 nach SZT aufgetretene hämorrhagische Cystitis diagnostiziert. JCV und Mycoplasma urealyticum wurden jeweils einmalig im Urin nachgewiesen. Am Tag des JCV-Nachweises waren die Entzündungsparameter geringgradig erhöht (CRP 6,3 mg/l und Körpertemperatur: 37,4 °C). Bei dem Patienten lag ein Zustand nach Urothel-Carcinom mit Zustand nach lokaler Radiotherapie vor. Nach erfolgter SZT wurde der Grad der Blasenschleimhauttoxizität mit II nach Bearman angegeben. Insgesamt wurde der Zusammenhang zwischen hämorrhagischer Cystitis und JCV als *sehr wahrscheinlich* eingestuft. *Patient 19* entwickelte zwischen Tag +15 und Tag +17 nach allogener SZT eine schwere hämorrhagische Cystitis. Die Blasenschleimhauttoxizität wurde nach einer Cyclophosphamid-haltigen Konditionierungstherapie mit Grad II nach Bearman angegeben. Im Urin wurden ENV, JCV-Virus und Aspergillus-Antigen nachgewiesen. Zeitgleich lagen positive Testbefunde für ADV und PVB19 aus Knochenmarkproben vor. Am Tag des JCV-Nachweises war der Patient afebril, jedoch zeigte sich eine leichtgradige CRP-Erhöhung (10,9 mg/l). Die hämorrhagische Cystitis wurde als *sehr wahrscheinlich* viraler Genese klassifiziert.

3.4.5 Epstein-Barr-Virus (EBV)

Insgesamt wurden 20 Proben von 13 (22,4%) Patienten auf EBV getestet. Von den analysierten Proben stammten fünf aus Blut, fünf aus Knochenmark sowie je zwei Proben aus Liquor, Stuhl und Rachenspülwasser. Urin, Gastrointestinalesekret und Material einer BAL und eines Rachenabstrichs wurden jeweils einmal getestet. In sieben Proben eines Patienten wurde EBV-DNA nachgewiesen. Das Virus wurde bei

dem betroffenen Patienten erstmalig am Tag +54 nach SZT aus Rachenspülwasser detektiert. Weitere im Verlauf positive Probenmaterialien waren Blut, Knochenmark, Gastrointestinalesekret und Material einer BAL. Außer EBV wurden bei dem Patienten in der beobachteten Zeitspanne noch ADV und HSV nachgewiesen. Der Patient war 60 Jahre alt, männlich und wurde aufgrund eines Multiplen Myeloms nach dosisreduzierter Konditionierung fremd-allogen, HLA-matched stammzelltransplantiert. Vor SZT waren sowohl der Patient als auch der Spender EBV-seropositiv. Am Tag +63 nach SZT verstarb der Patient in Folge einer generalisierten EBV-Reaktivierung mit manifester Enteritis, Hepatitis und Lymphoproliferativen Erkrankung.

3.5 Klinische Symptomatik und Mortalität

3.5.1 Virusnachweise im Knochenmark und Symptomatik

Insgesamt wurden 42 Knochenmarkproben von 26 verschiedenen Patienten auf Virus-DNA bzw. -RNA untersucht. Da bei der Mehrzahl der Knochenmarkproben jeweils Testungen auf verschiedene Virusspezies erfolgten, und von einzelnen Patienten zu verschiedenen Zeitpunkten Knochenmarkproben analysiert wurden, ergaben sich aus Knochenmark insgesamt 162 Testresultate für zehn verschiedene Virusspezies. Bei 13 der 26 getesteten Patienten lag mindestens ein positiver Virusnachweis vor. Folgende Virusspezies wurden bei den entsprechenden Patienten nachgewiesen: CMV (n=6), ADV (n=6), ENV (n=2), PVB19 (n=3) und EBV (n=1).

Als Parameter einer manifesten Infektion wurden Körpertemperatur, Thrombozyten- und Leukozytenanzahl der Patienten von den Tagen der Knochenmarkpunktionen erfasst. Für die weitere Auswertung wurden nur Werte nach Tag +30 nach SZT berücksichtigt. Die durchschnittliche Körpertemperatur der Patienten betrug an den Tagen mit positivem Virusnachweis 37,4 °C (Median: 37,7 °C; Spannweite [range]: 36,5 °C - 38,5 °C). Bei den Patienten ohne positive Virusnachweis im Knochenmark war die Durchschnittstemperatur mit 36,6 °C (Median: 36,7 °C; Spannweite [range]: 35,4 °C - 37,5 °C) um 0,8 °C geringer. Der Unterschied zwischen Patienten mit und

ohne Virusnachweis im Knochenmark bezüglich der durchschnittlichen Körpertemperatur (in °C) war signifikant ($p=0,002$) (siehe Tabelle 35).

Tabelle 35: Körpertemperatur bei Virusnachweis im Knochenmark

Abkürzungen: °C: Grad Celsius, *: Signifikanz

	Körpertemperatur bei Virus-positiver Knochenmarkprobe	Körpertemperatur bei Virus-negativer Knochenmarkprobe
Mittelwert	37,4 °C	36,6 °C
Median	37,7 °C	36,7 °C
Spannweite [range]	36,5 °C - 38,5 °C	35,4 °C - 37,5 °C
Rangsumme	438,5	381,5
Signifikanz (p-Wert)	0,002*	

Bei acht der Patienten mit positivem Virusnachweis im Knochenmark lag eine Thrombozytopenie (Thrombozyten <50 GPT/L) vor. In der Patientengruppe ohne Nachweis eines Virus im Knochenmark ($n=26$) lag in 14 Fällen eine Thrombozytopenie und in einem Fall eine Leukozytopenie (Leukozyten <1 GPT/L) vor. Der Unterschied zwischen den beiden Patientengruppen war nicht signifikant ($p=0,52$). Bei sieben der Patienten mit positivem Virusnachweis im Knochenmark nach Tag +30 und gleichzeitig vorliegender Thrombozytopenie wurde der Zusammenhang zwischen Virusnachweis und Thrombozytopenie als *möglich* bewertet. Nachgewiesene Viren waren in diesen Fällen: ENV ($n=1$), ADV ($n=2$), ADV und PVB19 ($n=1$), CMV ($n=2$) und PVB19 ($n=1$). Bei zwei Patienten wurde der Zusammenhang zwischen Thrombozytopenie und Virusnachweis als *sicher/sehr wahrscheinlich* klassifiziert. In den beiden Fällen waren CMV und EBV die festgestellten Virusarten. In drei der insgesamt neun Fälle von möglich oder wahrscheinlich viral bedingter Thrombozytopenie wurde eine Infektion des Knochenmarks mit HHV-6 ausgeschlossen.

3.5.2 Weitere Erkrankungen/Symptomatik bei den Patienten

In den ersten 100 Tagen nach SZT wurden insgesamt folgende Erkrankungen bzw. Symptome bei den untersuchten Patienten (n=58) diagnostiziert: Enzephalitis (n=2), Konjunktivitis (n=5), Retinitis (n=1), Mukositis (n=38), HSV-Läsion (n=11), Pneumonie/atypische Pneumonie (n=19), Hepatitis (n=1), Gastritis (n=7), Enteritis/Colitis/Diarrhöe (n=30), hämorrhagische Cystitis (n=13), Hauteffloreszenzen (n=40), Lymphoproliferative Erkrankung (n=1). Diese Diagnosen wurden hinsichtlich ihres kausalen Zusammenhangs mit einer Virusinfektion in die Kategorien *sicher oder sehr wahrscheinlich (s/w)*, *möglich (m)*, und *kein (k)* eingeordnet (siehe Abbildung 12 und Tabelle 36). Als nichtvirale Ursachen einer Pneumonie oder atypischen Pneumonie lagen bakterielle und/oder mykotische Infektionen sowie Zustand nach Aspiration oder Blutung vor. Nicht viral verursachte gastrointestinale Affektionen waren durch akute GvHD, Medikamententoxizität und bakterielle Infektionen bedingt. Hauteffloreszenzen wurden außer durch Virusinfektionen durch akute GvHD und Medikamententoxizität verursacht. Bei den nichtviral verursachten hämorrhagischen Cystitiden konnten bakterielle Infektionen, Medikamententoxizität und ein Rezidiv als Ursache identifiziert werden. Bei einem Anteil von zumeist weniger als 20% der jeweiligen Erkrankungen/Symptome wurde die Ätiologie der Erkrankung/Symptome nicht identifiziert.

Abbildung 12: Diagramm zu Erkrankungs-/Symptomursachen bei den untersuchten Patienten
Abkürzungen: s/w: sicher/wahrscheinlich, m: möglich

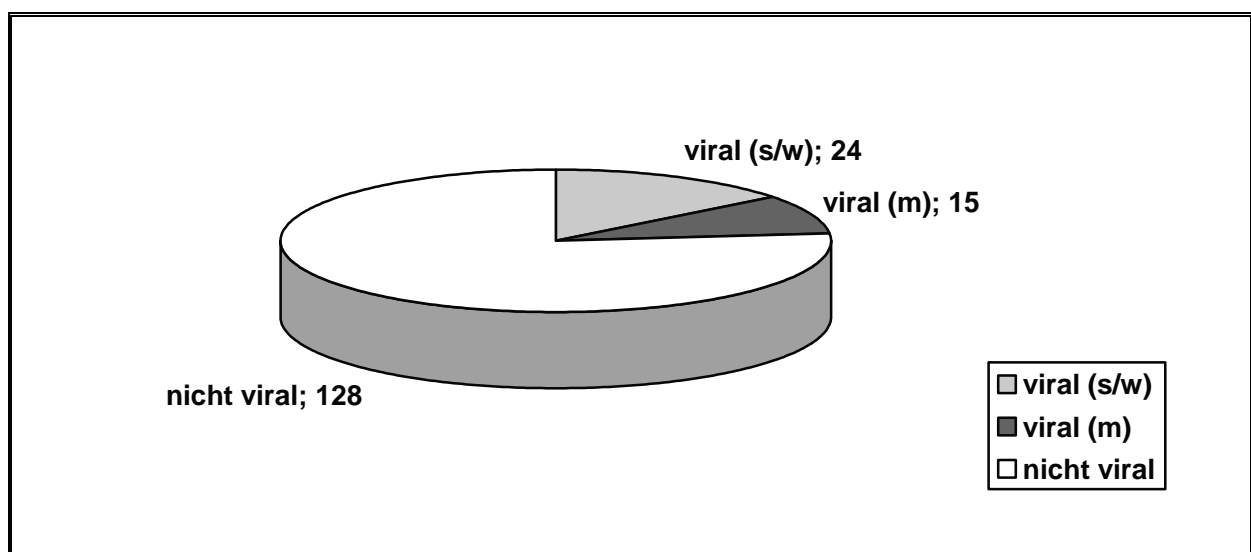


Tabelle 36: Klinische Symptomatik/Erkrankung in der Patientenkohorte

Abkürzungen: HSV-Läsion: Herpes-simplex-Virus-Läsion, LPD: Lymphoproliferative Erkrankung, s/w: sicher oder wahrscheinlich, m: möglich

Diagnose/Symptom	Anzahl der Manifestationen			
	virale Genese (s/w)	virale Genese (m)	andere Genese	Gesamt
Enzephalitis	1	0	1	2
Konjunktivitis	0	1	4	5
Retinitis	1	0	0	1
Mukositis	0	0	38	38
HSV-Läsion	8	3	0	11
Pneumonie	0	1	3	4
atypische Pneumonie	2	5	8	15
Hepatitis	1	0	0	1
Gastritis	1	0	6	7
Enteritis/Colitis/Diarrhöe	4	2	24	30
hämorrhagische Cystitis	5	3	5	13
Hauteffloreszenz	0	1	39	40
EBV-LPD	1	0	0	1

Bei den untersuchten Patienten (n=58) konnten insgesamt die folgenden acht verschiedenen Virusspezies nachgewiesen werden: ADV, CMV, EBV, ENV, HSV, JCV, PVB19 und VZV. PVB19 und VZV verursachten in der beobachteten Patientenkohorte keine Manifestationen, die als *wahrscheinlich* mit dem jeweiligen Virus-assoziiert klassifiziert wurden. Die übrigen sechs Virusspezies wurden als *sehr wahrscheinliche* Verursacher von Erkrankungen oder Symptomatik identifiziert.

In Tabelle 37 sind die verschiedenen Virusspezies, die Anzahl der jeweilig infizierten und erkrankten Patienten sowie die durch sie verursachten Erkrankungen und Symptome dargestellt. Eine Unterscheidung zwischen Reaktivierungen und Infektionen wurde hier nicht vorgenommen.

Tabelle 37: Virusinfektionen und ihre klinischen Manifestationen

Abkürzungen: ADV: Adenovirus, CMV: Cytomegalievirus, EBV: Epstein-Barr-Virus, ENV: Enterovirus, HHV: humanes Herpesvirus 6, HSV: Herpes-simplex-Virus, IV: Influenzavirus, JCV: JC-Virus, PVB19: Parvovirus B19, RSV: Respiratory-syncytial-Virus, VZV: Varizella-zoster-Virus, s/w: sicher oder wahrscheinlich, LPD: Lymphoproliferative Erkrankung

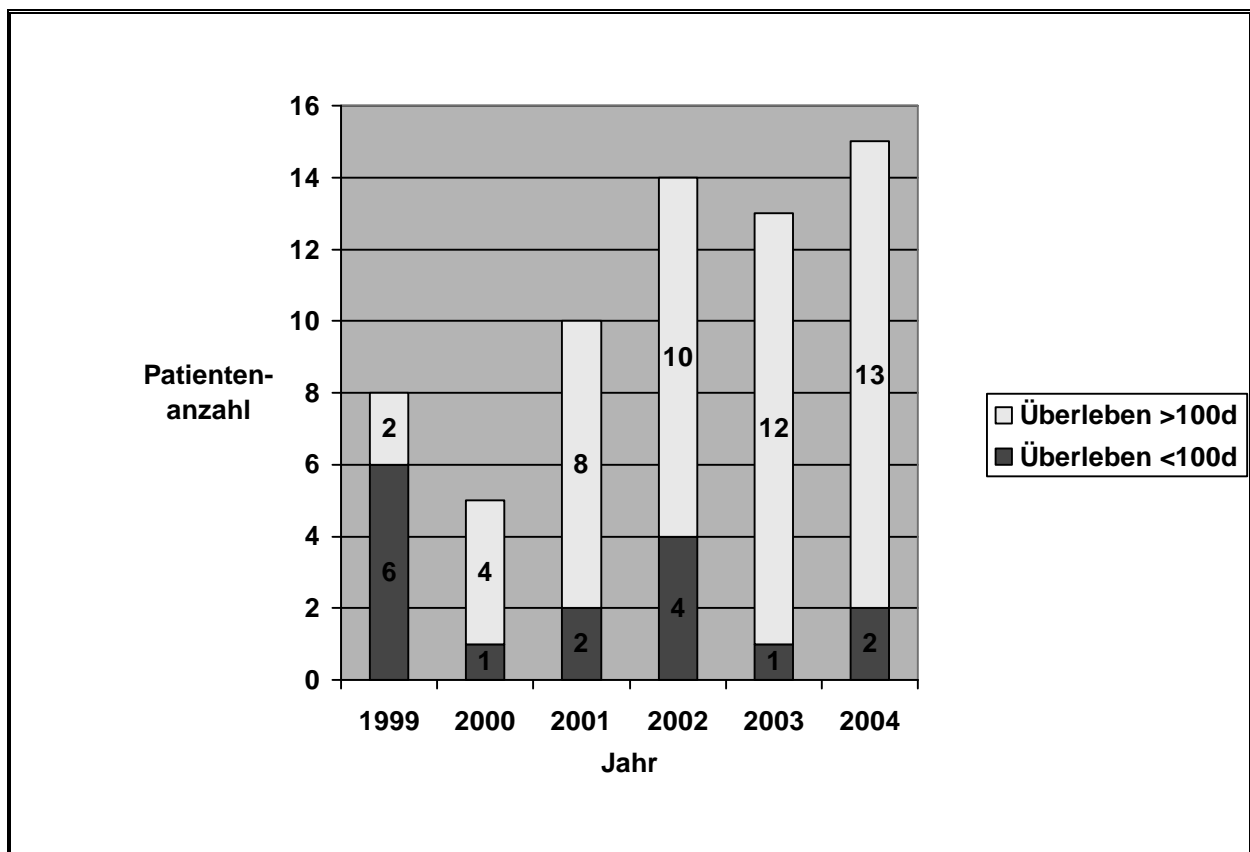
Virus	Anzahl infizierter Patienten absolut (%)	Anzahl erkrankter Patienten (s / w)	Symptomatik (s / w)
CMV	39 (67,2)	2	Retinitis, atypische Pneumonie, Thrombozytopenie
ADV	40 (69,0)	6	Enzephalitis, Enteritis, atypische Pneumonie, hämorrhagische Cystitis
ENV	11 (19,0)	2	Gastritis, Enteritis
HSV	13 (22,4)	8	HSV-typische Läsionen/Mukositis
PB19	3 (5,2)	/	/
JCV	3 (5,2)	2	hämorrhagische Cystitis
EBV	1 (1,7)	1	LPD, Hepatitis, Enteritis
VZV	1 (1,7)	/	/
HHV	0 (0,0)	/	/
RSV	0 (0,0)	/	/
IV	0 (0,0)	/	/

3.5.3 Mortalität in den ersten 100 Tagen nach SZT

In der untersuchten Patientenkohorte (n=58) verstarben 16 (27,6%) Patienten bei einer mittleren Überlebenszeit von 49,1 Tagen nach SZT innerhalb des beobachteten Zeitraumes. Der relative Anteil, der in den ersten 100 Tagen nach SZT verstorbenen Patienten, ist im Zeitraum 1999-2004 um 60% gesunken. In Abbildung 13 ist für die Jahre 1999-2004 der jeweilige Anteil verstorbenen Patienten an der Gesamtanzahl von allogenen transplantierten Patienten des jeweiligen Jahres dargestellt.

Abbildung 13: Anteil der Patienten mit einem Überleben $>/<$ als 100 Tage nach SZT an der Gesamtanzahl der pro Jahr durchgeführten allogenen SZT

Abkürzungen: d: Tage, <: kleiner, >: größer



Von den 42 Patienten, die länger als 100 Tage nach SZT lebten, konnten bei 31 (73,8%) Patienten mindestens zwei verschiedene Virusarten (≥ 2 Virusarten) nachgewiesen werden. Bei elf (26,2%) Patienten wurde maximal eine Virusart (≤ 1 Virusart) festgestellt. Von den 16 verstorbenen Patienten waren zehn Patienten für mindestens zwei verschiedene (≥ 2) Virusspezies positiv. Bei sechs Patienten wurde

eine oder keine Virusspezies (≤ 1 Virusart) nachgewiesen. Es konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Anzahl der nachgewiesenen Viren (≥ 2 Virusarten versus ≤ 2 Virusarten) und dem Eintreten des Todes in den ersten 100 Tagen nach allogener SZT festgestellt werden ($p=0,83$).

Von den 16 im Beobachtungszeitraum verstorbenen Patienten entwickelten neun Patienten Symptome, die in vier Fällen als *sicher/wahrscheinlich* und in fünf Fällen als *möglich* mit einem Virus im Zusammenhang stehend klassifiziert wurden. In der Gruppe der Patienten, die länger als 100 Tage nach SZT lebten, trat bei 24 Patienten eine Symptomatik auf, die in 13 Fällen als *sicher/wahrscheinlich* und in elf Fällen als *möglich* mit einem Virus im Zusammenhang stehend klassifiziert wurde. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten, die länger als 100 Tage nach SZT lebten und Patienten, die in dieser Zeitspanne verstarben, bezüglich viraler Erkrankung/-Symptomatik nachgewiesen werden ($p=0,88$).

