

**Korrelation virologischer und klinischer Daten
bei Kindern mit einer Adenovirus-Infektion
nach allogener Stammzelltransplantation**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Michaloudis, Alexander

Promotionsjahr 2014

Dekan: Professor Dr. med. Ingo B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. med. Gerhard Jahn

2. Berichterstatter: Professor Dr. med. Reinhard Kandolf

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	V
Tabellenverzeichnis.....	VII
Abkürzungsverzeichnis	VII
1. Einleitung	1
1.1. Charakterisierung des Adenovirus	1
1.1.1. Biologische Grundlagen.....	1
1.1.2. Klinische Manifestation bei Immunkompetenten.....	3
1.2. ADV-Infektion bei immunsupprimierten Patienten nach Stammzelltransplantation.....	3
1.2.1. Klinische Manifestation	3
1.2.2. Risikofaktoren und Inzidenzen für ADV-Infektionen bei immunsupprimierten Patienten.....	5
1.3. Diagnose von ADV-Infektionen und Bestimmung der Viruslast.....	6
1.3.1. Definition der ADV-Infektion und -Erkrankung.....	6
1.3.2. Diagnostische Methoden zur Bestimmung der ADV-Infektion und der Viruslast	7
1.4. Therapieoptionen	9
1.4.1. Antivirale Medikamente	9
1.4.2. Prophylaktische, präventive und kurative antivirale Behandlung ..	10
1.4.3. Therapie mit ADV-spezifischen T-Zellen	12
1.4.4. Therapieempfehlungen für die Behandlung der ADV-Infektion.....	13
1.4.5. Klinischer Entscheidungs- und Behandlungs-Algorithmus der Universitäts-Kinderklinik Tübingen	15
1.5. Arbeitshypothese, Zielsetzung und Fragestellung der Arbeit	18
2. Material und Methoden	20
2.1. Patientenkollektiv und Datenerfassung	20
2.2. Parameter und Erfassungszeiträume	21
2.3. Statistische Auswertung	24
2.4. Graphische Darstellung	26

3. Ergebnisse.....	27
3.1. Allgemeines.....	27
3.2. Transplantationsarten.....	28
3.3. Korrelationsanalyse.....	29
3.3.1. Korrelationen des Gesamtkollektivs als Stichprobe	29
3.3.2. Korrelationen des Gesamtkollektivs im Verlauf	36
3.3.3. Korrelationen innerhalb einzelner Patienten	50
3.3.4. Zusammenfassung der Ergebnisse der Korrelationsanalyse	59
3.4. Analyse der spezifischen antiviralen Therapie.....	60
3.4.1. Therapieerfolg von Cidofovir	61
3.4.2. Verstorbene Patienten mit ADV-DNA-Nachweis	70
3.4.3. Zusammenfassung der Ergebnisse der Therapie mit Cidofovir und ADV-spezifischen T-Zellen.....	76
3.5. Begleitende Symptome und Komplikationen während des Infektionszeitraums	77
4. Diskussion.....	81
4.1. Allgemeines.....	81
4.2. Bedeutung der quantitativen Echtzeit-PCR	82
4.3. Interpretation der Korrelationsanalyse.....	83
4.4. Evaluation der Wirksamkeit von Cidofovir	85
4.5. Symptome und Komplikationen bei steigender Viruslast	91
4.6. Schlussfolgerung	93
5. Zusammenfassung.....	95
6. Literaturverzeichnis	97
7. Danksagung	104
8. Lebenslauf.....	105

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Struktur humaner Adenoviren.....	2
Abb. 2: Klinischer Entscheidungsalgorithmus Universitäts-Kinderklinik Tübingen.....	17
Abb. 3: Tag der ersten positiven ADV-DNA-Bestimmung nach aSZT; n = 33.....	27
Abb. 4: Patienten mit Stammzellepräparat von verwandtem Spender.....	28
Abb. 5: Patienten mit Stammzellepräparat von nicht-verwandtem Spender.....	28
Abb. 6: Korrelation von Viruslast und CRP; n = 33.....	29
Abb. 7: Korrelation von Viruslast und Kreatinin; n = 33.....	30
Abb. 8: Korrelation von Viruslast und Harnstoff; n = 33.....	30
Abb. 9: Korrelation von Viruslast und γ GT; n = 33.....	31
Abb. 10: Korrelation von Viruslast und GOT; n = 33.....	31
Abb. 11: Korrelation von Viruslast und GPT; n = 33.....	32
Abb. 12: Korrelation von Viruslast und LDH; n = 33.....	32
Abb. 13: Korrelation von Viruslast und Hämoglobin; n = 33.....	33
Abb. 14: Korrelation von Viruslast und Hämatokrit; n = 33.....	33
Abb. 15: Korrelation von Viruslast und Erythrozytenzahl; n = 33.....	34
Abb. 16: Korrelation von Viruslast und Thrombozytenzahl; n = 33.....	34
Abb. 17: Korrelation von Viruslast und Leukozytenzahl; n = 33.....	35
Abb. 18: Korrelation von Viruslast und Temperatur; n = 33.....	35
Abb. 19: Streuung der Viruslastwerte der Patienten während ihrer ADV-Infektion.....	36
Abb. 20: Korrelation von Viruslast und CRP im Verlauf; n = 24.....	37
Abb. 21: Korrelation von Viruslast und Kreatinin im Verlauf; n = 24.....	38
Abb. 22: Korrelation von Viruslast und Harnstoff im Verlauf; n = 24.....	39
Abb. 23: Korrelation von Viruslast und γ GT im Verlauf; n = 24.....	40
Abb. 24: Korrelation von Viruslast und LDH im Verlauf; n = 24.....	41
Abb. 25: Korrelation von Viruslast und GOT im Verlauf; n = 24.....	42
Abb. 26: Korrelation von Viruslast und GPT im Verlauf; n = 24.....	43
Abb. 27: Korrelation von Viruslast und Hämoglobin im Verlauf; n = 24.....	44
Abb. 28: Korrelation von Viruslast und Hämatokrit im Verlauf; n = 24.....	45
Abb. 29: Korrelation von Viruslast und Erythrozytenzahl im Verlauf; n = 24.....	46
Abb. 30: Korrelation von Viruslast und Thrombozytenzahl im Verlauf; n = 24.....	47
Abb. 31: Korrelation von Viruslast und Leukozytenzahl im Verlauf; n = 24.....	48
Abb. 32: Korrelation von Viruslast und Temperatur im Verlauf; n = 24.....	49
Abb. 33: Korrelation und Verlauf von Viruslast und γ GT; Patient 3.....	50
Abb. 34: Korrelation und Verlauf von Viruslast und GOT; Patient 3.....	51
Abb. 35: Korrelation und Verlauf von Viruslast und CRP; Patient 7.....	51
Abb. 36: Korrelation und Verlauf von Viruslast und Kreatinin; Patient 7.....	52
Abb. 37: Korrelation und Verlauf von Viruslast und Temperatur; Patient 7.....	52
Abb. 38: Korrelation und Verlauf von Viruslast und Harnstoff; Patient 13.....	53
Abb. 39: Korrelation und Verlauf von Viruslast und γ GT; Patient 13.....	53

Abb. 40: Korrelation und Verlauf von Viruslast und GOT; Patient 13.....	54
Abb. 41: Korrelation und Verlauf von Viruslast und GPT; Patient 13	54
Abb. 42: Korrelation und Verlauf von Viruslast und LDH; Patient 13	55
Abb. 43: Korrelation und Verlauf von Viruslast und Leukozytenzahl; Patient 14.....	55
Abb. 44: Korrelation und Verlauf von Viruslast und Erythrozytenzahl; Patient 20	56
Abb. 45: Korrelation und Verlauf von Viruslast und LDH; Patient 22	56
Abb. 46: Korrelation und Verlauf von Viruslast und Thrombozytenzahl; Patient 22	57
Abb. 47: Korrelation und Verlauf von Viruslast und Leukozytenzahl; Patient 22.....	57
Abb. 48: Korrelation und Verlauf von Viruslast und Temperatur; Patient 22	58
Abb. 49: Korrelation und Verlauf von Viruslast und CRP; Patient 28	58
Abb. 50: Legende zu den Abbildungen 51 - 73.....	60
Abb. 51: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient Nr. 4.....	61
Abb. 52: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient Nr. 7	62
Abb. 53: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 8	62
Abb. 54: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 9	63
Abb. 55: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 11	63
Abb. 56: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 12	64
Abb. 57: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 14	64
Abb. 58: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 16	65
Abb. 59: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 17	65
Abb. 60: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 18	66
Abb. 61: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 22	66
Abb. 62: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 23	67
Abb. 63: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 28	67
Abb. 64: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 29	68
Abb. 65: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 30	68
Abb. 66: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 31	69
Abb. 67: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 32	69
Abb. 68: Viruslast und medikamentöse Therapie; Patient 1	70
Abb. 69: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 3	71
Abb. 70: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 13	72
Abb. 71: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 20	73
Abb. 72: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 24	74
Abb. 73: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 26	75
Abb. 74: Therapieerfolg von Cidofovir in Bezug auf ADV-Infektion und -Erkrankung.	76
Abb. 75: Höhe der ADV-DNA-Kopienanzahl (letzte Bestimmung) vor dem Versterben der Patienten.....	77
Abb. 76: Klinische Symptome während ADV-Infektion	78
Abb. 77: Diarrhoe mit und ohne Graft-versus-Host-Disease (GvHD) des Darms	78
Abb. 78: Zusätzliche Virusinfektionen während ADV-Infektion	79
Abb. 79: Anzahl der Patienten mit Komplikationen während ADV-Infektion.....	79
Abb. 80: Todesursachen während ADV-DNA positiv.....	80

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Klassifizierung der Adenoviren nach Spezies, Serotyp und klinischer Manifestation.....	4
Tab. 2: Risikofaktoren für ADV-Infektion bei Kindern und Erwachsenen	6
Tab. 3: Prophylaxe und Therapie der ADV-Infektion und -Erkrankung.	15
Tab. 4: Hauptdiagnosen der Patienten.	23
Tab. 5: Kovarianzanalyse für Viruslast und CRP.	37
Tab. 6: Kovarianzanalyse für Viruslast und Kreatinin.....	38
Tab. 7: Kovarianzanalyse für Viruslast und Harnstoff.	39
Tab. 8: Kovarianzanalyse für Viruslast und γ GT	40
Tab. 9: Kovarianzanalyse für Viruslast und LDH.....	41
Tab. 10: Kovarianzanalyse für Viruslast und GOT	42
Tab. 11: Kovarianzanalyse für Viruslast und GPT	43
Tab. 12: Kovarianzanalyse für Viruslast und Hämoglobin.....	44
Tab. 13: Kovarianzanalyse für Viruslast und Hämatokrit	45
Tab. 14: Kovarianzanalyse für Viruslast und Erythrozytenzahl.	46
Tab. 15: Kovarianzanalyse für Viruslast und Thrombozytenzahl	47
Tab. 16: Kovarianzanalyse für Viruslast und Leukozytenzahl.....	48
Tab. 17: Kovarianzanalyse für Viruslast und Temperatur.	49

Abkürzungsverzeichnis

ADV	Adenovirus, Adenoviren, adenoviral
AsT	Adenovirus-spezifische T-Zellen
aSZT	allogene Stammzelltransplantation
CAR	Coxsackievirus-Adenovirus-Rezeptor
CDV	Cidofovir
CMV	Cytomegalovirus
CRP	c-reaktives Protein
CSA	Ciclosporin A
df	Degrees of Freedom
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EBV	Ebstein-Barr-Virus
ECIL	European Conference of Infections in Leukemia
F	Statistischer F-Test

γ -GT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
GvHD	Graft-versus-Host-Disease
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HHV	Humanes Herpesvirus
HLA	Humanes Leukozytenantigen
HSV	Herpes simplex Virus
ID	Patientenidentität
IFN- γ	Interferon-gamma
IS	Immunsuppression
kBp	Kilo Basenpaare
KG	Körpergewicht
KK	Korrelationskoeffizient
LDH	Laktatdehydrogenase
MHC	Major Histocompatibility Complex
MOV	Multiorganversagen
MPA	Mycophenolatmofetil
MTX	Methotrexat
PCR	Polymerase Kettenreaktion
QSaV	Quadratsumme der abhängigen Variable
SAP	Softwareprodukt
SCID	Severe combined immunodeficiency disease
SZ	Stammzellen
T-Zellen	T-Lymphozyten
U	Units
Ü & E	Übelkeit und Erbrechen
WHO	World Health Organization
ZNS	Zentrales Nervensystem

1. Einleitung

1.1. Charakterisierung des Adenovirus

1.1.1. Biologische Grundlagen

Die ersten humanen Adenoviren (ADV) wurden 1953 von Rowe et al. aus exzidierten Tonsillen und anderem adenoiden humanem Drüsengewebe isoliert. Das anfangs noch unbekannte isolierte Agens war in der Lage Zellkulturen zu zerstören und wurde somit zunächst „*adenoid-degenerating (AD)-agent*“ genannt.¹ Erst 1956 wurde dieses Agens als Virus identifiziert und bekam daraufhin die Bezeichnung Adenovirus.² Seither wurden mehr als 50 verschiedene Serotypen von humanen Adenoviren identifiziert und in sechs Spezies (A-F) klassifiziert. Zahlreiche Säugetiere, Reptilien und Vögel sind zudem Träger von ADV, die nicht humanpathogen sind.³ Adenoviren sind unbehüllte, ikosaedrische Viren mit einem Durchmesser von 70 bis 90 nm. Jeder Partikel enthält eine lineare Doppelstrang-DNA mit 36 kBp und schätzungsweise 40 Genen. Ihr Kapsid wird von 252 Kapsomeren, den 240 Hexon- und 12 Pentonkapsomeren, gebildet. Jedes Pentonkapsomer wiederum besteht aus einer Base und einem Fiberprotein, welches die Interaktion mit den Oberflächenrezeptoren der Wirtszellen vermittelt. Kreuzreagierende Antikörper richten sich gegen die Hexonkapsomere, welche die arttypische Antigen-Komponente aller Adenoviren der Säugetiere enthalten. Außerdem enthalten sie Serotyp-spezifische Stellen, die neutralisierende Antikörper induzieren. Die Fiberproteine besitzen ebenfalls Serotyp-spezifische und einige Spezies-spezifische Antigen determinanten, die verantwortlich für eine in vitro Hämagglutination sind.⁴

Als unbehüllte Viren sind ADV höchst resistent gegen physikalische und chemische Agenzien. Sie sind bei niedrigen pH-Werten stabil und somit auch resistent gegen Sekrete des Gastrointestinaltrakts. Damit sind sie in der Lage sich zu replizieren und hohe Viruslasten im Darm zu erreichen.⁵ Des Weiteren sind ADV durch ihren breiten Tropismus in der Lage, die meisten Zellen des menschlichen Organismus zu infizieren. Die primäre Bindung von Viruskapsid und Zielzelle entsteht zwischen dem Fiberprotein des Viruskapsids und dem sog. Coxsackievirus-Adenovirus-Rezeptor (CAR).⁶ Ausnahmen bilden dabei die

Viren der Spezies B, die mit dem CD46-Rezeptor der Zielzellen interagieren und Viren der Spezies D (Serotypen 8, 19a und 37), die eher an Sialinsäurereste, als an den CAR der Zielzellen binden.^{7,8} Nach Eindringen des Virus in die Zielzelle, gelangt es zu den Endosomen, transloziert sein Genom in den Zellkern und erreicht somit eine Expression viraler Gene.^{9,10} Während dieses Vorgangs erlangen die viralen Proteine Zugang zu den MHC-Klasse-I- und MHC-Klasse-II-Wegen (Major histocompatibility complex), sodass nun infizierte Zellen bereits vor der Expression viraler Gene vom ADV-spezifischen T-Zell-Rezeptor erkannt werden können. Die darauffolgende Expression von Nichtstrukturproteinen aus viralen Genen wird unterteilt in frühe und späte Genprodukte. Früh exprimierte Genprodukte vermitteln eine weitere Genexpression und DNA-Replikation, beschleunigen den Zellzyklus, wirken apoptosehemmend, und antagonisieren diverse antivirale Maßnahmen der Wirtszelle. Spät exprimierte Genprodukte begünstigen die Virusassemblierung und schließlich das Austreten des Virus aus der Wirtszelle.¹¹

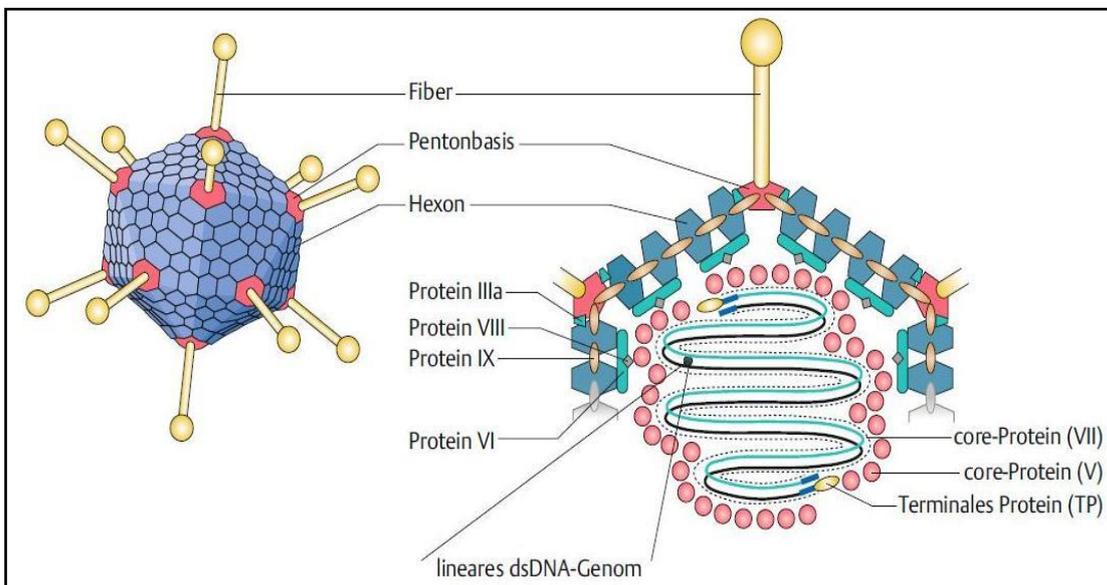


Abb. 1: Struktur humaner Adenoviren.¹²

1.1.2. Klinische Manifestation bei Immunkompetenten

Bei immunkompetenten Menschen verursachen humane Adenoviren typischerweise selbstlimitierende gastrointestinale, respiratorische oder konjunktivale Infektionen und Erkrankungen ohne wesentliche jahreszeitliche Unterschiede. Besonders häufig bei Kindern und Menschen, die in engen Raumverhältnissen leben, z.B. Soldaten und Studenten.¹³ Eine retrospektive Studie von Gray et al. zu den Prävalenzen verschiedener Serotypen für den Zeitraum von 2004 bis 2006 kam zum Ergebnis, dass die Serotypen 3, 2, 1 und 5 die höchste Prävalenz unter der Normalbevölkerung und die Serotypen 4, 3 und 21 die höchste Prävalenz unter Soldaten haben.¹⁴ Eine genaue Zuordnung von Virus-Spezies, Serotyp und bevorzugter klinischer Manifestation, sowohl bei immunkompetenten als auch bei immunsupprimierten Menschen findet sich in Tabelle 1, Seite 4.^{15,16} Die Übertragung der Adenoviren erfolgt inhalativ über Tröpfcheninfektion, durch direkte konjunktivale Inokulation, fäkal-oral oder durch Exposition mit infiziertem Gewebe oder Blut. Die Inkubationszeit ist abhängig von Serotyp und Übertragungsweg und reicht von 2 Tagen bis hin zu zwei Wochen.¹³ Darüber hinaus können Adenoviren lebenslange, asymptomatische Infektionen der lymphoepithelialen Gewebe verursachen.¹⁷ In einer kontrollierten Studie mit über 18.000 Säuglingen und Kindern ergab sich, dass Adenoviren eine der Hauptursachen für virale Gastroenteritiden sind und zusätzlich verantwortlich für etwa 5% der akuten Atemwegs- und 10% der Fiebererkrankungen bei Säuglingen.¹⁸

1.2. ADV-Infektion bei immunsupprimierten Patienten nach Stammzelltransplantation

1.2.1. Klinische Manifestation

ADV-Infektionen nach allogener Stammzelltransplantation (aSZT) sind sehr häufig mit erhöhter Morbidität und Mortalität, vor allem bei Säuglingen und Kindern assoziiert. Kampmann et al. beschrieben dabei gastrointestinale Symptome wie Enteritis und Diarrhoe als die häufigste Manifestation bei

Kindern.¹⁹ In weiteren Studien fand man heraus, dass ADV-Infektionen u.a. hämorrhagische Zystitiden (bei Befall des Urothels) und akutes Nierenversagen bis hin zu nekrotisierende tubulo-interstitielle Nephritiden verursachen können.^{20,21} Hohes Fieber, erhöhte CRP-Werte, aber auch ernste Komplikationen wie Multiorganversagen mit ZNS-Befall, fulminante Hepatitiden und Nierenversagen wurden ebenfalls mehrfach beobachtet.²²⁻²⁵ Stammzelltransplantierte Patienten verzeichnen zudem die höchste Zahl an ernst zu nehmenden ADV-Infektionen, die sowohl primär, als auch durch endogene Reaktivierung in Erscheinung treten können.^{14,26} Hierunter finden sich dann vor allem die Virus-Spezies B und C und der bei der Allgemeinbevölkerung selten pathogene Serotyp Ad35.²⁶ Vor allem pädiatrische Patienten haben im Gegensatz zu den Erwachsenen ein bis zu 3-fach erhöhtes Risiko für eine ADV-Infektion.²⁷ Gray et al. fanden in einer Studie zusätzlich heraus, dass immunsupprimierte Patienten in 30% der Fälle Koinfektionen mit mehr als einem ADV-Serotyp aufwiesen. Im Gegensatz dazu lag die Rate der Koinfektionen mit mehreren ADV-Serotypen bei immunkompetenten Patienten bei etwa 5%.¹⁴

Tab. 1: Klassifizierung der Adenoviren nach Spezies, Serotyp und klinischer Manifestation.^{15,16}

Spezies	Serotyp	Klinische Manifestation
A	12, 18, 31	Pneumonie, Enteritis
B	3, 7, 11, 14, 16, 21, 34, 35, 50	hämorrhagische Zystitis
C	1, 2, 5, 6	Hepatitis, Pneumonie, gehäuft nach aSZT
D	8-10, 13, 15, 17, 19, 20, 22-30, 32, 33, 36-39, 42-49, 51	Augen, Gastrointestinaltrakt
E	4	Atemwege
F	40, 41	Gastrointestinaltrakt

1.2.2. Risikofaktoren und Inzidenzen für ADV-Infektionen bei immunsupprimierten Patienten

Seit 1960 ist bekannt, dass Adenoviren bei Kindern mit angeborenen Immunschwächekrankheiten fatale Infektionen hervorrufen können.²⁸ Das liegt daran, dass angeborene Immunschwächekrankheiten Auffälligkeiten in der Entwicklung und Reifung der Zellen des Immunsystems aufweisen und somit zu einer erhöhten Empfindlichkeit für Infektionen führen. Eine zwar sehr seltene, aber am häufigsten in Assoziation mit ADV-Infektionen beobachtete Erkrankung ist zum Beispiel das *Severe combined immunodeficiency syndrome* (SCID).⁵ Weiterhin zeigen sich bei Empfängern allogener Stammzellen wesentlich häufiger ADV-Infektionen und -Erkrankungen als bei Empfängern autologer Stammzellen.^{27,29,30} Pädiatrische Patienten erkranken, wie bereits erwähnt, ebenfalls häufiger als Erwachsene an ADV-Infektionen.²⁷ Nach einer Studie von van Tol et al., findet sich die höchste Inzidenz mit 84% bei Kindern im Alter von bis zu 5 Jahren, die T-Zell-depletierte Transplantate von nicht-HLA-identen und nichtverwandten Spendern erhielten.³¹ In vielen weiteren Screening-Studien der Vergangenheit bestätigte sich diese signifikante Steigerung der Inzidenz in Zusammenhang mit einer in-vivo bzw. ex-vivo T-Zell-Depletion der Transplantate, sodass man davon ausgehen kann, dass dies auch einer der Hauptrisikofaktoren sowohl für eine ADV-Infektion, als auch für eine ADV-Erkrankung und -Dissemination ist.^{19,31-36} Howard et al. beschrieben einen Zusammenhang zwischen der Isolation von Adenoviren aus mehr als zwei Organsystemen und einem schlechten klinischem Ausgang.²⁷ Weitere signifikante Risikofaktoren, die mit ADV-Infektionen bei Empfängern allogener Stammzellen assoziiert sind, sind ein junges Patientenalter, Graft-versus-Host-Disease (GvHD) Grad II-IV und weitere allogene Stammzelltransplantationen.^{37,38} In diversen Studien fand man zudem heraus, dass hohe und schnell ansteigende Viruslasten im peripheren Blut, mit ADV-assoziiertes Mortalität korrelieren und somit prädiktiv für ADV-assoziierte Todesereignisse sind.³⁹⁻⁴⁴ Risikofaktoren für eine Dissemination der Infektion sind zum einen zwar GvHDs, aber auch die daraufhin verabreichte immunsuppressive Therapie scheint dabei eine wichtige Rolle zu spielen.³⁰ Weiterhin führen zusätzliche

ernste Lymphozytopenien (< 300 Zellen/ μ l) zu einem Fortschreiten der disseminierten Erkrankung bis hin zum Tod.³⁹ Aus einigen retrospektiven Studien ging hervor, dass das Fehlen von ADV-spezifischen T-Zellen (AsT) einen negativen Effekt auf die Inzidenz und den Verlauf der ADV-Infektion in Bezug auf die Zeitdauer und Mortalität hat.^{34,45–48} Schließlich scheint es ein erhöhtes Risiko für eine ADV-Infektion und -Erkrankung bei Patienten zu geben, die einer Transplantation von nichtverwandten Stammzellen aus Nabelschnurblut unterzogen wurden.^{49,50} Der Serostatus des Empfängers bzw. Spenders scheint allerdings keine Auswirkung auf das Auftreten einer ADV-Infektion zu haben.^{29,51} Sämtliche signifikanten Risikofaktoren sowohl bei Kindern als auch bei Erwachsenen finden sich zusammengefasst in nachfolgender Tabelle 2.⁵²

Tab. 2: Risikofaktoren für ADV-Infektion bei Kindern und Erwachsenen.⁵²

Kinder	Erwachsene
aSZT mit in vivo oder ex vivo T-Zell-Depletion	aSZT von haploidem oder nicht-verwandtem Spender von Nabelschnurblut
aSZT eines nicht-verwandten Spenders	
aSZT aus nicht-verwandtem Nabelschnurblut	schwerwiegende GvHD II-IV
schwerwiegende GvHD II-IV	
schwerwiegende Lymphozytopenien (< 300/ μ l)	schwerwiegende Lymphozytopenien (< 300/ μ l)

1.3. Diagnose von ADV-Infektionen und Bestimmung der Viruslast

1.3.1. Definition der ADV-Infektion und -Erkrankung

In der Vergangenheit wurden verschiedene Definitionen für die ADV-Infektion und -Erkrankung vorgeschlagen.^{30,37,53–55} Zum Beispiel galt eine ADV-

Erkrankung als bewiesen, wenn die klinischen Symptome zu einer ADV-Infektion passten und die Adenoviren histologisch oder in einer Gewebeprobe detektiert werden konnten.³⁷ Disseminierte oder invasive Erkrankungen wurden von einigen Autoren alleinig durch die Virämie definiert, von anderen wiederum durch die Detektion von ADV in mehreren Organsystemen zusammen mit klinischen Symptomen.^{31,32} Unter Berücksichtigung, dass heut zu Tage hoch-sensitive PCR-Methoden zum Goldstandard in der Diagnose der ADV-Infektion geworden sind, empfiehlt die *European Conference of Infections in Leukemia* (ECIL) folgende Definitionen:⁵²

- **Systemische Infektion/Virämie:** Positive ADV-PCR, Virusisolation oder Detektion des Antigens im peripheren Blut.
- **Lokale Infektion:** Positive ADV-PCR, Virusisolation oder Detektion des Antigens in Biopsiematerial oder in Körperflüssigkeiten außerhalb des peripheren Blutes.
- **Wahrscheinliche Erkrankung:** ADV-Infektion und zusätzlich übereinstimmende Symptome ohne histologische Bestätigung.
- **Bewiesene Erkrankung:** ADV-Infektion und zusätzlich übereinstimmende Symptome mit histologischer Bestätigung von ADV in der dazugehörenden Region.
- **Präventive Behandlung:** Antivirale Therapie bei asymptomatischen Patienten mit dokumentierter ADV-Replikation.

1.3.2. Diagnostische Methoden zur Bestimmung der ADV-Infektion und der Viruslast

Die Diagnose von ADV-Infektionen wird hauptsächlich durch direkte Nachweismethoden gestellt.⁵ Zu diesen gehören beispielsweise die Virusisolierung mittels Zellkultur, immunologische Verfahren zum Antigen-Nachweis und Echtzeit-PCR-Methoden.⁵⁶⁻⁵⁹ Die PCR-Methode hat dabei eine höhere Sensitivität und Spezifität als Zellkultur oder Antigennachweis und weist

zusätzlich eine vergleichbare Sensitivität für alle Serotypen der humanen Adenoviren auf.^{41,60,61} Bei 3% bis 47% der Patienten nach aSZT konnten Adenoviren im Rachensekret, Urin, Stuhl oder verschiedenem Gewebe isoliert werden,^{30,62} wobei die meisten Studien der Vergangenheit von einer Inzidenz < 30% berichten.^{27,29,39,63–65} Wie bereits in 1.2.2. erwähnt, korrelieren hohe und schnell ansteigende Viruslasten im peripheren Blut mit ADV-assoziierte Mortalität und sind somit prädiktiv für ADV-assoziierte Todesereignisse bei immunsupprimierten Patienten.^{39–44} Auf dieser Basis etablierten Beck et al. ein quantitatives Echtzeit-PCR-Protokoll für die Analyse der Viruslast in Plasmaproben von immunsupprimierten Patienten nach Stammzelltransplantation. Im Rahmen der Validierung standen repräsentative ADV-Typen aller sechs Genera der humanen Adenoviren zur Verfügung. Die analytische Sensitivität lag bei etwa zehn (10) DNA-Kopien pro PCR. Zur Überprüfung der Spezifität wurden 30 Plasmaproben von gesunden Blutspendern, wie erwartet, negativ für ADV-DNA getestet. Bei 9 Patienten mit bekannter ADV-Infektion nach aSZT konnte das Virus zuverlässig in den Plasmaproben identifiziert werden. Durch den Einsatz definierter Mengen von Plasmid-DNA als externen Standard, konnte die Viruslast quantifiziert werden. Die Spitzenwerte während der ADV-Infektion lagen zwischen $1,7 \times 10^3$ und $5,1 \times 10^9$ ADV-DNA-Kopien pro ml Plasma.⁶⁶

Die Quantifizierung der Viruslast anhand der Echtzeit-PCR ist seit 2004 soweit etabliert, dass gerade bei Patienten mit ADV-Infektionen nach SZT der Verlauf der Viruslast genauestens analysiert und beobachtet werden kann. In der vorliegenden Arbeit wird genau diese Möglichkeit genutzt, um daraus Korrelationen zwischen der Viruslast und diversen laborchemischen Parametern herzustellen. Ebenso ist damit eine Beurteilung antiviraler, aber auch anderer therapeutischer Maßnahmen hinsichtlich ihrer Wirksamkeit und Effizienz, aber auch ihrer eventuellen Interaktionen möglich.

1.4. Therapieoptionen

1.4.1. Antivirale Medikamente

Virustatika, die in der Vergangenheit bei ADV-Infektionen angewandt wurden sind Ribavirin, Ganciclovir und Cidofovir. Die höchste Evidenz in der Wirksamkeit gegen ADV verzeichnet dabei Cidofovir (CDV).^{24,53} Cidofovir ist ein Cytosin-Nukleotid-Analogon, das erst intrazellulär zum aktiven Metaboliten phosphoryliert wird, welcher wiederum die virale DNA-Polymerase und somit die Virusreplikation hemmt.⁶⁷ Die kontinuierliche Wirksamkeit von CDV in vitro richtet sich gegen sämtliche ADV-Gruppen und -Serotypen. CDV-resistente Virusmutationen, die möglicherweise die Bindung von Nukleotid und viraler DNA-Polymerase beeinflussen, sind ebenfalls beschrieben worden.⁶⁸ Der hauptsächliche Nachteil von CDV ist die geringe Bioverfügbarkeit und dass der antivirale Effekt von der Konzentration der aktiven phosphorylierten Metabolite in den infizierten Zellen abhängt.⁶⁹ Somit korrelieren die vorgeschriebenen Dosen nicht sehr gut mit dem pharmakologischen Effekt und >90% des Arzneimittels wird unverändert renal eliminiert.⁷⁰

Das Problem der meisten anderen Nukleotid-Analogon-Virustatika, die bis dato untersucht worden sind, ist, dass deren Phosphorylierung in die aktive Form von viralen Kinasen abhängig ist und sie viel weniger effektiv von humanen intrazellulären Kinasen phosphoryliert werden.⁶⁹ Da nun Adenoviren im Gegensatz zu Herpesviren, wie das Cytomegalovirus (CMV) und Herpes-simplex-Virus (HSV), nicht für eigene Kinasen kodieren, sind sie verhältnismäßig unempfindlich gegen klassische azyklische Nukleosid-Analoga. Ribavirin, eines dieser Nukleosid-Analoga, zeigt somit lediglich antivirale in vitro Aktivität gegen ADV der Gruppe C (Serotypen 1, 2 oder 5).⁷¹ Ganciclovir, ein synthetisches Nukleosid-Analogon, weist eine um 1 Log-Stufe geringere antivirale in vitro Aktivität gegen ADV auf als Cidofovir.⁷² In einer retrospektiven Studie von Bruno et al. wurde jedoch beobachtet, dass bei Patienten, die Ganciclovir als CMV-Prophylaxe erhielten, die Inzidenz für eine ADV-Infektion viel geringer ausfiel. Nach Anpassung der Behandlung nach Spender-Typ und Patientenalter, führte diese allerdings nicht zu einer signifikanten Reduktion bzw. Verbesserung der ADV-Erkrankung.³⁸

Berichte mit positiven Resultaten bei Patienten, deren ADV-Infektion mit Ganciclovir behandelt wurde, sind rar und lückenhaft, sodass eine Aufnahme in die Standard-Therapieprotokolle bzw. Behandlungsleitlinien nach Meinung von Chen et al. nicht gerechtfertigt ist.⁷³ In einer Kohorte pädiatrischer Patienten mit ADV-Virämie konnte durch den Einsatz des Virustatikums Ribavirin kein therapeutischer Nutzen erzielt werden.⁷⁴ In diversen weiteren Studien bei Patienten mit systemischer ADV-Infektion nach aSZT konnte mit Ribavirin weder eine Reduktion der Viruslast noch ein therapeutischen Effekt erzielt werden.^{30,64,74,75} Obwohl Cidofovir zusammenfassend das effektivste Virustatikum gegen Adenoviren zu sein scheint, ist es leider auch dasjenige mit der höchsten Toxizität. CDV wird von den Zellen des proximalen Tubulus der Nephronen in den Urin sezerniert. Man glaubt, dass aufgrund einer intrazellulären Akkumulation von CDV toxische Konzentrationsspiegel erreicht werden, welche wiederum zu erheblichen tubulären Nekrosen führen.⁶⁹ Einige Studien haben als Lösungsansatz gezeigt, dass eine Hyperhydratation mit gleichzeitiger Gabe des Medikaments Probenecid, einer organischen Säure, den CDV-Plasmaspiegel senkt und somit nephroprotektiv wirkt.^{76,77}

1.4.2. Prophylaktische, präventive und kurative antivirale Behandlung

Vorab gilt es die Definitionen der nachfolgend angewandten Begriffe in Bezug auf die ADV-Infektion zu klären: Als Prophylaxe wird eine Maßnahme im Sinne der Primärprävention bezeichnet, welche Risikofaktoren vermeiden bzw. reduzieren soll, bevor die ADV-Infektion auftritt. Prävention wird hier mit der Tertiärprävention gleichgesetzt, dessen Ziel es ist, ein Voranschreiten der Infektion zu verhindern und gleichzeitig mögliche Folgeschäden zu verhindern oder gar zu beseitigen.⁷⁸

Die antivirale Behandlung kann nun sowohl prophylaktisch, als auch präventiv (orientiert an der jeweiligen Viruslast) oder auch im Sinne eines kurativen Ansatzes angewandt werden. Die Grundüberlegung für prophylaktische und

präventive Maßnahmen liegt in der Überbrückung des Zeitraums der Immunsuppression nach Stammzelltransplantation bis zur Wiederherstellung der eigenen antiviralen Immunabwehr.⁶⁹ ADV-Erkrankungen treten gewöhnlich 2 bis 3 Monate nach einer Stammzell- oder Knochenmarkstransplantation auf. Viele Screening-Studien bei pädiatrischen Patienten zeigten, dass die erste Detektion des Adenovirus in Urin, Stuhl oder peripheren Blut im Mittel zwischen Tag +12 und +44 nach Transplantation erfolgte.^{31,32,79} Obwohl dabei einige Patienten mit ADV-Virämie asymptomatisch bleiben und der Virus spontan wieder eliminiert wird, kann die ADV-Infektion andererseits bei schnell ansteigender Viruslast bis hin zu einem tödlichen Multiorganversagen voranschreiten.^{42,44,79,80} Weitere Risikofaktoren, die zur Disseminierung der ADV-Erkrankung führen, wurden bereits in Abschnitt 1.2.2 beschrieben. Eine prophylaktische antivirale Behandlung wurde in einer einzigen Studie von Greil et al. vorgestellt, in der die pädiatrischen Patienten nach einer aSZT allesamt prophylaktisch Ribavirin und bei Detektion von Adenoviren zusätzlich eine präventive Behandlung mit Cidofovir erhielten. Das Ergebnis dieser kombinierten Therapie mit Ribavirin und Cidofovir war, verglichen mit älteren Studien, in denen nur mit Cidofovir behandelt wurde, eine signifikante Senkung der Inzidenz für ADV-Infektionen.⁸¹ Auf dieser Basis könnte die Begründung zur prophylaktischen Gabe von Ribavirin gestützt werden. In der aktuellsten evidenzbasierten Behandlungsleitlinie der ECIL wird eine antivirale Prophylaxe mit Ribavirin allerdings nicht empfohlen.⁵² In zahlreichen weiteren retrospektiven und prospektiven Studien wurde die präventive Behandlung der ADV-Infektion mit Cidofovir beschrieben. In Bezug auf die Mortalitätssenkung zeigten sich jedoch Widersprüche: Die ADV-assoziierte Mortalität trotz präventiver Gabe von Cidofovir lag dabei zwischen 23% und 50%, bei Patienten ohne präventive Behandlung lag die Mortalitätsrate aber nur bei 18%.^{40,51,79,82–84} Gleichzeitig beschrieben andere Studien aber, dass Cidofovir die Viruslast an ADV im Plasma senkt, sodass hiermit eine präventive Behandlung mit Cidofovir auf jeden Fall indiziert ist.^{51,85,86} Weiterhin beobachteten Anderson et al. in ihrer prospektiven Studie über Kinder nach Stammzelltransplantation, dass Cidofovir gut vertragen wurde und effektiv in der Behandlung und Prävention von

Virämien und anderen ADV-assoziierten Organerkrankungen eingesetzt werden kann. Nach Beendigung der Therapie wurden dabei ADV gelegentlich noch in Stuhlproben nachgewiesen, jedoch ohne pathologische Relevanz.⁵¹ Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es einige wenige Fallberichte zu diversen antiviralen Substanzen in der Behandlung von ADV-Infektionen nach aSZT gibt, die sowohl positive als auch negative Ergebnisse liefern. Es bleibt weiterhin unklar, ob Cidofovir wirksam gegen ADV-assoziiertes Multiorganversagen bei stammzelltransplantierten Patienten ist. Sämtliche Veröffentlichungen basieren auf stark heterogenen Patientenpopulationen, unterschiedlichen Infektionszeitpunkten und -zeiträumen, verschiedenen Organmanifestationen und Behandlungsstrategien. Somit wurden in all diesen Studien ADV-assoziierte Mortalitätsraten von 14% bis hin zu 100% beschreiben.^{19,24,32,39,40,50,62,64,74,75,86–88} In ihrer Metaanalyse beschreiben Lindemans et al. Cidofovir aber trotzdem als das Virustatikum mit der höchsten Effektivität in der präventiven Behandlung der ADV-Infektion.⁶⁹ Laut einer Studie von Kinchington et al. scheint Cidofovir sogar das einzige Medikament zu sein, das erfolgreich gegen ADV-Infektionen nach aSZT eingesetzt werden kann.⁸⁹ Trotzdem ist Cidofovir aufgrund seiner Toxizität immer noch nicht das ideale Therapeutikum gegen ADV, aber als präventive Therapie ist es eine vernünftige und sichere Option, um sich während der Erholung des Immunsystems nach aSZT etwas Zeit zu verschaffen.⁶⁹

1.4.3. Therapie mit ADV-spezifischen T-Zellen

Die Tatsache, dass die Transplantation T-Zell-depletierter Stammzellen und eine Lymphozytopenie Risikofaktoren für eine ADV-Infektion und -Erkrankung sind, deutet darauf hin, dass die Rekonstitution des Immunsystems entscheidend für die Bekämpfung der Adenoviren sein muss.³⁹ Kürzlich konnte erstmals auch die Rolle der dendritischen Zellen im Hinblick auf ADV-Infektionen charakterisiert werden.^{90,91} Das Risiko einer ADV-Infektion korreliert weiterhin stark mit dem Fehlen der endogenen virusspezifischen

T-Zell-Immunität.^{39,45,92} Es sollte somit primär versucht werden, die immunsuppressive Therapie zu reduzieren, um damit die Wiederherstellung der Immunabwehr zu unterstützen.³⁹ In den meisten Fällen ist dies aber aufgrund von gleichzeitig bestehender GvHD nicht möglich. Auf der anderen Seite scheint die medikamentöse Therapie die Infektion zwar zu bremsen aber nicht zu heilen.^{39,45,92,93} Aus diesem Grund wird nun der Einsatz von T-Zellen als eine Art physiologischer Schutz angeboten. Dabei werden dem Patienten ADV-spezifische T-Zellen, welche zuvor aus peripherem Spenderblut selektiert wurden, direkt infundiert. Feuchtinger et al. ist es gelungen, T-Zellen, die als Antwort auf eine Stimulation des ADV-Antigens Interferon (IFN)- γ sezernieren, zu identifizieren und zu isolieren. Die Detektion dieser ADV-spezifischen T-Zellen anhand des sezernierten IFN- γ , ermöglicht die Erkennung ihrer spezifischen und funktionellen Aktivität. Anschließend wurden diese isolierten T-Zellen 9 pädiatrischen Patienten mit ADV-Infektion nach aSZT während ihrer konventionellen Therapie infundiert. Keine dieser Infusionen hatte toxische Auswirkungen. Von den 6 auswertbaren Patienten zeigten 5 eine signifikante Senkung der adenoviralen DNA im peripheren Blut und im Stuhl mit einem gleichzeitigen Anstieg ADV-spezifischer T-Zellen. Früh angewendet können Patienten somit vor ADV-assoziierten Komplikationen geschützt werden.⁹³

1.4.4. Therapieempfehlungen für die Behandlung der ADV-Infektion

Gegenwärtig existieren keine prospektiven, randomisierten Kontrollstudien für die Behandlung von ADV-Infektionen bei immunsupprimierten Patienten. Veröffentlichte retrospektive oder empirische Studien basieren auf sehr heterogene Patientengruppen hinsichtlich des Alters, des Spendertyps, der immunsuppressiven Therapie, der diagnostischen Methoden und der therapeutischen Behandlung. Aufgrund dieser Tatsache hat die ECIL versucht, Belege für die Inzidenz und die Risikofaktoren einer ADV-Infektion aus verschiedenen retrospektiven Studien zu erfassen und daraus vergleichbare Patientengruppen zu erstellen. Angesichts dessen, dass ADV-Infektionen bei

immunsupprimierten Patienten mit sehr hohen Mortalitätsraten assoziiert sein können (vgl. 1.4.2), wurde der Einsatz hochsensibler Screening-Methoden (Bsp. Echtzeit-PCR) und die präventive Behandlung von Risikopatienten in der Zeit zwischen erster ADV-Detektion und Krankheitsausbruch zum allgemeinen Standard. Trotzdem fehlen noch immer klare Beweise für die protektive oder therapeutische Wirksamkeit der aktuell verfügbaren antiviralen Medikamente. Andererseits scheint sich die Rekonstitution der ADV-spezifischen Immunabwehr des Patienten positiv auf die Prognose der ADV-Infektion auszuwirken, sodass die Behandlung mit ADV-spezifischen Spender-T-Zellen ein erfolgversprechender therapeutischer Ansatz werden könnte.⁵²

Die jüngsten Empfehlungen der ECIL in Bezug auf die prophylaktische und präventive Behandlung der ADV-Infektion bei immunsupprimierten Patienten finden sich zusammengefasst in nachfolgender Tabelle 3, Seite 15. Sie gelten sowohl für pädiatrische als auch für erwachsene Patienten. Die Einteilung in Evidenzklassen und Empfehlungsgrade basiert auf der *Infectious Diseases Society of America (United States Public Health Service grading system for ranking recommendations)*.⁵²

Evidenzklassen

- I = Evidenz aus ≥ 1 hochwertigen, randomisiert-kontrollierten Studie
- II = Evidenz aus ≥ 1 ausreichend großen, nicht-randomisierten Studie oder aus einer Fall-Kontroll-Studie
- III = Evidenz aus Expertenmeinungen anerkannter Autoritäten basierend auf klinischer Erfahrung, deskriptiven Studien oder Experten-Ausschüssen

Empfehlungsgrade

- A = Starke Empfehlung aufgrund Evidenz mit guter Qualität
- B = Empfehlung aufgrund moderater Evidenzqualität
- C = Empfehlung offen aufgrund nicht ausreichender Evidenz

Tab. 3: Prophylaxe und Therapie der ADV-Infektion und -Erkrankung.⁵²**Prophylaktische und präventive Behandlung**

- Eine prophylaktische antivirale Therapie mit gegenwärtig verfügbaren antiviralen Medikamenten wird nicht empfohlen. (B III)
- Patienten mit ADV-Virämie und mindestens einem Risikofaktor sollen eine präventive antivirale Behandlung mit Cidofovir erhalten. Dosierung: 3-5 mg/kg Körpergewicht (KG) und Woche für 2-3 Wochen, danach jede zweite Woche. * (B II)

Behandlung einer nachgewiesenen oder wahrscheinlichen ADV-Erkrankung

- Die immunsuppressive Therapie soll nach Möglichkeit reduziert oder abgesetzt werden. (A II)
- Patienten mit wahrscheinlicher oder bewiesener ADV-Erkrankung soll mit Cidofovir intravenös behandelt werden. Dosierung: 5 mg/kg KG und Woche für 2-3 Wochen, danach alle 2 Wochen. (B III)
- Am Tag der Verabreichung von Cidofovir sollen zusätzlich protektive Maßnahmen wie Hyperhydratation und die orale Gabe von Probenecid ergriffen werden. Wenn möglich, sollen weitere nephrotoxische Substanzen vermieden werden. (B III)
- Ribavirin wird für die Behandlung der ADV-Erkrankung nicht empfohlen. (C III)
- Die Therapie mit ADV-spezifischen Spenderzellen soll Patienten vorbehalten werden, die nicht auf eine antivirale Therapie ansprechen. Die Verabreichung sollte im Rahmen von klinischen Studien erfahrener Zentren erfolgen. (B III)

* Eine alternative Anwendung mit 1mg/kg KG 3 Mal pro Woche wurde beschrieben.

