

Virologische Parameter und klinische Daten
im Verlauf von HCMV-Infektionen nach
Stammzelltransplantation in der Pädiatrie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Podolski, Wladislaw

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. G. Jahn

2. Berichterstatter: Professor Dr. E. Tacconelli

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Einleitung | 8 |
| 1.1 | Allgemeine Beschreibung des humanen Cytomegalovirus (HCMV) | 8 |
| 1.1.1 | Historie des Cytomegalovirus | 8 |
| 1.1.2 | Biologische Grundlagen | 8 |
| 1.1.3 | Ablauf der Replikation..... | 10 |
| 1.1.4 | Epidemiologie und Übertragung..... | 11 |
| 1.1.5 | Immunantwort und Klinik | 11 |
| 1.2 | Die hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSCT)..... | 16 |
| 1.2.1 | Komplikationen bei SCT | 17 |
| 1.2.2 | HCMV nach SCT | 20 |
| 1.3 | Therapieansätze bei HCMV | 22 |
| 1.3.1 | Antivirale Therapie..... | 23 |
| 1.3.2 | Therapie mit HCMV-spezifischen T-Zellen..... | 27 |
| 1.3.3 | Therapie mit HCMV-spezifischem Immunglobulin G (Cytotect®)..... | 28 |
| 1.3.4 | Therapiekonzepte am Universitätsklinikum Tübingen (UKT) | 28 |
| 1.4 | Zielsetzung und Fragestellung vorliegender Arbeit..... | 29 |
| 2 | Material und Methoden | 30 |
| 2.1 | Patientenkollektiv und Datenerfassung..... | 30 |
| 2.2 | Parameter und Erfassungszeiträume..... | 33 |
| 2.3 | Untersuchungsmaterialien und Nachweismethoden..... | 35 |

| | | |
|-------|--|-----|
| 2.4. | Statistische Auswertung | 35 |
| 3 | Ergebnisse..... | 38 |
| 3.1 | Allgemeines | 38 |
| 3.1.2 | Transplantationsart, Konditionierung, Engraftment..... | 39 |
| 3.1.3 | HLA-Übereinstimmung und HCMV-Serologie..... | 39 |
| 3.1.4 | HCMV-Reaktivierung | 40 |
| 3.1.5 | GvHD | 41 |
| 3.1.6 | Mortalität nach der hämatopoetischen SCT | 41 |
| 3.1.7 | Koinfektionen zum Zeitpunkt der HCMV-DNAämie | 43 |
| 3.2. | Korrelationsanalyse..... | 44 |
| 3.2.1 | Stichprobenartige Korrelationen des Gesamtkollektivs | 44 |
| 3.2.2 | Gewichtete Korrelation des Gesamtkollektivs..... | 51 |
| 3.2.3 | Zusammenfassung der Ergebnisse der Korrelationsanalyse | 65 |
| 3.3 | Wirksamkeit antiviraler Therapie..... | 66 |
| 4 | Diskussion | 111 |
| 4.1 | Allgemeines | 111 |
| 4.2 | Risikofaktoren nach einer SCT | 114 |
| 4.3 | Interpretation der Korrelationsanalyse | 117 |
| 4.4 | Evaluation der antiviralen Therapie | 119 |
| 5 | Zusammenfassung..... | 123 |
| 6 | Literaturverzeichnis | 125 |

| | | |
|-----|---|-----|
| 7 | Anhang | 133 |
| 7.1 | Abbildungsverzeichnis | 133 |
| 7.2 | Tabellenverzeichnis..... | 133 |
| 7.3 | Diagrammverzeichnis | 133 |
| 8 | Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift..... | 135 |
| 9 | Lebenslauf | 136 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|------|----------------------------------|
| - | negativ |
| + | positiv |
| ADV | Adenovirus |
| ALL | akute lymphatische Leukämie |
| AML | akute myeloische Leukämie |
| ATG | Antithymozyten-Globulin |
| ATh | Azathioprin |
| AZ | Allgemeinzustand |
| BMT | bone marrow transplantation |
| BSN | Busulfan |
| CBP | Carboplatin |
| CML | chronische myeloische Leukämie |
| CPM | Cyclophosphamid |
| CRP | C-reaktives Protein |
| CSA | Cyclosporin A |
| D | Donor |
| df | degrees of freedom |
| DNA | deoxyribonucleic acid |
| EBV | Eppstein Barr Virus |
| FLUD | Fludarabin |
| GOT | Glutamat-Oxalacetat-Transaminase |
| GPT | Glutamat-Pyruvat-Transaminase |
| γ-GT | Gamma-Glutamyl-Transferase |
| GvHD | Graft-versus-Host-Disease |
| HCMV | humanes Cytomegalievirus |
| HSV | Herpes simplex Virus |
| IFN | Interferon |
| IgG | Immunglobulin G |
| IgM | Immunglobulin M |
| LDH | Laktatdehydrogenase |
| MDS | Myelodysplastisches Syndrom |

| | |
|---------------|--|
| MHC | major histocompatibility complex |
| MLP | Melphalan |
| MMF | Mykophenolatmofetil |
| MPDL | Methylprednisolon |
| NK-Zellen | Natürliche Killerzellen |
| OKT-3 | Muromonab |
| PBSCT | Peripheral blood stem cell transplantation |
| PDL | Prednisolon |
| pp65 | Phosphoprotein, Molmasse 65 kDa |
| R | Recipient |
| RFLP | Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus |
| SCID | Severe combined immunodeficiency disease |
| SCT | stem cell transplantation |
| TBI | total body irradiation |
| TLI | total lymphoid irradiation |
| TNF- α | Tumornekrosefaktor- α |
| TSF | Treosulfan |
| TTP | Thiotepa |
| VOD | veno occlusive disease |
| VP-16 | Etoposid |
| VZV | Varicella Zoster Virus |
| Z. n. | Zustand nach |

1 Einleitung

1.1 Allgemeine Beschreibung des humanen Cytomegalovirus (HCMV)

1.1.1 Historie des Cytomegalovirus

Die Erstbeschreibung des HCMV erfolgte durch den deutschen Pathologen Hugo Ribbert im Jahr 1881. H. Ribbert entdeckte hypertrophe Zellen im Obduktionsmaterial eines tot geborenen luischen Kindes, die er später als "protozoenartige Zellen" beschrieb (Ribbert H 1904). In den nächsten drei Jahrzehnten wurden zahlreiche ähnliche Beobachtungen veröffentlicht. 1921 prägten Talbot und Goodpasture erstmals den Begriff "Zytomegalie" aufgrund der morphologischen Veränderungen.

Im Jahr 1925 stellten Von Glahn und Pappenheimer die Vermutung auf, dass die Ursache für die charakteristischen Veränderungen wie die Riesenzellen mit Einschlusskörperchen viral bedingt sein könnte. Sie bezogen sich auf die von Lipschuetz entdeckten ähnlichen Zellveränderungen bei einem mit Herpes zoster und Herpes genitalis erkrankten Mann.

Aufgrund häufiger Manifestation in den Speicheldrüsen der Kinder wurde das Krankheitsbild 1932 von Farber und Wohlbach als die "Speicheldrüsen-Viruskrankheit" definiert (Kinney TD 1942). Die endgültige Aufklärung der Virusätiologie wurde erst durch die Arbeiten von M. Smith, W.P. Roewe und T.H Weller durch die Virusisolierung in den Jahren 1956/57 belegt, wobei die erste elektronenmikroskopische Darstellung der Viruspartikeln Minder bereits 1953 gelang. Für die endgültige Namensgebung "Cytomegalovirus" war der amerikanische Virusforscher und Nobelpreisträger Thomas H. Weller verantwortlich (Craig JM 1957).

1.1.2 Biologische Grundlagen

Das humane Cytomegalovirus (HCMV) gehört zusammen mit Herpes-simplex-Virus Typ 1 und 2 (HSV-1/2), Varizella-Zoster-Virus (VZV), Epstein-Barr-Virus (EBV), Roseolavirus und Kaposi-Sarkom-assoziiertes Herpesvirus (KSHV) zu den humanpathogenen Herpesviren. Das HCMV entspringt der Familie der Her-

pesviridae, der Subfamilie der β -Herpesvirinae. Eine langsame Replikationsrate in der Zellkultur und ein enges Wirtsspektrum sind die typischen Merkmale für Vertreter dieser Subfamilie.

Das lineare doppelsträngige DNA-Genom mit ca. 235 Kilobasenpaaren, welches für etwa 165 Gene kodiert (Murphy E 2008), wird von ikosaedrischem Kapsid (Durchmesser 100-110 nm, 162 Kapsomeren) umschlossen. Mit einem Molekulargewicht von ca. $150 \cdot 10^6$ Dalton (Da) ist das Genom das größte der 8 humanpathogenen Herpesviren (Fleckenstein B 1982).

Nach außen wird das Kapsid von einer Hülle umgeben, die aus einer zellulären Lipid-Membran und viralen Matrixproteinen besteht. Zusätzlich sind Glykoproteine in die Hülle eingelassen, die eine wichtige Rolle bei der Adsorption, Fusion und Freisetzung des Kapsids in die Wirtszelle spielen (Mocarski E.S. 2013). Die Hülle stellt zwar eine Schutzfunktion vor Angriffen des Immunsystems dar, macht es aber anfälliger für organische Lösungsmittel, Detergentien und Austrocknung. Zwischen der Lipidhülle (Envelope) und dem Kapsid befindet sich das Tegument, das unter anderem das Matrixprotein pp65 enthält. Epitope des pp65 Antigens werden von MHC-Klasse-I-Molekülen (MHC engl. Major Histocompatibility Complex) infizierter Zellen präsentiert und sind damit Hauptzielstrukturen für zytotoxische T-Zellen (Wills MR 1996).

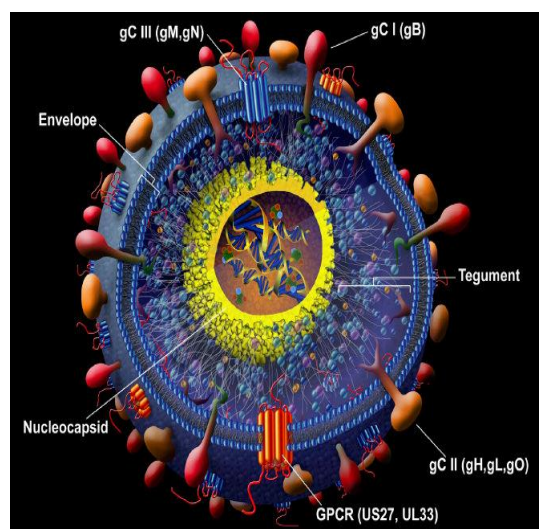


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Virionstruktur des Cytomegalovirus (aus: Streblow et al., 2006 in M. Reddehase)

1.1.3 Ablauf der Replikation

Die HCMV-Replikation findet ausschließlich im menschlichen Körper statt und weist einen immensen Zell- und Gewebstropismus auf. Nach der histopathologischen Aufarbeitung konnte man im Zuge zahlreicher Autopsiestudien in folgenden Organen Riesenzellen mit Einschlusskörperchen (zytopathogener Effekt) nachweisen: in den Speicheldrüsen, in der Lunge, in der Leber, im Pankreas, in der Niere und Nebenniere, in den Augen, in den Ohren, in der Plazenta, im Gastrointestinaltrakt, im Herz, den Ovarien, im Hirn, der Haut und in den Endothelzellen (Sinzger C 2008).

Der Replikationszyklus läuft in mehreren Schritten ab und ist aufgrund seiner Komplexität bis heute, nicht vollständig entschlüsselt. Die Adsorption und Fusion einzelner Virionen findet durch eine Interaktion der in der Virushülle verankerten Glykoproteine gB, gH und gL mit den Oberflächenstrukturen der Zielzelle statt.

Das ins Zytoplasma freigesetzte Nukleokapsid wird nun mit anschließender Einschleusung in den Zellkern entlang der Mikrotubuli an die Kernporen transportiert. Nach dem Eintritt in den Zellkern kommt es zu kaskadenartiger regulierter Expression unterschiedlicher Gengruppen. Im ersten Schritt werden sehr frühe (Immediate-early, IE) Gene transkribiert, deren Produkte nach anschließender Translation selbst als Transaktivatoren funktionieren (Chen J 2002). Sie bewirken die Expression von frühen (early, E) Genen, greifen in den Regulationszyklus der Zelle ein und können als Marker (Phosphoprotein, pp65) zur Diagnostik einer frühen Infektion verwendet werden (Boeckh M 2009). Zu den Produkten der frühen Proteine gehört die HCMV-kodierte DNA-Polymerase, die die eigentliche Genomreplikation in Gang setzt. Die späten (late, L) Gene kodieren vor allem Strukturproteine, die für das Kapsidgerüst notwendig sind. Im Anschluss wird der Replikationszyklus durch den Vorgang der Zusammenführung des Genoms mit dem Kapsid, der primären (innere Kernmembran) und sekundären (Golgi-Apparat) Umhüllung sowie durch die Freisetzung des reifen Viruspartikels komplettiert (Doerr H.W 2009). Allgemein wird das Cytomegalovirus als langsam in vitro replizierendes Virus beschrieben. Entgegen dieser Charakteristik beobachten Emery et al. bei immunsupprimierten Patienten eine Ver-

dopplungszeit in vivo von nur einem Tag. Diese Tatsache hat große Auswirkungen auf die Wirksamkeit, Dosierung und Dauer der antiviralen Chemotherapie in Bezug auf eine wirksame Behandlung der HCMV-Infektion/ -Erkrankung (Emery VC 1999).

1.1.4 Epidemiologie und Übertragung

Die HCMV-Seroprävalenz steht im engen Zusammenhang mit dem sozio-ökonomischen Status (Schulbildung, Krankenversorgung, geographische Lokalisation, Beziehungsstatus und Familiengröße) und Alter der Bevölkerung und variiert je nach Daten zwischen 50-90% (Staras SA 2006). Unter der Allgemeinbevölkerung der Industrieländer verläuft die HCMV-Ansteckung in zwei Phasen:

- der erste Gipfel tritt in den ersten zwei bis drei Lebensjahren (Reynolds DW 1973) durch perinatale oder frühpostnatale Infektion bei engem Körperkontakt auf und
- der zweite Gipfel mit der Aufnahme der sexuellen Aktivität zwischen dem 16. und 30. Lebensjahr (Staras SA 2008).

Mit zunehmendem Alter nimmt die Frequenz der Seroprävalenz in der Bevölkerung zu (Krech U 1971).

Als Übertragungsweg dient der direkte Kontakt zu infektiösen Körpersekreten wie Speichel, Urin, Genitalsekreten, Blutprodukten und Organtransplantaten. Zu den möglichen Eintrittspferten zählen Epithelien des Urogenitaltrakts, des Gastrointestinaltrakts sowie der Atemwege. Die kongenitale Form (0,2-1% aller Lebendgeburten) ist die häufigste infektiöse Ursache bei Kindern für geistige Behinderung und Hörstörungen (Jong MD 1998).

1.1.5 Immunantwort und Klinik

Bei immunkompetenten Personen verläuft die HCMV-Primärinfektion in den meisten Fällen inapparent. Eine Primärinfektion ist als erstmaliges Auftreten einer HCMV-Infektion bei vorher seronegativen Patienten definiert. Der serolo-

gische Nachweis einer Virusinfektion beruht auf der spezifischen Immunantwort eines Patienten mit Bildung HCMV-spezifischer Antikörper des Typs IgM, die in der frühen Phase der Infektion gebildet werden (Ljungman P 2002a).

Eine in Großbritannien durchgeführte retrospektive Studie erfasste die Symptome von 7630 immunkompetenten Patienten, die sich in einem Zeitraum zwischen 1998 bis 2001 bei einem Hausarzt oder in der Klinik vorgestellt haben. Innerhalb dieses Patientenkollektivs wurde bei 124 Patienten eine Primärinfektion laborchemisch (HCMV-spezifischer IgM-Spiegel von > 300 U/ml) unter Ausschluss des Epstein-Barr-Virus, von Hepatitis A, Antikörpern gegen Hepatitis B-Core-Antigen, Toxoplasma gondii IgM-Antikörpern und des Rheumafaktors diagnostiziert. Als die häufigsten Symptome wurden Fieber (von $37,2-40,0$ °C) mit Schweißausbrüchen, Lymphadenopathie, Hepatitis mit einer Erhöhung der Transaminasen (GPT von $23-1151$ U/L, AP von $44-1342$ U/L und Bilirubin $6-349$ mmol/L), Myalgien, Pharyngitis mit Atembeschwerden, Unwohlsein mit abdominalen Beschwerden, Durchfällen und Gewichtsverlust beschrieben. Die Symptomdauer betrug im Durchschnitt ca. 7,8 Wochen (Wreghitt TG 2003). Bei symptomatisch gewordenen Kindern mit kongenitaler HCMV-Infektion wurden folgende klinische und laborchemische Auffälligkeiten beobachtet: Petechien, Ikterus, Hepatosplenomegalie, Mikrozephalie, intrauterine Wachstumsretardierung, GOT-Erhöhung (> 80 U/L), konjugierte Hyperbilirubinämie (direktes Bilirubin > 4 mg/dl), Thrombozytopenie (< 100000 /mm³) sowie Liquorprotein-erhöhung (120 mg/dl) (Hamprecht K 2007). Wie bei allen Herpesviren geht eine HCMV-Primärinfektion in die Latenzphase über und persistiert anschließend lebenslang in dem Wirtsorganismus. Allerdings kann im späteren Verlauf bei einer Kompromittierung des Immunsystems eine erneute Reaktivierung auftreten (siehe Abbildung 2). Der Unterschied zur Reinfektion ist ein weiterer, durch Genom-Sequenzierung nachgewiesener Virusstamm im Wirtsorganismus, der sich vom ursprünglichen unterscheidet (Ljungman P 2002a). Das zelluläre Verbleiben des HCMV während der Latenzphase ist bis heute nicht genau bekannt. Als Reservoir werden vor allem Vorläuferzellen verschiedener myelomonocytyären Zellen diskutiert (Sinclair J 2006).

Der erste Kontakt mit dem Immunsystem erfolgt unmittelbar nach einer Primärinfektion durch die Natürlichen Killerzellen (NK-Zellen), die einen Teil des angeborenen Immunsystems darstellen. Diese sind in der Lage, virusinfizierte Zellen durch Zytolyse zu zerstören und mit der Ausschüttung des IFN- γ die nachfolgende adaptive Antwort positiv zu beeinflussen. Die zytotoxische Aktivität wird durch inhibierende und aktivierende Rezeptoren reguliert, die mit MHC-Klasse-I-Molekülen auf der Oberfläche der Zielzellen interagieren. Bei virusinfizierten Zellen kommt es zur veränderten Expression der MHC-I-Moleküle. Dies wird von den NK-Zellen erkannt und eine Zytolyse eingeleitet (Polić B 1998). Eine außerordentlich wichtige Rolle wird der CD4⁺- und CD8⁺-T-Zell-vermittelten Immunantwort für das Abklingen der Akutinfektion zugeschrieben.

Die CD8⁺-Effektorzellen sind in der Lage, antigenbeladene MHC-I-Moleküle infizierter bzw. antigenpräsentierender Zellen zu erkennen und anschließend über komplexe Signalwege deren programmierten Zelltod einzuleiten. Außerdem werden von CD8⁺ T-Zellen IFN- γ und TNF- α produziert, die zum einen für eine verstärkte Expression von MHC-I/II-Molekülen sorgen und zum anderen für eine aktivierende Wirkung der Makrophagen verantwortlich sind.

Eine wesentliche Rolle der CD4⁺ T-Zellen besteht in der Produktion von Zytokinen (IFN- γ und IL-4/5) und Aktivierung der B-Lymphozyten, die sich anschließend zu antikörperproduzierenden Plasmazellen differenzieren. Allerdings hat sich das HCMV im Laufe der Evolution unterschiedliche Schutzmechanismen angeeignet, um sich der Immunantwort zu entziehen (Immunevasion). Dabei handelt es sich um folgende Strategien:

- Herunterregulation der MHC-I- und MHC-II-Moleküle, um das Erkennen durch die T-Zellen zu entgehen (Hengel H 1999)
- Aufhalten der Prozessierung neu gebildeter viraler Proteine durch das Proteasom sowie des intrazellulären Transports der Antigenpeptide oder deren Präsentation an der Zelloberfläche durch die Ausschüttung von IL-10 (Mocarski ES Jr. 2004)
- Expression von eigenen MHC-ähnlichen Proteinen um sich vor der Erkennung durch NK-Zellen zu schützen (Fahnestock ML 1995)

Eine frühe Entwicklung der HCMV-spezifischen CD4⁺- und CD8⁺- T-Zellen ist bei immunkompetenten Patienten entscheidend für eine effiziente Kontrolle der Infektion. Denn eine frühzeitige T-Zellrekonstitution nach einer Stammzelltransplantation (SCT) führt zum deutlich niedrigeren Risiko eine HCMV-Erkrankung zu entwickeln. Reusser et al. gelang es, eine signifikante Korrelation zwischen CD8⁺-T-Zellen und der Viruslast nachzuweisen (Reusser P 1997).

Allerdings können im Falle einer vorher stattgefundenen T-Zelldepletion bis zu 2 Jahre vergehen, bis eine volle Funktionalität der B- und T-Zellen nach einer SZT erreicht wird (Ho VT 2001). Aufgrund dieser Tatsache ist die Stellung der NK-Zellen (Regenerationszeit innerhalb des ersten Monats) in der Posttransplantationsphase besonders hervorzuheben (Lamb LS Jr 1998). In diesem Zeitraum ist der Patient für einen Rezidiv der Grunderkrankung oder eine systemische Infektion mit einem fulminanten Verlauf besonders gefährdet. Aus diesem Grund ist ein engmaschiges HCMV-Monitoring in den ersten Monaten unverzichtbar.

Im zeitlichen Verlauf weist die HCMV-Erkrankung zwischen Tag +30 und +100 sowie nach Tag +100 post transplantationem („late-onset“ Erkrankung) zwei Gipfel auf (Boeckh M 2003). Durch antivirale Prophylaxe und Einführung einer Frühinterventionstherapie, basierend auf hochsensitiven Verfahren zum Nachweis des HCMV, nimmt die klinisch manifeste „late-onset“ Erkrankung zu (Einsele H 2001). Der immungeschwächte Zustand post transplantationem bietet dem Cytomegalovirus eine optimale Umgebung, sein volles pathogenes Potential entfalten zu können. Um eine sichere Diagnostik und frühzeitige antivirale Therapie in der Transplantationsmedizin bei HCMV-Endorganerkrankungen zu gewährleisten, werden von Ljungman et al. folgende Begriffsdefinitionen festgelegt (Ljungman P 2002a):

HCMV-Pneumonie

Radiologische und/ oder klinische Zeichen einer Lungenerkrankung bei gleichzeitiger Detektion aus der bronchoalveolären Lavage (BAL) oder Lungenbiopsie mittels Virusisolierung.

HCMV-Gastrointestinalerkrankung

Kombination aus klinischen Zeichen des oberen und/ oder unteren GIT, endoskopischem Nachweis und gleichzeitigem Nachweis aus einer Biopsie.

HCMV-Hepatitis

Bilirubin- und/ oder Transaminasenerhöhung bei gleichzeitigem Nachweis der HCMV Infektion in einem Leberbiopsat.

Zusätzlich werden folgende weitere Endorgan-Manifestationen definiert:

- Retinitis
- Enzephalitis
- Nephritis
- Zystitis
- Myokarditis
- Pankreatitis
- HCMV Syndrom

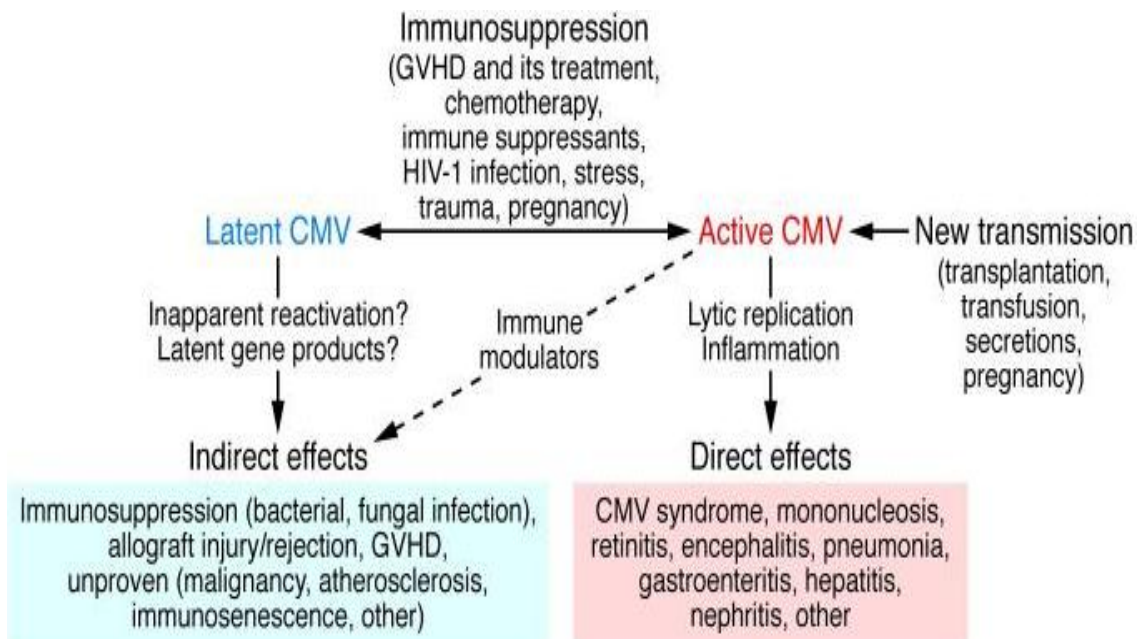


Abbildung 2: Graphische Darstellung der Ursachen und Auswirkungen einer HCMV-Infektion (Boeckh M 2011b).

1.2 Die hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSCT)

Erst mit Identifizierung und Typisierung des Haupthistokompatibilitätskomplexes (Synonym: HLA - human leucocyte-associated antigens) in den 60er Jahren gelang es erstmals, eine hämatopoetische Stammzelltransplantation durchzuführen. Heute stellt sie in Behandlung hämatoonkologischer und nicht maligner Erkrankungen des Knochenmarks und des Immunsystems die vielversprechendste kurative Therapieform dar (Copelan EA. 2006).

Der MHC umfasst eine Gruppe von Genen, die auf dem Chromosom 6 lokalisiert sind. Diese codieren Histokompatibilitäts-Antigene, die als körpereigene Antigene auf Oberflächen der Körperzellen präsentiert werden und somit zur Identifikation der körpereigenen Zellen dienen. Unter diesem Aspekt ist eine Mindestübereinstimmung der HLA-Merkmale (HLA-A, HLA-B und HLA-DRB1 und DQB1) (Mickelson EM 2002) für eine erfolgreiche SCT von entscheidender Bedeutung. Polygenie und starker Polymorphismus sind für eine immense Vielfalt an verschiedenen HLA-Typen verantwortlich. HLA-Moleküle werden als Haplotypen vererbt, d.h. Geschwister haben eine ca. 25%-ige Wahrscheinlichkeit HLA-identisch zu sein. Die höchste Histokompatibilitätsantigen-Übereinstimmung weisen eineiige Zwillinge auf.

Steht kein HLA-identischer Spender zur Verfügung, ist es mit heutigen Aufbereitungsmethoden wie CD34⁺/CD133⁺-Selektion und CD3⁻/CD19⁻-Zelldepletion möglich, die Stammzellen eines haploidenten Familienspenders zu verwenden (Lang P 2005).

Zur Gewinnung der Stammzellen stehen heute unterschiedliche Methoden zur Verfügung. Grundsätzlich wird zwischen autologer und allogener SCT unterschieden. Bei autologer SCT werden dem Patienten zuerst während einer Remissionsphase der Grunderkrankung körpereigene Stammzellen entnommen, diese werden dann aufbereitet und zu einem späteren Zeitpunkt reinfundiert. Die Indikation für eine autologe SCT wird vor allem bei Myelom, AML, NHL und Autoimmunerkrankungen gestellt (Passweg JR 2014).

Die Stammzellen für eine allogene Transplantation können entweder aus dem Knochenmark (BMT), aus peripherem Blut (PBSCT) oder aus postpartalem Nabelschnurblut extrahiert werden.

Dabei ist die PBSCT aufgrund einer großen Anzahl an T-Zellen mit höherer Inzidenz für eine chronische Transplantat gegen Wirt Erkrankung (GvHD) assoziiert (Cutler C 2001). Der Stammzellengewinnung aus dem Nabelschnurblut wird wegen der hohen Zellunreife eine große expansive Potenz zugesprochen. Außerdem wird eine geringere HLA-Kompatibilität besser toleriert (Lee OK 2004). Jedoch ist die Ausbeute der CD34⁺-Progenitorzellen stark limitiert.

Bevor die gewonnenen Stammzellen transplantiert werden können, erfolgt eine Konditionierungstherapie. Diese beinhaltet eine Hochdosischemotherapie, teils in Verbindung mit Bestrahlung des lymphatischen Gewebes (TLI) oder des ganzen Körpers (TBI), die zur Eradikation maligner Zellen und zur effektiven Suppression des patienteneigenen Immunsystems verabreicht wird. Anschließend erfolgt der bereits genannte Transfer aufbereiteter Stammzellen.

1.2.1 Komplikationen bei SCT

Akute Komplikationen wie Infektionen, akute und chronische GvHD oder Venenverschlusserkrankung der Leber (VOD) können entscheidende Hindernisse einer erfolgreichen SCT sein. Als Folge einer myeloablativen Therapie, die mit einer Neutropenie einhergeht, ist die Mukositis zu nennen. Es ist die häufigste Komplikation im Bereich des Oropharynx und des Magen-Darm-Traktes, die einen Einsatz von Morphin und parenteraler Ernährung notwendig macht.

Aufgrund der insuffizienten Immunantwort können sowohl virale Infektionen (Herpesfamilie, Adenovirus) reaktiviert werden, als auch bakterielle Infektionen schwerwiegende Probleme verursachen. In 65-75% der Fälle handelt es sich um grampositive Bakterien, wobei gramnegative mit höherer Morbidität und Mortalität assoziiert sind. Allgemein fallen Infektionen bei immunsupprimierten Patienten hinsichtlich der Dauer und der Intensität ausgeprägter aus (Einsele H 2001).

Als weitere gefürchtete Komplikation ist die GvHD anzuführen. Dabei greifen die alloreaktiven Lymphozyten des Spenders, die primär HLA-Unterschiede

zwischen Spender und Empfänger erkennen, die wirtseigenen Zellen an (siehe Abbildung 3). Die Inzidenz für eine akute GvHD liegt bei einem HLA-identen Geschwisterspender bei ca. 20-50% und bei einem nicht HLA-identen Geschwisterspender bzw. HLA-identen Fremdspender bei ca. 50-80% (Tabbara IA 2002). Am häufigsten sind Organe wie Haut (Exanthem, Erythrodermie), Darm (Enteritis mit Diarrhö > 20/24 Stunden) und Leber (Hepatitis) betroffen. Es wird die akute von der chronischen Form unterschieden: Eine akute GvHD, deren Ausprägung in Schweregrade (Glucksberg-Seattle-Kriterien Glucksberg H 1974) eingeteilt werden kann (siehe Abbildung 4 und 5), tritt in den ersten zwei Monaten auf, während eine chronische GvHD sich erst später in der Posttransplantationsphase manifestiert (Ferrara J 2009). Von Nash et al. werden folgende Risikofaktoren für eine akute GvHD beschrieben:

- geringe HLA-Übereinstimmung
- unterschiedliches Geschlecht zwischen Spender und Empfänger
- vorhergehende Schwangerschaft des Spenders
- vorangegangene Infektion des Spenders mit Herpesviren
- ungenügende GvHD-Prophylaxe (Nash RA 1992).

Zur Prophylaxe bzw. Behandlung einer GvHD sind Medikamente mit einer immunsuppressiven Wirkung indiziert. Zu den typischen Immunsuppressiva, die sich im Alltag bewiesen haben, gehören:

- Cyclosporin A (CSA),
- Mycophenolatmofetil (MMF) (Nash RA 2005),
- Methotrexat (MTX),
- und Tacrolimus (Nash RA 1995).

Als weitere Maßnahmen sind die T-Zelldepletion und -reduktion mit Verabreichen verschiedener Antikörperpräparate festzuhalten:

- Antithymozytenglobulin (ATG) (van Bacigalupo A 2006)
- monoklonale AK gegen T-Zell-Rezeptor CD3 (OKT3)
- monoklonale AK gegen CD52 (Alemtuzumab) (Shah AJ 2007).

Bei der akuten GvHD Therapie sind Glukokortikosteroide Mittel der ersten Wahl (Martin PJ 1990). Bei steroidrefraktärer akuten GvHD ist der Einsatz von MMF (Krejci M 2005), ATG bzw. IL-2 oder TNF- α Antikörpern indiziert. Allerdings führen die T-Zelldepletion und die Gabe der Immunsuppressiva zu einer herabgesetzten Immunrestitution und erhöhten Infektanfälligkeit.

Vor allem die Hochdosischemotherapie in Verbindung mit einer Bestrahlung ist mit einer weiteren Komplikation verbunden: der Venenverschlusserkrankung (VOD). Dabei entsteht aufgrund eines Endothelschadens und Thrombosierungen (Pathomechanismus unbekannt) ein Verschluss der Lebervenen und eine daraus resultierende Hepatomegalie mit Ikterus und Aszites (McDonald GB 1993).

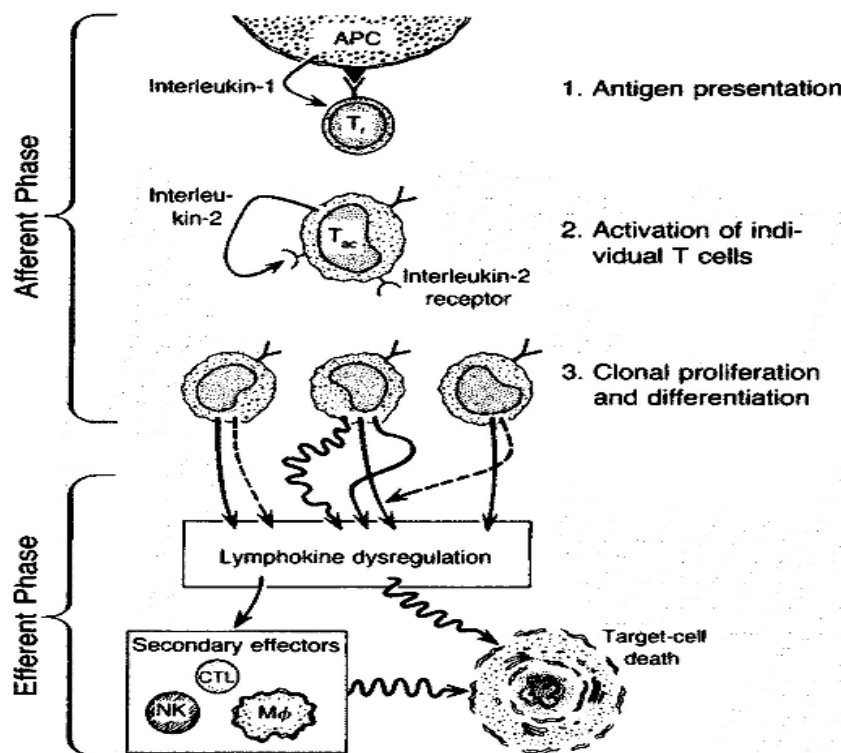


Abbildung 3: Graphische Darstellung des Mechanismus zur Entwicklung einer Graft-versus-Host Erkrankung (Ferrara J 2009)

| Grad der GvHD | Ausmaß der Organbeteiligung | | |
|---------------|---|---|---|
| | Haut | Leber: Bilirubinkonzentration [mg/dl] | Darm |
| I | Exanthem über < 25% der Körperoberfläche | 2 - 3 | Diarrhö > 300 ml/m ² /Tag |
| II | Exanthem über 25–50% der Körperoberfläche | 3,1 - 6 | Diarrhö > 600 ml/m ² /Tag |
| III | Generalisierte Erythrodermie | 6,1 - 5 | Diarrhö > 850 ml/m ² /Tag |
| IV | Generalisierte Erythrodermie mit Blasenbildung | > 15 | Diarrhö 1200 ml/m ² /Tag oder schwere abdominale Schmerzen mit oder ohne Ileus |

Abbildung 4: Einteilung der akuten GvHD nach befallenem Organsystem (Sauer M. 2007).

| Stadium | Haut | Leber | Darm | Körperliche Beeinträchtigung |
|---------|------|-------|--------------|------------------------------|
| I | 1-2 | 0 | 0 | keine |
| II | 1-3 | 1 | und/oder 1 | wenig |
| III | 2-3 | 2-3 | und/oder 2-3 | deutlich |
| IV | 2-4 | 2-4 | und/oder 2-4 | schwer |

Abbildung 5: Gesamtstadium der akuten GvHD (Sauer M. 2007).