Bei zwei (12,5%) von den verstorbenen Patienten ($n=16$) wurde eine Sepsis mit konsekutivem Multiorganversagen aufgrund einer Reaktivierung von CMV bzw. EBV als Todesursache identifiziert. Die übrigen 14 Patienten starben nicht an einer viralen Ursache. Von den entsprechenden Patienten starben sieben (43,8%) aufgrund eines Multiorganversagens bei septisch-toxischem Allgemeinzustand, wobei in drei Fällen dem Autopsiebericht zu Folge eine Aspergillose wahrscheinlichster Primärfocus der Sepsis war. Weitere Todesursachen waren Blutungen (18,8%), Grunderkrankung bzw. Rezidiv der Grunderkrankung und nicht näher bezeichnetes Multiorganversagen (siehe Tabelle 38).

Tabelle 38: Todesursachen in den ersten 100 Tagen nach allogener SZT

Abkürzungen: SZT: Stammzelltransplantation, NHL: Non-Hodgkin-Lymphom, AML: Akute Myeloische Leukämie, MDS: Myelodysplastisches Syndrom, CML: Chronische Myeloische Leukämie, HS: Hämophagozytose Syndrom, MM: Multiples Myelom, ALL: Akute Lymphatische Leukämie, MOV: Multiorganversagen, CMV: Cytomegalievirus, EBV: Epstein-Barr-Virus, GvHD: Graft-versus-Host-Erkrankung, ARDS: Akutes Atemnotsyndrom

Patient	Jahr der SZT	Grunderkrankung	Tod (+Tag nach SZT)	Todesursache	Autopsie
1	2000	NHL	+ 31	Rezidiv der Grunderkrankung	nein
7	2002	AML	+ 87	septisches MOV bei Knochenmarkstromaschaden mit anhaltender Knochenmarksinsuffizienz	nein
9	1999	NHL	+ 3	MOV bei progredienter Tumorerkrankung und generalisierter Aspergillose	ja
11	1999	NHL	+ 50	gastrointestinale Blutung	ja
16	2002	AML	+ 81	septisches MOV bei sekundärem Transplantatversagen	nein
23	2002	MDS	+ 49	septisch-toxisches MOV bei generalisierter CMV-Reaktivierung	ja
29	2001	CML	+ 35	septisches MOV bei nekrotisierender Pankreatitis	ja
33	2004	HS	+ 26	MOV mit ARDS (Pneumonie DD: Blutung)	nein
36	2003	MM	+ 63	septisches MOV bei EBV-Reaktivierung	ja
39	1999	AML	+ 33	intrazerebrale Massenblutung, Hirntod	nein
40	1999	M. Hodgkin	+ 96	MOV (insbesondere respiratorische Insuffizienz)	nein
42	2001	NHL	+ 18	respiratorische Insuffizienz bei Lungenblutung bei Thrombopenie (im Rahmen der Grunderkrankung bzw. des Rezidives)	ja
43	2002	MDS	+ 84	septischer Schock bei Cholezystitis	nein
46	1999	ALL	+ 21	septisches MOV, wahrscheinlich von der generalisierten Aspergillose ausgehend	ja
47	1999	NHL	+ 51	septisches MOV, Lungenaspergillose als wahrscheinlichster Ausgangspunkt	ja
54	2004	MDS	+ 57	septisch-toxisches MOV (Streptococcus Sanguis-Endokarditis), Lungenembolie	ja

4 Diskussion

4.1 Cytomegalievirus (CMV)

4.1.1 Inzidenz von CMV-Reaktivierung/-Infektion

Bei den untersuchten Patienten war der Median des erstmaligen Nachweistages von CMV Tag +34 nach allogener SZT und liegt somit wie erwartet in der Post-Engraftment-Phase (siehe Kapitel 1). Insgesamt bei 39 (67,2%) der 58 untersuchten Patienten trat eine CMV-Reaktivierung/-Infektion auf. Mit 80% und 83,3% CMV-Reaktivierungen/-Infektionen bei CMV-seropositiven Stammzellempfängern stimmt die Häufigkeit von CMV-Reaktivierungen bei CMV-seropositiven Stammzellempfängern in vorliegender Studie mit publizierten Inzidenzen von bis zu 86% sehr gut überein (24, 161). Der Unterschied in der Reaktivierungs-/Infektionsrate in Abhängigkeit des CMV-Serostatus des Spenders ist hierbei bei den untersuchten Patienten (n=31) mit 3,3% sehr gering (80% versus 83,3%) und nicht signifikant ($p=0,79$). Die Bedeutung eines positiven CMV-Serostatus des Spenders für einen CMV-seronegativem Empfänger wird derzeit, wie in Kapitel 1 dargestellt, kontrovers diskutiert. Vorliegende Studie bestätigt das Resultat von Grob et al., die an 40 untersuchten Patienten feststellten, dass der CMV-Serostatus des Spenders bei einem CMV-seropositiven Empfänger keinen signifikanten Einfluss auf das Auftreten von CMV-Infektionen hat.

In vorliegender Studie trat bei 18,2 % (n=2) der Patienten mit negativem CMV-Serostatus und ebenfalls CMV-seronegativem Spender (n=11) trotz Verwendung von zumeist gefilterten Blutkonserven eine CMV-Neuinfektion auf. Hingegen stellten Bowden et al. und Nichols et al. in jeweils prospektiv angelegten Studien mit 502 bzw. 807 Patienten eine Inzidenz von unter 5% CMV-Neuinfektionen bei Verwendung von gefilterten oder CMV-negativen Blutprodukten fest (26, 141). Bei einer Anzahl von nur elf Patienten mit der entsprechenden CMV-Serostatuskonstellation (Empfänger und Spender CMV-seronegativ) der vorliegenden Untersuchung ist eine Anzahl von zwei Patienten mit einer CMV-Neuinfektion somit unerwartet hoch. Aufgrund der geringen Patientenzahl und

einer fehlenden Vergleichsgruppe, bei der z.B. ausschließlich CMV-negative Blutprodukte bei CMV-negativen Empfängern mit ebenfalls CMV-negativen Spendern verwendet wurden, ist eine valide, bewertende Aussage über die Höhe der CMV-Neuinfektionen in vorliegender Untersuchung nicht möglich. Ein direkter Vergleich mit zitierten Arbeiten und daraus abzuleitende Schlussfolgerungen können daher nicht aussagekräftig sein. Bei den beiden Patienten mit CMV-Neuinfektionen der vorliegenden Untersuchung kommen Transfusion oder Schleimhautkontakt mit CMV-haltigen Körperflüssigkeiten, wie Speichel oder Urin, als mögliche Infektionswege in Betracht.

4.1.2 Erkrankung

Von den Patienten mit CMV-Reaktivierung/-Infektion (n=39) hatten sieben Patienten (18%) eine Symptomatik, die in zwei Fällen (5,1%) als *sicher/wahrscheinlich* und in fünf Fällen aufgrund unvollständiger Erfüllung der von Ljungman et al. (siehe Kapitel 1 und 2) publizierten Diagnosekriterien nur als *möglich* in einem Zusammenhang mit CMV stehend klassifiziert wurde. Nach Einführung präemptiver Strategien liegt die Inzidenz von CMV-assoziierten Erkrankungen, wie in Kapitel 1 dargestellt, nach allogener SZT zwischen 0% und 5%. Bemerkenswert ist hierbei, dass die entsprechenden Studien trotz unterschiedlicher Diagnosekriterien einer CMV-Erkrankung relativ ähnliche Resultate aufweisen. Allerdings ist den meisten Studien gemein, dass sie neben einem CMV-Nachweis eine „entsprechende Symptomatik“ als zu erfüllendes Kriterium einer CMV-assoziierten Erkrankung sowie einen weitestgehenden Ausschluss anderer Ursachen (z.B. andere Infektionen) dieser Symptomatik festlegten. Ein Nachweis des Cytomegalievirus direkt aus dem erkrankten Gewebe bzw. Organ ist nicht in allen der genannten Studien zur Diagnosefindung gefordert worden. Weiterhin bestehen bei den Untersuchungen Unterschiede im gewählten Nachweisverfahren und Zusatzdiagnostik wie z.B. Endoskopie oder andere Bildgebung. Eine Vergleichbarkeit der Studien mit vorliegender Untersuchung ist bei Berücksichtigung der in dieser Studie als *sicher/wahrscheinlich* in einem Zusammenhang mit CMV stehend klassifizierten Erkrankungen gegeben. Die somit bei den untersuchten Patienten festgestellte

Inzidenz von 5,1% CMV-Erkrankungen stimmt sehr gut mit den Resultaten der vergleichbaren Untersuchungen überein.

Insgesamt erscheint es - nicht zuletzt um die Vergleichbarkeit von Studien zu gewährleisten -, sinnvoll festgelegte und einheitliche Kriterien z.B. die von Ljungman publizierten Kriterien (siehe auch Kapitel 1) zur Diagnosefindung einer CMV-Erkrankung zu verwenden.

4.1.3 Risikofaktoren

Das Auftreten einer akuten GvHD konnte bereits in Untersuchungen der 80er Jahre als Risikofaktor für eine CMV-Infektion identifiziert werden (134, 136). Neuere Studien bestätigen dieses Resultat (120, 194). Hingegen konnte in vorliegender Studie keine signifikante Korrelation einer akuten GvHD und CMV-Infektionen nach allogener SZT festgestellt werden ($p=1,00$). Als weiteren signifikanten Risikofaktor für das Auftreten von CMV-Infektionen beschrieben Uzunel et al. einen nicht verwandten (aber HLA-matched) Stammzellspender (187). Dieser Zusammenhang konnte in vorliegender Untersuchung ebenfalls nicht festgestellt werden ($p=0,08$). Bezüglich der Korrelation der Konditionierungsintensität (dosisreduziert versus myeloablativ) und dem Auftreten von CMV-Infektionen und CMV-Erkrankung besteht derzeit wie bereits in Kapitel 1 dargestellt kein Konsens. Das Resultat aus vorliegender Studie bestätigt die Ergebnisse von Kalpoe et al. und Schetering et al. (88, 164). In den zitierten Arbeiten konnte, wie auch in vorliegender Untersuchung keine Assoziation von Konditionierungsintensität und CMV-Reaktivierung/-Infektion festgestellt werden. Ljungman et al. zeigten 1998, dass Patienten die ein Stammzelltransplantat eines unverwandten oder HLA-nichtidenten verwandten Spenders erhielten, ein signifikant höheres Risiko für CMV-Erkrankungen und CMV-assoziierte Mortalität hatten (117).

Der mehrfach bewiesene signifikante Einfluss der CMV-Serostatus von Spender und Empfänger auf das *Erkrankungsrisiko* und die Mortalität wurde in Kapitel 1 dargestellt. In vorliegender Studie konnte der Einfluss der verschiedenen Faktoren auf die CMV-assoziierte Mortalität und das Auftreten einer CMV-Erkrankung

aufgrund der für die statistischen Analysen unzureichenden CMV-assoziierten Todes-/Erkrankungsfälle nicht untersucht werden.

Die verzögernde Wirkung von CMV auf das Engraftment nach allogener SZT konnte bereits in den 90er Jahren, u.a. von Reddehase et al. und Steffens et al. festgestellt werden (153, 176). Der CMV-Serostatus von Spender und Empfänger und somit das Risiko einer CMV-Reaktivierung/-Infektion ist, wie Davies et al. und Nichols et al. zeigten, mit der Geschwindigkeit der hämatopoetischen Rekonstitution assoziiert (42, 140). In vorliegender Arbeit konnte ebenfalls ein Effekt von CMV nach allogener SZT auf das Engraftment festgestellt werden. Es zeigte sich, dass Patienten mit CMV-Reaktivierung/-Infektion im Vergleich zu Patienten ohne CMV-Reaktivierung/-Infektion zu einem signifikant späterem Zeitpunkt engrafteten ($p=0,014$). Ob das festgestellte spätere Engraftment von Leukozyten und Thrombozyten ausschließlich auf die CMV-Reaktivierung/-Infektion zurückzuführen ist, konnte mit dem vorliegenden Datenmaterial nicht abschließend geklärt werden. Mögliche andere Ursachen könnten hämatotoxische Nebenwirkungen unter der Therapie mit Ganciclovir und weitere begünstigende Einflussfaktoren von CMV-Reaktivierungen/-Infektionen wie z.B. GvHD oder Konditionierungstherapie sein.

4.1.4 CMV-Monitoring im Urin

Hinsichtlich des prädiktiven Wertes von CMV-Virurie und CMV-Virämie kann in der vorliegenden Studie keine Aussage gemacht werden, da keiner der Patienten des Urinmonitorings an einer symptomatischen CMV-Infektion/CMV-Reaktivierung erkrankte. Jedoch konnte festgestellt werden, dass das Auftreten von CMV-Virurie und CMV-Virämie bei der Mehrzahl der einzelnen untersuchten Patienten nicht miteinander korrelierte. So war der Anteil positiver Blutproben mit 26,1% bei den untersuchten Patienten gegenüber dem Anteil von 5,1% positiver Urinproben erheblich größer. Allerdings war auch der Gesamtanteil untersuchter Blutproben leicht größer als der von den getesteten Urinproben. Indes betrug diese Differenz nur knapp über 3%, so dass selbst wenn diese Differenz von 16 Urinproben positiv für CMV wären und somit kein Unterschied in der Gesamttestanzahl bestünde, der Anteil positiver Urinproben mit 11,3% immer noch deutlich unter dem Anteil positiver

Blutproben läge. Die Anzahl positiver Proben spiegelt sich auch in der Anzahl CMV-positiver Patienten für die jeweilige Probenart wider. So wurde CMV bei 14 der 15 Patienten im Blut und bei nur acht von 15 Patienten im Urin festgestellt. Auch gelang der erstmalige CMV-Nachweis bei den Patienten, die für beide Materialien positiv waren (n=7), entweder zuerst aus Blut oder aus Blut und Urin gleichzeitig. Urin war hierbei in keinem Fall das Probenmaterial, in dem CMV erstmalig gefunden werden konnte. Hierin wird die mangelnde Korrelation von CMV-Virurie und CMV-Virämie bei den einzelnen Patienten ersichtlich. Dieses Resultat stimmt mit dem Ergebnis von Lazarevic et al. überein, die 2006 ebenfalls feststellen konnte, dass bei 21 untersuchten Patienten nach Stammzell- oder Nierentransplantation keine Korrelation zwischen mittels PCR getesteten positiven Urin- und Blutproben besteht (110). Weitere diesbezügliche Untersuchungen sind in den vergangenen zehn Jahren nicht publiziert worden. Die Ursache der mangelnde Studienlage könnten zwei zu Anfang der 90er Jahre durchgeführte Untersuchungen sein, in denen bereits gezeigt werden konnte, dass positive Urinkulturen keinen positiven prädiktiven Wert hinsichtlich einer CMV-Erkrankung aufweisen und Testresultate aus Urinproben daher nach Stammzelltransplantationen eine unzureichende klinische Relevanz aufweisen (135, 170). Aufgrund dieser von Meyers et al. und Slavin et al. gezeigten mangelhaften Bedeutung von Urinalysen auf CMV und der in vorliegender Studie festgestellten unzureichenden Korrelation von mittels einer sensitiveren Nachweismethode (PCR) nachgewiesenen CMV-Virämie und CMV-Virurie erscheinen weitere Untersuchungen zu dieser Thematik und ein Urin-Screening auf CMV nicht sinnvoll.

4.2 Adenovirus (ADV)

4.2.1 Inzidenz von ADV-Infektionen

Um eine Vergleichbarkeit mit anderen Untersuchungen zu gewährleisten, wurde in vorliegender Arbeit, wie in bisher publizierten Studien der einmalige Nachweis von ADV als ADV-Infektion definiert. Aufgrund dieser Definition können falsch positive Resultate (z.B. durch Kontamination der Proben) und somit eine falsch hohe Inzidenz nicht ausgeschlossen werden. In vorliegender Untersuchung konnte bei 40 (71,7%) der 55 auf ADV getesteten Patienten jeweils in mindestens einer Probe ADV-DNA nachgewiesen werden. Bei allen 40 Patienten gelang der Nachweis aus peripherem Blut, wobei Blut mit 78,1% auch das pro Patient am häufigsten getestete Probenmaterial war. In anderen Studien wurden nach allogener Transplantation weitaus geringere Inzidenzen von ADV-Infektionen zwischen 6% und 29% beschrieben (siehe Kapitel 1), wobei die Definition einer ADV-Infektion als mindestens einmaliger Nachweis des Virus in den Studien inklusiver vorliegender Untersuchung identisch ist. Allerdings bestehen Unterschiede in den gewählten Nachweisverfahren, den untersuchten Probenmaterialien und den Indikationen zur Durchführungen von Testungen auf ADV. So führten La Rosa et al., die 2001 eine Inzidenz von 6% ADV-Infektionen bei 1150 retrospektiv untersuchten Patienten publizierten, die Testungen auf ADV fast ausschließlich bei gegebener Verdachtssymptomatik durch (108), so dass potentielle asymptomatische ADV-Infektionen in der Mehrzahl vermutlich nicht erfasst wurden. Auch Bruno et al. stellten eine relativ geringe Inzidenz von 8,5% ADV-Infektionen bei 5233 retrospektiv untersuchten Patienten fest, trotzdem in der beobachteten Zeitspanne (1978-1998) während der meisten Zeit (1978-1994) wöchentliche bis zweiwöchentliche Überwachungsproben für ADV abgenommen wurden (29). Allerdings wurden hierbei Urin-, Speichel- und Stuhlproben und nicht wie in vorliegender Studie vorwiegend (kryokonservierte) Blutproben untersucht. Außerdem wurden die Proben mittels Zellkultur analysiert, da die wesentlich sensitivere PCR zu dieser Zeit noch keine standarsmäßig durchgeführte Methode war. Höhere ADV-Infektionsinzidenzen bis 19,7% fanden Baldwin et al. und Chakrabarti et al. in ihren Studien (8, 35). Chakrabarti et al. führten eine prospektive Untersuchung an 76 Patienten durch und analysierten wöchentlich Stuhl, Speichel und Urin mittels Kulturverfahren und

Elektronenmikroskopie auf ADV. PCR-Analysen von Blutproben wurden nur bei Vorliegen eines positiven Resultates der anderen Verfahren durchgeführt. Die höchste Inzidenz mit 29% ADV-Infektionen publizierten Runde et al. 2001 (158). Sie führten eine prospektive Untersuchung mit wöchentlichem Monitoring auf ADV an 130 allogenen stammzelltransplantierten Patienten durch, wobei, wie in vorherig beschriebenen Studien, ebenfalls nicht die PCR und Blut zum Virusnachweis, sondern Urin und Speichel und Verfahren verwendet wurden. Die konstatierte Inzidenz von 29% wurde hierbei an einer gemischten Patientenkohorte von pädiatrischen und erwachsenen Patienten (Gesamtdurchschnittsalter der Kohorte: 37 Jahre) erhoben, so dass die gegenüber anderen Studien relativ hohe Inzidenz eventuell auf den Anteil pädiatrischer Patienten zurückzuführen ist. Diese Vermutung kann durch die Tatsache gestützt werden, dass, wie z.B. Flomenberg et al. 1994 zeigen konnten, die Inzidenz von ADV-Infektionen bei Kindern nach allogener Knochenmarktransplantation signifikant höher ist als bei Erwachsenen (57, 158).