1.4.5. Klinischer Entscheidungs- und Behandlungs-Algorithmus der Universitäts-Kinderklinik Tübingen

Die Behandlung von ADV-Infektionen nach allogener Stammzelltransplantation basiert auf verschiedenen Evidenzebenen. Bis dato wurden noch keine randomisierten und kontrollierten klinischen Studien dazu durchgeführt. Trotzdem sind prospektive Daten für die intensive Krankheitsüberwachung und die präventive Behandlung mit Cidofovir verfügbar. Sämtliche weiteren Behandlungsempfehlungen basieren auf retrospektivem Datenmaterial oder sogar nur auf Expertenmeinungen. Nach dem Klinischen Entscheidungs- und Behandlungsalgorithmus der Universitäts-Kinderklinik Tübingen beginnt die

Prävention der lebensbedrohlichen ADV-Infektion nach aSZT mit einer diagnostischen Aufbereitung noch vor dem Beginn der Konditionierung. Damit soll bei Patienten mit positiver ADV-DNA im Blut oder Stuhl, durch die Behandlung mit Cidofovir vor Einsetzen der Aplasie, das Risiko für eine endogene ADV-Reaktivierung minimiert werden. Eine wöchentliche PCR-Kontrolle von Blut- und Stuhlproben auf ADV-DNA bis zu Tag +100 nach Transplantation und die präventive Behandlung mit Cidofovir sind die aktuellen Hauptsäulen der therapeutischen Herangehensweise bei ADV-Infektionen nach aSZT. Risikopatienten mit fehlender T-Zell-Rekonstitution sollten eine ausgedehntere Überwachung und präventive Therapie erhalten. Die Cidofovir-Gaben sollten so lange erfolgen, bis ADV-DNA im PCR-Verfahren zweimal hintereinander negativ gemessen und eine ausreichende T-Zell-Rekonstitution erfolgt ist. Seitdem bekannt ist, dass eine suffiziente T-Zell-Immunantwort des Patienten essentiell für die Elimination des Virus ist, sollten alle Patienten mit einer ADV-Infektion nach aSZT auf virusspezifische T-Zellen im peripheren Blut untersucht werden. Das Vorliegen bzw. Fehlen von ADV-spezifischen T-Zellen erlaubt eine Risikoabschätzung für den weiteren Verlauf der Infektion.⁴⁵ Die adoptive Immuntherapie mit spezifischen isolierten T-Zellen sollte bei Empfängern hämatopoetischer Stammzellen mit systemischer ADV-Infektion, einer hohen bzw. steigenden Viruslast trotz antiviraler Therapie und dem Fehlen ADV-spezifischer T-Zellen als weitere Behandlungsoption erwogen werden.²⁵ Nachfolgend ist in Abbildung 2, Seite 17, der klinische Algorithmus der Universitäts-Kinderklinik von Tübingen zur Entscheidungsfindung und Behandlung der ADV-Infektion bei Patienten nach aSZT grafisch dargestellt.²⁵

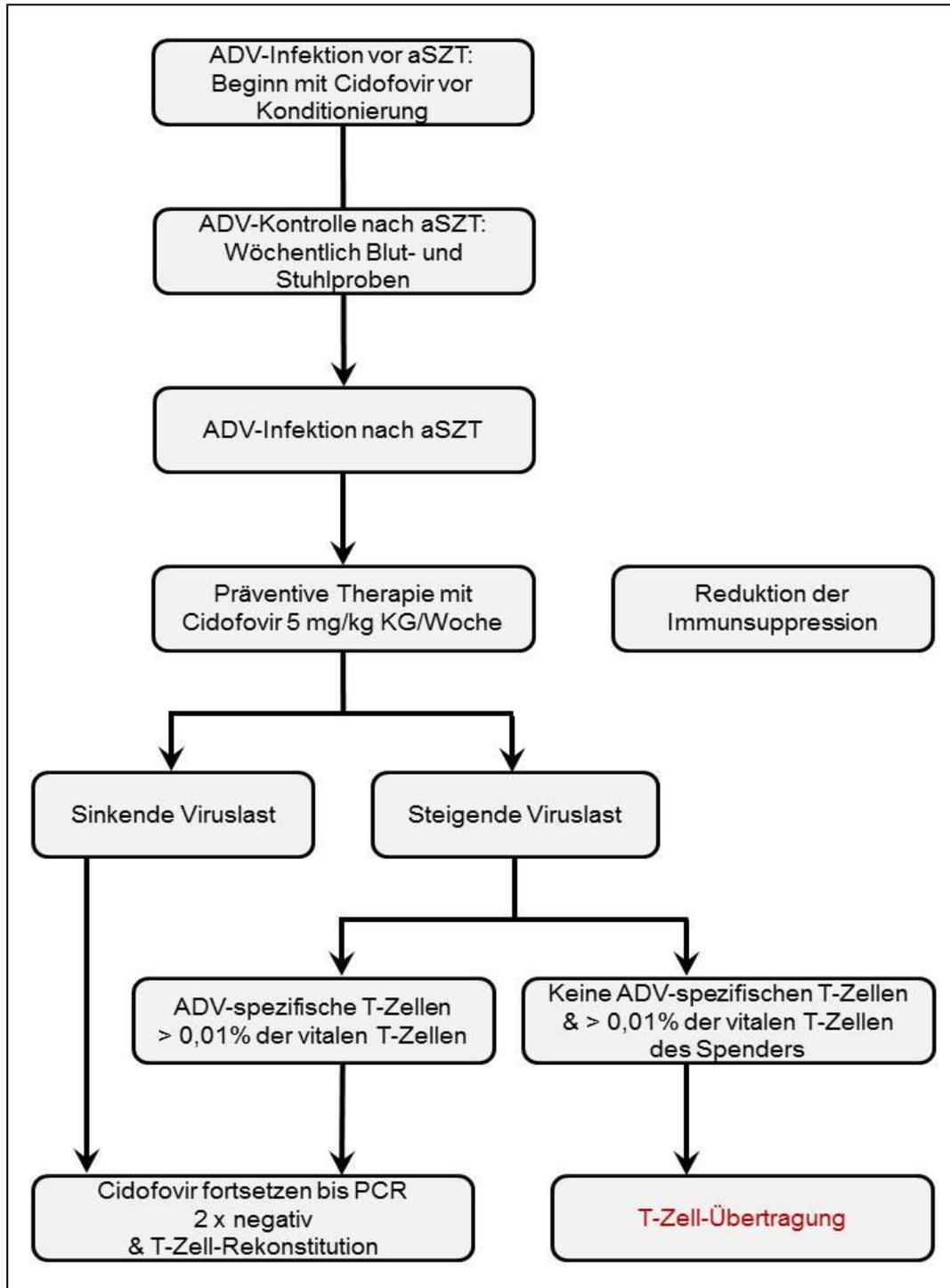


Abb. 2: Klinischer Entscheidungsalgorithmus Universitäts-Kinderklinik Tübingen²⁵

1.5. Arbeitshypothese, Zielsetzung und Fragestellung der Arbeit

In der vorliegenden retrospektiven Studie wurden die Krankheits- und Behandlungsverläufe von 33 Patienten analysiert, die nach einer allogenen Stammzelltransplantation an einer systemischen bzw. disseminierten Infektion mit dem Adenovirus erkrankten. In erster Linie sollte dabei der Einsatz und die damit verbundenen Möglichkeiten der Echtzeit-PCR in Bezug auf die Messung der ADV-DNA-Kopienzahl im peripheren Blut der Patienten während des Infektionszeitraumes dargestellt werden. Ziel dieser Arbeit ist es, auf der Basis des Verlaufs der Viruslast während des Infektionszeitraums, eine Korrelationsanalyse der Viruslast mit vorher definierten Laborparametern zu erstellen. Es soll geprüft werden, ob es laborchemische Parameter gibt, die sich durch die Schwankungen der ADV-DNA-Kopienzahl im Blut in ihrer Höhe beeinflussen lassen und wenn ja, in welchem Ausmaß. Das Augenmerk liegt hier vor allem in Entzündungsparametern, Leberenzymen und Nierenwerten. Weiteres Ziel ist es, anhand sinkender oder steigender ADV-DNA-Kopien im Blut der Patienten und gleichzeitiger Erfassung der Medikamentengaben, den Effekt und möglichen Erfolg des spezifischen Virustatikums Cidofovir zu beurteilen. Cidofovir ist bis dato noch in keiner allgemein gültigen Behandlungsrichtlinie für die Therapie der ADV-Infektion und -Erkrankung etabliert. Es wird eher als Empfehlung ausgesprochen, die auf verschiedenen Metaanalysen, retrospektiven Studien und Expertenmeinungen beruht.^{51,52,69,85,86,89}

Ob Cidofovir viruslastsenkend wirkt, die ADV-Infektion kontrollieren und die ADV-assoziierte Mortalität senken kann oder nicht, soll hier ebenfalls eruiert und diskutiert werden. Durch die zusätzliche Berücksichtigung der immunsuppressiven Therapie während des Infektionszeitraumes soll zudem noch eine mögliche Beeinflussung des Krankheitsverlaufes und vor allem der medikamentösen antiviralen Therapie mit Cidofovir durch den „Risikofaktor Immunsuppression“ (vgl. hierzu 1.2.2) dargestellt werden.

Schließlich soll auf die zusätzlich aufgetretenen Symptome, Komplikationen und Koinfektionen, die während des Infektionszeitraums aufgetreten sind, eingegangen und ebenfalls dem Verlauf der Viruslast gegenübergestellt

werden. Ziel ist es, die Gefährlichkeit einer ADV-Infektion zu betonen, die mit hohen Viruslasten zunimmt und eventuell Rückschlüsse auf damit verbundene Komplikationen zu ziehen. Zusammenfassend ergeben sich daraus konkret folgende Fragestellungen:

1. Besteht eine Korrelation in der Höhe der ADV-DNA-Kopien im Blut der Patienten mit einem oder mehrerer Laborparameter?
2. Wie wirkte sich die spezifische antivirale Therapie mit Cidofovir auf die Viruslast aus?
3. Konnte die Viruslast mit Einsatz von Cidofovir gesenkt und die ADV-Infektion somit kontrolliert werden?
4. Ist es möglich, dass die spezifische Therapie mit Cidofovir, durch die gleichzeitige Gabe diverser Immunsuppressiva, in ihrer Wirksamkeit gegen die ADV-Infektion beeinflusst wird?
5. Welche weiteren Symptome traten während des ADV-DNA-positiven Zeitraums auf?
6. Welche Komplikationen traten zusätzlich auf?
7. Gibt es einen Zusammenhang zwischen stark erhöhten ADV-DNA-Kopien im peripheren Blut und dem Auftreten von Komplikationen?

2. Material und Methoden

2.1. Patientenkollektiv und Datenerfassung

Im Zeitraum vom 1. Januar 2005 bis zum 31. Dezember 2011 wurden in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin des Universitätsklinikums Tübingen, 336 Kinder einer allogenen Stammzell- oder Knochenmarkstransplantation unterzogen. Im weiteren Verlauf entwickelten 33 dieser Patienten (9,8 %) eine systemische ADV-Infektion. Die Ermittlung dieser 33 Patienten erfolgte mittels Suchanfrage in der virologischen Datenbank des Programms SwissLab. Die Grundlage hierfür bildete die Definition der systemischen ADV-Infektion der ECIL (vgl. 1.3.1.). Somit lag unser Augenmerk hier nur bei den Patienten, bei denen das Adenovirus im peripheren Blut über das Verfahren der Echtzeit-PCR in Zellkultur quantitativ nachgewiesen wurde. Maßgeblich hierfür war die Anzahl an ADV-DNA-Kopien pro ml Blut. Patienten mit qualitativen ADV-Nachweisen in Stuhl, Sputum und Urin wurden nicht in die Studie aufgenommen. Anschließend wurden die entsprechenden digitalisierten und teils nicht-digitalisierten Patientenakten über das SAP- und CareView-System eingesehen und die zuvor festgelegten Daten und Parameter über den Zeitraum der systemischen Virusinfektion erhoben. Es wurden sowohl Arztbriefe jeglicher mitinvolvierter Fachrichtungen, als auch sämtliche digitalen und handschriftlichen Dokumentationen von ärztlicher und pflegerischer Seite für die Datenerhebung herangezogen. Eine Genehmigung zur Akteneinsicht wurde eingeholt.

Das Patientenkollektiv besteht aus 23 Jungen und 10 Mädchen im Alter von 10 Monaten bis 18 Jahren (Altersmedian: 8,5 Jahre). Die Hauptdiagnosen und damit auch die Indikation zur allogenen Stammzelltransplantation können nachfolgender Tabelle 4, Seite 23 entnommen werden. Sämtliche Daten pro Patient wurden tabellarisch und in kategorisierten Datenbanken in Microsoft Excel® erfasst.

2.2. Parameter und Erfassungszeiträume

Für die Erfassung der quantitativen laborchemischen Parameter wurden zuvor folgende Stichtage festgelegt:

Je eine Erfassung

- eine und zwei Wochen vor dem ersten positiven PCR-Ergebnis
- am Tag des ersten positiven PCR-Ergebnisses und an den zwei darauffolgenden Tagen
- einmal wöchentlich während positiver Viruslast
- zusätzlich an den Tagen jeder weiteren positiven PCR-Bestimmung
- eine und zwei Wochen nach der ersten negativen PCR-Bestimmung

Qualitative Parameter, wie Symptome und Komplikationen, wurden für jeden Patienten über den gesamten Zeitraum der ADV-Infektion erfasst. Der Anfang dieses Zeitraums wurde definiert durch die erste quantitativ positive Viruslastbestimmung und das Ende durch die erste darauf folgende negative Viruslastbestimmung (Wert = 0) oder den Tod des Patienten. Zusätzlich wurden sämtliche antiviralen und immunsuppressiven Therapiemaßnahmen in Form von Medikamenten, die sowohl im Zeitraum der ADV-Infektion als auch während der Stammzelltransplantation verabreicht wurden, in die Datenbanken aufgenommen.

Folgende sowohl quantitativen als auch qualitativen Parameter wurden zu Beginn der Arbeit festgelegt und anschließend erhoben:

Biometrische Daten:

- Alter
- Geschlecht
- Haupt- und Nebendiagnosen
- zusätzliche Virusinfektionen
- Transplantationsdatum
- Transplantationsart

Medikamente:

- Virustatika
- Immunsuppressiva
- Anti-Lymphozytenpräparate
- ADV-spezifische T-Zellen

Klinische Symptome:

- Fieber ($\geq 38,5^{\circ}\text{C}$)
- Diarrhoe
- Übelkeit und/oder Erbrechen
- Bauchschmerzen

Laborparameter:

- Viruslast (ADV-DNA-Kopien pro ml Blut)
- c-reaktives Protein (CRP) (mg/dl)
- Kreatinin (mg/dl)
- Harnstoff (mg/dl)
- GOT (U/l)
- GPT (U/l)
- Gamma-GT (U/l)
- LDH (U/l)
- Hämoglobin (mg/dl)
- Hämatokrit (%)
- Erythrozyten (Mio./ μl)
- Thrombozyten (Tsd./ μl)
- Leukozyten (1/ μl)

Komplikationen:

- Katecholaminpflichtigkeit
- Verlegung auf Intensiv-Station
- invasive Beatmung
- Tod während oder nach ADV-Infektion

Tab. 4: Hauptdiagnosen der Patienten

Hauptdiagnose	n
Akute Lymphatische Leukämie	14
Akute Myeloische Leukämie	4
Neuroblastom WHO Grad IV	4
Aplastische Anämie	2
Familiäre Hämophagozytierende Lymphohistiozytose	2
Myelodysplastisches Syndrom	1
Juvenile Metachromatische Leukodystrophie	1
Synovialsarkom	1
Hepatoblastom	1
T-, B- und NK-Zell-SCID	1
HLA Klasse II Immundefekt	1
Hoyeraal-Hreidarsson Syndrom	1
Σ	33

2.3. Statistische Auswertung

Sämtliche erhobenen Daten und Parameter wurden in einer Datenbank des Programms Microsoft Excel 2010® pro Patient tabellarisch erfasst. Folgendes musste dabei berücksichtigt werden: Die Sensitivität der Echtzeit-PCR für die Bestimmung der ADV-DNA-Last liegt zwar bei 10 Kopien pro PCR. Allerdings ist es so, dass Werte, die sich zwischen 10 und 1000 Kopien pro ml Blut befinden, vom System als „Viruslast < 1000“ ausgegeben werden. Eine genauere Quantifizierung ist für diesen Wertebereich somit nicht möglich. In den folgenden Berechnungen und grafischen Darstellungen haben wir diese Werte mit 1000 gleichgesetzt und weisen darauf hin, dass es sich dabei um Werte handelt, die sich zwischen 10 und 1000 ADV-DNA-Kopien pro ml Blut bewegen.

Im ersten Schritt erfolgte eine Zusammenführung der laborchemischen Bestimmungen. Es wurden dabei nur diejenigen Laborwerte berücksichtigt, bei denen am selben Tag auch eine Viruslastbestimmung erfolgte. Somit ergaben sich 167 Wertepaare von Viruslast und jeweiligem laborchemischen Parameter. Hierbei und in sämtlichen folgenden Berechnungen ist der Wert der Viruslast die unabhängige und die am selben Tag dazu beobachteten laborchemischen Parameter die abhängigen Variablen. Der erste Teil der Korrelationsanalyse bezieht sich auf das Gesamtkollektiv. Aufgrund der Tatsache, dass für jeden Patienten unterschiedlich viele Viruslastbestimmungen in unterschiedlichen Zeitabständen erfolgten, wählten wir je eine Stichprobe aus Viruslast und den am selben Tag gemessenen Laborparametern pro Patient aus. Für diese Zufallsauswahl bedienten wir uns dem statistischen Rechenprogramm R®. Diese durch Zufall ausgewählten 33 Wertepaare (je 1 Wertepaar pro Patient, bestehend aus einer Viruslastbestimmung und einem der 13 laborchemischen Parametern) wurden in das Statistikprogramm SPSS® überführt und anschließend mit dem Kolmogorow-Smirnow-Test auf Normalverteilung überprüft. Eine Normalverteilung konnte hiermit ausgeschlossen werden und die Korrelationsanalyse erfolgte somit auf Basis des Spearman Rangkorrelationskoeffizienten (Spearman's Rho).

Im zweiten Teil unserer Analyse berechneten wir die Korrelationen innerhalb der einzelnen Patienten im Verlauf. Auf der Basis einer beispielhaften Veröffentlichung zur medizinischen Statistik,⁹⁴⁻⁹⁶ wählten wir aus der Gesamttabelle von 33 Patienten und 167 Wertepaaren alle Patienten aus, bei denen drei oder mehr Viruslastbestimmungen erfolgten. Patienten, bei denen nur zwei oder weniger Viruslastbestimmungen erfolgten wurden aus statistischen Gründen nicht in diese Analyse aufgenommen. Schließlich ergab sich ein Kollektiv aus 24 Patienten und 155 Wertepaaren, also mehr und unterschiedlich viele Beobachtungen als Patienten. Das war Grund für die Anwendung einer Kovarianz-Analyse im Sinne eines allgemeinen linearen Modells. Für jede abhängige Variable erhielten wir damit eine Analyse in tabellarischer Form, deren Werte wir in folgende Formel einsetzten (vgl. ⁹⁴):

$$\sqrt{\frac{\text{Quadratsumme der abhängigen Variable (QSaV)}}{\text{QSaV} + \text{Quadratsumme des Fehlers}}}$$

Hiermit ließ sich nun ein Korrelationskoeffizient (KK) berechnen, der beschreibt, wie sich jeder einzelne laborchemische Wert innerhalb der einzelnen Patienten und in Abhängigkeit zum Verlauf der Viruslast verhielt.

Im dritten und letzten Teil der statistischen Analyse wählten wir einzelne Patienten beispielhaft aus und stellten die individuellen Verläufe von Viruslast und jeweiligem Laborwert im Zeitverlauf grafisch dar.

Mit dieser Aufspaltung der statistischen Analyse in 3 Teile gelang uns eine detaillierte Darstellung der Korrelationen aus 3 verschiedenen Perspektiven. Der erste Blick richtet sich dabei auf das Gesamtkollektiv als Stichprobe mit je einem Wertepaar pro Patient. Als nächstes wird mit allen verfügbaren Wertepaaren der Patienten ebenfalls das Gesamtkollektiv betrachtet, allerdings werden hier die Korrelationen von Viruslast und Parameter innerhalb der einzelnen Patienten im Verlauf dargestellt. Schließlich werden im dritten Teil der Analyse einzelne Patienten individuell und ebenfalls im Verlauf des Infektionszeitraums präsentiert.

2.4. Graphische Darstellung

Für die Beurteilung des therapeutischen Effekts des Virustatikums Cidofovir und einer möglichen Beeinflussung des Therapieerfolgs durch diverse Immunsuppressiva, erstellten wir Diagramme, auf denen der zeitliche Verlauf der Viruslast anhand der ADV-DNA-Kopien im peripheren Blut und die dazu begleitende medikamentöse Therapie abgebildet sind. Medikamente, die hier mit aufgenommen wurden sind sämtliche Immunsuppressiva (ohne Dosisangabe), die Gabe von ADV-spezifischen T-Zellen und das Virustatikum Cidofovir in der jeweils applizierten Dosis. Weiterhin wurden sämtliche qualitativen Parameter, die wir darüber hinaus während der Rechercharbeit erfassten, in verschiedenen Grafiken und Diagrammen dargestellt. Dazu gehören u.a. während des Infektionszeitraums aufgetretene Symptome, Komplikationen und zusätzliche Virusinfektionen.

3. Ergebnisse

3.1. Allgemeines

Das Patientenkollektiv besteht aus 23 Jungen und 10 Mädchen im Alter von 10 Monaten bis 18 Jahren (Altersmedian: 8,5 Jahre). Die erste positive quantitative Bestimmung von ADV-DNA im peripheren Blut durch die Echtzeit-PCR erfolgte durchschnittlich an Tag +85 nach allogener Stammzelltransplantation. Die Spannweite zwischen frühester (Tag -3) und spätester Bestimmung (Tag 909) kann nachfolgender Abbildung 3, Seite x entnommen werden. Die Zeiträume der ADV-Infektion, gemessen von der ersten positiven bis zur ersten negativen quantitativen Erfassung der Viruslast, lagen im Mittel bei 44 Tagen und reichten von 4 bis maximal 173 Tagen. Bei 6 Patienten trat der Tod noch vor einer Negativbestimmung der Viruslast und während laufender Therapie ein.

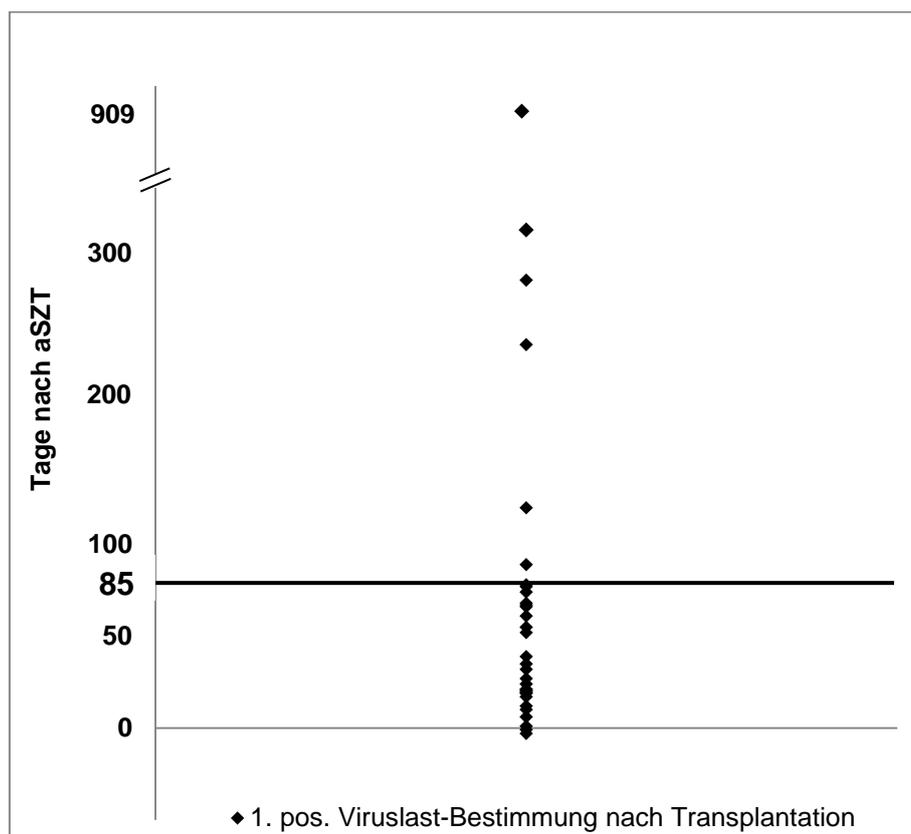


Abb. 3: Tag der ersten positiven ADV-DNA-Bestimmung nach aSZT; n = 33

3.2. Transplantationsarten

Alle 33 Patienten wurden einer allogenen Stammzelltransplantation unterzogen. Die übertragenen Stammzellen stammten bei 19 Patienten aus dem peripheren Blut und bei 14 Patienten aus dem Knochenmark der Spender. In den folgenden Abbildungen 4 und 5 sind die Transplantationen nach verwandten oder nichtverwandten, identen oder haploidenten Spender und vorangehender T- oder B-Zell-Depletion zusammengefasst. Verglichen mit den Risikofaktoren für eine ADV-Infektion und -Erkrankung nach aSZT (siehe 1.2.2.), haben 30 Patienten bereits mit der Transplantation ein erhöhtes Risiko: Davon 16 Patienten als Empfänger von T- oder B-Zell-depletierten Stammzellen (Abb. 4) und weitere 14 Patienten als Empfänger von Stammzellen eines nicht-verwandten Spenders, darunter 3 mit zusätzlicher Zell-Depletion (Abb. 5). Lediglich 3 Patienten erhielten Stammzellen eines HLA-identen und verwandten Spenders und vielen somit in keine Risikogruppe.

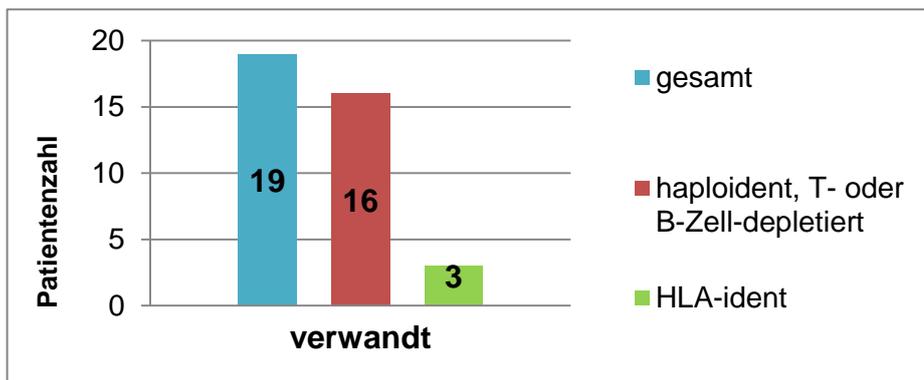


Abb. 4: Patienten mit Stammzellepräparat von verwandtem Spender

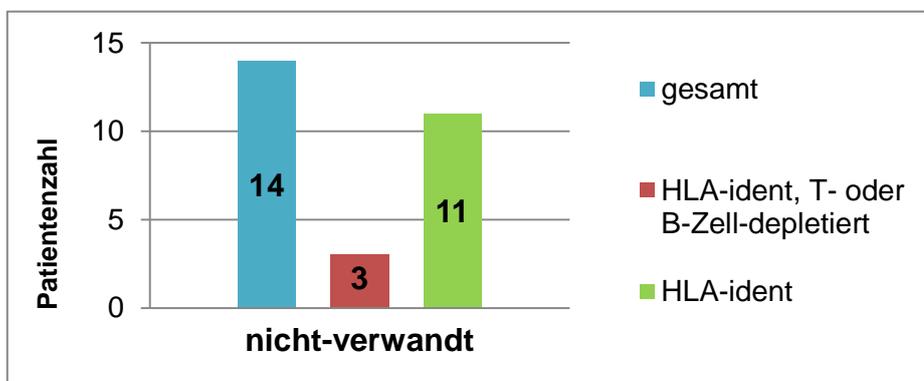


Abb. 5: Patienten mit Stammzellepräparat von nicht-verwandtem Spender

3.3. Korrelationsanalyse

3.3.1. Korrelationen des Gesamtkollektivs als Stichprobe

Im ersten Schritt der Korrelationsanalyse wurde durch Zufall für jeden Patienten 1 Wertepaar, bestehend aus Viruslast und einem am selben Tag dazu gemessenen Laborparameter ausgewählt (vgl. hierzu auch 2.3.). Daraus ergaben sich somit je 33 Wertepaare für jeden einzelnen Laborparameter. Ziel ist es in erster Linie die Korrelationen der Viruslasten mit den jeweiligen Laborparametern im Sinne einer Stichprobe des Gesamtkollektivs zu berechnen. Es soll geprüft werden, ob eine hohe Viruslast allgemein auch mit einem erhöhten/erniedrigten Laborparameter einhergeht. In den folgenden Abbildungen 6-18 sind die einzelnen Korrelationen der Viruslast der Patienten mit den jeweiligen laborchemischen Parametern in Form von Punkt- bzw. Streudiagrammen dargestellt. Der entsprechende Korrelationskoeffizient nach Spearman kann den Grafiken direkt entnommen werden.