1.2.2 HCMV nach SCT

Bis heute gehört eine HCMV-Infektion und -Erkrankung im Anschluss an eine SCT zu den gefürchteten Komplikationen, die mit hoher Morbidität und Mortalität assoziiert sind. Um die risikogefährdeten Patienten rechtzeitig zu identifizieren und eine Unter- bzw. Übertherapie zu vermeiden, wurden zahlreiche Studien durchgeführt. Aus heutiger Sicht machten die verbesserten Strategien im Bereich der Diagnostik und Therapie der letzten 20 Jahre möglich, die aktuelle Inzidenzrate einer HCMV-Erkrankung nach einer SCT auf 5-10% zu senken

(Zaia JA. 2002; Boeckh M 2004). In der Vielzahl der durchgeführten Studien variieren die Angaben zu den Risikofaktoren und werden kontrovers diskutiert. Allerdings wird von allen Autoren der HCMV-Serostatus des Spenders ($D^+/-$) und des Empfängers ($R^+/-$) als der Hauptrisikofaktor benannt. Beim seronegativen Patienten (R^-) empfiehlt es sich, nach Möglichkeit die Stammzellen und die notwendigen leukozytendepletierten Blutprodukte ebenfalls vom seronegativen Spender zu transferieren. Damit wird die Wahrscheinlichkeit einer HCMV-Infektion auf 0,5-1,5% gesenkt (Bowden RA 1995; Bowden RA 1991; Ljungman P 2002b). Das HCMV-Übertragungsrisiko nach einer SCT vom seropositiven Spender auf einen seronegativen Empfänger wird in der Literatur mit 20-30% angegeben (Trenschel 2000). Nichols et al. haben in ihrer Studie gezeigt, dass seronegative Patienten nur unter Berücksichtigung des Serostatus beim seropositiven Spender eine höhere Mortalitätsrate aufweisen (D^+/R^- 18,3%, D^-/R^- 9,7%) (Nichols WG 2002). In einer multivariaten Analyse haben Ljungman et al. eine akute GvHD Grad II-IV und den Transfer der Stammzellen vom seronegativen Spender auf den seropositiven Empfänger als signifikante Risikofaktoren identifiziert und damit die Daten der Studie von Miller et al. aus dem Jahr 1986 bestätigt (Ljungman P 2006; Miller W 1986). Emery et al. haben in ihrer Studie demonstriert, dass die initiale Viruslast, die Wachstumsrate und der Viruslast-peak ebenfalls eine wesentliche Rolle bei der Manifestation der HCMV-Erkrankung spielen. (Emery VC 2000). Außerdem werden folgende Risikofaktoren für eine HCMV-Infektion diskutiert:

- myeloablative Therapie
- Patientenalter (> 20) (Holmberg LA 1999)
- HLA-Inkompatibilität und fehlende Verwandtschaft (Einsele H 2001)
- Art und Dauer der Immunsuppression (Cope AV 1997)
- Alemtuzumab (Martin SI 2006)
- in vivo T-Zelldepletion (Gor D 1998; Holmberg LA 1999)

1.3 Therapieansätze bei HCMV

Grundsätzlich werden mit dem Einsatz der Virustatika drei unterschiedliche Strategien verfolgt, die sich in der Dauer, Intensität und Art der antiviralen Medikation unterscheiden. Die einzelnen Dosierungen für die Prophylaxe, präemptive Therapie und Behandlung einer manifesten Erkrankung sind in der Abbildung 6 zusammengefasst.

Die antivirale Prophylaxe der HCMV-Erkrankung wird vor allem bei sogenannten Hochrisikopatienten durchgeführt. Dabei werden antivirale Medikamente so lange verabreicht, bis die Intensität der immunsuppressiven Therapie reduziert werden kann. Der Patient weist zu diesem Zeitpunkt keine virusassoziierte Symptomatik auf und es liegt auch kein positiver Virusnachweis vor (Ljungman P 2004).

Eine präemptive oder frühinterventionelle Therapie ist in der Regel nach einer Erfassung akuter Virämie indiziert. Als Grundlage für diese Strategie dient die Erkenntnis, dass vom Beginn einer manifesten Erkrankung das Virus bereits einige Wochen zuvor im Blut des Patienten nachweisbar ist (Einsele H 2001).

Therapeutische Behandlungsansätze manifester HCMV-Erkrankung sind der präemptiven Therapie ähnlich.

Zurzeit befinden sich auf dem Markt einige antiviral wirksame Medikamente. Darunter befinden sich viele, deren therapeutischer Nutzen in vielen Studien bereits überprüft und getestet ist, aber auch einige, die noch erprobt werden. Alle diese Medikamente weisen unerwünschte Arzneimittelwirkungen auf und bedürfen einer individuellen Dosisanpassung.

| Therapeutikum | Prophylaxe | Präemptive Therapie | Behandlung einer manifesten Erkrankung |
|---------------|---|---|---|
| Aciclovir | 3x 500 mg/m ² tägl. i.v. oder 5x 800 mg tägl. p.o | - | - |
| Valaciclovir | 4x 1000 mg tägl. p.o. | - | - |
| Ganciclovir | 2x 5 mg/kg KG tägl. i.v. für 5 Tage gefolgt von 5 mg/kg KG tägl. i.v. | Initial: 2x 5 mg/kg KG tägl. i.v. Erhaltungsdosis: 6 mg/kg KG tägl. i.v. | Initial: 2x 5 mg/kg KG tägl. i.v. Erhaltungsdosis: 6 mg/kg KG tägl. i.v. |
| Foscarnet | 2x 90 mg/kg KG tägl. i.v.für 5 Tage gefolgt von 90 mg/kg KG i.v. 3x wöchtl. | Initial: 2x 60 mg/kg KG tägl. i.v. Erhaltungsdosis: 90 mg/kg KG tägl. i.v. | Initial: 2x 60 mg/kg KG tägl. i.v. Erhaltungsdosis: 90 mg/kg KG tägl. i.v. |
| Cidofovir | - | Initial: 3 mg/kg KG wöchtl. Erhaltungsdosis: 3 mg/kg KG jede zweite Woche | Initial: 3-5 mg/kg KG wöchtl. Erhaltungsdosis: 3-5 mg/kg KG jede Woche |

Abbildung 6: Therapieempfehlungen und Dosierungen der antiviralen Therapeutika (Ljungman P 2004).

1.3.1 Antivirale Therapie

Alle sich im Gebrauch befindlichen Virustatika gegen das Cytomegalovirus gehören zur Gruppe der Nukleosid- bzw. Nukleotidanaloga, die nach dem Einbau in den wachsenden viralen DNA-Strang die Synthese durch Kettenabbruch und Fixierung der DNA-Polymerase am inkompletten Strang hemmen. Bei den Medikamenten handelt es sich um sogenannte Prodrugs, die ihre antivirale Wirkung bis auf Foscarnet erst durch intrazelluläre Phosphorylierung entwickeln. Im Einzelnen werden bei untersuchten Patienten folgende Virustatika eingesetzt:

- Aciclovir
- Valaciclovir
- Ganciclovir
- Valganciclovir
- Foscavir
- Cidofovir

Aciclovir (Zovirax®)

Es ist ein azyklisches Guanin-Nucleosid mit fehlender 3'-Hydroxylgruppe am modifizierten Zucker, welches nach einer Phosphorylierung zu Aciclovir-Triphosphat die virale DNA-Synthese hemmt. Das Nucleosidanalogen wird zunächst durch virale Thymidinkinase zu Aciclovir-Monophosphat und anschließend durch zelluläre Kinasen in die Triphosphat-Form überführt. Die selektive Wirkung und die gute Verträglichkeit des Aciclovirs kommen durch die hohe Affinität zur viralen Thymidinkinase zustande. Folglich kann sich die volle antivirale Wirkung von Aciclovir nur in Zellen entfalten, die mit humanen α -Herpesviren infiziert sind. Erfolgt der Einbau von Aciclovir-Triphosphat durch die virale DNA-Polymerase anstelle von Desoxyguanosin-Triphosphat in den wachsenden viralen DNA-Strang, kommt es während der Replikation zu einem Kettenabbruch (Elion GB. 1982).

Valaciclovir

Valaciclovir ist ein Valylester (Prodrug) des Virustatikums Aciclovir. Der Vorteil gegenüber Aciclovir liegt in der 2- bis 3-fach höheren Bioverfügbarkeit. Nach der Aufnahme wird Valaciclovir durch das Enzym Valaciclovir-Hydrolase zu Aciclovir und Valin hydrolysiert und durch die anschließende Phosphorylierung zu Aciclovir-Triphosphat aktiviert. Klinische Studien haben gezeigt, dass durch eine prophylaktische Anwendung von Aciclovir/ Valaciclovir das Risiko für eine HCMV-Infektion, nicht aber für eine HCMV-Erkrankung reduziert werden kann. Außerdem ist eine Dosisreduzierung der präemptiven Therapie unter der Überwachung der Viruslast möglich (Prentice HG 1994).

Ganciclovir (Cymeven®)

Es handelt sich um das „first-line“ Virustatikum, das bei Infektion/Erkrankung eingesetzt wird. Ganciclovir gehört ebenfalls zur Gruppe der Guanin-Nukleosidanaloga. In HCMV-infizierten Zellen wird Ganciclovir zunächst durch die virale Proteinkinase (pUL97) zu Ganciclovir-Monophosphat und anschließend durch zelleigene Kinasen zu aktivem Ganciclovir-Triphosphat phosphoryliert. Das wirksame Metabolit hemmt zum einen kompetitiv den durch eine DNA-Polymerase vermittelten Einbau des Desoxyguanosintriphosphat (dGTP) und zum anderen führt der Einbau von Ganciclovir-Triphosphat in den viralen DNA-Strang zum Abbruch der DNA-Elongation. Allerdings kann die Phosphorylierung ebenfalls in nicht infizierten Zellen ablaufen und so schwerwiegende unerwünschte Arzneimittelwirkungen hervorrufen. Dazu zählen Myelotoxizität (dosislimitierend), Anämie, Neutro-, Thrombo- oder Panzytopenie, sowie gastrointestinale und hepatotoxische Störungen (Goodrich JM 1991). Die Ganciclovir-induzierte Neutropenie ist eine gefürchtete Komplikation, die das Risiko für bakterielle und Pilzinfektionen erhöhen kann (Salzberger B 1997).

Ursächlich für eine Ganciclovir-Resistenz wurden verschiedene Mutationen im viralen Kinase-Gen (UL 97) und/ oder viralen Polymerase-Gen (UL54) ausgemacht (Smith IL 1997 Jul). In 90% der Fälle sind dafür Mutationen im Phosphotransferase-Gen (UL-97) verantwortlich (Gilbert C 2005). Mutationen im Polymerase-Gen (UL54) können in seltenen Fällen Multidrug- oder Kreuzresistenz gegen andere Virustatika (Foscarnet, Cidofovir) aufweisen, die bei der viralen Polymerase ansetzen (Razonable RR 2002; Göhring K 2013).

Die am häufigsten diskutierten Ursachen für eine Ganciclovir-Resistenz sind:

- prolongierte antivirale Therapie mit Ganciclovir
- niedrige Replikationsrate unter Ganciclovir und starke Immunsuppression
- niedrige Plasmaspiegel
- fehlende vorherige Immunität gegen HCMV

Valganciclovir (Valcyte®)

Valganciclovir ist ein L-Valinester (Prodrug) von Ganciclovir, der nach oraler Einnahme gut aus dem Gastrointestinaltrakt resorbiert und in der Darmwand und Leber rasch zu Ganciclovir metabolisiert wird. Die absolute Bioverfügbarkeit von Ganciclovir aus Valganciclovir beträgt ungefähr 75%. Antivirale Aktivität, Wirksamkeit und Nebenwirkungen sind mit der parenteralen Gabe von Ganciclovir vergleichbar (Einsele H 2006). Boivin et al. haben in ihrer Studie demonstriert, dass die Gabe von Valganciclovir gegenüber Ganciclovir im Hinblick auf Resistenzentwicklungen vorzuziehen ist (Boivin G 2004).

Foscarnet (Foscavir®)

Foscarnet ist ein Pyrophosphatanalogon, welches ohne vorhergehende Phosphorylierung die virale DNA-Polymerase hemmt. Im Hinblick auf die Wirksamkeit gibt es zwischen Foscarnet und Ganciclovir keinen Unterschied (Reusser P 2002). Aufgrund schwerwiegender Nebenwirkungen (Elektolytverschiebungen, Nephro- und Neurotoxizität) wird Foscavir als "second-line" Medikament eingestuft und soll nur im Falle einer Ganciclovir-Resistenz oder -Unverträglichkeit (Neutropenie) verabreicht werden.

Cidofovir (Vistide®)

Bei Cidofovir handelt sich um ein Cytosin-Nukleotidanalogen, welches erst durch zelluläre Kinasen zum aktiven Metabolit phosphoryliert wird. Als Angriffspunkt dient eine kompetitive Hemmung der DNA-Polymerase. Die starke Nephrotoxizität ist als dosislimitierender Faktor zu nennen. Cidofovir ist nur als Infusionslösung vorhanden und erlaubt aufgrund langer Halbwertszeit der aktiven Metabolite eine einmal wöchentliche Applikation. Ljungmann et al. haben in einer retrospektiven Studie gezeigt, dass 9 von 16 an einer HCMV-Pneumonie (Mortalität mind. 50%) erkrankten Patienten (56%) erfolgreich mit Cidofovir behandelt werden konnten. Sechs dieser Patienten wurden bereits zuvor mit Ganciclovir und/ oder Foscarnet frustriert therapiert (Ljungman P 2001).

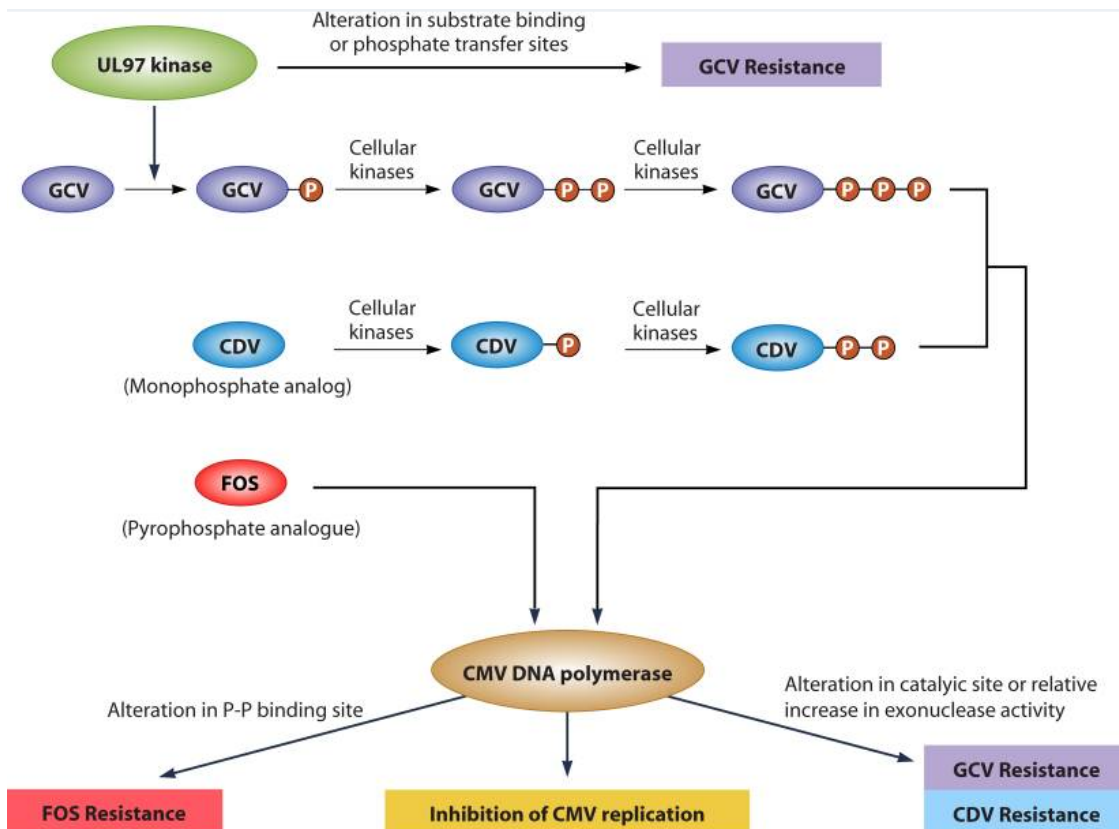


Abbildung 7: Graphische Übersicht der Prodrugs und ihr Aktivierungs- bzw. Resistenzmechanismus (Lurain NS 2010)

1.3.2 Therapie mit HCMV-spezifischen T-Zellen

Wie bereits im Abschnitt 1.1.5 beschrieben, ist die möglichst frühe Rekonstitution des Immunsystems im Kampf gegen eine HCMV-Infektion oder -Reaktivierung entscheidend. Mit einer Transfusion von HCMV-spezifischen T-Zellen besteht eine Möglichkeit, diese Zeitspanne zu überbrücken. Indikation für diese Art von Therapie ist eine pharmakoresistente HCMV-Infektion im Anschluss an eine allogene SCT. Sowohl Feuchtinger als auch Einsele et al. konnten in ihren Studien eine deutliche Reduzierung der Viruslast, in 83% der Fälle sogar eine komplette Viruselimination demonstrieren (Einsele H 2002; Feuchtinger T 2010). Zur Generierung HCMV-spezifischer T-Zellen stehen nach „Good Manufacturing Practice“ (GMP) zurzeit zwei Methoden zur Verfügung:

- Isolation IFN- γ sezernierender Zellen nach Antigenstimulation oder
- auf MHC-Peptid Multimeren basierte Isolation (Rauser G 2004; Feuchtinger T 2010).

1.3.3 Therapie mit HCMV-spezifischem Immunglobulin G (Cytotect®)

Bei dieser Therapie handelt es sich um ein polyvalentes Immunglobulinpräparat (IgG), welches aus dem menschlichen Plasma mit hohem Antikörpertiter gegen das HCMV hergestellt wird. Von Cytotect® können vor allem immunsupprimierte Patienten mit einer manifesten HCMV-Erkrankung profitieren, insbesondere Transplantat-Empfänger. Allerdings ist der Nutzen dieses Medikaments umstritten und wird nur bei Patienten mit einer HCMV-Pneumonie in Verbindung mit Ganciclovir empfohlen (Einsele H 2001).

Auf eine Darstellung weiterer Therapeutika wird nicht näher eingegangen, da diese im Patientenkollektiv keinen Einsatz fanden.

1.3.4 Therapiekonzepte am Universitätsklinikum Tübingen (UKT)

Die antivirale Prophylaxe vor einer geplanten SCT erfolgt in Abhängigkeit von der Serologie nach dem folgenden Algorithmus: Seronegative Empfänger eines seronegativen Transplantats erhalten bis Tag +180 eine Aciclovir-Prophylaxe. Seropositive Patienten bekommen unabhängig vom Serostatus des Spenders Ganciclovir i.v. vor und Foscarnet i.v. nach der SCT verabreicht, gefolgt von Valganciclovir p.o. bis Tag +180. Seronegative Patienten mit seropositiven Spendern erhalten nach der Transplantation Foscarnet, gefolgt von Valganciclovir. Es erfolgt mindestens bis Tag +100 ein wöchentliches HCMV-Screening mit der PCR.

Bei einer Frühintervention (präemptive Therapie) wird nach dem Nachweis einer Virämie Ganciclovir (5 mg/kg KG) i.v. oder Foscarnet (2x 60 mg/kg KG) i.v. verabreicht. Bei persistierender Infektion trotz einer zweiwöchigen antiviralen Therapie erfolgt eine Umstellung auf eine Erhaltungsdosis mit Ganciclovir (6 mg/kg KG) i.v. an 5 Tagen pro Woche oder mit Foscarnet (90 mg/kg KG) i.v. an

5 Tagen pro Woche. Fällt die PCR negativ aus, wird die Therapie beendet. Bei weiterer Persistenz besteht eine Möglichkeit der Umstellung auf jeweils das andere Medikament mit ggf. zusätzlicher wöchentlicher Applikation von Cidofovir.

1.4 Zielsetzung und Fragestellung vorliegender Arbeit

Eine systemische HCMV-Infektion im Anschluss an eine allogene SCT ist eine schwere Komplikation, die maßgeblich am Outcome transplantierte Patienten beteiligt ist. In den meisten Fällen kommt es aufgrund einer Störung der zellulären Immunantwort zu einer Reaktivierung der latent verlaufenden Virusinfektion. Ursachen dafür können in der Grunderkrankung selbst oder in der notwendigen Chemo-, Bestrahlungs- oder GvHD-Therapie liegen. Viele Studien weisen darauf hin, dass für das Überleben transplantierte Patienten eine rechtzeitige Identifikation der Hochrisikokonstellationen und eine angepasste Virustherapie unverzichtbar sind. Mit dem Combas Amplicor CMV-Monitor-Test® und dem LightCycler® der Firma Roche, basierend auf der Polymerasekettenreaktion, stehen heute sehr verlässliche und empfindliche Methoden zur Detektion sowohl der quantitativen als auch qualitativen Viruslast zur Verfügung.

Ziel dieser retrospektiven Studie bestand in der Durchführung der Korrelationsanalysen zwischen der gemessenen Viruslast im Plasma und der Laborparameter um in Zukunft mögliche prädiktive Aussagen in Bezug auf den Erkrankungsverlauf treffen zu können. Zusätzlich können durch die Erfassung antiviraler und immunsuppressiver Therapie entsprechende Aussagen über Erfolg/ Misserfolg einer Behandlung gemacht werden. Außerdem sollen die ebenfalls erfassten HCMV-spezifischen Symptome, Komplikationen und Koinfektionen das Krankheitsbild komplettieren und einen vollständigen Überblick über den Gesundheitsstatus eines Patienten ermöglichen.

2 Material und Methoden

2.1 Patientenkollektiv und Datenerfassung

Im Zeitraum vom 1. Januar 2005 bis zum 31. Dezember 2011 haben sich in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin des Universitätsklinikums Tübingen 336 Kinder einer hämatopoetischen SCT unterzogen. Nach diesem Eingriff haben 41 Kinder (12,2%) im weiteren Verlauf eine systemische HCMV-Infektion entwickelt. Drei dieser Patienten wurden wegen unvollständiger Daten aus der Studie ausgeschlossen, somit bestand das Patientenkollektiv aus 38 Patienten (11,4%). Bei 6 dieser 38 Kinder fand aufgrund der Progression der Grunderkrankung oder aufgrund einer Abstoßungsreaktion eine Retransplantation statt.

Die Erhebung virologischer Daten erfolgte mit Hilfe des Laborinformationssystems Swisslab®. In der Auswertung wurden nur Patienten mit einem qualitativen/quantitativen HCMV-Nachweis im Plasma berücksichtigt. Positiver Viruslastnachweis im Urin, Sputum und Stuhl fanden in dieser Studie keine Berücksichtigung. Anschließend erfolgte eine genehmigte Einsichtnahme in digitalisierte Patientenakten zur Eruiierung zuvor festgelegten Daten und Parameter über den Zeitraum der systemischen Virusinfektion. Dafür war die gesamte Dokumentation sowohl seitens des ärztlichen als auch pflegerischen Personals aller beteiligten Disziplinen berücksichtigt. Erhobene Daten wurden tabellarisch und in kategorisierten Datenbanken mit Microsoft Excel® erfasst.

Das Patientenkollektiv setzte sich aus 22 Jungen und 16 Mädchen im Alter zwischen 2 Monaten und 26 Jahren (Altersmedian zum Zeitpunkt der Transplantation betrug 7 Jahre und 6 Monate) zusammen.

Als Hauptdiagnosen sind zahlreiche hämatologisch-onkologische Erkrankungen, die in der Patientencharakteristik zusammengefasst wurden (siehe Tabelle 1), zu nennen.

Eine an die Grunderkrankung angepasste Konditionierungstherapie setzte sich überwiegend aus Kombinationschemotherapeutika und Glukosteroiden zusammen. Zusätzlich wurden 10 Patienten einer Bestrahlung unterzogen. Im Falle von 8 Transplantationen verzichtete man auf den Einsatz polyklonaler Antikörper Thymoglobulin® (23 Transplantationen) und/ oder der Anti-CD3 Anti-

körper OKT3® (17 Transplantationen) im Rahmen der Konditionierungsbehandlung (siehe Tabelle 1).

Die Gewinnung der Stammzellen erfolgte in 20 Fällen aus dem Knochenmark und in 24 Fällen aus dem peripheren Blut. Die Aufteilung nach HLA-Übereinstimmung und Verwandtschaftsgrad sah wie folgt aus (siehe Tabelle 1):

- in 9 Fällen von HLA-identen Familienspendern
- in 13 Fällen von HLA-identen Fremdspendern
- in 19 Fällen von nicht HLA-identen Familienspendern
- in einem Fall von nicht HLA-identem Fremdspender

In zwei Fällen wurde eine autologe SCT durchgeführt.

| Merkmal 1 | Merkmal 2 | Anzahl |
|----------------------------------|--|---------------|
| Geschlecht | männlich | 22 |
| | weiblich | 16 |
| Alter in Jahren | Altersmedian | 7,5 |
| | Spannweite | 0,16 - 26,3 |
| Grunderkrankung | familiäre hämophagozytierende Lymphohistiozytose | 3 |
| | ALL+ Untergruppen | 14 |
| | AML | 3 |
| | CML | 2 |
| | MDS | 3 |
| | Aplastische Anämie | 2 |
| | Fanconi Anämie | 1 |
| | Beta Thlassämie major | 1 |
| | schwerer Immundefekt mit kompl. B- Zellmangel | 1 |
| | SCID | 1 |
| | Multifokales Rhabdomyosarkom | 1 |
| | Neuroblastom | 1 |
| | M. Tay Sachs | 1 |
| | M. Kostmann | 1 |
| | Alpha- Mannasidose | 1 |
| Chediak Higashi Syndrom | 1 | |
| Generalisierte Myasthenia gravis | 1 | |
| Transplantation | autolog | 2 |
| | Familienspender HLA-identisch | 9 |
| | Familienspender HLA-nicht identisch | 19 |
| | Fremdspender HLA-identisch | 13 |
| | Fremdspender HLA-nicht identisch | 1 |
| HCMV-Serostatus | D ⁺ /R ⁺ | 35 |
| | D ⁻ /R ⁺ | 7 |
| | D ⁺ /R ⁻ | 2 |
| Stammzellen | BMT | 20 |
| | PBSCT | 24 |

Tabelle 1: Patientencharakteristik

| Merkmal 1 | Merkmal 2 | Anzahl | |
|----------------------------|--------------------------------------|---------------|---|
| Konditionierung | BSN/CPM | 1 | |
| | BSN/CPM/ATG | 1 | |
| | BSN/CPM/TTP | 1 | |
| | BSN/MLP/ATG/CPM | 1 | |
| | Clofarabin/MPDL/OKT-3/TTP/MLP | 3 | |
| | Clofarabin/PDL/OKT-3/TTP/MLP | 1 | |
| | Clofarabin/TTP/MLP/TLI 7Gy | 1 | |
| | Clofarabin/TTP/MLP/ATG | 1 | |
| | Clofarabin/TTP/MLP/OKT-3 | 1 | |
| | FLUD/Clofarabin/TTP/MLP | 1 | |
| | FLUD/CPM/ATG | 3 | |
| | FLUD/Gemtuzumab/TTP/MLP | 1 | |
| | FLUD/OKT-3/TTP/ATG/7GY | 1 | |
| | FLUD/OKT-3/TTP/ATG/MLP | 1 | |
| | FLUD/OKT-3/TTP/ATG/MPDL/TLI7 GY | 2 | |
| | FLUD/OKT-3/TTP/MLP | 1 | |
| | FLUD/OKT-3/TTP/MLP/TBI 2 GY | 1 | |
| | FLUD/OKT-3/TTP/MLP/MPDL | 4 | |
| | FLUD/OKT-3/TTP/TSF/TLI 7Gy | 1 | |
| | FLUD/TTP/ATG | 4 | |
| | FLUD/TTP/ATG/MLP | 1 | |
| | FLUD/TTP/ATG/TSF | 3 | |
| | MPDL/OKT-3/TTP/BSN/CPM | 1 | |
| | VP16/TBI 12 GY | 2 | |
| | VP16/ATG/TBI 12 GY | 2 | |
| | VP16/ATG/CPM/BSN | 2 | |
| | VP16/ATG/CPM/BSN/Alemtuzumab | 1 | |
| | VP16/CBP/MLP | 1 | |
| | GvHD - Prophylaxe / Behandlung | CSA | 1 |
| | | CSA/MTX | 5 |
| CSA/MMF | | 1 | |
| CSA/MMF/MTX | | 1 | |
| CSA/MMF/ATh | | 1 | |
| CSA/PDL | | 3 | |
| CSA/PDL/MTX | | 4 | |
| CSA/PDL/MMF | | 1 | |
| CSA/PDL/MMF/MPDL | | 2 | |
| CSA/PDL/MTX/MPDL | | 2 | |
| CSA/PDL/MMF/MPDL/Rituximab | | 2 | |
| MMF | | 7 | |
| MMF/SIROL | | 1 | |
| PDL | | 1 | |
| PDL/MMF | | 5 | |
| PDL/MMF/Tacro | | 1 | |
| PDL/OKT 3/MPDL | | 1 | |
| Rituximab/ATh/MTX | | 1 | |
| Rituximab/ATh/MMF | | 1 | |
| Ohne Angabe | | 3 | |

Fortsetzung der Tabelle 1: Patientencharakteristik

2.2 Parameter und Erfassungszeiträume

Die Erfassung quantitativer laborchemischer Parameter erfolgte anhand der zuvor festgelegten Stichtage:

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

Klinische Parameter wie Symptome und Komplikationen sowie sämtliche antivirale und immunsuppressive Therapeutika, die während der SCT und im Zeitraum der HCMV-Infektion auftraten bzw. Einsatz fanden, wurden in einer Excel-Datenbank zusammengefasst.

Der Beginn und das Ende des Infektionszeitraums wurde mit der ersten quantitativ positiven bzw. mit der ersten darauffolgenden negativen Viruslastbestimmung (Wert = 0) oder mit dem Versterben des Patienten definiert.

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

1. Biometrische Daten

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

2. Medikamente

- Virustatika
- Anti-Lymphozytenpräparat bei SCT
- Immunsuppressiva
- HCMV spezifische T-Zellen

3. Klinische Symptome

- Fieber (°C)
- Dyspnoe
- Husten
- O₂-Sättigung (SpO₂), O₂-pflichtig

4. Laborparameter

- Viruslast (HCMV-DNA Kopien/ml Plasma)
- Hämoglobin (g/dl)
- C-reaktives Protein (CRP) (mg/dl)
- Hämatokrit (%)
- Kreatinin (mg/dl)
- Erythrozyten (Mio./ μ l)
- Harnstoff (mg/dl)
- Thrombozyten (Tsd./ μ l)
- GOT (U/l)
- Leukozyten (1/ μ l)
- GPT (U/l)
- Gamma-GT (U/l)
- LDH (U/l)

5. Komplikationen

- Katecholaminpflichtigkeit
- GvHD
- Verlegung auf Intensivstation
- invasive Beatmung
- verstorben während oder nach HCMV-Infektion

2.3 Untersuchungsmaterialien und Nachweismethoden

Aktuell können unterschiedliche Untersuchungsmaterialien (Vollblut, Serum, Plasma, Rachen- und Trachealspüllösungen, Liquor, Urin, Muttermilch, Biopsate usw.) und Nachweismethoden (Isolierung durch Kultur, serologische Methoden, Bestimmung des pp65 Antigen-Titers) zur Diagnostik einer HCMV-Infektion herangezogen werden. In dieser Arbeit wurden nur Daten aus dem Blutplasma als Nachweis einer systemischen Infektion berücksichtigt. Die Quantifizierung der Viruslast erfolgte am Institut für Medizinische Virologie Tübingen mit COBAS AMPLICOR CMV-MONITOR™-Test der Firma Roche. Mit diesem Verfahren kann eine HCMV-DNA Konzentration im Bereich von 600-100000 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma detektiert werden. Laut eigener Angaben der Firma Roche liegt die Nachweisrate für 600 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma bei 96%.

Der qualitative HCMV-Nachweis erfolgte bis 2007 mittels eines nested-PCR-Protokolls und ab 2008 mittels der LightCycler Real-Time-PCR der Firma Roche.

2.4. Statistische Auswertung

Zur Auswertung wurden sämtliche Patientendaten in einer Datenbank des Programms Microsoft Excel 2007® tabellarisch erfasst. Alle Viruslastwerte (HCMV-DNA Kopien/ml Plasma), die sich unterhalb des linearen Extinktionswertes eines Assays befanden, wurden von COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test mit „HCMV-DNA < 600 Kopien/ml Plasma“ belegt. Zur weiteren Verarbeitung in

Excel 2007® und zur grafischen Darstellungen wurde dieser mit 599 als höchst anzunehmenden Wert gleichgesetzt. Eine genauere Quantifizierung ist für diesen Wertebereich nicht möglich.

Im ersten Teil der statistischen Auswertung wurden Korrelationen zwischen der Viruslast und den Laborwerten für das gesamte Kollektiv berechnet. Dabei berücksichtigte man, dass die Bestimmung der Viruslast und der dazugehörigen Laborparameter am gleichen Tag stattfand. Insgesamt wurden für 38 Patienten 178 Bestimmungen durchgeführt.

In den folgenden Berechnungen und grafischen Darstellungen wurde der Wert der Viruslast als unabhängige und der dazugehörige laborchemische Parameter als abhängige Variable festgelegt. Um einer Verfälschung der Korrelationsanalyse durch eine unterschiedliche Anzahl an Bestimmungen pro Patient zu entgehen, wurde mit Hilfe des statistischen Rechenprogramms R® eine Stichprobe aus Viruslast und den dazugehörigen Laborparametern pro Patient nach dem Zufallsprinzip bestimmt.

Im nächsten Schritt wurden die zuvor bestimmten 38 Wertepaare, bestehend aus einer Viruslastbestimmung und einem der 13 laborchemischen Parametern, im Statistikprogramm SPSS® mit dem Kolmogorow-Smirnow-Test auf Normalverteilung überprüft.

Nachdem keine Normalverteilung zu ermitteln war, erfolgte die Korrelationsanalyse mit dem Spearmans Rangkorrelationskoeffizienten (Spearmans Rho).

Im zweiten Teil der statistischen Auswertung wurden Korrelationen zwischen Viruslast und Laborparameter unter Berücksichtigung der Anzahl an durchgeführten Messungen im Verlauf des einzelnen Patienten überprüft. Basierend auf der Grundlage einer beispielhaften Veröffentlichung zur medizinischen Statistik wurden im zweiten Teil der Korrelationsanalyse nur Patienten mit mindestens drei Viruslastbestimmungen berücksichtigt (Bland JM 1994; Bland JM 1995a; Bland JM 1995b). Daraus resultiert ein Kollektiv von 26 Patienten und 160 Wertepaaren, allerdings mit einer unterschiedlichen Anzahl an Bestimmungen pro Patient. Diese Tatsache machte es notwendig, die Kovarianzanalyse im Sinne eines allgemeinen linearen Modells durchzuführen. Für jede abhängige Variable

(Laborparameter) erhält man damit eine Auswertung in tabellarischer Form, deren Werte in die folgende Formel eingesetzt wurden (vgl. Bland JM 1995a):

$$\sqrt{\frac{\textit{Quadratsumme der Viruslast (QSV)}}{\textit{QSV} + \textit{Quadratsumme des Fehlers}}}$$

Damit ließ sich nun ein Korrelationskoeffizient berechnen, der einen Zusammenhang zwischen laborchemischen Parameter des jeweiligen Patienten und dessen Viruslast darstellt.

Durch diese beiden Analysen konnten Korrelationen für das gesamte Kollektiv unter Einbezug eines durch Zufall bestimmten Wertepaares berechnet werden. Darüber hinaus konnten Korrelationen unter Berücksichtigung des individuellen Verlaufes einzelner Patienten bestimmt werden.

3 Ergebnisse

3.1 Allgemeines

Im Untersuchungszeitraum vom 1. Januar 2005 bis zum 31. Dezember 2011 haben sich in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin des Universitätsklinikums Tübingen 336 Kinder einer hämatopoetischen SCT unterzogen. Nach diesem Eingriff haben im weiteren Verlauf 41 Kinder (12,2%) eine systemische HCMV-Infektion entwickelt, wobei drei Probanden aufgrund unvollständiger Daten aus der Studie ausgeschlossen wurden. Somit setzte sich das Patientenkollektiv aus 22 Jungen und 16 Mädchen im Alter zwischen 2 Monaten und 26 Jahren (Altersmedian: 7,6 Jahre) zusammen.

Die erste positive quantitative Viruslastbestimmung im Plasma wurde mit dem COBAS AMPLICOR CMV-MONITOR™-Test im Median am Tag +53 post transplantationem detektiert, wobei die früheste HCMV-Infektion bereits am Tag +1 bzw. die späteste am Tag +755 auftrat. Die Dauer der HCMV-Infektion betrug im Median 20 Tage (Mittelwert: 24 Tage), gemessen ab der ersten positiven bis zur ersten negativen Viruslastbefundung.

Zum Zeitpunkt der Transplantation zeigten bis auf zwei Patienten alle eine HCMV-IgG positive Serologie.

Insgesamt diagnostizierte man bei 8 Kindern eine HCMV-Pneumonie, wobei nur bei einem Patient der Nachweis nach den heute geltenden Leitlinien erfolgt ist (Ljungman P 2002a). Bei den restlichen sieben Kindern wurde die Diagnose einer HCMV-Pneumonie anhand der Klinik, der systemischen HCMV-Infektion und der Computertomographie bzw. des Röntgenbilds gestellt. Als Kontraindikation für die bronchoalveoläre Lavage zum Erregernachweis bestand die schlechte klinische Verfassung der Kinder, sodass der Eingriff zu diesem Zeitpunkt nicht vertretbar war.

3.1.2 Transplantationsart, Konditionierung, Engraftment

Im Patientenkollektiv dieser Studie haben sich 36 Patienten einer allogenen SCT und zwei einer autologen SCT unterzogen. Bei 6 Patienten musste eine zweite SCT aufgrund einer Progression der Grunderkrankung oder einer Abstoßungsreaktion durchgeführt werden. Die Stammzellen wurden in 20 Fällen (45%) aus dem Knochenmark (BMT) und in 24 Fällen (55%) aus peripherem Blut (PBSCT) der Spender extrahiert. Bei den PBSCT fand in 20 Fällen vor der SCT eine B- und T-Zelldepletion statt.

Im Rahmen der Konditionierung kam bei 23 Patienten ein Antithymozytenglobulin (ATG) und bei 17 Patienten das Muromonab (OKT-3) zum Einsatz. Die restliche Medikation, die im Rahmen der Konditionierung eingesetzt wurde, kann aus der Patientencharakteristik (siehe Tabelle 1) entnommen werden. Dabei sind vier Patienten eingeschlossen, die beide Präparate erhalten haben. Zusätzlich wurde im Rahmen einer refraktären GvHD-Behandlung das Muromonab (OKT-3) an drei Patienten verabreicht. Das Engraftment (Leukozyten $>1000/\mu\text{l}$, Granulzyten $>500/\mu\text{l}$) fand im Median am Tag +12 (Tag +9-Tag +27) statt.

3.1.3 HLA-Übereinstimmung und HCMV-Serologie

In der folgenden Abbildung (Abbildung 8) wurden Patienten hinsichtlich des Verwandtschaftsgrades und der HLA-Übereinstimmung zusammengefasst. Lediglich neun Patienten erhielten Stammzellen von einem HLA-identen Familienspender und fallen somit nicht in die Risikogruppe.

Bezüglich der HCMV-Serostatuskonstellation sind 35 Transplantationen als risikogefährdet (D^+/R^+) und 9 (7-mal D^-/R^+ , 2-mal D^+/R^-) als hochrisikogefährdet für eine HCMV-assoziierte Morbidität und Mortalität einzustufen.