Die hohe Diskrepanz zwischen ADV-Infektionsinzidenzen der vorliegenden (71,1%) und der zitierten Studien (etwa 20% bei allogenen SZT bei Erwachsenen) kann, da sich die Untersuchungen in diesen Punkten wesentlich unterscheiden auf die Nachweismethodik (Kultur versus PCR), das analysierte Probenmaterial und die Indikation zur Probenanalyse zurückgeführt werden. In vorliegender Untersuchung wurde im Gegensatz zu einigen der beschriebenen Untersuchungen ein zweiwöchiges (retrospektives) Monitoring auf ADV in der ambulanten Betreuungsphase vorgenommen. Um auszuschließen, dass die (relativ hohe) Inzidenz von ADV-Infektionen in vorliegender Studie durch hohe Infektionsraten während der ambulanten Phasen (mehr Kontakt zu potentiellen Erregern) zu stande gekommen ist, wurde eine statistische Untersuchung zur Korrelation von ADV-Infektion und Aufenthaltsphase (ambulant versus stationär) nach allogener SZT durchgeführt. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen ADV-Infektionen und den Aufenthaltsphasen konnte ausgeschlossen werden ($p=0,24$).

4.2.2 Erstnachweis

In vorliegender Untersuchung wurde bei einer Mehrzahl von 60% der ADV-positiven Patienten ADV erstmalig in den ersten 30 Tagen nach SZT nachgewiesen. Der Median war in dieser Untersuchung Tag +28 (Spannweite [range]: +1 - +97). Dieses Resultat findet sich nicht durch vergleichbare Untersuchungen bestätigt. So stellten Chakrabarti und Flomberg fest, dass eine ADV-Infektion bei der Mehrzahl der von ihnen untersuchten Patienten nach den ersten 30 Tagen auftrat (35, 57). Ebenso war der Median des ADV-Erstnachweises bei Howard et al. Tag +41 und bei Runde je nach Probenmaterial Tag +44 (Probe aus Respirationstrakt) und Tag +53 (Stuhl) (83, 158). Hingegen lag der Median des Erstnachweises in der Studie von Baldwin et al. bei Tag +18 nach SZT und bei Runde et al. bei Tag +37 für Urin (8). Allerdings waren die Patientenkohorten von Runde et al. und Baldwin et al. gemischte Gruppen aus pädiatrischen und erwachsenen Patienten. Da Flomberg 1994 zeigen konnte, dass bei pädiatrischen Patienten nach Knochenmarktransplantation signifikant früher ADV-Infektionen auftreten als bei Erwachsenen (8, 57), scheinen die Ergebnisse dieser beiden Studien mit den vorliegenden Resultaten nicht unmittelbar vergleichbar zu sein. In den genannten Studien von Chakrabarti et al. und Flomberg et al. zeigte sich eine deutliche Tendenz von ADV-Infektionen bei Erwachsenen, spät nach SZT aufzutreten (>Tag +88). Auch Bruno et al. fanden bei ihrer Untersuchung, dass bei 47% der untersuchten Patienten (n=5233) der Erstnachweis für ADV nach Tag +40 und bei 8% der Patienten erst nach Tag +100 gelang (29). Unter der Annahme eines unkomplizierten Verlaufs könnte man die späten ADV-Infektionen durch vermehrten Kontakt mit potentiellen Erregern bei zunehmend reduzierter Isolation der Patienten erklären. Somit könnte man bei frühen (bis Tag +30) ADV-Infektionen, die in einem deutlich keimreduzierten Milieu stattfinden, eine vermehrte Reaktivierung des Virus vermuten.

4.2.3 Probenmaterialien

ADV konnte in vorliegender Untersuchung bei allen 40 Patienten (100%) im peripheren Blut nachgewiesen werden. Bei sechs (15%) Patienten wurde ADV im Knochenmark nachgewiesen. Im Urin gelang der Nachweis bei zwei (5%) Patienten. Ebenso konnte ADV bei zwei (5%) Patienten aus einer Stuhlprobe nachgewiesen werden. Der ADV-Nachweis aus Material einer Bronchoalveolären Lavage, Gastrointestinalsekret, Rachenspülwasser und Liquor gelang bei je einem (2,5%) Patienten. ADV wurde hierbei bei 29 (72,5%) der Patienten ausschließlich in einer Probenart nachgewiesen. Bei 27,5% der Patienten gelang der Nachweis in zwei oder drei verschiedenen Probenmaterialien, wobei vier (10%) Patienten in zwei, und sieben (17,5%) Patienten in drei verschiedenen Probenmaterialien positiv für ADV waren. Dieses Ergebnis stimmt mit dem weiterer Untersuchungen überein, in denen bei 60%-88% der ADV-positiven Patienten ADV ebenfalls in nur einer Probenart festgestellt wurde (29, 35, 83, 158). In unterschiedlicher Reihenfolge wurde ADV in den zitierten Studien am häufigsten im Stuhl, Urin und Sekret aus dem Nasen-Rachenraum nachgewiesen, welches auch die Probenmaterialien waren, die routinemäßig getestet wurden. In vorliegender Untersuchung war Blut die Probenart, in der am häufigsten ADV-DNA nachgewiesen werden konnte und auch die Probenart, die am häufigsten auf ADV untersucht wurde. Diese Resultate zeigen, dass ADV im untersuchten Patientenkollektiv nach Stammzelltransplantationen unabhängig von einer klinischen Symptomatik in unterschiedlichen Organsystemen nachzuweisen ist und in mindestens 12%-40% der Fälle mehr als ein System betroffen ist. Neben vorliegender Studie, in der bei 100% der ADV-infizierten Patienten ADV-DNA aus Blutproben detektiert werden konnte, wiesen auch Flomenberg et al. und Howard et al. bei 2,4% respektive bei 7,8% der ADV-infizierten Patienten das Virus im Blut nach (83, 158). Allerdings erfolgten in den Studien von Flomenberg und Howard die Blutprobenanalysen wöchentlich mittels Kulturverfahren und nicht wie in vorliegender Untersuchung nachträglich und mittels der sensitiveren PCR.

4.2.4 Symptomatik von ADV-Infektionen

Von den Patienten, bei denen mindestens in einer Probe ADV-DNA nachgewiesen werden konnte (n=40), hatten sechs (15%) Patienten Symptome, die als *sehr wahrscheinlich* ADV-assoziiert klassifiziert worden sind. Bei neun (22,5%) symptomatischen Patienten wurde ein *möglicher* Zusammenhang mit ADV festgestellt. Somit ergab sich in der vorliegend untersuchten Patientenkohorte, je nachdem, welche Diagnosekriterien verwendet werden, eine Häufigkeit von 15%-32,5% ADV-Erkrankungen nach allogener SZT. Dieses Resultat spiegelt sehr gut die Ergebnisse anderer Studien und die damit verbundene Problematik wider. Zwischen den anderweitig publizierten Inzidenzen von ADV-Erkrankungen finden sich ebenfalls erhebliche Differenzen von 9,3%-89,4% (29, 108), die zumindest anteilsweise durch die unterschiedlichen Diagnosekriterien und Definitionen einer ADV-Erkrankung erklärt werden können. So wurde in der Untersuchung von Bruno et al. eine ADV-Erkrankung als solche diagnostiziert, wenn ADV in bioptisch oder autoptisch gewonnenem Gewebematerial oder in einer BAL nachgewiesen werden konnte. Eine Dysfunktion des jeweiligen Organs oder eine allgemeine Krankheitssymptomatik wurde nicht gefordert. Bruno et al. stellten somit eine Inzidenz von 9,3% ADV-Erkrankungen bei 450 ADV-infizierten Patienten fest (29). In vier weiteren Studien von Flomenberg et al., Runde et al., La Rosa et al. und Chakrabarti et al. wird eine Unterscheidung zwischen definitiver und *wahrscheinlicher* ADV-Erkrankung vorgenommen, wobei die Definitionen dieser Unterscheidungen nicht im Detail übereinstimmen (35, 57, 108, 158). Differenzen bestehen in der Forderung einer entsprechenden Symptomatik, dem Nachweis von ADV aus dem betroffenen Organ und dem histopathologischen Nachweis von typischen nukleären ADV-Einschlüssen. Howard et al. definieren noch weitgehender die klinische Symptomatik für die Diagnose einer ADV-assoziierten Erkrankung (83). In den meisten Erkrankungsfällen erfüllt die Klassifikation *sehr wahrscheinlich* aus vorliegender Untersuchung die Kriterien einer Klassifikation als „definitive“ ADV-Erkrankung aus den genannten Studien von La Rosa et al., Flomberg et al., Runde et al. und Chakrabarti et al. Ausnahmen sind die Enteritis und die Pneumonie, die nach Definitionen anderer Studien als weniger stark mit ADV-assoziiert klassifiziert worden wären. Andererseits wurde in vorliegender Studie für die Diagnose als *sehr wahrscheinlich* ADV-assoziiert eine Abwesenheit von wahrscheinlicheren Ursachen

der Symptomatik gefordert. Daher sind Erkrankungsfälle, die teilweise in anderen Studien höhergradiger mit ADV-assoziiert klassifiziert worden wären, in vorliegender Studie nur als *möglich* mit ADV assoziiert eingestuft worden (z. B. Bruno et al., La rosa et al.). Die Resultate der bisher eingeführten Studien unterscheiden sich nicht nur hinsichtlich der Erkrankungsinzidenzen, sondern auch in den diagnostizierten Erkrankungen selbst. Während Bruno et al., Runde et al., Baldwin et al. und La Rosa et al. vorwiegend Erkrankungen des oberen Respirationstraktes, des Urogenitaltraktes (hämorrhagische Cystitis) und des Gastrointestinaltraktes (Diarrhöe) in verschiedener Rangfolge ihrer Häufigkeit sowie seltener eine Pneumonie in Assoziation mit ADV diagnostizierten, stellten Chakrabarti et al. und Flomenberg et al. auch Hepatitiden, Pneumonien, Nephritiden und eine Enzephalitis bei den von Ihnen untersuchten Patienten fest. In vorliegender Untersuchung war die am häufigsten mit ADV assoziierte Diagnose die hämorrhagische Cystitis (n=3), gefolgt von Pneumonie (n=1), Enteritis/Diarrhöe (n=1) und Enzephalitis (n=1). Des Weiteren wurde im Gegensatz zu den übrigen Studien in vorliegender Untersuchung eine Thrombozytopenie als *mögliche* Manifestation festgestellt.

Neben bisher benannten Erkrankungen waren in vorliegender Studie, meist während der ambulanten Phasen, bei einigen Patienten Symptome wie Husten, Schnupfen, Übelkeit und Brechreiz dokumentiert. Bei 16 Patienten wurde hierbei durch die nachträglichen Probenanalysen eine Positivität für ADV zu dem Zeitpunkt nachgewiesen. Aufgrund des retrospektiven Studienansatzes konnte eine Verifizierung eines Atemwegsinfektes oder einer leichten Gastroenteritis durch weiterführende Diagnostik nicht erfolgen, so dass eine sichere kausale Zuordnung der Symptomatik zu ADV nicht möglich war. Dennoch weisen diese Symptomatiken auf das mögliche Vorkommen von symptomatischen ADV-Infektionen des oberen Respirationstraktes, wie sie in einigen anderen Studien beschrieben werden, auch bei den vorliegend untersuchten Patienten hin.

Neben dem beschriebenen Nachteil - der „Ungenauigkeit“ bezüglich der Krankheitshäufigkeit aufgrund des retrospektiven Studientyps - kann der retrospektive Ansatz dieser Untersuchung auch durchaus positiv bewertet werden, denn wenn die dokumentierte Symptomatik mehr als nur leichtgradig und somit in höherem Maße klinisch relevant gewesen wäre, wäre durch die betreuenden Ärzte eine weiterführende Diagnostik initiiert worden. Das bedeutet, selbst wenn bei allen 16 Patienten die dokumentierte Symptomatik tatsächlich durch ADV verursacht

worden wäre und daher mit den als *möglich* oder *sehr wahrscheinlich* ADV-assoziierten klassifizierten Erkrankungen (n=13) zusammen eine sehr hohe Erkrankungsinzidenz von über 50% vorläge, hätten insgesamt die Mehrzahl der ADV-Erkrankungsfälle keine maßgebliche Relevanz für die Patienten gehabt und konnten ohne therapeutische Konsequenz auskommen.

Insgesamt scheint es, insbesondere mit Hinblick auf die beschriebenen unterschiedlichen Erkrankungsinzidenzen und Erkrankungsmanifestationen, dass die Bedeutung von ADV für erwachsene Patienten nach allogener SZT bislang nicht im Konsens geklärt ist. Weiterführende prospektive Studien mit einheitlichen Diagnosekriterien, vergleichbaren Nachweismethoden und Probenmaterialien könnten zur Feststellung der klinischen Relevanz von ADV nach SZT führen und somit eine adäquate Basis für die weitere Entwicklung und die Entscheidung über den Einsatz von spezifischen Therapeutika bilden.

4.2.5 Risikofaktoren

Infektionen

Bei den in vorliegender Studie untersuchten Patienten konnten keine Risikofaktoren für das Auftreten von ADV-Infektionen identifiziert werden. Daher konnten hinsichtlich dieses Punktes die Resultate von Flomenberg et al., Runde et al. und Bruno et al. nicht bestätigt werden. Flomenberg et al. stellte fest, dass jüngeres Alter bei der von ihm untersuchten Patientenkohorte ein signifikanter Einflussfaktor für das Auftreten von ADV-Infektionen war (57). In vorliegender Untersuchung korrelierten Alter und ADV-Infektion nicht signifikant miteinander ($p=0,37$), allerdings wurden hierbei ausschließlich erwachsene Patienten mit und ohne ADV-Infektion untersucht. Flomberg hingegen verglich pädiatrische mit erwachsenen Patienten. Als weiteren Risikofaktor für ADV-Infektionen identifizierten Bruno et al. und Runde et al. das Auftreten einer akuten GvHD Grad II-IV (29). Diese Korrelation konnte bei den in vorliegender Studie untersuchten Patienten nicht festgestellt werden. Allerdings wurde in dieser Untersuchung eine akute GvHD Grad I-IV als ein potentieller Risikofaktor analysiert, während Bruno und Runde einzelne Stadien der akuten GvHD analysierten und eine akute GvHD Grad I nicht als Risikofaktor identifizierten.

Erkrankung

Als signifikanten Risikofaktor für eine ADV-Erkrankung stellten Flomberg et al. eine mittlere bis schwere akute GvHD (Grad II-IV) fest (57). Dieses Resultat konnte an den in vorliegender Studie untersuchten Patienten nicht bestätigt werden ($p=0,50$), wobei Patienten mit *möglicher* oder *sehr wahrscheinlicher* ADV-Erkrankung zusammen untersucht wurden. Weitere signifikante Risikofaktoren für das Auftreten einer ADV-Erkrankung konnten in vorliegender Arbeit nicht identifiziert werden. Es zeigte sich jedoch die deutliche Tendenz, dass ADV bei Patienten mit ADV assoziierten Erkrankungen früher, im Durchschnitt 15,6 Tage, nachgewiesen werden konnte als bei Patienten ohne ADV-Erkrankung. Als weiteren Risikofaktor für eine ADV-Erkrankung beschrieben Howard et al. und Flomenberg et al. den ADV-Nachweis aus mehr als nur einer Probenmaterialart. Diesbezüglich wurden in vorliegender Untersuchung keine statistischen Analysen vorgenommen, da insgesamt nur dann Testungen auf ADV in verschiedenen Materialien durchgeführt wurden, wenn bei klinischer Symptomatik die Indikation hierzu gegeben war. Des Weiteren stellten Chakrabarti et al. eine Korrelation zwischen einer absoluten Lymphozytenzahl von kleiner oder gleich $300/\mu\text{L}$ bei ADV-Erstdetektion und dem späterem Auftreten einer ADV-Erkrankung fest (35). In vorliegender Untersuchung wurde, aufgrund der Tatsache, dass die Leukozytenanzahl untersucht wurde, geprüft, ob eine Leukozytenanzahl von kleiner/gleich $0,3 \text{ GPT/L}$ oder von kleiner/gleich 1 GPT/L bei ADV-Erstdetektion mit dem Auftreten einer ADV-Erkrankung im weiteren klinischen Verlauf korreliert. In beiden Fällen wurde kein signifikanter Zusammenhang festgestellt ($p=1,00$). Insgesamt ist die Aussagekraft der in dieser Untersuchung gewonnenen und bisher beschriebenen Resultate bezüglich der Risikofaktoren für ADV-Erkrankungen aufgrund der geringen Fallzahlen von *sehr wahrscheinlich* mit ADV assoziierten Erkrankungen als eher gering zu bewerten.

Sowohl bei pädiatrischen als auch bei erwachsenen stammzelltransplantierten Patienten konnte eine Assoziation zwischen dem Nachweis von ADV-DNA im Blut und der Entwicklung einer schweren, teilweise letal verlaufenden ADV-Erkrankungen aufgezeigt werden (35, 46, 114). Weiterführende Untersuchungen spezifizierten dieses Resultat hinsichtlich einer Korrelation des viral loads und dem Auftreten fataler ADV-Erkrankungen (37, 55, 165). Vorliegende Untersuchung zeigte, dass bei über 70% der auf ADV getesteten Patienten ADV-DNA zeitweise im Blut

nachweisbar war, und dass dabei die Mehrzahl dieser Patienten asymptomatisch war, oder zumindest – unter Berücksichtigung des retrospektiven Ansatzes und somit eines potentiellen Informationsfehlers - keine schwerwiegenden Manifestationen hatten. Das vorliegende Resultat bestätigt die Untersuchungsergebnisse zweier neuerer Studien von Takayama et al. und Kalpoe et al. In beiden Arbeiten wurde bei den untersuchten pädiatrischen und erwachsenen Patienten milde mit ADV-Virämien assoziierte Symptome und nur sehr selten schwere assoziierte Erkrankungen festgestellt (87, 181). Das Auftreten von ADV-DNA im Blut nach allogener SZT scheint insgesamt nicht bei allen Patienten gleichermaßen mit schwerwiegenden und therapiebedürftigen ADV-Erkrankung assoziiert zu sein.

4.2.6 Mortalität

In vorliegender Untersuchung liegt die ADV-assoziierte Mortalität bei 0%. Auch statistisch konnte keine Korrelation zwischen dem Auftreten von ADV-Infektionen/-Erkrankungen und einem Tod in den ersten 100 Tagen nach SZT festgestellt werden ($p=0,30$ / $p=1,00$). Hingegen stellten Chakrabarti et al. bei Patienten mit *ADV-Erkrankungen* eine signifikant geringere 1-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit gegenüber nicht erkrankten Patienten fest, wobei alleinige *ADV-Infektionen* keinen Einfluss auf das Überleben der Patienten hatten (35). Zu einem ähnlichen Resultat kamen Runde et al., sie stellten eine signifikant höhere Überlebenswahrscheinlichkeit bei Patienten ohne ADV-Infektion fest (158). Weiterhin wurden von anderen Autoren letal verlaufende ADV-Erkrankungen beschrieben (8, 35, 108), wobei Howard et al. sogar bei 11 (25%) der insgesamt verstorbenen Patienten ($n=44$) als Todesursache eine ADV-Erkrankung diagnostizierten (83). Allerdings muss hinzugefügt werden, dass die Patientenkohorte von Howard et al. allogene und autologe transplantierte sowie pädiatrische und erwachsene Patienten enthielt. Wie oben bereits beschrieben, war in vorliegender Untersuchung kein Todesfall ADV-assoziiert. Dieses Resultat deckt sich nicht mit dem anderer Untersuchungen und kann eventuell durch eine geringere Patientenzahl und dem retrospektivem Ansatz und daher unzureichender ADV-Diagnostik bei tödlichen Komplikationen erklärt werden. Des Weiteren wäre eine falsch-positive Einschätzung der Korrelation von ADV-Nachweis und Todesursache bei den angeführten Untersuchungen als Erklärungsansatz denkbar.