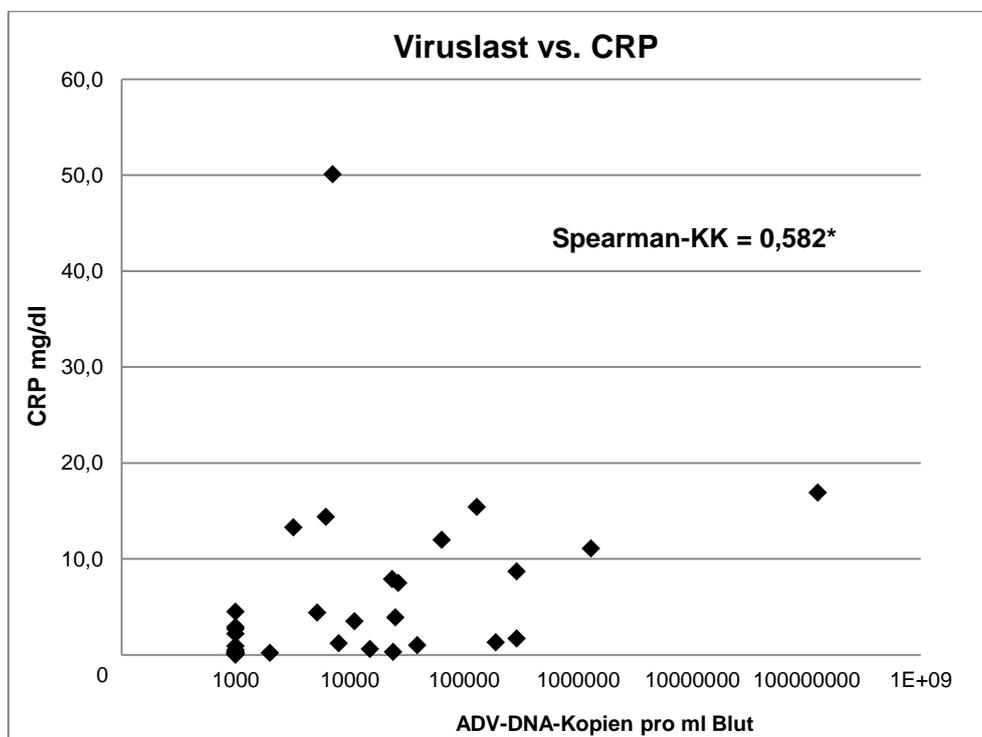


Abb. 6: Korrelation von Viruslast und CRP; n = 33

*signifikant auf dem 0,01-Niveau

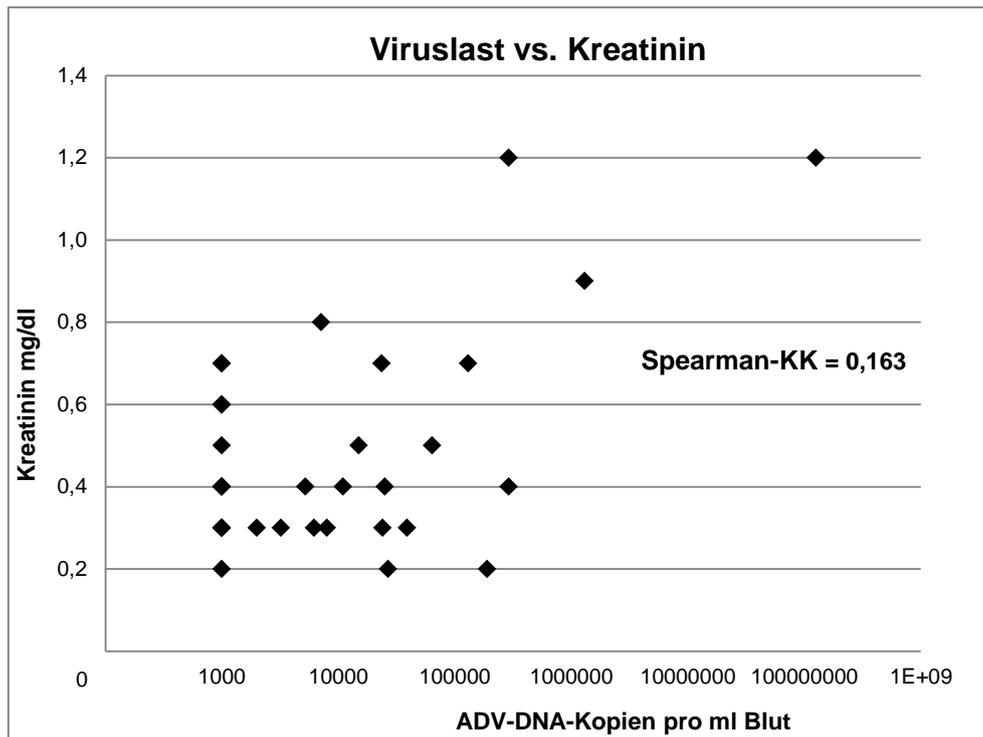


Abb. 7: Korrelation von Viruslast und Kreatinin; n = 33

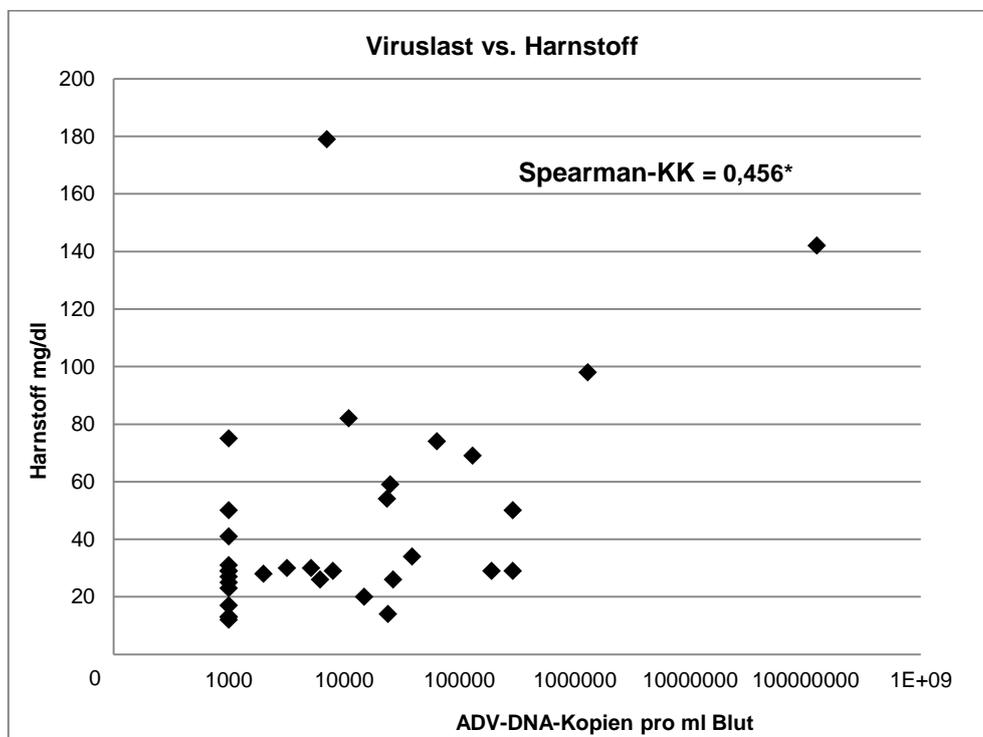


Abb. 8: Korrelation von Viruslast und Harnstoff; n = 33

*signifikant auf dem 0,01-Niveau

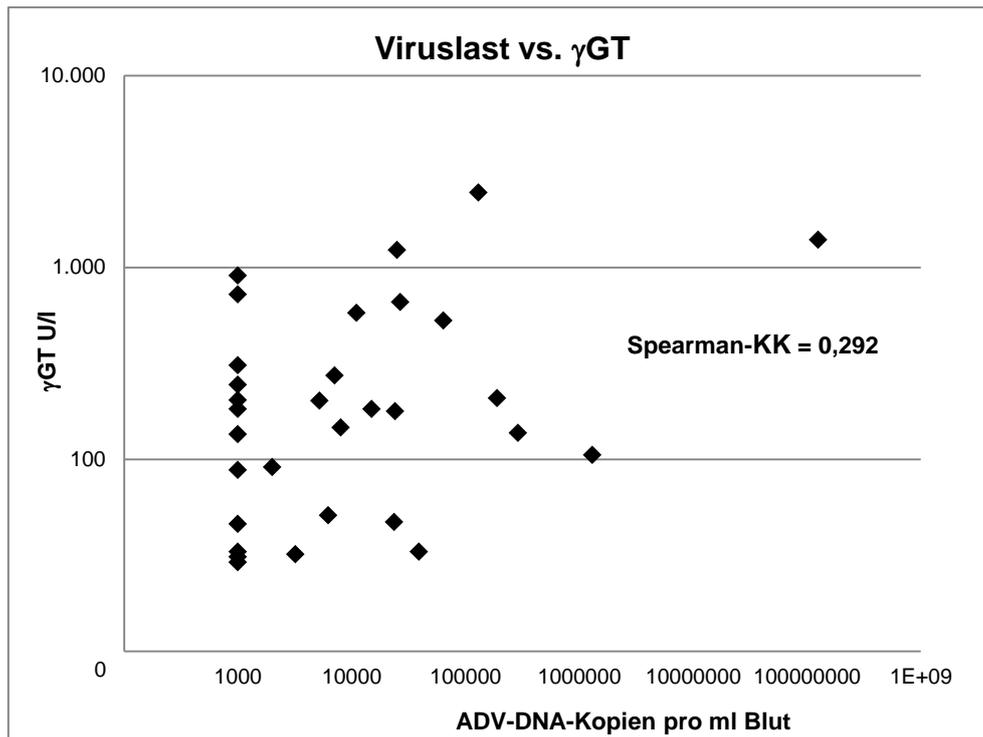


Abb. 9: Korrelation von Viruslast und γ GT; n = 33

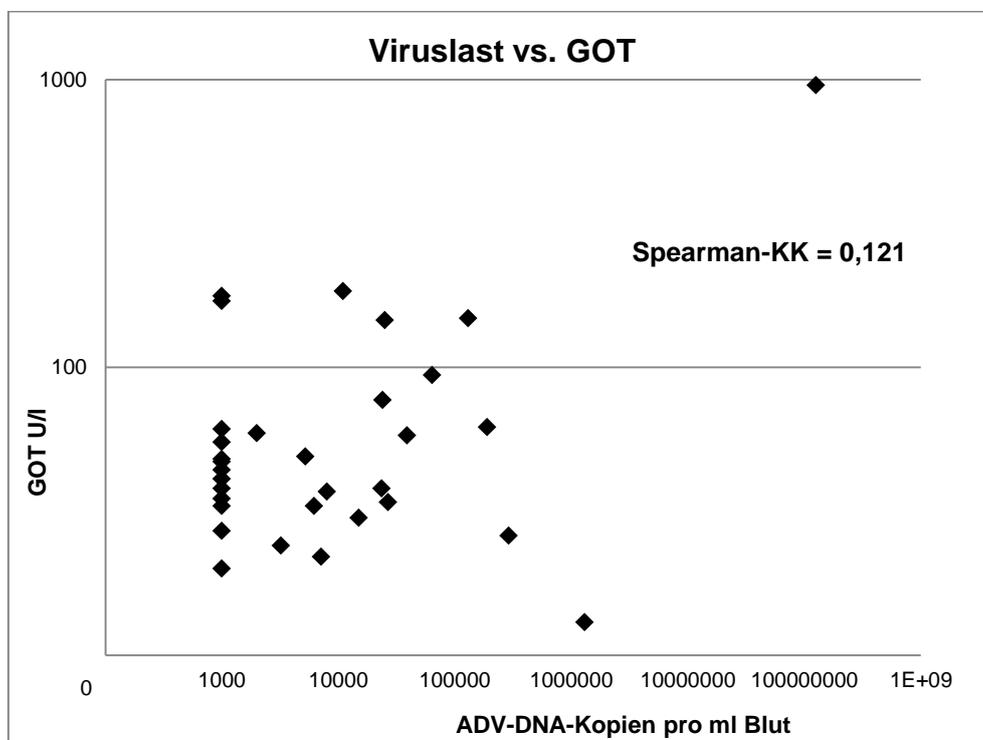


Abb. 10: Korrelation von Viruslast und GOT; n = 33

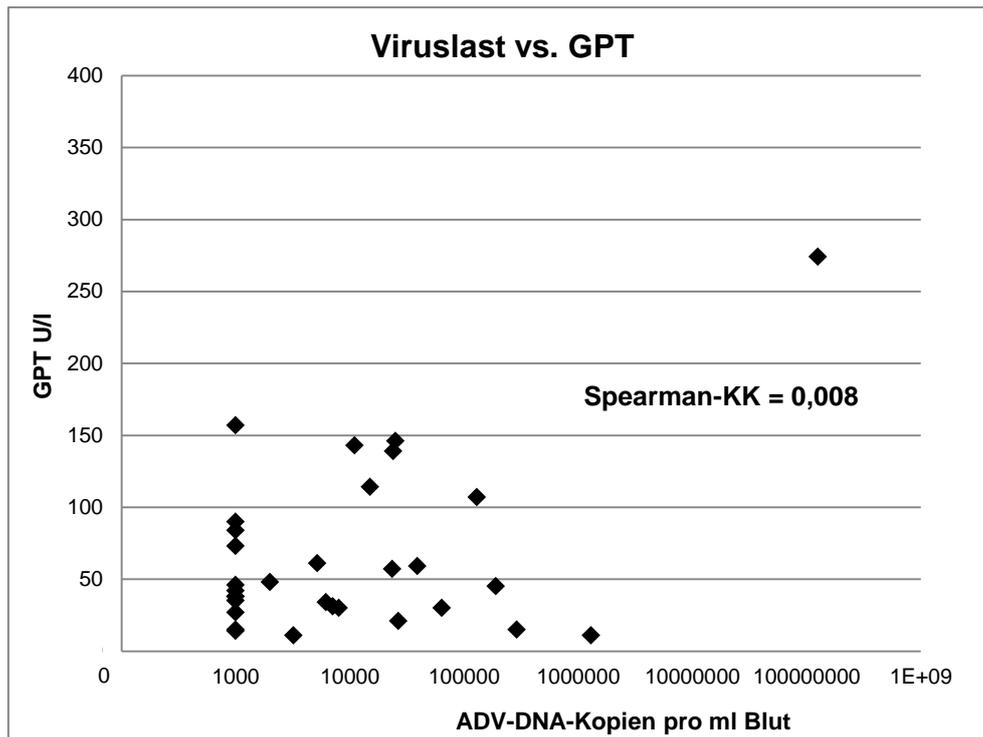


Abb. 11: Korrelation von Viruslast und GPT; n = 33

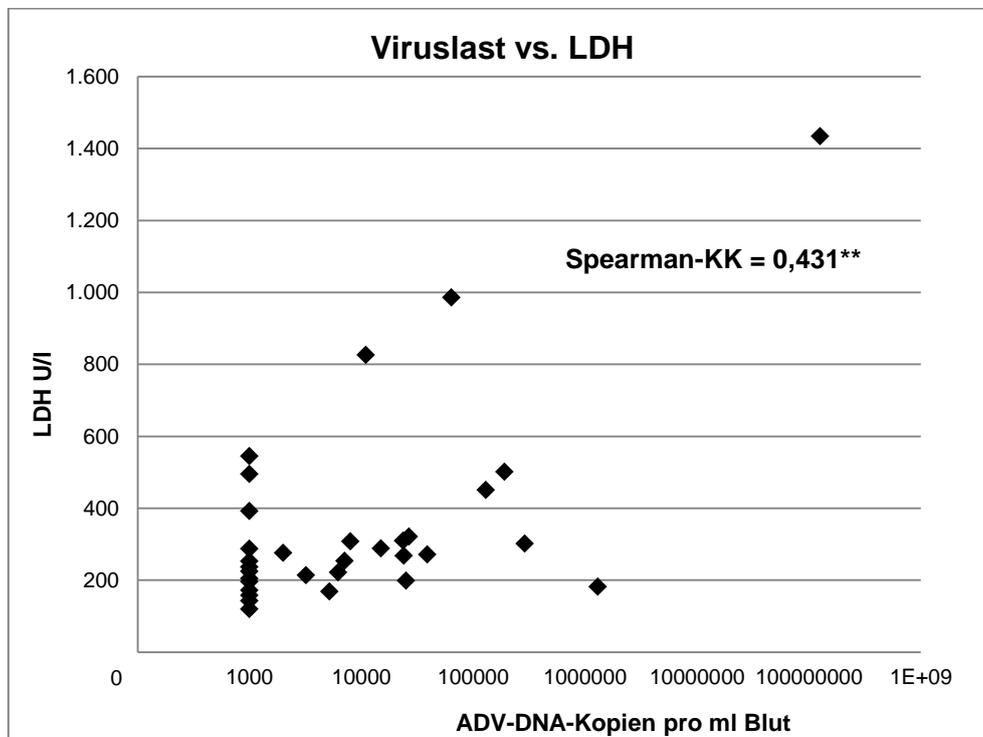


Abb. 12: Korrelation von Viruslast und LDH; n = 33

**signifikant auf dem 0,05-Niveau

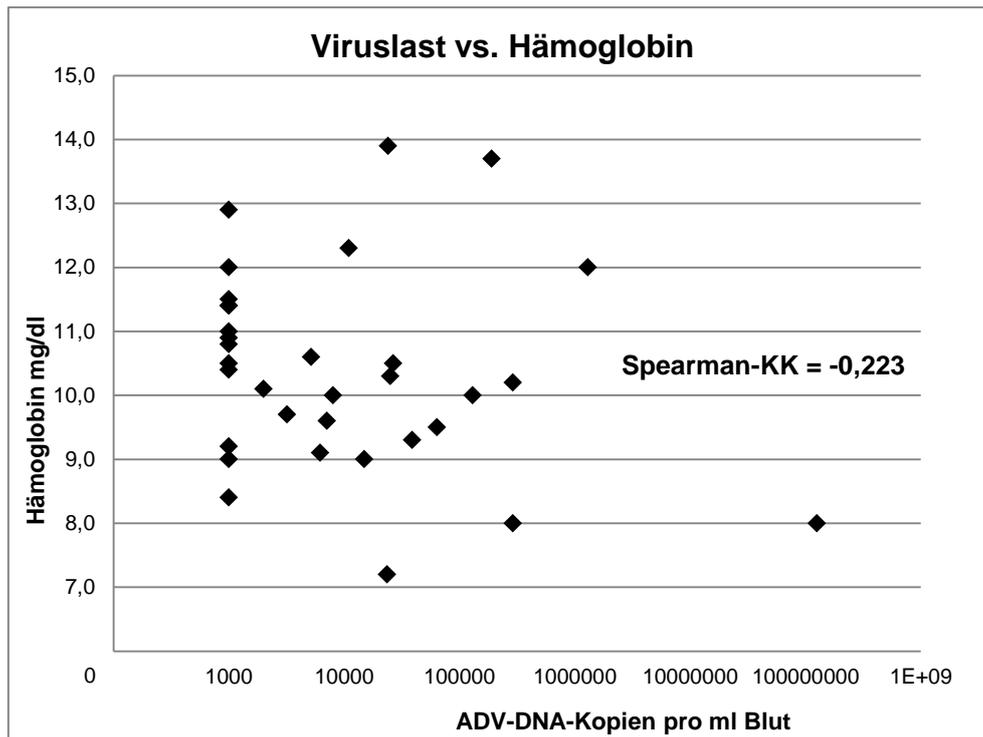


Abb. 13: Korrelation von Viruslast und Hämoglobin; n = 33

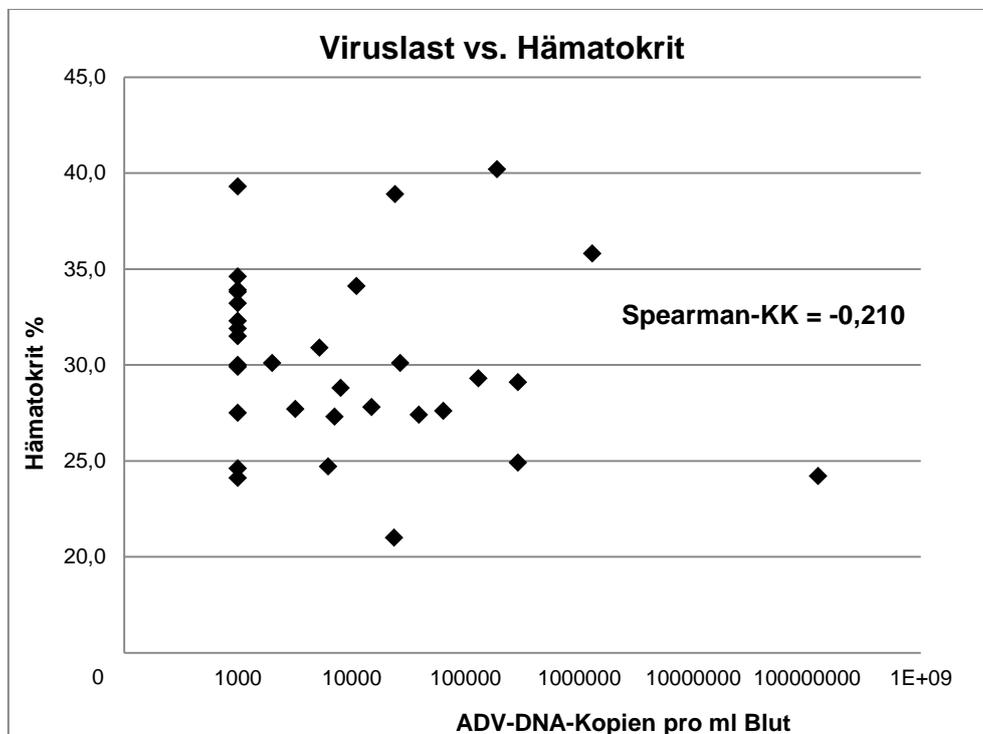


Abb. 14: Korrelation von Viruslast und Hämatokrit; n = 33

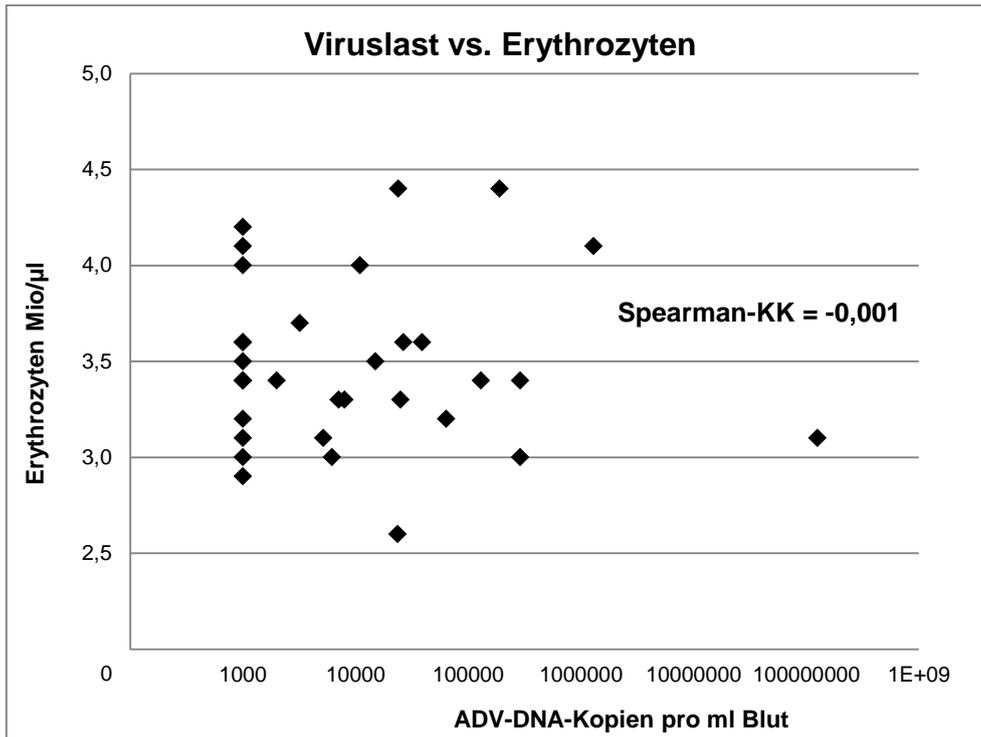


Abb. 15: Korrelation von Viruslast und Erythrozytenzahl; n = 33

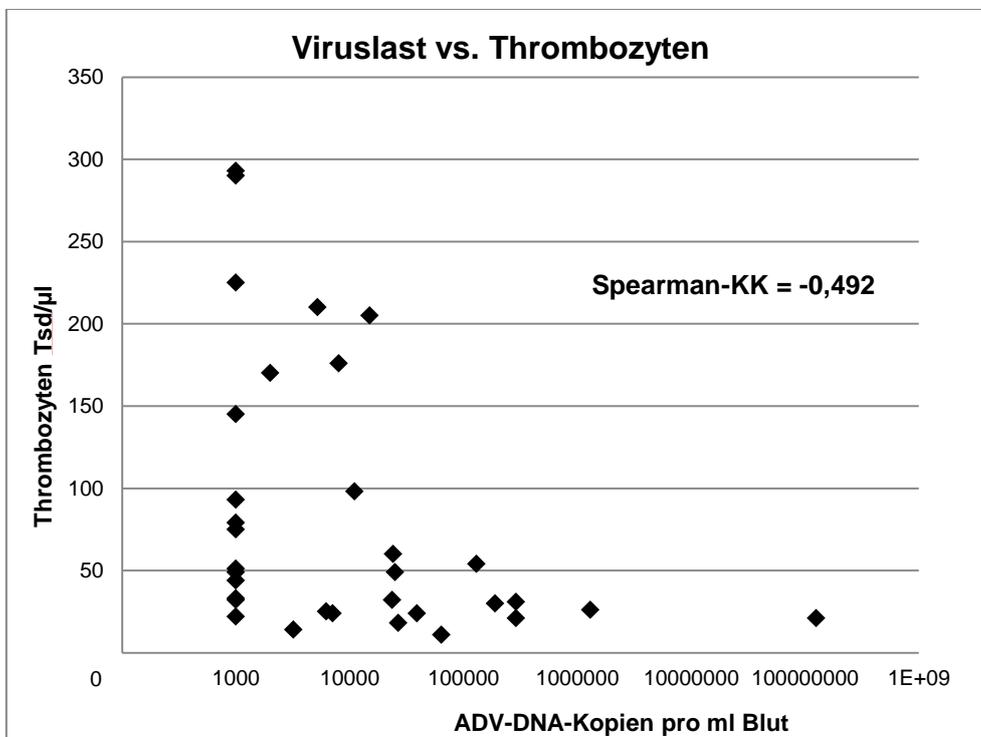


Abb. 16: Korrelation von Viruslast und Thrombozytenzahl; n = 33

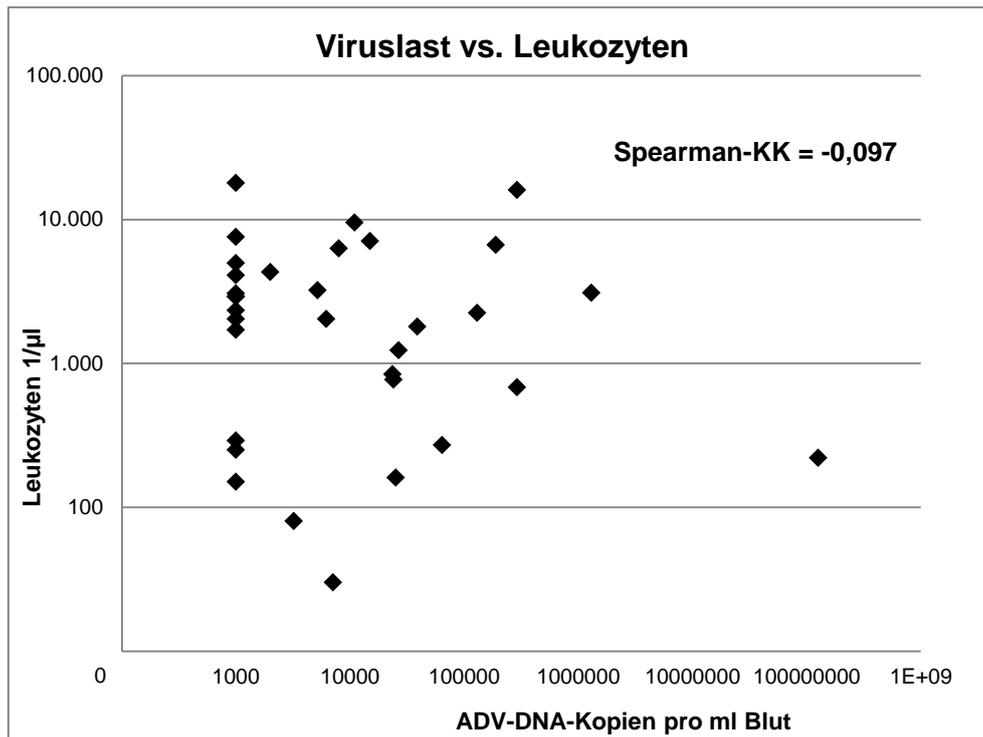


Abb. 17: Korrelation von Viruslast und Leukozytenzahl; n = 33

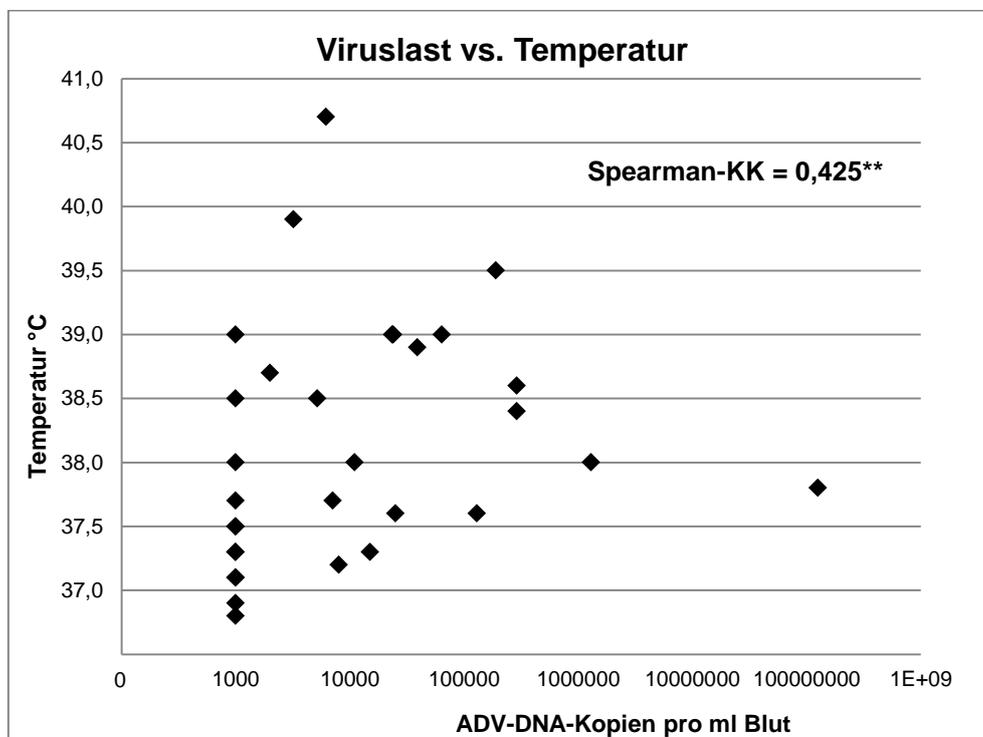


Abb. 18: Korrelation von Viruslast und Temperatur; n = 33

**signifikant auf dem 0,05-Niveau

3.3.2. Korrelationen des Gesamtkollektivs im Verlauf

Im zweiten Teil der Korrelationsanalyse wurden sämtliche Wertepaare aller Patienten, ebenfalls bestehend aus der Viruslast und den jeweiligen Laborparametern in die Berechnung aufgenommen. Aus statistischen Gründen waren dabei die Verläufe von 24 Patienten auswertbar. Über eine Kovarianz-Analyse („Tests des Zwischensubjekteffekte“) erhielten wir die Berechnungsgrundlage für den Korrelationskoeffizienten, welche nachfolgend in Form einer Tabelle zusammen mit dem jeweiligen Streudiagramm der Korrelationen dargestellt ist (Näheres zur Berechnung vgl. 2.3). Ziel dieser Vorgehensweise ist es, die Korrelationen zwischen Viruslast und Laborparametern innerhalb der einzelnen Patienten und im Verlauf des Infektionszeitraumes darzustellen. Es soll damit die Frage beantwortet werden, ob nun steigende Viruslasten im Verlauf des Infektionszeitraumes auch zum Ansteigen oder Abfallen der laborchemischen Parameter führen. Die Perspektive richtet sich dabei weiterhin auf das Gesamtkollektiv. Aus folgender Abbildung 19 kann zusätzlich die Streuung der Viruslastwerte der einzelnen Patienten, die in diesen Teil der Korrelationsanalyse eingegangen sind, entnommen werden. Einschließlich der maximalen Werte, die für jeden Patienten gemessen wurden.

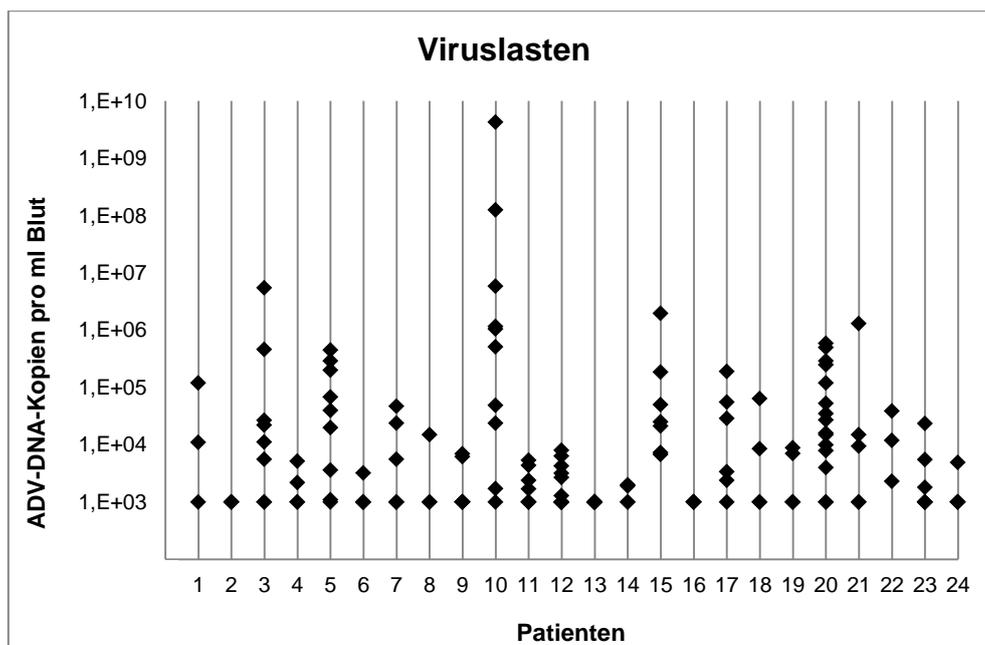


Abb. 19: Streuung der Viruslastwerte der Patienten während ihrer ADV-Infektion

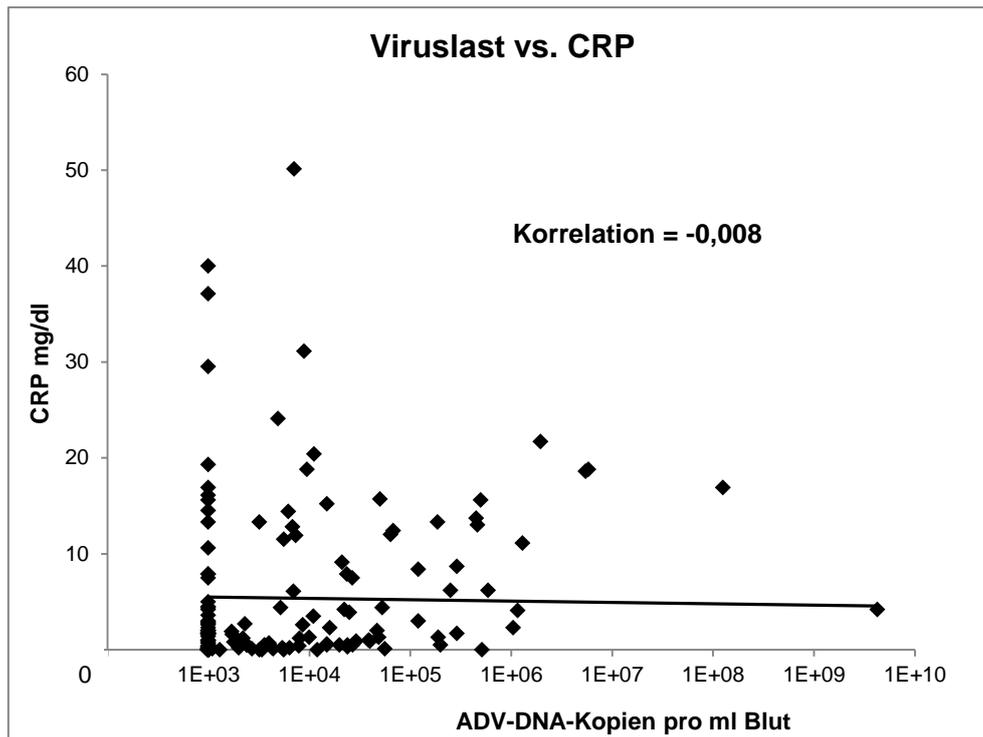


Abb. 20: Korrelation von Viruslast und CRP im Verlauf; n = 24

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: **CRP** Korrelationskoeffizient: **- 0,008**

Tab. 5: Kovarianzanalyse für Viruslast und CRP.
df = *Degrees of freedom* (= Freiheitsgrade); F = F-Test; ID = Patientenidentität

Quelle	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Korrigiertes Modell	5022,663	24	209,278	4,668	0,000
Konstanter Term	4418,615	1	4418,615	98,559	0,000
Viruslast	0,360	1	0,360	0,008	0,929
ID	5021,843	23	218,341	4,870	0,000
Fehler	5693,672	127	44,832		
Gesamt	15289,070	152			
Korrigierte Gesamtvariation	10716,335	151			

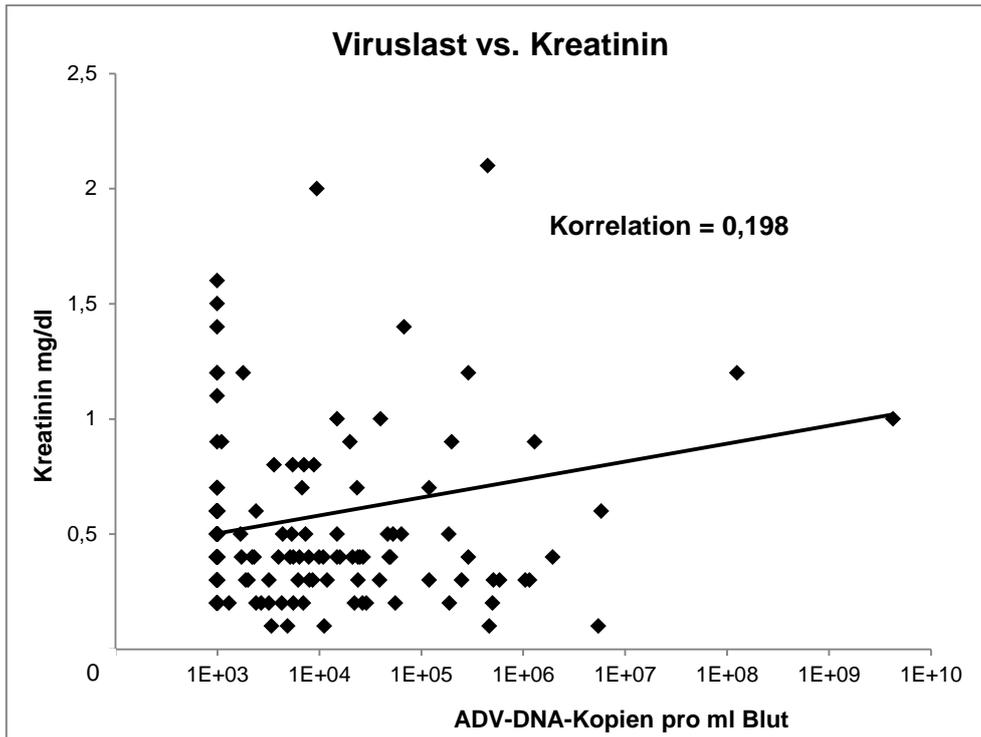


Abb. 21: Korrelation von Viruslast und Kreatinin im Verlauf; n = 24

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: **Kreatinin** Korrelationskoeffizient: **0,198****

Tab. 6: Kovarianzanalyse für Viruslast und Kreatinin.
df = Degrees of freedom (= Freiheitsgrade); F = F-Test; ID = Patientenidentität

Quelle	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Korrigiertes Modell	11,716	24	0,488	9,890	0,000
Konstanter Term	33,661	1	33,661	681,982	0,000
Viruslast	0,257	1	0,257	5,203	0,024**
ID	11,450	23	0,498	10,086	0,000
Fehler	6,318	128	0,049		
Gesamt	57,290	153			
Korrigierte Gesamtvariation	18,033	152			

** Die Korrelation ist auf dem 0,05- Niveau signifikant

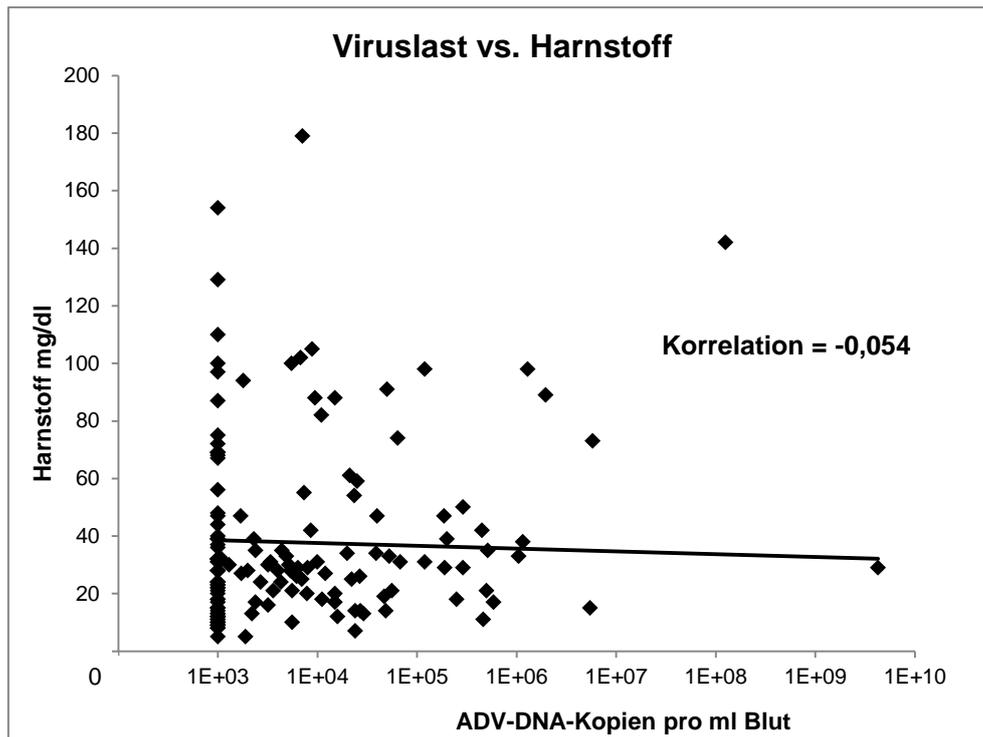


Abb. 22: Korrelation von Viruslast und Harnstoff im Verlauf; n = 24

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: **Harnstoff** Korrelationskoeffizient: **-0,054**

Tab. 7: Kovarianzanalyse für Viruslast und Harnstoff.
df = Degrees of freedom (= Freiheitsgrade); F = F-Test; ID = Patientenidentität

Quelle	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Korrigiertes Modell	107390,997	24	4474,625	13,505	0,000
Konstanter Term	216971,481	1	216971,481	654,848	0,000
Viruslast	126,107	1	126,107	0,381	0,538
ID	107348,821	23	4667,340	14,087	0,000
Fehler	42410,389	128	331,331		
Gesamt	377472,000	153			
Korrigierte Gesamtvariation	149801,386	152			

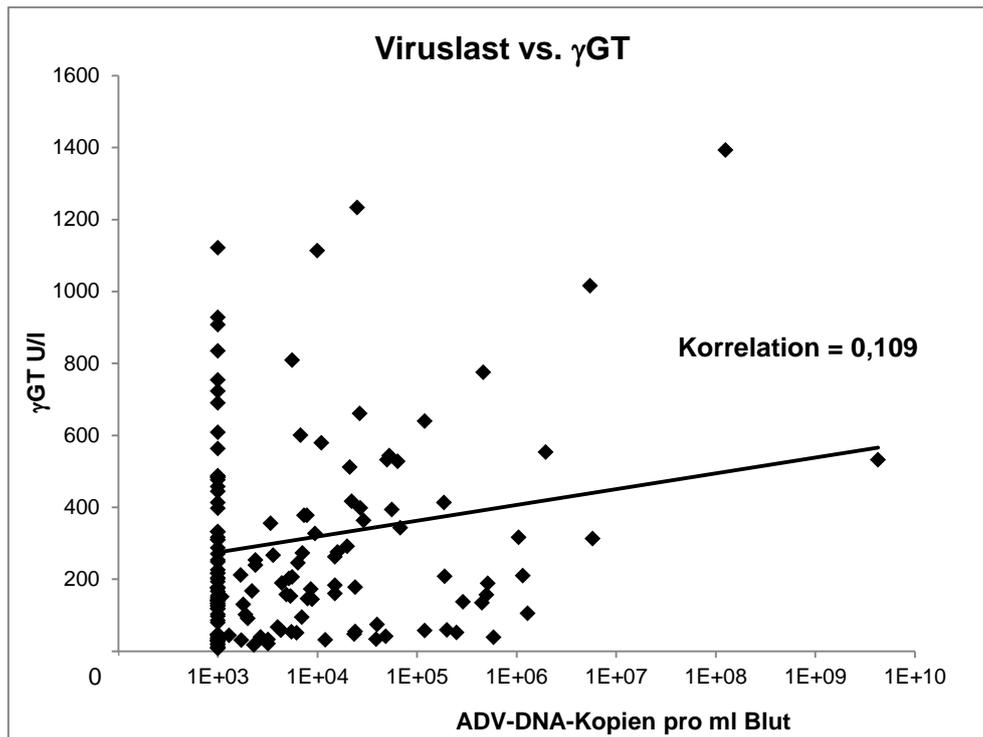


Abb. 23: Korrelation von Viruslast und γ GT im Verlauf; n = 24

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: γ GT Korrelationskoeffizient: **0,109**

Tab. 8: Kovarianzanalyse für Viruslast und γ GT.
df = Degrees of freedom (= Freiheitsgrade); F = F-Test; ID = Patientenidentität

Quelle	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Korrigiertes Modell	4729264,949	24	197052,706	4,075	0,000
Konstanter Term	9593007,014	1	9593007,014	198,368	0,000
Viruslast	72519,518	1	72519,518	1,500	0,223
ID	4644905,728	23	201952,423	4,176	0,000
Fehler	5996599,923	124	48359,677		
Gesamt	22113103,000	149			
Korrigierte Gesamtvariation	10725864,872	148			

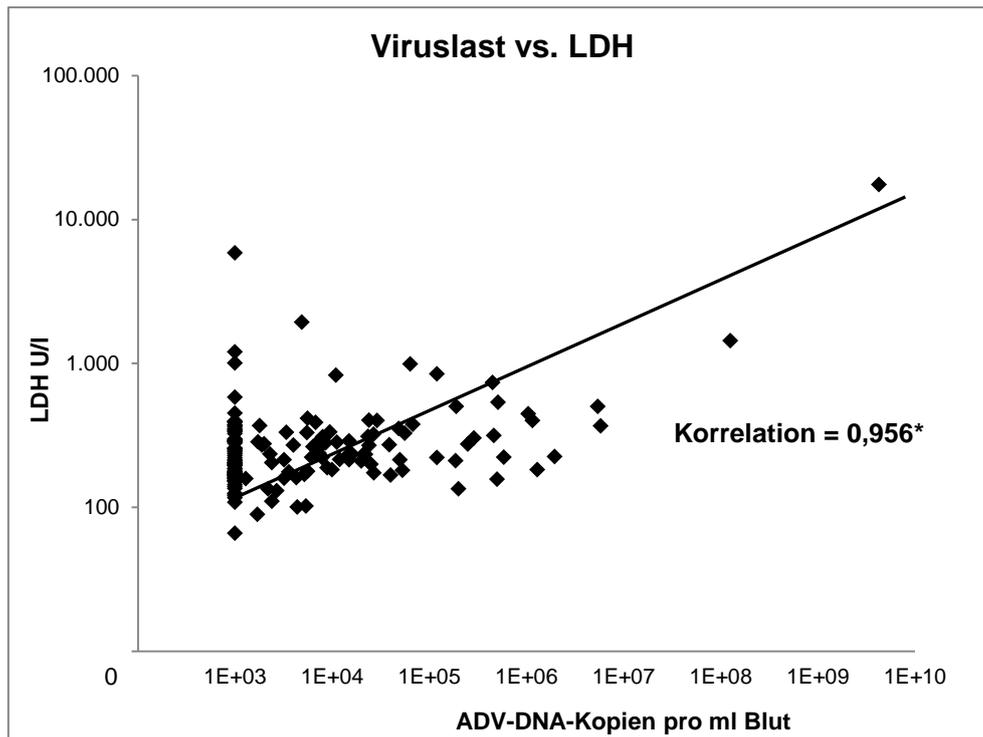


Abb. 24: Korrelation von Viruslast und LDH im Verlauf; n = 24

*signifikant auf dem 0,01-Niveau

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: **LDH** Korrelationskoeffizient: **0,956***

Tab. 9: Kovarianzanalyse für Viruslast und LDH.
df = *Degrees of freedom* (= Freiheitsgrade); F = F-Test; ID = Patientenidentität