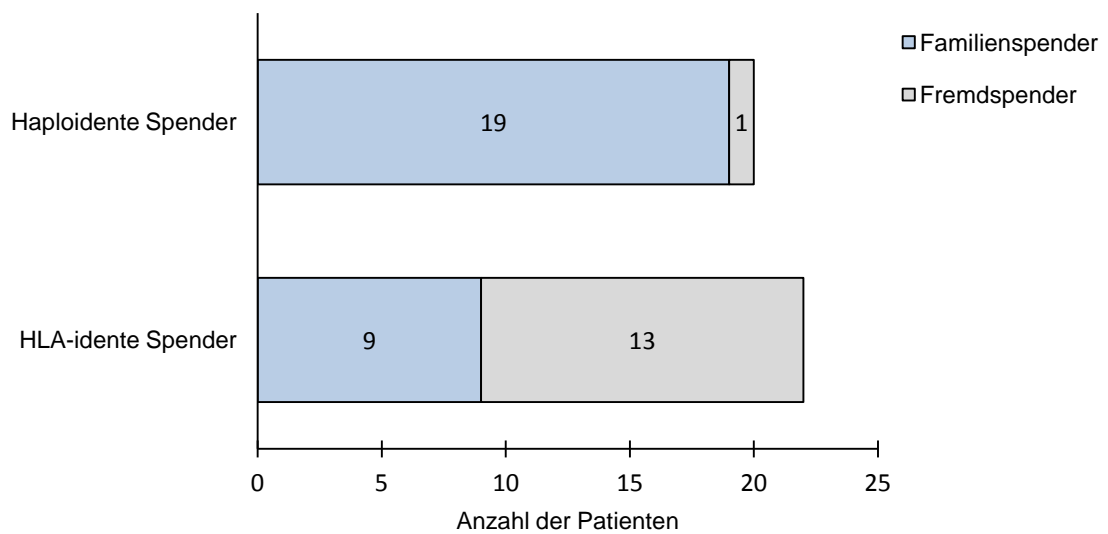


Abbildung 8: Typisierung und Verwandtschaftsgrad der Spender

3.1.4 HCMV-Reaktivierung

Innerhalb des untersuchten Patientenkollektivs zeigten 36 der 38 Patienten eine HCMV-IgG positive Serologie. Bei zwei seronegativen Patienten konnte nach der SCT von einem seropositiven Spender eine Primärinfektion nachgewiesen werden. Betrachtet man die Zeitpunkte der Reaktivierung, können folgende Beobachtungen festgehalten werden:

- 21 Patienten mit einer “early-onset“ Infektion (<100 Tagen nach der SCT)
- 6 Patienten mit einer “late-onset“ Infektion (>100 Tagen nach der SCT)
- 11 Patienten zeigen sowohl eine “early-onset“ als auch eine “late-onset“ Infektion

Zur Häufigkeit der Reaktivierungen pro Patient im Verlauf der Posttransplantationsphase wurde Folgendes beobachtet:

- 25 Patienten mit einer einmaligen Reaktivierung
- 9 Patienten mit einer zweimaligen Reaktivierung
- 4 Patienten mit einer dreimaligen Reaktivierung

3.1.5 GvHD

Insgesamt haben 13 Patienten (30%) unter einer GvHD-Prophylaxe in unterschiedlichen Konstellationen eine manifeste GvHD (Gesamtstadium II-IV) der Leber (4 Fälle), des Darms (8 Fälle) oder der Haut (6 Fälle) entwickelt. Die verabreichten Immunsuppressiva zur GvHD-Behandlung können aus der Patientencharakteristik (siehe Tabelle 1) entnommen werden.

3.1.6 Mortalität nach der hämatopoetischen SCT

Zum Zeitpunkt der Datenerfassung im Frühjahr 2013 sind 14 der 38 transplantierten Kinder (36%) verstorben, wobei 4 Kinder zum Zeitpunkt des Todes positiv in der HCMV-PCR getestet wurden. Innerhalb der ersten 6 Monate sind 5 der 14 (36%), innerhalb weiterer 6 Monate 7 der 14 (50%) und innerhalb von 2 Jahren nach der hämatopoetischen SCT sind wiederum 2 der 14 (14%) Kinder verstorben.

In der Gruppe mit einer Überlebenszeit von mehr als 6 Monaten nach der SCT wurden bei drei Patienten die Stammzellen aus dem KM (BMT) und bei zwei aus dem peripheren Blut (PBSCT) extrahiert. Alle Patienten haben ein poly- oder monoklonales Antikörperpräparat in Form von ATG oder OKT-3 verabreicht bekommen. Ebenfalls waren sowohl alle Spender als auch Empfänger HCMV-IgG positiv. Nur zwei der Verstorbenen haben im Verlauf eine GvHD (Grad II-IV) gezeigt. Der Viruslastpeak lag in dieser Gruppe im Median bei 2758 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma (< 600 - 414000 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma).

In der Gruppe mit einer Überlebenszeit von 12 Monaten nach der SCT wurden bei 3 Patienten die Stammzellen aus dem KM (BMT) und bei 4 aus dem peripheren Blut (PBSCT) extrahiert. Alle Patienten haben ein Antikörperpräparat in Form von ATG oder OKT-3 verabreicht bekommen. Bezüglich der HCMV-Serologie waren in 5 Fällen sowohl die Spender als auch Empfänger HCMV-IgG positiv. In einem Fall war der Spender negativ und im anderen der Empfänger. Vier Patienten dieser Gruppe entwickelten im Verlauf eine GvHD (Grad II-

IV). Der Viruslastpeak lag in dieser Gruppe im Median bei 8400 HCMV-DNA Kopien/ml (< 600 - 647000 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma).

In der Gruppe mit einer Überlebenszeit von weniger als 24 Monaten nach der SCT wurden bei beiden Patienten die Stammzellen aus dem peripheren Blut (PBSCT) extrahiert und beide haben ebenfalls den monoklonalen Antikörper OKT-3 verabreicht bekommen. Nur einer der Patienten hat eine GvHD (Grad II-IV) entwickelt. Der Viruslastpeak lag zwischen 1050 und 5060 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma. Das Kind mit der geringeren Viruslast (HCMV-Serologie IgG negativ) entwickelte erst mit dem Erhalt der Stammzellen von einem IgG positiven Spender eine HCMV-Primärinfektion.

Für das Versterben der Patienten wurden folgende Ursachen angegeben:

- 6 Patienten → Progression der Grunderkrankung
- 3 Patienten → Dekompensation der kardiopulmonalen Insuffizienz
- 4 Patienten → Multiorganversagen
- 1 Patient → Ursache nicht dokumentiert

In der Gruppe der verstorbenen Patienten mussten 5 von 14 Patienten (35%) aufgrund einer drastischen Verschlechterung des Allgemeinzustandes während des Infektionszeitraums (HCMV-DNAämie) auf Intensivstation verlegt werden. Drei dieser Patienten wurden katecholaminpflichtig und im Verlauf intubiert. Insgesamt war bei 8 Patienten ein Aufenthalt auf der Intensivstation zu verzeichnen.

Mortalität in der Kohorte mit HCMV-Pneumonie

Von acht an HCMV-Pneumonie erkrankten Patienten sind drei Kinder innerhalb von 100 Tagen (Patient Nr. 12, 14 und 33) und ein Kind (Patient Nr. 20) innerhalb eines Jahres verstorben (50% Mortalität). Bei Patient Nr. 12 und 33 konnte bis zum Zeitpunkt des Todes trotz der Maximaltherapie mit Virustatika, Gabe von HCMV-spezifischen T-Zellen und HCMV-spezifischem IgG keine suffiziente Viruselimination erreicht werden. Die Mortalität dieser Kohorte wurde bereits bei der Gesamtmortalität berücksichtigt.

3.1.7 Koinfektionen zum Zeitpunkt der HCMV-DNAämie

Über ein wöchentliches HCMV-Monitoring hinaus haben PCR-Screenings für weitere opportunistische Viren wie ADV (Stuhl/Blut), BKV (Urin) und andere Mitglieder der Herpesfamilie (HSV, VZV, EBV und HHV-6 im Plasma) stattgefunden.

Bei 7 Patienten bestand zum Zeitpunkt der systemischen HCMV-Infektion parallel eine symptomatische ADV-DNAämie, die bei 5 Patienten neben der Gabe von Cidofovir zu einer zusätzlichen Gabe von ADV-spezifischen T-Zellen führte. Vier Patienten wurden während der HCMV-DNAämie zusätzlich positiv auf EBV im Plasma getestet. Bei einem Patient trat eine milde Form der EBV-assoziierten posttransplantations-lymphoproliferativer Erkrankung auf, die erfolgreich mit Cidofovir und Rituximab behandelt werden konnte.

Vier der 12 positiv auf BKV getesteten Patienten (33%) wurden symptomatisch und entwickelten eine behandlungsbedürftige BKV-assoziierte hämorrhagische Zystitis.

Zudem wurden weitere passager aufgetretene virale Infektionen während der HCMV-DNAämie detektiert: HHV-6 im Plasma, VZV und HSV im Plasma, JCV im Urin und Noro- und Rotavirus im Stuhl.

3.2. Korrelationsanalyse

3.2.1 Stichprobenartige Korrelationen des Gesamtkollektivs

Diese Korrelationsanalyse beinhaltet ein durch Zufall bestimmtes Wertepaar pro Patient, bestehend aus der Viruslast und einem der 13 Laborparameter, die am selben Tag gemessen wurden. Somit ergaben sich für das gesamte Kollektiv 38 Wertepaare. Damit soll untersucht und veranschaulicht werden, ob eine hohe Viruslast auch mit einer Erhöhung oder Senkung der Laborparameter einhergeht und damit prädiktive Aussagen in der Behandlung und im Verlauf einer HCMV-Infektion/-Erkrankung getroffen werden können. In den folgenden Diagrammen (1-13) wurde die Viruslast der 38 Patienten mit dem jeweiligen Laborparameter in einem Streudiagramm dargestellt. Der zuvor in SPSS[®] errechnete Korrelationskoeffizient (KK) nach Spearman wurde ebenfalls in die Grafik eingefügt.

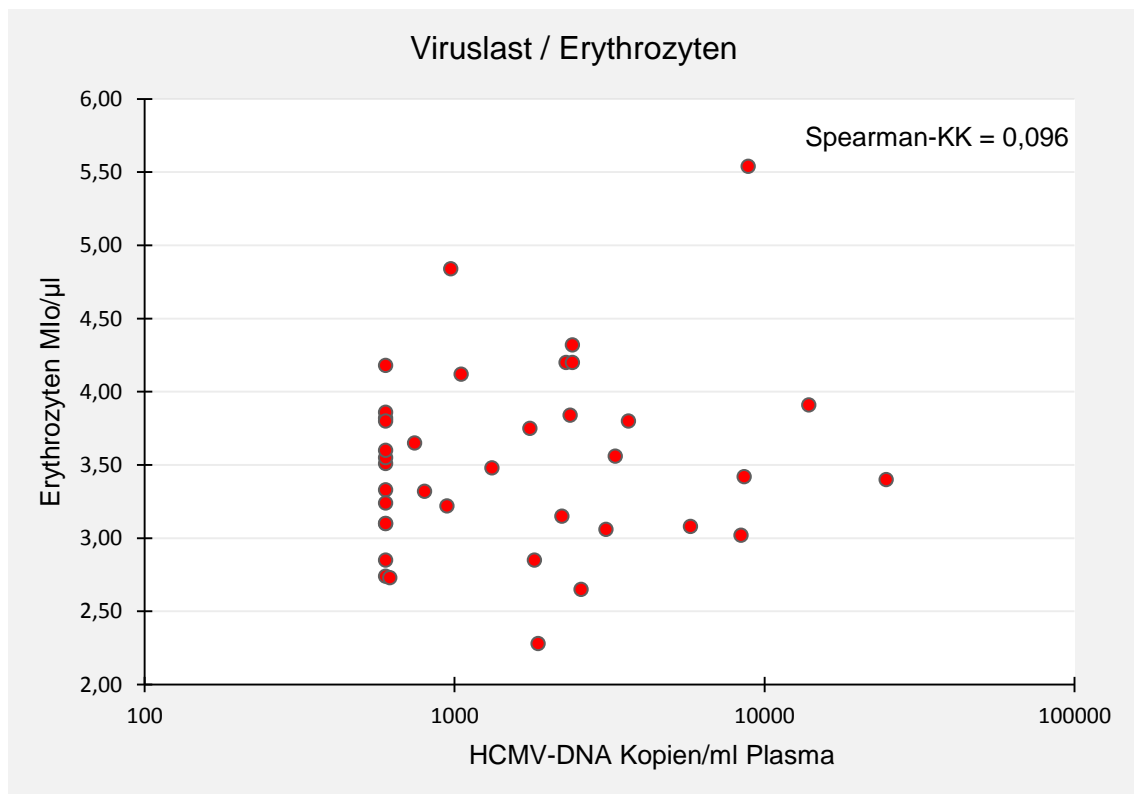


Diagramm 1: Korrelation zwischen der Viruslast und Erythrozyten.

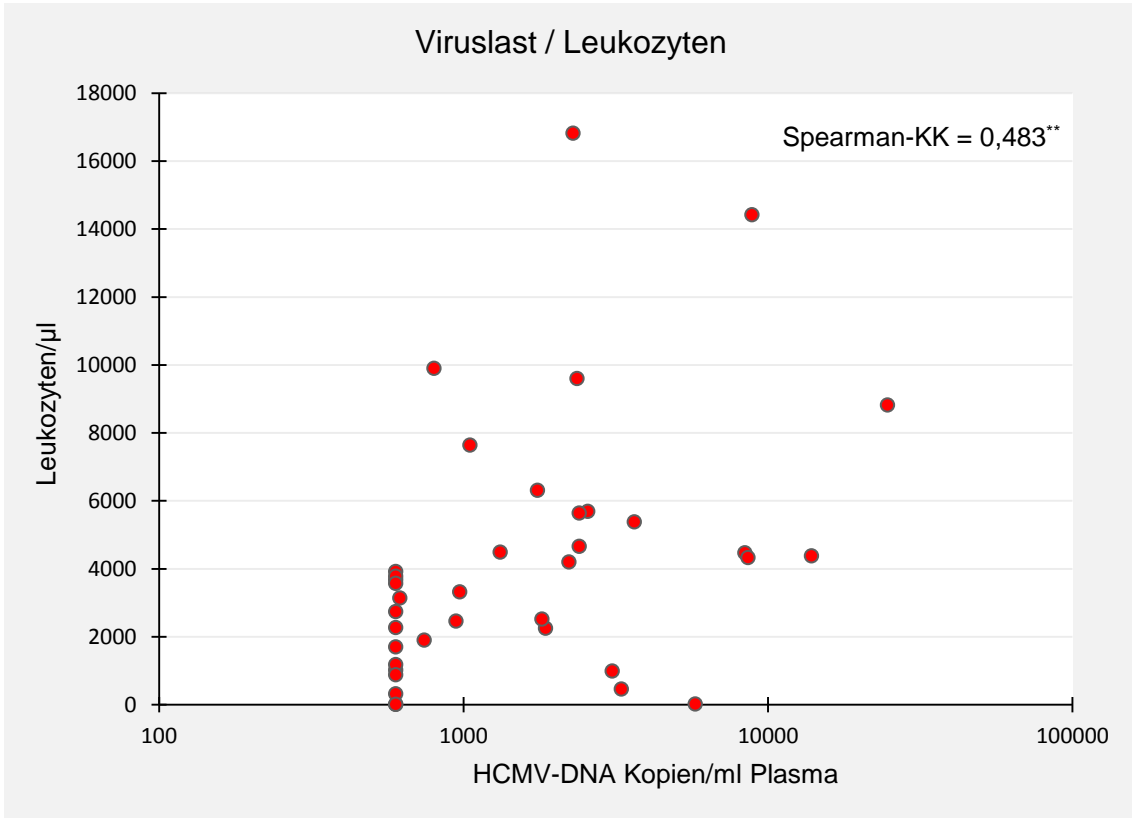


Diagramm 2: Korrelation zwischen der Viruslast und Leukozyten.
 **Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant.

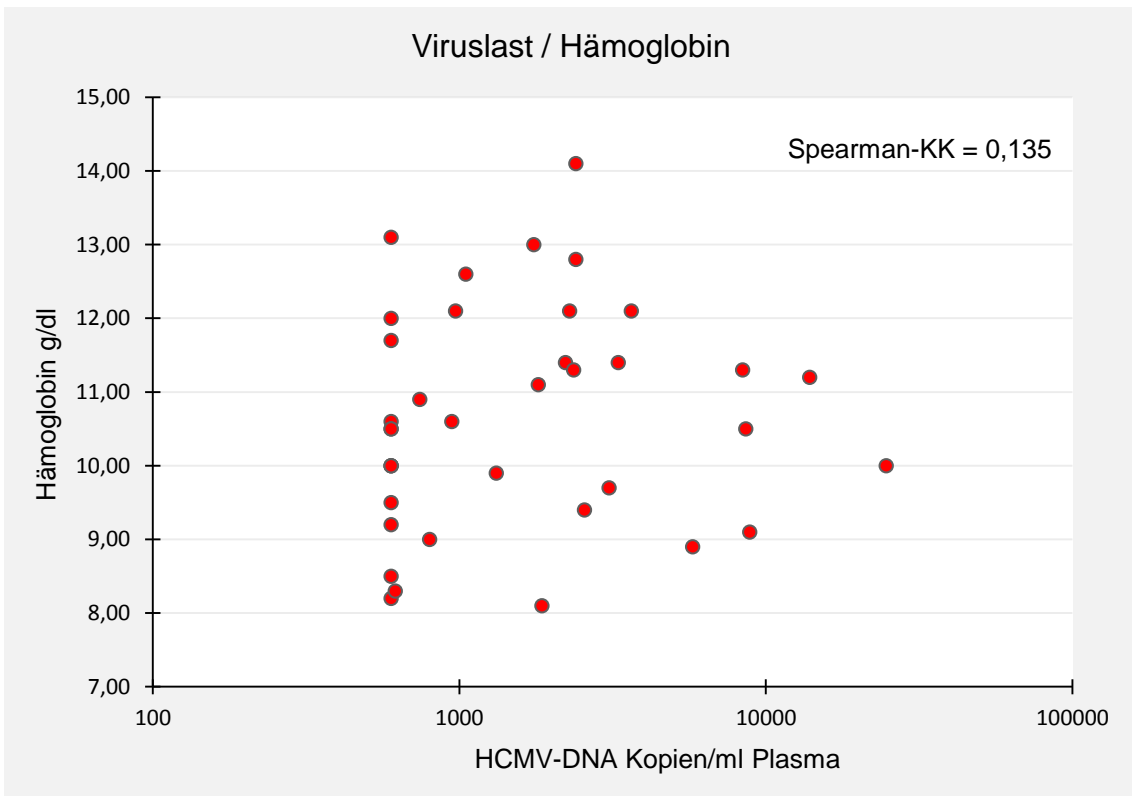


Diagramm 3: Korrelation zwischen der Viruslast und Hämoglobin.

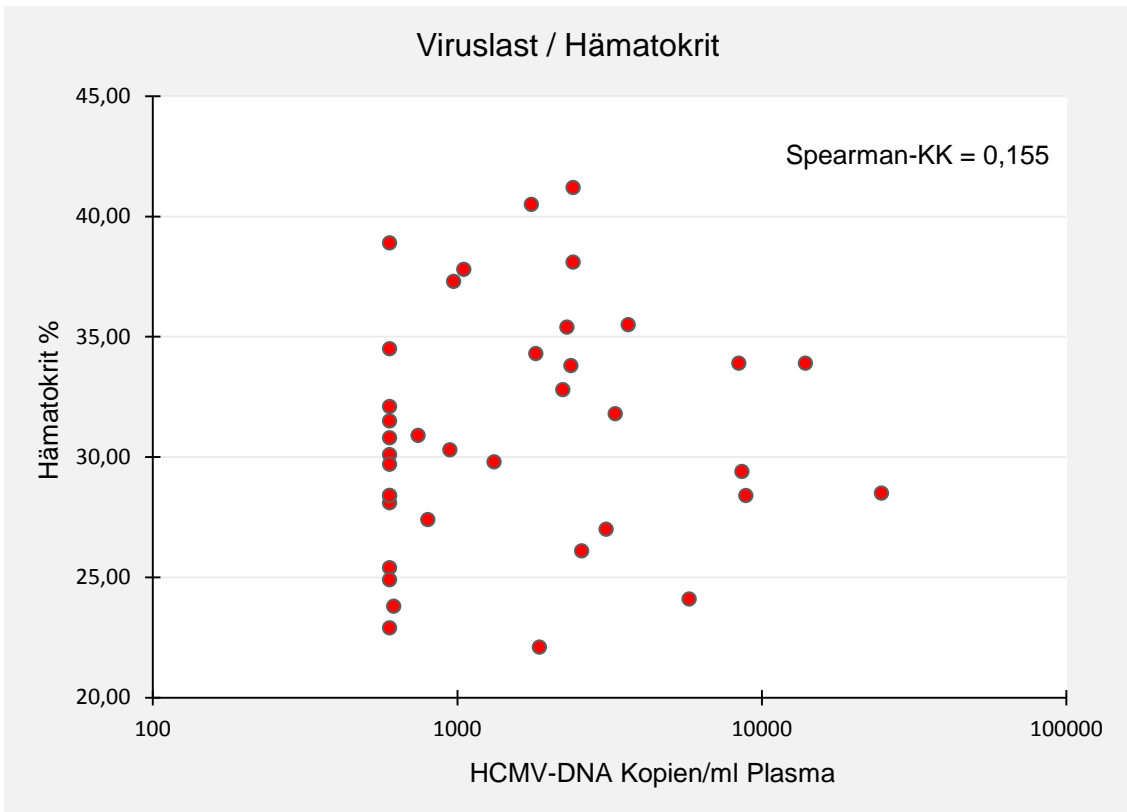


Diagramm 4: Korrelation zwischen der Viruslast und Hämatokrit.

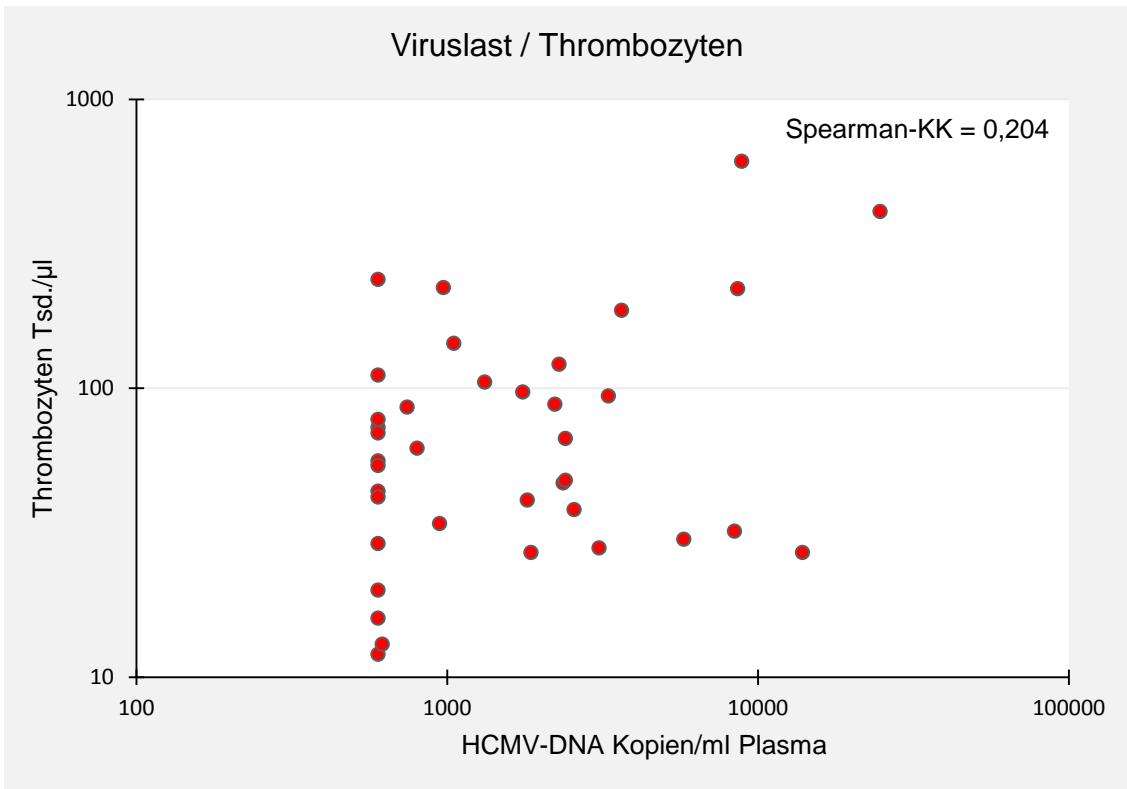


Diagramm 5: Korrelation zwischen der Viruslast und Thrombozyten.

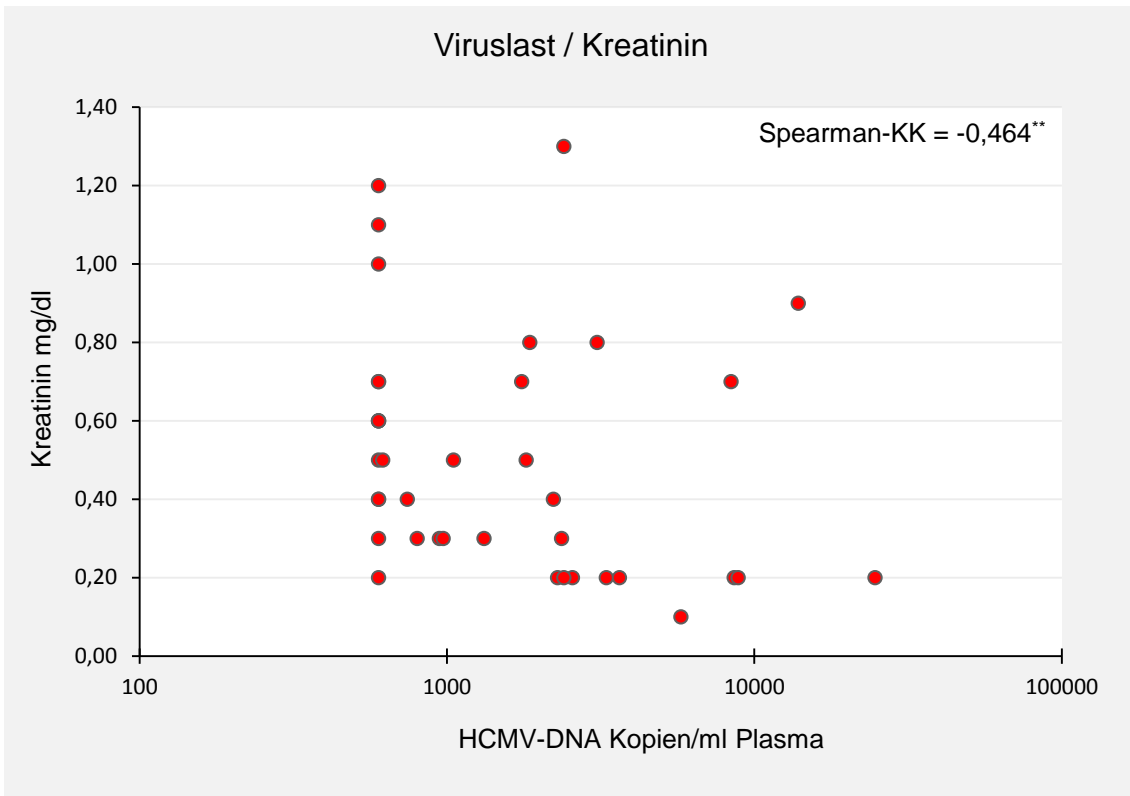


Diagramm 6: Korrelation zwischen der Viruslast und Kreatinin.
 ** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant.

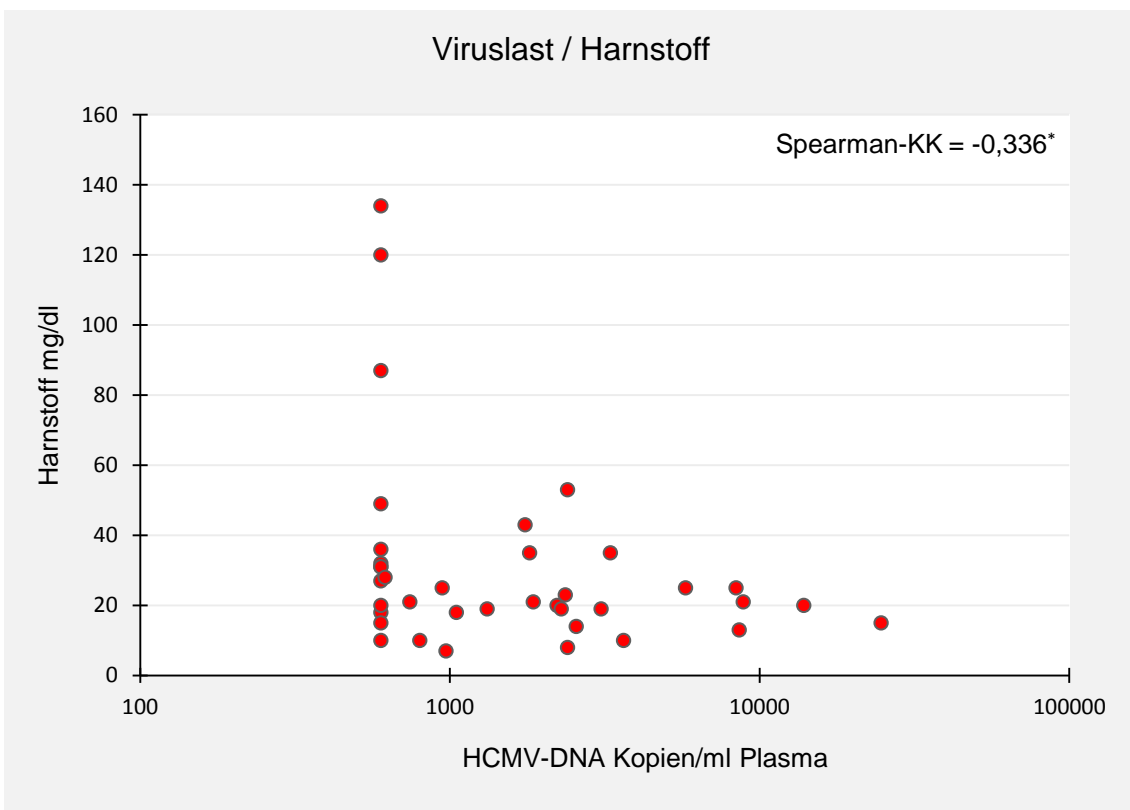


Diagramm 7: Korrelation zwischen der Viruslast und Harnstoff.
 * Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant.

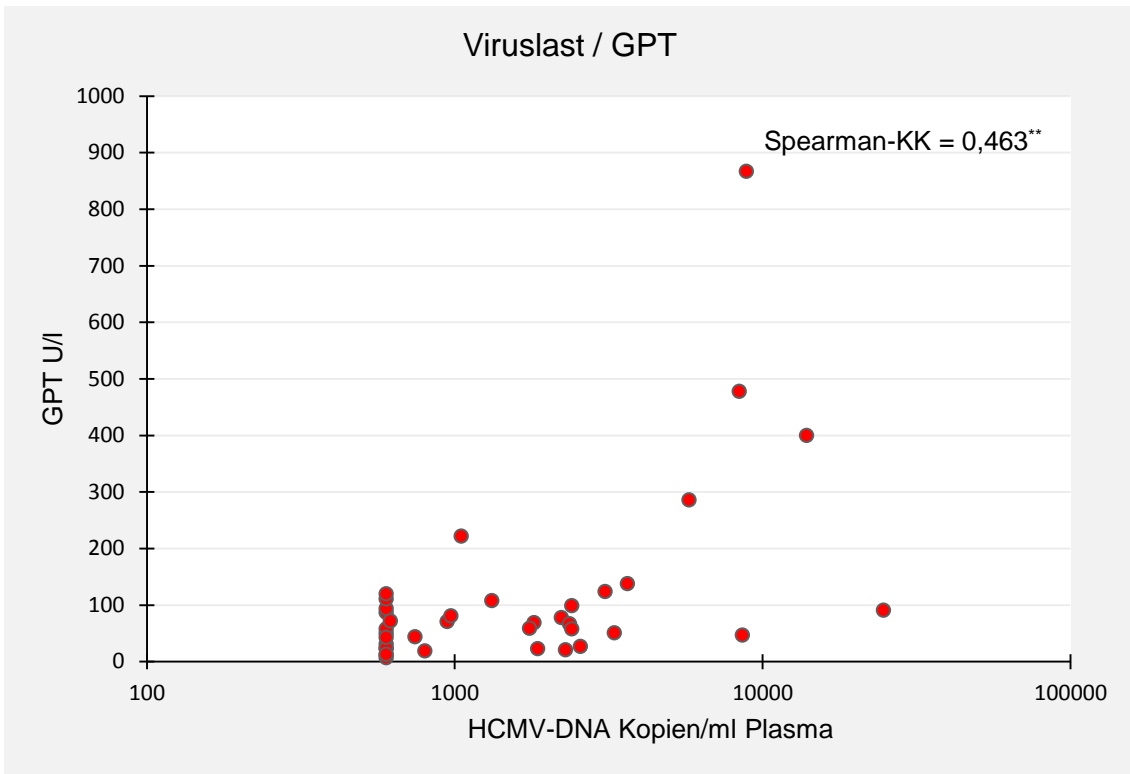


Diagramm 8: Korrelation zwischen der Viruslast und GPT.
 ** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant.

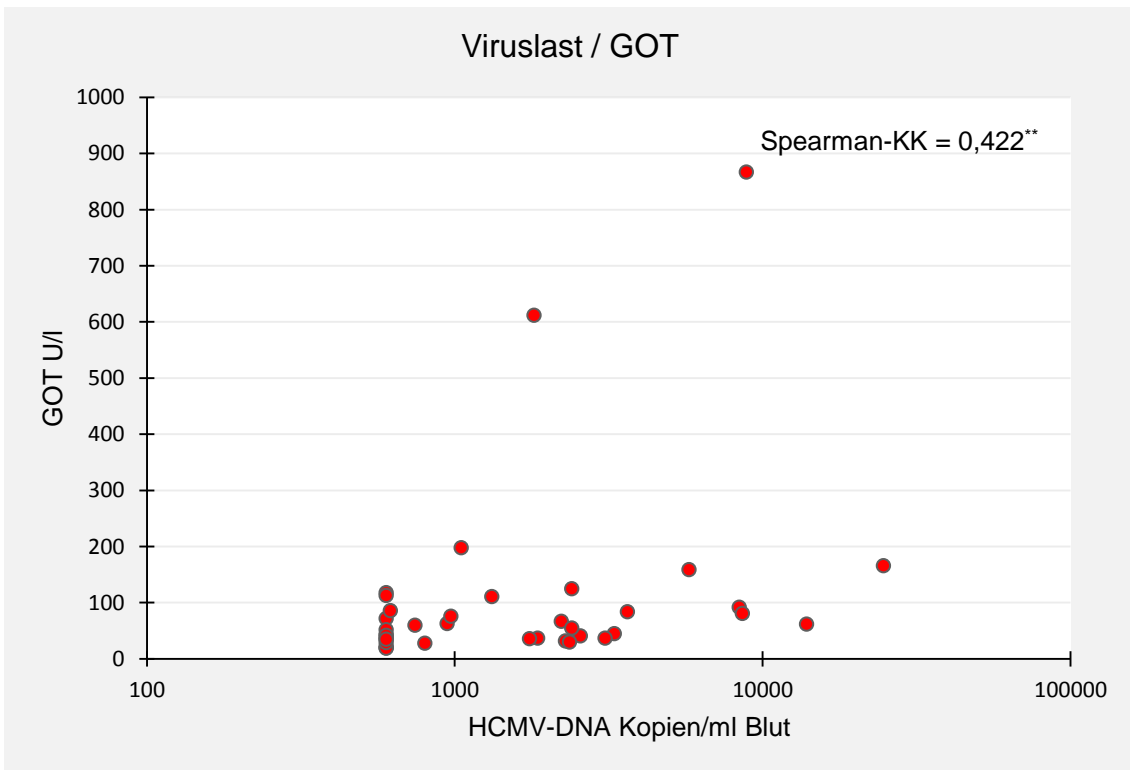


Diagramm 9: Korrelation zwischen der Viruslast und GOT.
 ** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant.

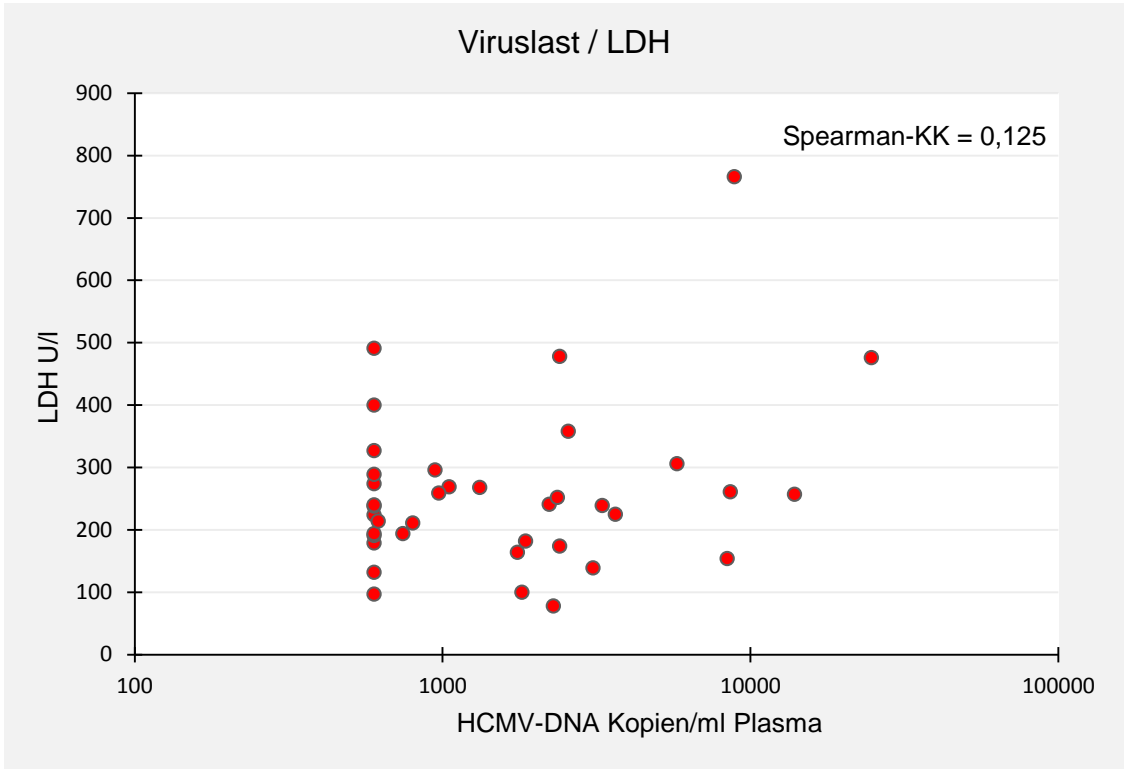


Diagramm 10: Korrelation zwischen der Viruslast und LDH.