4.3 Enterovirus (ENV)

Enterovirusinfektionen verlaufen in der Mehrzahl der Fälle klinisch inapparent, können aber auch bei immunkompetenten Patienten zu gastrointestinalen Erkrankungen, Myokarditiden und Enzephalitiden führen (95). Nach allogener SZT tritt Diarrhöe als Manifestation einer gastrointestinalen Affektion mit einer Inzidenz von bis zu 79% auf (190), wobei der Anteil an infektiöser Diarrhöe zwischen 13% und 28% liegt (204). Als überwiegende Erreger wurden hierbei *Clostridium difficile*, Astrovirus, ADV und Rotavirus beschrieben. Yolken et al. zeigten außerdem 1982 in ihrer prospektiven Untersuchung, dass gastrointestinale Infektionen zu einer erhöhten Mortalität nach Knochenmarktransplantation führen (202). Hingegen stellten Chakrabarti et al. 2000 eine sehr viel geringere Häufigkeit von gastrointestinalen Erkrankungen nach Stammzelltransplantationen mit einer Inzidenz von 8% enteritischen Infektionen fest (34). Hierbei wurden überwiegend Adenoviren nachgewiesen, während jeweils bei nur einem Patienten ein Enterovirus und ein Echovirus detektiert werden konnte. Diese Daten deuten eher auf eine eher geringe Relevanz von Enteroviren für Patienten nach SZT hin. Dennoch sind Einzelfälle von schweren ENV-Erkrankungen nach allogenen und autologen Stammzelltransplantationen, teilweise mit letalen Komplikationen, beschrieben worden (62, 68, 167, 186). Zu einer weiteren Klärung der Bedeutung des Enterovirus bei allogenen Stammzelltransplantationen führten Chakrabarti et al. letztendlich im Jahr 2004 eine prospektive Studie mit 64 T-Zell-depletierten Stammzellempfängern zu dieser Thematik durch (33). Es wurden wöchentlich bis zu dem Tag +180 nach SZT Stuhl, Urin und Speichelproben mittels Kulturverfahren und Elektronenmikroskopie auf ENV untersucht. Bei sieben (10,4%) der Patienten konnte eine ENV-Infektion nachgewiesen werden, wobei nur vier der Patienten eine symptomatische Infektion entwickelten. Bei allen vier Patienten trat eine Infektion des oberen Respirationstraktes mit Allgemeinsymptomatik auf, jedoch ohne gastrointestinale Beteiligung. Bei den in vorliegender Studie auf ENV untersuchten Patienten (n=30) wurde bei elf (36,7%) Patienten eine ENV-Infektion festgestellt. Somit liegt in dieser Untersuchung eine weitaus höhere Inzidenz von ENV-Infektionen nach allogener SZT vor.

Die Diskrepanz zu den Ergebnissen von Chakrabarti et al. wird noch durch die Tatsache betont, dass die betrachtete Zeitspanne in der vorliegenden Studie 100

Tage und nicht wie bei Chakrabarti et al. bis Tag +180 nach Transplantation war. Die festgestellten erheblich differenten Häufigkeiten von ENV-Infektionen beider Studien sind möglicherweise auf die Verwendung unterschiedlicher Nachweismethoden zurückzuführen. Chakrabarti et al. verwendeten das Kulturverfahren und die Elektronenmikroskopie zum Virusnachweis, während in vorliegender Studie sämtliche Analysen mittels PCR, einer wesentlich sensitiveren Methode (133, 156), vorgenommen wurden.

Bezüglich einer symptomatischen ENV-Infektion stellten Chakrabati et al. 2000 eine Inzidenz von 0% und in der Studie von 2004 eine Inzidenz von knapp 60% fest. Von den in vorliegender Studie untersuchten Patienten hatten zwei (18%) der elf Patienten mit positivem ENV-Nachweis eine assoziierte Gastroenteritis. Drei weitere Patienten hatten eine Pneumonie, eine Thrombozytopenie und eine Gastroenteritis, die nur als *möglicherweise* in einem Zusammenhang mit ENV stehend klassifiziert worden sind. Somit liegt in dieser Untersuchung eine Inzidenz von 18%-54,5% symptomatischer ENV-Infektionen vor, was mit den Ergebnissen von Chakrabarti et al. durchaus vereinbar ist. Auch diese Tatsache, die erhebliche Diskrepanz der Infektionsinzidenz bei ähnlicher Erkrankungsinzidenz unterstützt die geäußerte Vermutung, dass die offensichtliche Differenz der Infektionsinzidenzen durch die unterschiedlich hohe Sensitivität der angewandten Nachweismethoden begründet werden kann.

Bei *Patient 2* wurde der Zusammenhang zwischen ENV-Nachweis im Knochenmark bei Vorliegen einer febrilen Thrombozytopenie als *möglich* klassifiziert. Vuorinen et al. konnten 1994 zeigen, dass Enteroviren Knochenmarkszellen und auch Leukozyten zumindest experimentell infizieren können (193). Die bisher wahrscheinlich einzige publizierte Korrelation von klinischer Symptomatik und ENV-Infektion zeigte Tarcan et al. 2001 bei einem ENV-infizierten Säugling und konkomitantem Knochenmarkversagen auf (184). Eine ähnliche Manifestation im Zusammenhang mit einer ENV-Infektion wurde bisher nach SZT nicht beschrieben. Als Risikofaktor für das Auftreten von ENV-Infektionen konnte Chakrabarti bei seinen Patienten eine nichtverwandte Stammzellspende identifizieren. Dieses Resultat konnte in vorliegender Studie an den Patienten der Universitätsklinik Greifswald nicht bestätigt werden. Allerdings war bei den Patienten das Auftreten von ENV-Infektionen signifikant mit HLA-nicht-identen/HLA-mismatched SZT assoziiert. Wie bei Chakrabarti et al. fand sich eine Tendenz hinsichtlich positiver Korrelation von

konventioneller Konditionierung und ENV-Infektion. Generell erscheint die Relevanz der identifizierten Risikofaktoren für ENV-Infektionen für weitere Patienten im Einzelnen fraglich. Dennoch scheint die Beobachtung, dass eine Transplantation mit einem unverwandten oder HLA-nichtidenten Spender mit der hieraus resultierenden intensiveren immunsuppressiven Therapie zu noch weiter erhöhter Infektanfälligkeit führen, nicht unbedeutsam.

Insgesamt weist die aktuelle Datenlage eher auf eine geringere klinische Bedeutung der Enteroviren für allogene stammzelltransplantierte Patienten hin, so dass - nicht zuletzt wegen unzureichender therapeutischer Optionen, ein Routine-Monitoring auf Enteroviren als wenig lohnenswert erscheint. Bei Auftreten einer gastrointestinalen Symptomatik scheinen zum Ausschluss einer viralen Verursachung neben Testungen auf ENV auch Untersuchungen auf ADV, Rotavirus und Astrovirus günstig zu sein, da diese Viren wie oben bereits dargestellt, häufige Verursacher der viralen Diarrhöe nach SZT sind.

4.4 Herpes-simplex-Virus (HSV)

Eine HSV-Reaktivierung konnte bei 28,9% der untersuchten Patienten festgestellt werden. Hierbei war in 61,5% der Fälle eine HSV-assoziierte mukokutane Läsion nachweisbar, so dass insgesamt eine Inzidenz von 18,6% symptomatischer HSV-Infektionen/-Reaktivierungen unter einer Prophylaxe mit Acyclovir vorliegt. Frühere Untersuchungen durch Engelhard et al., Lundgren et al. und Epstein et al. in den 80er und 90er Jahren, zeigten hingegen sehr viel geringere Inzidenzen von maximal 6,6% HSV-Reaktivierungen nach Einführung einer Acyclovirprophylaxe (52, 53, 123). Van Kraaij et al. und Warkentin et al. bestätigten 2002 die früheren Ergebnisse und publizierten Inzidenzen von bis zu 7,8% HSV-Reaktivierungen nach SZT (191, 195). In benannten Untersuchungen war zumeist wie bis zu dem Zeitpunkt allgemein üblich (22, 48) das Kulturverfahren die verwendete Methode zum Nachweis von HSV, während bei den untersuchten Patienten aus vorliegender Studie das HSV mittels PCR nachgewiesen wurde. Es konnte mehrfach gezeigt werden, dass die PCR zum Nachweis von HSV aus unterschiedlichen Materialien eine schnellere und sensitivere Alternative zum Kulturverfahren darstellt. Somit ließe sich eine höhere

Inzidenz in vorliegender Studie durch das gewählte Nachweisverfahren erklären. In diesem Fall ginge man von einer höheren Rate asymptomatischer HSV-Reaktivierungen aus.

Das vermehrte Auftreten von symptomatischer Reaktivierung ließe sich dann erstens dadurch erklären, dass es bei bestehender Mukostis auch für einen erfahrenen Arzt schwierig ist eine Läsion bezüglich ihrer Verursachung durch HSV zu identifizieren, so dass man argumentieren könnte, dass in vorliegender Untersuchung eine falschhohe Anzahl von HSV-Läsionen festgestellt worden ist. Zweitens treten atypische oder beinahe subklinische Symptomatiken im Zusammenhang mit HSV auf, so dass die Vermutung besteht, dass mittels der sensitiveren PCR-Methode häufiger unklare Manifestationen als HSV-*verursacht* erkannt wurden.

Van Kraaij et al. konnte 2002 weiterhin zeigen, dass eine Transplantation mit einem nicht verwandten Spender oder einem HLA-nichtidenten Spender mit dem Auftreten von signifikant mehr symptomatischen HSV-Reaktivierungen assoziiert ist als Transplantationen mit verwandten und HLA-identen Spendern. Dieses Ergebnis kann nicht auf die in dieser Studie untersuchten Patienten übertragen werden. Es konnten keine Risikofaktoren für das Auftreten von HSV-Reaktivierungen identifiziert werden.

4.5 Parvovirus B19

Bei den untersuchten Patienten wurde in drei Fällen (15%) PVB19 nachgewiesen, wobei in zwei Fällen (10%) zeitgleich eine Thrombozytopenie vorlag, die als *möglicherweise* mit dem Virus in Zusammenhang stehend klassifiziert wurde. Ebenfalls eine Inzidenz von 15% PVB19-Infektionen nach SZT stellten Schleuning et al. in ihrer retrospektiven Studie in einer gemischten Kohorte von allogenen und autologen transplantierten Patienten fest. Allerdings lag bei Schleuning et al. eine PVB19-assoziierte Mortalität von 7% vor (166). Dieses Resultat konnte in vorliegender Studie nicht bestätigt werden (0% assoziierte Mortalität). Azzi et al. hingegen fanden in ihrer prospektiv angelegten Studie mit 51 Patienten keine PVB19-Infektion nach Knochenmarktransplantation (7). Dieses Ergebnis wurde von Söderlund et al. bestätigt, die ebenfalls eine Inzidenz von 0% PVB19-Infektionen in den ersten sechs Monaten nach Knochenmarktransplantation feststellten (172). Weiterhin fanden Söderlund et al. eine Inzidenz von 1,5% PVB19-Infektionen in den ersten zwei

Jahren nach der Transplantation. Auch Gallinella et al. konnten in einem gemischten Kollektiv von Patienten mit Organtransplantationen und Knochenmarktransplantationen eine nur geringe Inzidenz von PVB19-Infektionen (1,42%) nach Transplantation feststellen (63). Einschränkend muss jedoch festgestellt werden, dass eine Vergleichbarkeit der aufgeführten Publikationen mit vorliegender Untersuchung, aufgrund des retrospektiven Designs, der geringeren Patientenzahl (n=20) und vor allem aufgrund der ausschließlichen Testungen auf PVB19 bei klinischer Indikation nicht vollständig gegeben ist. Dennoch ist gerade aufgrund der beschriebenen Mängel eine Häufigkeit von drei PVB19-Nachweisen bei nur 20 untersuchten Patienten im Vergleich zu dargestellten Studien interessant.

Trotz des oben aufgezeigten relativ seltenen Auftretens von Infektionen mit Parvovirus B19 nach SZT belegen vereinzelte Falldarstellungen von PVB19-assoziierten Erkrankungen, mit teilweise schweren klinischen Verläufen, die Pathogenität von Parvovirus B19 nach SZT. So wurden als klinische Manifestationen einer PVB19-Infektion isolierte Anämien oder seltener Panzytopenien beschrieben (97, 143, 150, 196). Weiterhin wurden primäres Graft failure, Athralgien, Erytheme, Myokarditis, Hepatitis und Pneumonie in Korrelation mit PVB19-Infektionen diagnostiziert (47, 60, 78, 173). Obwohl Srivastava et al. bereits 1990 die vermuteten, dass die Expression des PVB19-Genoms in megakaryozytischen Zellen einen toxischen Effekt innehat (175), wurden bislang nur einzelne klinische Fälle von durch PVB19 verursachter isolierter Thrombozytopenie bei Erwachsenen publiziert (145, 203). Eine isolierte Thrombozytopenie als Manifestation einer PVB19-Infektion nach SZT wurde bislang nicht beschrieben. In vorliegender Untersuchung wurde bei zwei Patienten (*Patient 20 und Patient 35*) eine Thrombozytopenie als *möglich* in einem Zusammenhang mit dem PVB19-Nachweis stehend klassifiziert. Aufgrund der dargestellten aktuellen Datenlage scheint das Auftreten von zwei Fällen isolierter PVB19-assoziiertes Thrombozytopenie bei 20 untersuchten Patienten eher unwahrscheinlich. Da ein Zusammenhang zwischen PVB19-Nachweis und Thrombozytopenie bei fehlendem anderweitigem Focus jedoch nicht ausgeschlossen werden kann, ist obige Klassifikation, trotz widersprüchlicher dennoch Datenlage, gerechtfertigt. Für den Fall, dass PVB19 nicht als Verursacher der klinischen Symptomatik angesehen werden soll, müsste man von einer asymptomatischen Persistenz des Virus im Knochenmark der Patienten (32, 124, 125) und einer unabhängigen ätiologisch unklaren Thrombozytopenie ausgehen.

4.6 JC-Virus (JCV)

Bei drei (42,9%) der sieben auf JCV untersuchten Patienten wurde eine JC-Virurie nach allogener SZT festgestellt. Dieser Anteil liegt über dem anderer Studien, die eine JCV-Virurie von 3,6%-32,6% nach Knochenmarktransplantation aufzeigen (1, 5, 20, 36). Bei Patienten nach Transplantation solider Organe wurde bei bis zu 43,7% der Patienten eine JC-Virurie festgestellt (45, 185). Benannte Studien bei Stammzell- und soliden Organtransplantationen weisen allerdings wesentlich größere Patientenkollektive auf. Somit scheint ein direkter Vergleich mit dem Resultat vorliegender Untersuchung nicht aussagekräftig genug. Weiterhin erfolgte in den zitierten Studien von Arthur et al., Drachenberg et al. und Thomas et al. eine routinemäßige Untersuchung des Urins auf JCV. Im Gegensatz dazu wurde bei vorliegender retrospektiver Untersuchung Urin ausschließlich bei akuter urologischer Symptomatik oder im Rahmen einer unklaren Verschlechterung des Allgemeinzustandes auf JCV untersucht. Diese Tatsache könnte, wenn man davon ausgeht, dass JCV eine urologische Symptomatik verursacht, ein möglicher Erklärungsansatz des hohen relativen Anteils an JC-Virurie in dieser Studie erklären. Allerdings stellten Zhong et al. bei 40-60% gesunden, d.h. asymptomatischen und immunkompetenten Probanden im Alter zwischen 20-40 Jahren eine JC-Virurie fest. In der Altersgruppe von 70-90 Jahren war eine JC-Virurie bei bis zu 70% der Probanden nachweisbar (205). Weitere Arbeiten bestätigen die häufig auftretende JC-Virurie bei asymptomatischen, immunkompetenten Menschen (89, 96, 151). An HIV-Patienten zeigten Lednicky et al. und Markowitz et al., dass immunkomprimierte und immunkompetente Patienten keinen signifikanten Unterschied in der Häufigkeit von JCV-Ausscheidung im Urin aufweisen (111, 127). Ein relativer Anteil über 40% JC-Virurie wie in vorliegender Studie könnte somit durchaus als normal eingeordnet werden. Bei den Patienten mit JC-Virurie (n=3) wurde die gleichzeitig bestehende hämorrhagische Cystitis in zwei Fällen als *sehr wahrscheinlich* und in einem Fall als *möglich* JCV-assoziiert klassifiziert. Bei einer Gesamtinzidenz der hämorrhagischen Cystitis von 22,4% in der untersuchten Patientenkohorte ergibt sich ein Anteil von 23,1% hämorrhagischen Cystitiden, deren Pathogenesen mit JCV-assoziiert worden sind. Das JC-Virus gilt nicht primär als Erreger von hämorrhagischen Cystitiden (23,

91), sondern vielmehr als Verursacher der progressiven multifokalen Leukenzephalopathie (PML) bei HIV- und anderen immunsuppremierten Patienten (11, 12, 192). Nach autologer und allogener SZT wurden ebenfalls Einzelfälle der durch JCV verursachten PML unter intensiver immunsuppressiver Therapie beschrieben (38, 146, 147, 168). Im Gegensatz zur JC-Virurie wird die Virurie mit BK-Virus, einem dem JCV nahe verwandten Polyomavirus, häufig mit dem Auftreten von hämorrhagischen Cystitiden nach SZT assoziiert (18, 23, 91, 152). Eine BK-Virurie ist etwa ab der zweiten Woche nach SZT bei 30-90% aller Patienten nachweisbar. In den zwei Fällen vorliegender Untersuchung, in denen JCV als *wahrscheinlicher* Verursacher der hämorrhagischen Cystitis klassifiziert worden ist, wurde ADV, nicht aber BKV als Erreger ausgeschlossen. In beiden Fällen liegen andere mögliche Ursachen oder Auslöser einer hämorrhagischen Cystitis wie vorbestehende Radiatio, Chemotherapie mit Cyclophosphamid und akute GvHD vor. Aufgrund der beschriebenen Datenlage erscheinen insgesamt die in vorliegender Untersuchung getroffenen Bewertungen zwischen Assoziation der hämorrhagischen Cystitiden und JCV als falsch-positiv. Darüber hinaus ist jedoch festzustellen, dass in einigen wenigen Studien das Auftreten von JCV-assoziiertes hämorrhagischer Cystitis nach SZT publiziert worden ist (65, 71). Hierbei wurden allerdings JCV und BKV als Verursacher der hämorrhagischen Cystitis gemeinsam beschrieben. Somit kann nicht sicher beurteilt werden, inwiefern das JCV an der Genese der klinischen Symptomatik in diesen Studien beteiligt war. Insgesamt kann jedoch eine Beteiligung von JCV an der Genese der hämorrhagischen Cystitiden in vorliegender Untersuchung nicht ausgeschlossen werden.

4.7 Virusnachweis im Knochenmark und Körpertemperatur

In dieser Untersuchung wurde gezeigt, dass der Nachweis von Viren im Knochenmark signifikant mit einer im Durchschnitt höheren Körpertemperatur zu diesem Zeitpunkt assoziiert war ($p=0,002$); nicht allerdings mit einer Thrombo- oder Leukozytopenie. Einschränkend muss bedacht werden, dass Aufgrund des retrospektiven Studienansatzes nicht definitiv geklärt werden konnte, ob eine erhöhte

Körpertemperatur alleine durch das nachgewiesene Virus verursacht wurde. Differenzialdiagnostisch müssen auch der Nachweis von Viren bei asymptomatischen anderen Infektionen, Reaktivierung oder Persistenz des Virus und zeitgleiche andere Fieberursachen in Erwägung gezogen werden. Insbesondere bei den nachgewiesenen Viren ADV und ENV ist eine Knochenmarkinfektion mit dem klinischen Bild „Fieber und Zytopenie“ nach allogener SZT nicht typisch. Berücksichtigt werden muss darüber hinaus, dass febrile Temperaturen auf Infektionen bei Patienten nach allogener SZT hindeuten können und daher häufig eine Indikation für Knochenmarkpunktionen sind. Unter der Annahme asymptomatischer Infektionen, Reaktivierungen oder Persistenz der Viren, könnte dieses die im Durchschnitt höhere Körpertemperatur bei positiven Virusnachweis erklären. Das Resultat vorliegender Arbeit lässt den Rückschluss einer positiven Korrelation von Virusinfektion und erhöhter Körpertemperatur zu, allerdings wären weitere, möglichst prospektive Untersuchungen mit größeren Patientenkohorten wünschenswert, um die klinische Korrelation von Körpertemperatur und viraler Knochenmarkinfektion zu verifizieren.