Quelle	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Korrigiertes Modell	306906912,718	24	12787788,030	66,188	0,000
Konstanter Term	16930994,907	1	16930994,907	87,632	0,000
Viruslast	260448466,099	1	260448466,099	1348,044	0,000*
ID	13743469,401	23	597542,148	3,093	0,000
Fehler	24343798,501	126	193204,750		
Gesamt	360778970,000	151			
Korrigierte Gesamtvariation	331250711,219	150			

* Die Korrelation ist auf dem 0,01- Niveau signifikant

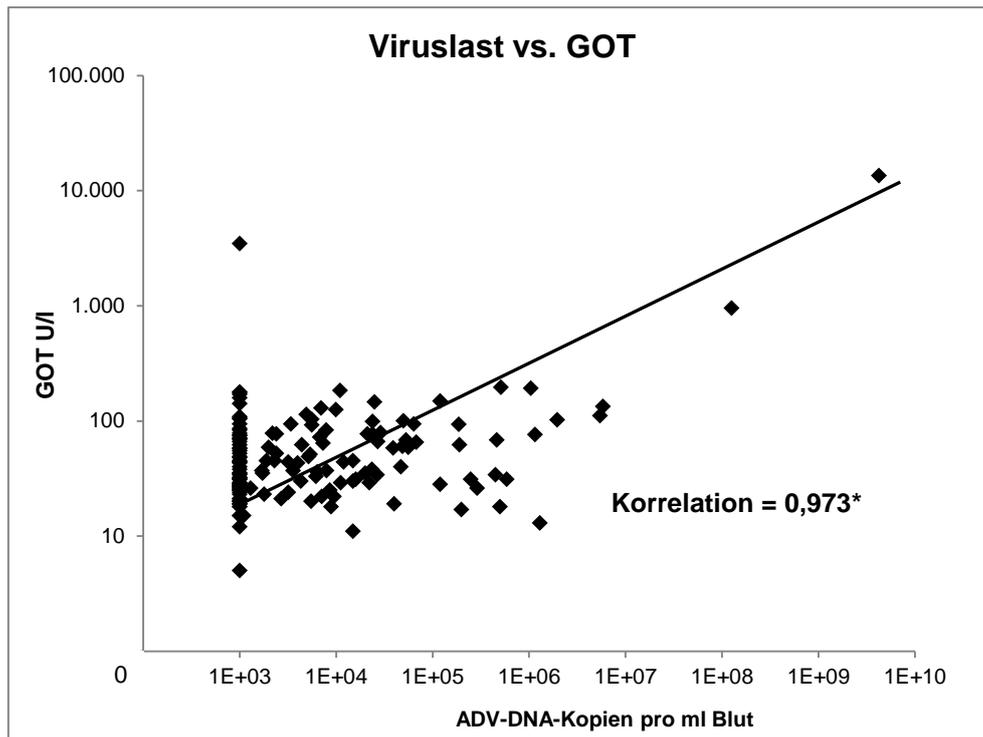


Abb. 25: Korrelation von Viruslast und GOT im Verlauf; n = 24
*signifikant auf dem 0,01-Niveau

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: **GOT** Korrelationskoeffizient: **0,973***

Tab. 10: Kovarianzanalyse für Viruslast und GOT.
df = *Degrees of freedom* (= Freiheitsgrade); F = F-Test; ID = Patientenidentität

Quelle	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Korrigiertes Modell	181574593,209	24	7565608,050	106,746	0,000
Konstanter Term	1131202,192	1	1131202,192	15,960	0,000
Viruslast	159137085,585	1	159137085,585	2245,316	0,000*
ID	2939831,549	23	127818,763	1,803	0,021
Fehler	9001143,995	127	70875,150		
Gesamt	195102483,000	152			
Korrigierte Gesamtvariation	190575737,204	151			

* Die Korrelation ist auf dem 0,01- Niveau signifikant

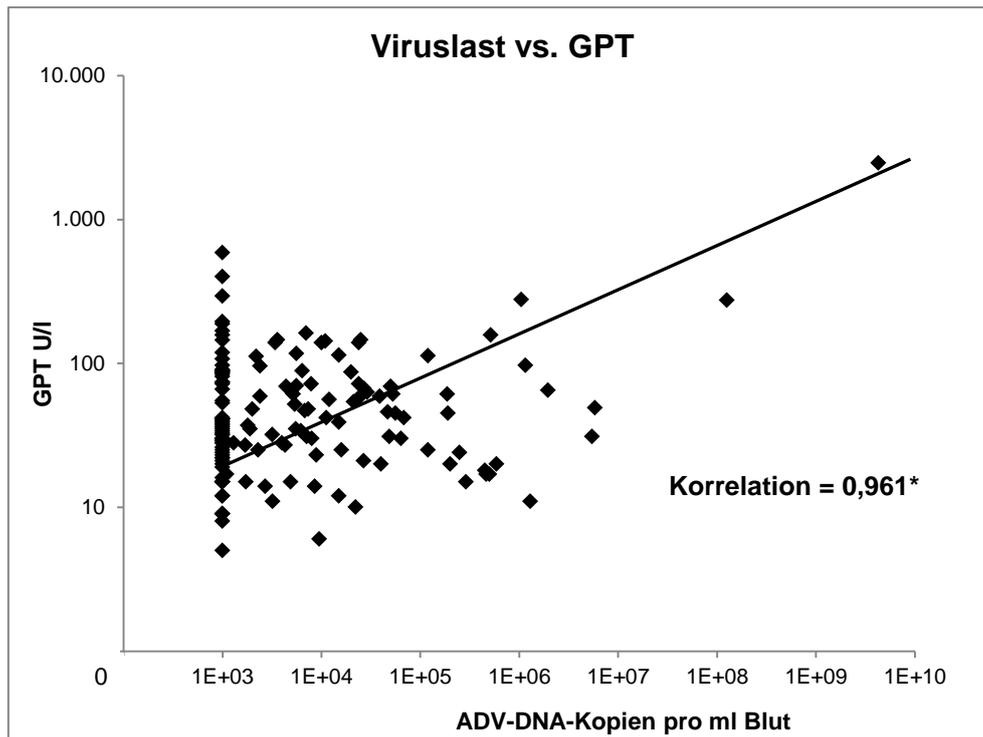


Abb. 26: Korrelation von Viruslast und GPT im Verlauf; n = 24

*signifikant auf dem 0,01-Niveau

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: **GPT** Korrelationskoeffizient: **0,961***

Tab. 11: Kovarianzanalyse für Viruslast und GPT.
df = *Degrees of freedom* (= Freiheitsgrade); F = F-Test; ID = Patientenidentität

Quelle	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Korrigiertes Modell	6168847,158	24	257035,298	77,572	0,000
Konstanter Term	603685,073	1	603685,073	182,188	0,000
Viruslast	5062920,956	1	5062920,956	1527,957	0,000*
ID	362889,481	23	15777,804	4,762	0,000
Fehler	417503,994	126	3313,524		
Gesamt	7542220,000	151			
Korrigierte Gesamtvariation	6586351,152	150			

* Die Korrelation ist auf dem 0,01- Niveau signifikant

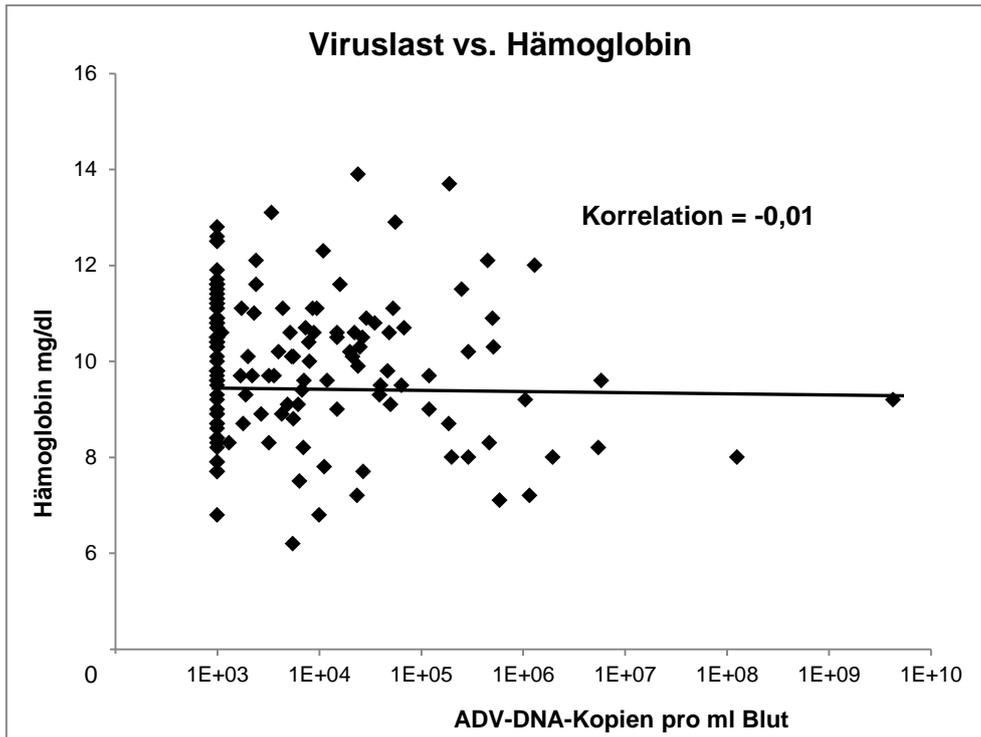


Abb. 27: Korrelation von Viruslast und Hämoglobin im Verlauf; n = 24

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: **Hämoglobin** Korrelationskoeffizient: **-0,01**

Tab. 12: Kovarianzanalyse für Viruslast und Hämoglobin.
df = Degrees of freedom (= Freiheitsgrade); F = F-Test; ID = Patientenidentität

Quelle	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Korrigiertes Modell	117,754	24	4,906	3,134	0,000
Konstanter Term	13027,747	1	13027,747	8322,055	0,000
Viruslast	0,022	1	0,022	0,014	0,906
ID	116,969	23	5,086	3,249	0,000
Fehler	203,508	130	1,565		
Gesamt	15881,320	155			
Korrigierte Gesamtvariation	321,262	154			

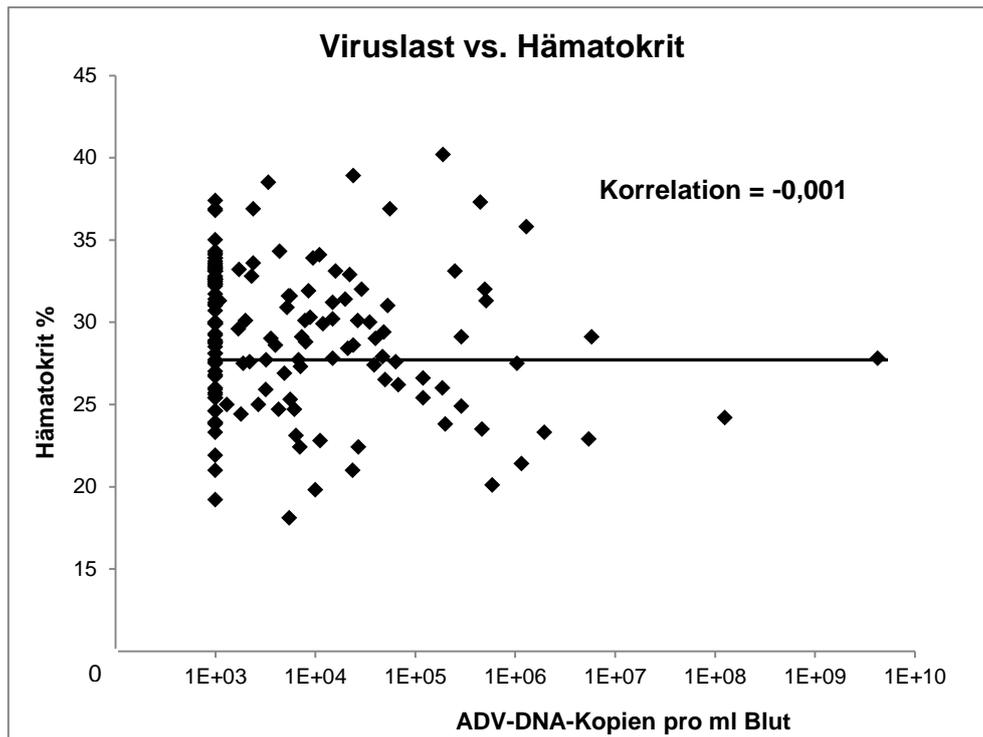


Abb. 28: Korrelation von Viruslast und Hämatokrit im Verlauf; n = 24

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: **Hämatokrit** Korrelationskoeffizient: **-0,001**

Tab. 13: Kovarianzanalyse für Viruslast und Hämatokrit.
df = Degrees of freedom (= Freiheitsgrade); F = F-Test; ID = Patientenidentität

Quelle	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Korrigiertes Modell	1356,441	24	56,518	3,172	0,000
Konstanter Term	109776,768	1	109776,768	6160,956	0,000
Viruslast	0,003	1	0,003	0,000	0,989
ID	1354,404	23	58,887	3,305	0,000
Fehler	2316,358	130	17,818		
Gesamt	134637,510	155			
Korrigierte Gesamtvariation	3672,799	154			

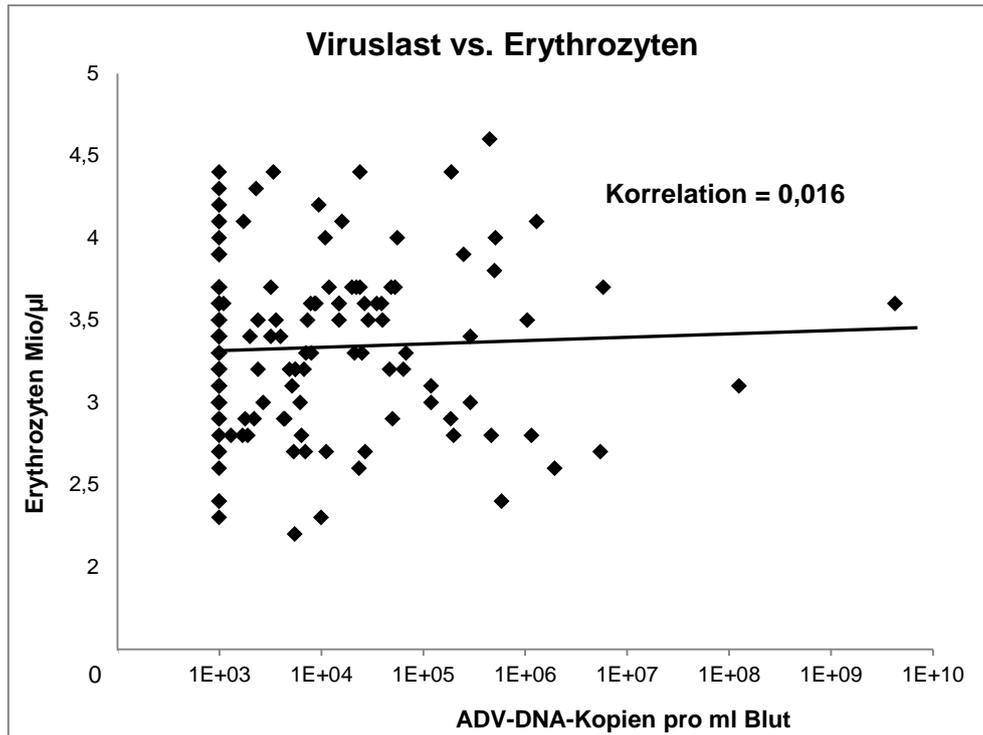


Abb. 29: Korrelation von Viruslast und Erythrozytenzahl im Verlauf; n = 24

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: **Erythrozytenzahl** Korrelationskoeffizient: **0,016**

Tab. 14: Kovarianzanalyse für Viruslast und Erythrozytenzahl.
df = *Degrees of freedom* (= Freiheitsgrade); F = F-Test; ID = Patientenidentität

Quelle	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Korrigiertes Modell	10,115	24	0,421	2,096	0,004
Konstanter Term	1461,659	1	1461,659	7269,582	0,000
Viruslast	0,007	1	0,007	0,033	0,856
ID	10,061	23	0,437	2,176	0,003
Fehler	26,138	130	0,201		
Gesamt	1785,470	155			
Korrigierte Gesamtvariation	36,254	154			

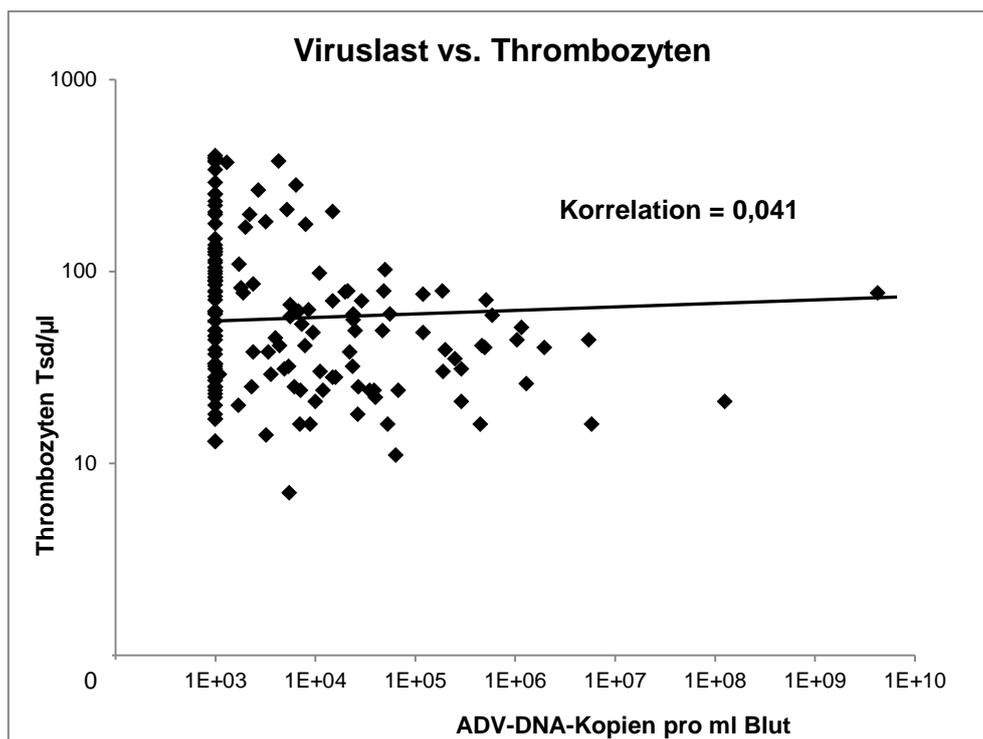


Abb. 30: Korrelation von Viruslast und Thrombozytenzahl im Verlauf; n = 24

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: **Thrombozytenzahl** Korrelationskoeffizient: **0,041**

Tab. 15: Kovarianzanalyse für Viruslast und Thrombozytenzahl.
df = *Degrees of freedom* (= Freiheitsgrade); F = F-Test; ID = Patientenidentität

Quelle	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Korrigiertes Modell	1140919,144	24	47538,298	46,944	0,000
Konstanter Term	944100,618	1	944100,618	932,301	0,000
Viruslast	219,810	1	219,810	0,217	0,642
ID	1140794,851	23	49599,776	48,980	0,000
Fehler	131645,333	130	1012,656		
Gesamt	2417397,000	155			
Korrigierte Gesamtvariation	1272564,477	154			

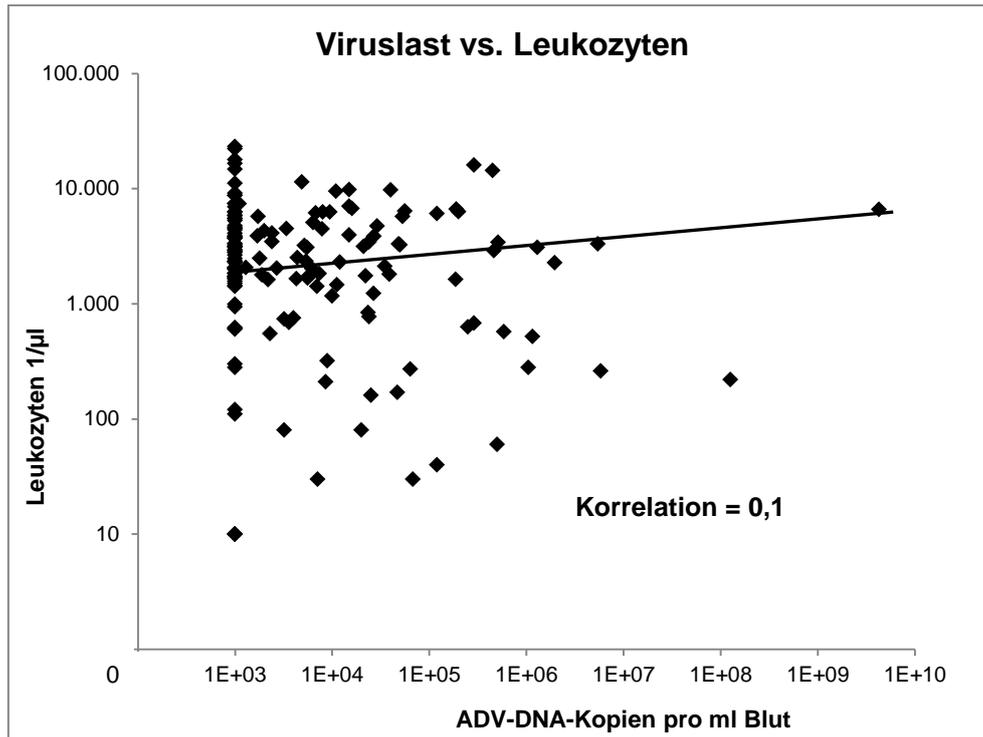


Abb. 31: Korrelation von Viruslast und Leukozytenzahl im Verlauf; n = 24

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: **Leukozytenzahl** Korrelationskoeffizient: **0,1**

Tab. 16: Kovarianzanalyse für Viruslast und Leukozytenzahl.
df = *Degrees of freedom* (= Freiheitsgrade); F = F-Test; ID = Patientenidentität

Quelle	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Korrigiertes Modell	1075072980,988	24	44794707,541	4,074	0,000
Konstanter Term	1944740861,368	1	1944740861,368	176,858	0,000
Viruslast	14495339,414	1	14495339,414	1,318	0,253
ID	1067602437,498	23	46417497,283	4,221	0,000
Fehler	1429486234,497	130	10996047,958		
Gesamt	4710651200,000	155			
Korrigierte Gesamtvariation	2504559215,484	154			

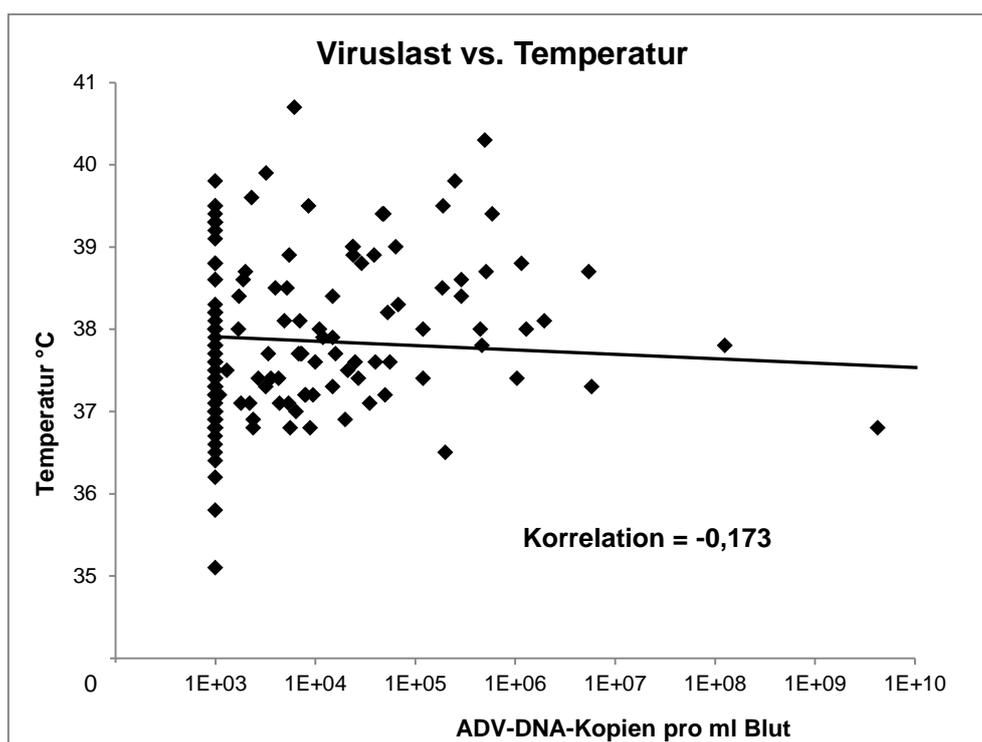


Abb. 32: Korrelation von Viruslast und Temperatur im Verlauf; n = 24

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: **Temperatur** Korrelationskoeffizient: **-0,173**

Tab. 17: Kovarianzanalyse für Viruslast und Temperatur.
df = *Degrees of freedom* (= Freiheitsgrade); F = F-Test; ID = Patientenidentität

Quelle	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Korrigiertes Modell	52,349	24	2,181	3,306	0,000
Konstanter Term	174504,348	1	174504,348	264530,712	0,000
Viruslast	2,530	1	2,530	3,836	0,052
ID	51,254	23	2,228	3,378	0,000
Fehler	82,459	125	0,660		
Gesamt	214952,490	150			
Korrigierte Gesamtvariation	134,808	149			

3.3.3. Korrelationen innerhalb einzelner Patienten

Im dritten und letzten Teil der Korrelationsanalyse werden die signifikanten Korrelationen der Viruslast mit einigen laborchemischen Parametern einzelner Patienten im zeitlichen Verlauf des Infektionszeitraumes dargestellt. Unter anderem kann damit verglichen werden, ob die Korrelationen des Gesamtkollektivs aus 3.3.2. auch direkt auf einzelne Patienten übertragbar sind. Insgesamt zeigten 7 Patienten signifikante Einzelkorrelationen der Viruslast mit verschiedenen Laborparametern, welche in den folgenden Diagrammen (Abb. 33-49) präsentiert werden.