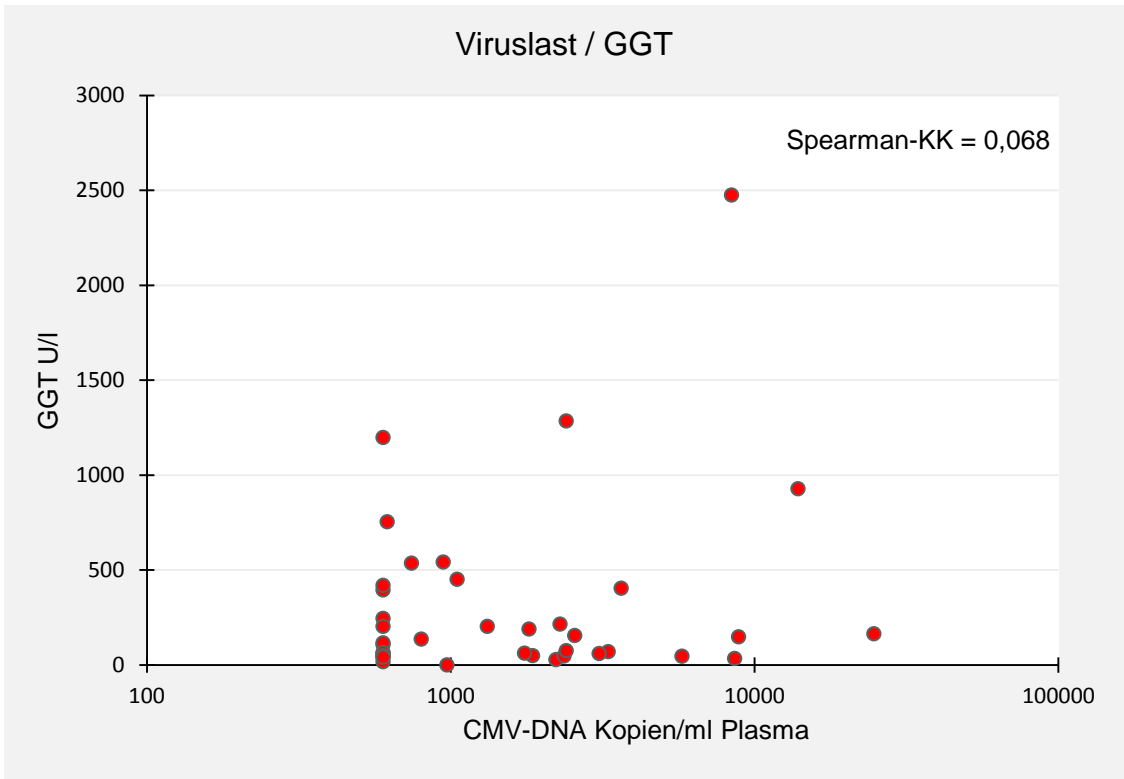


Diagramm 11: Korrelation zwischen der Viruslast und GGT.

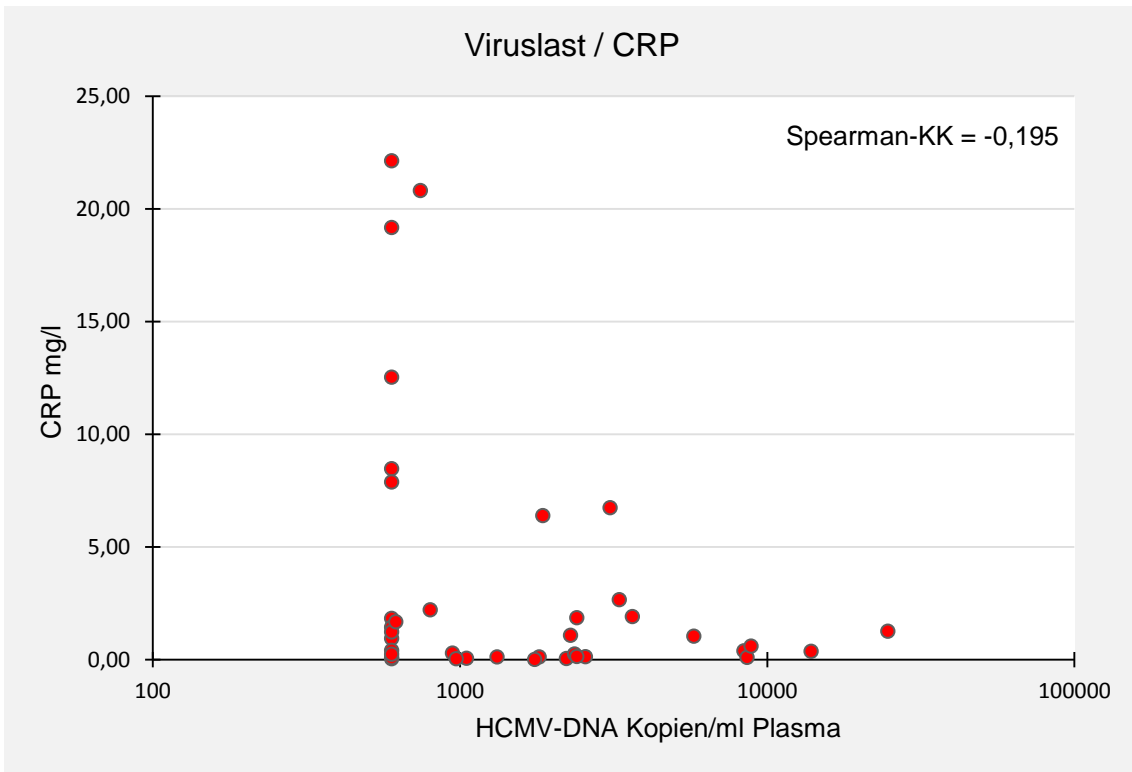


Diagramm 12: Korrelation zwischen der Viruslast und CRP.

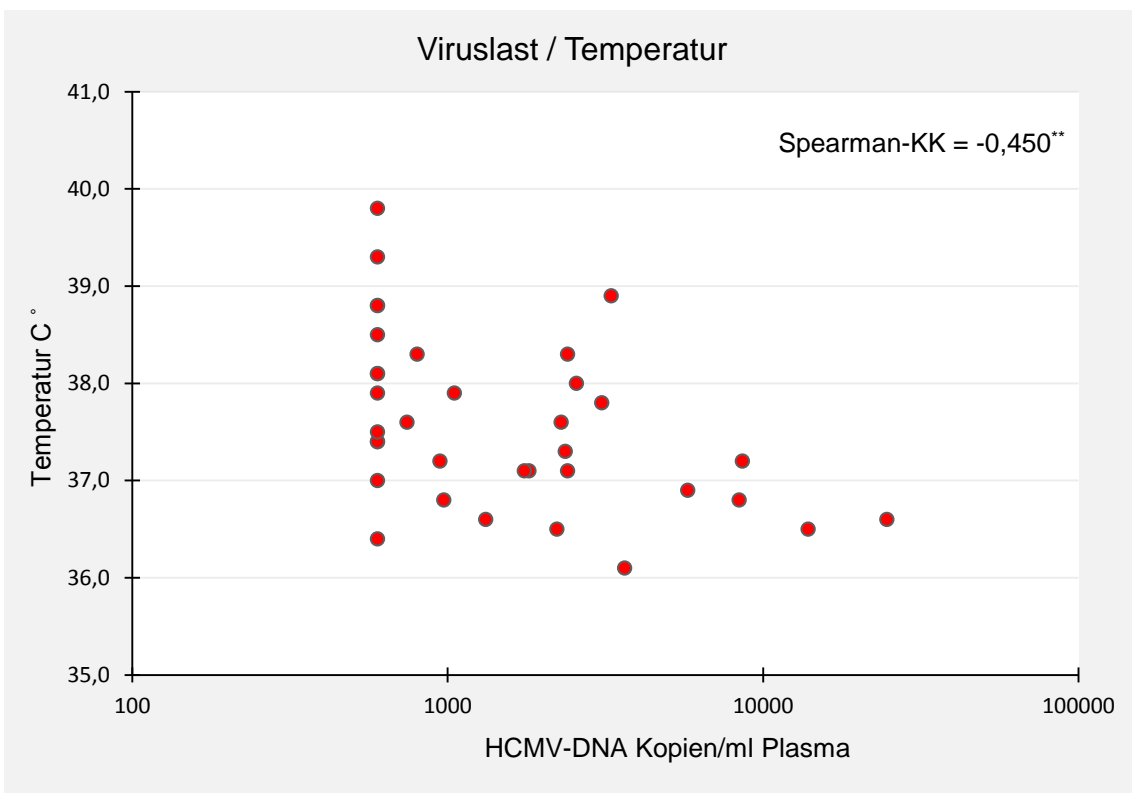


Diagramm 13: Korrelation zwischen der Viruslast und Temperatur.
 ** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant.

3.2.2 Gewichtete Korrelation des Gesamtkollektivs

In diesem Teil der Korrelationsanalyse wurden Wertepaare aller Patienten berücksichtigt, die mehr als drei Viruslastbestimmungen aufgewiesen haben. Es ergaben sich für 26 Patienten insgesamt 160 Bestimmungen der Viruslast und der jeweiligen Laborparameter. Die Berechnungsgrundlage für den Korrelationskoeffizienten wurde über eine Kovarianzanalyse (Test des Zwischensubjektes) ermittelt und die Ergebnisse in Form eines Streudiagramms und der dazugehörigen Rechnung graphisch und tabellarisch dargestellt (vgl. 2.4.). Ziel dieser Vorgehensweise ist es, die unterschiedliche Anzahl der Viruslastbestimmungen pro Patient zu berücksichtigen und auf das Gesamtkollektiv zu übertragen. Im nachfolgenden Diagramm sind Patientenkollektiv, Anzahl der Messungen, Höhe und Streuung der Viruslast jedes einzelnen Patienten abgebildet.

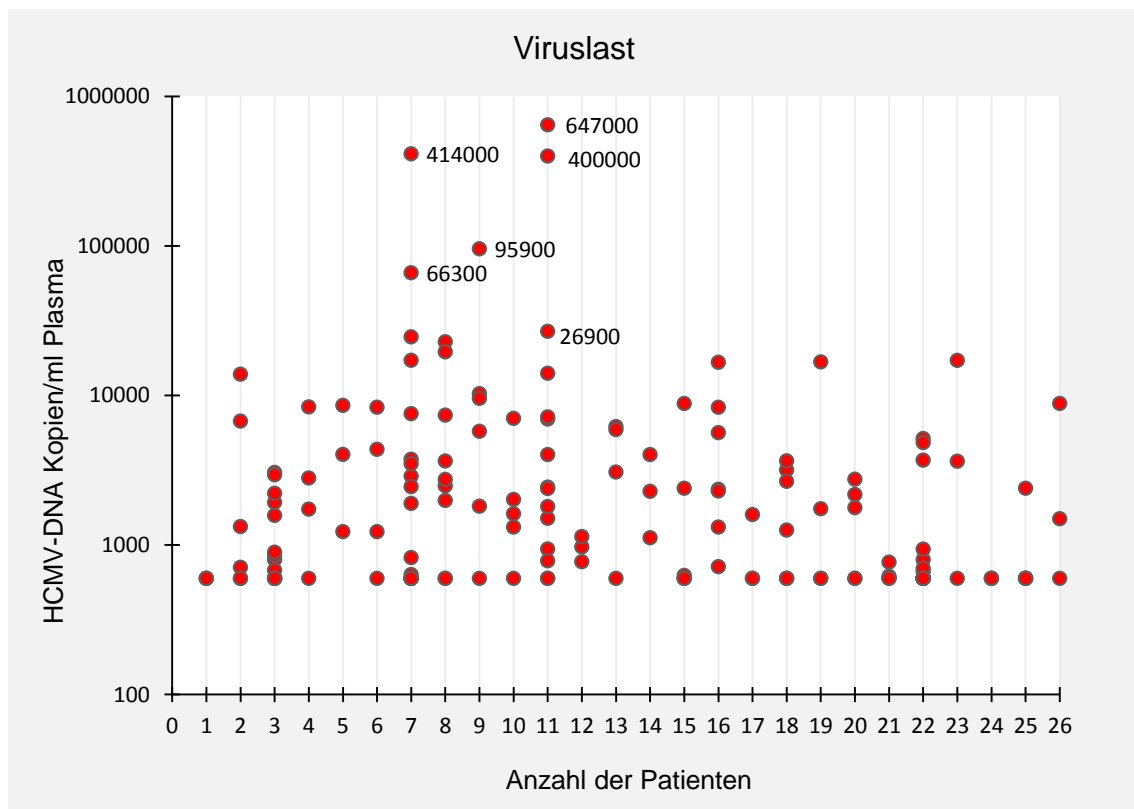


Diagramm 14: Anzahl der Patienten, Viruslast und Anzahl der Viruslastbestimmungen

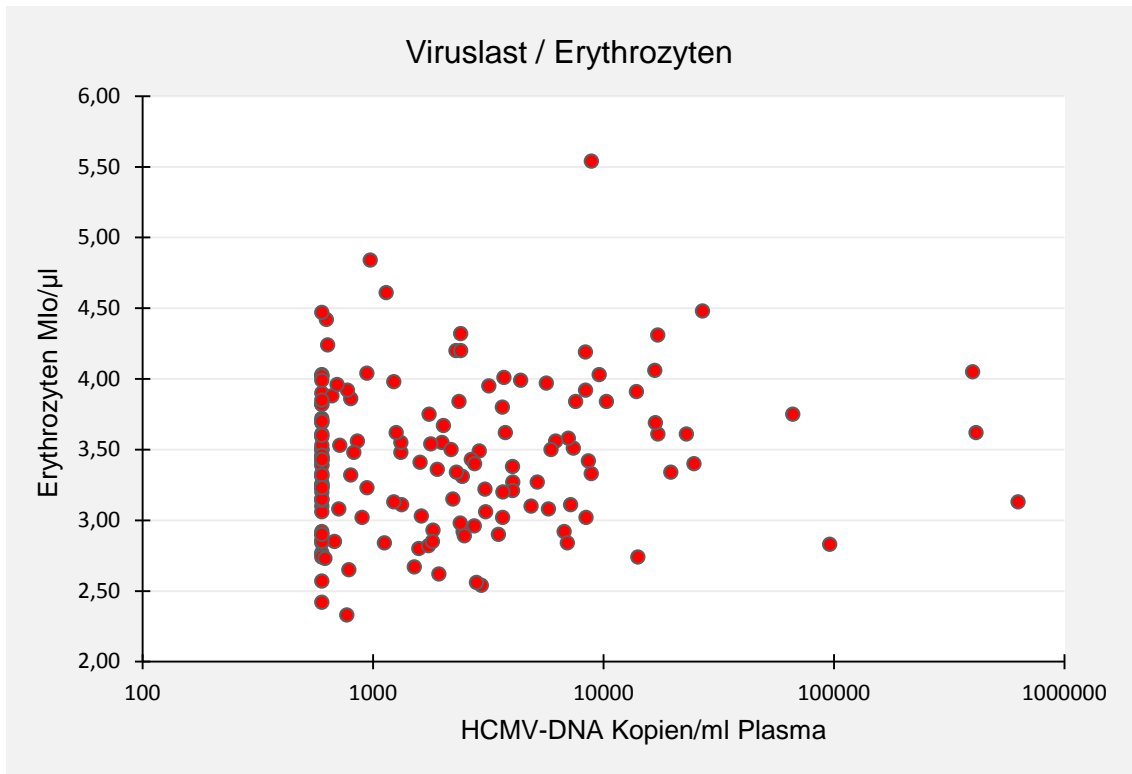


Diagramm 15: Korrelation zwischen der Viruslast und Erythrozyten.

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: Erythrozyten

Korrelationskoeffizient: 0,144

| Quelle | Quadratsumme vom Typ III | df | Mittel der Quadrate | F | Sig. |
|-----------------------------|--------------------------|-----|---------------------|----------|-------|
| Korrigiertes Modell | 22,235 | 26 | 0,855 | 4,770 | 0,000 |
| Konstanter Term | 1443,948 | 1 | 1443,948 | 8053,185 | 0,000 |
| Viruslast | 0,051 | 1 | 0,051 | 0,285 | 0,594 |
| Pat.Nr | 22,173 | 25 | 0,887 | 4,947 | 0,000 |
| Fehler | 23,847 | 133 | 0,179 | | |
| Gesamt | 1945,931 | 160 | | | |
| Korrigierte Gesamtvariation | 46,082 | 159 | | | |

Tabelle 2: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter Erythrozyten.

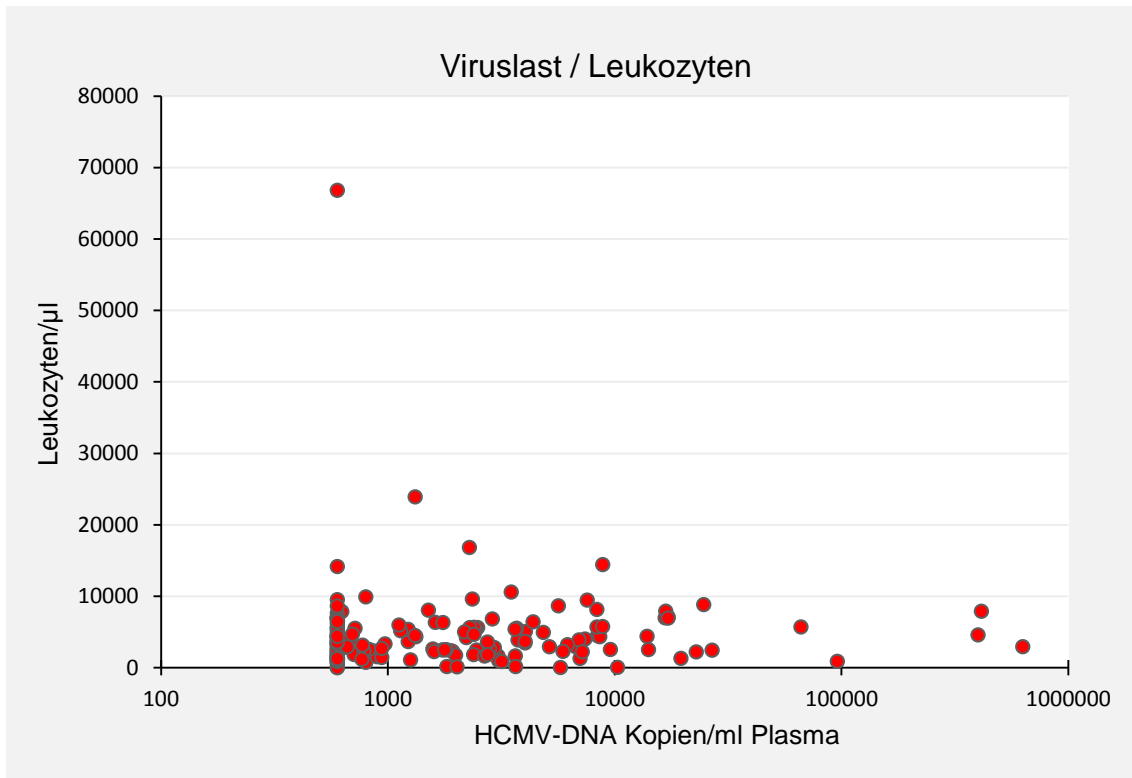


Diagramm 16: Korrelation zwischen der Viruslast und Leukozyten.

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable Leukozyten

Korrelationskoeffizient: 0,043

| Quelle | Quadratsumme vom Typ III | df | Mittel der Quadrate | F | Sig. |
|-----------------------------|--------------------------|-----|---------------------|--------|-------|
| Korrigiertes Modell | 1731800490,057 | 26 | 66607711,156 | 2,275 | 0,001 |
| Konstanter Term | 2670324487,793 | 1 | 2670324487,793 | 91,195 | 0,000 |
| Viruslast | 7288958,011 | 1 | 7288958,011 | 0,249 | 0,619 |
| Pat.Nr | 1725105644,948 | 25 | 69004225,798 | 2,357 | 0,001 |
| Fehler | 3894446869,943 | 133 | 29281555,413 | | |
| Gesamt | 9034701800,000 | 160 | | | |
| Korrigierte Gesamtvariation | 5626247360,000 | 159 | | | |

Tabelle 3: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter Leukozyten.

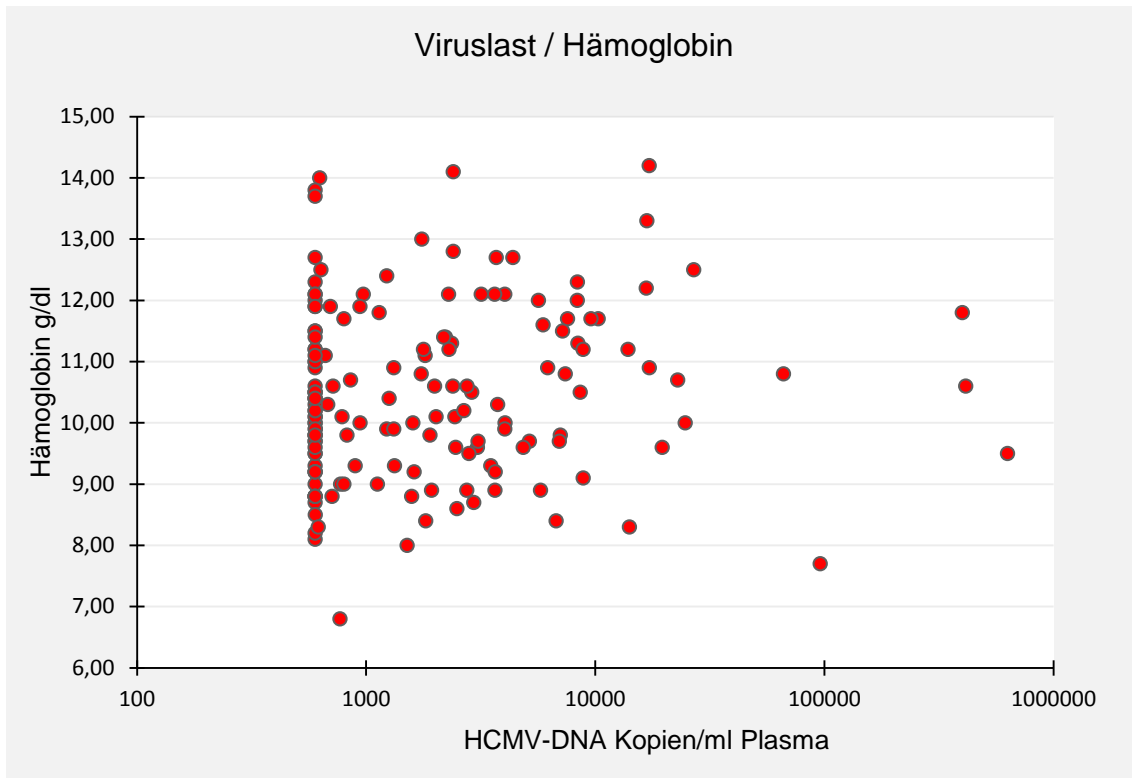


Diagramm 17: Korrelation zwischen der Viruslast und Hämoglobin.

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: Hämoglobin

Korrelationskoeffizient: - 0,021

| Quelle | Quadratsumme vom Typ III | df | Mittel der Quadrate | F | Sig. |
|-----------------------------|--------------------------|-----|---------------------|----------|-------|
| Korrigiertes Modell | 120,629 | 26 | 4,640 | 3,244 | 0,000 |
| Konstanter Term | 13078,031 | 1 | 13078,031 | 9143,319 | 0,000 |
| Viruslast | 0,081 | 1 | 0,081 | 0,057 | 0,812 |
| Pat.Nr | 120,629 | 25 | 4,825 | 3,373 | 0,000 |
| Fehler | 190,235 | 133 | 1,430 | | |
| Gesamt | 17900,500 | 160 | | | |
| Korrigierte Gesamtvariation | 310,864 | 159 | | | |

Tabelle 4: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter Hämoglobin.

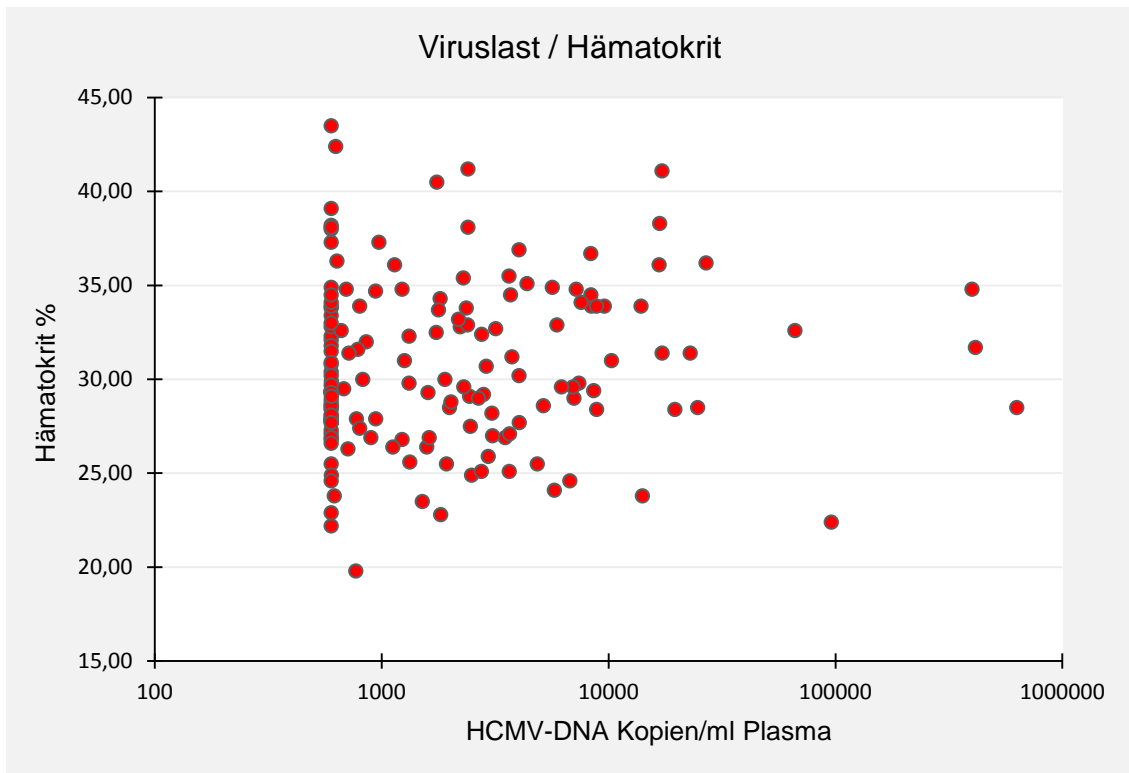


Diagramm 18: Korrelation zwischen der Viruslast und Hämatokrit.

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: Hämatokrit

Korrelationskoeffizient: 0,021

| Quelle | Quadratsumme vom Typ III | df | Mittel der Quadrate | F | Sig. |
|-----------------------------|--------------------------|-----|---------------------|---------|-------|
| Korrigiertes Modell | 12607,996 | 26 | 484,923 | 1,069 | 0,387 |
| Konstanter Term | 122040,900 | 1 | 122040,900 | 268,945 | 0,000 |
| Viruslast | 0,578 | 1 | 0,578 | 0,001 | 0,972 |
| Pat.Nr | 12603,463 | 25 | 504,139 | 1,111 | 0,339 |
| Fehler | 60352,243 | 133 | 453,776 | | |
| Gesamt | 239912,480 | 160 | | | |
| Korrigierte Gesamtvariation | 72960,239 | 159 | | | |

Tabelle 5: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter Hämatokrit.

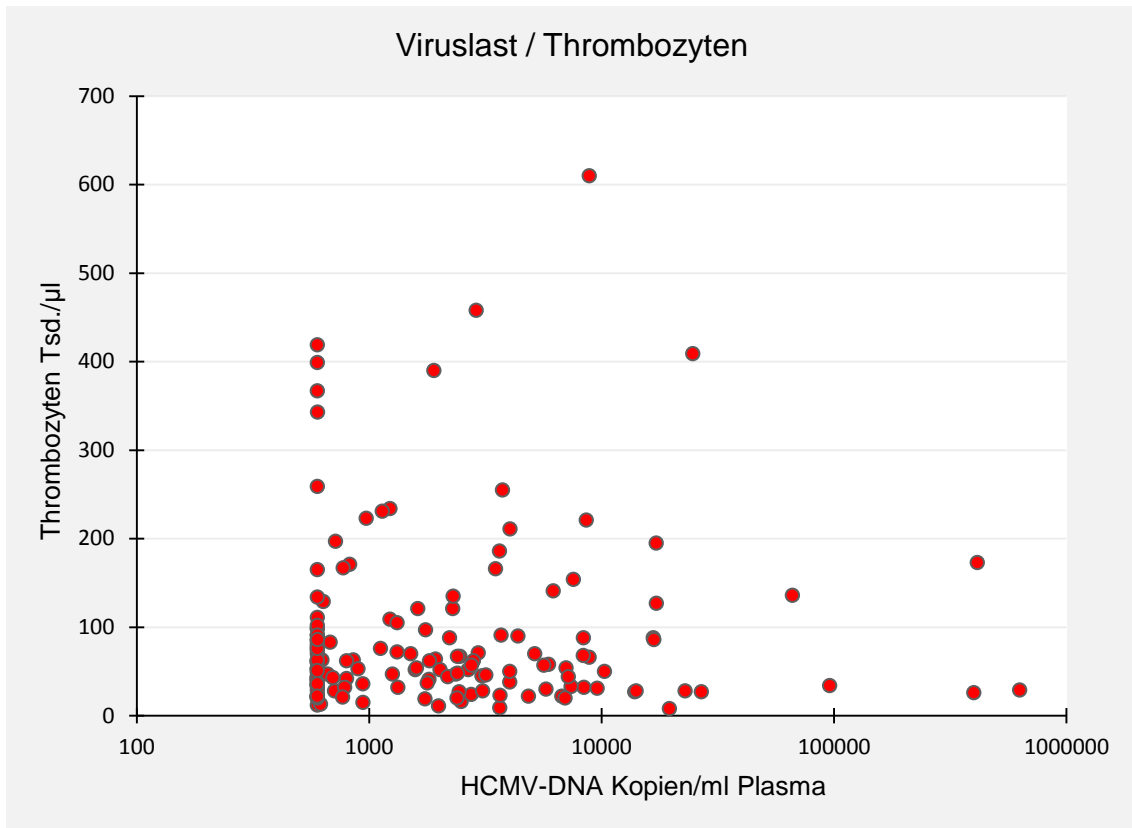


Diagramm 19: Korrelation zwischen der Viruslast und Thrombozyten.

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: Thrombozyten

Korrelationskoeffizient: -0,112

| Quelle | Quadratsumme vom Typ III | df | Mittel der Quadrate | F | Sig. |
|-----------------------------|--------------------------|-----|---------------------|---------|-------|
| Korrigiertes Modell | 1194867,687 | 26 | 45956,449 | 12,443 | 0,000 |
| Konstanter Term | 1162554,242 | 1 | 1162554,242 | 314,759 | 0,000 |
| Viruslast | 6191,038 | 1 | 6191,038 | 1,676 | 0,198 |
| Pat.Nr | 1188168,214 | 25 | 47526,729 | 12,868 | 0,000 |
| Fehler | 491232,288 | 133 | 3693,476 | | |
| Gesamt | 3055470,000 | 160 | | | |
| Korrigierte Gesamtvariation | 1686099,975 | 159 | | | |

Tabelle 6: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter Thrombozyten.

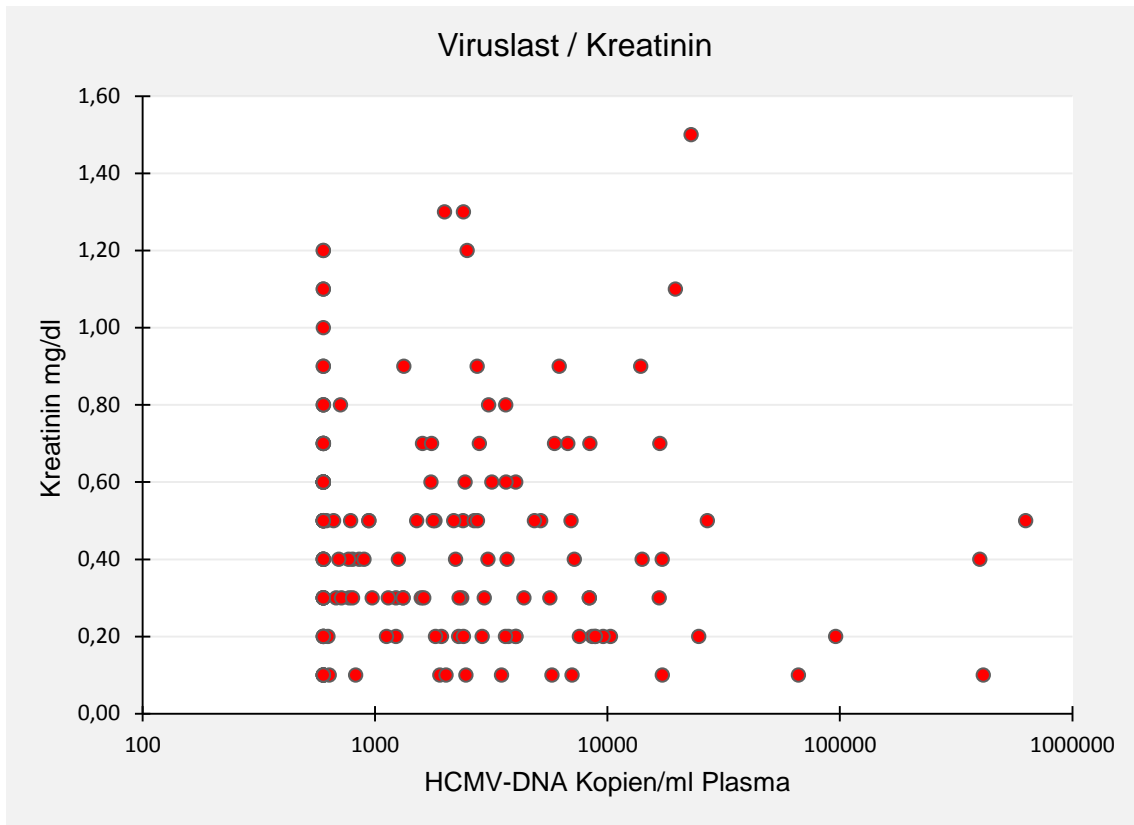


Diagramm 20: Korrelation zwischen der Viruslast und Kreatinin.

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: Kreatinin

Korrelationskoeffizient: nicht bestimmbar

| Quelle | Quadratsumme vom Typ III | df | Mittel der Quadrate | F | Sig. |
|-----------------------------|--------------------------|-----|---------------------|----------|-------|
| Korrigiertes Modell | 10,670a | 26 | 0,410 | 18,985 | 0,000 |
| Konstanter Term | 29,617 | 1 | 29,617 | 1370,159 | 0,000 |
| Viruslast | 0,000 | 1 | 0,000 | 0,016 | 0,900 |
| Pat.Nr | 10,472 | 25 | 0,419 | 19,379 | 0,000 |
| Fehler | 2,853 | 132 | 0,022 | | |
| Gesamt | 48,430 | 159 | | | |
| Korrigierte Gesamtvariation | 13,523 | 158 | | | |

Tabelle 7:: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter Kreatinin.

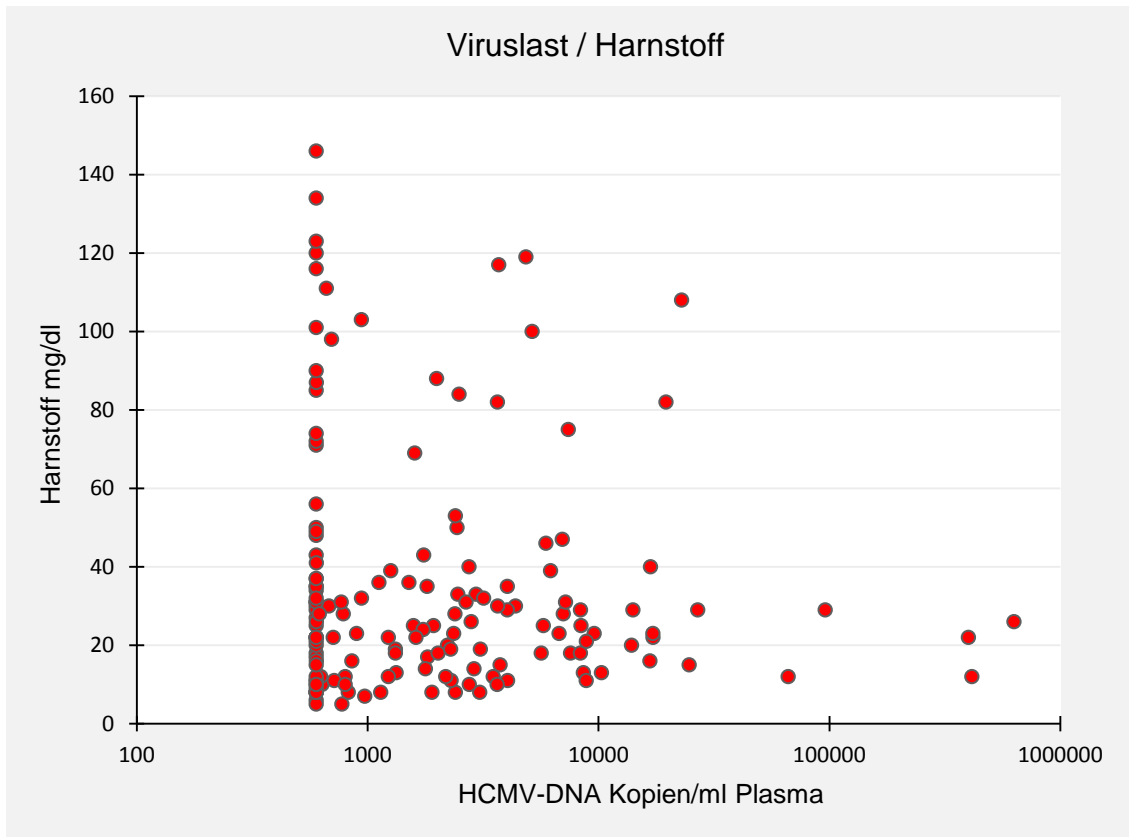


Diagramm 21: Korrelation zwischen der Viruslast und Harnstoff.