Zusammenfassung

Virale Infektionen stellen trotz weitreichender Prophylaxen und moderner therapeutischer Interventionen eine bedeutsame Komplikation nach allogener SZT dar. In vorliegender retrospektiver Arbeit wurde die Inzidenz viraler Infektionen durch ENV, HSV, PVB19, JCV, EBV, VZV, HHV6, RSV, IV und insbesondere durch CMV und ADV in den ersten 100 Tagen nach allogener Stammzelltransplantation untersucht. Schwerpunkt der Untersuchung war die Prüfung der Korrelation von Virus-Nachweis mittels PCR und klinischer Symptomatik. Untersucht wurden 58 Patienten, die im Zeitraum 1999-2004 in der Klinik für Hämatologie/Onkologie der Universitätsklinik Greifswald fremd-allogen oder familiär-allogen stammzelltransplantiert worden sind.

Vorliegende Untersuchung konnte bestätigen, dass Viren unabhängig von der Bedeutung der untersuchten Virusspezies für die einzelnen Patienten und für das Gesamtergebnis der allogenen Stammzelltransplantationen, allein aufgrund ihres häufigen Vorkommens, relevant im klinischen Alltag der ersten 100 Tagen nach SZT sind.

In dem untersuchten Patientenkollektiv (n=58) wurde bei 94,8% (n=55) Patienten mindestens eine Virusart mittels PCR nachgewiesen, 72,4% der Patienten waren für zwei oder mehr verschiedene Virusspezies positiv. Die bei den untersuchten Patienten am häufigsten nachgewiesenen Virusspezies waren ADV (n=40), gefolgt von CMV (n=39), HSV (n=13) und ENV (n=11). Weitere nachweisbare Virusarten waren PVB19 (n=3), JCV (n=3), EBV (n=1), VZV (n=1) und RSV (n=1). Insgesamt konnten in der untersuchten Patientenkohorte 111 virale Reaktivierungen/Infektionen mittels PCR in den ersten 100 Tagen nach SZT nachgewiesen werden.

Als beeinflussende Faktoren einer CMV-Reaktivierung/-Infektion konnten der CMV-Serostatus und die Kombination von CMV-Serostatus und fremd-allogener SZT festgestellt werden. Bei Patienten mit CMV-negativem Serostatus und CMV-seronegativen Spendern, konnte im Vergleich mit Patienten anderer Serostatuskonstellationen, signifikant seltener CMV nachgewiesen werden ($p=0,001$). Die positiven CMV-Nachweise in dieser Subgruppe müssen auf CMV-Neuinfektionen zurückgeführt werden. Bei Patienten mit positivem CMV-Serostatus und fremd-allogener SZT traten CMV-Reaktivierung/-Infektion signifikant gehäuft auf ($p=0,001$). Weiterhin war bei Patienten mit CMV-Reaktivierungen/-Infektion im

Vergleich zu Patienten ohne CMV-Reaktivierung/-Infektion ein späteres Engraftment nachweisbar ($p=0,014$). Für das Auftreten einer ADV-Infektion wurden keine statistisch relevanten Risikofaktoren nachgewiesen.

Neben der hohen Inzidenz zeigte sich eine klinische Relevanz viraler Infektionen in der untersuchten Patientenkohorte dadurch, dass bei 16 (27,6%) Patienten mindestens eine als *sicher* oder *sehr wahrscheinlich* viralbedingt klassifizierte Symptomatik/Erkrankung festgestellt wurde. Insgesamt wurden 168 dokumentierte Symptome/Erkrankungen erfasst, von denen 24 (14,3%) *sicher* oder *sehr wahrscheinlich* durch einen Virus verursacht wurden. Häufigste diagnostizierte Erreger waren hierbei HSV ($n=8$) und ADV ($n=6$), gefolgt von CMV ($n=3$), EBV ($n=3$), ENV ($n=2$) und JCV ($n=2$). Als Organmanifestationen einer CMV-Erkrankung wurden Thrombozytopenie ($n=1$), Retinitis ($n=1$) und atypische Pneumonie ($n=1$) beobachtet. Manifestationen einer ADV-Infektion waren hämorrhagische Cystitis ($n=3$), Diarrhöe/Enteritis ($n=1$), Enzephalitis ($n=1$) und atypische Pneumonie ($n=1$). Bei ENV wurde als klinische Symptomatik Diarrhöe/Enteritis ($n=2$) diagnostiziert. HSV konnte in vorliegender Untersuchung als Verursacher von oropharyngealen Läsionen ($n=8$) identifiziert werden. Als JCV bedingte Symptomatik/Erkrankung wurde bei zwei Patienten eine hämorrhagische Cystitis festgestellt. Eine nachgewiesene EBV-Infektion manifestierte sich als Hepatitis, Enteritis und Lymphoproliferative Erkrankung. Von den 58 Patienten verstarben 16 (27,6%) Patienten innerhalb der beobachteten Zeitspanne. Bei zwei (12,5%) der verstorbenen Patienten wurde eine Reaktivierung von CMV bzw. EBV als Todesursache identifiziert. In den anderen Todesfällen lag keine pathogenetische Assoziation mit einer viralen Infektion oder Erkrankung vor.

Als wichtigste Erklärungsansätze der Diskrepanz zwischen 1. dem häufigen Nachweis von Virusreaktivierungen/-Infektionen ($n=111$) bei den untersuchten Patienten und 2. der Tatsache, dass die Mehrzahl dieser Infektionen klinisch inapparent verliefen ($n=72$) oder nur *möglich* mit einer diagnostizierten Erkrankung assoziiert waren ($n=18$), können einerseits wirksame antivirale prophylaktische Strategien, wie z.B. die Präemptive Therapie auf der Basis von Routine Monitoring bei CMV und andererseits eine zu geringe klinische Bedeutung der Virusnachweise z.B. aufgrund einer zu sensitiven Nachweismethode (PCR) dienen. Zu einer weiteren Klärung sind nachfolgende Untersuchungen mit prospektivem Studienansatz und größerem Patientenkollektiv notwendig. Allgemeine Definitionen und

Diagnosekriterien der verschiedenen viralen Infektionen und Erkrankungen im Rahmen der allogenen SZT könnten hierbei die Vergleichbarkeit von Studien verbessern und somit zu einem Aufschluss der Frage nach der klinischen Relevanz verschiedener Virusinfektionen beitragen.

Anhang

Tabelle 39: Übersicht der untersuchten Patienten

Abkürzungen: PNr: Patientenidentifikationsnummerr, m: männlich, w: weiblich, B-NHL: B-Zell Non-Hodgkin-Lymphom, MPS: Myeloproliferatives Syndrom, AML: Akute Myeloische Leukämie, MDS: Myelodysplastisches Syndrom, ALL: Akute Lymphatische Leuämie, RMS: Rhabdomyosarkom, fam: familiär, K: konventionell, NMA: nicht-myeloablativ CMV: Cytomegalievirus, ADV: Adenovirus, ENV: Enterovirus, HSV: Herpes-simplex-Virus, PVB19: Parvovirus B19, JCV: JC-Virus, RSV: Respiratory-syncytial-Virus, †: Tod, N: Nein, J: Ja

PNr	Alter/ Ge- chlecht	Diagnose	Verwandt- schaftsgrad	CMV- Sero- status Empfänger /Spender	GvHD	Konditio- nierung	Nach- gewiesene Virusspezies	†
1	33/m	B-NHL	fam/ident	+/+	N	K	ADV, CMV	J
2	18/m	MPS	fam/ident	-/-	J	K	ADV, ENV, RSV	N
3	62/m	AML	fremd/matched	-/+	N	DR	ADV	N
4	20/m	MPS	fam/ident	-/+	J	K	ADV, ENV	N
5	40/m	B-NHL	fam/ident	+/+	J	RD	ADV, CMV	N
6	28/m	B-NHL	fremd/matched	+/-	J	K	ADV, CMV, HSV, JCV	N
7	58/w	AML	fremd/matched	+/-	J	DR	ADV, CMV, HSV	J
8	30/m	B-NHL	fremd/matched	+/-	N	DR	ADV, CMV, HSV	N
9	41/w	B-NHL	fam/ident	+/-	N	DR		J
10	57/w	AML	fremd/matched	+/+	N	DR	ADV, ENV	N
11	53/m	B-NHL	fremd/matched	+/-	J	K	CMV	J
12	65/m	B-NHL	fam/ident	+/+	J	DR	ADV, CMV, ENV,	N
13	42/w	MPS	fremd/matched	+/+	J	DR	ADV, CMV	N
14	46/w	B-NHL	fremd/matched	+/-	N	DR	ADV, CMV	N
15	38/m	B-NHL	fremd/matched	-/+	J	DR	ADV, CMV	N
16	57/m	AML	fremd/matched	+/-	J	DR	CMV, HSV	J
17	59/m	B-NHL	fremd/matched	+/-	N	DR	ADV, CMV	N
18	22/m	RMS	fam/ident	+/+	N	DR		N
19	46/m	AML	fremd/mismatched	+/+	N	K	ADV, CMV, ENV, HSV, JCV, PVB19	N
20	18/w	MPS	fremd/matched	-/+	J	K	ADV, CMV	N
21	65/m	MPS	fremd/matched	+/+	N	DR	ADV, CMV, ENV	N
22	50/m	MDS	fam/ident	+/+	J	DR	ADV, CMV	N
23	56/w	MDS	fremd/matched	+/-	N	DR	ADV, CMV, HSV	J
24	22/m	ALL	fremd/matched	+/-	J	K	ADV, HSV	N
25	23/m	ALL	fam/nichtident	+/-	J	DR	ADV, ENV, HSV	N
26	63/w	MDS	fremd/matched	-/+	N	DR	ADV, CMV	N
27	65/m	MPS	fremd/matched	+/-	N	DR	ADV, CMV	N
28	49/w	AML	fremd/mismatched	+/+	N	DR	ADV, CMV, ENV	N
29	63/w	MPS	fremd/mismatched	+/+	J	K	ENV	J

Tabelle 40: Fortsetzung: Übersicht der untersuchten Patienten

Abkürzungen: PNr: Patientennummer, m: männlich, w: weiblich, B-NHL: B-Zell Non-Hodgkin-Lymphom, T-NHL: T-Zell Non-Hodgkin-Lymphom, MPS: Myeloproliferatives Syndrom, AML: Akute Myeloische Leukämie, MDS: Myelodysplastisches Syndrom, ALL: Akute Lymphatische Leukämie, HS: Hämophagozytose Syndrom, fam: familiär, K: konventionell, NMA: nichtmyelo-ablativ, CMV: Cytomegalievirus, ADV: Adenovirus, ENV: Enterovirus, HSV: Herpes-simplex-Virus, PVB19: Parvovirus B19, JCV: JC-Virus, EBV: Epstein-Barr-Virus, VZV: Varizella-zoster-Virus, J: Ja, N: Nein, †: Tod

PNr	Alter/ Geschlecht	Diagnose	Verwandtschaftsgrad	CMV-Serostatus Empfänger/ Spender	GvHD	Konditionierung	Nachgewiesene Virusspezies	†
30	60/m	MDS	fam/ident	-/+	J	DR	CMV, JCV	N
31	55/w	MPS	fam/ident	+/+	N	DR	ADV	N
32	56/m	MDS	fremd/matched	-/-	J	DR	ADV	N
33	60/m	HS	fremd/matched	+/+	J	DR	CMV	J
34	24/m	AML	fremd/matched	+/+	N	K	ADV, CMV, PVB19	N
35	47/w	B-NHL	fremd/matched	-/+	J	DR	ADV, CMV	N
36	60/m	B-NHL	fremd/matched	-/-	N	DR	ADV, HSV, EBV	J
37	46/m	MDS	fremd/matched	+/-	N	K	CMV	N
38	61/m	AML	fremd/matched	+/+	N	DR	ADV, CMV	N
39	50/w	AML	fam/ident	+/-	J	K	ADV, CMV	J
40	30/m	M.Hodgkin	fam/ident	-/-	N	K		J
41	49/w	B-NHL	fremd/matched	-/+	J	K	ADV, HSV	N
42	56/m	B-NHL	fam/ident	+/-	J	K	CMV, HSV	J
43	44/m	MDS	fremd/matched	-/-	J	DR	ADV, ENV	J
44	47/m	B-NHL	fremd/matched	+/+	J	DR	CMV, VZV	N
45	42/m	ALL	fam/ident	+/+	J	K	CMV, HSV	N
46	52/w	ALL	fam/ident	-/-	N	DR	ADV	J
47	38/m	B-NHL	fremd/matched	+/-	N	K	ADV, CMV	J
48	55/m	ALL	fam/ident	-/-	J	DR	CMV	N
49	61/m	B-NHL	fremd/matched	-/-	J	DR	ADV, CMV, HSV	N
50	35/m	ALL	fam/ident	-/+	J	K	CMV	N
51	38/w	MPS	fremd/matched	+/+	J	DR	ADV, CMV	N
52	31/m	AML	fam/ident	-/-	J	K	ADV	N
53	42/w	T-NHL	fam/ident	+/-	N	DR	CMV, PVB19	N
54	62/w	MDS	fremd/matched	+/+	N	DR	ADV, CMV	J
55	54/m	MDS	fremd/matched	-/-	J	DR	ADV, ENV, HSV	N
56	39/m	MPS	fam/ident	-/-	J	DR	ADV	N
57	48/m	MPS	fremd/matched	+/-	J	K	ADV, CMV	N
58	62/m	MDS	fremd/matched	+/+	N	DR	CMV	N

Literaturverzeichnis

1. Akiyama H, Kurosu T, Sakashita C, Inoue T, Mori S, Ohashi K, Tanikawa S, Sakamaki H, Onozawa Y, Chen Q, Zheng H, and Kitamura T. Adenovirus is a key pathogen in hemorrhagic cystitis associated with bone marrow transplantation. *Clin Infect Dis* 32: 1325-1330, 2001.
2. Alvan R, Feinstein, M.D. *Principles of Medical Statistics*, Permutation and Rearrangements: Fishers Exact and Pitman-Welch Tests, Parametric Sampling: Z und t Test, Chapman & Hall/CRC, 2002, p. 216-220, 232-235.
3. Ambinder RF, Burns W, Forman M, Charache P, Arthur R, Beschorner W, Santos G, and Saral R. Hemorrhagic cystitis associated with adenovirus infection in bone marrow transplantation. *Arch Intern Med* 146: 1400-1401, 1986.
4. Armand P, and Antin JH. Allogeneic stem cell transplantation for aplastic anemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 13: 505-516, 2007.
5. Arthur RR, Shah KV, Charache P, and Saral R. BK and JC virus infections in recipients of bone marrow transplants. *J Infect Dis* 158: 563-569, 1988.
6. Avivi I, Chakrabarti S, Milligan DW, Waldmann H, Hale G, Osman H, Ward KN, Fegan CD, Yong K, Goldstone AH, Linch DC, and Mackinnon S. Incidence and outcome of adenovirus disease in transplant recipients after reduced-intensity conditioning with alemtuzumab. *Biol Blood Marrow Transplant* 10: 186-194, 2004.
7. Azzi A, Fanci R, Ciappi S, Zakrzewska K, and Bosi A. Human parvovirus B19 infection in bone marrow transplantation patients. *Am J Hematol* 44: 207-209, 1993.
8. Baldwin A, Kingman H, Darville M, Foot AB, Grier D, Cornish JM, Goulden N, Oakhill A, Pamphilon DH, Steward CG, and Marks DI. Outcome and clinical course of 100 patients with adenovirus infection following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 26: 1333-1338, 2000.
9. Bearman SI, Appelbaum FR, Buckner CD, Petersen FB, Fisher LD, Clift RA, and Thomas ED. Regimen-related toxicity in patients undergoing bone marrow transplantation. *J Clin Oncol* 6: 1562-1568, 1988.
10. Belkacemi Y, Pene F, Touboul E, Rio B, Leblond V, Gorin NC, Laugier A, Gemici C, Housset M, and Ozsahin M. Total-body irradiation before bone marrow transplantation for acute leukemia in first or second complete remission. Results and prognostic factors in 326 consecutive patients. *Strahlenther Onkol* 174: 92-104, 1998.
11. Berger JR, and Mucke L. Prolonged survival and partial recovery in AIDS-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Neurology* 38: 1060-1065, 1988.
12. Berger JR, Scott G, Albrecht J, Belman AL, Tornatore C, and Major EO. Progressive multifocal leukoencephalopathy in HIV-1-infected children. *Aids* 6: 837-841, 1992.
13. Bertheau P, Parquet N, Ferchal F, Gluckman E, and Brocheriou C. Fulminant adenovirus hepatitis after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 17: 295-298, 1996.
14. Bjorklund A, Aschan J, Labopin M, Remberger M, Ringden O, Winiarski J, and Ljungman P. Risk factors for fatal infectious complications developing late after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 40: 1055-1062, 2007.
15. Blanke C, Clark C, Broun ER, Tricot G, Cunningham I, Cornetta K, Hedderman A, and Hromas R. Evolving pathogens in allogeneic bone marrow transplantation: increased fatal adenoviral infections. *Am J Med* 99: 326-328, 1995.
16. Boeckh M, Leisenring W, Riddell SR, Bowden RA, Huang ML, Myerson D, Stevens-Ayers T, Flowers ME, Cunningham T, and Corey L. Late cytomegalovirus disease and mortality in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants: importance of viral load and T-cell immunity. *Blood* 101: 407-414, 2003.
17. Boeckh M, and Nichols WG. The impact of cytomegalovirus serostatus of donor and recipient before hematopoietic stem cell transplantation in the era of antiviral prophylaxis and preemptive therapy. *Blood* 103: 2003-2008, 2004.