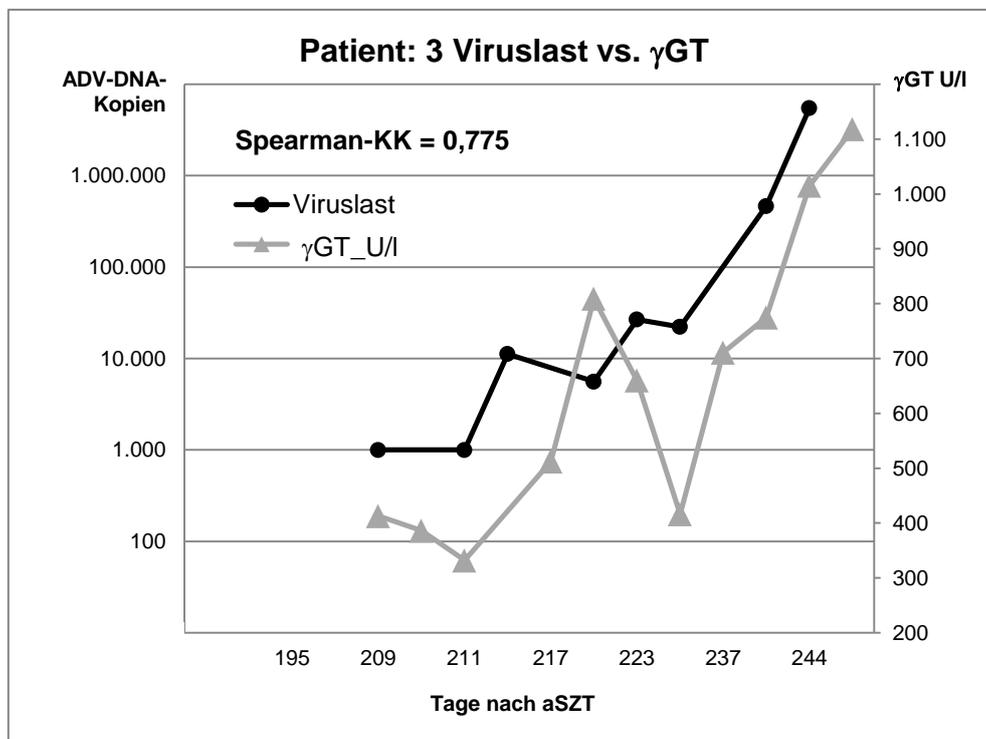


Abb. 33: Korrelation und Verlauf von Viruslast und γ GT; Patient 3

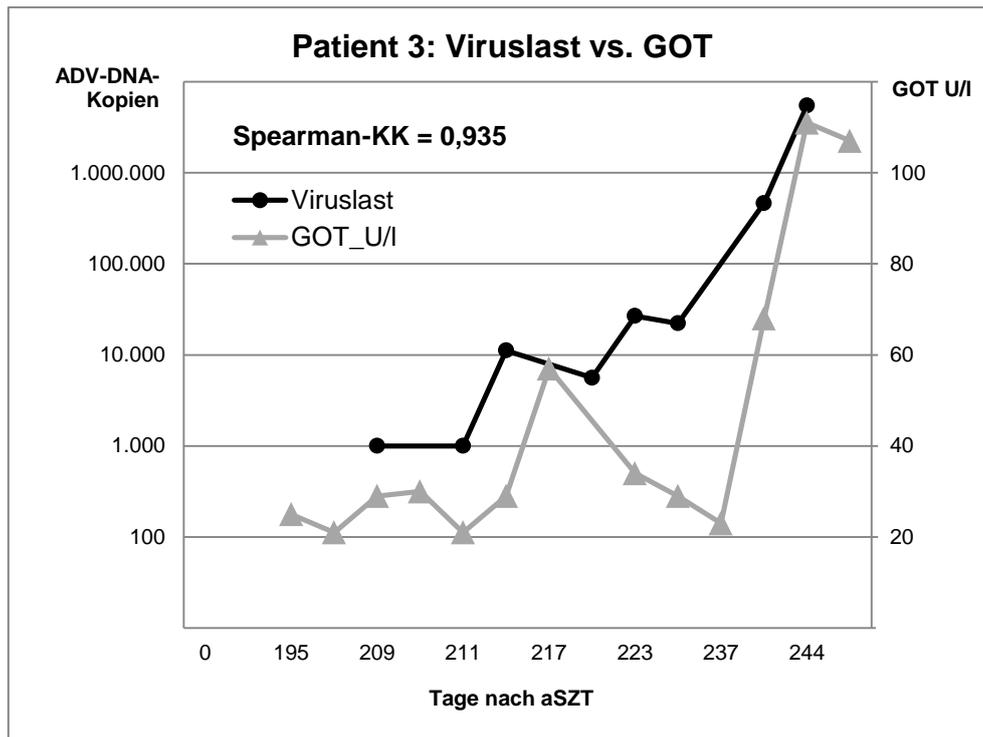


Abb. 34: Korrelation und Verlauf von Viruslast und GOT; Patient 3

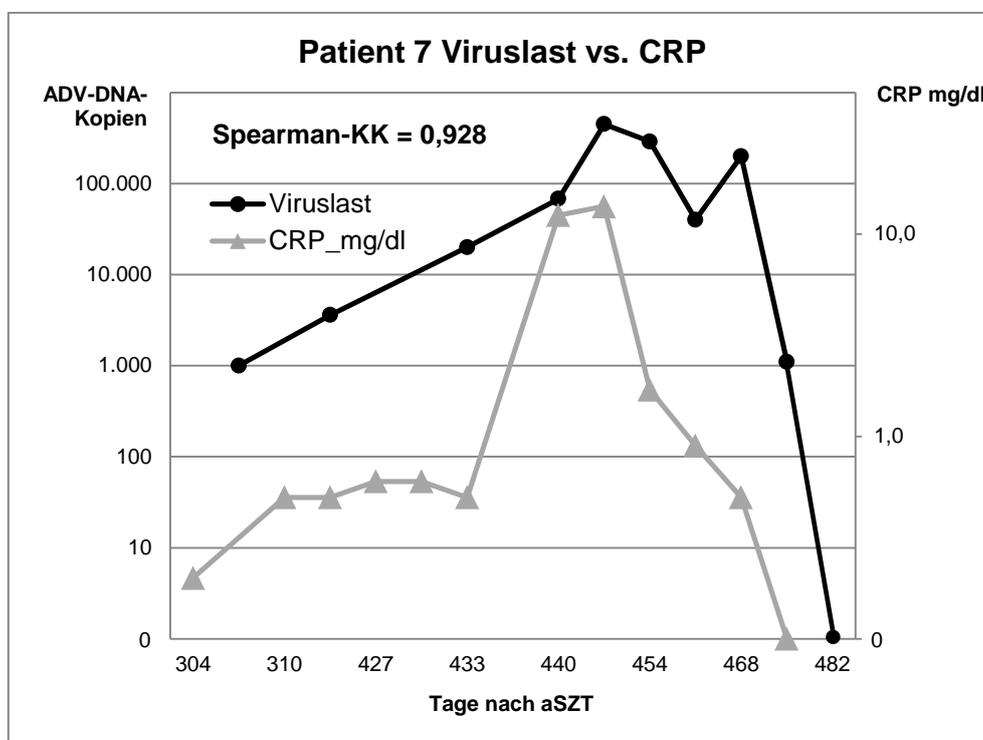


Abb. 35: Korrelation und Verlauf von Viruslast und CRP; Patient 7

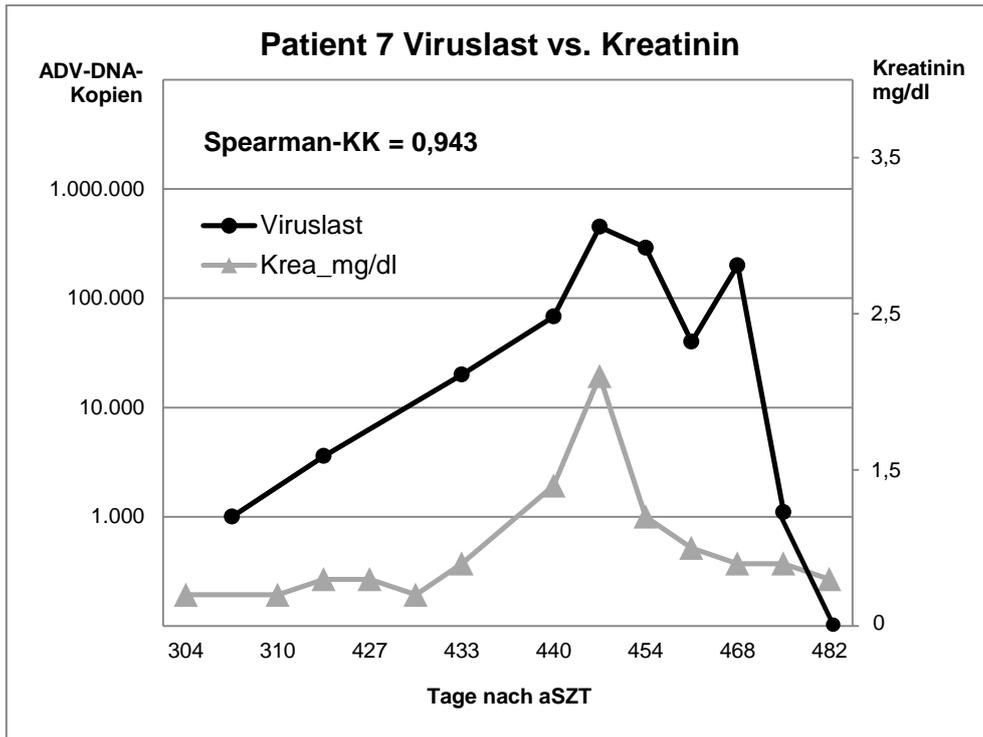


Abb. 36: Korrelation und Verlauf von Viruslast und Kreatinin; Patient 7

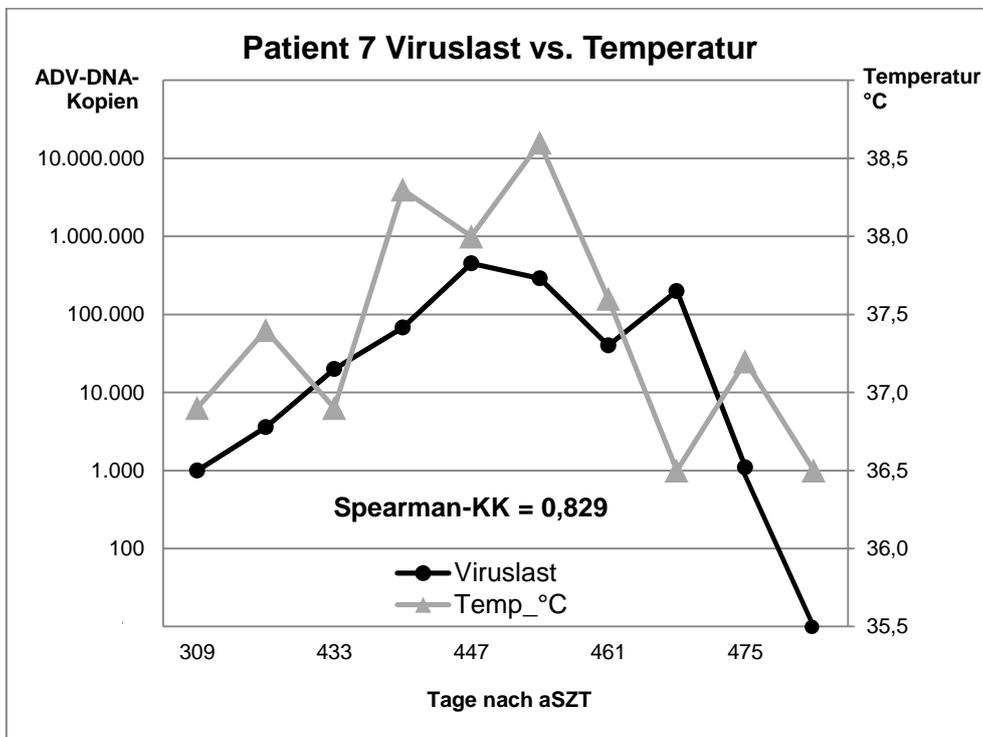


Abb. 37: Korrelation und Verlauf von Viruslast und Temperatur; Patient 7

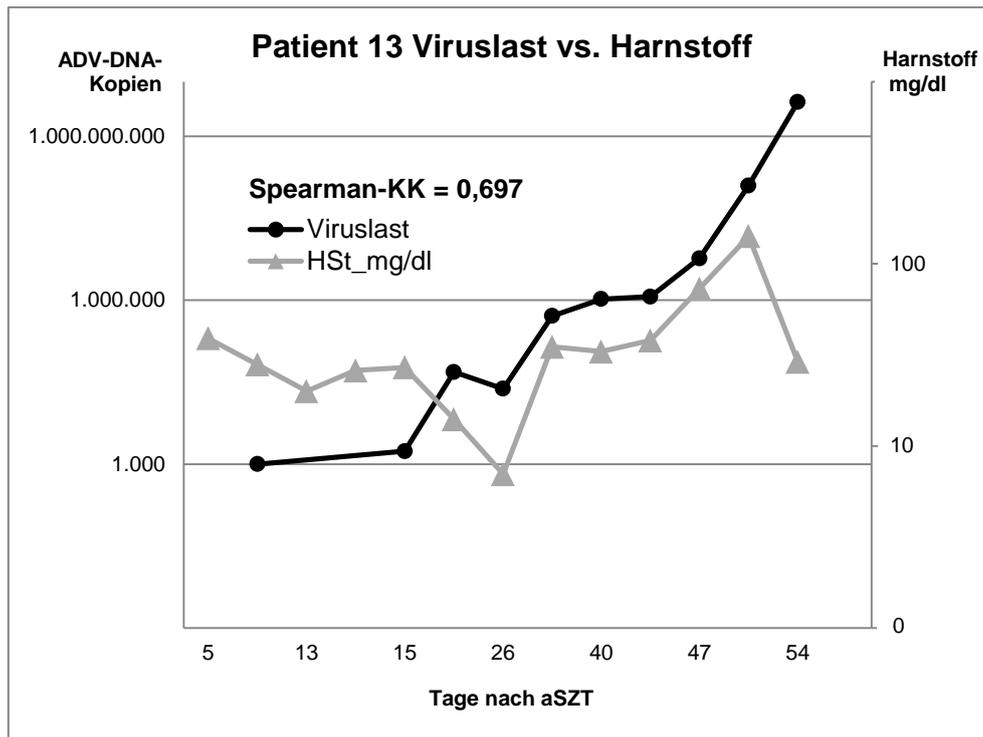


Abb. 38: Korrelation und Verlauf von Viruslast und Harnstoff; Patient 13

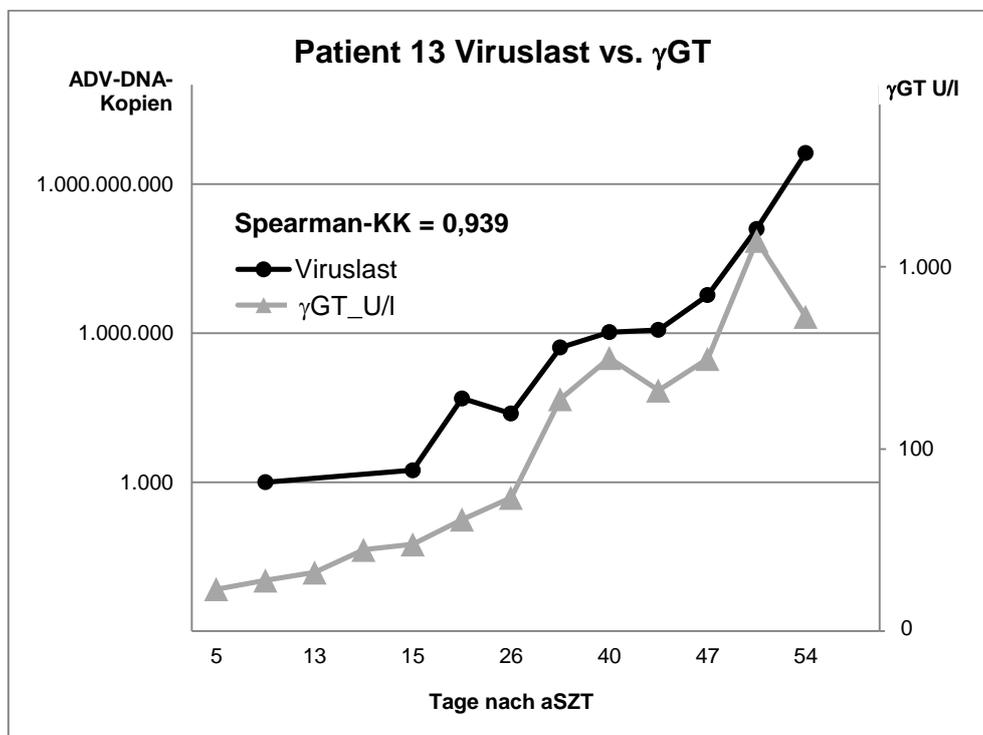


Abb. 39: Korrelation und Verlauf von Viruslast und γ GT; Patient 13

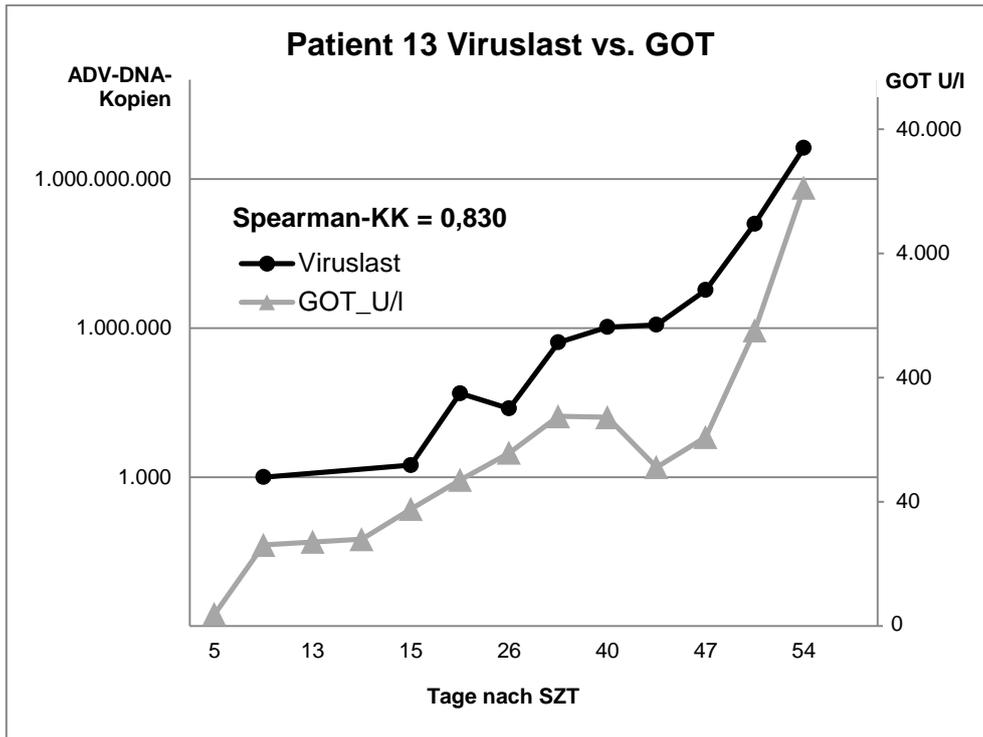


Abb. 40: Korrelation und Verlauf von Viruslast und GOT; Patient 13

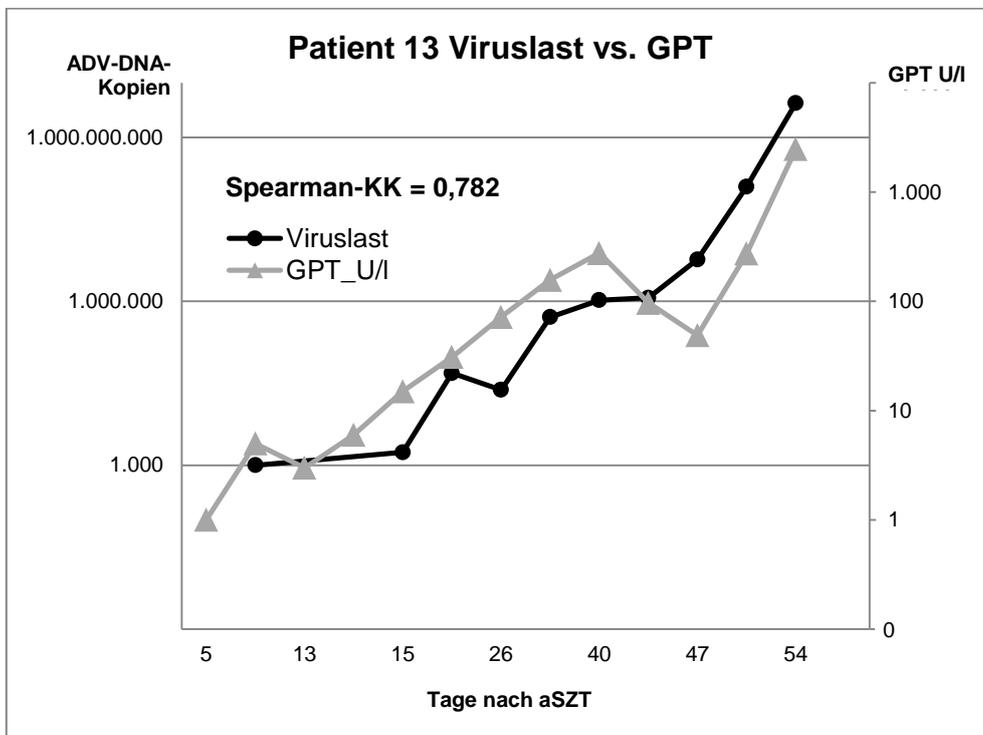


Abb. 41: Korrelation und Verlauf von Viruslast und GPT; Patient 13

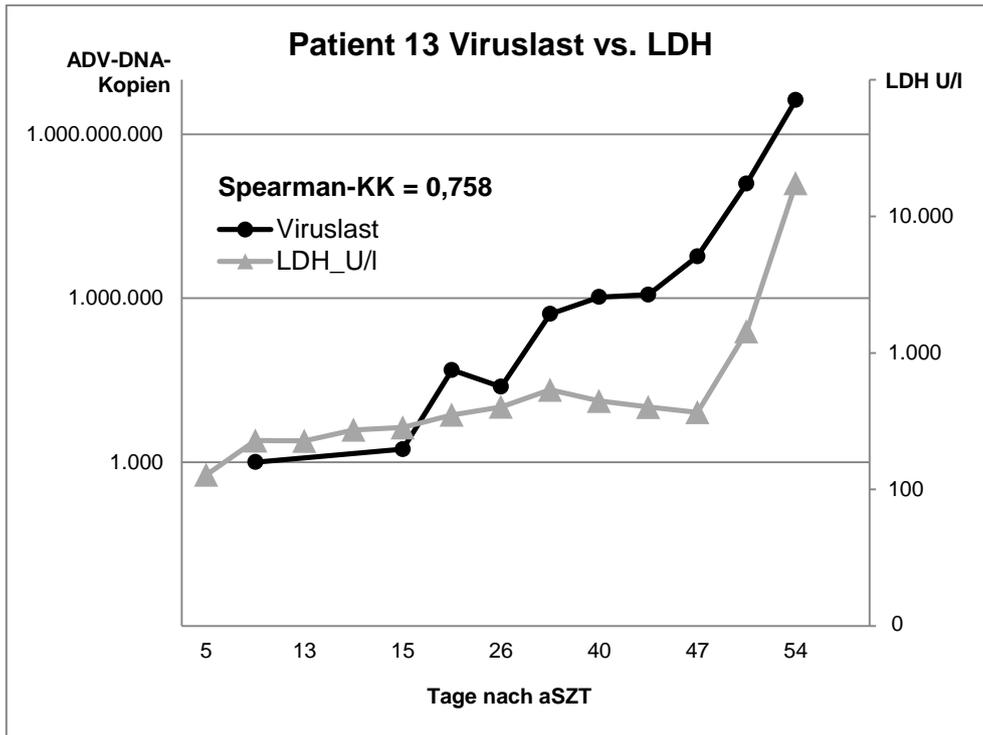


Abb. 42: Korrelation und Verlauf von Viruslast und LDH; Patient 13

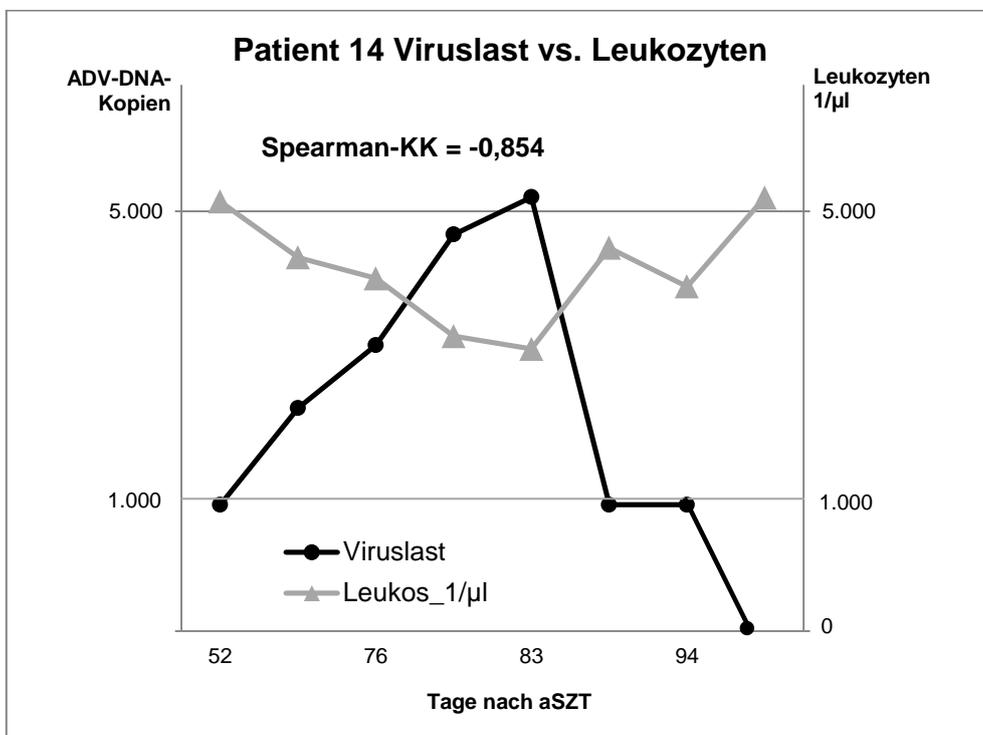


Abb. 43: Korrelation und Verlauf von Viruslast und Leukozytenzahl; Patient 14

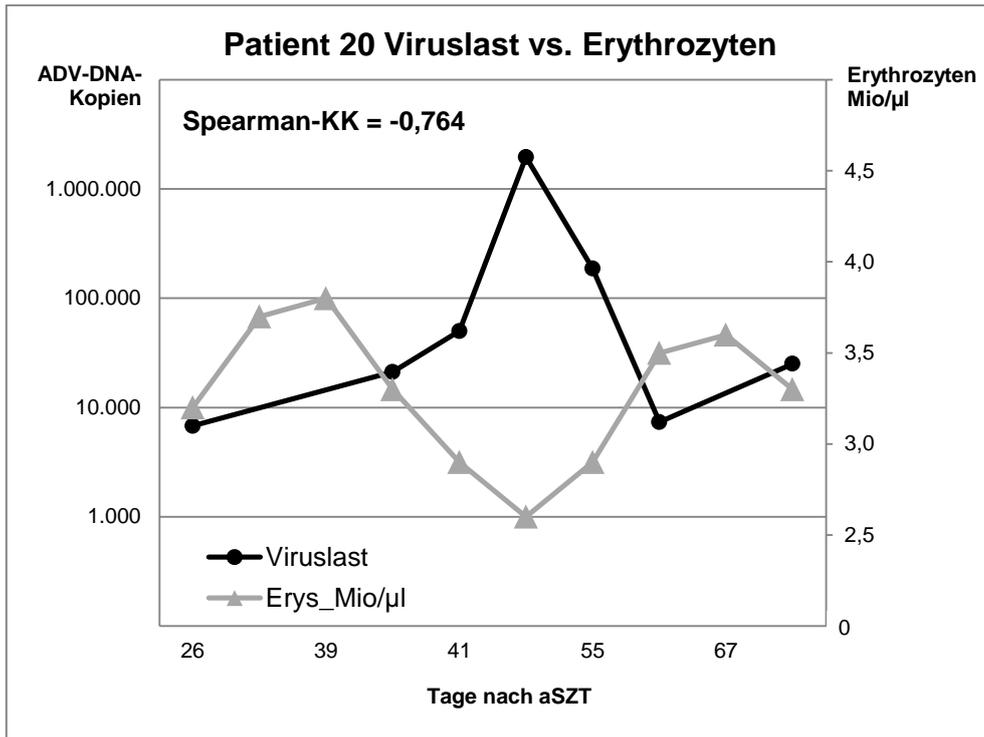


Abb. 44: Korrelation und Verlauf von Viruslast und Erythrozytenzahl; Patient 20

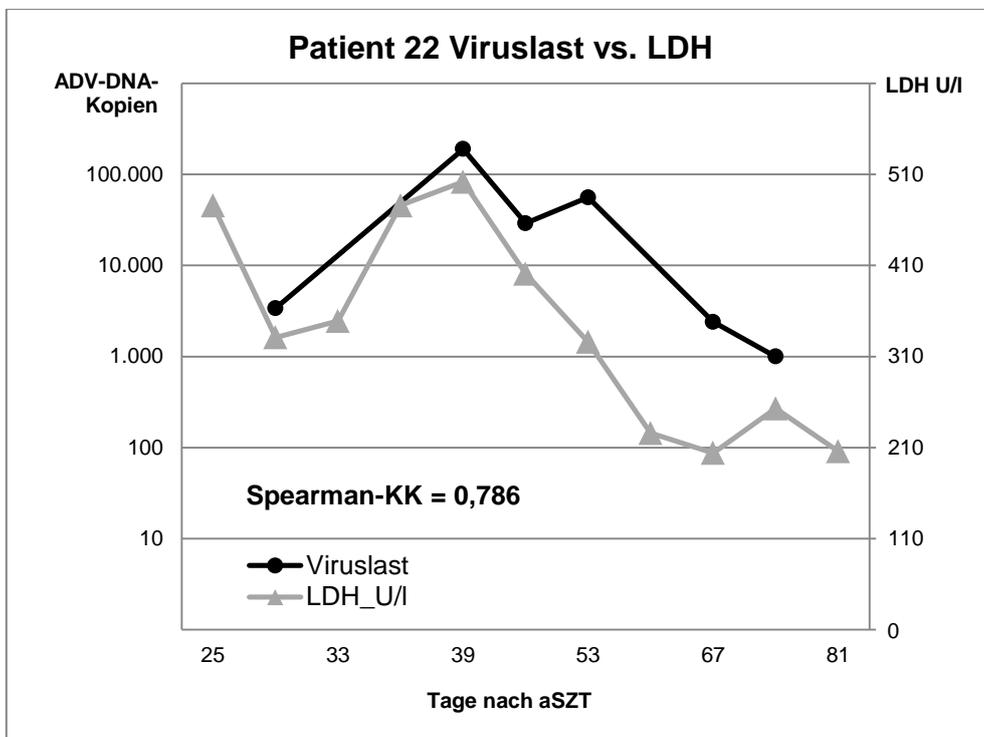


Abb. 45: Korrelation und Verlauf von Viruslast und LDH; Patient 22

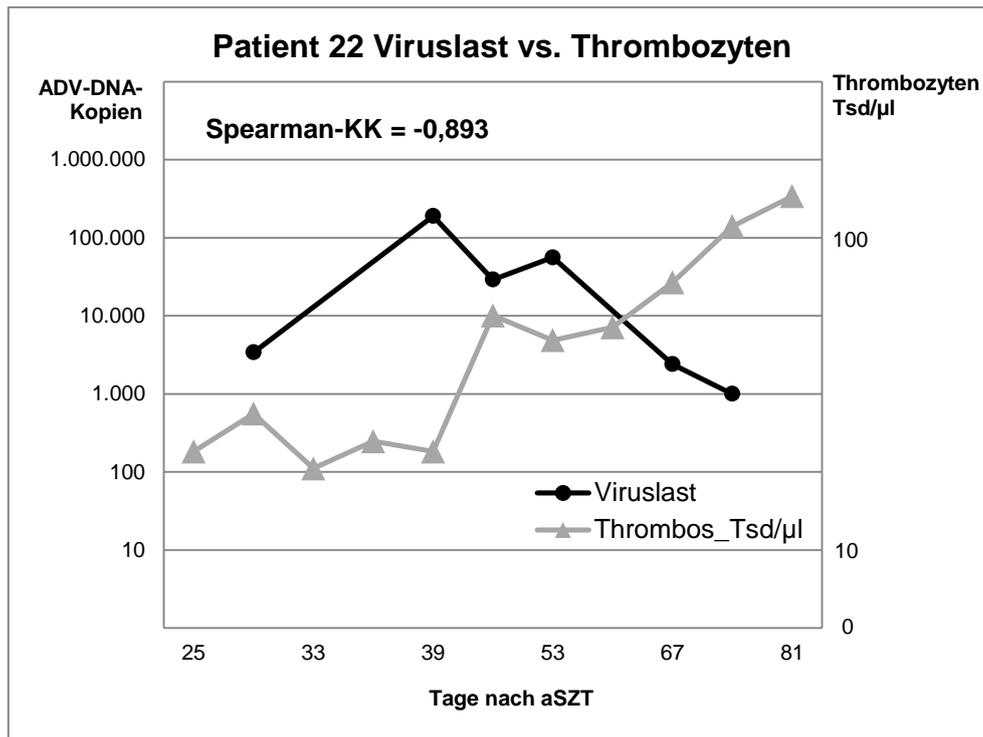


Abb. 46: Korrelation und Verlauf von Viruslast und Thrombozytenzahl; Patient 22

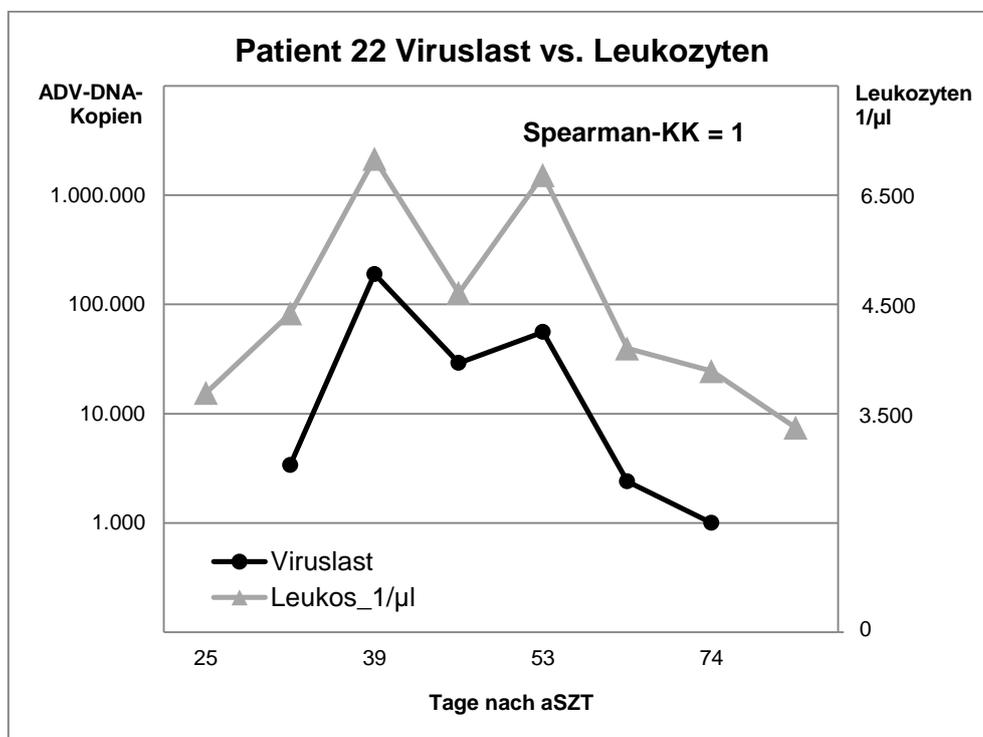


Abb. 47: Korrelation und Verlauf von Viruslast und Leukozytenzahl; Patient 22

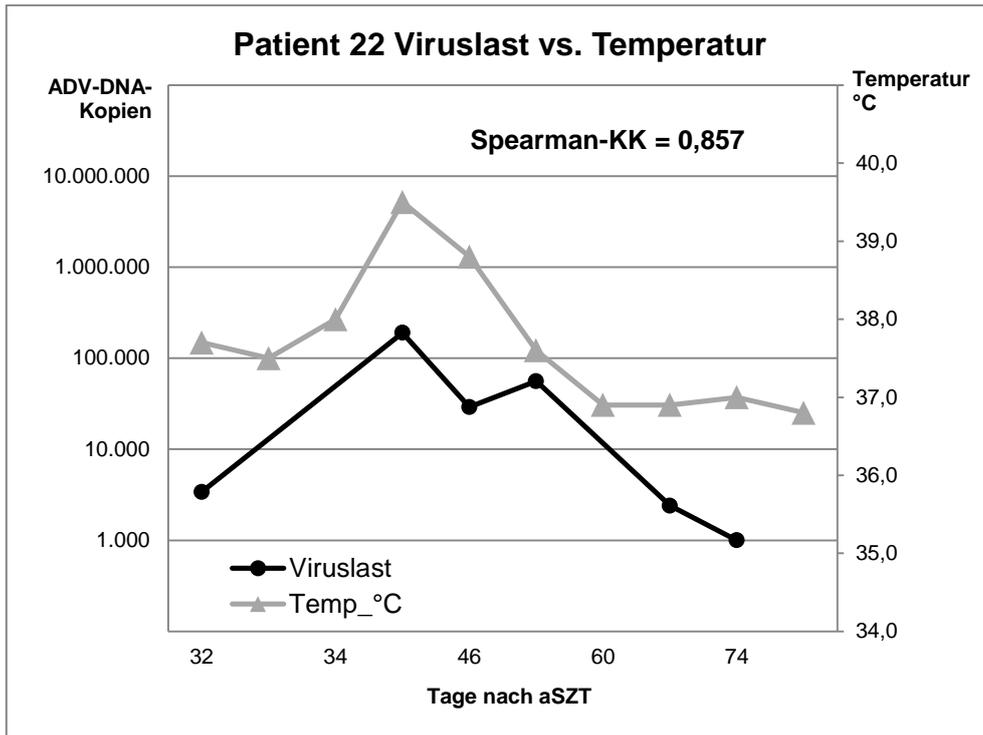


Abb. 48: Korrelation und Verlauf von Viruslast und Temperatur; Patient 22

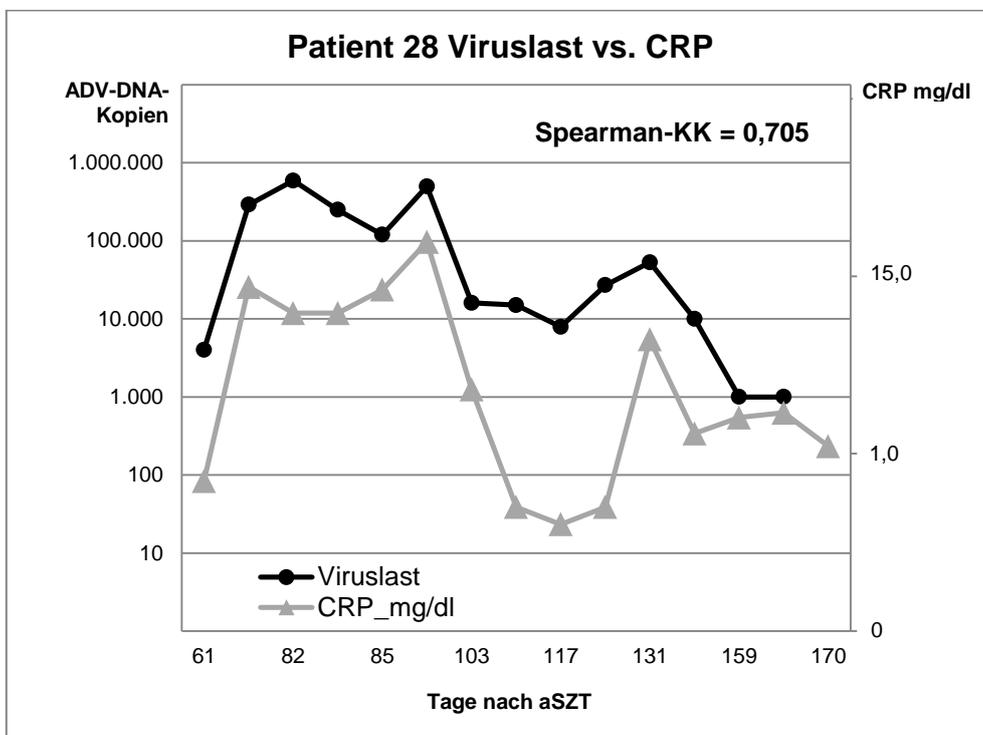


Abb. 49: Korrelation und Verlauf von Viruslast und CRP; Patient 28

3.3.4. Zusammenfassung der Ergebnisse der Korrelationsanalyse

Für den ersten Teil der Korrelationsanalyse (3.3.1.) kann festgehalten werden, dass signifikante Korrelationen zwischen Viruslast und CRP (0,582), Harnstoff (0,456), LDH (0,431) und Temperatur (0,425) bestehen. Es wurden somit stichprobenartig erhöhte Werte an ADV-DNA-Kopien im peripheren Blut vermehrt mit gleichzeitig erhöhten laborchemischen Parametern gemessen.

In der zusammenfassenden Analyse und Berechnung der Korrelationen für den Verlauf der Viruslast mit den jeweiligen Laborparametern während der einzelnen Infektionszeiträume der 24 auswertbaren Patienten (3.3.2.), zeigten sich hochsignifikante Korrelationen für die **LDH** (0,956), **GOT** (0,973) und **GPT** (0,961). Mit Ausnahme der Korrelation von Viruslast und LDH, ließen sich die weiteren signifikanten Korrelationen aus der Stichprobenanalyse 3.3.1. nicht auf den Gesamtverlauf des Infektionszeitraums übertragen.

Schließlich finden sich die hochsignifikanten Korrelationen des Gesamtkollektivs für die Viruslast und LDH, GOT und GPT aus 3.3.2. in den Verläufen der einzelnen Patienten aus 3.3.3 wieder:

- Patient Nr. 3: GOT 0,935 (vgl. Abb. 34)
- Patient Nr. 13: GOT 0,830; GPT 0,782; LDH 0,758 (vgl. Abb. 40-42)
- Patient Nr. 22: LDH 0,786 (vgl. Abb. 45)

Zusätzlich zu den laborchemischen Parametern LDH, GOT und GPT zeigten sich bei einzelnen Patienten signifikante Korrelationen weiterer Laborparameter mit der Viruslast. Diese sind γ GT, CRP, Kreatinin, Temperatur, Harnstoff, Leukozyten, Erythrozyten und Thrombozyten (siehe dazu Abb. 33-49).

3.4. Analyse der spezifischen antiviralen Therapie

Im folgenden Abschnitt des Ergebnisteils sind die verschiedenen Infektionszeiträume anhand der ADV-DNA-Kopien im zeitlichen Verlauf dargestellt. Darüber hinaus erfolgt die Angabe der Applikation der spezifischen antiviralen Therapie mit Cidofovir und ADV-spezifischen T-Zellen. Die parallel dazu verlaufende immunsuppressive Therapie mit Steigerung oder Senkung der Dosierung ist ebenfalls im unteren Diagrammbereich aufgetragen. Ziel dieser Darstellung ist es in erster Linie den therapeutischen Effekt der antiviralen Therapie mit Cidofovir zu beurteilen. Weiterhin kann damit auch eine mögliche Beeinflussung der antiviralen Therapie durch die gleichzeitig verabreichten Immunsuppressiva aufgezeigt werden. Insgesamt kam Cidofovir bei 31 von 33 Patienten als antivirale Therapiemaßnahme zum Einsatz, wovon 23 Patienten in diesem Ergebnisteil grafisch präsentiert werden. Sämtlichen folgenden Abbildungen 51-73, Seite 61ff dieses Ergebnisteils liegt folgende Legende (Abb. 50) zu Grunde:

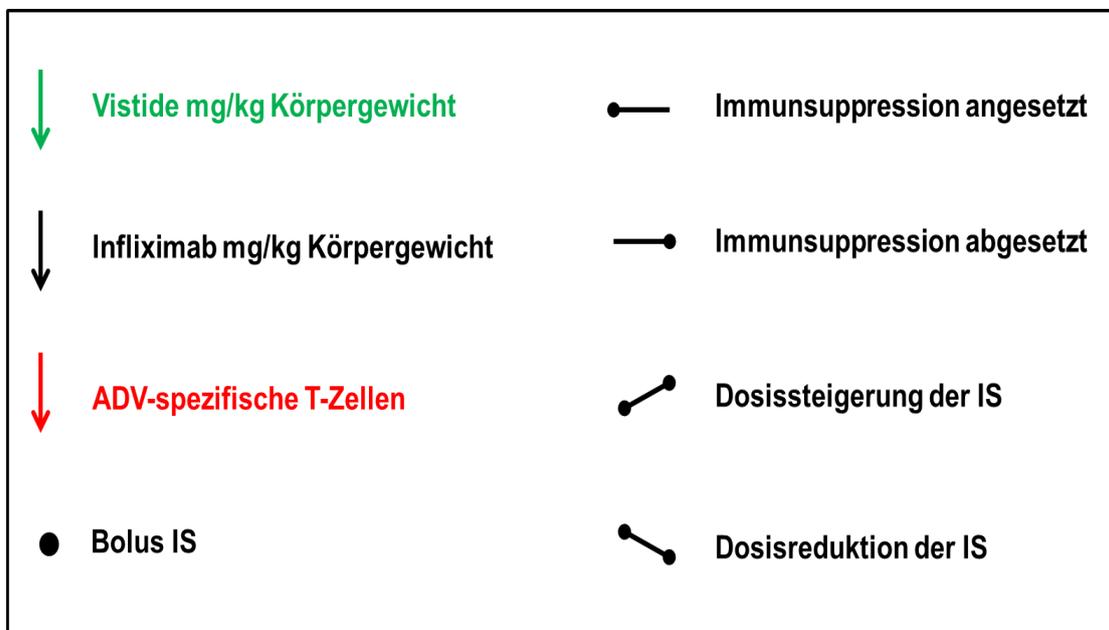


Abb. 50: Legende zu den Abbildungen 51 - 73; IS= Immunsuppression

3.4.1. Therapieerfolg von Cidofovir

In den folgenden Diagrammen wird eine Auswahl an Patienten präsentiert, bei denen durch therapeutischen Einsatz von Cidofovir und/oder ADV-spezifischen T-Zellen, die Viruslast im peripheren Blut der Patienten nach unterschiedlichen Therapiezeiträumen nicht mehr nachzuweisen war (= 0 ADV-DNA-Kopien).

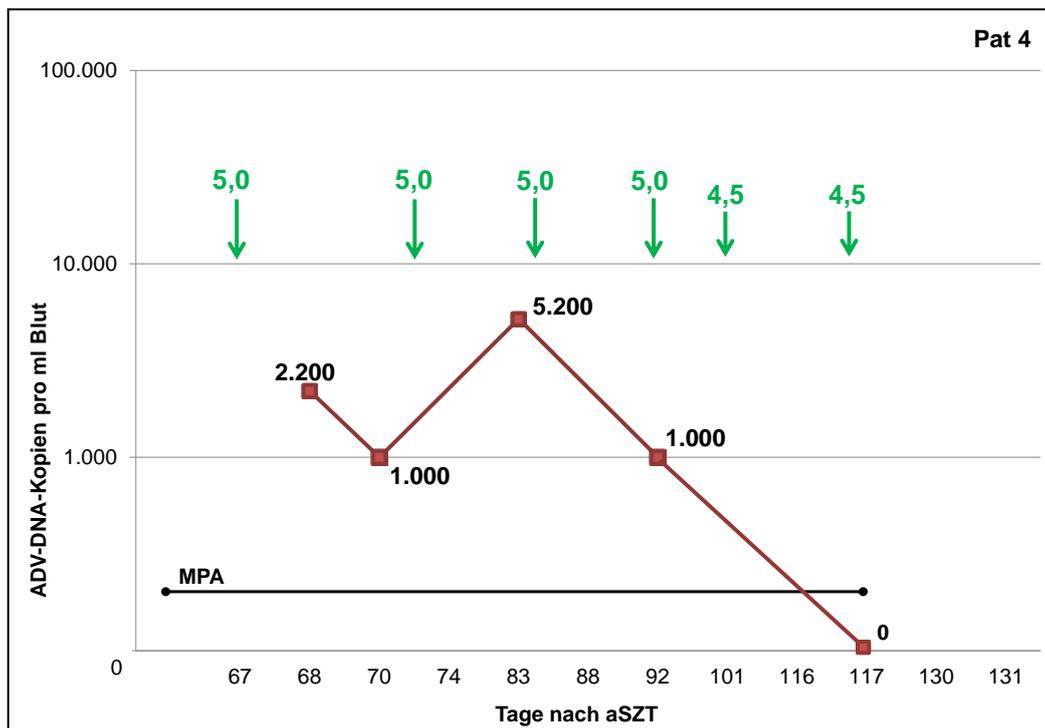


Abb. 51: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient Nr. 4; MPA = Mycophenolatmofetil

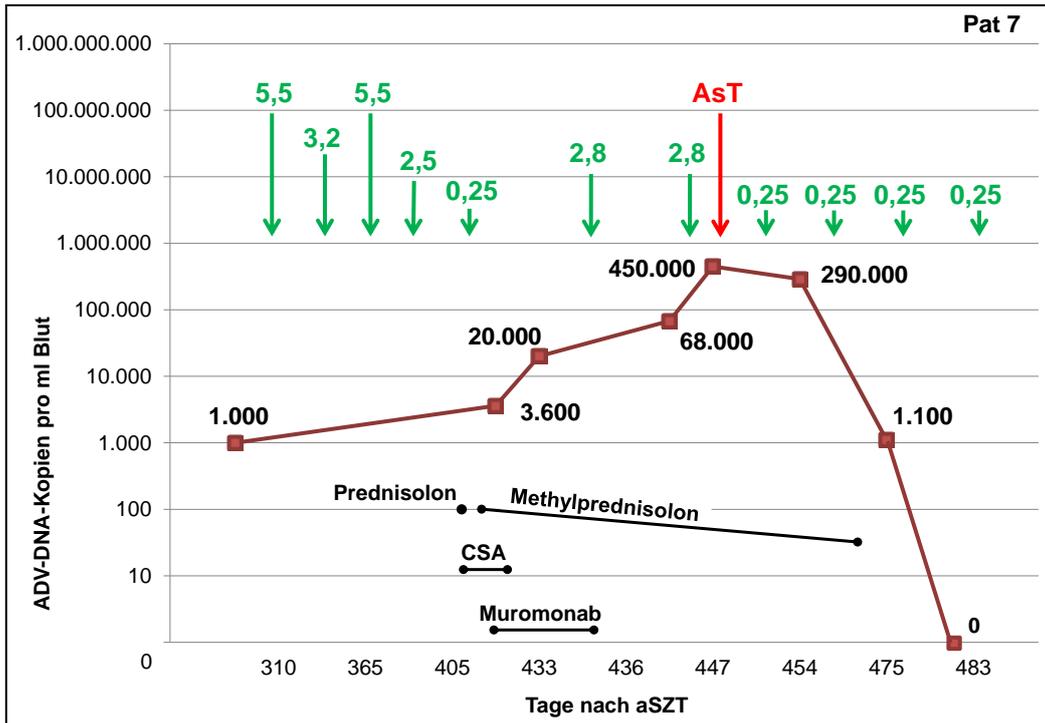


Abb. 52: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient Nr. 7; CSA = Ciclosporin A; AsT = ADV-spezifische T-Zellen

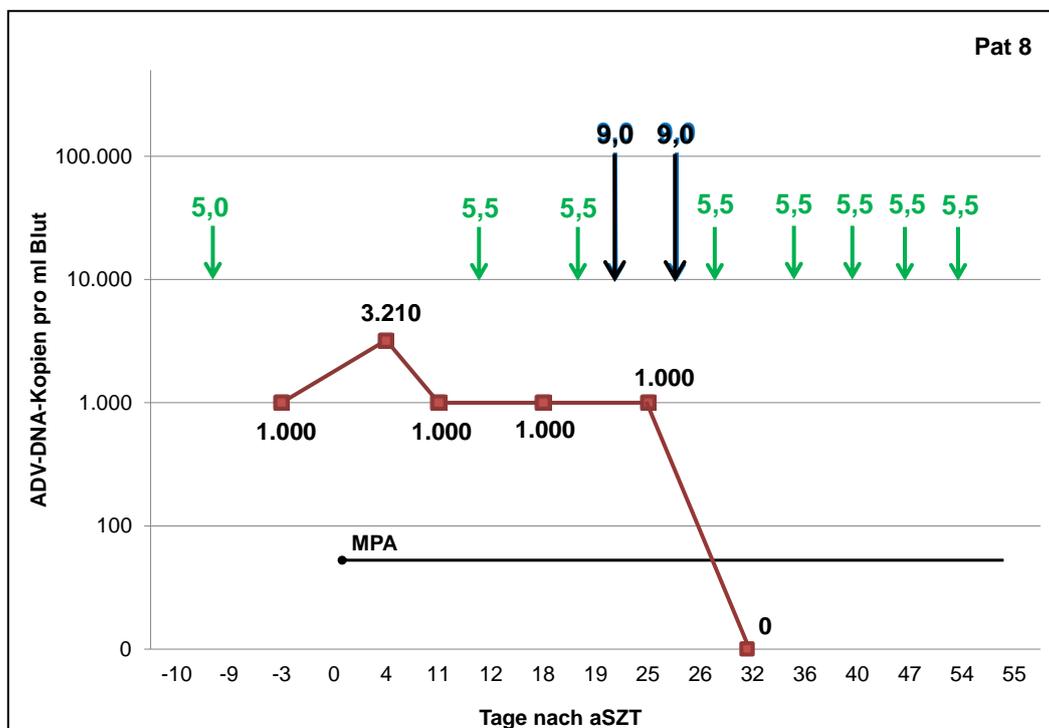


Abb. 53: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 8; MPA = Mycophenolatmofetil

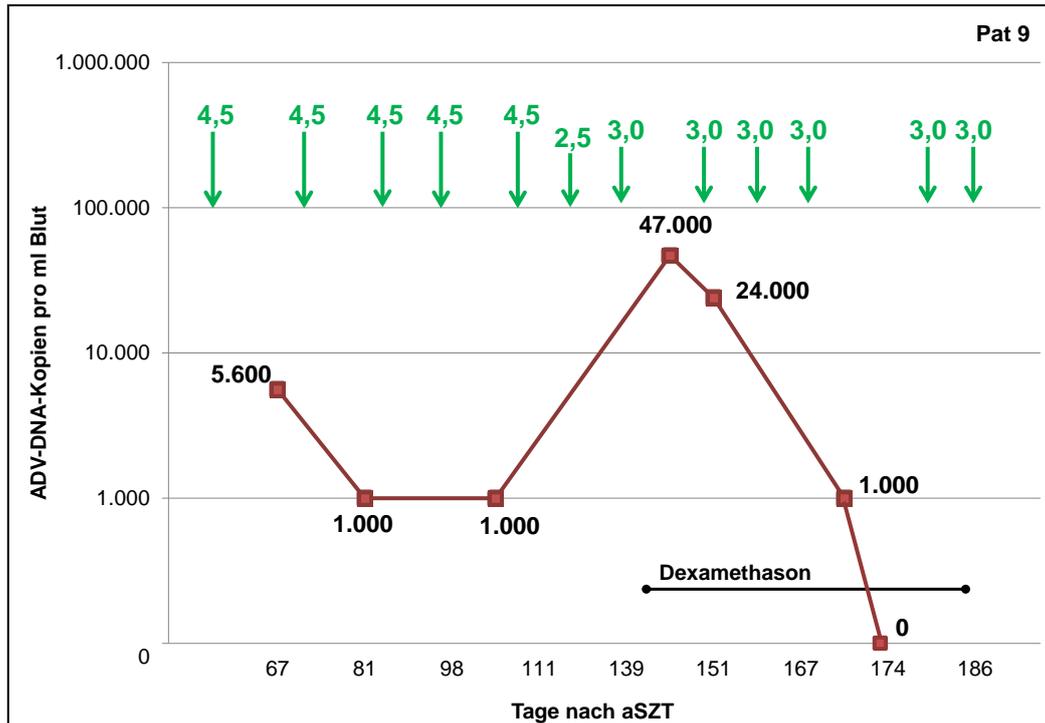


Abb. 54: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 9

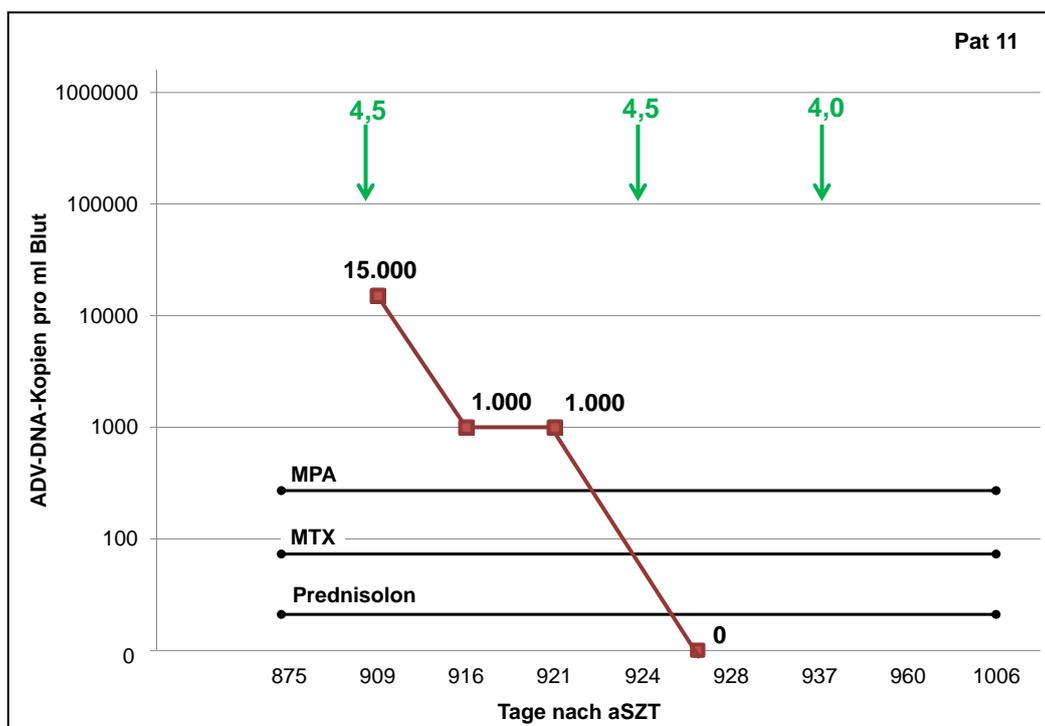


Abb. 55: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 11; MPA = Mycophenolatmofetil; MTX = Methotrexat