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: Harnstoff
 Korrelationskoeffizient: - 0,013

| Quelle | Quadratsumme vom Typ III | df | Mittel der Quadrate | F | Sig. |
|-----------------------------|--------------------------|-----|---------------------|---------|-------|
| Korrigiertes Modell | 100867,899a | 26 | 3879,535 | 10,913 | 0,000 |
| Konstanter Term | 137999,876 | 1 | 137999,876 | 388,181 | 0,000 |
| Viruslast | 7,790 | 1 | 7,790 | 0,022 | 0,883 |
| Pat.Nr | 100161,832 | 25 | 4006,473 | 11,270 | 0,000 |
| Fehler | 47282,076 | 133 | 355,504 | | |
| Gesamt | 344010,000 | 160 | | | |
| Korrigierte Gesamtvariation | 148149,975 | 159 | | | |

Tabelle 8: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter Harnstoff.

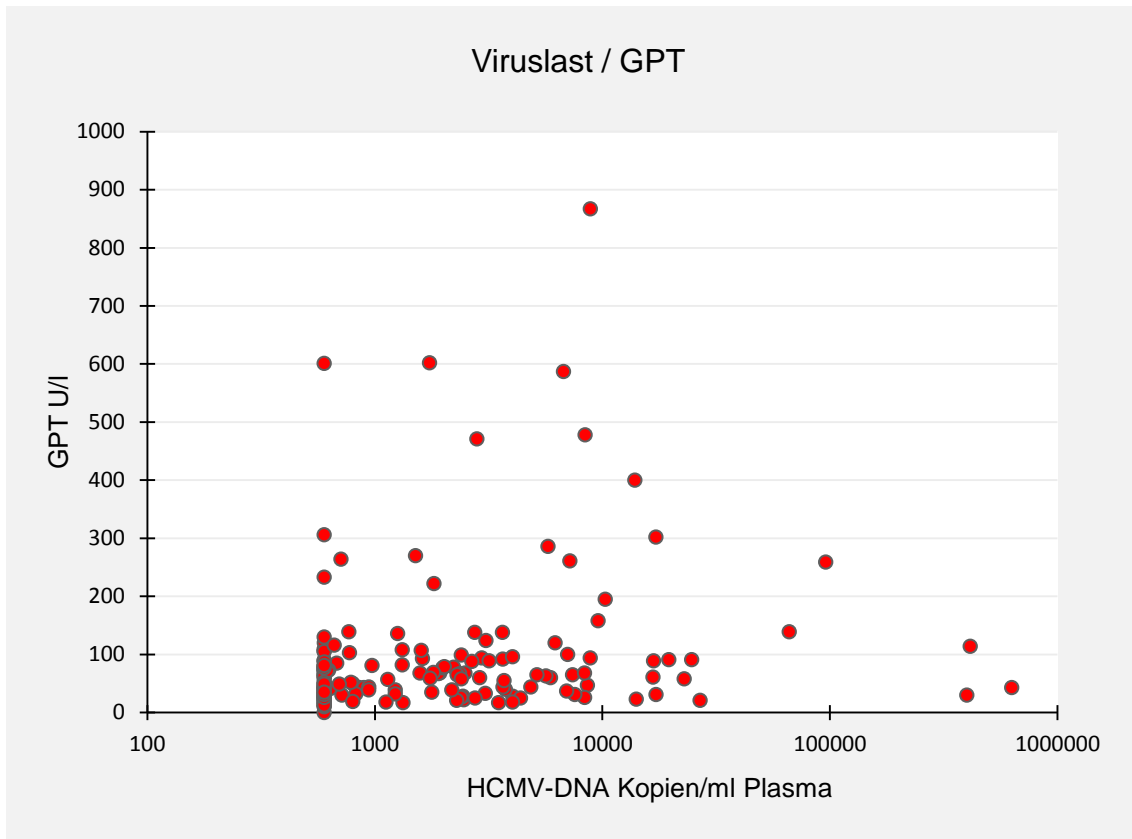


Diagramm 22: Korrelation zwischen der Viruslast und GPT.

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: GPT

Korrelationskoeffizient: - 0,104

| Quelle | Quadratsumme vom Typ III | df | Mittel der Quadrate | F | Sig. |
|-----------------------------|--------------------------|-----|---------------------|---------|-------|
| Korrigiertes Modell | 1884898,562 | 26 | 72496,099 | 10,007 | 0,000 |
| Konstanter Term | 1614832,219 | 1 | 1614832,219 | 222,903 | 0,000 |
| Viruslast | 10665,055 | 1 | 10665,055 | 1,472 | 0,227 |
| Pat.Nr | 1877882,901 | 25 | 75115,316 | 10,369 | 0,000 |
| Fehler | 963525,413 | 133 | 7244,552 | | |
| Gesamt | 4432066,000 | 160 | | | |
| Korrigierte Gesamtvariation | 2848423,975 | 159 | | | |

Tabelle 9: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter GPT.

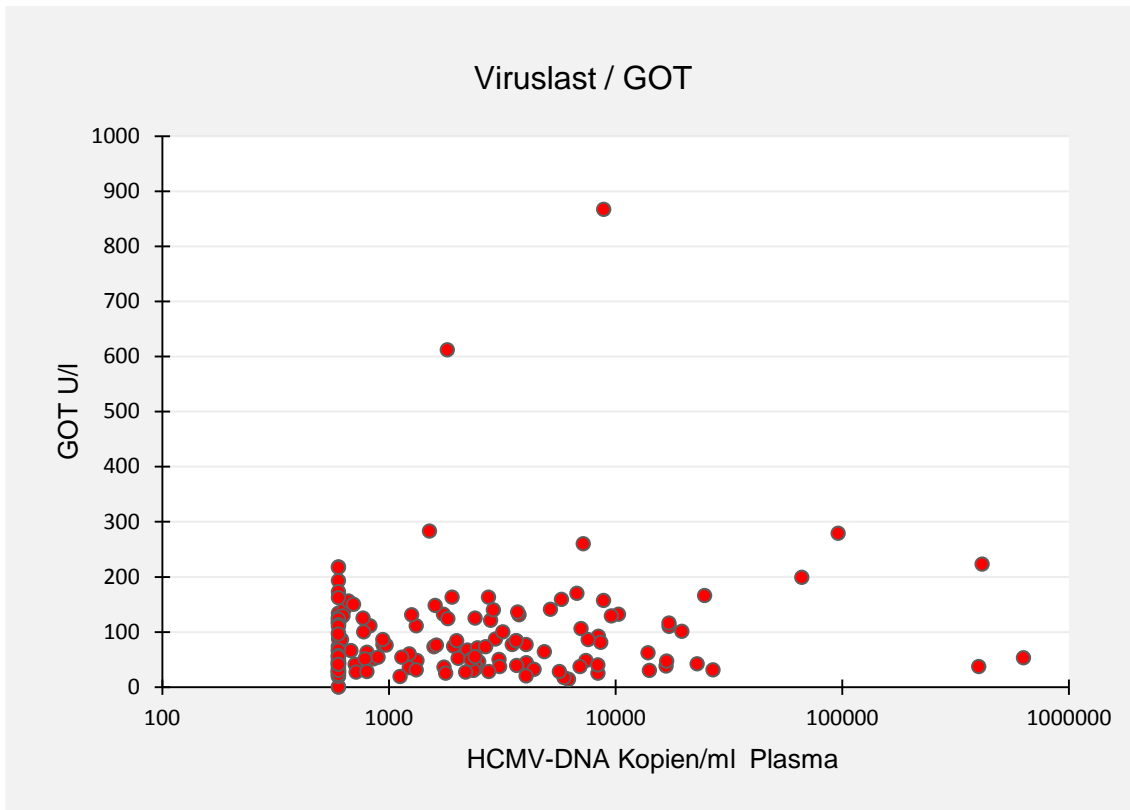


Diagramm 23: Korrelation zwischen der Viruslast und GOT.

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: GOT

Korrelationskoeffizient: 0,146

| Quelle | Quadratsumme vom Typ III | df | Mittel der Quadratrate | F | Sig. |
|-----------------------------|--------------------------|-----|------------------------|---------|-------|
| Korrigiertes Modell | 1018907,794 | 26 | 39188,761 | 6,678 | 0,000 |
| Konstanter Term | 996585,501 | 1 | 996585,501 | 169,818 | 0,000 |
| Viruslast | 16954,262 | 1 | 16954,262 | 2,889 | 0,092 |
| Pat.Nr | 984368,095 | 25 | 39374,724 | 6,709 | 0,000 |
| Fehler | 780515,306 | 133 | 5868,536 | | |
| Gesamt | 3233560,000 | 160 | | | |
| Korrigierte Gesamtvariation | 1799423,100 | 159 | | | |

Tabelle 10: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter GOT.

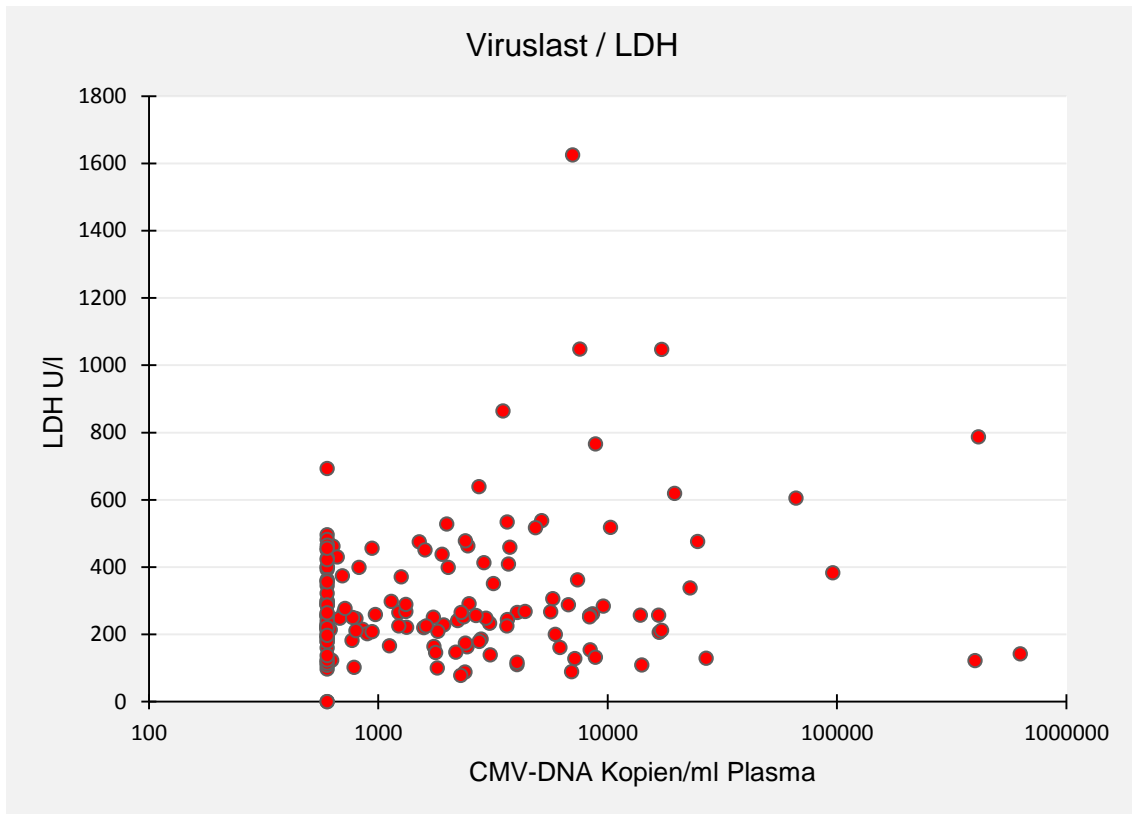


Diagramm 24: Korrelation zwischen der Viruslast und LDH.

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: LDH

Korrelationskoeffizient: 0,083

| Quelle | Quadratsumme vom Typ III | df | Mittel der Quadrate | F | Sig. |
|-----------------------------|--------------------------|-----|---------------------|---------|-------|
| Korrigiertes Modell | 9935567,410 | 26 | 382137,208 | 4,812 | 0,000 |
| Konstanter Term | 12532411,630 | 1 | 12532411,630 | 157,824 | 0,000 |
| Viruslast | 74103,103 | 1 | 74103,103 | 0,933 | 0,336 |
| Pat.Nr | 9648873,347 | 25 | 385954,934 | 4,860 | 0,000 |
| Fehler | 10561166,934 | 133 | 79407,270 | | |
| Gesamt | 37950447,000 | 160 | | | |
| Korrigierte Gesamtvariation | 20496734,344 | 159 | | | |

Tabelle 11: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter LDH.

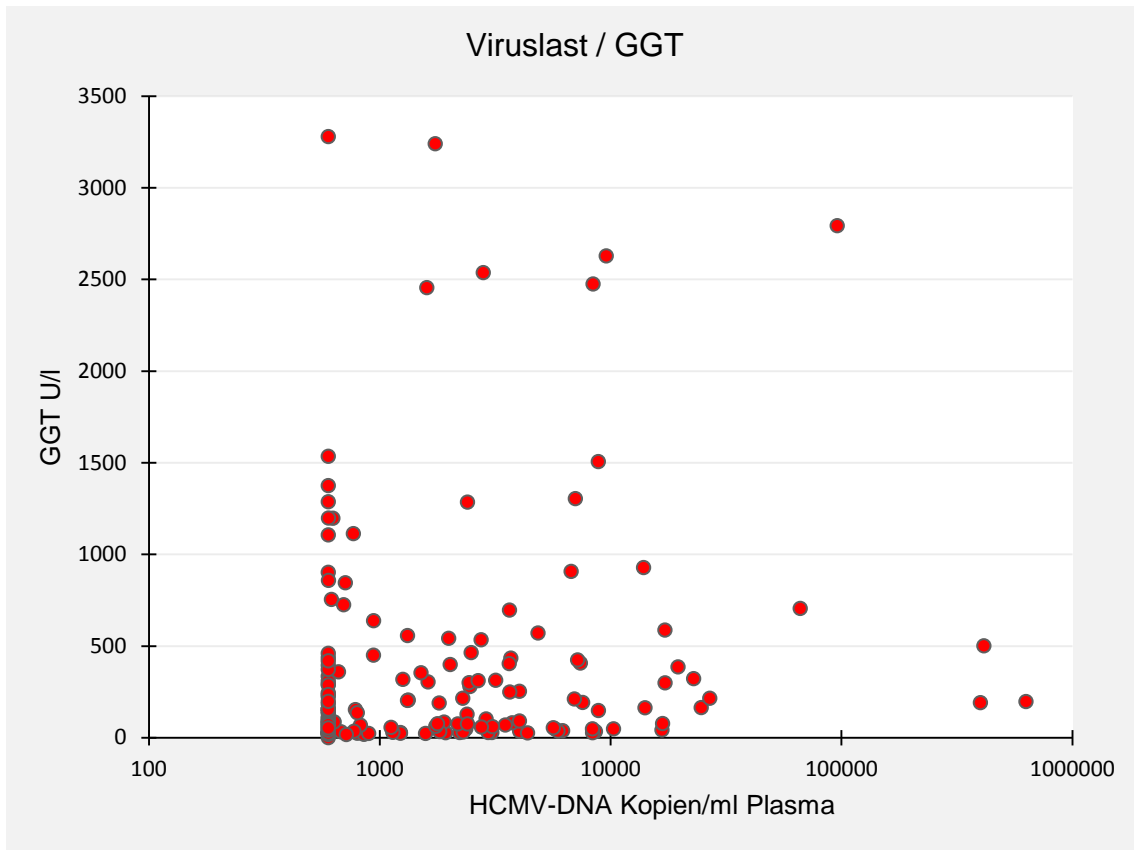


Diagramm 25: Korrelation zwischen der Viruslast und GGT.

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: GGT

Korrelationskoeffizient: 0,190

| Quelle | Quadratsumme vom Typ III | df | Mittel der Quadrate | F | Sig. |
|-----------------------------|--------------------------|-----|---------------------|---------|-------|
| Korrigiertes Modell | 45581743,388 | 26 | 1753143,976 | 11,974 | 0,000 |
| Konstanter Term | 25675024,591 | 1 | 25675024,591 | 175,358 | 0,000 |
| Viruslast | 715029,016 | 1 | 715029,016 | 4,884 | 0,029 |
| Pat.Nr | 45125581,943 | 25 | 1805023,278 | 12,328 | 0,000 |
| Fehler | 19033887,784 | 130 | 146414,521 | | |
| Gesamt | 90940134,000 | 157 | | | |
| Korrigierte Gesamtvariation | 64615631,172 | 156 | | | |

Tabelle 12: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter GGT.

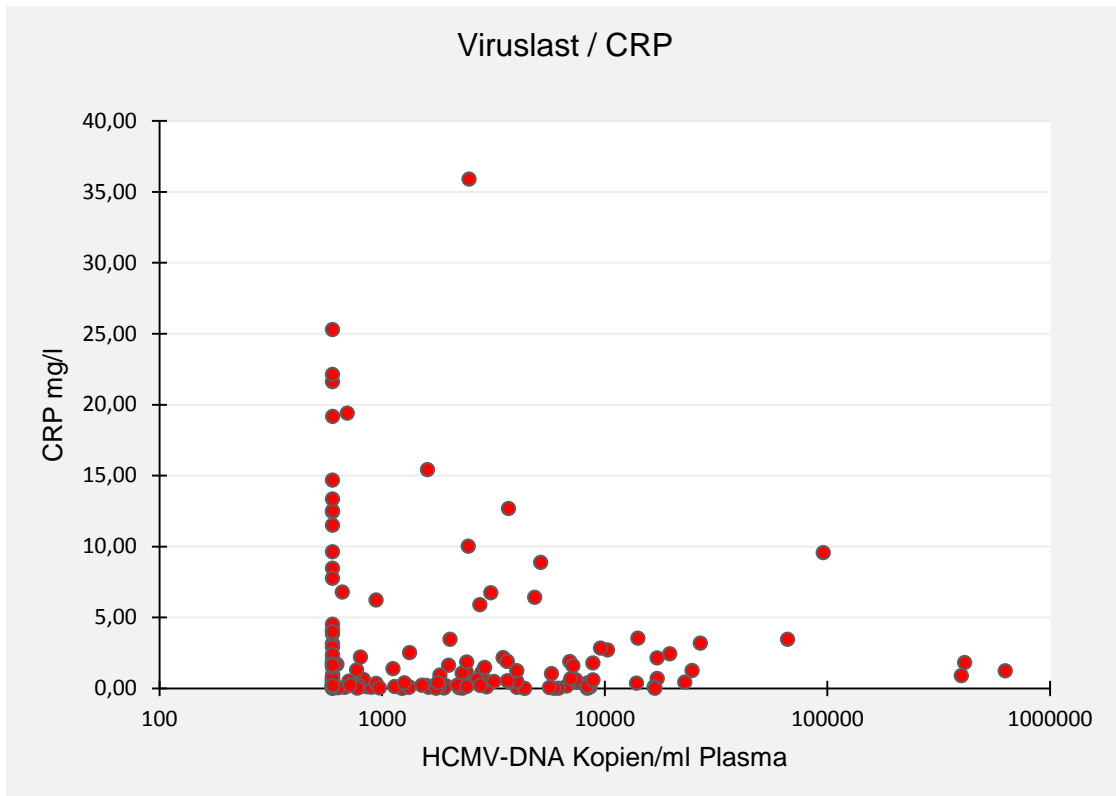


Diagramm 26: Korrelation zwischen der Viruslast und CRP.

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: CRP

Korrelationskoeffizient: - 0,008

| Quelle | Quadratsumme vom Typ III | df | Mittel der Quadrate | F | Sig. |
|-----------------------------|--------------------------|-----|---------------------|--------|-------|
| Korrigiertes Modell | 2181,972 | 26 | 83,922 | 4,619 | 0,000 |
| Konstanter Term | 885,078 | 1 | 885,078 | 48,713 | 0,000 |
| Viruslast | 0,016 | 1 | 0,016 | 0,001 | 0,976 |
| Pat.Nr | 2181,826 | 25 | 87,273 | 4,803 | 0,000 |
| Fehler | 2416,485 | 133 | 18,169 | | |
| Gesamt | 5827,783 | 160 | | | |
| Korrigierte Gesamtvariation | 4598,457 | 159 | | | |

Tabelle 13: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter CRP.

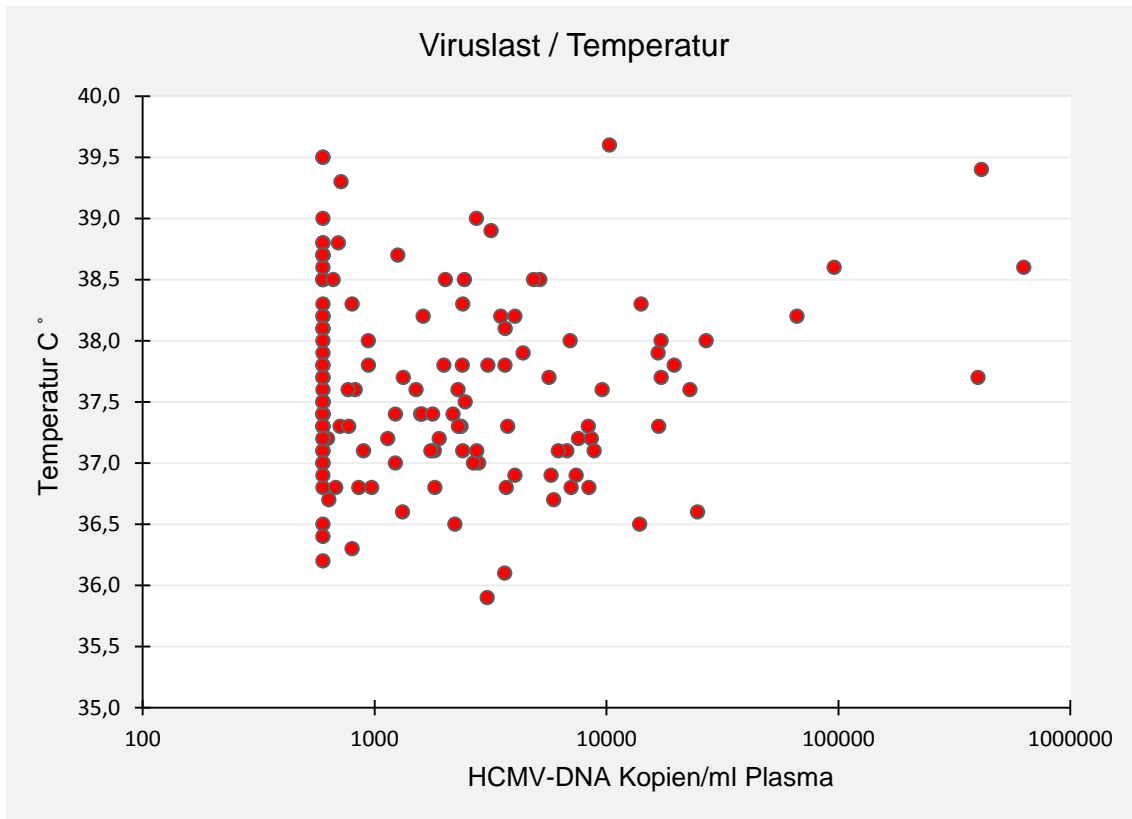


Diagramm 27: Korrelation zwischen der Viruslast und Temperatur.

Tests der Zwischensubjekteffekte

Abhängige Variable: Temperatur

Korrelationskoeffizient: 0,109

| Quelle | Quadratsumme vom Typ III | df | Mittel der Quadrate | F | Sig. |
|-----------------------------|--------------------------|-----|---------------------|---------|-------|
| Korrigiertes Modell | 4602,354 | 26 | 177,014 | 1,054 | 0,404 |
| Konstanter Term | 123783,803 | 1 | 123783,803 | 737,146 | 0,000 |
| Viruslast | 272,358 | 1 | 272,358 | 1,622 | 0,205 |
| Pat.Nr | 4484,074 | 25 | 179,363 | 1,068 | 0,388 |
| Fehler | 22333,756 | 133 | 167,923 | | |
| Gesamt | 194878,270 | 160 | | | |
| Korrigierte Gesamtvariation | 26936,109 | 159 | | | |

Tabelle 14: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter Temperatur.

3.2.3 Zusammenfassung der Ergebnisse der Korrelationsanalyse

Um eine Aussage bezüglich der Stärke eines Zusammenhangs zwischen der Viruslasthöhe (HCMV-DNAämie) und der Laborparameter im untersuchten Patientenkollektiv (siehe Abschnitt 3.3.1) treffen zu können, erfolgt diese mit Bestimmung des Spearman-Korrelationskoeffizienten (r_s). Zurzeit existieren in der Literatur keine einheitlichen Richtlinien zur Interpretation der Korrelationskoeffizienten.

- $0,0 \leq r_s \leq 0,2$ → kein bis geringer Zusammenhang
- $0,2 < r_s \leq 0,5$ → schwacher bis mäßiger Zusammenhang
- $0,5 < r_s \leq 0,8$ → deutlicher Zusammenhang
- $0,8 < r_s \leq 1,0$ → hoher bis perfekter Zusammenhang

Auf der Grundlage der obigen Auswertung (von Hehn 2014) ergibt sich für die Laborparameter Leukozyten ($r_s = -0,483$), Kreatinin ($r_s = -0,464$), GPT ($r_s = 0,463$), GOT ($r_s = 0,422$), GGT ($r_s = -0,450$), Harnstoff ($r_s = -0,336$), Thrombozyten ($r_s = 0,204$) und Temperatur ($r_s = -0,450$) ein schwacher bis mäßiger Zusammenhang.

Für die restlichen Laborparameter wie Erythrozyten ($r_s = 0,096$), Hämoglobin ($r_s = 0,135$), Hämatokrit ($r_s = 0,155$), LDH ($r_s = 0,125$) und CRP ($r_s = -0,195$) zeichnet sich maximal nur ein geringer Zusammenhang ab.

Im zweiten Teil der Korrelationsanalyse (siehe Abschnitt 3.3.2) ergeben sich unter Berücksichtigung des individuellen Patientenverlaufs für alle Korrelationskoeffizienten (KK) Werte unterhalb von +/- 0,2 während des Infektionszeitraums und somit kann nur von einem geringen bis keinem Zusammenhang zwischen der Viruslasthöhe und der Laborparameter ausgegangen werden.

3.3 Wirksamkeit antiviraler Therapie

Dieser Abschnitt des Ergebnisteils beinhaltet ein kleines Memorandum zu jedem einzelnen Patienten, das Angaben zur Hauptdiagnose, Art der durchgeführten SCT, Entwicklung und Schweregrad einer GvHD, Zeitpunkt einer Reaktivierung, zusätzliche Virusinfektionen, Immunsuppressiva und Auffälligkeiten im Verlauf der systemischen Infektion enthält.

In dazugehörigen Grafiken werden die quantitative Viruslast und die korrespondierende antivirale Therapie an einzelnen Bestimmungstagen während eines Infektionszeitraums dargestellt. Die verabreichten Virustatika und die jeweilige Dosierung werden in Form von unterschiedlich farbigen Pfeilen symbolisiert. Diese Art der Darstellung ermöglicht es Aussagen über den individuellen Viruslastverlauf, Reaktivierungen, Replikationszeit und Wirksamkeit der antiviralen Therapie zu treffen.

Bei 13 Patienten wurde aufgrund des Schweregrades der Infektion neben der Gabe von typischen Virustatika (Cymeven®, Valcyte® und Foscavir®) die Therapie mit HCMV-spezifischem IgG (Cytotect®) durchgeführt. Vier dieser Patienten erhielten zusätzlich HCMV-spezifische T-Zellen. Trotz einer antiviralen Therapie wurde in 17 Fällen eine Viruslastzunahme innerhalb des Infektionszeitraums festgestellt. Dabei konnte bei Applikation von Valcyte® in acht Fällen, von Foscavir® in sieben Fällen und von Cymeven® in zwei Fällen ein deutlicher Anstieg an HCMV-DNA Kopien beobachtet werden, im Einzelfall um das 140-fache innerhalb von drei Wochen.

Bei insgesamt vier durchgeführten Resistenzbestimmungen konnte lediglich bei Patient Nr. 12 in der genotypischen Analyse eine UL97-Punktmutation nachgewiesen und folglich eine Ganciclovir-Resistenz bestätigt werden. Zusätzlich wurden bei fünf Patienten (Patient Nr. 1, 19, 20, 35, 38) bereits vor der SCT positiv ausgefallene HCMV-Viruslastbestimmungen in der PCR detektiert, wobei bei Patienten Nr. 1 und 19 nur ein qualitativer Nachweis vorlag. Mögliche Ursachen und Erklärungen für eine insuffiziente antivirale Therapie werden im Kapitel 4.4 diskutiert. Bei 34 der 38 Patienten wurde im Verlauf eine erfolgreiche Viruselimination erreicht.

In diesem Teil der Auswertung wurde das gesamte Patientenkollektiv berücksichtigt, graphisch sind jedoch nur Verläufe von 23 Patienten dargestellt.

Patient Nr. 3

- Hauptdiagnose:* - familiäre hämophagozytierende
Lymphohistiozytose, ED 01/2008
- Transplantation:* - BMT, HLA-idente Schwester 11/09 (Tag +0)
- GvHD:* - Leber Grad I, Tag +52
- HCMV-Reaktivierung:* - Tag +62, Tag +133
- zus. Virusinfektionen:* - ADV im Plasma, Tag +63
BKV im Plasma, Tag +76, hämorrhagische Zystitis
- Immunsuppression*
- im Verlauf der Infektion:* - MMF, Tag +8 bis +142
- Etanercept, Tag +52 und +59
- PDL, Tag +55 bis +139
- Auffälligkeiten:* - Anstieg der Viruslast unter Foscavir®
- Gabe von Vistide®, Tag +66 und +84
- KM-Suppression unter Cymeven® Tag +76
- Gabe von HCMV-spezifischem IgG,
Tag +76 u. +80

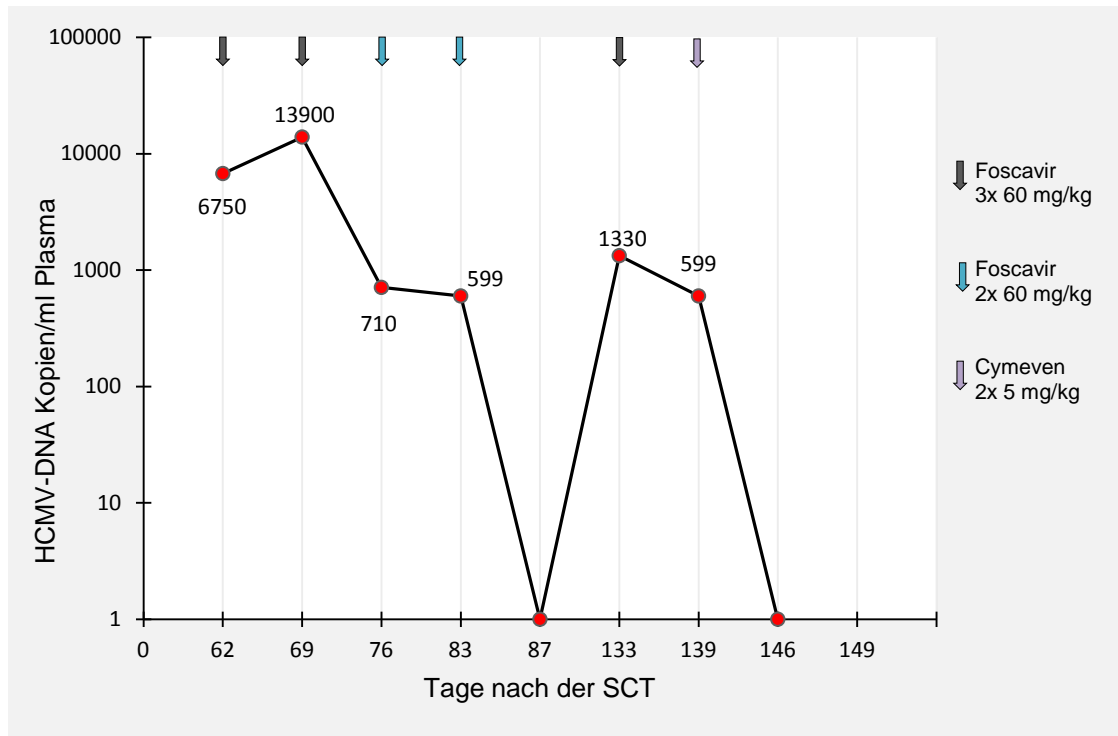


Diagramm 28: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Beim Patient Nr. 3 zeichnete sich am Tag +52 ein zunehmender Anstieg der Transaminasen und Cholestaseparameter ab. In der durchgeführten Leberbiopsie bestätigte sich am Tag +58 der Verdacht einer Leber-GvHD. Die bis dahin durchgeführte GvHD-Prophylaxe mit MMF (2x 1000 mg) wurde um die zweimalige Gabe von Etanercept (Tag +52 und +59) und Prednisolon (initial 150 mg in 2 Einzeldosen) intensiviert. Unter erhöhter Immunsuppression kam es zur Reaktivierung und einem HCMV- (6750 DNA Kopien/ml Plasma) und ADV-Nachweis im Plasma. Trotz der initialen Therapie mit Foscavir® (3x 60 mg/kg KG) und Reduktion von PDL zeichnete sich in der ersten Woche eine Verdoppelung der Viruslast (13900 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) ab. Erst mit der Umstellung auf Cymeven® (2x 5 mg/kg KG) und der dreimaligen Gabe von HCMV-spezifischem IgG konnte am Tag +87 eine Virusclearance im Plasma erreicht werden. Am Tag +84 wurde Cymeven® aufgrund der Knochenmarktoxizität mit Abfall der Leukozyten unter 1000 /ul abgesetzt. Um der Leukopenie entgegenzuwirken, erfolgte eine zweimalige Gabe von G-CSF (Neulasta®). Die BKV-assoziierte hämorrhagische Zystitis und die ADV-Infektion wurden mit zweimaliger Gabe von Vistide® (2,5 mg/kg KG) behandelt. Unter reduzierter Immun-

suppression mit MMF (2x 250 mg), Prednisolon (5 mg) und unter der prophylaktisch verabreichten antiviralen Therapie mit Aciclovir® kam es zur erneuten Reaktivierung (1330 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma), die innerhalb von zwei Wochen erfolgreich mit Foscavir® (2x 60 mg/kg KG) behandelt werden konnte.

Patient Nr. 4

- Hauptdiagnose:* - AML, ED 11/2004
- Transplantation:* - BMT, HLA-identer Fremdspender 12/2005
(Tag +0)
- GvHD:* - Haut Grad I, Tag +29
- HCMV-Reaktivierung:* - Tag +31
- zus. Virusinfektionen:* - ADV im Stuhl, Tag +8 bis +23
- Immunsuppression*
- im Verlauf der Infektion:* - CSA, Tag +31 bis +91
- Auffälligkeiten:* - D⁻/R⁺
- verzögerte T-Zellregeneration
 - wöchentliche Gabe von HCMV-spezifischem IgG
 - Anstieg der Viruslast unter Foscavir® u. Valcyte®

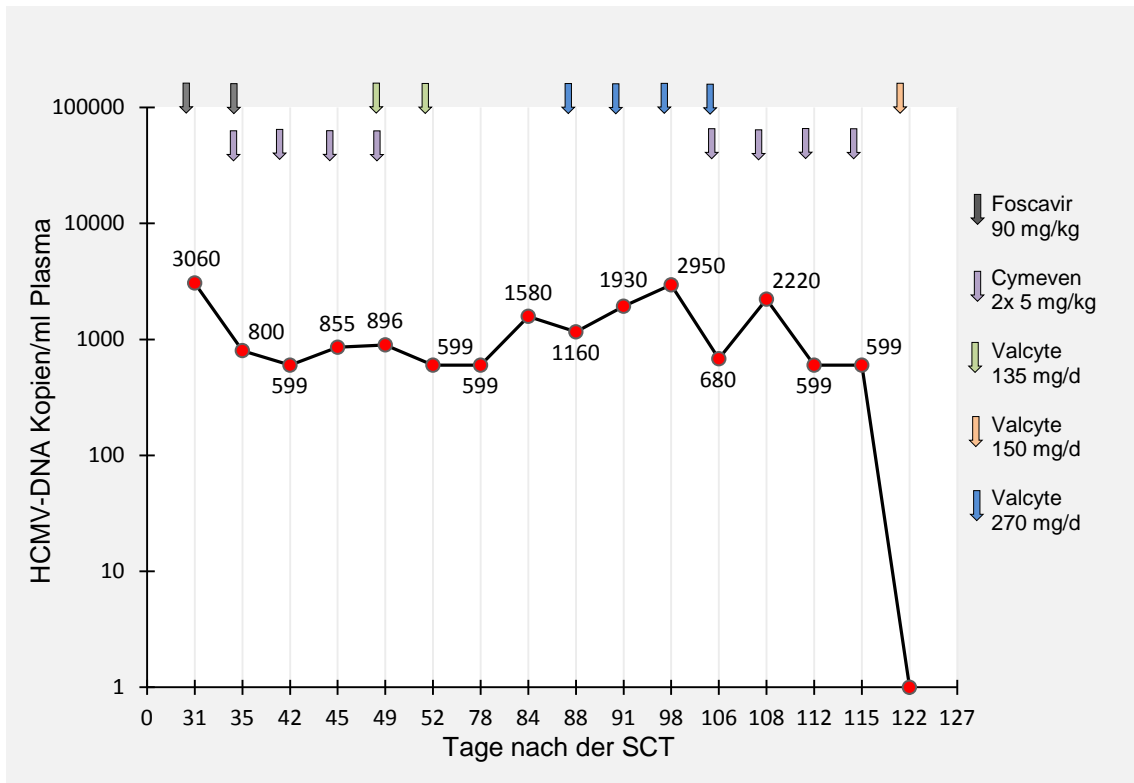


Diagramm 29: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Der Patient Nr. 4 war ein seropositiver Empfänger eines seronegativen Transplantats (D^-/R^+). Unter durchgehender antiviraler Prophylaxe mit Foscavir® (90 mg/kg KG) kam es am Tag +31 zu einer HCMV-Reaktivierung. Als eine mögliche Ursache könnte wegen einer leichten GvHD der Haut eine notwendig gewordene Erhöhung der CSA-Dosis in Frage kommen. Aufgrund einer weiter bestehenden HCMV-Präsenz im Plasma wurde ab Tag +35 eine zweiwöchige Therapie mit Cymeven® (2x 5 mg/kg KG) durchgeführt und anschließend mit der stationären Entlassung in die Tagesklinik mit Valcyte® (135 mg) fortgesetzt. Am Tag +63 fand eine Umstellung auf Aciclovir® statt. Trotz reduzierter CSA-Dosis konnte am Tag +84 ein nicht erklärbarer Viruslastanstieg (1580 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) beobachtet werden. Unter erneut angefangener Therapie mit Valcyte® kam es vorerst zur Verdopplung der Viruslast zwischen Tag +87 und +106. Schließlich wurde nach zweiwöchiger stationär durchgeführter Cymeven®-Therapie (2x 5 mg/kg KG) eine Virusclearance am Tag +122 erreicht. Zusätzlich verabreichte man für die Dauer der Virämie HCMV-spezifisches IgG. Als Ursache für die lange HCMV-DNAämie kann die verzögerte T-Zellregeneration vermutet werden.