18. Bogdanovic G, Ljungman P, Wang F, and Dalianis T. Presence of human polyomavirus DNA in the peripheral circulation of bone marrow transplant patients with and without hemorrhagic cystitis. *Bone Marrow Transplant* 17: 573-576, 1996.
19. Bortin MM. A compendium of reported human bone marrow transplants. *Transplantation* 9: 571-587, 1970.
20. Boubenider S, Hiesse C, Marchand S, Hafi A, Kriaa F, and Charpentier B. Post-transplantation polyomavirus infections. *J Nephrol* 12: 24-29, 1999.
21. Bowden RA. Respiratory virus infections after marrow transplant: the Fred Hutchinson Cancer Research Center experience. *Am J Med* 102: 27-30; discussion 42-23, 1997.
22. Bowden RA, Ljungman, P., Paya, C.V. *Transplant Infection*, Herpes Simplex and Varicella Zoster Virus Infections After Hematopoietic Stem Cell or Solid Organ Transplantation (J.W.Gnann), Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2003, p. 350-366.
23. Bowden RA, Ljungman, P., Paya, C.V. *Transplant Infections* Adenovirus, Parvovirus B19, Papilloma Virus, and Polyomaviruses After Hematopoietic Stem Cell or Solid Organ Transplantation (Michael Green, Per Ljungman, and Marian G. Michaels) Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2003, p. 399-411.
24. Bowden RA, Ljungman, P., Paya, C.V. *Transplant Infections*, Cytomegalovirus Infection After Hematopoietic Stem Cell Transplantation (Boeckh, M., Per Ljungman), Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2003, p. 277-297.
25. Bowden RA, Ljungman, P., Paya, C.V. *Transplant Infections*, Risk and Epidemiology of Infections After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation (K.A.Sepkowitz), Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2003, p. 31-38.
26. Bowden RA, Slichter SJ, Sayers M, Weisdorf D, Cays M, Schoch G, Banaji M, Haake R, Welk K, Fisher L, McCullough J, and Miller W. A comparison of filtered leukocyte-reduced and cytomegalovirus (CMV) seronegative blood products for the prevention of transfusion-associated CMV infection after marrow transplant. *Blood* 86: 3598-3603, 1995.
27. Bowden RA, Slichter SJ, Sayers MH, Mori M, Cays MJ, and Meyers JD. Use of leukocyte-depleted platelets and cytomegalovirus-seronegative red blood cells for prevention of primary cytomegalovirus infection after marrow transplant. *Blood* 78: 246-250, 1991.
28. Broers AE, van Der Holt R, van Esser JW, Gratama JW, Henzen-Logmans S, Kuenen-Boumeester V, Lowenberg B, and Cornelissen JJ. Increased transplant-related morbidity and mortality in CMV-seropositive patients despite highly effective prevention of CMV disease after allogeneic T-cell-depleted stem cell transplantation. *Blood* 95: 2240-2245, 2000.
29. Bruno B, Gooley T, Hackman RC, Davis C, Corey L, and Boeckh M. Adenovirus infection in hematopoietic stem cell transplantation: effect of ganciclovir and impact on survival. *Biol Blood Marrow Transplant* 9: 341-352, 2003.
30. Busca A, de Fabritiis P, Ghisetti V, Alice T, Mirabile M, Gentile G, Locatelli F, and Falda M. Oral valganciclovir as preemptive therapy for cytomegalovirus infection post allogeneic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis* 9: 102-107, 2007.
31. Casper J, Knauf W, Kiefer T, Wolff D, Steiner B, Hammer U, Wegener R, Kleine HD, Wilhelm S, Knopp A, Hartung G, Dolken G, and Freund M. Treosulfan and fludarabine: a new toxicity-reduced conditioning regimen for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 103: 725-731, 2004.
32. Cassinotti P, Burtonboy G, Fopp M, and Siegl G. Evidence for persistence of human parvovirus B19 DNA in bone marrow. *J Med Virol* 53: 229-232, 1997.
33. Chakrabarti HO, KE Collingham, CD Fegan and DW Milligan. *Enterovirus Infection following T-cell depleted allogeneic transplants in adults. Bone Marrow Transplant*, 33: 425-430, 2004.
34. Chakrabarti S, Collingham KE, Stevens RH, Pillay D, Fegan CD, and Milligan DW. Isolation of viruses from stools in stem cell transplant recipients: a prospective surveillance study. *Bone Marrow Transplant* 25: 277-282, 2000.

35. Chakrabarti S, Mautner V, Osman H, Collingham KE, Fegan CD, Klapper PE, Moss PA, and Milligan DW. Adenovirus infections following allogeneic stem cell transplantation: incidence and outcome in relation to graft manipulation, immunosuppression, and immune recovery. *Blood* 100: 1619-1627, 2002.
36. Chan PK, Ip KW, Shiu SY, Chiu EK, Wong MP, and Yuen KY. Association between polyomaviruria and microscopic haematuria in bone marrow transplant recipients. *J Infect* 29: 139-146, 1994.
37. Claas EC, Schilham MW, de Brouwer CS, Hubacek P, Echavarría M, Lankester AC, van Tol MJ, and Kroes AC. Internally controlled real-time PCR monitoring of adenovirus DNA load in serum or plasma of transplant recipients. *J Clin Microbiol* 43: 1738-1744, 2005.
38. Coppo P, Laporte JP, Aoudjhane M, Lebon P, Isnard F, Lesage S, Gorin NC, and Najman A. Progressive multifocal leucoencephalopathy with peripheral demyelinating neuropathy after autologous bone marrow transplantation for acute myeloblastic leukemia (FAB5). *Bone Marrow Transplant* 23: 401-403, 1999.
39. Cornelissen JJ, Carston M, Kollman C, King R, Dekker AW, Lowenberg B, and Anasetti C. Unrelated marrow transplantation for adult patients with poor-risk acute lymphoblastic leukemia: strong graft-versus-leukemia effect and risk factors determining outcome. *Blood* 97: 1572-1577, 2001.
40. Craddock C, Szydlo RM, Dazzi F, Olavarria E, Cwynarski K, Yong A, Brookes P, de la Fuente J, Kanfer E, Apperley JF, and Goldman JM. Cytomegalovirus seropositivity adversely influences outcome after T-depleted unrelated donor transplant in patients with chronic myeloid leukaemia: the case for tailored graft-versus-host disease prophylaxis. *Br J Haematol* 112: 228-236, 2001.
41. Dausset J. [Iso-leuko-antibodies.]. *Acta Haematol* 20: 156-166, 1958.
42. Davies SM, Kollman C, Anasetti C, Antin JH, Gajewski J, Casper JT, Nademanee A, Noreen H, King R, Confer D, and Kernan NA. Engraftment and survival after unrelated-donor bone marrow transplantation: a report from the national marrow donor program. *Blood* 96: 4096-4102, 2000.
43. Davis D, Henslee PJ, and Markesbery WR. Fatal adenovirus meningoencephalitis in a bone marrow transplant patient. *Ann Neurol* 23: 385-389, 1988.
44. De Clercq E. Antiviral drugs in current clinical use. *J Clin Virol* 30: 115-133, 2004.
45. Drachenberg CB, Hirsch HH, Papadimitriou JC, Gosert R, Wali RK, Munivenkatappa R, Nogueira J, Cangro CB, Haririan A, Mendley S, and Ramos E. Polyomavirus BK versus JC replication and nephropathy in renal transplant recipients: a prospective evaluation. *Transplantation* 84: 323-330, 2007.
46. Echavarría M, Forman M, van Tol MJ, Vossen JM, Charache P, and Kroes AC. Prediction of severe disseminated adenovirus infection by serum PCR. *Lancet* 358: 384-385, 2001.
47. Eid AJ, Brown RA, Patel R, and Razonable RR. Parvovirus B19 infection after transplantation: a review of 98 cases. *Clin Infect Dis* 43: 40-48, 2006.
48. Einsele H, Bertz H, Beyer J, Kiehl MG, Runde V, Kolb HJ, Holler E, Beck R, Schwerdfeger R, Schumacher U, Hebart H, Martin H, Kienast J, Ullmann AJ, Maschmeyer G, Kruger W, Link H, Schmidt CA, Oettle H, and Klingebiel T. [Epidemiology and interventional treatment strategies of infectious complications after allogeneic stem-cell transplantation]. *Dtsch Med Wochenschr* 126: 1278-1284, 2001.
49. Einsele H, Bertz H, Beyer J, Kiehl MG, Runde V, Kolb HJ, Holler E, Beck R, Schwerdfeger R, Schumacher U, Hebart H, Martin H, Kienast J, Ullmann AJ, Maschmeyer G, Kruger W, Niederwieser D, Link H, Schmidt CA, Oettle H, and Klingebiel T. Infectious complications after allogeneic stem cell transplantation: epidemiology and interventional therapy strategies--guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO). *Ann Hematol* 82 Suppl 2: S175-185, 2003.
50. Einsele H, Ehninger G, Hebart H, Wittkowski KM, Schuler U, Jahn G, Mackes P, Herter M, Klingebiel T, Löffler J, Wagner S, and Müller CA. Polymerase chain reaction monitoring reduces the incidence of cytomegalovirus disease and the duration and

- side effects of antiviral therapy after bone marrow transplantation. *Blood* 86: 2815-2820, 1995.
51. Einsele H, Hebart H, Kauffmann-Schneider C, Sinzger C, Jahn G, Bader P, Klingebiel T, Dietz K, Loffler J, Bokemeyer C, Muller CA, and Kanz L. Risk factors for treatment failures in patients receiving PCR-based preemptive therapy for CMV infection. *Bone Marrow Transplant* 25: 757-763, 2000.
 52. Engelhard D, Morag A, Or R, Naparstek E, Cividalli G, Ruchlemer R, Aker M, Maayan S, and Slavin S. Prevention of herpes simplex virus (HSV) infection in recipients of HLA-matched T-lymphocyte-depleted bone marrow allografts. *Isr J Med Sci* 24: 145-150, 1988.
 53. Epstein JB, Ransier A, Sherlock CH, Spinelli JJ, and Reece D. Acyclovir prophylaxis of oral herpes virus during bone marrow transplantation. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 32B: 158-162, 1996.
 54. Epstein RB, Storb R, Ragde H, and Thomas ED. Cytotoxic typing antisera for marrow grafting in littermate dogs. *Transplantation* 6: 45-58, 1968.
 55. Erard V, Huang ML, Ferrenberg J, Nguy L, Stevens-Ayers TL, Hackman RC, Corey L, and Boeckh M. Quantitative real-time polymerase chain reaction for detection of adenovirus after T cell-replete hematopoietic cell transplantation: viral load as a marker for invasive disease. *Clin Infect Dis* 45: 958-965, 2007.
 56. Finke J, and Nagler A. Viewpoint: What is the role of allogeneic haematopoietic cell transplantation in the era of reduced-intensity conditioning - is there still an upper age limit? A focus on myeloid neoplasia. *Leukemia* 21: 1357-1362, 2007.
 57. Flomenberg P, Babbitt J, Drobyski WR, Ash RC, Carrigan DR, Sedmak GV, McAuliffe T, Camitta B, Horowitz MM, Bunin N, and et al. Increasing incidence of adenovirus disease in bone marrow transplant recipients. *J Infect Dis* 169: 775-781, 1994.
 58. Forman SJ, Blume KG, and Thomas ED. *Hematopoietic cell transplantation*. Oxford: Blackwell Science, 1999, p. xxvi, 1260 p.
 59. Fox JP, Brandt CD, Wassermann FE, Hall CE, Spigland I, Kogon A, and Elveback LR. The virus watch program: a continuing surveillance of viral infections in metropolitan New York families. VI. Observations of adenovirus infections: virus excretion patterns, antibody response, efficiency of surveillance, patterns of infections, and relation to illness. *Am J Epidemiol* 89: 25-50, 1969.
 60. Frickhofen N, Arnold R, Hertenstein B, Wiesneth M, and Young NS. Parvovirus B19 infection and bone marrow transplantation. *Ann Hematol* 64 Suppl: A121-124, 1992.
 61. Friedrich W, and Muller SM. Allogeneic stem cell transplantation for treatment of immunodeficiency. *Springer Semin Immunopathol* 26: 109-118, 2004.
 62. Galama JM, de Leeuw N, Wittebol S, Peters H, and Melchers WJ. Prolonged enteroviral infection in a patient who developed pericarditis and heart failure after bone marrow transplantation. *Clin Infect Dis* 22: 1004-1008, 1996.
 63. Gallinella G, Manaresi E, Venturoli S, Grazi GL, Musiani M, and Zerbini M. Occurrence and clinical role of active parvovirus B19 infection in transplant recipients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 18: 811-813, 1999.
 64. Ganepola S, Gentilini C, Hilbers U, Lange T, Rieger K, Hofmann J, Maier M, Liebert UG, Niederwieser D, Engelmann E, Heilbronn R, Thiel E, and Uharek L. Patients at high risk for CMV infection and disease show delayed CD8+ T-cell immune recovery after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 39: 293-299, 2007.
 65. Garcia Ligerio J, Mora Peris B, Garcia Garcia F, Navas Pastor J, Tomas Ros M, Sempere Gutierrez A, Rico Galiano JL, and Fontana Compiano LO. [Hemorrhagic cystitis caused by BK and JC polyomavirus in patients treated with bone marrow transplantation: clinical features and urologic management]. *Actas Urol Esp* 26: 104-110, 2002.
 66. Gibson UE, Heid CA, and Williams PM. A novel method for real time quantitative RT-PCR. *Genome Res* 6: 995-1001, 1996.
 67. Glucksberg H, Storb R, Fefer A, Buckner CD, Neiman PE, Clift RA, Lerner KG, and Thomas ED. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation* 18: 295-304, 1974.

68. Gonzalez Y, Martino R, Badell I, Pardo N, Sureda A, Brunet S, Sierra J, and Rabella N. Pulmonary enterovirus infections in stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 23: 511-513, 1999.
69. Goodrich JM, Bowden RA, Fisher L, Keller C, Schoch G, and Meyers JD. Ganciclovir prophylaxis to prevent cytomegalovirus disease after allogeneic marrow transplant. *Ann Intern Med* 118: 173-178, 1993.
70. Goodrich JM, Mori M, Gleaves CA, Du Mond C, Cays M, Ebeling DF, Buhles WC, DeArmond B, and Meyers JD. Early treatment with ganciclovir to prevent cytomegalovirus disease after allogeneic bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 325: 1601-1607, 1991.
71. Gorczyńska E, Turkiewicz D, Rybka K, Toporski J, Kalwak K, Dyla A, Szczyra Z, and Chybicka A. Incidence, clinical outcome, and management of virus-induced hemorrhagic cystitis in children and adolescents after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 11: 797-804, 2005.
72. Gratwohl A, Baldomero H, Frauendorfer K, and Urbano-Ispizua A. EBMT activity survey 2004 and changes in disease indication over the past 15 years. *Bone Marrow Transplant* 37: 1069-1085, 2006.
73. Gratwohl A, Brand R, Frassoni F, Rocha V, Niederwieser D, Reusser P, Einsele H, and Cordonnier C. Cause of death after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in early leukaemias: an EBMT analysis of lethal infectious complications and changes over calendar time. *Bone Marrow Transplant* 36: 757-769, 2005.
74. Grob JP, Grundy JE, Prentice HG, Griffiths PD, Hoffbrand AV, Hughes MD, Tate T, Wimperis JZ, and Brenner MK. Immune donors can protect marrow-transplant recipients from severe cytomegalovirus infections. *Lancet* 1: 774-776, 1987.
75. Grosskreutz C, Ross V, Scigliano E, Fruchtman S, and Isola L. Low-dose total body irradiation, fludarabine, and antithymocyte globulin conditioning for nonmyeloablative allogeneic transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 9: 453-459, 2003.
76. Hakki M, Riddell SR, Storek J, Carter RA, Stevens-Ayers T, Sudour P, White K, Corey L, and Boeckh M. Immune reconstitution to cytomegalovirus after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: impact of host factors, drug therapy, and subclinical reactivation. *Blood* 102: 3060-3067, 2003.
77. Hebart H, and Einsele H. Clinical aspects of CMV infection after stem cell transplantation. *Hum Immunol* 65: 432-436, 2004.
78. Heegaard ED, and Laub Petersen B. Parvovirus B19 transmitted by bone marrow. *Br J Haematol* 111: 659-661, 2000.
79. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, and Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res* 6: 986-994, 1996.
80. Higuchi R, Fockler C, Dollinger G, and Watson R. Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology (N Y)* 11: 1026-1030, 1993.
81. Hirsch HH. [Viral infections after transplantation]. *Ther Umsch* 60: 641-649, 2003.
82. Holland HK, Wingard JR, and Saral R. Herpesvirus and enteric viral infections in bone marrow transplantation: clinical presentations, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Cancer Invest* 8: 509-521, 1990.
83. Howard DS, Phillips IG, Reece DE, Munn RK, Henslee-Downey J, Pittard M, Barker M, and Pomeroy C. Adenovirus infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis* 29: 1494-1501, 1999.
84. Ingram W, Lim ZY, and Mufti GJ. Allogeneic transplantation for myelodysplastic syndrome (MDS). *Blood Rev* 21: 61-71, 2007.
85. Jansen J. The first successful allogeneic bone-marrow transplant: Georges Mathe. *Transfus Med Rev* 19: 246-248, 2005.
86. Junghanss C, Boeckh M, Carter RA, Sandmaier BM, Maris MB, Maloney DG, Chauncey T, McSweeney PA, Little MT, Corey L, and Storb R. Incidence and outcome of cytomegalovirus infections following nonmyeloablative compared with myeloablative allogeneic stem cell transplantation, a matched control study. *Blood* 99: 1978-1985, 2002.

87. Kalpoe JS, van der Heiden PL, Barge RM, Houtzager S, Lankester AC, van Tol MJ, and Kroes AC. Assessment of disseminated adenovirus infections using quantitative plasma PCR in adult allogeneic stem cell transplant recipients receiving reduced intensity or myeloablative conditioning. *Eur J Haematol* 78: 314-321, 2007.
88. Kalpoe JS, van der Heiden PL, Vaessen N, Claas EC, Barge RM, and Kroes AC. Comparable incidence and severity of cytomegalovirus infections following T cell-depleted allogeneic stem cell transplantation preceded by reduced intensity or myeloablative conditioning. *Bone Marrow Transplant* 40: 137-143, 2007.
89. Kitamura T, Kunitake T, Guo J, Tominaga T, Kawabe K, and Yogo Y. Transmission of the human polyomavirus JC virus occurs both within the family and outside the family. *J Clin Microbiol* 32: 2359-2363, 1994.
90. Kleppe K, Ohtsuka E, Kleppe R, Molineux I, and Khorana HG. Studies on polynucleotides. XCVI. Repair replications of short synthetic DNA's as catalyzed by DNA polymerases. *J Mol Biol* 56: 341-361, 1971.
91. Knipe DM, Howley, P.M. *Field Virology*, Human Polyomavirus (E.O.Major), Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2001, p. 2175-2196.
92. Knipe DM, Howley, P.M. *Fields Virology*, Adenoviridae (T.E.Shenk), Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2001, p. 2265-2326.
93. Knipe DM, Howley, P.M. *Fields Virology*, Diagnostic Virology (G.A.Storch), 2001, p. 493-532.
94. Knipe DM, Howley, P.M. *Fields Virology*, Cytomegalovirus and its Replication, Cytomegalovirus (E.S.Mocarski, Jr. and C.T. Courcelle), Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2001, p. 2629-2706.
95. Knipe DM, Howley, P.M. *Fields Virology*, Enteroviruses: Polioviruses, Coxsackieviruses, Echoviruses and Newer Enteroviruses (M.A.Pallansch, R.P.Roos), Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2001, p. 723-776.
96. Knowles WA. Discovery and epidemiology of the human polyomaviruses BK virus (BKV) and JC virus (JCV). *Adv Exp Med Biol* 577: 19-45, 2006.
97. Kobayashi S, Maruta A, Yamamoto T, Katayama N, Higuchi R, Sakano Y, Fujita H, Koharazawa H, Tomita N, Taguchi J, Kodama F, Nakamura Y, and Shimizu A. Human parvovirus B19 capsid antigen in granulocytes in parvovirus-B19-induced pancytopenia after bone marrow transplantation. *Acta Haematol* 100: 195-199, 1998.
98. Kollman C, Howe CW, Anasetti C, Antin JH, Davies SM, Filipovich AH, Hegland J, Kamani N, Kernan NA, King R, Ratanatharathorn V, Weisdorf D, and Confer DL. Donor characteristics as risk factors in recipients after transplantation of bone marrow from unrelated donors: the effect of donor age. *Blood* 98: 2043-2051, 2001.
99. Krause H, Hebart H, Jahn G, Muller CA, and Einsele H. Screening for CMV-specific T cell proliferation to identify patients at risk of developing late onset CMV disease. *Bone Marrow Transplant* 19: 1111-1116, 1997.
100. Krivit W. Allogeneic stem cell transplantation for the treatment of lysosomal and peroxisomal metabolic diseases. *Springer Semin Immunopathol* 26: 119-132, 2004.
101. Kroger N, Bornhauser M, Ehninger G, Schwerdtfeger R, Biersack H, Sayer HG, Wandt H, Schafer-Eckardt K, Beyer J, Kiehl M, and Zander AR. Allogeneic stem cell transplantation after a fludarabine/busulfan-based reduced-intensity conditioning in patients with myelodysplastic syndrome or secondary acute myeloid leukemia. *Ann Hematol* 82: 336-342, 2003.
102. Kroger N, Zabelina T, Kruger W, Renges H, Stute N, Kabisch H, Jaburg N, Loliger C, Krull A, and Zander AR. Comparison of total body irradiation vs busulfan in combination with cyclophosphamide as conditioning for unrelated stem cell transplantation in CML patients. *Bone Marrow Transplant* 27: 349-354, 2001.
103. Kroger N, Zabelina T, Kruger W, Renges H, Stute N, Schrum J, Kabisch H, Schafhausen P, Jaburg N, Loliger C, Schafer P, Hinke A, and Zander AR. Patient cytomegalovirus seropositivity with or without reactivation is the most important prognostic factor for survival and treatment-related mortality in stem cell transplantation from unrelated donors using pretransplant in vivo T-cell depletion with anti-thymocyte globulin. *Br J Haematol* 113: 1060-1071, 2001.