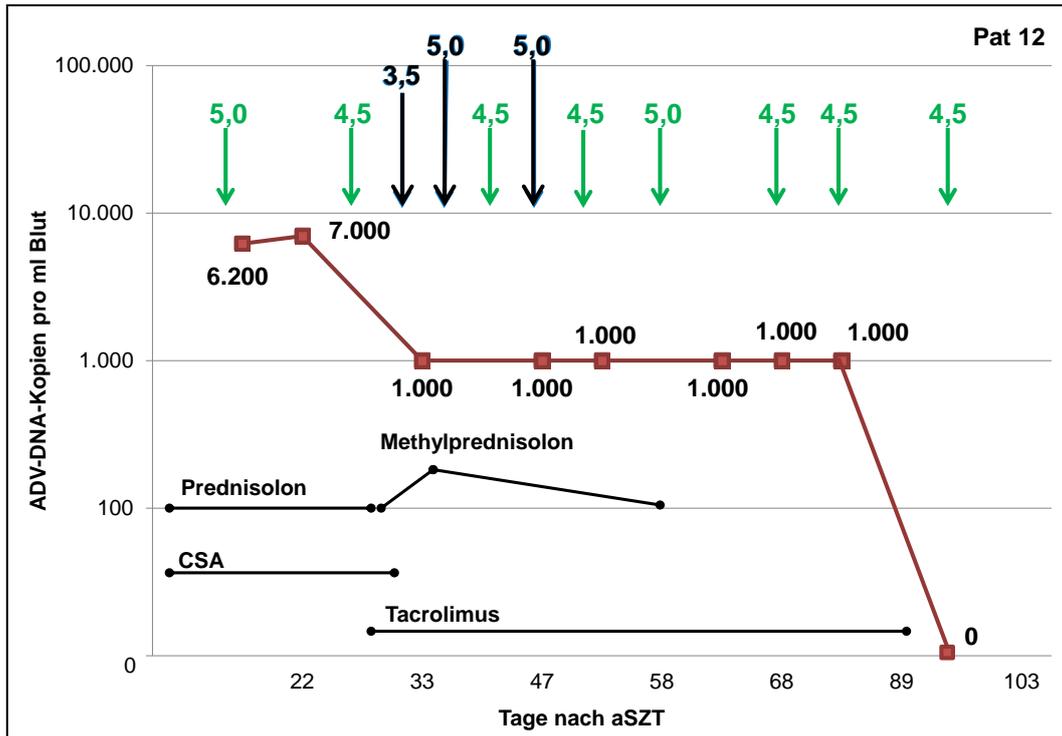


Abb. 56: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 12; CSA = Ciclosporin A

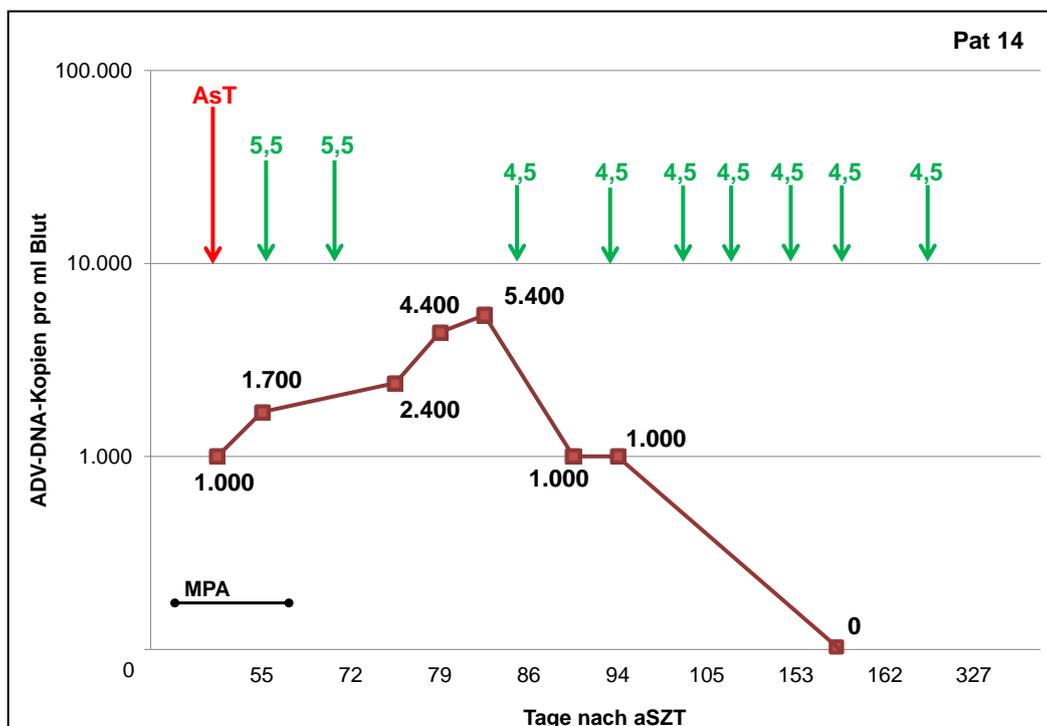


Abb. 57: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 14; MPA = Mycophenolatmofetil; AsT = ADV-spezifische T-Zellen

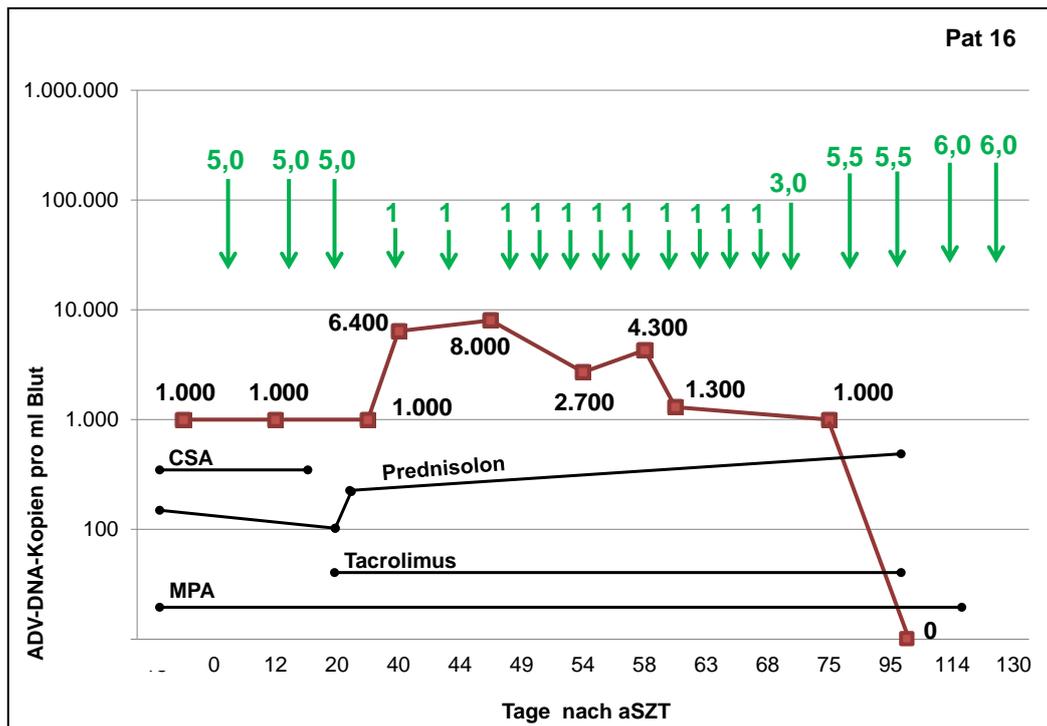


Abb. 58: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 16; MPA = Mycophenolatmofetil; CSA = Ciclosporin A

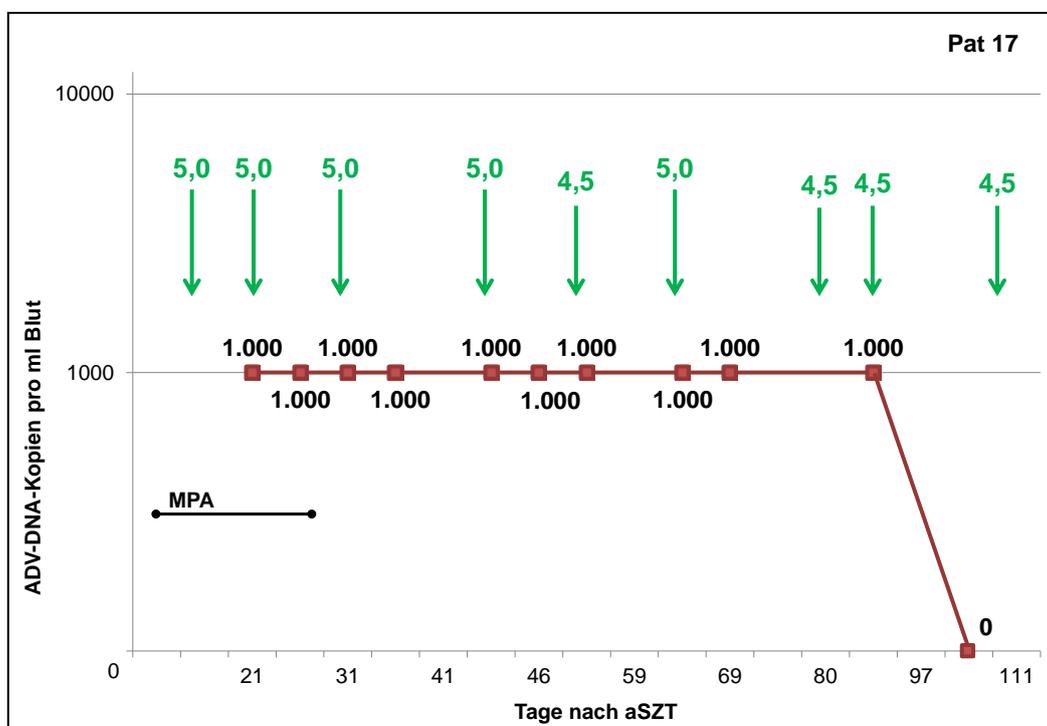


Abb. 59: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 17; MPA = Mycophenolatmofetil

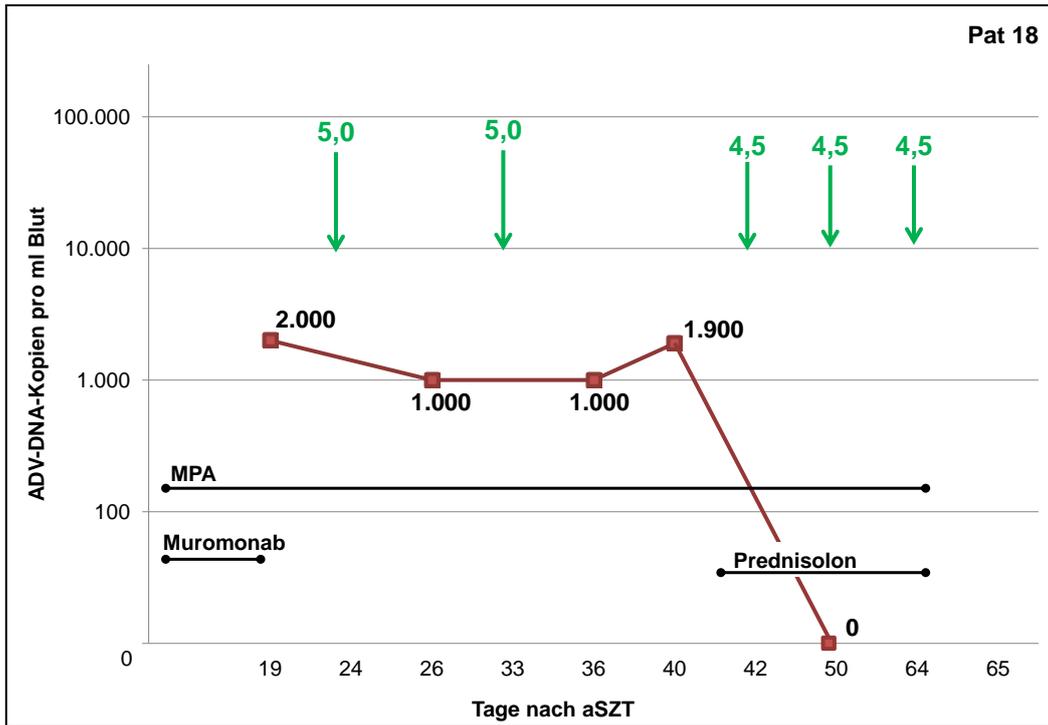


Abb. 60: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 18; MPA = Mycophenolatmofetil

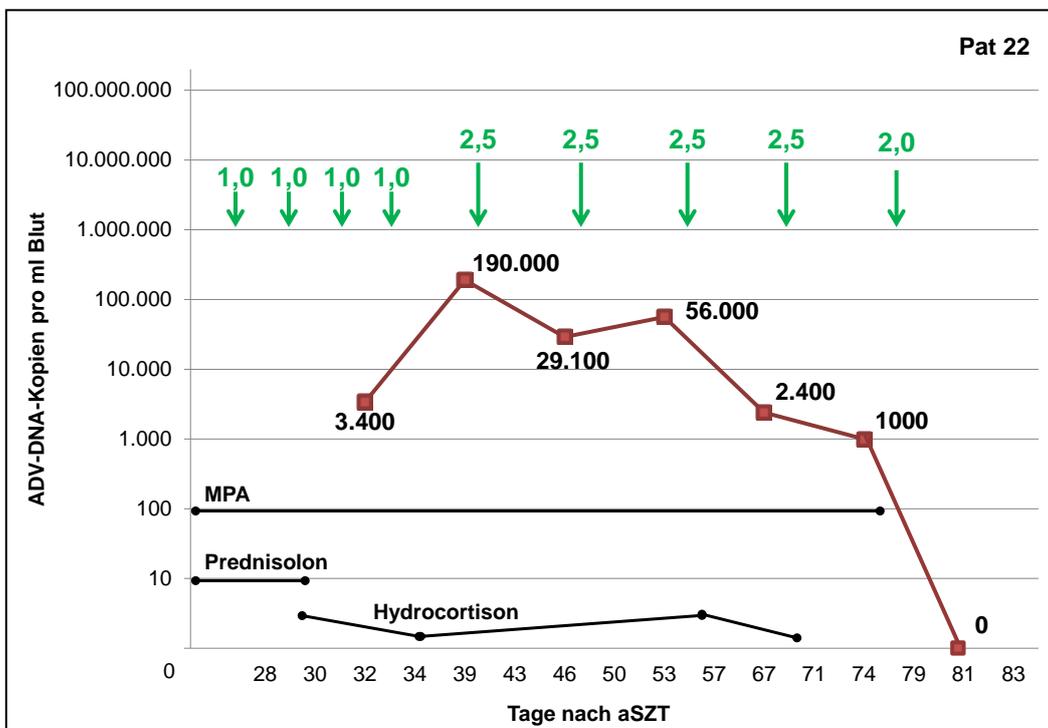


Abb. 61: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 22; MPA = Mycophenolatmofetil

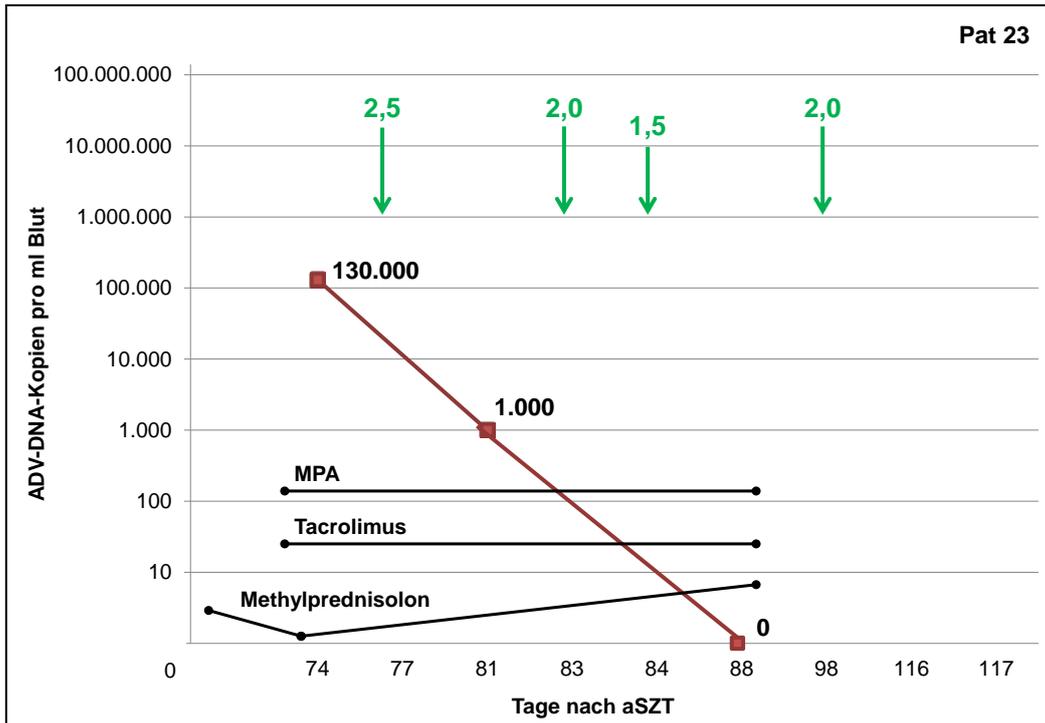


Abb. 62: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 23; MPA = Mycophenolatmofetil

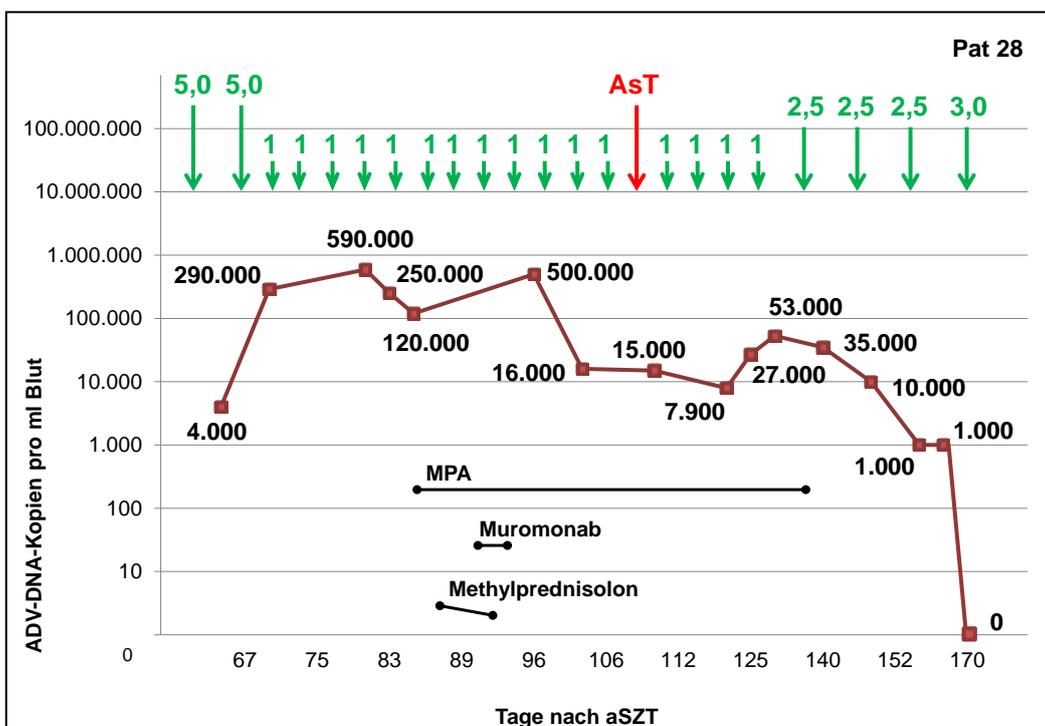


Abb. 63: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 28; MPA = Mycophenolatmofetil; AsT = ADV-spezifische T-Zellen

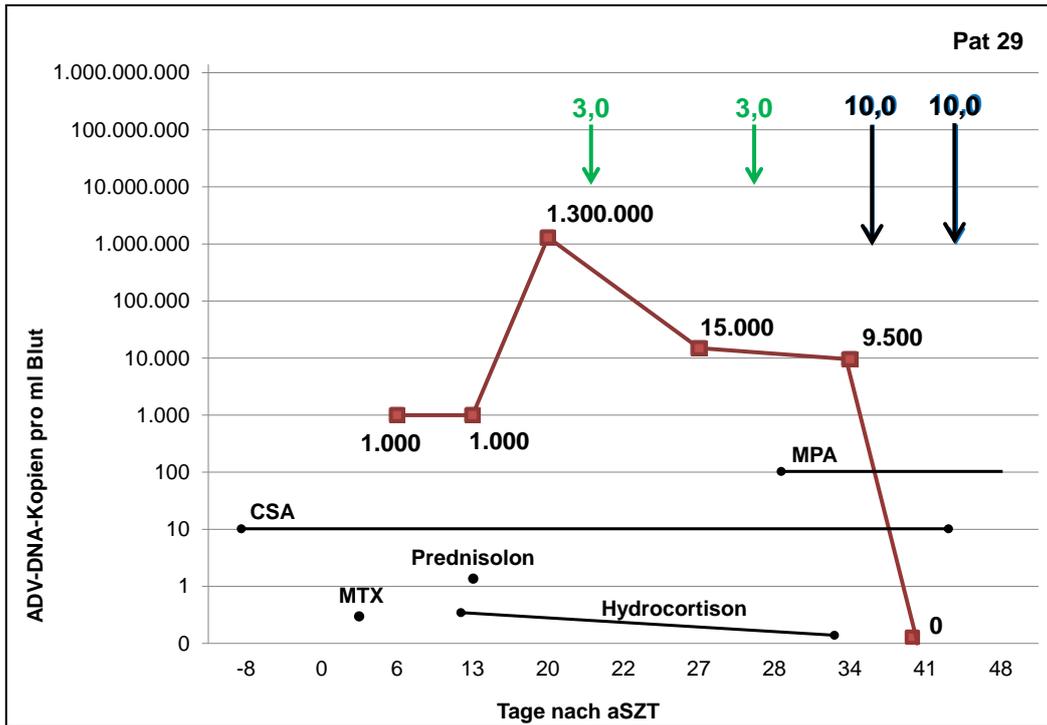


Abb. 64: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 29; MPA = Mycophenolatmofetil; CSA = Ciclosporin A; MTX = Methotrexat

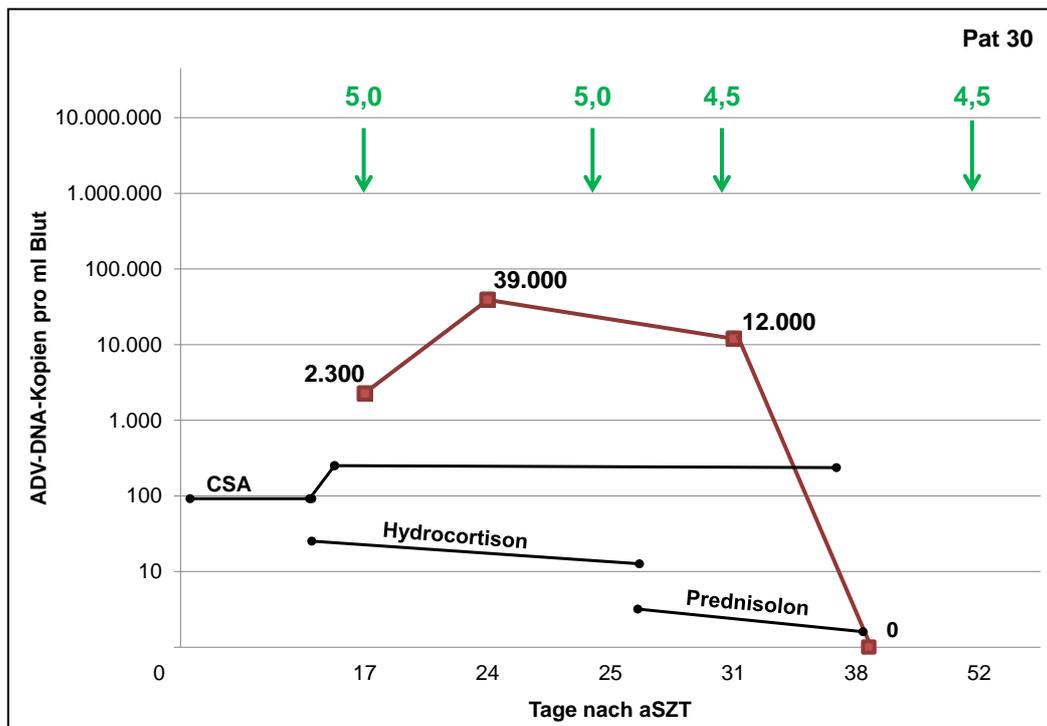


Abb. 65: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 30; CSA = Ciclosporin A

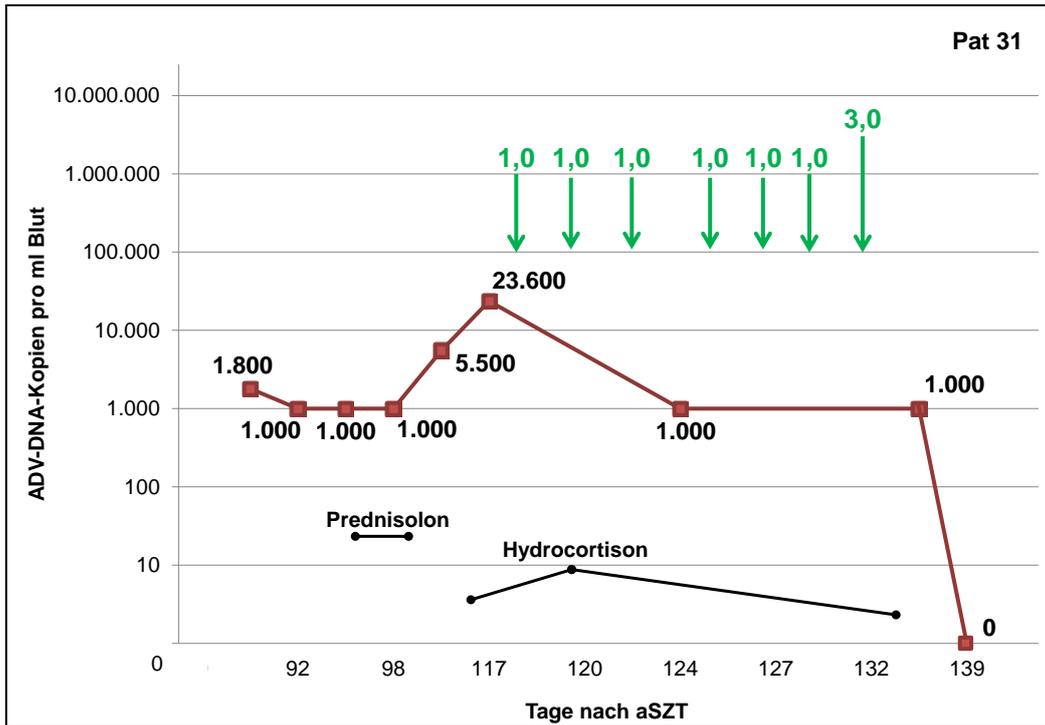


Abb. 66: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 31

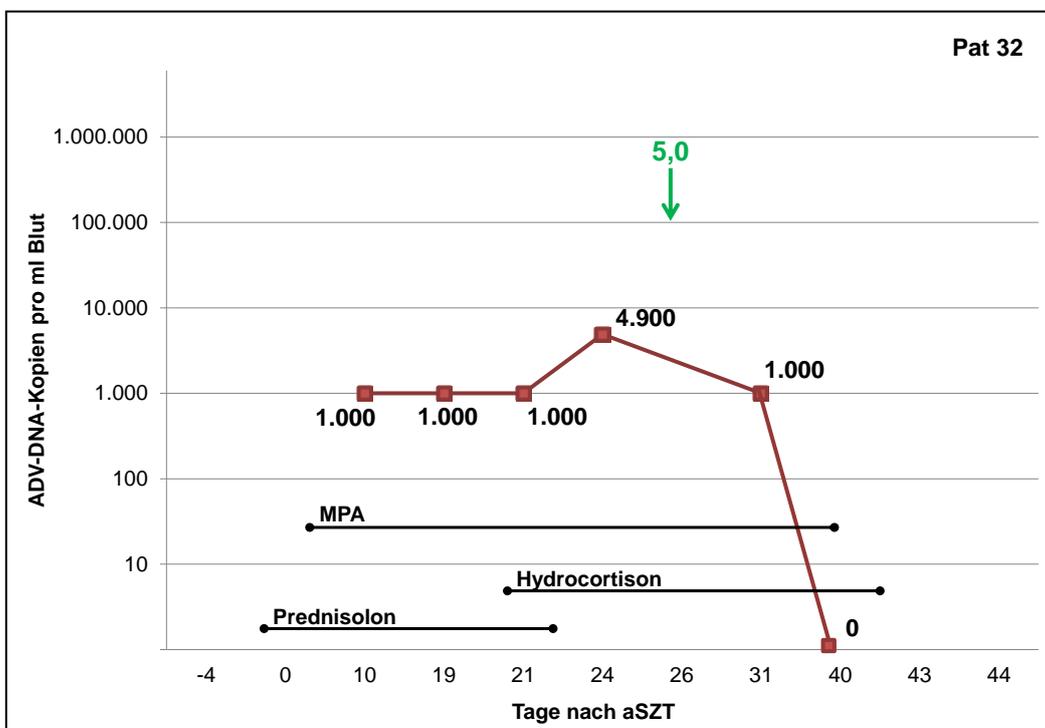


Abb. 67: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 32; MPA = Mycophenolatmofetil

3.4.2. Verstorbene Patienten mit ADV-DNA-Nachweis

Die folgenden Diagramme zeigen sämtliche Patienten, die während des ADV-positiven Infektionszeitraums und unter laufender Therapie mit Cidofovir und/oder ADV-spezifischen T-Zellen verstorben sind, noch bevor eine Negativbestimmung der Viruslast erfolgen konnte. Zur besseren Risikoabschätzung der Patienten werden zusätzliche Informationen aus der Krankenakte vorangestellt.

Patient Nr. 1

- **Hauptdiagnose:** Akute lymphatische Leukämie
- **Transplantation:** Stammzellen (SZ) eines HLA-identen Fremdspenders
- **GvHD:** Darm WHO Grad IV
- **Zusätzliche Virusinfektionen:** CMV-Reaktivierung, BK-Virus im Urin, Parvovirus B19
- **Todesursache:** Multiorganversagen

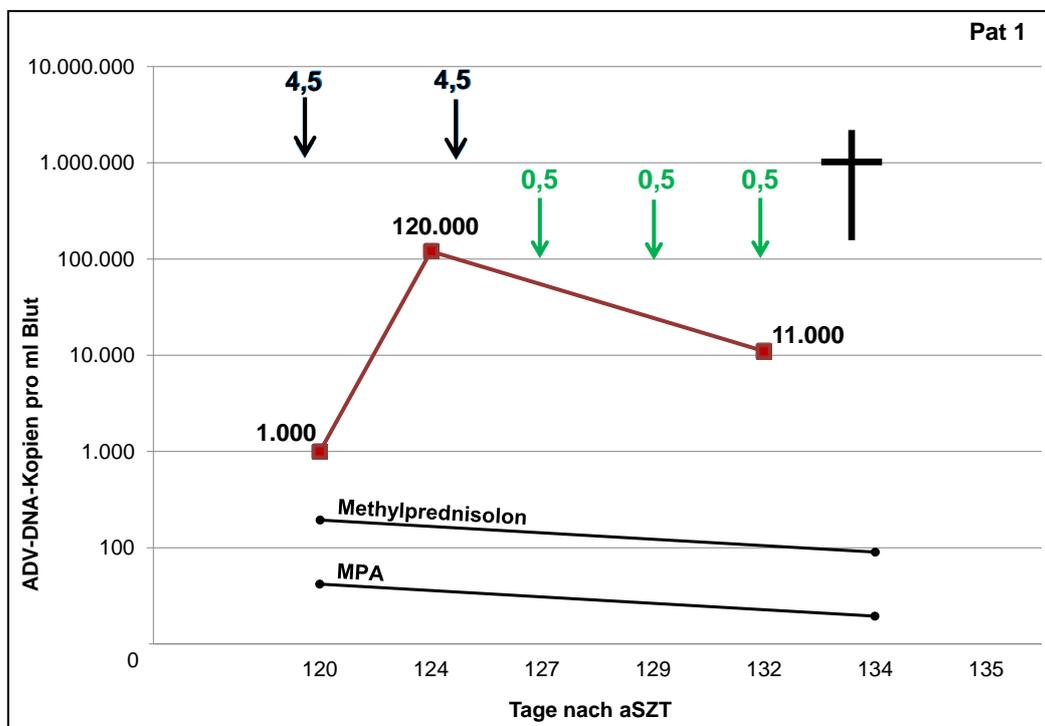


Abb. 68: Viruslast und medikamentöse Therapie; Patient 1; MPA = Mycophenolatmofetil

Patient Nr. 3

- **Hauptdiagnose:** Myelodysplastisches Syndrom
- **1. Transplantation:** SZ der HLA-identen Schwester
- **2. Transplantation:** SZ des haploidenten Vaters; T-Zell-depletiert
- **GvHD:** Darm WHO Grad III
- **Zusätzliche Virusinfektionen:** keine
- **Todesursache:** Multiorganversagen

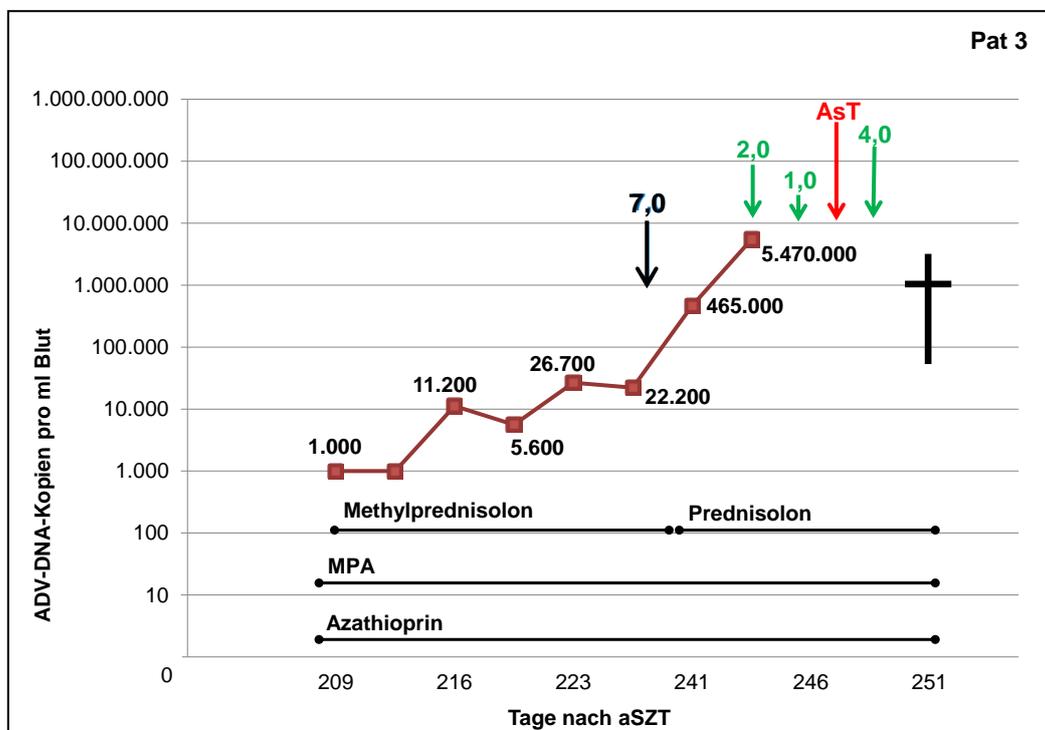


Abb. 69: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 3; MPA = Mycophenolatmofetil; AsT = ADV-spezifische T-Zellen

Patient Nr. 13

- **Hauptdiagnose:** Hepatoblastom mit Komponenten eines Hepatozellulären Karzinoms (HCC) St. IV
- **Transplantation:** SZ des haploidenten Vaters; T-Zell-depletiert
- **GvHD:** Darm WHO Grad I
- **Zusätzliche Virusinfektionen:** keine
- **Todesursache:** Multiorganversagen

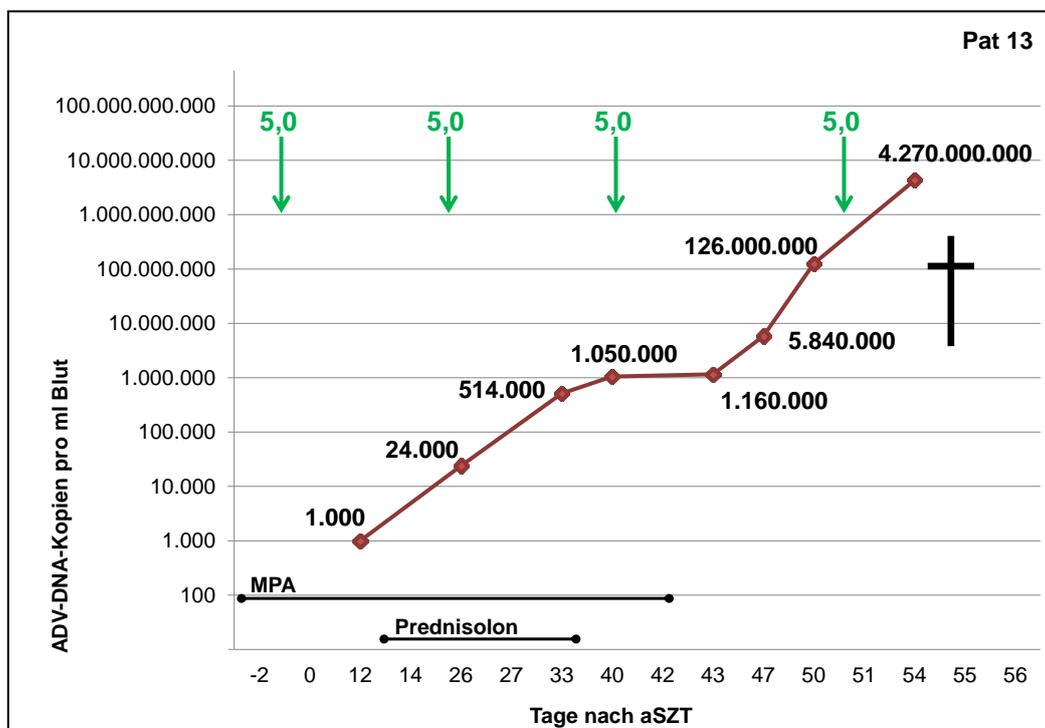


Abb. 70: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 13; MPA = Mycophenolatmofetil

Patient Nr. 20

- **Hauptdiagnose:** Akute myeloische Leukämie
- **Transplantation:** SZ der haploidenten Mutter; T- und B-Zell-depletiert
- **GvHD:** keine
- **Zusätzliche Virusinfektionen:** HHV-6; BK-Virus im Urin
- **Todesursache:** Multiorganversagen

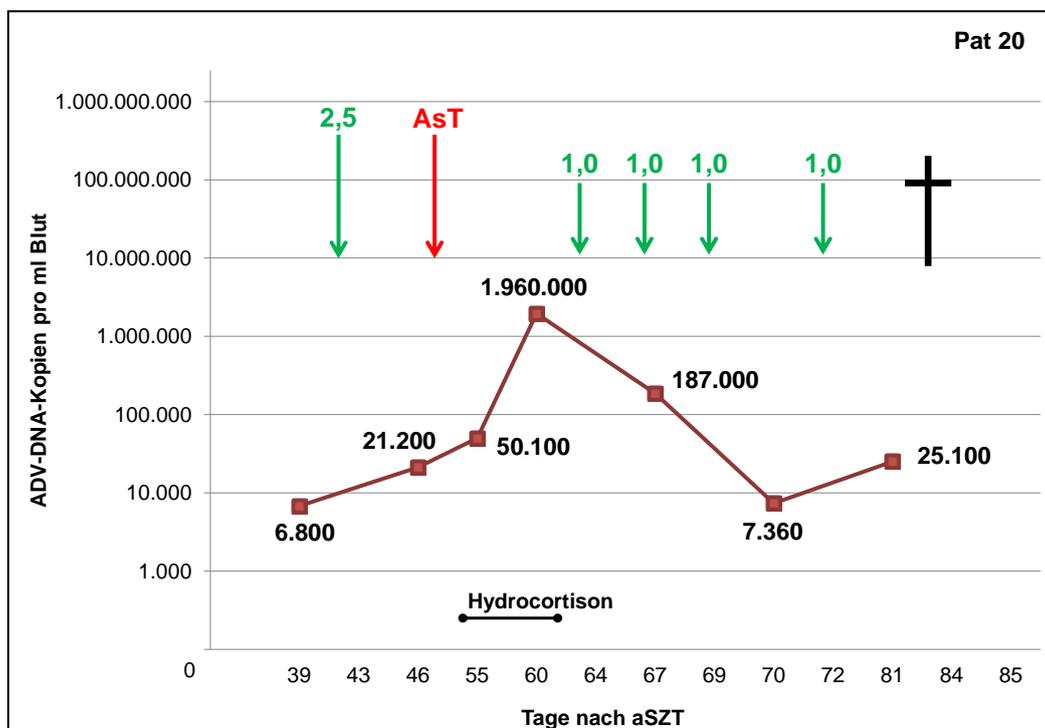


Abb. 71: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 20; AsT = ADV-spezifische T-Zellen

Patient Nr. 24

- **Hauptdiagnose:** HLA Klasse II Immundefekt
- **1. Transplantation:** SZ des haploidenten Vaters; T-Zell-depletiert
- **2. Transplantation:** SZ des haploidenten Vaters; T-Zell-depletiert
- **GvHD:** keine
- **Zusätzliche Virusinfektionen:** BK-Virus im Urin; EBV; Norovirus
- **Todesursache:** Sepsis und Kreislaufversagen