Patient Nr. 5

Hauptdiagnose: - Multifokales Rhabdomyosarkom

Transplantation: - PBSCT, haploidenter Vater,
CD3⁻/CD19⁻ Depletion, 08/2007 (Tag +0)

GvHD: - Haut Grad I am Tag +22

HCMV-Reaktivierung: - Tag +47

zus. Virusinfektionen: - BKV im Urin, Tag +4 bis +11
- HHV-6 in der BAL, Tag +63

Immunsuppression

im Verlauf der Infektion: - PDL, Tag +47 bis +72
- MMF, Tag -1 bis +68

Auffälligkeiten: - D⁺/R⁻
- HCMV-Pneumonie (SpO₂ 96% o. zus. O₂), Tag +53
- wöchentliche Gabe von HCMV-spezifischem IgG
- Exitus letalis 01/09 (Tag +515)

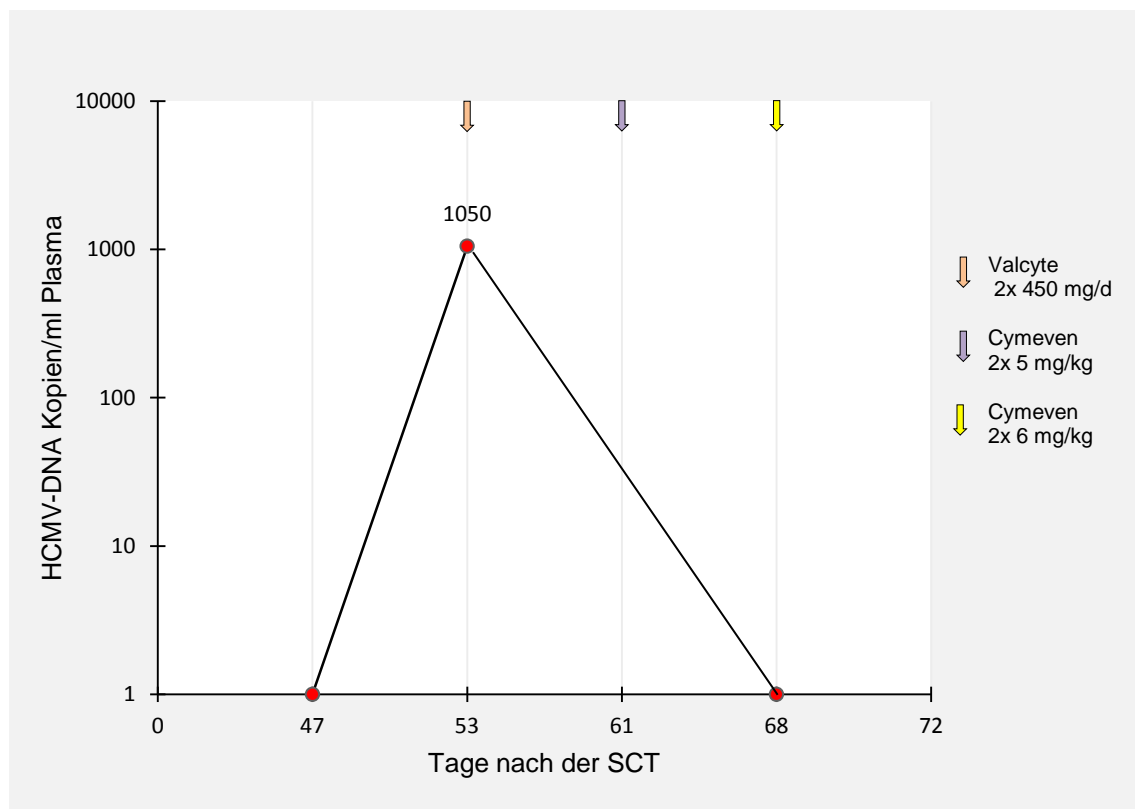


Diagramm 30: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Patient Nr. 5 zeigte nach der SCT einen komplikationslosen Verlauf, so dass eine Entlassung in die ambulante Versorgung unter antiviraler Prophylaxe mit Aciclovir® und GvHD-Prophylaxe mit MMF (2x 500 mg) bereits am Tag +25 möglich war. Nach einem qualitativ erfolgten HCMV-Nachweis im Plasma wurde die Therapie mit Valcyte® (2x 450 mg) am Tag +47 eingeleitet. Im weiteren Verlauf fand aufgrund einer allergischen Reaktion auf Kiovig® in Form eines Temperaturanstiegs (39,2 °C) eine Stoßtherapie mit PDL (25 mg) statt. Am Tag +53 wurde eine Viruslast (1050 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) gemessen und der Patient zeigte subfebrile Temperaturen (37,9 °C) sowie etwas Husten. In der durchgeführten Computertomographie konnten ubiquitäre Rundherde beobachtet werden. Am Tag +61 erfolgte nach einer erneut positiv ausgefallenen qualitativen Messung im Plasma die stationäre Aufnahme mit dem Nachweis von HCMV und HHV-6 in der bronchoalveolären Lavage. Unter Cymeven®-Therapie (2x 5mg/kg KG) war am Tag +68 keine Viruslast im Plasma mehr nachweisbar. Zusätzlich wurde beim Verdacht auf eine GvHD des Darms während des stationären Aufenthalts eine fünftägige Therapie mit PDL durchgeführt. Insgesamt war der Verlauf der HCMV-Pneumonie als sehr mild einzuschätzen.

Patient Nr. 6

- Hauptdiagnose:* - ALL, ED 03/2005
- Transplantation:* - BMT, HLA-identer Bruder 09/2005 (Tag +0)
- GvHD:* - Leber und GIT Grad III, Tag +77,
- Haut Grad I, Tag + 30
- HCMV-Reaktivierung:* - Tag +94
- zus. Virusinfektionen:* - nicht aufgetreten
- Immunsuppression*
- im Verlauf der Infektion:* - PDL, Tag +94 bis +120
- MMF, Tag +94 bis +120
- Auffälligkeiten:* - Exitus letalis mit MOV Tag +202

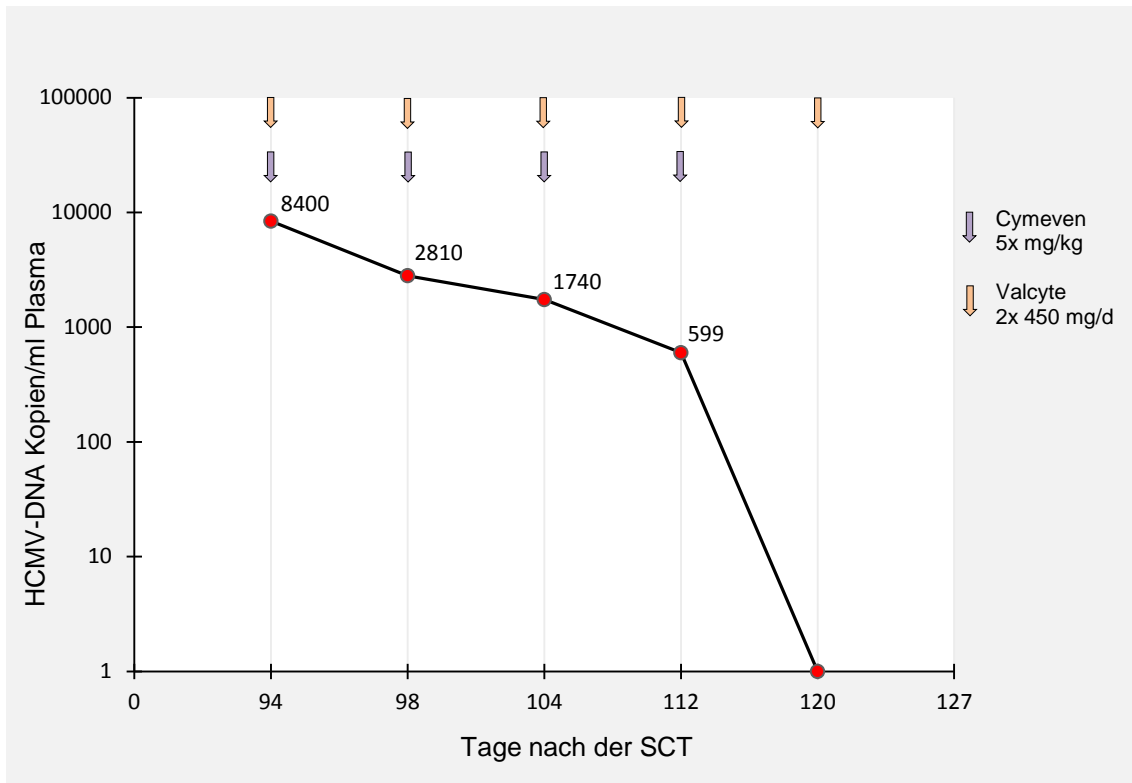


Diagramm 31: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Beim Patient Nr. 6 stand vor allem die schwere GvHD der Leber und des Darms im Vordergrund, die mit PDL (3x 60 mg), MMF (2x 750 mg) und Tacrolimus (2x 3 mg) behandelt wurde. Unter bis dahin durchgeführter antiviraler Prophylaxe mit Aciclovir® (2x 600 mg) erfolgte am Tag +94 erstmalig eine positive Viruslastbestimmung (8400 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) mit anschließender Therapie mit Cymeven® (5 mg/kg KG) und Valcyte® (2x 450 mg) bis Tag +112. Trotz der dreifachen Immunsuppression konnte die Virusclearance am Tag +120 unter der Fortführung der antiviralen Therapie mit Valcyte® erreicht werden.

Patient Nr. 8

- Hauptdiagnose:** - Morbus Kostmann, ED 05/2005
- Transplantation:** - PBSCT, haploidenter Vater, CD3⁻/CD19⁻
Depletion und CD 34⁺ Selektion 03/2008
- Abstoßungsreaktion 04/2008
- PBSCT, haploidente Mutter, CD3⁻/CD19⁻
Depletion und CD 34⁺ Selektion 04/2008 (Tag +0)
- GvHD:** - nicht aufgetreten
- HCMV-Reaktivierung:** - Tag +34
- zus. Virusinfektionen:** - ADV im Stuhl, Tag +42
- Immunsuppression
im Verlauf der Infektion:** - nicht notwendig
- Auffälligkeiten:** - Anstieg der Viruslast unter Valcyte®
- Gabe von Vistide® Tag +42

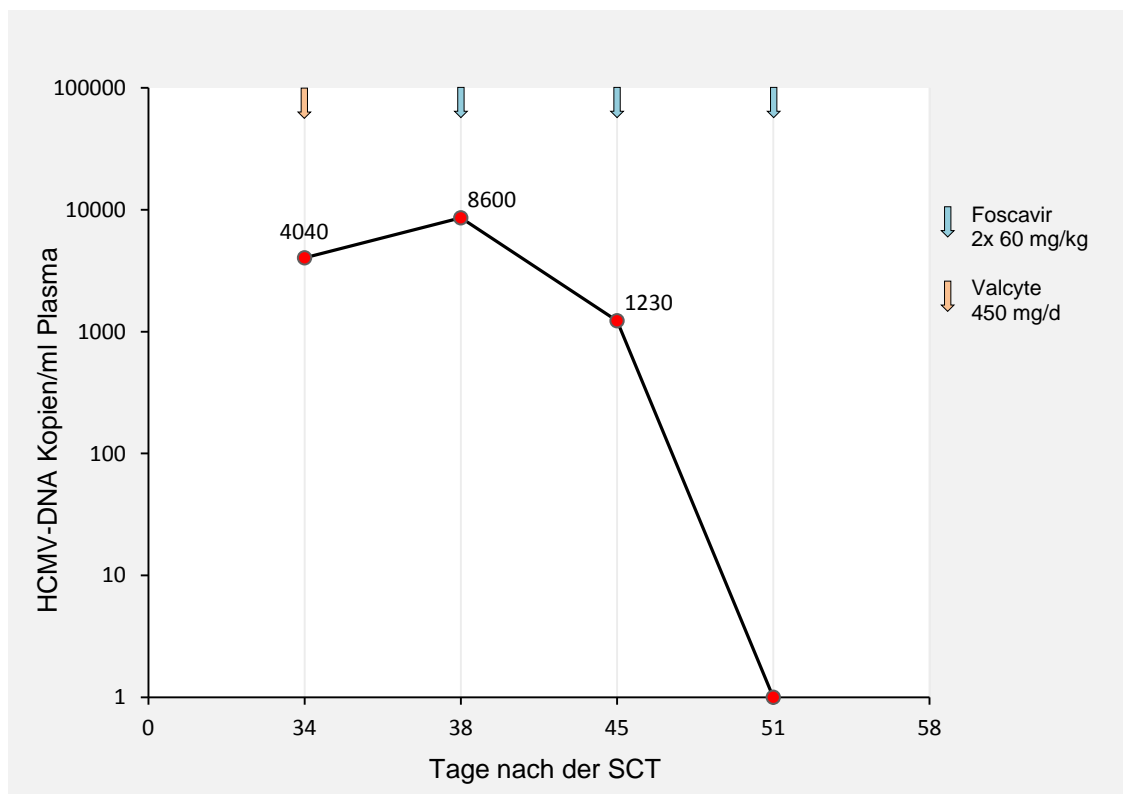


Diagramm 32: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Beim Patient Nr. 8 ist die zweite SCT bis auf eine EBV-Reaktivierung und eine geringe Abstoßungsreaktion relativ komplikationslos verlaufen, so dass unter antiviraler Prophylaxe mit Valcyte® und Absetzen der Immunsuppression eine Entlassung in die ambulante Versorgung am Tag +30 möglich war. Allerdings erfolgte bereits am Tag +34 eine positive Viruslastbestimmung (4040 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma), die am Tag +38 einen Peak von 8600 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma erreichte. Zusätzlich wurde ADV im Stuhl nachgewiesen. Am gleichen Tag erfolgte die stationäre Aufnahme zur Therapie mit Foscavir® (2x 60 mg/kg/KG) und Vistide®. Bereits am Tag +51 war keine Viruslast im Plasma mehr nachweisbar.

Patient Nr. 10

- Hauptdiagnose:* - Alpha-Mannosidose, ED 05/2008
- Transplantation:* - BMT, HLA-identer Fremdspender
02/2009 (Tag +0)
- GvHD:* - Haut Grad I, Tag +25
- HCMV-Reaktivierung:* - Tag + 62
- zus. Virusinfektionen: - nicht aufgetreten
- Immunsuppression*
- im Verlauf der Infektion:* - CSA, Tag +62 bis +86
- PDL, Tag +62 bis +86
- Auffälligkeiten:* - Verdacht auf postnatale HCMV-Infektion
- Gabe von HCMV-spezifischem IgG, Tag +65

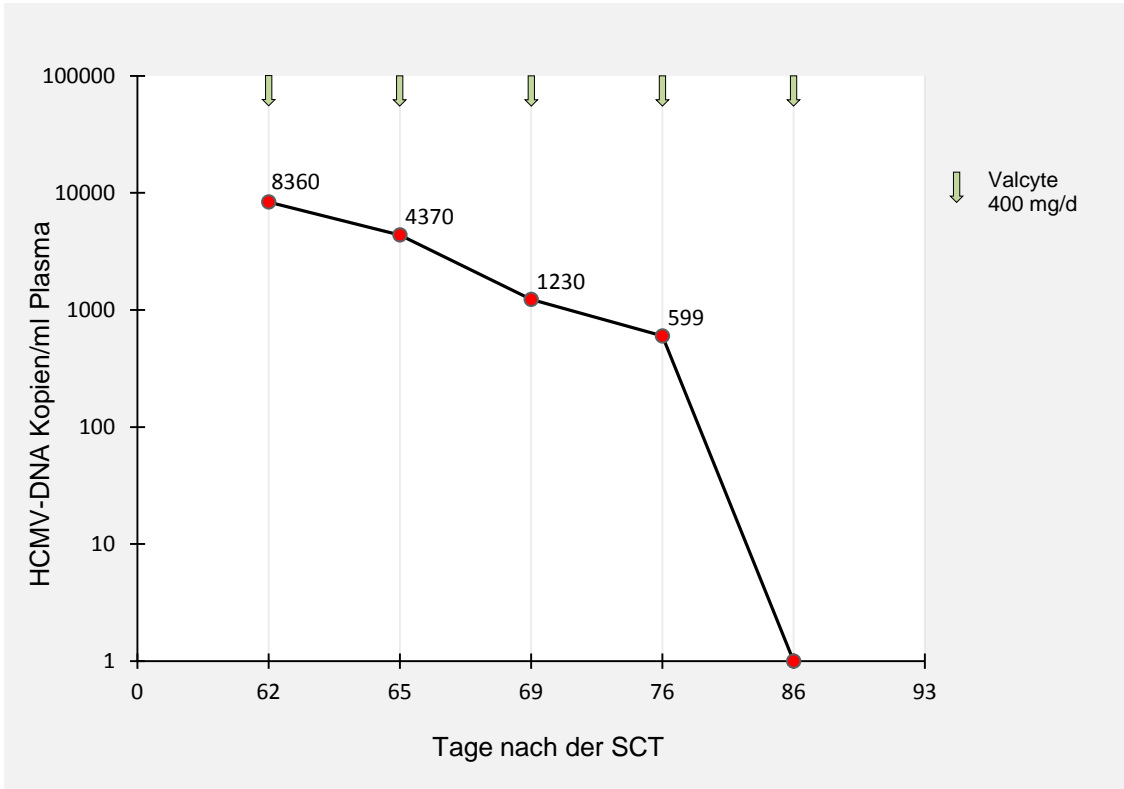


Diagramm 33: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Beim Patient Nr. 10 erfolgte am Tag +62 unter antiviraler Prophylaxe mit Aciclovir® und immunsuppressiver Therapie mit PDL (7,5 mg/d) aufgrund einer leichten GvHD der Haut eine positiv ausgefallene Viruslastbestimmung (8360 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma). Die Umstellung auf Valcyte® (2x 200 mg) am Tag +62, das Ausschleichen von PDL und die Gabe von HCMV-spezifischem IgG am Tag +69 haben zu einer Virusclearance am Tag +86 geführt.

Patient Nr. 12

- Hauptdiagnose:* - Morbus Tay Sachs
- Transplantation:* - PBSCT, haploidente Mutter,
CD3⁻/CD19⁻ Depletion und CD 34⁺ Selektion
05/2007 (Tag +0)
- GvHD:* - nicht aufgetreten
- HCMV-Reaktivierung:* - Tag +32
- zus. Virusinfektionen:* - Rotavirus im Stuhl, Tag +32
- Immunsuppression
im Verlauf der Infektion:* - MMF, Tag +42 bis +57
- PDL, Tag +20 bis +32
- MPDL, Tag +153 bis +180
- Etanecrept, Tag +153
- Infliximab, Tag +169
- Auffälligkeiten:* - postnatale HCMV-Infektion, Tag -51 bis -21
- wöchentliche Gabe von HCMV-spezifischem IgG
ab Tag +39
- Anstieg der Viruslast unter Valcyte®, Tag +68
- HCMV-Pneumonie (SpO₂ 87% bei 7L O₂), Tag+147
- Gabe von HCMV-spezifischen T-Zellen, Tag +147
- Ganciclovir-Resistenz, Tag +160
- katecholamin- und O₂-pflichtig
- Intubation, Tag +147 bis 160,
Tag +166 bis +180
- Exitus letalis durch respiratorische Insuffizienz,
Tag +180

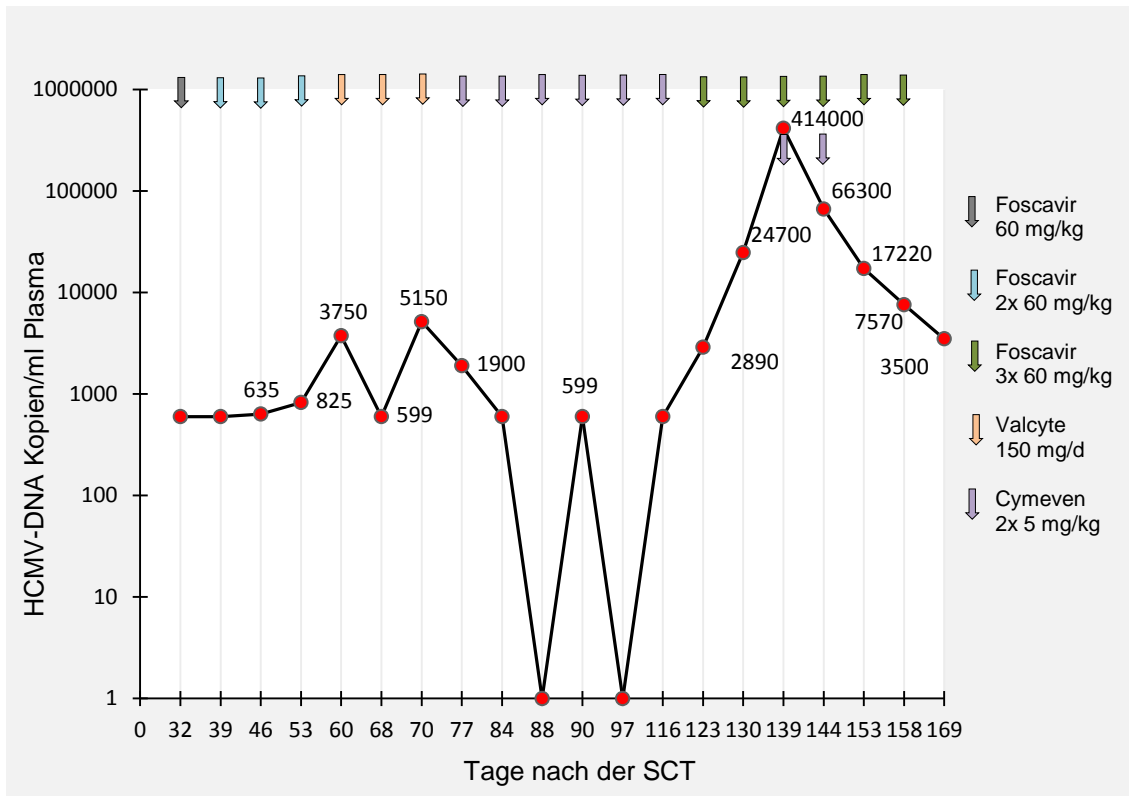


Diagramm 34: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Der Patient Nr. 12 litt an einer autosomal-rezessiv vererbten Erkrankung (Morbus Tay Sachs), bei der nur in einigen Fällen eine Begünstigung des Krankheitsverlaufs durch die SCT beschrieben wird. Bereits vor der SCT wurde beim Patient im Alter von 3 Monaten das HCMV im Urin nachgewiesen. Es folgte eine einwöchige Behandlung mit Cymeven®, so dass zum Zeitpunkt der SCT kein Virus mehr im Plasma oder Rachenspülwasser nachweisbar war. Am Tag +32 kam es unter antiviraler Therapie mit Foscavir® (2x 60 mg/kg KG) zu einer Reaktivierung mit HCMV-Nachweis im Plasma (< 600 Kopien/ml). Zur Immunsuppression wurde zu diesem Zeitpunkt MMF (2x 75 mg) und PDL (2 mg) verabreicht. Mit der Entlassung in die ambulante Versorgung und der Umstellung auf Valcyte® sowie der wöchentlichen Gaben von HCMV-spezifischem IgG konnte im weiteren Verlauf am Tag +60 ein Viruslastanstieg (3750 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) beobachtet werden. Nach kurzfristigem Abfall und erneutem Anstieg (5150 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) erfolgte ein einwöchiger stationärer Aufenthalt zur Cymeven®-Therapie (2x 5 mg/kg KG), der am Tag +88 zur ersten negativ ausgefallenen Viruslastbestimmung geführt

hat. Trotz des Verzichts auf die Immunsuppression konnte am Tag +116 ein erneuter Anstieg verzeichnet werden, der einen Viruslastpeak (414000 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) am Tag +139 erreichte. In der Zwischenzeit erfolgte aufgrund klinischer Verschlechterung mit zunehmender respiratorischen Insuffizienz (SpO₂ 89%) und Fieber (38,4 °C), eine stationäre Aufnahme zur Therapie mit Foscavir® (3x 60 mg/kg KG). Unter dieser Therapie kam es innerhalb von 5 Tagen zu einem Abfall der Viruslast auf 66300 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma. Allerdings verschlechterte sich die respiratorische Lage des Patienten (SpO₂ 87% unter 7L O₂) zunehmend, so dass eine Verlegung auf die Intensivstation (Tag +145) mit anschließender Intubation (Tag +148) notwendig wurde. Aufgrund der Klinik, HCMV-DNAämie und der Computertomographie wurde die HCMV-Pneumonie diagnostiziert. Am Tag +147 erfolgte die Gabe von HCMV-spezifischen T-Zellen und die Erweiterung der antiviralen Therapie mit Cymeven® (5 mg/kg KG). Wegen des Verdachts auf eine überschießende Reaktion mit Pneumonitis und einer Mikroangiopathie der Lunge erfolgte eine dreifache Immunsuppression mit Urbason, Etanercept und Infliximab. Aufgrund der persistierenden Viruslast (7570 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) bestätigte sich der Verdacht einer Cymeven®-Resistenz in der Sequenzierung am Tag +158. Nach der sechstägigen Extubation hatte sich der Zustand wieder verschlechtert und machte eine erneute Intubation notwendig. Im weiteren Verlauf wurde der Patient katecholaminpflichtig und verstarb mit einer Viruslast von 2760 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma am Tag +180.

Patient Nr. 14

- Hauptdiagnose:* - AML
- Transplantation:* - PBSCT, haploidente Mutter,
CD3⁺/CD19⁻ Depletion 06/2006 (Tag +0)
- GvHD:* - Haut und GIT Grad III, Tag +34
- HCMV-Reaktivierung:* - Tag +66, Tag +136
- zus. Virusinfektionen:* - EBV im Plasma, Tag +87
- BKV im Urin, hämorrhagische Zystitis Tag +109
- Immunsuppression*
- im Verlauf der Infektion:* - MMF Tag -1 bis +188
- PDL Tag +34 bis +188
- CSA Tag +66 bis +68
- Tacrolimus topisch
- Auffälligkeiten:* - HCMV-Pneumonie (SpO₂ 92% bei 6l O₂), Tag +73
- wöchentliche Gabe von HCMV-spezifischem IgG
- katecholamin- und sauerstoffpflichtig
- Verlegung auf Intensivstation, Tag +157 bis +188
- Exitus letalis durch Herzversagen, Tag +188

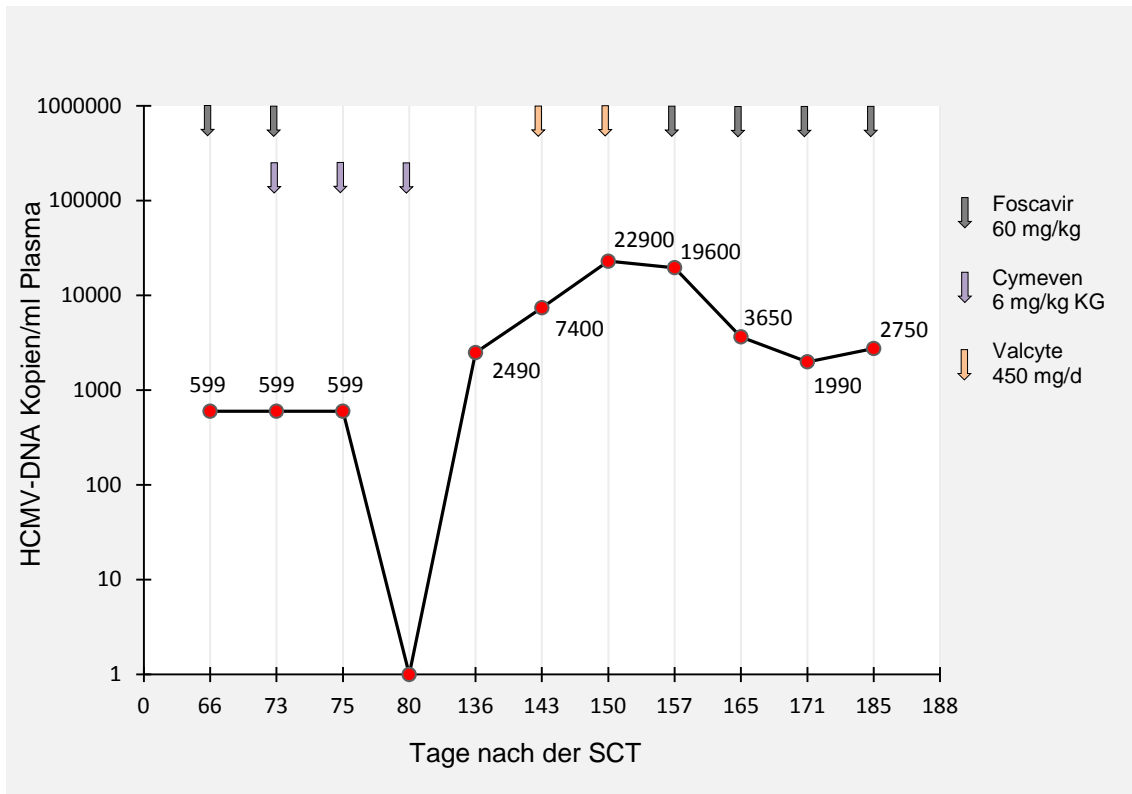


Diagramm 35: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Beim Patient Nr. 14 fand vor der SCT ein positiv ausgefallener HCMV-Nachweis im Urin und Rachenspülwasser statt, der anschließend mit Cymeven® bis zum Tag -2 behandelt wurde. Zum Zeitpunkt der SCT war keine HCMV-Infektion mehr nachweisbar. Am Tag +34 wurde eine beginnende GvHD der Haut und des Darms mit progredientem Verlauf festgestellt, die sich in einem Hautexanthem sowie epigastrischen Schmerzen mit Übelkeit und Diarrhö äußerte. Eine Intensivierung der immunsuppressiven Therapie mit MMF (2000 mg), PDL (270 mg), CSA (180 mg) und topischer Tacrolimus-Therapie führte bis zur Entlassung (Tag +124) zu einer deutlichen Besserung der Symptomatik. Allerdings hat unter Foscavir® (60 mg/kg KG) eine HCMV-Reaktivierung im Plasma (< 600 DNA Kopien/ml Plasma) am Tag +66 stattgefunden, die mit zusätzlichem Cymeven® (2x 5 mg/kg KG) und HCMV-spezifischem IgG behandelt wurde. In der darauffolgenden Woche verschlechterte sich die respiratorische Situation des Patienten mit Hämoptysen und steigendem Sauerstoffbedarf. Aufgrund der Klinik, der Computertomographie und der HCMV-DNAämie wurde die Diagnose der HCMV-Pneumonie am Tag +66

gestellt. Zusätzlich machte ein Perikarderguss die Verlegung des Patienten für zwei Tage auf die Intensivstation zur Unterstützung des Kreislaufs mit Katecholaminen notwendig. Am Tag +77 zeigte sich die persistierende BKV-Infektion im Urin in Form von hämorrhagischer Zystitis symptomatisch. Es folgte die Therapie mit Vistide® und die Anlage eines Spülkatheters. Eine komplette HCMV-Clearance konnte erstmals am Tag +80 erreicht werden. Wegen einer Urosepsis wurde der Patient am Tag +109 sauerstoff- und katecholaminpflichtig und musste auf die Intensivstation verlegt werden. Binnen weniger Tagen konnte der Patient bei rückläufiger Symptomatik auf die Normalstation verlegt und am Tag +124 in die ambulante Nachsorge entlassen werden. Unter Aciclovir® und immunsuppressiver Medikation mit MMF (2000 mg) und PDL (1,5 mg/kg KG) wurde am Tag +136 eine erneute Virämie (2490 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) beobachtet. Unter initialer Therapie mit Valcyte® und PDL-Reduktion (1 mg/kg KG) stieg die Viruslast bis schließlich ein Peak von 22900 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma am Tag +150 erreicht wurde. Es erfolgte die Umstellung auf dreiwöchentliche und ab Tag +169 zweiwöchentliche Foscavir®-Gaben (60 mg/kg KG) bei gleichbleibender Dosis immunsuppressiver Therapie. Aufgrund zahlreicher Komplikationen wie Krampfanfällen, schlechter Ventrikelkontraktilität und reduziertem Ernährungszustand wurde der Patient am Tag +161 in die stationäre Betreuung aufgenommen. Die voranschreitende Herzinsuffizienz führte am Tag +187 zur Verlegung auf die Intensivstation, wo der Patient am nächsten Tag unter maximaler Therapie aufgrund von Herzkreislaufversagen verstarb. Eine HCMV-Virusclearance konnte bis dahin nicht erreicht werden.

Patient Nr. 15

- Hauptdiagnose:* - ALL, ED 8/2006
- Transplantation:* - BMT, HLA-identer Fremdspender 03/2007
(Tag +0)
- GvHD:* - Leber Grad III, Tag +243
- HCMV-Reaktivierung:* - Tag +186 und +243
- Immunsuppression*
- im Verlauf der Infektion:* - MPDL, Tag +230 bis +263
- CSA, Tag +243 bis +263
- Auffälligkeiten:* - D⁺/R⁻
- zweimaliger haploidenter Stammzellboost vom Vater (Tag +145 und +196)
- kein Nachweis einer Ganciclovir-Resistenz
- O₂-pflichtig, Tag +223
- Gabe von Infliximab, Tag +230 und +237
- Exitus letalis Tag +283

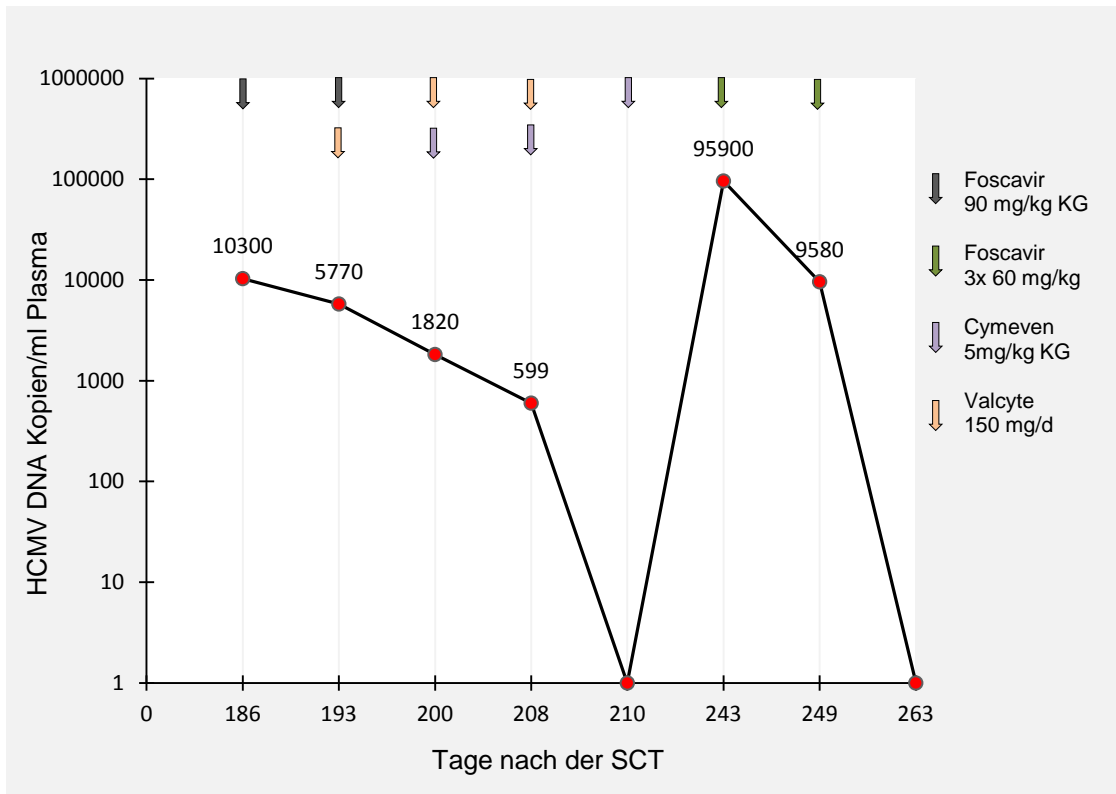


Diagramm 36: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Patient Nr. 15 zeigte aufgrund der HCMV-Serostatuskonstellation (D⁺/R⁻) ein erhöhtes Risiko für eine HCMV-Infektion/-Erkrankung. Im Vordergrund stand vor allem ein Rezidiv der Grunderkrankung (ALL), das neben der SCT einen zweimaligen Stammzellboost notwendig machte. Im Rahmen der durchgeführten Chemotherapie fand ein positiver Viruslastnachweis im Plasma (10300 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) am Tag +186 statt. Die bis dahin durchgeführte antivirale Prophylaxe mit Aciclovir® wurde am Tag +193 auf Foscavir® (90 mg/kg KG) und Valcyte® umgestellt. Mit der Entlassung nach dem zweiten Stammzellboost wurde am Tag +200 Foscavir® gegen Cymeven® ausgetauscht und bis zur Viruselimination am Tag +210 weiter verabreicht. Im Verlauf entwickelte der Patient eine akute GvHD der Leber mit Ikterus und Aszites, die mit dem Einsatz von MPDL (2x 40mg) am Tag +230 und Infliximab am Tag +230 und +237 einherging. Unter Intensivierung der Immunsuppression kam es trotz der Therapie mit Foscavir® (90 mg/kg KG) zu einer Reaktivierung (95900 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) am Tag +230. Unter Fortführung der

antiviralen Therapie, der Reduktion des MPDL und der Ergänzung mit CSA gelang schließlich eine Viruselimination am Tag +263.