104. Kroger N, Zabelina T, Sonnenberg S, Kruger W, Renges H, Stute N, Finkenstein F, Mayer U, Holstein K, Fiedler W, Colberg H, Sonnen R, Kuse R, Braumann D, Metzner B, del Valle F, Erttmann R, Kabisch H, and Zander AR. Dose-dependent effect of etoposide in combination with busulfan plus cyclophosphamide as conditioning for stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant* 26: 711-716, 2000.
105. Kröger N, Zander, A.R. *Immunologische Rekonstitution nach hämatologischer Stammzelltransplantation*. Allogene Stammzelltherapie-Grundlagen, Indikationen und Perspektiven, Bremen: UNI-MED Verlag AG, 2004, p. 115-120.
106. Kruger W, Russmann B, Kroger N, Salomon C, Ekopf N, Elsner HA, Kaulfers PM, Mack D, Fuchs N, Durken M, Kabisch H, Erttmann R, and Zander AR. Early infections in patients undergoing bone marrow or blood stem cell transplantation--a 7 year single centre investigation of 409 cases. *Bone Marrow Transplant* 23: 589-597, 1999.
107. Kruger WH, Bohlius J, Cornely OA, Einsele H, Hebart H, Massenkeil G, Schuttrumpf S, Silling G, Ullmann AJ, Waldschmidt DT, and Wolf HH. Antimicrobial prophylaxis in allogeneic bone marrow transplantation. Guidelines of the infectious diseases working party (AGIHO) of the german society of haematology and oncology. *Ann Oncol* 16: 1381-1390, 2005.
108. La Rosa AM, Champlin RE, Mirza N, Gajewski J, Giralt S, Rolston KV, Raad I, Jacobson K, Kontoyiannis D, Elting L, and Whimbey E. Adenovirus infections in adult recipients of blood and marrow transplants. *Clin Infect Dis* 32: 871-876, 2001.
109. Landry ML, Fong CK, Neddermann K, Solomon L, and Hsiung GD. Disseminated adenovirus infection in an immunocompromised host. Pitfalls in diagnosis. *Am J Med* 83: 555-559, 1987.
110. Lazarevic I, Stanojevic M, Cupic M, and Jovanovic T. [The role of PCR in detection of cytomegalovirus in blood and urine of transplanted patients]. *Acta Chir Iugosl* 53: 19-22, 2006.
111. Lednicky JA, Vilchez RA, Keitel WA, Visnegarwala F, White ZS, Kozinetz CA, Lewis DE, and Butel JS. Polyomavirus JCV excretion and genotype analysis in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *Aids* 17: 801-807, 2003.
112. Lindsley DL, Odell TT, Jr., and Tausche FG. Implantation of functional erythropoietic elements following total-body irradiation. *Proc Soc Exp Biol Med* 90: 512-515, 1955.
113. Link H, Vohringer HF, Wingen F, Bragas B, Schwarzt A, and Ehninger G. Pentamidine aerosol for prophylaxis of *Pneumocystis carinii* pneumonia after BMT. *Bone Marrow Transplant* 11: 403-406, 1993.
114. Lion T, Baumgartinger R, Watzinger F, Matthes-Martin S, Suda M, Preuner S, Futterknecht B, Lawitschka A, Peters C, Potschger U, and Gadner H. Molecular monitoring of adenovirus in peripheral blood after allogeneic bone marrow transplantation permits early diagnosis of disseminated disease. *Blood* 102: 1114-1120, 2003.
115. Ljungman P. Cytomegalovirus infections in transplant patients. *Scand J Infect Dis Suppl* 100: 59-63, 1996.
116. Ljungman P. Risk assessment in haematopoietic stem cell transplantation: viral status. *Best Pract Res Clin Haematol* 20: 209-217, 2007.
117. Ljungman P, Aschan J, Lewensohn-Fuchs I, Carlens S, Larsson K, Lonnqvist B, Mattsson J, Sparrelid E, Winiarski J, and Ringden O. Results of different strategies for reducing cytomegalovirus-associated mortality in allogeneic stem cell transplant recipients. *Transplantation* 66: 1330-1334, 1998.
118. Ljungman P, Brand R, Einsele H, Frassoni F, Niederwieser D, and Cordonnier C. Donor CMV serologic status and outcome of CMV-seropositive recipients after unrelated donor stem cell transplantation: an EBMT megafile analysis. *Blood* 102: 4255-4260, 2003.
119. Ljungman P, Griffiths P, and Paya C. Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients. *Clin Infect Dis* 34: 1094-1097, 2002.
120. Ljungman P, Perez-Bercoff L, Jonsson J, Avetisyan G, Sparrelid E, Aschan J, Barkholt L, Larsson K, Winiarski J, Yun Z, and Ringden O. Risk factors for the

- development of cytomegalovirus disease after allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica* 91: 78-83, 2006.
121. Loeffler J, Steffens M, Arlt EM, Toliat MR, Mezger M, Suk A, Wienker TF, Hebart H, Nurnberg P, Boeckh M, Ljungman P, Trenscher R, and Einsele H. Polymorphisms in the genes encoding chemokine receptor 5, interleukin-10, and monocyte chemoattractant protein 1 contribute to cytomegalovirus reactivation and disease after allogeneic stem cell transplantation. *J Clin Microbiol* 44: 1847-1850, 2006.
 122. Lum LG. The kinetics of immune reconstitution after human marrow transplantation. *Blood* 69: 369-380, 1987.
 123. Lundgren G, Wilczek H, Lonnqvist B, Lindholm A, Wahren B, and Ringden O. Acyclovir prophylaxis in bone marrow transplant recipients. *Scand J Infect Dis Suppl* 47: 137-144, 1985.
 124. Lundqvist A, Isa A, Tolfvenstam T, Kvist G, and Broliden K. High frequency of parvovirus B19 DNA in bone marrow samples from rheumatic patients. *J Clin Virol* 33: 71-74, 2005.
 125. Lundqvist A, Tolfvenstam T, Bostic J, Soderlund M, and Broliden K. Clinical and laboratory findings in immunocompetent patients with persistent parvovirus B19 DNA in bone marrow. *Scand J Infect Dis* 31: 11-16, 1999.
 126. Machida U, Kami M, Fukui T, Kazuyama Y, Kinoshita M, Tanaka Y, Kanda Y, Ogawa S, Honda H, Chiba S, Mitani K, Muto Y, Osumi K, Kimura S, and Hirai H. Real-time automated PCR for early diagnosis and monitoring of cytomegalovirus infection after bone marrow transplantation. *J Clin Microbiol* 38: 2536-2542, 2000.
 127. Markowitz RB, Thompson HC, Mueller JF, Cohen JA, and Dynan WS. Incidence of BK virus and JC virus viremia in human immunodeficiency virus-infected and -uninfected subjects. *J Infect Dis* 167: 13-20, 1993.
 128. Martino R, Caballero MD, Canals C, San Miguel J, Sierra J, Rovira M, Solano C, Bargay J, Perez-Simon J, Leon A, Sarra J, Brunet S, and de la Camara R. Reduced-intensity conditioning reduces the risk of severe infections after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 28: 341-347, 2001.
 129. Mathe G, Amiel JL, Schwarzenberg L, Cattani A, and Schneider M. Haematopoietic Chimera in Man after Allogeneic (Homologous) Bone-Marrow Transplantation. (Control of the Secondary Syndrome. Specific Tolerance Due to the Chimerism). *Br Med J* 2: 1633-1635, 1963.
 130. McGlave PB, Shu XO, Wen W, Anasetti C, Nademanee A, Champlin R, Antin JH, Kernan NA, King R, and Weisdorf DJ. Unrelated donor marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia: 9 years' experience of the national marrow donor program. *Blood* 95: 2219-2225, 2000.
 131. Meijer E, Dekker AW, Rozenberg-Arska M, Weersink AJ, and Verdonck LF. Influence of cytomegalovirus seropositivity on outcome after T cell-depleted bone marrow transplantation: contrasting results between recipients of grafts from related and unrelated donors. *Clin Infect Dis* 35: 703-712, 2002.
 132. Mengarelli A, Iori A, Guglielmi C, Romano A, Cerretti R, Torromeo C, Micozzi A, Fenu S, Laurenti L, Donato V, De Felice L, and Arcese W. Standard versus alternative myeloablative conditioning regimens in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for high-risk acute leukemia. *Haematologica* 87: 52-58, 2002.
 133. Metzger C, Terletskaia-Ladwig E, Hess RD, and Enders G. [Rational and efficient enterovirus diagnosis]. *Dtsch Med Wochenschr* 126: 289-293, 2001.
 134. Meyers JD, Flournoy N, and Thomas ED. Risk factors for cytomegalovirus infection after human marrow transplantation. *J Infect Dis* 153: 478-488, 1986.
 135. Meyers JD, Ljungman P, and Fisher LD. Cytomegalovirus excretion as a predictor of cytomegalovirus disease after marrow transplantation: importance of cytomegalovirus viremia. *J Infect Dis* 162: 373-380, 1990.
 136. Miller W, Flynn P, McCullough J, Balfour HH, Jr., Goldman A, Haake R, McGlave P, Ramsay N, and Kersey J. Cytomegalovirus infection after bone marrow transplantation: an association with acute graft-v-host disease. *Blood* 67: 1162-1167, 1986.

137. Nachbaur D, Larcher C, Kircher B, Eibl G, Nussbaumer W, Gunsilius E, Haun M, Grunewald K, and Gastl G. Risk for cytomegalovirus infection following reduced intensity allogeneic stem cell transplantation. *Ann Hematol* 82: 621-627, 2003.
138. Nazarenko IA, Bhatnagar SK, and Hohman RJ. A closed tube format for amplification and detection of DNA based on energy transfer. *Nucleic Acids Res* 25: 2516-2521, 1997.
139. Nguyen Q, Champlin R, Giralt S, Rolston K, Raad I, Jacobson K, Ippoliti C, Hecht D, Tarrand J, Luna M, and Whimbey E. Late cytomegalovirus pneumonia in adult allogeneic blood and marrow transplant recipients. *Clin Infect Dis* 28: 618-623, 1999.
140. Nichols WG, Corey L, Gooley T, Davis C, and Boeckh M. High risk of death due to bacterial and fungal infection among cytomegalovirus (CMV)-seronegative recipients of stem cell transplants from seropositive donors: evidence for indirect effects of primary CMV infection. *J Infect Dis* 185: 273-282, 2002.
141. Nichols WG, Price TH, Gooley T, Corey L, and Boeckh M. Transfusion-transmitted cytomegalovirus infection after receipt of leukoreduced blood products. *Blood* 101: 4195-4200, 2003.
142. Niemann TH, Trigg ME, Winick N, and Penick GD. Disseminated adenoviral infection presenting as acute pancreatitis. *Hum Pathol* 24: 1145-1148, 1993.
143. Niitsu H, Takatsu H, Miura I, Chubachi A, Ito T, Hirokawa M, Endo Y, Miura A, Fukuda M, and Sasaki T. [Pure red cell aplasia induced by B19 parvovirus during allogeneic bone marrow transplantation]. *Rinsho Ketsueki* 31: 1566-1571, 1990.
144. Nowell PC, Cole LJ, Habermeyer JG, and Roan PL. Growth and continued function of rat marrow cells in x-irradiated mice. *Cancer Res* 16: 258-261, 1956.
145. Oeda E, Shinohara K, Inoue H, and Nomiyama J. Parvovirus B19 infection causing severe peripheral blood thrombocytopenia and persistent viremia. *Am J Hematol* 45: 274-275, 1994.
146. Osorio S, de la Camara R, Golbano N, Marti E, Fedele CG, Nieto S, Manzanares R, and Fernandez-Ranada JM. Progressive multifocal leukoencephalopathy after stem cell transplantation, unsuccessfully treated with cidofovir. *Bone Marrow Transplant* 30: 963-966, 2002.
147. Owen RG, Patmore RD, Smith GM, and Barnard DL. Cytomegalovirus-induced T-cell proliferation and the development of progressive multifocal leukoencephalopathy following bone marrow transplantation. *Br J Haematol* 89: 196-198, 1995.
148. Owens AH, Jr., and Santos GW. The effect of cytotoxic drugs on graft-versus-host disease in mice. *Transplantation* 11: 378-382, 1971.
149. Ozdemir E, Saliba RM, Champlin RE, Couriel DR, Giralt SA, de Lima M, Khouri IF, Hosing C, Kornblau SM, Anderlini P, Shpall EJ, Qazilbash MH, Molldrem JJ, Chemaly RF, and Komanduri KV. Risk factors associated with late cytomegalovirus reactivation after allogeneic stem cell transplantation for hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant* 40: 125-136, 2007.
150. Plentz A, Hahn J, Holler E, Jilg W, and Modrow S. Long-term parvovirus B19 viraemia associated with pure red cell aplasia after allogeneic bone marrow transplantation. *J Clin Virol* 31: 16-19, 2004.
151. Polo C, Perez JL, Mielnichuck A, Fedele CG, Niubo J, and Tenorio A. Prevalence and patterns of polyomavirus urinary excretion in immunocompetent adults and children. *Clin Microbiol Infect* 10: 640-644, 2004.
152. Priftakis P, Bogdanovic G, Kokhaei P, Mellstedt H, and Dalianis T. BK virus (BKV) quantification in urine samples of bone marrow transplanted patients is helpful for diagnosis of hemorrhagic cystitis, although wide individual variations exist. *J Clin Virol* 26: 71-77, 2003.
153. Reddehase MJ, Dreher-Stumpp L, Angele P, Balthesen M, and Susa M. Hematopoietic stem cell deficiency resulting from cytomegalovirus infection of bone marrow stroma. *Ann Hematol* 64 Suppl: A125-127, 1992.
154. Reusser P, Einsele H, Lee J, Volin L, Rovira M, Engelhard D, Finke J, Cordonnier C, Link H, and Ljungman P. Randomized multicenter trial of foscarnet versus ganciclovir

- for preemptive therapy of cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 99: 1159-1164, 2002.
155. Ringden O, Labopin M, Tura S, Arcese W, Iriando A, Zittoun R, Sierra J, and Gorin NC. A comparison of busulphan versus total body irradiation combined with cyclophosphamide as conditioning for autograft or allograft bone marrow transplantation in patients with acute leukaemia. Acute Leukaemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Br J Haematol* 93: 637-645, 1996.
 156. Roth B, Enders M, Arents A, Pfitzner A, and Terletskaia-Ladwig E. Epidemiologic aspects and laboratory features of enterovirus infections in Western Germany, 2000-2005. *J Med Virol* 79: 956-962, 2007.
 157. Ruell J, Barnes C, Mutton K, Foulkes B, Chang J, Cavet J, Guiver M, Menasce L, Dougal M, and Chopra R. Active CMV disease does not always correlate with viral load detection. *Bone Marrow Transplant* 40: 55-61, 2007.
 158. Runde V, Ross S, Trenschele R, Lagemann E, Basu O, Renzing-Kohler K, Schaefer UW, Roggendorf M, and Holler E. Adenoviral infection after allogeneic stem cell transplantation (SCT): report on 130 patients from a single SCT unit involved in a prospective multi center surveillance study. *Bone Marrow Transplant* 28: 51-57, 2001.
 159. Russell JA, Tran HT, Quinlan D, Chaudhry A, Duggan P, Brown C, Stewart D, Ruether JD, Morris D, Glick S, Gyonyor E, and Andersson BS. Once-daily intravenous busulfan given with fludarabine as conditioning for allogeneic stem cell transplantation: study of pharmacokinetics and early clinical outcomes. *Biol Blood Marrow Transplant* 8: 468-476, 2002.
 160. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, and Erlich HA. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239: 487-491, 1988.
 161. Sandherr M, Einsele H, Hebart H, Kahl C, Kern W, Kiehl M, Massenkeil G, Penack O, Schiel X, Schuettrumpf S, Ullmann AJ, and Cornely OA. Antiviral prophylaxis in patients with haematological malignancies and solid tumours: Guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society for Hematology and Oncology (DGHO). *Ann Oncol* 17: 1051-1059, 2006.
 162. Santos GW. History of bone marrow transplantation. *Clin Haematol* 12: 611-639, 1983.
 163. Santos GW, and Kaizer H. Bone marrow transplantation in acute leukemia. *Semin Hematol* 19: 227-239, 1982.
 164. Schetelig J, Oswald O, Steuer N, Radonic A, Thulke S, Held TK, Oertel J, Nitsche A, and Siegert W. Cytomegalovirus infections in allogeneic stem cell recipients after reduced-intensity or myeloablative conditioning assessed by quantitative PCR and pp65-antigenemia. *Bone Marrow Transplant* 32: 695-701, 2003.
 165. Schilham MW, Claas EC, van Zaane W, Heemskerk B, Vossen JM, Lankester AC, Toes RE, Echavarria M, Kroes AC, and van Tol MJ. High levels of adenovirus DNA in serum correlate with fatal outcome of adenovirus infection in children after allogeneic stem-cell transplantation. *Clin Infect Dis* 35: 526-532, 2002.
 166. Schleuning M, Jager G, Holler E, Hill W, Thomssen C, Denzlinger C, Lorenz T, Ledderose G, Wilmanns W, and Kolb HJ. Human parvovirus B19-associated disease in bone marrow transplantation. *Infection* 27: 114-117, 1999.
 167. Schwarzer AP, Opat SS, Watson AM, Spelman D, Firkin F, and Lee N. Disseminated echovirus infection after allogeneic bone marrow transplantation. *Pathology* 29: 424-425, 1997.
 168. Seong D, Bruner JM, Lee KH, Mirza N, Kwon BD, Lee JH, Lee YY, Ro J, Talpaz M, Champlin R, and Deisseroth AB. Progressive multifocal leukoencephalopathy after autologous bone marrow transplantation in a patient with chronic myelogenous leukemia. *Clin Infect Dis* 23: 402-403, 1996.
 169. Shields AF, Hackman RC, Fife KH, Corey L, and Meyers JD. Adenovirus infections in patients undergoing bone-marrow transplantation. *N Engl J Med* 312: 529-533, 1985.