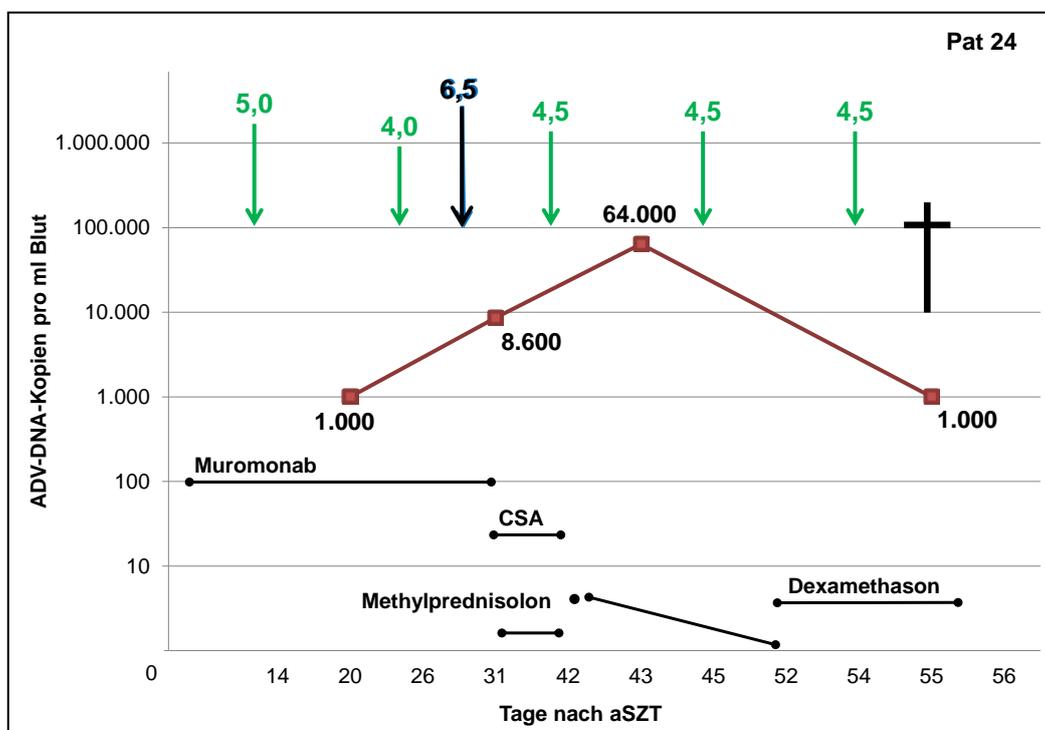


Abb. 72: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 24; CSA = Ciclosporin A

Patient Nr. 26

- **Hauptdiagnose:** Neuroblastom Stadium IV
- **1. Transplantation:** SZ eines HLA-identen Fremdspenders
- **2. Transplantation:** SZ eines HLA-identen Fremdspenders
- **GvHD:** ZNS
- **Zusätzliche Virusinfektionen:** BK-Virus im Urin
- **Todesursache:** Sepsis

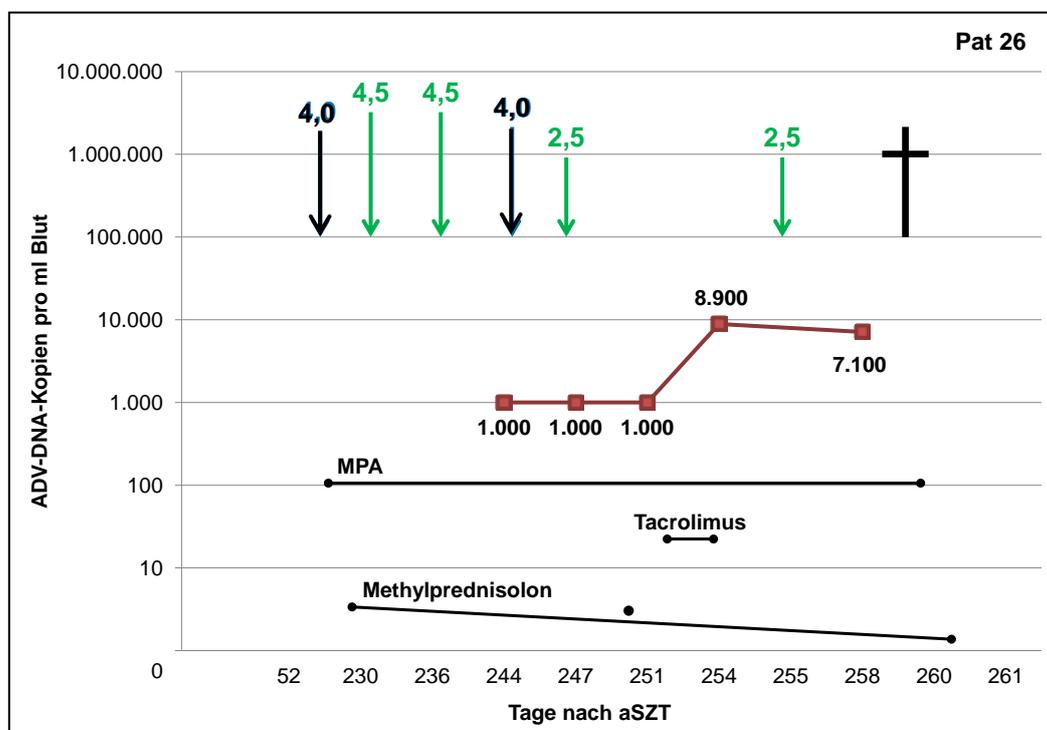


Abb. 73: Viruslast und medikamentöse Therapie, Patient 26; MPA = Mycophenolatmofetil

3.4.3. Zusammenfassung der Ergebnisse der Therapie mit Cidofovir und ADV-spezifischen T-Zellen

Insgesamt wurden 25 von 31 Patienten (entsprechend 81%) durch den therapeutischen Einsatz des Virustatikums Cidofovir geheilt, was per Definitionem eine Viruslast von „0“ ADV-DNA-Kopien im peripheren Blut, gemessen mit dem Verfahren der Echtzeit-PCR, bedeutet. Im Durchschnitt kam es dabei nach 44 Tagen nach Beginn der antiviralen Therapie mit Cidofovir zur Senkung der Viruslast auf nicht mehr nachweisbare Werte. Bei 6 Patienten trat der Tod noch während des ADV-DNA-positiven Zeitraums auf. Hierbei ist besonders hervorzuheben, dass diese Patienten kurz vor ihrem Versterben die höchsten gemessenen Viruslasten des Gesamtkollektivs aufwiesen. Zusätzlich zur Therapie mit Cidofovir erhielten 5 Patienten ADV-spezifische T-Zellen, von denen wiederum 2 Patienten verstarben. Die graphische Darstellung des Therapieerfolgs von Cidofovir und der zuletzt gemessenen Viruslast der verstorbenen Patienten kurz vor ihrem Tod findet sich auf folgenden Abbildungen 74 und 75. Bei 2 Patienten limitierte sich die ADV-Infektion von selbst, ohne die Gabe von Cidofovir oder ADV-spezifischer T-Zellen.

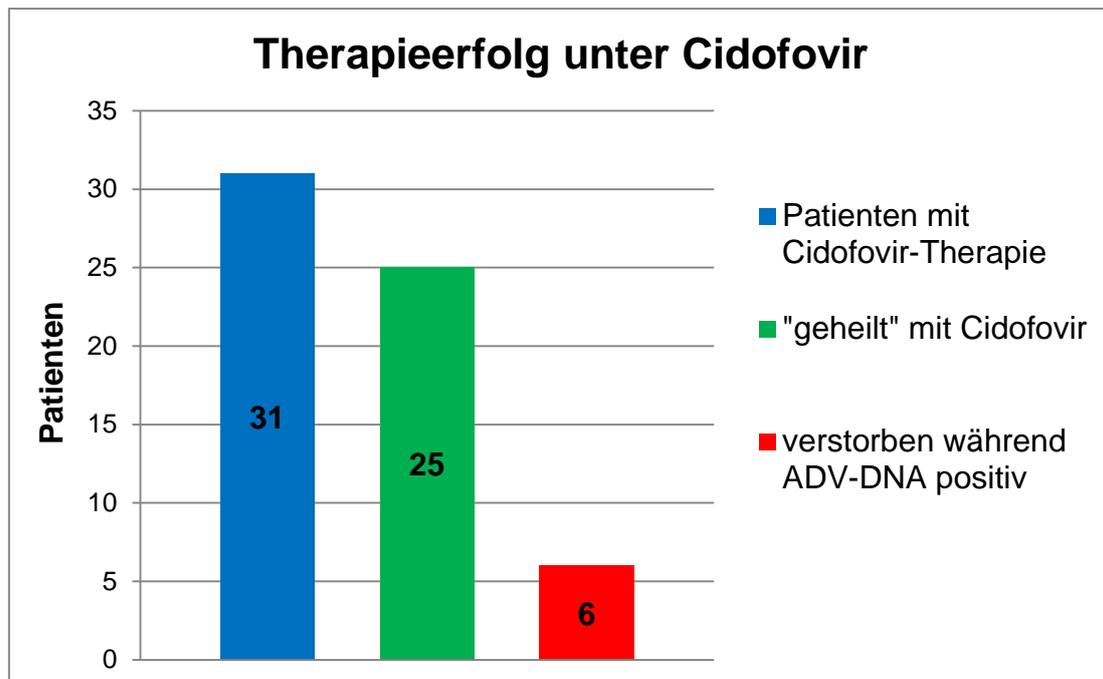


Abb. 74: Therapieerfolg von Cidofovir in Bezug auf ADV-Infektion und -Erkrankung

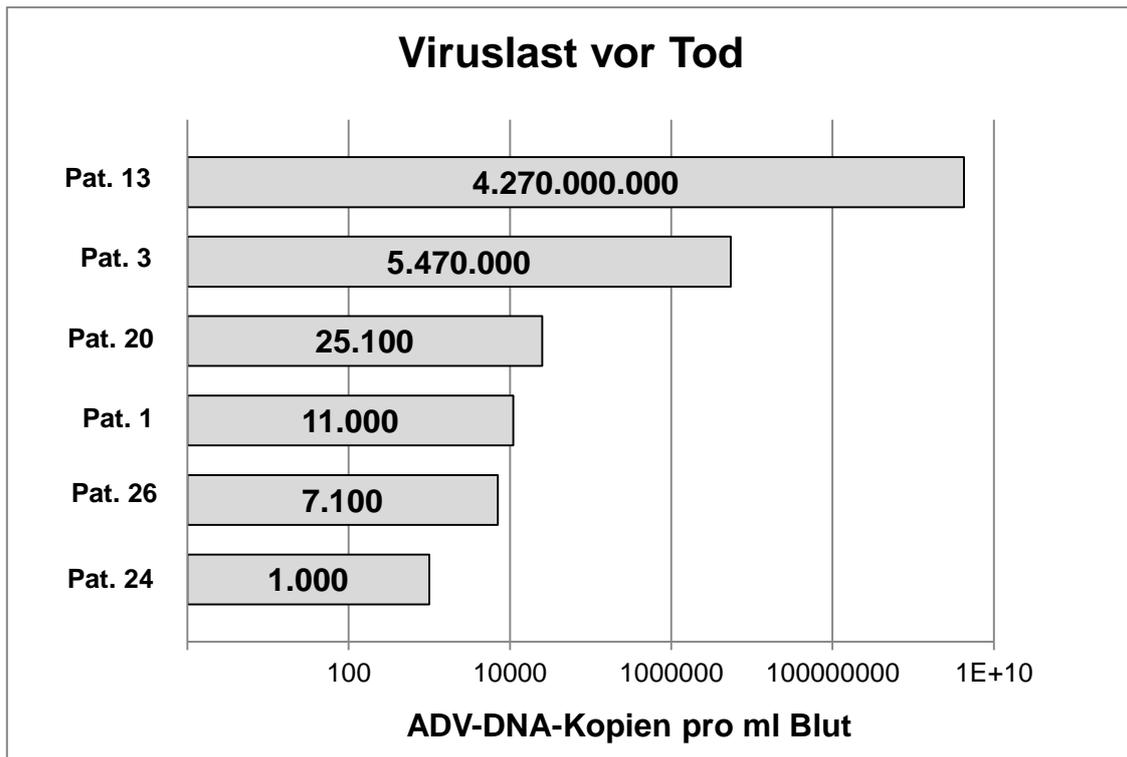


Abb. 75: Höhe der ADV-DNA-Kopienanzahl (letzte Bestimmung) vor dem Versterben der Patienten

3.5. Begleitende Symptome und Komplikationen während des Infektionszeitraums

Im Zeitraum der ADV-Infektion und -Erkrankung der Patienten traten begleitend verschiedene Symptome auf. Der Fokus liegt hierbei in ADV-spezifischen Symptomen wie Fieber, Übelkeit und Erbrechen, Diarrhoe und Bauchschmerzen. Weiterhin kam es vermehrt zu Komplikationen, wie Aufenthalt auf der Intensivstation mit und ohne invasive Beatmung, Katecholaminpflichtigkeit oder sogar zum Versterben der Patienten. Auffällig ist auch die Häufigkeit an begleitenden Viruserkrankungen wie BK-Virus-Infektionen des Harntrakts, CMV-Infektionen, HHV-Infektionen und anderen. Auf den folgenden Seiten werden diese Symptome und Komplikationen, die vermehrt im Zeitraum der ADV-Infektion auftraten und schließlich die Todesursachen der dabei verstorbenen Patienten graphisch dargestellt.

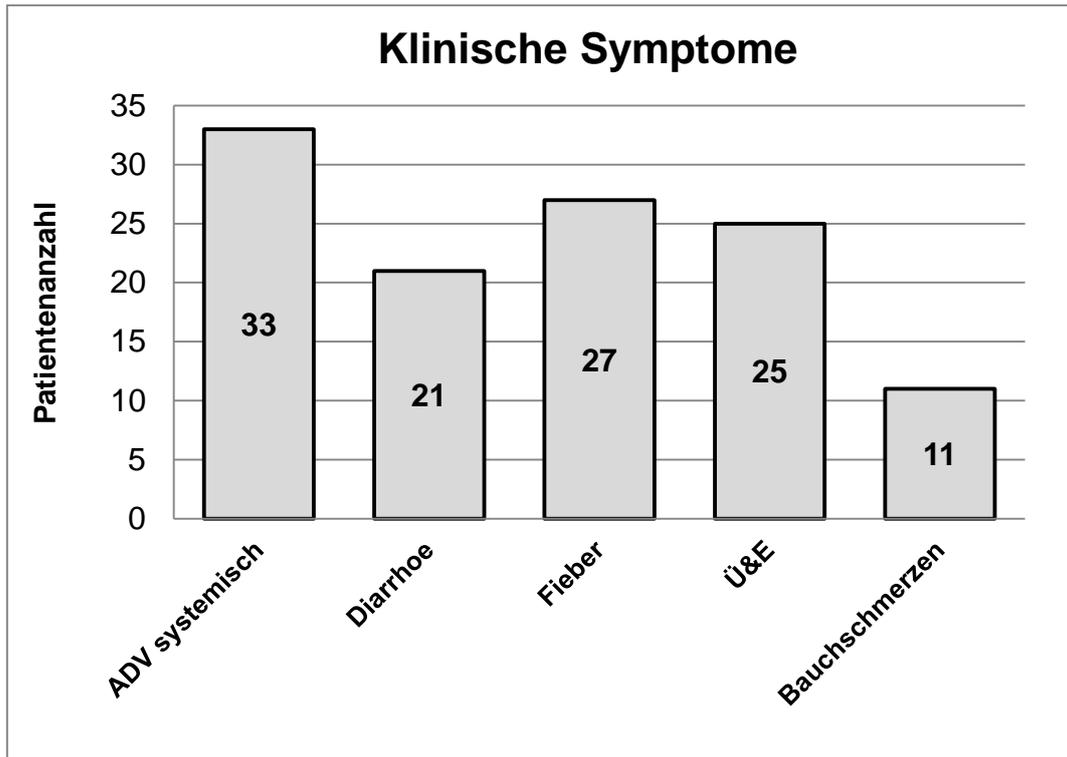


Abb. 76: Klinische Symptome während ADV-Infektion; Ü&E = Übelkeit und Erbrechen; Fieber = Temperatur $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$

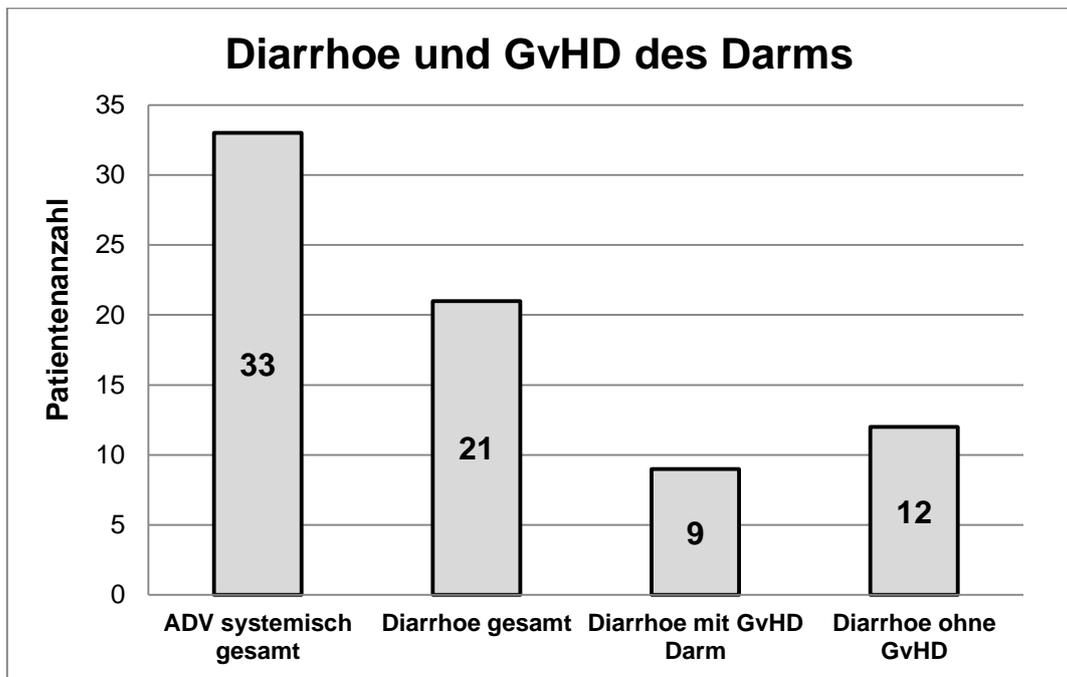


Abb. 77: Diarrhoe mit und ohne Graft-versus-Host-Disease (GvHD) des Darms

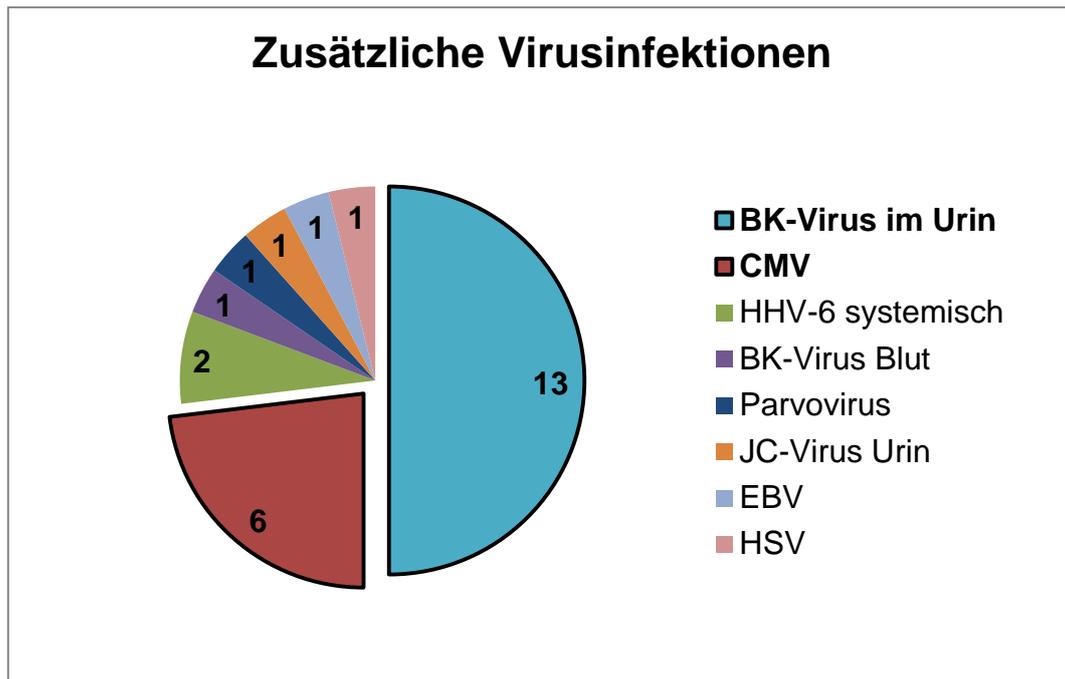


Abb. 78: Zusätzliche Virusinfektionen während ADV-Infektion; CMV = Cytomegalovirus; HHV = Humanes Herpesvirus; EBV = Epstein-Barr-Virus; HSV = Herpes simplex Virus

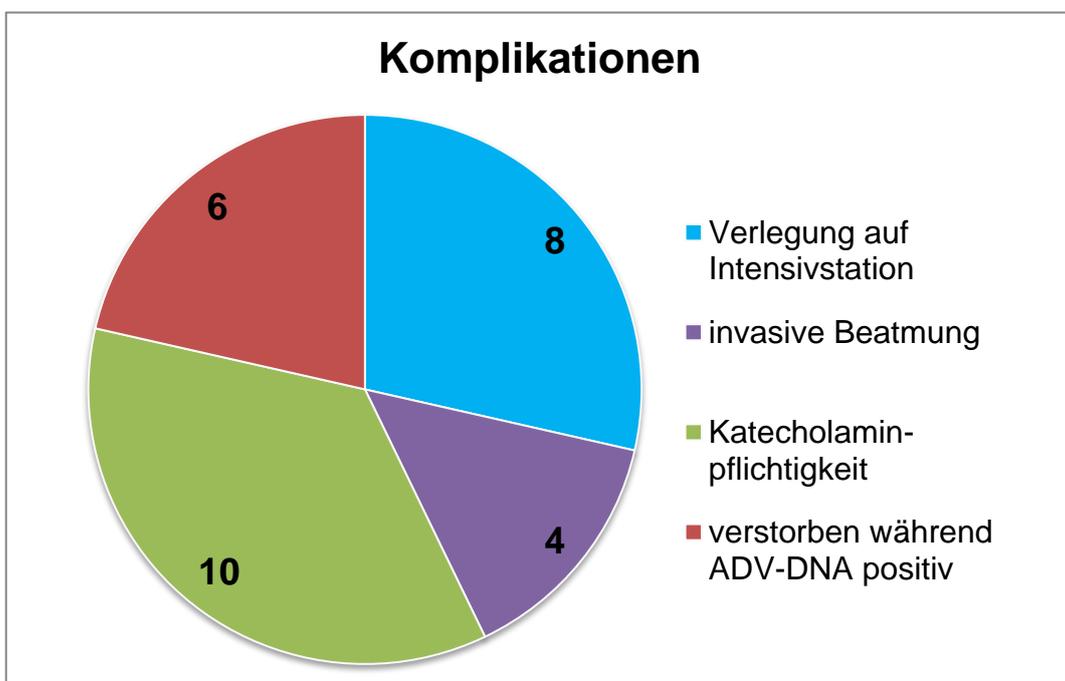


Abb. 79: Anzahl der Patienten mit Komplikationen während ADV-Infektion

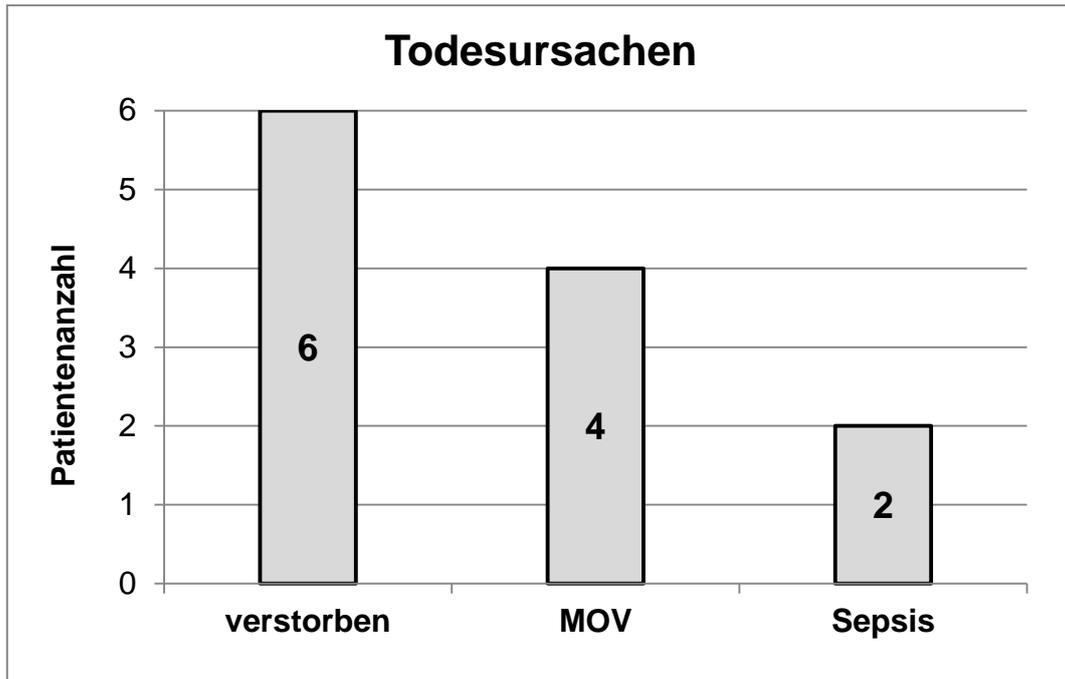


Abb. 79: Todesursachen während ADV-DNA positiv; MOV = Multiorganversagen

Zusammenfassend zum Ergebnisteil der Symptome der Patienten während ihrer ADV-Infektion kann festgehalten werden, dass Diarrhöen, Fieber, Übelkeit und Erbrechen in einem Großteil der Patienten (63% bis 82%) auftraten. Komplikationen wie invasive Beatmung und Katecholaminpflichtigkeit, die zu Aufhalten auf der Intensivstation führten, traten ebenfalls gehäuft im Zeitraum der ADV-Infektion auf (12% bis 30% der Patienten). An zusätzlichen Virusinfektionen oder -Erkrankungen, die während des ADV-positiven Infektionszeitraums bestanden oder neu auftraten, ist vor allem die BK-Virus-Infektion des Harntrakts (40% d. Patienten) und die Infektion mit dem Cytomegalovirus (18% d. Patienten) hervorzuheben. Schließlich konnte beobachtet werden, dass 6 Patienten u.a. mit einer enorm hohen Anzahl an ADV-DNA-Kopien im Blut verstorben sind. Die Todesursachen waren dabei Multiorganversagen (4 von 6 Patienten) und Sepsis (2 von 6 Patienten).

4. Diskussion

4.1. Allgemeines

Noch vor Beginn der Diskussion sollten vorerst die Limitationen und Kritikpunkte der vorliegenden Arbeit berücksichtigt werden. Obwohl es sich hier um eine retrospektive Analyse eines Zeitraums von 6 Jahren (01.01.2005 - 31.12.2011) handelt, besteht das untersuchte Kollektiv aus lediglich 33 pädiatrischen Patienten. Das entspricht etwa 10 % der insgesamt in diesem Zeitraum transplantierten Kinder, die anschließend an einer ADV-Infektion erkrankten. Insgesamt handelt es sich um ein sehr heterogenes Patientenkollektiv bezüglich der Grunderkrankung, Transplantationsart und begleitender Erkrankungen und Komedikation während des Infektionszeitraums. Aufgrund dieser unterschiedlichen Begleiterkrankungen musste die Cidofovir-Therapie einzelner Patienten in Dosis und Applikationshäufigkeit angepasst werden, sodass daraus Abweichungen zum Tübinger Behandlungsalgorithmus (vgl. 1.4.5.) entstanden sind. Sämtliche Parameter der Patienten (Laborwerte, Viruslasten, Symptome, Komplikationen und andere) wurden sorgfältig aus den einzelnen digitalisierten und teils nicht-digitalisierten Akten erhoben. Allerdings mussten wir uns dabei auf die Richtigkeit und Vollständigkeit der Informationen aus den Arztbriefen und den überwiegend von Hand geschriebenen Pflegeberichten verlassen.

Letztlich konnten aber durch eine sorgfältige Aufteilung und Eingruppierung sämtlicher Patientendaten und durch anschließende Darstellung individueller Patientenverläufe die Probleme der Heterogenität des Kollektivs weitgehend ausgeglichen werden. In der folgenden allgemeinen aber auch individuellen Diskussion der Krankheitsverläufe der Patienten während ihrer ADV-Infektion, war es somit möglich, diverse Schlussfolgerungen sowohl in Bezug auf das Gesamtkollektiv als auch auf einzelne Patienten herauszuarbeiten.

4.2. Bedeutung der quantitativen Echtzeit-PCR

ADV-Infektionen bei Kindern nach allogener Stammzelltransplantation bleiben weiterhin, wie auch in dieser Arbeit gezeigt werden konnte, mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität assoziiert. Besonders hervorzuheben sind dabei Manifestationen wie gastrointestinale Störungen in Form von Enteritis und Diarrhoe, Hepatitiden und die Entwicklung systemischer Virämien bei 10% bis 20% der Patienten.^{19,27,29,65} Besonders im Zeitraum der ADV-Infektion ist es dabei essentiell, eine Möglichkeit zu besitzen, die Entwicklung und den Verlauf solch einer Infektion beobachten und beurteilen zu können. Zum einen kann somit die Diagnose einer systemischen ADV-Infektion oder -Erkrankung gestellt werden und zum anderen soll dies eine frühestmögliche und adäquate Einleitung therapeutischer Maßnahmen ermöglichen. Die Detektion der Adenoviren im peripheren Blut der Patienten durch die quantitative Echtzeit-PCR steht hierbei im Mittelpunkt. Neben der Virusisolierung aus Zellkultur und immunologischen Verfahren zum Antigen-Nachweis, die in der Vergangenheit beschrieben wurden,⁵⁶⁻⁵⁹ scheint die PCR-Methode dabei die höchste Sensitivität und Spezifität zu haben und weist zusätzlich eine vergleichbare Sensitivität für alle Serotypen der humanen Adenoviren auf.^{41,60,61} Beck et al. etablierten ein zuverlässiges Echtzeit-PCR-Protokoll zur quantitativen Messung der ADV-DNA-Kopien im peripheren Blut bei Patienten nach allogener Stammzelltransplantation.⁶⁶ Dieses Verfahren bildet die Basis der vorliegenden Arbeit. Anhand der retrospektiven Ermittlung der einzelnen quantitativen Viruslastbestimmungen während der Infektionszeiträume der Patienten, konnten dem diverse laborchemische Parameter, Symptome und Komplikationen gegenübergestellt werden. Durch die Tatsache, dass nun quantitative Messergebnisse der Viruslast vorhanden waren, war die Berechnung verschiedener Korrelationskoeffizienten mit den laborchemischen Parametern möglich. Durch die zusätzliche Gegenüberstellung der spezifischen medikamentösen Therapie zum Verlauf der Viruslast, insbesondere mit dem Virustatikum Cidofovir, gelang uns eine Beurteilung des Effekts und des Erfolgs des Medikaments in Bezug auf die ADV-Infektion. Die Detektion des Adenovirus und die regelmäßige Messung der ADV-DNA-Kopien

im peripheren Blut der Patienten anhand der Echtzeit-PCR bilden somit die Voraussetzung für Diagnosestellung, Beobachtung der Krankheitsaktivität und für die Bewertung der Wirkung verschiedener antiviraler Maßnahmen.

4.3. Interpretation der Korrelationsanalyse

In zahlreichen Veröffentlichungen der Vergangenheit wird über unterschiedliche Manifestationsarten des Adenovirus bei Befall von pädiatrischen Patienten nach Stammzelltransplantation berichtet. Besonders häufige Symptome und Erkrankungen sind dabei Hepatitiden, Nierenversagen, Fieber, erhöhte CRP-Werte und ernste Komplikationen wie Multiorganversagen.^{21–23} Um diese Manifestationen quantitativ fassbar darzustellen, berechneten wir in dieser Arbeit die Korrelationen der Viruslast, gemessen als ADV-DNA-Kopien im peripheren Blut, mit den laborchemischen Parametern der eben genannten Organsysteme und einigen weiteren Parametern, wie z.B. Erythrozyten-, Thrombozyten- und Leukozytenzahlen. Im ersten Teil der Korrelationsanalyse wurde gezeigt, dass hohe Viruslasten, die stichprobenhaft ausgewählt wurden, signifikant häufig mit gleichzeitig erhöhten CRP-, LDH-, Harnstoff- und Temperaturwerten einhergingen (vgl. hierzu 3.3.1., Abbildungen 6, 8, 12, 18). Eine gleichzeitige Erhöhung der Leberenzyme oder anderer Laborparameter war nicht zu beobachten. Möglicherweise reagieren die eher unspezifischen Parameter wie CRP, LDH und Temperatur empfindlicher und direkter auf hohe oder niedrige Viruslasten als andere organspezifische Parameter wie Transaminasen oder Nierenretentionsparameter, die in diesem Teil der Auswertung nicht mit hohen Viruslasten korrelierten.

Der zweite Teil der Korrelationsanalyse stellt die zusammenfassenden Verläufe und Entwicklungen der Viruslast und der Laborparameter im Verlauf des Infektionszeitraums aller Patienten dar, aus denen anschließend entsprechende Korrelationen berechnet wurden. Die ermittelten signifikanten Korrelationen der Viruslast mit den Parametern CRP und Temperatur aus dem ersten Teil konnten hierbei aber nicht bestätigt werden. Das bedeutet, dass diese

Parameter im Gesamtverlauf der Infektion zwar immer wieder erhöht waren, sich aber nicht direkt von der Höhe der im Blut befindlichen ADV-DNA-Kopien beeinflussen ließen. Die Vermutung, dass unspezifische Parameter wie CRP, LDH und Temperatur empfindlicher auf Veränderungen der Viruslast reagieren, muss nun verworfen werden. Es ist zwar davon auszugehen, dass eine ADV-Infektion zur Erhöhung des CRP und der Temperatur führt, diese aber eher als allgemeine Entzündungsreaktion gegen die bestehende Infektion anzusehen ist. Sehr ähnliche Beobachtungen machten auch Feuchtinger et al. und andere.^{24,25} Trotzdem konnte weiterhin ermittelt werden, dass die LDH, GOT und GPT signifikante Korrelationskoeffizienten von nahezu „1“ mit dem Verlauf der Viruslast aufzeigten. Insgesamt kam es beim Ansteigen der Viruslast zu eher mäßigen Erhöhungen der Leberenzyme, vereinzelt aber auch zu fulminanten Hepatitiden. Das Besondere hierbei ist aber, dass sich die Leberenzyme der Patienten nach unseren Beobachtungen und Berechnungen direkt durch die Schwankungen der ADV-DNA-Kopien im peripheren Blut beeinflussen ließen. Einem Anstieg der Viruslast folgte unmittelbar auch ein Anstieg der Transaminasen und umgekehrt.

Bei der individuellen Darstellung der Korrelationen von Viruslast und verschiedener Laborparameter innerhalb einzelner Patientenverläufe, konnten diese hochsignifikanten Korrelationen mit LDH, GOT und GPT wiedergefunden werden. Die in der Vergangenheit mehrfach beobachtete ADV-Hepatitis nach Stammzelltransplantation^{23,97-99} kann nun ebenfalls für unser Patientenkollektiv durch die quantitativ berechneten Korrelationskoeffizienten bestätigt werden. Zusätzlich kann festgehalten werden, dass die Leberenzyme GOT und GPT bei Patienten auch ohne fulminante Hepatitis sehr empfindlich auf die Veränderungen der Viruslast reagierten. Weiterhin konnten in diesen individuellen Verläufen signifikante Korrelationen der Viruslast mit dem CRP, der Temperatur aber auch den Nierenparametern Kreatinin und Harnstoff beobachtet werden. Für das Gesamtkollektiv und im Verlauf des Infektionszeitraums konnten für diese Parameter (CRP, Temperatur, Kreatinin und Harnstoff) zwar keine signifikanten Korrelationen berechnet werden, in

Anbetracht eines einzelnen Patienten sollten diese individuell ermittelten Zusammenhänge aber keinesfalls unberücksichtigt bleiben.

4.4. Evaluation der Wirksamkeit von Cidofovir

Cidofovir ist das am häufigsten eingesetzte Virustatikum gegen adenovirale Infektionen bei immunsupprimierten Patienten nach aSZT, obwohl bis dato noch keine kontrollierten, randomisierten Studien dazu existieren.⁵² Es wurde aber bereits häufig gezeigt, dass Cidofovir die Viruslast an ADV-DNA-Kopien im peripheren Blut senken kann.^{51,85,86} Somit scheint es gegenwärtig das einzige Virustatikum zu sein, das erfolgreich in der Therapie der ADV-Infektion bei stammzelltransplantierten Patienten eingesetzt wird.⁸⁹ Aufgrund seiner bekannten Nephrotoxizität, sollte unter anderem bei entsprechender Risikokonstellation des Patienten, z.B. bei Niereninsuffizienz, die Dosis reduziert werden.⁶⁹

In der vorliegenden Arbeit wurden 31 von 33 Patienten während ihrer systemischen ADV-Infektion nach dem „Klinischen Behandlungsalgorithmus“ der Universitäts-Kinderklinik präventiv mit Cidofovir behandelt (vgl. hierzu auch 1.4.5.). Davon konnte bei 25 Patienten (81 %) im Durchschnitt innerhalb von 44 Tagen eine Viruslast von 0 ADV-DNA-Kopien im peripheren Blut erreicht werden. Die restlichen 6 Patienten verstarben mit zum Teil massiv erhöhten Viruslasten und unter laufender Cidofovir-Therapie. Um die Wirksamkeit von Cidofovir in unserem Patientenkollektiv im Einzelnen analysieren und beurteilen zu können, sollten Risikofaktoren, die vermehrt zu ADV-Infektionen führen und diese auch verstärken, ebenfalls hinzugezogen werden. Möglicherweise verstärken diverse Risikofaktoren nicht nur die ADV-Infektion in ihrem Schweregrad, sondern beeinflussen auch die Wirkung von Cidofovir. Die wohl wichtigsten und am meisten beobachteten Risikofaktoren sind dabei ein junges Patientenalter,^{31,65} T-Zell-Depletion des Stammzellpräparates,^{19,29,31,40,79} Stammzellen nichtverwandter Spender und schließlich ernste GvHDs, die eine zusätzliche immunsuppressive Therapie erfordern.^{36,37,50,86}

Allein durch die Art der Transplantation und des jungen Alters fallen bereits alle 33 Patienten in die Risikogruppe. Weitere 19 Patienten erhielten ein T-Zell-depletiertes Stammzellpräparat und wiederum 11 erhielten Stammzellen eines nichtverwandten Fremdspenders. Die verbleibenden 3 Patienten erhielten Stammzellen eines HLA-identen Geschwisterspenders. Es kann somit bereits bestätigt werden, dass die genannten Risikofaktoren auch in unserem Patientenkollektiv zu seiner Steigerung der Inzidenz der ADV-Infektion geführt haben, und zwar in 100% der Fälle. Die mehrfach beobachtete Verschlechterung der ADV-Infektion durch zusätzliche immunsuppressive Therapie,^{36,37,50,86} konnte auch in unserem Patientenkollektiv beobachtet werden. Dabei kam es bei Neuansetzen und Dosissteigerung diverser Glukokortikoidpräparate schlagartig zu einem Anstieg der ADV-DNA-Kopien im peripheren Blut der Patienten, was in diesen Fällen mit einer verstärkten Krankheitsaktivität bzw. Aggravation der ADV-Infektion gleichzusetzen ist. Einige Beispiele hierfür sind Patienten Nr. 7, 16, 22, 28, 29, 31, 32 (Abb. 52, 58, 61, 63, 64, 66, 67, Seite 62 ff). Ob die Patienten sich in dieser Zeit auch klinisch verschlechterten wird in 4.5. diskutiert.

Weiterhin erhielten 24 der insgesamt 25 von der ADV-Infektion geheilten Patienten entweder T-Zell-depletierte Stammzellen oder Stammzellen eines nichtverwandten Spenders. Zusätzlich hatten wiederum 7 Patienten davon eine ernste GvHD des Darms, der Haut oder der Leber, die mit Immunsuppressiva behandelt werden musste. Interessanterweise konnte bei all diesen Patienten, trotz dieser Risikofaktoren, die während des Infektionszeitraumes bestanden, die Viruslast zuverlässig auf 0 ADV-DNA-Kopien gesenkt werden. Lediglich bei Patient Nr. 16 (Abb. 58, Seite 65) schien die Viruslast zwischen Tag 40 und 60 nicht allzu empfindlich auf Cidofovir-Gaben zu reagieren. Bei genauer Betrachtung fällt aber auf, dass genau in diesem Zeitraum die Dosis von Cidofovir von 5 mg/kg auf 1 mg/kg reduziert wurde, womit das schlechte Ansprechen der Therapie in dieser Zeit zu erklären ist. In diesem Beispiel zeigt sich aber auch der direkte und positive therapeutische Effekt von Cidofovir, denn nach einer Wiedererhöhung der Dosis wurde die Viruslast im weiteren Verlauf zuverlässig auf 0 ADV-DNA-Kopien pro ml Blut gesenkt.

Um ein eventuelles Fehlschlagen der antiviralen Therapie mit Cidofovir bei den 6 verstorbenen Patienten zu erklären, müssen die individuellen Krankheitsverläufe, einschließlich zusätzlicher Symptome und Komplikationen, die der jeweiligen Krankenakte entnommen wurden, etwas genauer analysiert werden. Schon zum Zeitpunkt der Transplantation erfüllten alle 6 verstorbenen Patienten die Kriterien für ein erhöhtes Risiko an einer ADV-Infektion zu erkranken: 4 Patienten erhielten T-Zell-depletierte Stammzellen und 2 Patienten erhielten Stammzellen von nichtverwandten Fremdspendern.