Patient Nr. 18

- Hauptdiagnose:* - ALL, ED 12/2009
- Transplantation:* - PBSCT, haploidente Mutter,
CD3⁻/CD19⁻ Depletion, CD 34⁺ Selektion 08/2010
(Tag +0)
- akute Abstoßungsreaktion, Tag +6
- PBSCT, haploidenter Vater,
- CD3⁻/CD19⁻ Depletion, CD 34⁺ Selektion 09/2010
(Tag +36)
- GvHD:* - nicht aufgetreten
- HCMV-Reaktivierung:* - Tag +19, Tag +68
- zus. Virusinfektionen:* - Rotavirus im Stuhl am Tag -8 bis +2
- Immunsuppression*
- im Verlauf der Infektion:* - MMF, Tag -1 bis +10
- PDL ,Tag +6 bis 40
- MPDL Tag +33
- Auffälligkeiten:* - akute Abstoßungsreaktion

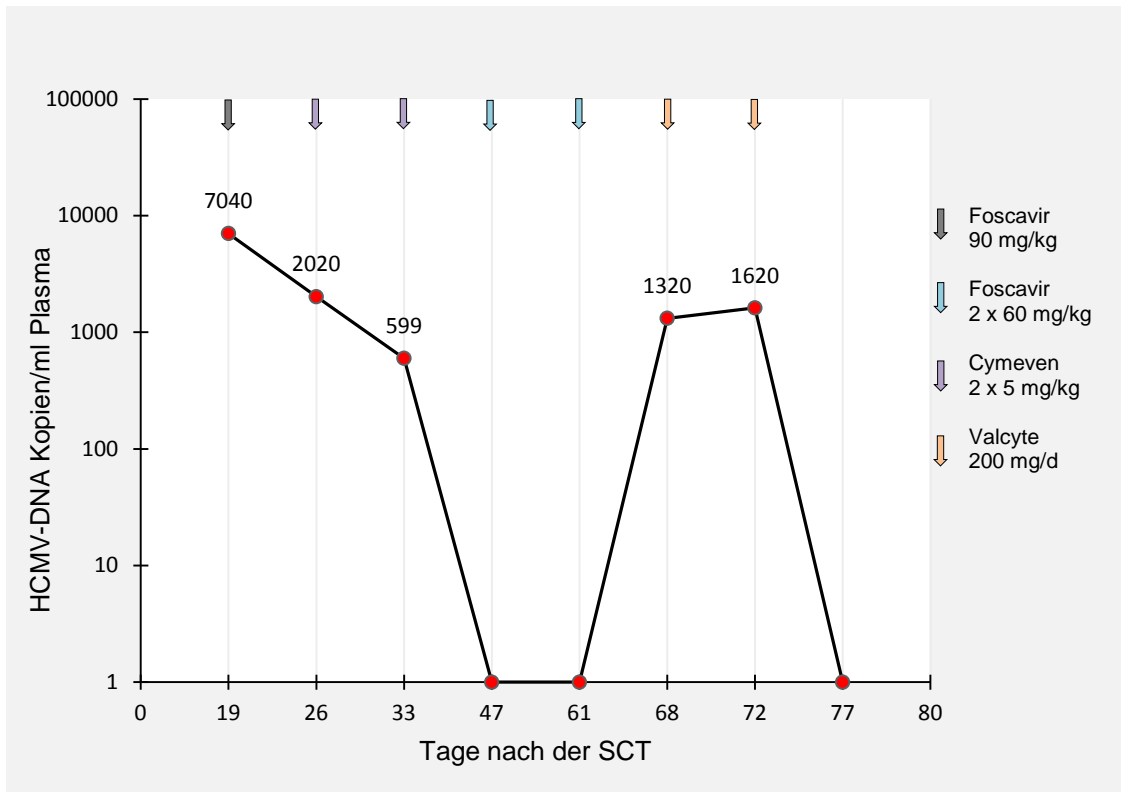


Diagramm 37: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Beim Patient Nr. 18 wurde vorab aufgrund einer geplanten T-Zelldepletion im Rahmen der SCT eine einwöchige Cymeven®-Prophylaxe durchgeführt. Unter antiviraler Therapie mit Foscavir® (90 mg/kg KG) kam es am Tag +19 zu einer Reaktivierung (7040 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma). Mit der Umstellung auf Cymeven® (2x 5 mg/kg KG) war keine Viruslast im Plasma mehr nachweisbar. Nach einer frustriert verlaufenden ersten SCT wurde beim Patient die Indikation für eine zweite SCT gestellt und am Tag +36 durchgeführt. Die bis zur Entlassung in die ambulante Versorgung am Tag +65 durchgeführte Therapie mit Foscavir® (2x 60 mg/kg KG) wurde auf Valcyte® (2x 100 mg) umgestellt, unter der es vorerst zu einer erneuten Reaktivierung gekommen war. Schließlich konnte im weiteren HCMV-Screening am Tag +77 kein Virus im Plasma mehr nachgewiesen werden.

Patient Nr. 19

- Hauptdiagnose:* - SCID, ED 06/2007
- Transplantation:* - BMT, HLA-identer Fremdspender 08/2007
(Tag +0)
- GvHD:* - Haut Grad I, Tag +17
- HCMV-Reaktivierung:* - Tag +26
- zus. Virusinfektionen:* - BKV im Urin, Tag -8 bis +18
- EBV im Plasma, Tag +26
- persistierender Norovirus
- Immunsuppression*
- im Verlauf der Infektion:* - MTX ,Tag +1 bis +6
- CSA, Tag -1 bis +39
- PDL, Tag +0 bis +35
- Auffälligkeiten:* - Exitus letalis mit MOV am Tag +143

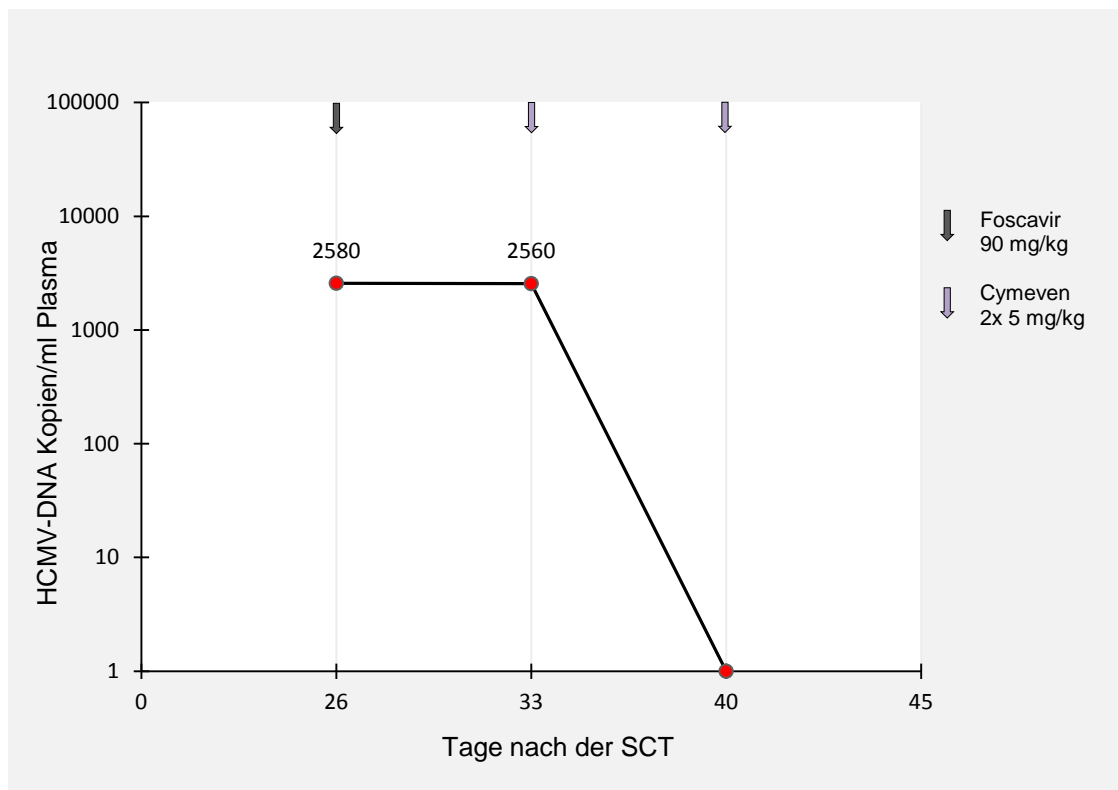


Diagramm 38: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Die Indikation für eine SCT wurde beim Patient Nr. 19 aufgrund der Grunderkrankung (SCID) gestellt. Unter der Foscavir®-Prophylaxe (90 mg/kg KG) und GvHD-Prophylaxe mit CSA und PDL fand erstmals am Tag +26 eine positiv ausgefallene Viruslastmessung (2580 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) statt. Zusätzlich wurde am Tag +32 einmalig EBV-DNA im Plasma nachgewiesen und mit einer Gabe Vistide® behandelt. Unter der Umstellung auf Cymeven® (2x 5 mg/kg KG) und einer leichter Reduktion der Immunsuppression konnte schließlich am Tag +40 eine Viruselimination im Plasma erreicht werden.

Patient Nr. 20

- Hauptdiagnose:* - ALL, ED 01/2006
- Transplantation:* - PBSCT, haploidenter Bruder 06/2007 (Tag+0)
- GvHD:* - nicht aufgetreten
- HCMV-Reaktivierung:* - Tag -54, Tag +13
- zus. Virusinfektionen:* - ADV im Plasma, Tag +41 bis +48
- BKV im Urin, Tag -28 bis +48
- Immunsuppression*
- im Verlauf der Infektio:* - MMF, Tag +16 bis +70
- PDL, Tag -29 bis +48
- OKT-3®, Tag -8 bis +17
- Auffälligkeiten:* - HCMV-Pneumonie (SpO₂ 96%),
Tag +23 bis Tag +38
- HCMV-Anstieg unter Foscavir®-Therapie Tag+34
- Ganciclovir-Resistenz ausgeschlossen
- Gabe von HCMV- und ADV-spezifischen T-Zellen
- wöchentliche Gabe von HCMV-spezifischem IgG,
Tag +50
- Exitus letalis, Tag +327

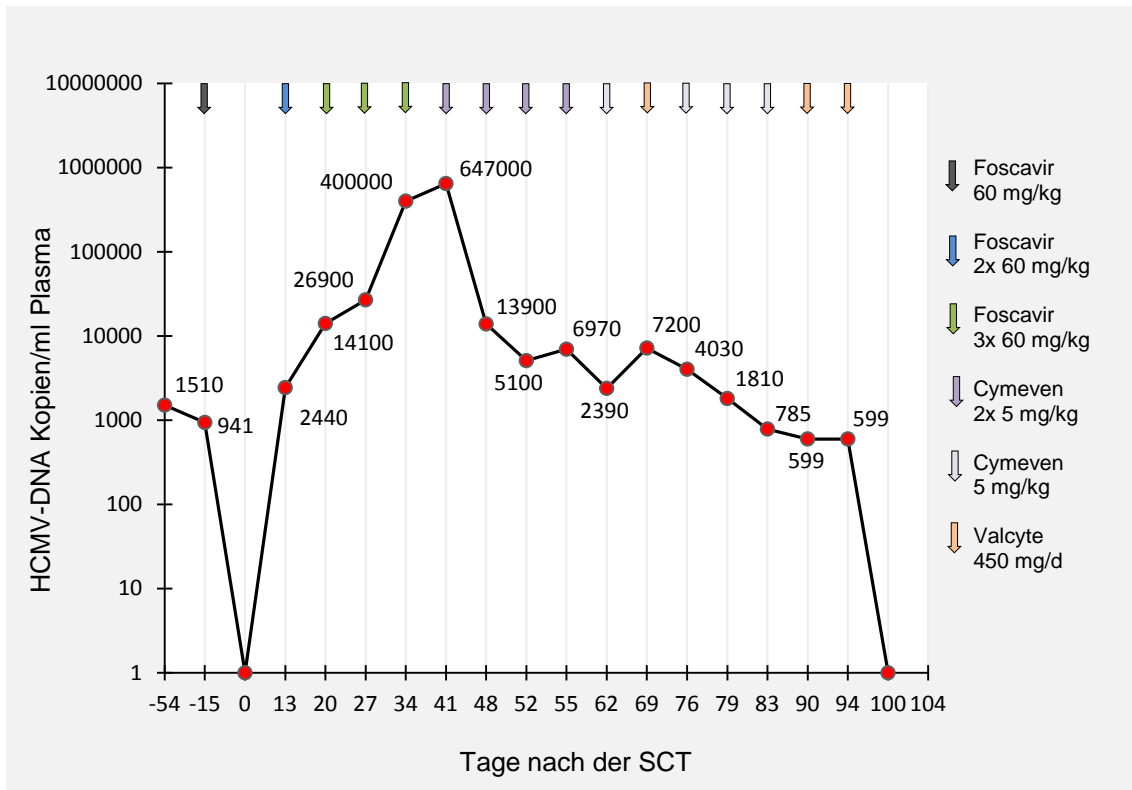


Diagramm 39: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Der Patient Nr. 20 wies bereits vor der SCT eine HCMV- und HHV-6 Virämie auf, die erfolgreich mit Cymeven® und Foscarvir® behandelt werden konnte. Bis zu der ersten positiv ausgefallenen Viruslastbestimmung (2440 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) nach der SCT erfolgte die Therapie mit Foscarvir® (2x 60 mg/kg KG), die unter einer steigenden Viruslast mit erhöhter Foscarvir®-Dosis (3x 60 mg/kg KG) fortgesetzt wurde. Eine mögliche Ursache für den weiteren Anstieg der Viruslast und einem Viruslastpeak von 647000 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma am Tag +41 trotz Dosiserhöhung der antiviralen Therapie könnte in der dreifachen GvHD-Prophylaxe mit OKT-3® (3 mg), MMF (2x 350 mg) und PDL (5 mg) liegen. In durchgeführter Computertomographie am Tag +23 fielen diffuse noduläre Verdichtungen des Lungenparenchyms auf. Aufgrund der Bildgebung, HCMV-Virämie und mäßiger Klinik (SpO₂ 96%) wurde die Diagnose einer HCMV-Pneumonie gestellt. Zusätzlich trat am Tag +41 und +48 eine ADV-Virämie auf, die zusammen mit persistierendem BKV-Nachweis im Urin in zweiwöchentlichen Abständen mit Vistide® behandelt wurden. Unter der Umstellung auf Cymeven® (2x 5 mg/kg KG), der Reduktion von PDL (10 mg)

und der Gabe sowohl von HCMV- und ADV-spezifischen T-Zellen (Tag +50) als auch HCMV-spezifischem IgG konnte eine deutliche Reduktion der Viruslast erzielt werden. Zum Zeitpunkt der Entlassung wurde bei einer persistierenden Viruspräsenz (2390 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) die antivirale Therapie mit Cymeven® (5 mg/kg KG) und Valcyte® (450 mg) weitergeführt. Eine komplette Viruselimination konnte erst am Tag +100 erreicht werden. Die durchgeführte Sequenzierung brachte keinen Nachweis für eine Ganciclovir-Resistenz.

Patient Nr. 24

- Hauptdiagnose:* - Aplastische Anämie, ED 10/2003
- Transplantation:* - BMT, HLA-identer Fremdspender 10/2008 (Tag+0)
- GvHD:* - Haut Grad I
- HCMV-Reaktivierung:* - Tag +119, Tag +146
- zus. Virusinfektionen:* - nicht aufgetreten
- Immunsuppression*
- im Verlauf der Infektion:* - MMF, Tag +115 bis +196
- PDL, Tag +104 bis +175
- Auffälligkeiten:* - D⁻/R⁺
- EBV-Pneumonie, Tag +43

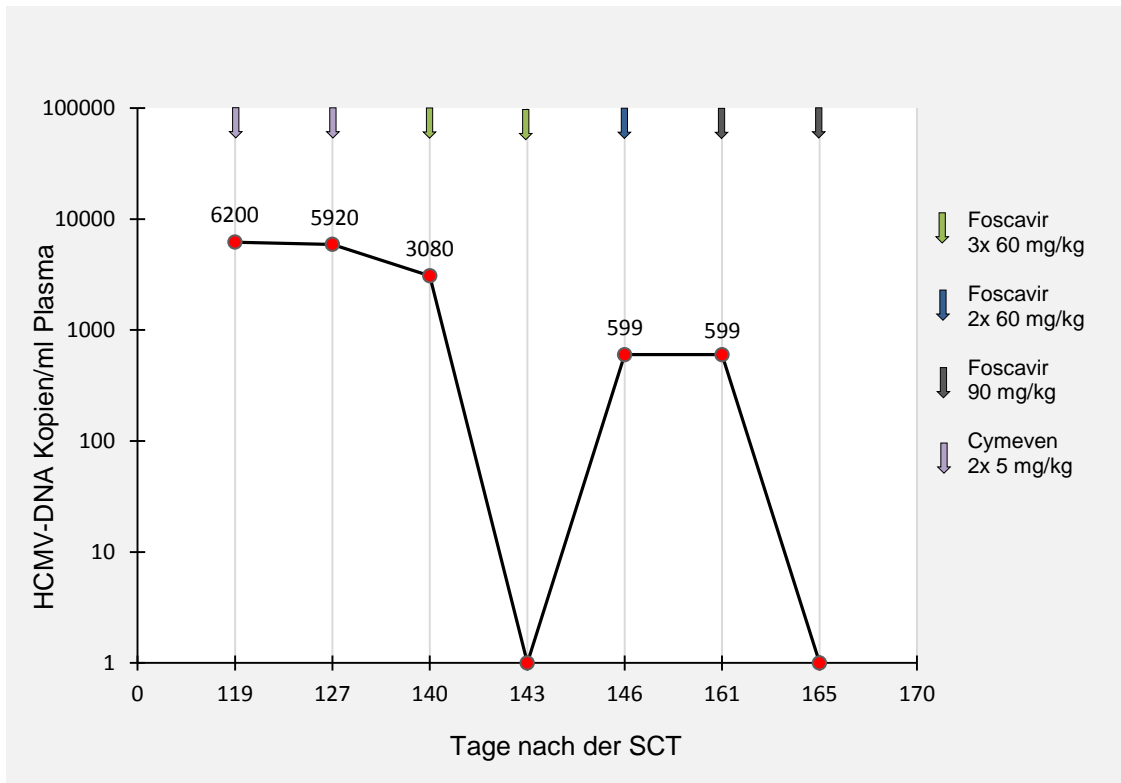


Diagramm 40: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Der Patient Nr. 24 war ein seropositiver Empfänger eines seronegativen Transplantats (D^-/R^+). Unter Aciclovir® und immunsuppressiver Medikation mit MMF (1500 mg) und PDL (100 mg) trat am Tag +119 eine HCMV-Virämie auf. Unter begonnener Therapie mit Cymeven® (2x 5 mg/kg KG) am Tag +121 zeigte sich im Verlauf nur ein geringer Rückgang der Viruslast. Zusätzlich zeichnete sich im Labor eine Panzytopenie (Erythrozyten 3,06 Mio./ul, Leukozyten 990 /ul, Thrombozyten 18 Tsd./ul) ab, die als eine knochenmarktoxische Nebenwirkung des Cymeven® gewertet wurde. Am Tag +140 fand eine Umstellung auf Foscavir® (90 mg/kg KG) mit anschließender Intensivierung im Rahmen der stationären Aufnahme am darauffolgenden Tag statt. Die Dosiserhöhung von Foscavir® (3x 60 mg/kg KG) tolerierte der Patient ebenfalls nur mäßig, so dass im Verlauf eine Reduktion der Dosis stattfand. Nach einer Besserung der GvHD-bedingten Hautsymptomatik wurde unter Reduktion der immunsuppressiven Therapie am Tag +165 die Viruselimination im Plasma erreicht.

Patient Nr. 25

- Hauptdiagnose:* - CML, ED 03/2007
- Transplantation:* - BMT, HLA-idente Schwester 07/2007 (Tag +0)
- GvHD:* - Haut und GIT Grad III, Tag +38
- HCMV-Reaktivierung:* - Tag +60
- zus. Virusinfektionen:* - nicht aufgetreten
- Immunsuppression*
- im Verlauf der Infektion:* - PDL, Tag +16 bis +61
- MPDL, Tag +62 bis +81
- CSA, Tag +1 bis +81
- Infliximab, Tag +54 und +60
- Auffälligkeiten:* - HCMV-Pneumonie (SpO₂ 98%), Tag +68

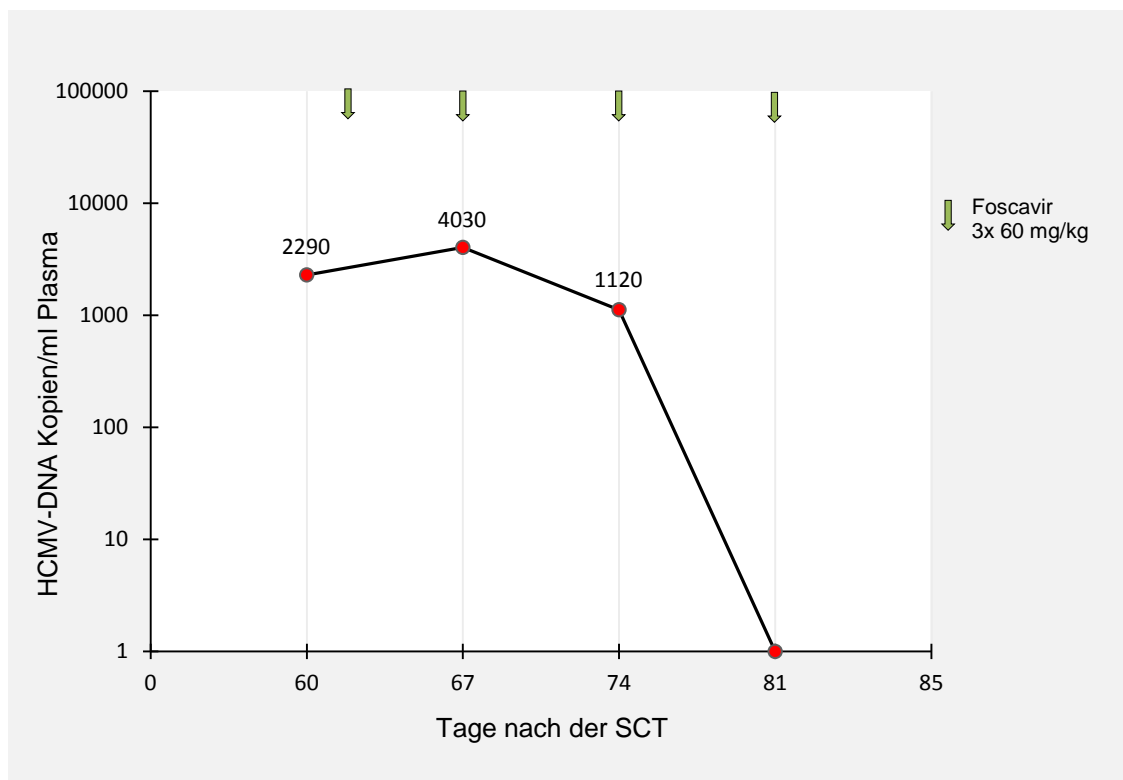


Diagramm 40: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Beim Patient Nr. 25 stand vor allem die schwere GvHD der Haut und des Darms im Vordergrund, die sich in Form eines Hautexanthems und ausgeprägtem, teils blutigem Diarrhö (> 2L / Tag) äußerte. Aufgrund des progredienten Verlaufs unter PDL und CSA fiel die Entscheidung für eine stationäre Aufnahme zur Gabe von Infliximab am Tag +54 und +60, die zur kurzfristigen Besserung der gastrointestinalen Symptome führte. Unter der Intensivierung der Immunsuppression kam es am Tag +60 erstmals zur positiv ausgefallenen Viruslastbestimmung (2290 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma), die mit dem Beginn der Foscavir®-Therapie (3x 60 mg/kg KG) am Tag +62 einherging. Bei erneut zunehmenden GvHD-Symptomatik erfolgte der Wechsel von PDL auf MPDL. Unter antiviraler Therapie kam es erst zur Verdoppelung der Viruslast am Tag +67. Bei zunehmendem Husten und Fieber (38,6 °C), atypischem Infiltrat in der Computertomographie und der HCMV-Virämie wurde die Diagnose einer HCMV-Pneumonie gestellt. Nach einer deutlichen Linderung der GvHD-Symptomatik unter der Hochdosistherapie mit MPDL konnte eine Reduktion der Immunsuppression vorgenommen und am Tag +81 eine Viruselimination im Plasma erreicht werden.

Patient Nr. 26

Hauptdiagnose: - CML, ED 04/2007

Transplantation: - BMT, HLA-identer Fremdspender 05/2008
(Tag +0)

GvHD: - Haut Grad I, Tag +22
- Leber Grad III, Tag +89
- GIT Grad IV, Tag +96

HCMV-Reaktivierung: - Tag +40, Tag +243, Tag +285

Immunsuppression

im Verlauf der Infektion: - MPDL, Tag +229 bis +285
- ATh, Tag +229 bis +285
- MMF, Tag +229 bis +285
- Inliximab Tag +244, Tag +258, Tag +262

Auffälligkeiten: - D⁻/R⁺
- HCMV-Anstieg unter Foscavir®, Tag +243

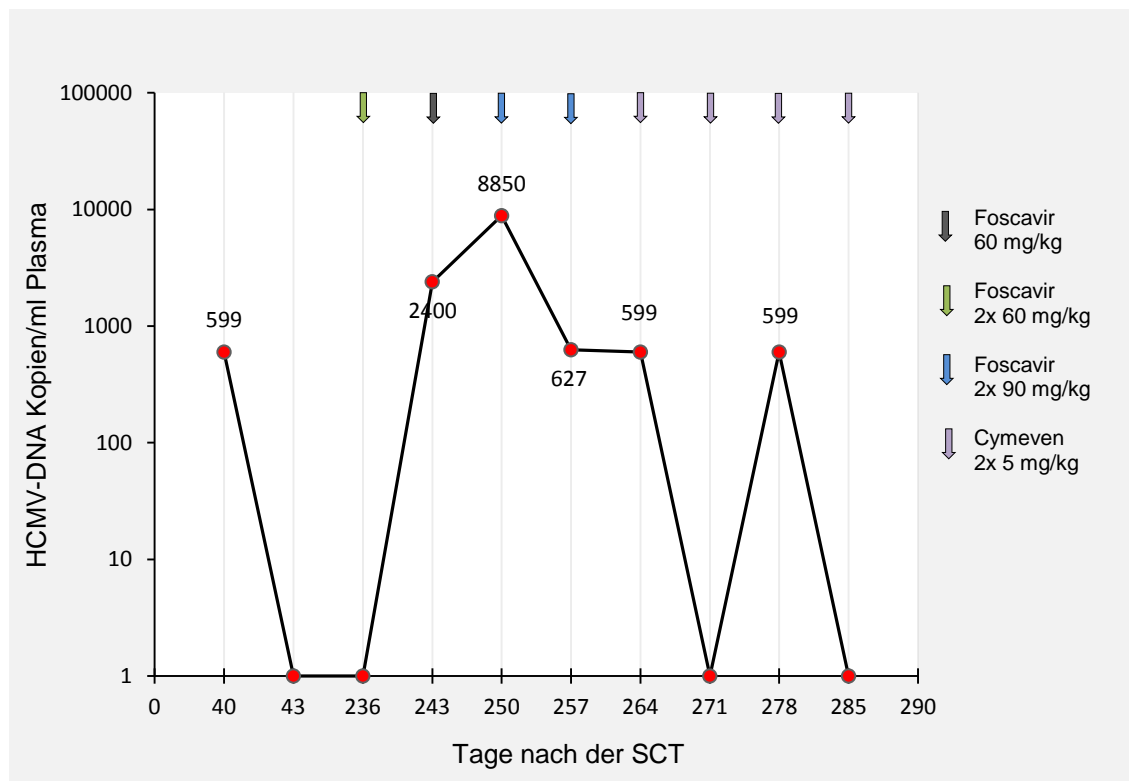


Diagramm 41: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Der Patient Nr. 26 war ein seropositiver Empfänger eines seronegativen Transplantats (D⁻/R⁺). Nach einer komplikationslosen SCT wurde in der Tagesklinik eine einmalig positiv ausgefallene Viruslastbestimmung unter antiviraler Aciclovir-Prophylaxe und immunsuppressiver Therapie am Tag +40 festgestellt. Nach der CSA-Reduktion am Tag +60 erfolgte eine stationäre Aufnahme bei fortschreitender GvHD-Symptomatik der Haut, der Leber und des Darms (Gesamtgrad IV). Die GvHD-assoziierten Symptome waren teilweise nur mit einer fünffachen Immunsuppression unter Kontrolle zu bringen. Aufgrund mehrerer Septitiden folgten mehrere Aufenthalte auf der Intensivstation mit Kreislaufunterstützung und Beatmung, zuletzt am Tag +163. Am Tag +243 kam es unter Therapie mit Foscavir® (60 mg/kg KG) und dreifacher Immunsuppression (MMF, MPDL, ATh) zu einer HCMV-Reaktivierung (2400 Kopien/ml Plasma). Nach einer Gabe Infliximab konnte ein deutlicher HCMV-Anstieg (8850 Kopien/ml) verzeichnet werden, der eine Intensivierung der antiviralen Foscavir®-Therapie (2x 90 mg/kg KG) nach sich zog. Mit dem Wechsel auf Cymeven® (2x 5 mg/kg KG) erreichte man am Tag +271 trotz zwei weiteren Gaben von Infliximab eine vorläufige Viruselimination. Im weiteren Verlauf kam es zur einmaligen positiv ausgefallenen Viruslastbestimmung im Plasma am Tag +278.

Patient Nr. 27

- Hauptdiagnose:* - MDS, ED 05/2010
- Transplantation:* - BMT, HLA-gematchter Fremdspender 09/2010 (Tag+0)
- GvHD:* - Haut Grad I, Tag +22
- HCMV-Reaktivierung:* - Tag +55
- zus. Virusinfektionen:* - EBV im Plasma, Tag +55 bis +65
- Immunsuppression*
- im Verlauf der Infektion:* - PDL, Tag +26 bis +69
- CSA, Tag -1 bis 95
- Auffälligkeiten:* - D⁻/R⁺
- HCMV-Anstieg unter Valcyte®

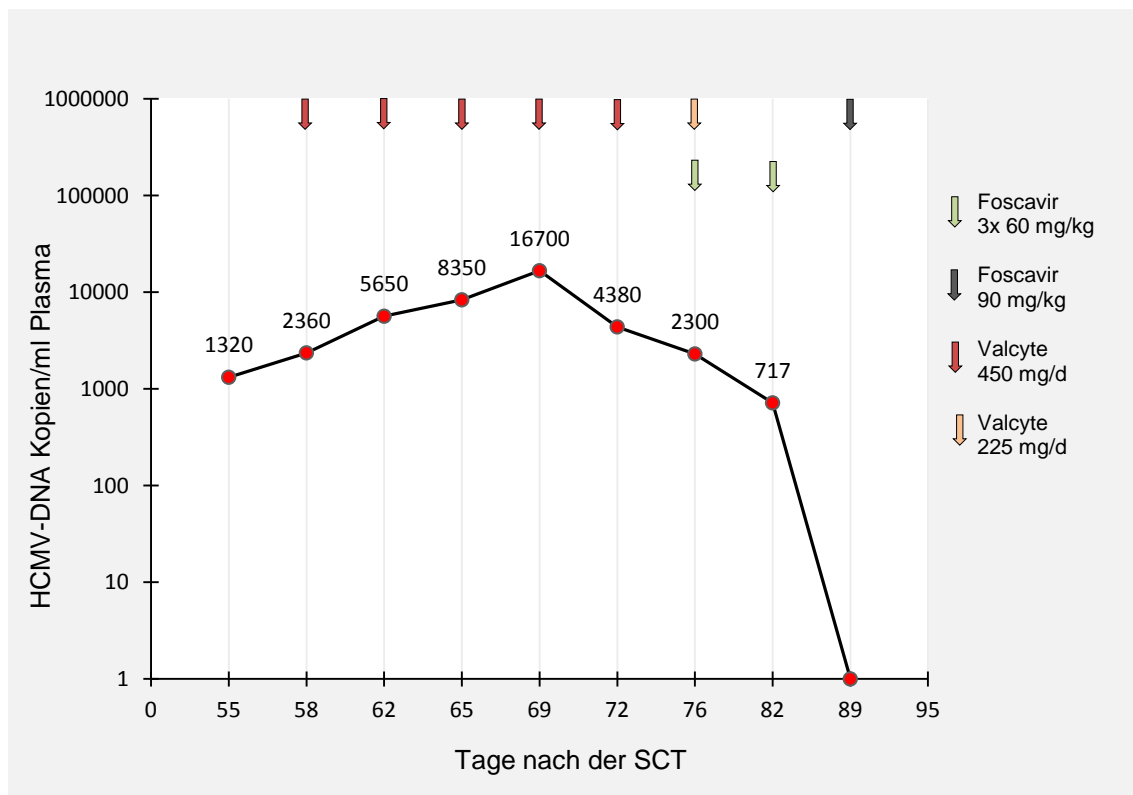


Diagramm 42: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Der Patient Nr. 27 war ein seropositiver Empfänger eines seronegativen Transplantats (D⁻/R⁺). Nach komplikationsloser SCT zeigte sich eine leichtgradige GvHD der Haut, die mit PDL und CSA behandelt wurde. Zum Zeitpunkt der HCMV-Reaktivierung (Tag +55) erfolgte die antivirale Therapie mit Aciclovir®. Trotz des Wechsels auf Valcyte® und der Reduktion von PDL, nahm die HCMV-Viruslast vorerst um mehr als das 10-fache zu und erreichte am Tag +69 einen Viruslastpeak von 16700 HCMV-Kopien/ml Plasma. Es folgte am Tag +76 die stationäre Aufnahme zur Foscavir®-Therapie mit einer initialen Dosis von 3x 60 mg/kg KG, die im weiteren Verlauf unter Viruslastsenkung/ -Elimination am Tag +89 reduziert (90 mg/kg KG) werden konnte.

Patient Nr. 29

- Hauptdiagnose:* - familiäre hämophagozytische Lymphohistiozytose, ED 08/1998
- Transplantation:* - PBSCT, HLA-identer Vater 10/2004 (Tag +0)
- GvHD:* - nicht aufgetreten
- HCMV-Reaktivierung:* - Tag +29
- zus. Virusinfektionen:* - ADV im Plasma, Tag +29 bis +43
- HHV 6 im Plasma, Tag +26 bis +29
- Immunsuppression*
- im Verlauf der Infektion:* - MMF, Tag -1 bis +28
- PDL Tag +198
- Auffälligkeiten:* - Gabe von Cidofovir® und ADV-spezifischen T-Zellen, Tag +31
- HCMV-Anstieg unter Cymeven®

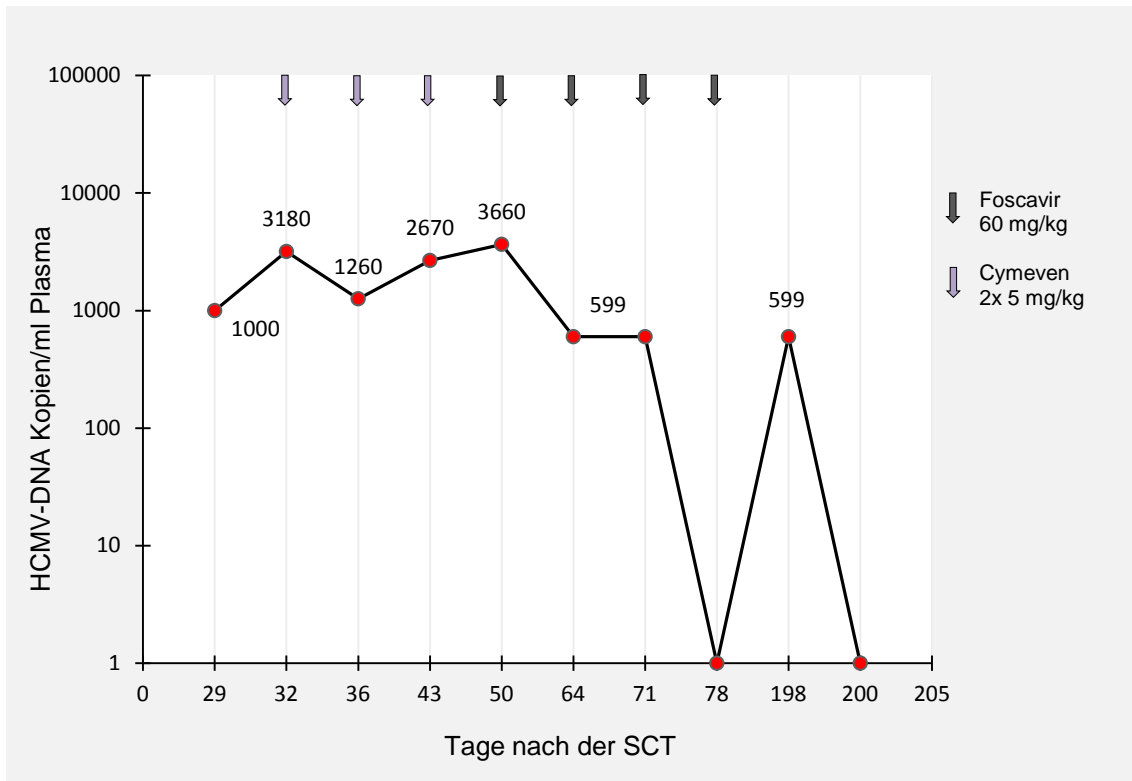


Diagramm 43: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Der Patient Nr. 29 wies bereits vor der SCT am Tag -16 eine EBV-Virämie auf, die mit Cidofovir® und Rituximab erfolgreich behandelt wurde. Unter einer antiviralen Aciclovir®-Prophylaxe und der Immunsuppression mit MMF zeigte sich eine HCMV-, ADV- und HHV-6 Virämie. Es folgte die antivirale Therapie mit Vistide® und Cymeven® (2x 5 mg/kg Kg). Aufgrund einer eingeschränkten Nierenfunktion wurde die reduzierte Vistide®-Dosis um die Gabe ADV-spezifischer T-Zellen erweitert. Nachdem am Tag +36 eine kurzfristige Senkung der HCMV-Viruslast zu verzeichnen war, kam es am Tag +50 ohne eine Dosisänderung der Immunsuppression zum erneuten Anstieg. Erst mit einem Wechsel auf Foscavir® (60 mg/kg KG) konnte am Tag +78 eine komplette Viruselimination im Plasma erreicht werden. Am Tag +198 erfolgte einmalig eine positiv ausgefallene (< 600 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) Viruslastbestimmung.