170. Slavin MA, Gooley TA, and Bowden RA. Prediction of cytomegalovirus pneumonia after marrow transplantation from cellular characteristics and cytomegalovirus culture of bronchoalveolar lavage fluid. *Transplantation* 58: 915-919, 1994.
171. Slavin S, Nagler A, Naparstek E, Kapelushnik Y, Aker M, Cividalli G, Varadi G, Kirschbaum M, Ackerstein A, Samuel S, Amar A, Brautbar C, Ben-Tal O, Eldor A, and Or R. Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases. *Blood* 91: 756-763, 1998.
172. Soderlund M, Ruutu P, Ruutu T, Asikainen K, Franssila R, and Hedman K. Primary and secondary infections by human parvovirus B19 following bone marrow transplantation: characterization by PCR and B-cell molecular immunology. *Scand J Infect Dis* 29: 129-135, 1997.
173. Solano C, Juan O, Gimeno C, and Garcia-Conde J. Engraftment failure associated with peripheral blood stem cell transplantation after B19 parvovirus infection. *Blood* 88: 1515-1517, 1996.
174. Soni S. Allogeneic stem cell transplantation for genetic disorders. *J Ky Med Assoc* 105: 12-16, 2007.
175. Srivastava A, Bruno E, Briddell R, Cooper R, Srivastava C, van Besien K, and Hoffman R. Parvovirus B19-induced perturbation of human megakaryocytopoiesis in vitro. *Blood* 76: 1997-2004, 1990.
176. Steffens HP, Podlech J, Kurz S, Angele P, Dreis D, and Reddehase MJ. Cytomegalovirus inhibits the engraftment of donor bone marrow cells by downregulation of hemopoietin gene expression in recipient stroma. *Journal of virology* 72: 5006-5015, 1998.
177. Storb R, Epstein RB, Graham TC, and Thomas ED. Methotrexate regimens for control of graft-versus-host disease in dogs with allogeneic marrow grafts. *Transplantation* 9: 240-246, 1970.
178. Storek J, Wells D, Dawson MA, Storer B, and Maloney DG. Factors influencing B lymphopoiesis after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood* 98: 489-491, 2001.
179. Sullivan KM, Weiden PL, Storb R, Witherspoon RP, Fefer A, Fisher L, Buckner CD, Anasetti C, Appelbaum FR, Badger C, and et al. Influence of acute and chronic graft-versus-host disease on relapse and survival after bone marrow transplantation from HLA-identical siblings as treatment of acute and chronic leukemia. *Blood* 73: 1720-1728, 1989.
180. Symeonidis N, Jakubowski A, Pierre-Louis S, Jaffe D, Pamer E, Sepkowitz K, O'Reilly RJ, and Papanicolaou GA. Invasive adenoviral infections in T-cell-depleted allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: high mortality in the era of cidofovir. *Transpl Infect Dis* 9: 108-113, 2007.
181. Takayama R, Hatakeyama N, Suzuki N, Yamamoto M, Hayashi T, Ikeda Y, Ikeda H, Nagano H, Ishida T, and Tsutsumi H. Quantification of adenovirus species B and C viremia by real-time PCR in adults and children undergoing stem cell transplantation. *J Med Virol* 79: 278-284, 2007.
182. Talmadge JE, Reed E, Ino K, Kessinger A, Kuszynski C, Heimann D, Varney M, Jackson J, Vose JM, and Bierman PJ. Rapid immunologic reconstitution following transplantation with mobilized peripheral blood stem cells as compared to bone marrow. *Bone Marrow Transplant* 19: 161-172, 1997.
183. Tam CS, Wolf MM, Januszewicz EH, Prince HM, Westerman D, and Seymour JF. Fludarabine and cyclophosphamide using an attenuated dose schedule is a highly effective regimen for patients with indolent lymphoid malignancies. *Cancer* 100: 2181-2189, 2004.
184. Tarcan A, Ozbek N, and Gurakan B. Bone marrow failure with concurrent enteroviral infection in a newborn. *Pediatr Infect Dis J* 20: 719-721, 2001.
185. Thomas LD, Vilchez RA, White ZS, Zanwar P, Milstone AP, Butel JS, and Dummer S. A prospective longitudinal study of polyomavirus shedding in lung-transplant recipients. *J Infect Dis* 195: 442-449, 2007.

186. Townsend TR, Bolyard EA, Yolken RH, Beschorner WE, Bishop CA, Burns WH, Santos GW, and Saral R. Outbreak of Coxsackie A1 gastroenteritis: a complication of bone-marrow transplantation. *Lancet* 1: 820-823, 1982.
187. Uzunel M, Remberger M, Sairafi D, Hassan Z, Mattsson J, Omazic B, Barkholt L, and Ringden O. Unrelated versus related allogeneic stem cell transplantation after reduced intensity conditioning. *Transplantation* 82: 913-919, 2006.
188. van Besien K, Devine S, Wickrema A, Jessop E, Amin K, Yassine M, Maynard V, Stock W, Peace D, Ravandi F, Chen YH, Cheung T, Vijayakumar S, Hoffman R, and Sosman J. Safety and outcome after fludarabine-thiotepa-TBI conditioning for allogeneic transplantation: a prospective study of 30 patients with hematologic malignancies. *Bone Marrow Transplant* 32: 9-13, 2003.
189. van der Heiden PL, Kalpoe JS, Barge RM, Willemze R, Kroes AC, and Schippers EF. Oral valganciclovir as pre-emptive therapy has similar efficacy on cytomegalovirus DNA load reduction as intravenous ganciclovir in allogeneic stem cell transplantation recipients. *Bone Marrow Transplant* 37: 693-698, 2006.
190. van Kraaij MG, Dekker AW, Verdonck LF, van Loon AM, Vinje J, Koopmans MP, and Rozenberg-Arska M. Infectious gastro-enteritis: an uncommon cause of diarrhoea in adult allogeneic and autologous stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 26: 299-303, 2000.
191. van Kraaij MG, Verdonck LF, Rozenberg-Arska M, and Dekker AW. Early infections in adults undergoing matched related and matched unrelated/mismatched donor stem cell transplantation: a comparison of incidence. *Bone Marrow Transplant* 30: 303-309, 2002.
192. Viallard JF, Lazaro E, Ellie E, Eimer S, Camou F, Caubet O, Lafon ME, Fleury H, and Pellegrin JL. Improvement of progressive multifocal leukoencephalopathy after cidofovir therapy in a patient with a destructive polyarthritis. *Infection* 35: 33-36, 2007.
193. Vuorinen T, Vainionpaa R, Kettinen H, and Hyypia T. Coxsackievirus B3 infection in human leukocytes and lymphoid cell lines. *Blood* 84: 823-829, 1994.
194. Walker CM, van Burik JA, De For TE, and Weisdorf DJ. Cytomegalovirus infection after allogeneic transplantation: comparison of cord blood with peripheral blood and marrow graft sources. *Biol Blood Marrow Transplant* 13: 1106-1115, 2007.
195. Warkentin DI, Epstein JB, Campbell LM, Yip JG, Cox VC, Ransier A, Barnett MJ, and Marra F. Valacyclovir versus acyclovir for HSV prophylaxis in neutropenic patients. *Ann Pharmacother* 36: 1525-1531, 2002.
196. Weiland HT, Salimans MM, Fibbe WE, Kluin PM, and Cohen BJ. Prolonged parvovirus B19 infection with severe anaemia in a bone marrow transplant patient. *Br J Haematol* 71: 300, 1989.
197. Weinberg K, Annett G, Kashyap A, Lenarsky C, Forman SJ, and Parkman R. The effect of thymic function on immunocompetence following bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 1: 18-23, 1995.
198. Winston DJ, Ho WG, Gale RP, and Champlin RE. Prophylaxis of infection in bone marrow transplants. *Eur J Cancer Clin Oncol* 24 Suppl 1: S15-23, 1988.
199. Winston DJ, Maziarz RT, Chandrasekar PH, Lazarus HM, Goldman M, Blumer JL, Leitz GJ, and Territo MC. Intravenous and oral itraconazole versus intravenous and oral fluconazole for long-term antifungal prophylaxis in allogeneic hematopoietic stem-cell transplant recipients. A multicenter, randomized trial. *Ann Intern Med* 138: 705-713, 2003.
200. Witherspoon RP, Storb R, Ochs HD, Fluornoy N, Kopecky KJ, Sullivan KM, Deeg JH, Sosa R, Noel DR, Atkinson K, and Thomas ED. Recovery of antibody production in human allogeneic marrow graft recipients: influence of time posttransplantation, the presence or absence of chronic graft-versus-host disease, and antithymocyte globulin treatment. *Blood* 58: 360-368, 1981.
201. www.drst.de.
202. Yolken RH, Bishop CA, Townsend TR, Bolyard EA, Bartlett J, Santos GW, and Saral R. Infectious gastroenteritis in bone-marrow-transplant recipients. *N Engl J Med* 306: 1010-1012, 1982.

203. Yoto Y, Kudoh T, Suzuki N, Katoh S, Matsunaga Y, and Chiba S. Thrombocytopenia induced by human parvovirus B19 infections. *Eur J Haematol* 50: 255-257, 1993.
204. Yuen KY, Woo PC, Liang RH, Chiu EK, Chen FF, Wong SS, Lau YL, Ha SY, Peiris JS, Siau H, and Chan TK. Clinical significance of alimentary tract microbes in bone marrow transplant recipients. *Diagn Microbiol Infect Dis* 30: 75-81, 1998.
205. Zhong S, Zheng HY, Suzuki M, Chen Q, Ikegaya H, Aoki N, Usuku S, Kobayashi N, Nukuzuma S, Yasuda Y, Kuniyoshi N, Yogo Y, and Kitamura T. Age-related urinary excretion of BK polyomavirus by nonimmunocompromised individuals. *J Clin Microbiol* 45: 193-198, 2007.
206. Zitella L. Central venous catheter site care for blood and marrow transplant recipients. *Clin J Oncol Nurs* 7: 289-298, 2003.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Phasen der Immunrekonstitution nach SZT	- 3 -
Abbildung 2:	Phasen der SZT mit vorherrschendem Erregerspektrum	- 4 -
Abbildung 3:	Verwandtschaftliche Übereinstimmungsgrad von Spendern und Empfängern	- 17 -
Abbildung 4:	Klinische Einteilung und Schweregrad der akuten GvHD	- 20 -
Abbildung 5:	Schema der Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)	- 24 -
Abbildung 6:	Hydrolyse der Sonde und Freisetzung des Reporterfarbstoffes	- 25 -
Abbildung 7:	Klassifizierung der klinischen Symptomatik in Bezug auf ihre virale Genese	- 31 -
Abbildung 8:	Prozentualer Anteil getesteter und Virus-positiver Patienten	- 36 -
Abbildung 9:	Nachweis verschiedener Virusspezies bei den untersuchten Patienten	- 39 -
Abbildung 10:	Vergleich von CMV-positiven und -negativen Patienten bezüglich des Engraftments von Leukozyten und Thrombozyten	- 51 -
Abbildung 11:	ADV-Erstnachweis bei Patienten mit und ohne ADV-Manifestation	- 62 -
Abbildung 12:	Diagramm zu Erkrankungs-/Symptomursachen bei den untersuchten Patienten	- 83 -
Abbildung 13:	Anteil der Patienten mit einem Überleben \geq / \leq als 100 Tage nach SZT an der Gesamtanzahl pro Jahr durchgeführter SZT	- 86 -

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	CMV-Serostatuskonstellationen von Spendern und Empfängern	- 18 -
Tabelle 2:	Konditionierungsschemata bei den untersuchten Patienten (n=58)	- 19 -
Tabelle 3:	Oligonukleotide und Konzentrationen für Adenovirus	- 26 -
Tabelle 4:	Oligonukleotide und Konzentrationen für Cytomegalievirus	- 26 -
Tabelle 5:	Übersicht der durchgeführten PCR-Testungen auf CMV	- 27 -
Tabelle 6:	Übersicht der durchgeführten PCR-Testungen auf ADV	- 28 -
Tabelle 7:	Übersicht der durchgeführten PCR-Testungen bei anderen Viren	- 29 -
Tabelle 8:	Ergebnisse der PCR-Testungen bei den 58 Patienten	- 37 -
Tabelle 9:	Übersicht über die getesteten Probenmaterialien und ihre Resultate	- 38 -
Tabelle 10:	Nachweis der verschiedenen Virusarten bei den Patienten (n=58)	- 39 -
Tabelle 11:	Probenmaterialien und ihre Testresultate für CMV	- 40 -
Tabelle 12:	Kreuztabelle: CMV-Nachweis und CMV-Serostatus/fremd-allogene SZT	- 42 -
Tabelle 13:	Charakteristika: Patienten mit und ohne CMV-Reaktivierung/-Infektion	- 44 -
Tabelle 14:	Zeitpunkte der Erstdetektion von CMV und ADV bei den Patienten	- 45 -
Tabelle 15:	Patienten mit CMV-Nachweis und assoziierter Symptomatik/Erkrankung	- 47 -
Tabelle 16:	CMV-Nachweis bei den Patienten mit CMV-assoziierter Symptomatik	- 49 -
Tabelle 17:	Korrelation von CMV und Thrombozytenanzahl	- 50 -
Tabelle 18:	Verteilung der CMV-Serostatus von Spendern und Empfängern	- 52 -
Tabelle 19:	Auf CMV gestestetes Probenmaterial von Patienten mit gleichzeitigen Urinmonitoring	- 53 -
Tabelle 20:	CMV-Nachweise bei den Patienten mit Urin-Monitoring (n=15)	- 54 -
Tabelle 21:	Charakteristika: Patienten mit und ohne CMV-Nachweis im Urin	- 56 -
Tabelle 22:	Probenmaterialien und ihre Testresultate für ADV	- 57 -
Tabelle 23:	Charakteristika: Patienten mit und ohne ADV-Infektion	- 59 -
Tabelle 24:	Charakteristika: Patienten mit und ohne ADV-assoziierter Symptomatik	- 63 -
Tabelle 25:	ADV-positives Probenmaterial und assoziierte Symptomatik	- 64 -

Tabelle 26:	Korrelation von ADV-Nachweis und Thrombozytenanzahl	- 67 -
Tabelle 27:	ENV-positives Probenmaterial und assoziierte Symptomatik	- 69 -
Tabelle 28:	Probenmaterialien und ihre Testresultate für ENV	- 70 -
Tabelle 29:	ENV-Infektion und verwandtschaftlicher Übereinstimmungsgrad von	- 71 -
Tabelle 30:	Charakteristika: Patienten mit und ohne ENV-Infektion	- 72 -
Tabelle 31:	Probenmaterialien und ihre Testresultate auf HSV	- 74 -
Tabelle 32:	Charakteristika: Patienten mit und ohne HSV-Reaktivierung	- 76 -
Tabelle 33:	Nachweis von Parvovirus B19 und klinische Symptomatik	- 78 -
Tabelle 34:	Vorstellung der auf JCV getesteten Patienten	- 79 -
Tabelle 35:	Körpertemperatur bei Virusnachweis im Knochenmark	- 82 -
Tabelle 36:	Klinische Symptomatik/Erkrankung in der Patientenkohorte	- 84 -
Tabelle 37:	Virusinfektionen und ihre klinischen Manifestationen	- 85 -
Tabelle 38:	Todesursachen in den ersten 100 Tagen nach allogener SZT	- 88 -
Tabelle 39:	Übersicht der untersuchten Patienten	- 114 -
Tabelle 40:	Fortsetzung: Übersicht der untersuchten Patienten	- 115 -

Abkürzungsverzeichnis

Abstr.	Abstrich
ADV	Adenovirus
Ag pp65	Antigen pp65
ALL	Akute Leukämische Leukämie
ALT	Alanin-Aminotransferase
AML	Akute Myeloische Leukämie
AP	Alkalische Phosphatase
ARDS	Akutes Atemnotsyndrom
AST	Aspartat-Amino-Transferase
ATG	Anti-Thymozyten-Globulin
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
Biops.	Biopsie
Bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
CML	Chronische Myeloische Leukämie
CMV	Cytomegalievirus
CRP	C-Reaktives Protein
DD	Differentialdiagnose
DGHO	Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DON	Spender
DR	dosisreduziert
EB	Erbrochenes
EBV	Epstein-Barr-Virus
EKG	Elektrokardiogramm
EMAU	Ernst-Moritz-Arndt-Universität
ENV	Enterovirus
JCV	JC-Virus
Fam	familiär
gGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GITS	Gastrointestinalesekret
GPT/L	Gigapartikel pro Liter
Graft failure	Transplantatversagen
GvHD	Graft-versus-Host-Erkrankung
Gy	Gray

Häm. Cystitis	Hämorrhagische Cystitis
HHV 6	humanes Herpesvirus 6
HLA	Humanes Leukozyten-Antigen
HS	Hämophagozytose Syndrom
HSV	Herpes-simplex-Virus
IgG	Immunglobulin G
IV	Influenzavirus
i.v.	intravenös
k	kein
K	konventionell
Kg	Kilogramm
KM	Knochenmark
Liq.	Liquor
m	männlich oder möglich
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
Mg/L	Milligramm pro Liter
MM	Multiples Myelom
mm ³	Kubikmillimeter
MOV	Multiorganversagen
µl	Mikroliter
neg	negativ
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
p.o.	per os
PCR	Polymerase-Ketten-Reaktion
pos	positiv
PVB 19	Parvovirus B19
RAS	Rachenabstrich
RSW	Rachenspülwasser
REC	Empfänger
RNA	Ribonukleinsäure
RSV	Respiratory-syncytial-Virus
s.o.	siehe oben
s	sicher
Sp.	Sputum
SZT	Stammzelltransplantation
TBI	Ganzkörperbestrahlung
VZV	Varizella-zoster-Virus

u.a.	unter anderem
w	weiblich oder wahrscheinlich
>	größer
<	kleiner

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass die Dissertation von mir selbst und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt haben. Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät vorgelegt worden.

Datum

Meike Heskamp

Lebenslauf

Name: Meike Heskamp

Geburtsdatum: 24.07.1981

Geburtsort: Wesel (NRW)

Staatsbürgerschaft: deutsch

Familienstatus: ledig

1988-1992: Gemeinschaftsgrundschule Bruckhausen

1992-2001: Otto-Hahn-Gymnasium Dinslaken

Juni 2001: Abitur am Otto-Hahn-Gymnasium Dinslaken

Oktober 2001: Aufnahme des Studiums der Humanmedizin an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald (EMAU)

September 2003: Ärztliche Vorprüfung an der EMAU in Greifswald

August 2006 -

August 2007: Praktisches Jahr:

1.Tertial: Neurologie an der EMAU Greifswald

2.Tertial: Innere Medizin im Kreisspital Männedorf
/Schweiz

3.Tertial: Chirurgie an der EMAU Greifswald

Mai 2008: Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung / Approbation als
Ärztin

Oktober 2008: Arbeitsbeginn als Assistenzärztin in der Neurologie im
Sygehus Sønderjylland (Sønderborg/Dänemark)

Datum

Meike Heskamp

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. G. Dölken danke ich recht herzlich für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit der Durchführung der Arbeit in der Klinik für Hämatologie und Onkologie des Universitätsklinikums Greifswald.

Besonderer Dank gilt meinen Betreuern, Prof. Dr. med. W. Krüger und Dr. med. C. Lotze, die mir durch ihre Unterstützung diese Arbeit ermöglicht haben.

Frau Prof. Dr. med. R. Mentel und den Mitarbeitern des Mikrobiologischen Instituts der Universitätsklinik Greifswald danke ich für die komplikationslose und freundliche Zusammenarbeit.

Für die Beratung in allen statistischen Belangen möchte ich mich ganz herzlich bei Dr. med. Wodny vom Institut für Medizinische Biometrie der Universitätsklinik (Institutsdirektor: Herr Prof. Dr. rer. nat. habil. Karl-Ernst Biebler) bedanken.

Allen hier nicht namentlich genannten Mitarbeitern der Klinik für Hämatologie und Onkologie danke ich für das freundliche Entgegenkommen und ihre Unterstützung.