Patient Nr.1 (Abb. 68, Seite 70) :

Es fällt auf, dass bei diesem Patient die Cidofovir-Gaben erst 1 Woche nach dem ersten positiven ADV-DNA-PCR-Befund gestartet wurden. Aufgrund einer dialysepflichtigen Niereninsuffizienz musste Cidofovir aber in reduzierter Dosis verabreicht werden (0,5 mg/kg). Weiterhin bestand im selben Zeitraum eine GvHD des Darms WHO Grad IV, die den zusätzlichen Einsatz immunsuppressiver Medikamente erforderte. Trotzdem gelang es aber die Viruslast innerhalb einer Woche von 120.000 auf 11.000 ADV-DNA-Kopien pro ml Blut zu senken, womit die Wirksamkeit von Cidofovir, trotz sehr geringer Dosierung und zusätzlicher Immunsuppression hier ebenfalls bewiesen ist. Der Patient verstarb allerdings kurz darauf an einem ADV-assoziierten Multiorganversagen.

Patient Nr. 3 (Abb. 69, Seite 71):

Bei diesem Patienten bestand eine GvHD des Darms WHO Grad III, die den Einsatz von zusätzlichen Immunsuppressiva erforderte. In dieser Zeit sieht man ein fortschreitendes Ansteigen der Viruslast bis hin zu etwa 5,5 Mio. ADV-DNA-Kopien pro ml Blut. Erst zu diesem Zeitpunkt begann die Therapie mit Cidofovir in reduzierter Dosis. Die sehr weit fortgeschrittene ADV-Virämie ließ sich bei dieser enormen Viruslast nicht mehr beherrschen, auch nicht durch den Einsatz ADV-spezifischer T-Zellen, und der Patient verstarb kurz darauf an einem Multiorganversagen. Möglicherweise kam es nach Therapiebeginn zu einer

Senkung der Viruslast. Aufgrund dessen, dass die Viruslast aber nur zu Beginn der Cidofovir-Therapie gemessen wurde und danach nicht mehr, lässt sich in diesem Beispiel die Wirkung von Cidofovir nicht beurteilen.

Patient Nr. 13 (Abb. 70, Seite 72):

Die GvHD-Therapie mit Prednisolon scheint bei diesem Patienten die Wirkung von Cidofovir zwischen Tag +12 und +33 negativ zu beeinflussen. Nach Absetzen von Prednisolon entwickelte sich beim Patienten zusätzlich eine Abstoßungsreaktion des Stammzelltransplantates und es trat eine irreversible Leukopenie ein. Ab diesem Zeitpunkt war der Anstieg der ADV-DNA-Kopien bis hin zur ADV-Sepsis trotz weiterer Cidofovir-Gaben nicht mehr aufzuhalten und der Patient verstarb an einem Multiorganversagen. Cidofovir hat bei diesem Patienten keine viruslastsenkende Wirkung gezeigt. Eine negative Beeinflussung durch die anfangs verabreichte Immunsuppression, die Abstoßungsreaktion oder die Leukopenie sind mögliche Ursachen dafür. Es ist aber eher davon auszugehen, dass hier ein Zusammenspiel all dieser Ursachen zu einem Fehlschlagen der Cidofovir-Therapie geführt hat.

Patient Nr. 20 (Abb. 71, Seite 73):

Die Viruslast scheint hier mit Ansetzen von Hydrocortison einen Aufschwung erhalten zu haben, der auch durch vorherige Cidofovir-Gaben nicht gebremst werden konnte. Allerdings entwickelte der Patient im Zeitraum der maximalen Viruslast eine Knochenmarksdepression mit Aplasie. Trotzdem konnte die Viruslast durch weitere, aufgrund einer Niereninsuffizienz dosisreduzierte Cidofovir-Gaben von etwa 2 Millionen auf 7.300 ADV-DNA-Kopien pro ml Blut gesenkt werden. Nach der letzten Gabe von Cidofovir kam es aber zu einem erneuten Anstieg der Viruslast und der Patient verstarb am Multiorganversagen. Der Grund für den erneuten Anstieg der Viruslast bleibt weiterhin unklar. Er könnte aber mit dem Absetzen sämtlicher Therapiemaßnahmen, aufgrund der damals erklärten palliativen Situation zusammenhängen. Sicher ist jedoch, dass

der Einsatz von Cidofovir hier ebenfalls, wenn auch nur kurzfristig, zu einer zuverlässigen Senkung der Viruslast geführt hat.

Patient Nr. 24 (Abb. 72, Seite 74):

Aufgrund einer 4-fach verabreichten Immunsuppression aus Infliximab, Muromonab, Ciclosporin A und Methylprednisolon scheint die Viruslast sich mit regelmäßigen Cidofovir-Gaben nicht senken zu lassen. Nach Absetzen dieser Medikamente, Reduktion von Methylprednisolon und weiterer Gaben von Cidofovir fällt die Viruslast wieder ab, trotz zusätzlichem Neuansetzen von hochdosiertem Dexamethason aufgrund einer Enzephalopathie. Es scheint hier tatsächlich zu einer Wirkungsabschwächung von Cidofovir durch die anfangs verabreichte 4-fach Immunsuppression gekommen zu sein. Ob das auch tatsächlich die Ursache ist, bleibt weiterhin unklar. Im weiteren Verlauf konnte die Viruslast nämlich auch trotz hochdosierter Dexamethason-Gabe und zusätzlicher Abstoßungsreaktion des Transplantats zwischen Tag +25 und +33 gesenkt werden. Der Patient verstarb schließlich an einer Sepsis.

Patient Nr. 26 (Abb. 73, Seite 75):

Unter wöchentlichen Gaben von Cidofovir konnte die Viruslast anfangs bei unter 1000 ADV-DNA-Kopien pro ml Blut gehalten werden. Aufgrund einer GvHD des ZNS wurde Tacrolimus gegeben, die Cidofovir-Gaben blieben aus und die Viruslast stieg an. Nach anschließender Gabe von Cidofovir konnte die Viruslast aber kurzfristig von etwa 9.000 auf 7.000 ADV-DNA-Kopien pro ml Blut gesenkt werden. Auch in diesem letzten Beispiel kann die viruslast-senkende Wirkung von Cidofovir, trotz gleichzeitiger Immunsuppression, bestätigt werden. Der Patient verstarb kurz darauf an einer nicht beherrschbaren Sepsis.

Zusammenfassend kann nun gesagt werden, dass Cidofovir bei 3 von 6 verstorbenen Patienten, trotz gleichzeitiger immunsuppressiver Therapie aufgrund von GvHDs und teils auch mit reduzierter Cidofovir-Dosis, zu einer zuverlässigen Senkung der Viruslast geführt hat. Bei einem Patienten (Nr. 24, Abb. 72) scheint es, allerdings bedingt durch eine 4-fache Immunsuppression am Therapiebeginn zu einer Wirkungsabschwächung von Cidofovir gekommen zu sein. Im weiteren Verlauf jedoch zeigte Cidofovir, trotz weiterer hochdosierter Immunsuppression seine viruslastsenkende Wirkung. Bei Patient Nr. 3 (Abb. 69) war die Wirkung von Cidofovir aufgrund fehlender Viruslastbestimmungen nach Therapiebeginn nicht zu beurteilen. Lediglich bei einem Patienten (Nr. 13, Abb. 70) zeigte Cidofovir keine viruslastsenkende Wirkung. Mögliche Ursachen könnten dabei die gleichzeitige Abstoßungsreaktion des Transplantats oder die irreversible Leukopenie sein. Eine Wirkungsbeeinflussung von Cidofovir durch Immunsuppressiva kann hier jedoch mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden, da diese bereits vor Entwicklung einer ADV-Sepsis wieder abgesetzt wurden.

Um konkret auf die Fragestellung einzugehen, ob die viruslastsenkende Wirkung von Cidofovir nun durch die gleichzeitige Gabe von Immunsuppressiva beeinflusst wird, können wir mit hoher Wahrscheinlichkeit sagen, dass dem nicht so ist. Bei 29 von 31 Patienten (94%), die während ihrer systemischen ADV-Infektion mit Cidofovir behandelt wurden, konnte die viruslastsenkende Wirkung von Cidofovir, trotz diverser immunsuppressiver Maßnahmen bestätigt werden. Einzig und allein bei Patient Nr. 24 (Abb. 72) bleibt unklar, ob die 4-fach verabreichte Immunsuppression die Wirkung von Cidofovir nicht doch abgeschwächt hat. Allerdings könnte die Ursache für diese Wirkungsabschwächung auch in der Abstoßungsreaktion des Transplantats liegen, die im gleichen Zeitraum stattfand. Die Frage, ob denn bei diesen Patienten nach Heilung der systemischen ADV-Infektion weiterhin noch Adenoviren im Stuhl nachweisbar waren wie es Anderson et al. beobachteten,⁵¹ war nicht Teil dieser Arbeit, könnte in Zukunft aber in einer zusätzlichen Recherche eruiert werden. Angesichts der ADV-assoziierten Mortalität trotz präventiver Gabe von Cidofovir liegt diese laut diversen Beobachtungen der Vergangenheit zwischen 23% und

50%.^{40,51,79,82–84} In unserem Patientenkollektiv verzeichnen wir eine ADV-assoziierte Mortalitätsrate von 19%. Bei 81% der mit Cidofovir behandelten Patienten konnte die ADV-Infektion kontrolliert und ein ADV-assoziiertes Versterben somit verhindert werden.

4.5. Symptome und Komplikationen bei steigender Viruslast

Im letzten Teil der Diskussion soll auf die Gefährlichkeit steigender und hoher Viruslasten eingegangen werden. Im Hinblick auf die Symptome Diarrhoe und Enteritis als häufigste Manifestation der ADV-Infektion bei Kindern nach aSZT, wie sie u.a. bei Kampmann et al. beschrieben wurde,¹⁹ konnten wir die gleiche Beobachtung machen: Wie aus Abbildung 76, Seite 78 hervorgeht, war in unserem Patientenkollektiv die Diarrhoe mit begleitender Übelkeit und Erbrechen bei etwa 64% der Patienten das häufigste Symptom nach Fieber während der ADV-Infektion. Es ist hier allerdings nicht nur von der ADV-Infektion als Ursache auszugehen, denn von den insgesamt 21 Patienten mit verstärkter Diarrhoe während des Infektionszeitraums, hatten 9 Patienten eine zusätzliche GvHD des Darms (vgl. auch Abb. 77, Seite 78). Bei diesen Patienten ist somit eher davon auszugehen, dass die Diarrhoen durch die GvHD des Darms ausgelöst wurden. Darüber hinaus hatten 12 Patienten während ihrer gesamten ADV-Infektion keine Diarrhoe oder Enteritis. Es sollte somit bedacht werden, dass zwar eine systemische ADV-Infektion Diarrhoen auslösen kann, diese aber häufig auch durch andere Ursachen zu erklären sind und dass einige Patienten nicht von dieser Symptomatik befallen werden. Als häufigstes Symptom während der ADV-Infektion traten bei über 80% der Patienten vermehrt erhöhte Temperaturen mit Fieber bis zu 41°C auf. Das häufig in der Vergangenheit beobachtete Fieber während ADV-Infektionen,^{22–25} konnte somit auch für unser Patientenkollektiv bestätigt werden. Auch wenn nach unserer Korrelationsanalyse keine signifikanten Korrelationen von Viruslast und Temperatur berechnet wurden, konnte trotzdem beobachtet werden, dass das Fieber vor allem während des ADV-Infektionszeitraums

auftrat und nicht in der Zeit davor oder danach. Insgesamt dürfen für die Ursachenklärung der Symptome Fieber und Diarrhoe die zusätzlichen Viruserkrankungen, die während der ADV-Infektion bestanden oder neu aufgetreten sind, auch nicht außer Acht gelassen werden. Vor allem eine Koinfektion mit dem Cytomegalovirus (CMV), wie sie bei 18% unserer Patienten zusätzlich zu finden war, kann sehr häufig zu Enteritiden mit Diarrhoe führen.¹⁰⁰⁻¹⁰² Hohes Fieber wird unter anderem auch durch eine systemische HHV-6-Infektion hervorgerufen,^{103,104} wie sie auch bei 2 weiteren Patienten aus unserem Kollektiv als Koinfektion bestand. Die ADV-Infektion mit entsprechend hohen Viruslasten spielt mit Sicherheit eine sehr wichtige Rolle in der Entstehung von Fieber und Diarrhoe, allerdings müssen als weitere Ursachen für diese Symptome auch Koinfektionen und andere Erkrankungen in Erwägung gezogen werden.

Wie bereits häufig aus weiteren Studien hervorging, korrelieren hohe und schnell ansteigende Viruslasten im peripheren Blut mit ADV-assoziiierter Mortalität und sind prädiktiv für ADV-assoziierte Todesereignisse.³⁹⁻⁴⁴ Insbesondere bei Patienten Nr. 3 und 13 (Abb. 69, 70, Seiten 71,72) wurde dieser Zusammenhang ersichtlich. Innerhalb von etwa 50 Tagen kam es dabei zu einem steilen Anstieg der Viruslast mit Spitzenwerten von etwa 5,47 Mio. und 4,27 Mrd. ADV-DNA-Kopien pro ml Blut. Regelmäßige und anschließende Gaben von Cidofovir und ADV-spezifischen T-Zellen zeigten sich wirkungslos und die Patienten verstarben kurze Zeit später an Multiorganversagen. Mit hoher Wahrscheinlichkeit ist davon auszugehen, dass dies durch die ADV-Virämie bedingt war, da diese laut Arztbriefen zum Zeitpunkt des Versterbens im Mittelpunkt der Behandlung stand. Verglichen mit den Patienten, die die ADV-Infektion überlebt haben, wurden bei diesen im Schnitt Viruslasten von maximal 100.000 ADV-DNA-Kopien pro ml Blut gemessen. Eine einmalige Messung von 1,3 Mio. ADV-DNA-Kopien wurde bei Patient Nr. 29 (Abb. 64, Seite 68) verzeichnet. Es kann festgehalten werden, dass hohe Viruslasten sehr gefährlich sind und schließlich durch die Virämie zum Versterben durch ADV-assoziiertes Multiorganversagen führen.

4.6. Schlussfolgerung

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass ADV-Infektionen bei pädiatrischen Patienten nach allogener Stammzelltransplantation weiterhin mit einer hohen Inzidenz verbunden sind und zu schweren Infektionsverläufen bis hin zu tödlichen Multiorganversagen führen können. Erfreulicherweise konnte die ADV-Infektion beim Großteil des Patientenkollektivs, trotz vieler zusätzlich bestehender Risikofaktoren, kontrolliert werden. Das Medikament der Wahl ist hier Cidofovir, das in nahezu allen Fällen eine zuverlässige Senkung der Viruslast gezeigt hat. Eine Mortalitätssenkung durch Cidofovir konnte ebenfalls beobachtet werden. Das Behandlungs- bzw. Therapieschema der Tübinger Universitäts-Kinderklinik (siehe 1.4.5.) hat sich bewährt und sollte auch in Zukunft für die Behandlung der ADV-Infektion nach Stammzelltransplantation angewandt werden. Obwohl die zusätzliche Immunsuppression bei auftretender GvHD die Therapie mit Cidofovir in ihrer Wirksamkeit nicht zu beeinflussen scheint, sollten immunsuppressive Maßnahmen trotzdem reduziert werden, da sie zu einer Aggravation der ADV-Infektion im Sinne eines Anstiegs der ADV-DNA-Kopienzahl im peripheren Blut führen können. Wie aus der Korrelationsanalyse hervorgeht, korrelieren hohe Viruslasten vor allem mit einer Steigerung der Leberenzyme GOT und GPT, welche in den einzelnen Patientenverläufen auch sehr empfindlich auf die Schwankungen der Viruslast im Blut reagierten. Für die Zukunft können diese Laborparameter beispielsweise als prädiktive Werte für die ADV-Infektion fungieren, aber auch als Marker für die Beurteilung der Krankheitsaktivität. Nicht zu Letzt soll an diesem Punkt noch einmal die Wichtigkeit der Echtzeit-PCR für die quantitative Messung der ADV-DNA-Last im peripheren Blut der Patienten betont werden. Als Basis dieser Arbeit ermöglichte uns das in der Vergangenheit angewandte PCR-Verfahren die Erstellung einer breiten und detaillierten Korrelationsanalyse verschiedener Laborparameter, die Beobachtung der Krankheitsaktivität und schließlich auch eine sehr genaue Analyse und Beurteilung der spezifischen antiviralen Therapie mit Cidofovir.

Die vorliegende Arbeit soll mit den positiven Ergebnissen der Cidofovir-Therapie und den Möglichkeiten, die mit dem Verfahren der Echtzeit-PCR eröffnet werden, als weiterer Ausgangspunkt für zukünftige kontrollierte, randomisierte Studien stehen, um ADV-Infektionen bei Kindern nach aSZT noch besser kontrollieren und therapieren zu können.

5. Zusammenfassung

Arbeitshypothese und Fragestellung:

ADV-Infektionen nach allogener Stammzelltransplantation sind jeher mit erhöhter Morbidität und Mortalität, insbesondere bei pädiatrischen Patienten assoziiert. Aus der Vergangenheit existieren zahlreiche Studien über Symptome, Komplikationen, Therapiemaßnahmen und klinischen Outcomes bei diesen Patienten. Der Darstellung einzelner Infektionsverläufe der Patienten anhand ihrer ADV-DNA-Kopienzahl im Blut (per Echtzeit-PCR gemessen), wurden diverse laborchemische Parameter, Symptome, Komplikationen und spezifische Therapiemaßnahmen mit dem Virustatikum Cidofovir gegenübergestellt. Das Ziel dieser Arbeit lag darin, Korrelationen zwischen Viruslast und verschiedener Parameter darzustellen und schließlich auch die Wirksamkeit der antiviralen Therapiemaßnahmen zu beurteilen. Es sollte demonstriert werden, ob die Risikofaktoren und Infektionsverläufe der Patienten mit Beobachtungen aus der Vergangenheit übereinstimmen und ob die Anwendung von Cidofovir tatsächlich einen therapeutischen Effekt in Bezug auf die ADV-Infektion hat und sich möglicherweise durch Faktoren wie zusätzliche Immunsuppression beeinflussen lässt.

Methodik:

Im Zeitraum vom 1.01.2005 bis zum 31.12.2011 wurden in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin des Uniklinikums Tübingen 336 Kinder einer allogenen Stammzelltransplantation unterzogen. Im weiteren Verlauf entwickelten 33 dieser Patienten (9,8%) eine systemische ADV-Infektion. Für jeden Patienten wurden retrospektiv die Viruslasten anhand der ADV-DNA-Kopienzahl pro ml Blut und 12 weitere laborchemische Parameter ermittelt, aus denen dann mit unterschiedlichen statistischen Verfahren Korrelationskoeffizienten berechnet wurden. Die spezifische Cidofovir-Therapie und die zusätzliche Gabe von Immunsuppressiva wurden in einem gesonderten Teil für jeden Patienten in Bezug zum Verlauf der Viruslast gesetzt. Schließlich erfolgte eine grafische

Darstellung weiterer Parameter, wie Symptome, Komplikationen und Ko-infektionen während des ADV-positiven Zeitraums.

Ergebnisse:

Folgende signifikante Korrelationskoeffizienten wurden ermittelt:

Viruslast /GOT=0,973; Viruslast/GPT=0,961; Viruslast/LDH=0,956. Angesichts der Therapie mit Cidofovir konnte die ADV-Infektion bei 81% der Patienten kontrolliert werden. Insgesamt wurde ein zuverlässiger viruslastsenkender Effekt von Cidofovir bei 94% der Patienten beobachtet. Eine Wirkungsabschwächung der Cidofovir-Therapie durch zusätzliche Immunsuppressiva konnte mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Andererseits kam es bei Dosissteigerung oder Neuansetzen von Immunsuppressiva zum Anstieg der ADV-DNA-Kopien im Blut der Patienten und Aggravation der ADV-Infektion. Häufigste klinische Manifestationen während der ADV-Infektion waren: hohes Fieber (82%), Diarrhoe/Enteritis (64%), Übelkeit und Erbrechen (76%). 6 Patienten verstarben während der akuten ADV-Infektion. Die ADV-assoziierte Mortalitätsrate lag somit trotz Cidofovir-Therapie bei 19%.

Schlussfolgerung:

Die Anwendung der Echtzeit-PCR für die quantitative Messung der ADV-DNA-Last hat sich in dieser Arbeit als unverzichtbares Werkzeug herausgestellt und bietet eine Reihe an Möglichkeiten für Diagnosestellung, Beobachtung und Beurteilung individueller Infektionsverläufe. Das Virustatikum Cidofovir hat sich in diesem Patientenkollektiv als sicheres und effektives Therapeutikum der ADV-Infektion nach aSZT bei pädiatrischen Patienten präsentiert. Für den zukünftigen klinischen Alltag können die Transaminasen unterstützend als prädiktive Marker fungieren und somit Aussagen über Aktivität und Schwere der ADV-Infektion erlauben. Es werden trotzdem noch größer angelegte prospektive Studien benötigt, um die Ergebnisse dieser Arbeit in Bezug auf die Wirksamkeit von Cidofovir und eventuellem Einbeziehen der Transaminasen als prädiktive Marker weiterhin anwenden zu können.

6. Literaturverzeichnis

1. Rowe WP, Huebner RJ, Gilmore LK, Parrot RH, Ward TG. Isolation of a cytopathogenic agent from human adenoids undergoing spontaneous degeneration in tissue culture. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1953;84(3):570-573.
2. Enders JF, Bell JA, Dingle JH, et al. Adenoviruses: group name proposed for new respiratory-tract viruses. *Science*. 1956;124(3212):119-120.
3. Lenaerts L, Clercq E de, Naesens L. Clinical features and treatment of adenovirus infections. *Rev Med Virol*. 2008;18(6):357-374.
4. Roelvink PW, Lizonova A, Lee JG, et al. The coxsackievirus-adenovirus receptor protein can function as a cellular attachment protein for adenovirus serotypes from subgroups A, C, D, E, and F. *J Virol*. 1998;72(10):7909-7915.
5. Echavarría M. Adenoviruses in immunocompromised hosts. *Clin Microbiol Rev*. 2008;21(4):704-715.
6. Bergelson JM, Cunningham JA, Droguett G, et al. Isolation of a common receptor for Coxsackie B viruses and adenoviruses 2 and 5. *Science*. 1997;275(5304):1320-1323.
7. Gaggar A, Shayakhmetov DM, Lieber A. CD46 is a cellular receptor for group B adenoviruses. *Nat Med*. 2003;9(11):1408-1412.
8. Arnberg N, Edlund K, Kidd AH, Wadell G. Adenovirus type 37 uses sialic acid as a cellular receptor. *J Virol*. 2000;74(1):42-48.
9. Shayakhmetov DM, Li Z, Ternovoi V, Gaggar A, Gharwan H, Lieber A. The interaction between the fiber knob domain and the cellular attachment receptor determines the intracellular trafficking route of adenoviruses. *J Virol*. 2003;77(6):3712-3723.
10. Leopold PL, Kreitzer G, Miyazawa N, et al. Dynein- and microtubule-mediated translocation of adenovirus serotype 5 occurs after endosomal lysis. *Hum Gene Ther*. 2000;11(1):151-165.
11. Russell WC. Update on adenovirus and its vectors. *J Gen Virol*. 2000;81(Pt 11):2573-2604.
12. Doerr HW, Aberle J, eds. *Medizinische Virologie: Grundlagen Diagnostik Prävention und Therapie viraler Erkrankungen; 115 Tabellen*. 2nd ed. Stuttgart: Thieme; 2010.
13. Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. *Clinical virology*. 3rd ed. Washington, DC: ASM Press; 2009.
14. Gray GC, McCarthy T, Lebeck MG, et al. Genotype prevalence and risk factors for severe clinical adenovirus infection, United States 2004-2006. *Clin Infect Dis*. 2007;45(9):1120-1131.
15. Shields AF, Hackman RC, Fife KH, Corey L, Meyers JD. Adenovirus infections in patients undergoing bone-marrow transplantation. *N Engl J Med*. 1985;312(9):529-533.
16. Bruno B, Zager RA, Boeckh MJ, et al. Adenovirus nephritis in hematopoietic stem-cell transplantation. *Transplantation*. 2004;77(7):1049-1057.
17. Garnett CT, Erdman D, Xu W, Gooding LR. Prevalence and quantitation of species C adenovirus DNA in human mucosal lymphocytes. *J Virol*. 2002;76(21):10608-10616.

- 18.Brandt CD, Kim HW, Jeffries BC, et al. Infections in 18,000 infants and children in a controlled study of respiratory tract disease. II. Variation in adenovirus infections by year and season. *Am J Epidemiol.* 1972;95(3):218-227.
- 19.Kampmann B, Cubitt D, Walls T, et al. Improved outcome for children with disseminated adenoviral infection following allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 2005;130(4):595-603.
- 20.Akiyama H, Kurosu T, Sakashita C, et al. Adenovirus is a key pathogen in hemorrhagic cystitis associated with bone marrow transplantation. *Clin Infect Dis.* 2001;32(9):1325-1330.
- 21.Mori K, Yoshihara T, Nishimura Y, et al. Acute renal failure due to adenovirus-associated obstructive uropathy and necrotizing tubulointerstitial nephritis in a bone marrow transplant recipient. *Bone Marrow Transplant.* 2003;31(12):1173-1176.
- 22.Hale GA, Heslop HE, Krance RA, et al. Adenovirus infection after pediatric bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1999;23(3):277-282.
- 23.Chakrabarti S, Collingham KE, Fegan CD, Milligan DW. Fulminant adenovirus hepatitis following unrelated bone marrow transplantation: failure of intravenous ribavirin therapy. *Bone Marrow Transplant.* 1999;23(11):1209-1211.
- 24.Yusuf U, Hale GA, Carr J, et al. Cidofovir for the treatment of adenoviral infection in pediatric hematopoietic stem cell transplant patients. *Transplantation.* 2006;81(10):1398-1404.
- 25.Feuchtinger T, Lang P, Handgretinger R. Adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma.* 2007;48(2):244-255.
- 26.Hierholzer JC. Adenoviruses in the immunocompromised host. *Clin Microbiol Rev.* 1992;5(3):262-274.
- 27.Howard DS, Phillips II GL, Reece DE, et al. Adenovirus infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 1999;29(6):1494-1501.
- 28.Wigger HJ, Blanc WA. Fatal hepatic and bronchial necrosis in adenovirus infection with thymic aplasia. *N Engl J Med.* 1966;275(16):870-874.
- 29.Runde V, Ross S, Trenschele R, et al. 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.* 2001;28(1):51-57.
- 30.La Rosa AM, Champlin RE, Mirza N, et al. Adenovirus infections in adult recipients of blood and marrow transplants. *Clin Infect Dis.* 2001;32(6):871-876.
- 31.van Tol MJD, Kroes ACM, Schinkel J, et al. Adenovirus infection in paediatric stem cell transplant recipients: increased risk in young children with a delayed immune recovery. *Bone Marrow Transplant.* 2005;36(1):39-50.
- 32.Lion T, Baumgartinger R, Watzinger F, et al. Molecular monitoring of adenovirus in peripheral blood after allogeneic bone marrow transplantation permits early diagnosis of disseminated disease. *Blood.* 2003;102(3):1114-1120.

33. Bil-Lula I, Ussowicz M, Rybka B, et al. PCR diagnostics and monitoring of adenoviral infections in hematopoietic stem cell transplantation recipients. *Arch Virol.* 2010;155(12):2007-2015.
34. Guerin-El Khourouj V, Dalle J, Pedron B, et al. Quantitative and qualitative CD4 T cell immune responses related to adenovirus DNAemia in hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011;17(4):476-485.
35. Kullberg-Lindh C, Mellgren K, Friman V, et al. Opportunistic virus DNA levels after pediatric stem cell transplantation: serostatus matching, anti-thymocyte globulin, and total body irradiation are additive risk factors. *Transpl Infect Dis.* 2011;13(2):122-130.
36. Myers GD, Krance RA, Weiss H, et al. Adenovirus infection rates in pediatric recipients of alternate donor allogeneic bone marrow transplants receiving either antithymocyte globulin (ATG) or alemtuzumab (Campath). *Bone Marrow Transplant.* 2005;36(11):1001-1008.
37. Flomenberg P, Babbitt J, Drobyski WR, et al. Increasing incidence of adenovirus disease in bone marrow transplant recipients. *J Infect Dis.* 1994;169(4):775-781.
38. Bruno B, Gooley T, Hackman RC, Davis C, Corey L, Boeckh M. Adenovirus infection in hematopoietic stem cell transplantation: effect of ganciclovir and impact on survival. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2003;9(5):341-352.
39. Chakrabarti S, Mautner V, Osman H, et al. Adenovirus infections following allogeneic stem cell transplantation: incidence and outcome in relation to graft manipulation, immunosuppression, and immune recovery. *Blood.* 2002;100(5):1619-1627.
40. Sivaprakasam P, Carr TF, Coussons M, et al. Improved outcome from invasive adenovirus infection in pediatric patients after hemopoietic stem cell transplantation using intensive clinical surveillance and early intervention. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2007;29(2):81-85.
41. Lankester AC, van Tol MJD, Claas ECJ, Vossen JM, Kroes ACM. Quantification of adenovirus DNA in plasma for management of infection in stem cell graft recipients. *Clin Infect Dis.* 2002;34(6):864-867.
42. Echavarria M, Forman M, van Tol MJ, Vossen JM, Charache P, Kroes AC. Prediction of severe disseminated adenovirus infection by serum PCR. *Lancet.* 2001;358(9279):384-385.
43. Heim A, Ebnet C, Harste G, Pring-Akerblom P. Rapid and quantitative detection of human adenovirus DNA by real-time PCR. *J Med Virol.* 2003;70(2):228-239.
44. Schilham MW, Claas EC, van Zaane W, et al. High levels of adenovirus DNA in serum correlate with fatal outcome of adenovirus infection in children after allogeneic stem-cell transplantation. *Clin Infect Dis.* 2002;35(5):526-532.
45. Feuchtinger T, Lucke J, Hamprecht K, et al. Detection of adenovirus-specific T cells in children with adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 2005;128(4):503-509.
46. Myers GD, Bollard CM, Wu M, et al. Reconstitution of adenovirus-specific cell-mediated immunity in pediatric patients after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2007;39(11):677-686.

47. Zandvliet ML, Falkenburg JHF, van Liempt E, et al. Combined CD8+ and CD4+ adenovirus hexon-specific T cells associated with viral clearance after stem cell transplantation as treatment for adenovirus infection. *Haematologica*. 2010;95(11):1943-1951.
48. Zandvliet ML, van Liempt E, Jedema I, et al. Simultaneous isolation of CD8(+) and CD4(+) T cells specific for multiple viruses for broad antiviral immune reconstitution after allogeneic stem cell transplantation. *J Immunother*. 2011;34(3):307-319.
49. Benjamin DK, JR, Miller WC, Bayliff S, Martel L, Alexander KA, Martin PL. Infections diagnosed in the first year after pediatric stem cell transplantation. *Pediatr Infect Dis J*. 2002;21(3):227-234.
50. Robin M, Marque-Juillet S, Scieux C, et al. Disseminated adenovirus infections after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: incidence, risk factors and outcome. *Haematologica*. 2007;92(9):1254-1257.
51. Anderson EJ, Guzman-Cottrill JA, Kletzel M, et al. High-risk adenovirus-infected pediatric allogeneic hematopoietic progenitor cell transplant recipients and preemptive cidofovir therapy. *Pediatr Transplant*. 2008;12(2):219-227.
52. Matthes-Martin S, Feuchtinger T, Shaw PJ, et al. European guidelines for diagnosis and treatment of adenovirus infection in leukemia and stem cell transplantation: summary of ECIL-4 (2011). *Transpl Infect Dis*. 2012;14(6):555-563.
53. Ljungman P, Ribaud P, Eyrich M, et al. Cidofovir for adenovirus infections after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a survey by the Infectious Diseases Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2003;31(6):481-486.
54. Ison MG. Adenovirus infections in transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 2006;43(3):331-339.
55. Suparno C, Milligan DW, Moss PAH, Mautner V. Adenovirus infections in stem cell transplant recipients: recent developments in understanding of pathogenesis, diagnosis and management. *Leuk Lymphoma*. 2004;45(5):873-885.
56. Xu W, McDonough MC, Erdman DD. Species-specific identification of human adenoviruses by a multiplex PCR assay. *J Clin Microbiol*. 2000;38(11):4114-4120.
57. Ebner K, Suda M, Watzinger F, Lion T. Molecular detection and quantitative analysis of the entire spectrum of human adenoviruses by a two-reaction real-time PCR assay. *J Clin Microbiol*. 2005;43(7):3049-3053.
58. Kidd AH, Jonsson M, Garwicz D, et al. Rapid subgenus identification of human adenovirus isolates by a general PCR. *J Clin Microbiol*. 1996;34(3):622-627.
59. Terletskaia-Ladwig E, Leinmuller M, Schneider F, Meier S, Enders M. Laboratory approaches to the diagnosis of adenovirus infection depending on clinical manifestations. *Infection*. 2007;35(6):438-443.
60. Jeulin H, Salmon A, Bordigoni P, Venard V. Diagnostic value of quantitative PCR for adenovirus detection in stool samples as compared with antigen detection and cell culture in haematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17(11):1674-1680.

61. Vabret A, Gouarin S, Joannes M, et al. Development of a PCR-and hybridization-based assay (PCR Adenovirus Consensus) for the detection and the species identification of adenoviruses in respiratory specimens. *J Clin Virol.* 2004;31(2):116-122.
62. Hoffman JA, Shah AJ, Ross LA, Kapoor N. Adenoviral infections and a prospective trial of cidofovir in pediatric hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2001;7(7):388-394.
63. Blanke C, Clark C, Broun ER, et al. Evolving pathogens in allogeneic bone marrow transplantation: increased fatal adenoviral infections. *Am J Med.* 1995;99(3):326-328.
64. Bordignon P, Carret AS, Venard V, Witz F, Le Faou A. Treatment of adenovirus infections in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis.* 2001;32(9):1290-1297.
65. Baldwin A, Kingman H, Darville M, et al. Outcome and clinical course of 100 patients with adenovirus infection following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2000;26(12):1333-1338.
66. Beck R, Feuchtinger T, Lang P. Abstracts of the 6th Annual Meeting of the European Society for Clinical Virology (ESCV) in collaboration with the 8th Conference on Current Trends on Chronically Evolving Viral Hepatitis. 26-27 August 2003, Lyon, France. *J. Clin. Virol.* 2003;27 Suppl 1:70.
67. Lenaerts L, Naesens L. Antiviral therapy for adenovirus infections. *Antiviral Res.* 2006;71(2-3):172-180.
68. Kinchington PR, Araullo-Cruz T, Vergnes J, Yates K, Gordon YJ. Sequence changes in the human adenovirus type 5 DNA polymerase associated with resistance to the broad spectrum antiviral cidofovir. *Antiviral Res.* 2002;56(1):73-84.
69. Lindemans CA, Leen AM, Boelens JJ. How I treat adenovirus in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Blood.* 2010;116(25):5476-5485.
70. Cundy KC. Clinical pharmacokinetics of the antiviral nucleotide analogues cidofovir and adefovir. *Clin Pharmacokinet.* 1999;36(2):127-143.
71. Morfin F, Dupuis-Girod S, Mundweiler S, et al. In vitro susceptibility of adenovirus to antiviral drugs is species-dependent. *Antivir Ther.* 2005;10(2):225-229.
72. Oliveira CB de, Stevenson D, LaBree L, McDonnell PJ, Trousdale MD. Evaluation of Cidofovir (HPMPC, GS-504) against adenovirus type 5 infection in vitro and in a New Zealand rabbit ocular model. *Antiviral Res.* 1996;31(3):165-172.
73. Chen FE, Liang RH, Lo JY, Yuen KY, Chan TK, Peiris M. Treatment of adenovirus-associated haemorrhagic cystitis with ganciclovir. *Bone Marrow Transplant.* 1997;20(11):997-999.
74. Lankester AC, Heemskerk B, Claas ECJ, et al. Effect of ribavirin on the plasma viral DNA load in patients with disseminating adenovirus infection. *Clin Infect Dis.* 2004;38(11):1521-1525.
75. Gavin PJ, Katz BZ. Intravenous ribavirin treatment for severe adenovirus disease in immunocompromised children. *Pediatrics.* 2002;110(1 Pt 1):e9.
76. Lacy SA, Hitchcock MJ, Lee WA, Tellier P, Cundy KC. Effect of oral probenecid coadministration on the chronic toxicity and pharmacokinetics of

- intravenous cidofovir in cynomolgus monkeys. *Toxicol Sci.* 1998;44(2):97-106.
77. Safrin, Cherrington, Jaffe. Clinical uses of cidofovir. *Rev Med Virol.* 1997;7(3):145-156.
78. Prävention. <http://www.gesundheitsamt-bw.de/oegd/Gesundheitsthemen/Praevention/Seiten/default.aspx>. Updated January 20, 2013. Accessed January 20, 2013.
79. Walls T, Hawrami K, Ushiro-Lumb I, Shingadia D, Saha V, Shankar AG. Adenovirus infection after pediatric bone marrow transplantation: is treatment always necessary? *Clin Infect Dis.* 2005;40(9):1244-1249.
80. Ohrmalm L, Lindblom A, Omar H, et al. Evaluation of a surveillance strategy for early detection of adenovirus by PCR of peripheral blood in hematopoietic SCT recipients: incidence and outcome. *Bone Marrow Transplant.* 2011;46(2):267-272.
81. Greil J, Klein A, Bader P, Ebinger M, Beck R, Bock TC, Feuchtinger T, Blumenstock G, Niethammer D, Handgretinger R, Lang P. Ribavirin prophylaxis and pre-emptive cidofovir treatment protect paediatric stem cell transplant recipients from life-threatening adenovirus infections. *Bone Marrow Transplant.* 2006;37:166.
82. Kalpoe JS, van der Heiden PLJ, Barge RMY, et al. 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.* 2007;78(4):314-321.
83. Lion T, Kosulin K, Landlinger C, et al. Monitoring of adenovirus load in stool by real-time PCR permits early detection of impending invasive infection in patients after allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia.* 2010;24(4):706-714.
84. Omar H, Yun Z, Lewensohn-Fuchs I, et al. Poor outcome of adenovirus infections in adult hematopoietic stem cell transplant patients with sustained adenovirus viremia. *Transpl Infect Dis.* 2010.
85. Leruez-Ville M, Minard V, Lacaille F, et al. Real-time blood plasma polymerase chain reaction for management of disseminated adenovirus infection. *Clin Infect Dis.* 2004;38(1):45-52.
86. Muller WJ, Levin MJ, Shin YK, et al. Clinical and in vitro evaluation of cidofovir for treatment of adenovirus infection in pediatric hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 2005;41(12):1812-1816.
87. Neofytos D, Ojha A, Mookerjee B, et al. Treatment of adenovirus disease in stem cell transplant recipients with cidofovir. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2007;13(1):74-81.
88. Symeonidis N, Jakubowski A, Pierre-Louis S, et al. Invasive adenoviral infections in T-cell-depleted allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: high mortality in the era of cidofovir. *Transpl Infect Dis.* 2007;9(2):108-113.
89. Kinchington PR, Romanowski EG, Jerold Gordon Y. Prospects for adenovirus antivirals. *J Antimicrob Chemother.* 2005;55(4):424-429.
90. Gunther PS, Mikeler E, Hamprecht K, Schneider-Schaulies J, Jahn G, Dennehy KM. CD209/DC-SIGN mediates efficient infection of monocyte-

- derived dendritic cells by clinical adenovirus 2C isolates in the presence of bovine lactoferrin. *J Gen Virol.* 2011;92(Pt 8):1754-1759.
91. Kessler T, Hamprecht K, Feuchtinger T, Jahn G. Dendritic cells are susceptible to infection with wild-type adenovirus, inducing a differentiation arrest in precursor cells and inducing a strong T-cell stimulation. *J Gen Virol.* 2010;91(Pt 5):1150-1154.
92. Heemskerk B, Lankester AC, van Vreeswijk T, et al. Immune reconstitution and clearance of human adenovirus viremia in pediatric stem-cell recipients. *J Infect Dis.* 2005;191(4):520-530.
93. Feuchtinger T, Matthes-Martin S, Richard C, et al. Safe adoptive transfer of virus-specific T-cell immunity for the treatment of systemic adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 2006;134(1):64-76.
94. Bland JM, Altman DG. Calculating correlation coefficients with repeated observations: Part 1--Correlation within subjects. *BMJ.* 1995;310(6977):446.
95. Bland JM, Altman DG. Calculating correlation coefficients with repeated observations: Part 2--Correlation between subjects. *BMJ.* 1995;310(6980):633.
96. Bland JM, Altman DG. Correlation, regression, and repeated data. *BMJ.* 1995;310(6933):446.
97. Wang WH, Wang HL. Fulminant adenovirus hepatitis following bone marrow transplantation. A case report and brief review of the literature. *Arch Pathol Lab Med.* 2003;127(5):e246-8.
98. Johnson PR, Yin JA, Morris DJ, Desai M, Cinkotai KI, McKeogh MM. Fulminant hepatic necrosis caused by adenovirus type 5 following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1990;5(5):345-347.
99. Bertheau P, Parquet N, Ferchal F, Gluckman E, Brocheriou C. Fulminant adenovirus hepatitis after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1996;17(2):295-298.
100. Mori T, Kato J. Cytomegalovirus infection/disease after hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Hematol.* 2010;91(4):588-595.
101. Boeckh M, Leisenring W, Riddell SR, et al. Late cytomegalovirus disease and mortality in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants: importance of viral load and T-cell immunity. *Blood.* 2003;101(2):407-414.
102. Boeckh M. Current antiviral strategies for controlling cytomegalovirus in hematopoietic stem cell transplant recipients: prevention and therapy. *Transpl Infect Dis.* 1999;1(3):165-178.
103. Fried I, Daghofer E, Aberer E. HHV-6 infection - not only tertian fever. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2009;7(3):234-236.
104. Stoeckle MY. The spectrum of human herpesvirus 6 infection: from roseola infantum to adult disease. *Annu Rev Med.* 2000;51:423-43

7. Danksagung

Ich möchte mich hiermit bei Herrn Prof. Dr. med. Gerhard Jahn, Ärztlicher Direktor des Instituts für medizinische Virologie der Universität Tübingen bedanken, der mir die Möglichkeit gegeben hat, diese Arbeit unter seiner Leitung durchzuführen.

Den Herren Dr. med. Robert Beck und Prof. Dr. med. Peter Lang danke ich besonders für die tolle Betreuung und Hilfsbereitschaft. Auch für die mühevollen Arbeit des Korrekturlesens möchte ich mich herzlich bedanken.

Besonderer Dank geht auch an die Sekretariate der Virologie und Pädiatrie/SZT für die stete Hilfsbereitschaft und dem Institut für Medizinische Biometrie für die sehr kompetente Beratung, die wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Bei meinen Eltern, meiner Schwester und meiner Lebenspartnerin möchte ich mich ganz besonders herzlich bedanken für die uneingeschränkte und liebevolle Unterstützung während meines Studiums, ohne die diese Arbeit so nicht möglich gewesen wäre.