Patient Nr. 30

- Hauptdiagnose:* - MDS, ED 02/2009
- Transplantation:* - BMT, HLA-identer Fremdspender 10/2009 (Tag+0)
- Abstoßungsreaktion Tag +25
- PBSCT, haploidente Mutter,
CD3⁻/CD19⁻ Depletion 12/2009 (Tag +35)
- GvHD:* - Haut Grad II, Tag +75
- HCMV-Reaktivierung:* - Tag +82
- zus. Virusinfektionen:* - nicht aufgetreten
- Immunsuppression*
im Verlauf der Infektion: - MMF, Tag +34 bis +110
- PDL, Tag +78 bis +110
- Auffälligkeiten:* - HCMV-Anstieg unter Valcyte®

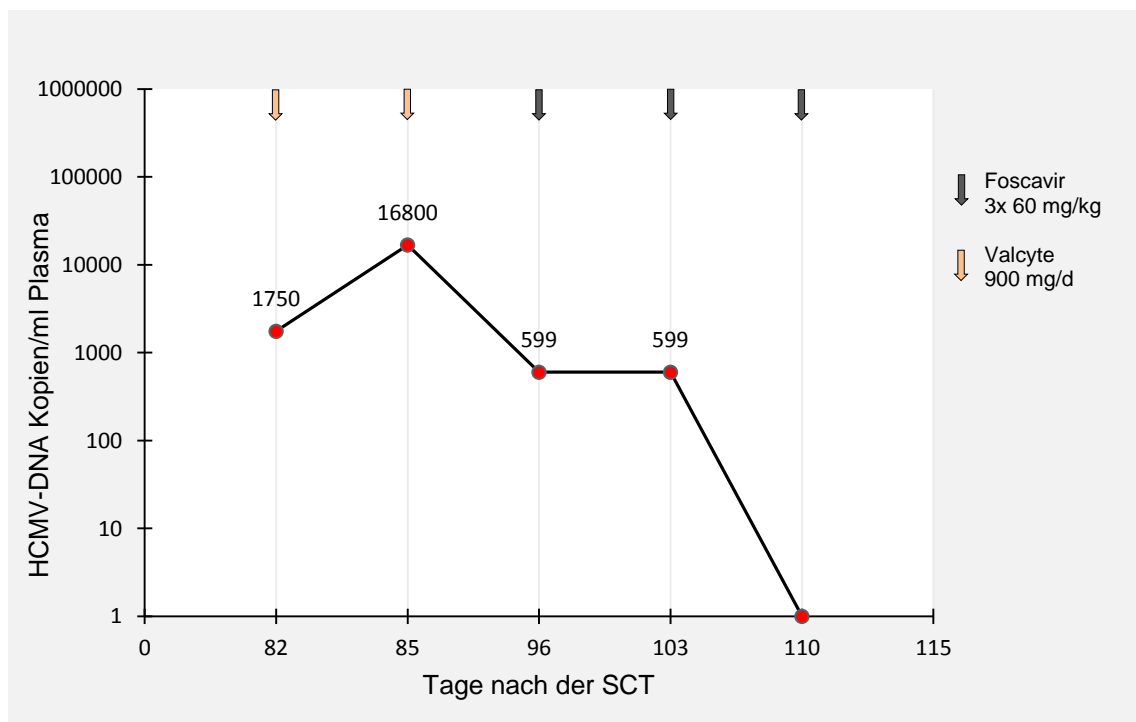


Diagramm 44: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraumes.

Beim Patient Nr. 30 wurde am Tag +35 eine zweite SCT durchgeführt, nachdem es am Tag +25 zur Abstoßungsreaktion gekommen ist. Im Verlauf entwickelte der Patient am Tag +75/ +110 unter MMF (1750 mg) eine GvHD der Haut Grad II. Es erfolgte ab Tag +78 eine zusätzliche dreitägige Stoßtherapie mit PDL (2x 2 mg/kg KG) und anschließender Halbierung als Erhaltungsdosis. Bereits einen Tag nach der PDL-Stoßtherapie konnte eine HCMV-Reaktivierung (1750 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) und ein Viruslastpeak von 16800 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma am Tag +85 unter einer Valcyte®-Prophylaxe verzeichnet werden. Erst mit der Umstellung auf Foscavir® (3x 60 mg/kg KG) am Tag +91 und der Reduktion sowohl von PDL (15 mg) als auch von MMF (1000 mg) war keine Viruslast am Tag +110 mehr nachweisbar.

Patient Nr. 31

- Hauptdiagnose:* - ALL, ED 10/2003
- Transplantation:* - PBSCT, haploidente Mutter,
CD3⁻/CD19⁻ Depletion, CD 34⁺ Selektion 05/2005
(Tag +0)
- HCMV-Reaktivierung:* - Tag +24
- zus. Virusinfektionen:* - BKV im Urin, Tag -11 bis +52
- Immunsuppression*
- im Verlauf der Infektion:* - OKT-3®, Tag -11 bis +16
- MMF, Tag -3 bis +21
- Auffälligkeiten:* - HCMV-Nachweis im Knochenmark, Tag +25
- BKV-assoziierte hämorrhagische Zystitis
- Lungenaspergillose im CT Thorax und BAL,
Tag -11 bis -1
- Exitus letalis am Tag +180

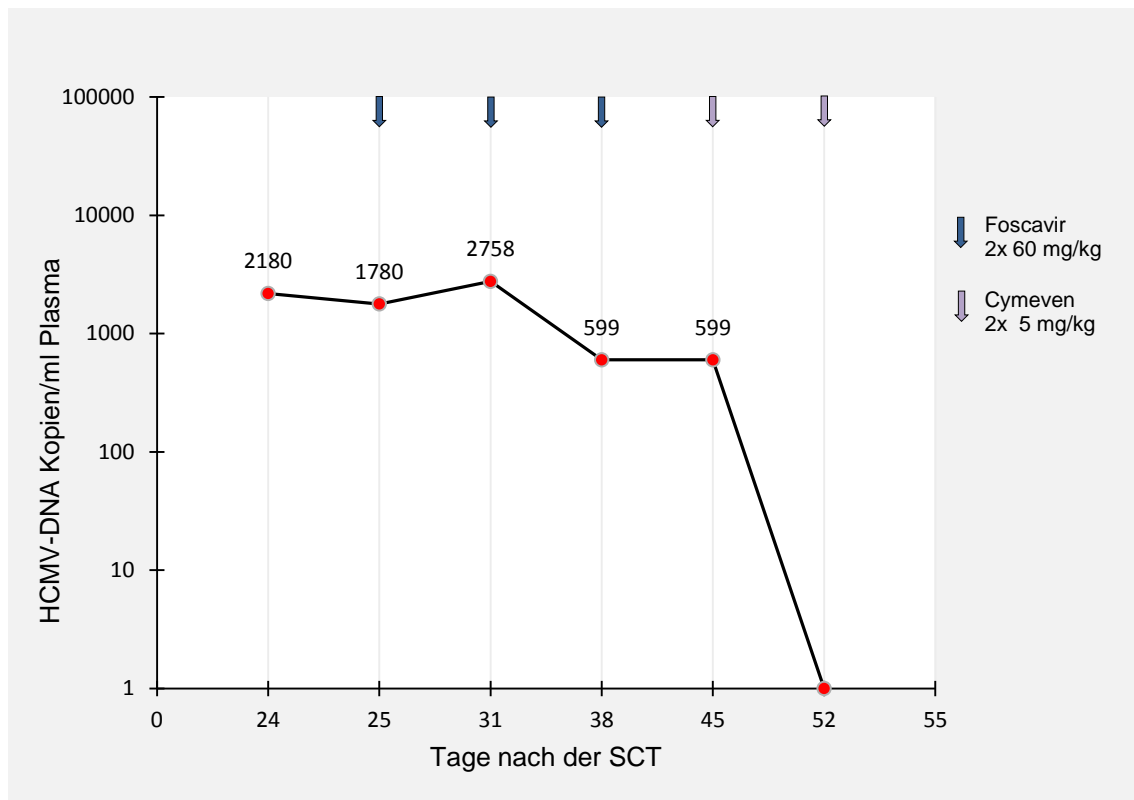


Diagramm 45: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Beim Patient Nr. 31 stand die Grunderkrankung mit einem frühen Rezidiv und den Nichtansprechen auf die Chemotherapie im Vordergrund. Nach einer relativ komplikationslosen SCT entwickelte der Patient unter antiviraler Aciclovir®-Prophylaxe und wöchentlichen Gaben von Vistide® bei BKV-assoziierten hämorrhagischen Zystitis am Tag +24 eine Virämie (2180 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma). Zusätzlich erfolgte am Tag +25 eine positiv ausgefallene Viruslastbestimmung im Knochenmark, die möglicherweise die plötzlich eingetretene Leukozytopenie erklären könnte. Zu diesem Zeitpunkt bestand keine Indikation für eine immunsuppressive Therapie. Mit der am darauffolgenden Tag begonnenen Therapie mit Foscavir® (2x 60 mg/kg KG) konnte initial eine Viruslastsenkung erreicht werden, bevor es am Tag +31 ohne eine Therapieänderung zum erneuten Anstieg der Viruslast (2758 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) gekommen ist. Ab Tag +38 wurde wiederholt eine positiv ausgefallene Viruslastbestimmung (< 600 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) mit anschließender Umstellung auf Cymeven® (2x 5 mg/kg KG) durchgeführt. Unter dieser Therapie konnte am Tag +52 eine komplette Viruselimination im

Plasma erreicht werden. Nach der Entlassung in die ambulante Versorgung erfolgte am Tag +63 beim persistierenden HCMV-Nachweis in den Leukozyten die Oralisierung mit Valcyte®.

Patient Nr. 32

- Hauptdiagnose:* - ALL, ED 03/2005
- Transplantation:* - PBSCT, haploidenter Vater,
CD3⁻/CD19⁻ Depletion 08/2006 (Tag +0)
- Abstoßungsreaktion Tag +86
- PBSCT, haploidenter Vater
CD3⁻/CD19⁻ Depletion 11/2006 (Tag +93)
- GvHD:* - nicht aufgetreten
- HCMV-Reaktivierung:* - Tag +82
- zus. Virusinfektionen:* - ADV im Plasma, Tag +82 bis +153
- Immunsuppression
im Verlauf der Infektion* - MMF ,Tag +82
- PDL, Tag +85 bis +105
- MPDL, Tag +89 bis +95
- OKT-3®, Tag +91 und +93
- Auffälligkeiten:* - NTx vom Vater, nach beidseitiger
Nephrektomie bei schwerer Candidainfektion
05/2006
- Erstinfektion mit HCMV nach NTx
- D⁺/R⁺, vor der NTx R⁻
- wöchentliche Gabe von HCMV-spezifischem IgG
- Therapie mit Vistide®, Tag +86 bis +112
- Gabe von ADV- und HCMV-spezifischen T-Zellen,
Tag +93

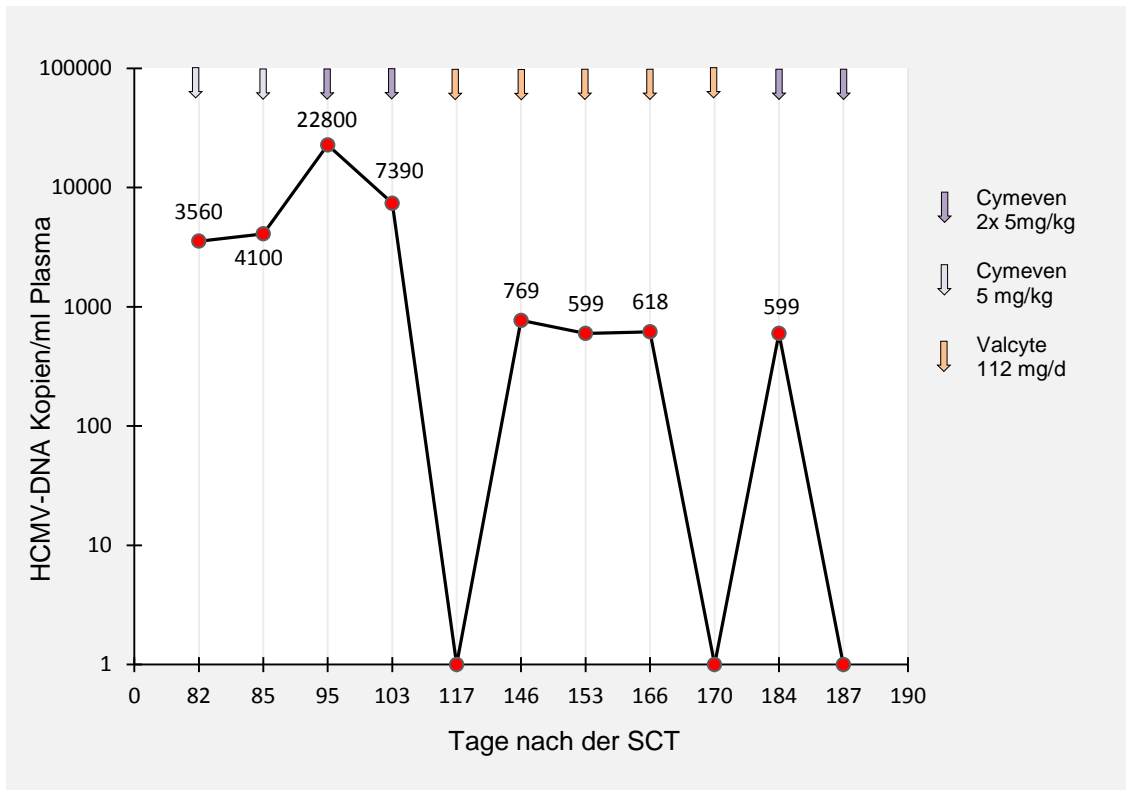


Diagramm 46: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Der Patient Nr. 32 entwickelte während der Chemotherapie zur Behandlung der Grunderkrankung eine fulminante Candidasepsis. Im Rahmen der Sepsis mit Befall der Lunge und der Nieren wurde eine beidseitige Nephrektomie mit anschließender Nierentransplantation (Lebendspende vom Vater) durchgeführt. Trotz antiviraler Therapie und der Gabe von HCMV-spezifischem IgG zeigte die Patientin eine HCMV-Primärinfektion. Nach der durchgeführten SCT vom Vater, die ohne größere Komplikationen verlief, stellte sich bei dem Patient eine Panzytopenie ein. Zusätzlich kam es am Tag +82 zur positiv ausgefallenen HCMV- und ADV- Viruslastbestimmung, die initial mit Cymeven® (5 mg/kg KG) und Vistide behandelt wurde. Bei nachgewiesener Stammzelltransplantat-Abstoßung und bei anhaltender Remission der Leukämie wurde die Indikation für die weitere SCT vom Vater gestellt und zusammen mit der Gabe von HCMV- und ADV-spezifischen T-Zellen am Tag +93 durchgeführt. Bis dahin stieg die Viruslast um das 6-fache und erreichte am Tag +95/ +2 (Tag +2 nach der 2. SCT) einen Peak von 22800 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma. Mit der Intensivierung der Cymeven®-Therapie (2x 5 mg/kg KG) bis zum Tag +112/

+19, der anschließenden Umstellung auf Valcyte (112 mg) und der Reduktion von PDL konnte im Plasma kein HCMV mehr nachgewiesen werden. Im weiteren Verlauf wurde am Tag +146/ +53 unter der Therapie mit Valcyte® und Vistide eine erneute HCMV-Reaktivierung (769 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) festgestellt, die ohne Konsequenzen für das Fortführen der antiviralen Therapie blieb. In einem späteren stationären Aufenthalt zur Behandlung eines fieberhaften Infekts zeigte das HCMV-Screening am Tag +184/ +91 eine Reaktivierung im Plasma, die unter einer einwöchigen Therapie mit Cymeven®(2x 5 mg/kg KG) zur Viruselimination führte.

Patient Nr. 33

- Hauptdiagnose:* - AML, ED 03/2009
- Transplantation:* - PBSCT, haploidenter Vater,
CD3⁻/CD19⁻ Depletion 07/2010, Tag +0
- PBSCT, haploidente Mutter,
CD3⁻/CD19⁻ Depletion 09/2011, Tag +461/+0
- GvHD:* - Haut und GIT Grad III
- HCMV-Reaktivierung:* - 1. Tag +25, 1./ 2. SCT Tag +487/+26,
Tag +544/+83
- zus. Virusinfektionen:* - HHV-6 im Plasma, Tag +536/ +38 bis +546/ +85
- VZV im Plasma, Tag +544/ +83 bis +550/ +89
- BKV im Urin, Tag +564/ +103 bis +571/ +110
- ADV im Stuhl, Tag +522/ +24 und +577/+116
- Immunsuppression* - MMF, Tag +538/ +40 bis +587/ +126
- im Verlauf der Infektion:* - PDL, Tag 452/ -9 bis +578/ +117
- Sirolimus, Tag +547/ +49

Auffälligkeiten:

- HCMV-Pneumonie, Tag +494/33
(SpO₂ 91% bei 5L O₂)
- Gabe von ADV- und HCMV-spezifischen T-Zellen,
Tag +560/+99
- katecholaminpflichtig, Tag +585/124
- Intubation auf Intensivstation und Dialyse,
Tag +592/+131
- Z. n. disseminierter Aspergillose
- Exitus letalis mit MOV, Tag +603/142

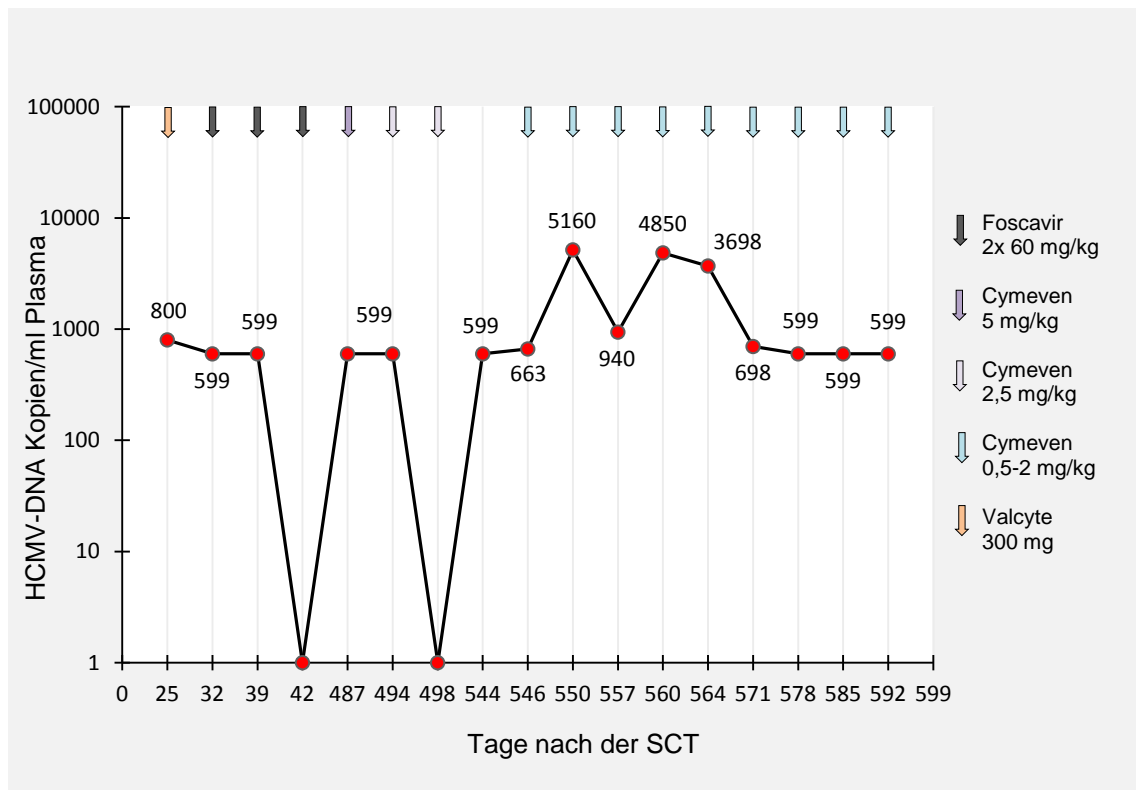


Diagramm 47: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Beim Patient Nr. 33 stand vor allem die Progredienz der Grunderkrankung unter Chemotherapie mit Knochenmarkrezidiv, langanhaltender Agranulozytose und disseminierter Lungenaspergillose im Vordergrund. Es sei darauf hingewiesen, dass die Behandlung und Betreuung des Patienten in mehreren Krankenhäuser stattfand und man bei der Eruiierung der Daten auf die Richtigkeit und Vollständigkeit des Schriftverkehrs angewiesen war. Bereits am Tag +25 nach

der ersten SCT vom haploidenten Vater wurde unter antiviraler Therapie mit Valcyte® (300 mg/d) eine HCMV-Reaktivierung verzeichnet, die mit einer anschließenden Umstellung auf Foscavir® (2x 60 mg/kg KG) zur Viruselimination im Plasma am Tag +42 führte. Bei weiterem Rezidiv der Grunderkrankung am Tag +378 und der Verschlechterung des Allgemeinzustands wurde die Indikation für die zweite SCT gestellt. Im Rahmen der Konditionierung entwickelte der Patient eine VOD und eine Niereninsuffizienz mit Anurie, die eine Hämodialyse und einen Aufenthalt auf der Intensivstation notwendig machte. Nach einer komplikationslosen SCT kam es am Tag +481/+20 zu einem Nachweis von ADV im Stuhl und blutigen Durchfällen. Unter antiviraler Therapie mit Aciclovir® und Cymeven® wurde am Tag +487/+26 eine erneute Reaktivierung festgestellt. Aufgrund eines hohen Rezidivrisikos wurde zu diesem Zeitpunkt auf eine pharmakologische GvHD-Prophylaxe verzichtet. Der zunehmende Sauerstoffbedarf (SpO₂ 91% bei 5L O₂), Fieber, HCMV-Virämie und die Computertomographie führten zur Diagnose einer HCMV-Pneumonie. Eine BAL war zu dem Zeitpunkt aufgrund der Klinik nicht vertretbar. Es wurde eine kurzfristige Virusclearance am Tag +498/+38 erreicht. Durch eine in der Zwischenzeit durchgeführte Rektoskopie präsentierte sich eine ausgeprägte GvHD des Darms (Grad III) mit Hb-relevanten Darmblutungen. Unter der am Tag +500/+40 begonnen GvHD-Prophylaxe mit MMF (2x 500 mg), Sirolimus und PDL kam es am Tag +544/+83 zur erneuten HCMV-Reaktivierung, die einen Viruslastpeak von 5160 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma erreichte. Im weiteren Verlauf reduzierte man bei rückläufigen Viruslasten die antivirale Therapie mit Cymeven® aufgrund der eingeschränkten Nierenfunktion und Thrombopoese auf Tagesdosen von 0,5-2 mg/kg KG. Nach dem Abklingen der Darm-GvHD und weiterer Persistenz von ADV und HCMV erfolgte die Gabe von ADV- und HCMV-spezifischen T-Zellen am Tag +99. Aufgrund der Hepatopathie stellte sich eine Hypertonie im Portadersystem mit Aszites und diffusen Magenblutungen ein, die den Einsatz von Frischplasma und Gerinnungsfaktoren erforderlich machte. Schließlich erfolgte auf der Intensivstation am Tag +592/+131 die Intubation und der Patient wurde katecholamin- und dialysepflichtig. Trotz der Maximaltherapie verstarb der

Patient am Tag +142 an Multiorganversagen. Eine HCMV-Virusclearance im Plasma konnte trotz antiviraler Therapie und der Gabe von HCMV-spezifischen T-Zellen nicht erreicht werden.

Patient Nr. 34

- Hauptdiagnose:* - ALL, ED 05/2004
- Transplantation:* - PBSCT, haploidenter Vater,
CD3⁺/CD19⁻ Depletion 09/2007 (Tag +0)
- GvHD:* - chronische Darm GvHD
- HCMV-Reaktivierung:* - Tag +197
- zus. Virusinfektionen:* - ADV im Darm und Stuhl, Tag +210
- Immunsuppression*
- im Verlauf der Infektion:* - MMF, durchgehend
- PDL, durchgehend
- MPDL, Tag +256 bis +258
- Etanercept, Tag +256, +258
- Auffälligkeiten:* - HCMV-Pneumonie, Tag +205,
SpO₂ 92% unter 3 L O₂

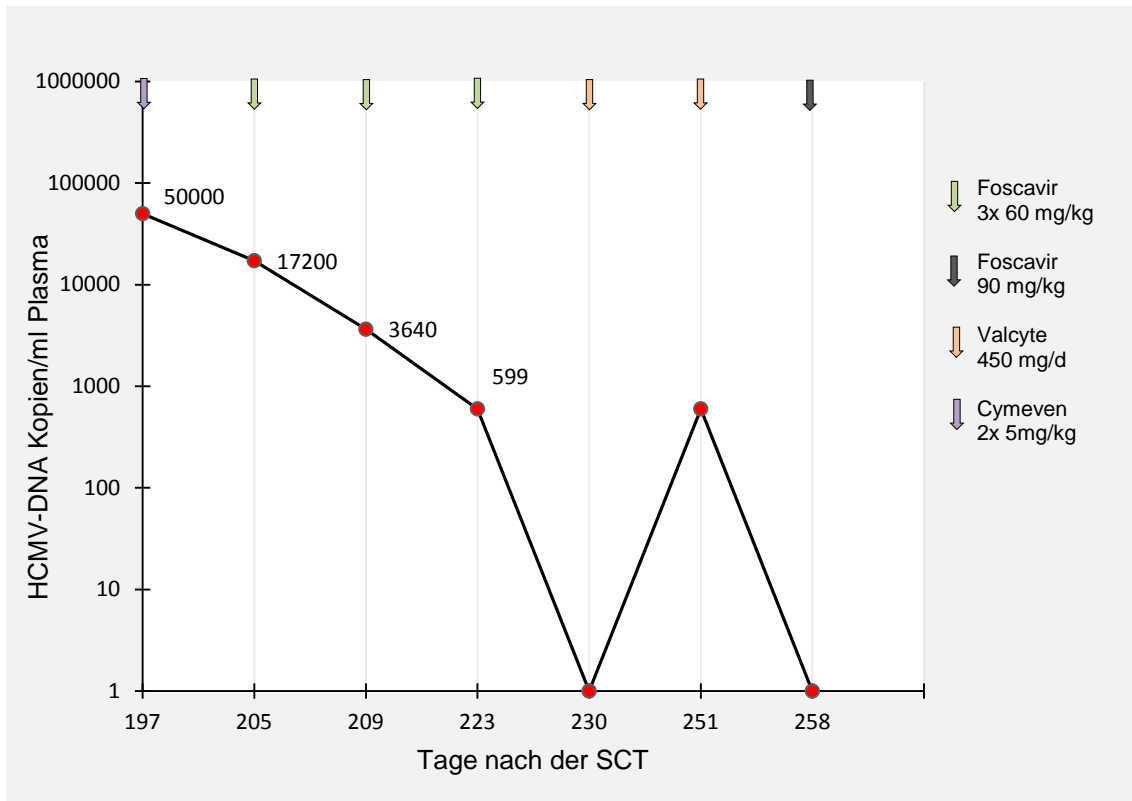


Diagramm 48: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Beim Patient Nr. 34 hat bereits in der Vergangenheit eine SCT (12/06) im Ausland stattgefunden. Aufgrund eines Rezidivs der Grunderkrankung wurde in Tübingen eine zweite SCT erfolgreich durchgeführt. Die weitere Betreuung des Patienten erfolgte in Deutschland wie auch im Ausland. Aufgrund eines reduzierten Allgemeinzustandes mit Dyspnoe (SpO_2 92% unter 3 L O_2), Husten, 38 °C Fieber und positiv ausgefallener Viruslastbestimmung (> 50000 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) erfolgte am Tag +205 die stationäre Aufnahme in Tübingen. Zusätzlich bestand bei der Aufnahme eine ausgeprägte Darm-GvHD (Durchfälle bis zu 10/d), die man mit MMF (1000 mg) und PDL (20 mg) behandelte. Die bis dahin durchgeführte antivirale Therapie mit Cymeven® (2x 5mg/kg KG) wurde am Tag +197 auf Foscavir® (3x 60 mg/kg KG) und zusätzliche Gaben von HCMV-spezifischem IgG umgestellt, die schließlich am Tag +230 zur Viruselimination im Plasma geführt haben. Mit dem Nachweis von ADV im Stuhl und in der durchgeführten Darmbiopsie am Tag +206 komplettierte man die antivirale Therapie mit Vistide®. Nachdem sich sowohl klinisch (kein Fieber, nicht O_2 -pflichtig) als auch in der Computertomographie

eine deutliche Besserung der pulmonalen Situation zeigte, konnte der Patient am Tag +230 mit Valcyte® (450 mg) oralisiert und in die ambulante Versorgung entlassen werden. Zum Ausschluss einer Ganciclovir-Resistenz wurde Genom-Sequenzierung durchgeführt. Diese hat den Verdacht einer Resistenz nicht bestätigt. Wegen einer erneuten Verschlechterung der GvHD-Symptomatik und einmaligem HCMV-Nachweis erfolgte wiederholt die stationäre Aufnahme zur Foscavir®-Therapie (90 mg/kg KG) und Intensivierung der Immunsuppression mit dreitägiger Gabe von MPDL (2x 10 mg/kg KG) und zweimaliger Verabreichung von Etanercept. Bei gleichbleibend stabilem Allgemeinzustand wurde der Patient am Tag +258 in die ambulante Versorgung zur Fortführung der antiviralen Therapie entlassen.

Patient Nr. 35

- Hauptdiagnose:* - Aplastische Anämie, ED 12/2008
- Transplantation:* - BMT, HLA-identer Fremdspender 05/2009
(Tag +0)
- HCMV-Reaktivierung:* - Tag +22
- zus. Virusinfektionen:* - HHV-6 und HSV-1 im Plasma, Tag +22,
- BKV im Urin, Tag +6 bis +24
- Immunsuppression*
- im Verlauf der Infektion:* - PDL, Tag -5 bis +35
- CSA, Tag -1 bis +52
- Auffälligkeiten:* - D⁻/R⁺
- katheterinduzierte Sepsis, Verlegung auf
Intensivstation, katecholamin- und O₂-pflichtig,
Tag +17 bis +22
- HCMV-Pneumonie Tag +29 (SpO₂ 94% unter
3l O₂)
- wöchentliche Gabe von HCMV-spezifischem IgG,
Tag +21 bis +49

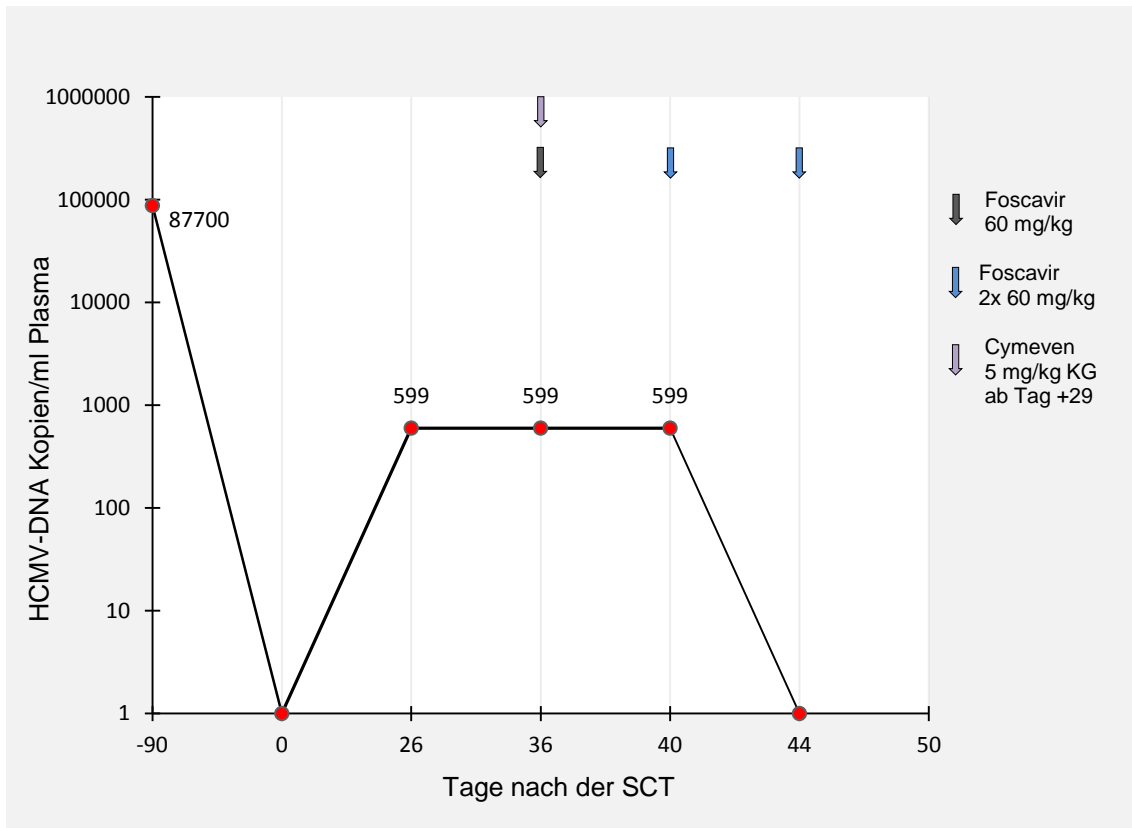


Diagramm 49: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums.

Beim Patient Nr. 35 wurde nach einer frustranen Therapie der Grunderkrankung mit ATG die Indikation für eine SCT gestellt. Zusätzlich handelte es sich um einen seropositiven Empfänger eines seronegativen Transplantats (D⁻/R⁺). Nach einer komplikationslosen SCT entwickelte der Patient eine katecholaminpflichtige, katheterinduzierte Sepsis mit Verlegung auf die Intensivstation vom Tag +17 bis +26. Im gleichen Zeitraum kam es zur positiven HCMV-Viruslastbestimmung (< 600 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma). Bei steigendem Fieber (38,8 °C), O₂-Bedarf (3 L) und pneumonischem Infiltrat im Röntgen wurde die Diagnose HCMV-Pneumonie gestellt. Die bis dato durchgeführte antivirale Prophylaxe mit Aciclovir® wurde am Tag +29 auf Cymeven® (5 mg/kg KG) umgestellt und es wurde zusätzlich HCMV-spezifisches IgG von Tag +29 bis +49 verabreicht. Bei weiterer Persistenz der Viruslast erfolgte am Tag +36 der Wechsel auf Foscavir® (2x 60 mg/kg KG), der schließlich zur Viruselimination im Plasma am Tag +44 führte.

4 Diskussion

4.1 Allgemeines

Die Infektion mit dem humanen Cytomegalovirus ist unter der Weltbevölkerung weit verbreitet und verläuft bei immunkompetenten Menschen meist inapparent. Bei immunsupprimierten Patienten gehört das HCMV allerdings zu den wichtigsten opportunistischen Erregern und hat im klinischen Alltag einen wichtigen Einfluss auf das Gesamt-Outcome nach einer SCT (Emanuel D 1988; Reed EC 1988; Ljungman P 1998).

Dabei wird die Inzidenz für eine HCMV-Infektion in der Posttransplantationsphase einer hämatopoetischen SCT bei den Erwachsenen im Vergleich zu Kindern doppelt so hoch (70-80% vs. 30-40%) angegeben (Gerna G 2008). Als mögliche Erklärung für diese Diskrepanz zwischen Erwachsenen und Kindern ist wohl die früher einsetzende Rekonstitution des Immunsystems zu sehen. Aufgrund der besseren Thymusfunktion im Kindesalter, bei Erwachsenen meist zu einem Fettkörper degeneriert, kommt es zu einer schnelleren Wiederherstellung der CD4⁺ T-Helferzellen (Patel SR 2005; Mackall CL 1995) sowie der CD8⁺T-zytotoxischen Zellen und damit zu einem besseren Schutz gegen virale Infektionen. In zahlreichen Studien hat man gesehen, dass das Fehlen bzw. die verlangsamte Rekonstitution von HCMV-spezifischen CD4⁺/CD8⁺-T-Zellen mit einem prognostisch schlechteren Verlauf, späterem Auftreten ("late-onset") der HCMV-Erkrankung oder mit dem Tod des Patienten einhergeht (Reusser P 1991; Li CR 1994; Boeckh M 2003).

Im pädiatrischen Patientenkollektiv können die klinischen Verläufe unterschiedliche Ausmaße annehmen: von einer asymptomatischen HCMV-DNAämie bis zu einer manifesten Endorganerkrankung, die zum Versterben des Patienten führen kann. Laut Hastrup et al. ist die HCMV-Infektion weniger als die primäre Ursache für das Versterben der Kinder zu sehen, sondern vielmehr die aus der HCMV-DNAämie und antiviralen Therapie resultierende Knochenmarktoxizität. Diese führt zur zusätzlichen Kompromittierung des Immunsystems und steigendem Risiko für eine bakterielle und/ oder mykotische Superinfektion (Hastrup E 2005).

In der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin des Universitätsklinikums Tübingen haben sich in einem Zeitraum von 2005 bis 2011 336 Kinder einer hämatopoetischen SCT unterzogen. Anschließend entwickelten 41 Kinder (12,2%) in der Posttransplantationsphase eine systemische HCMV-Infektion, wobei 3 Patienten wegen Unvollständigkeit der Daten aus vorliegender Arbeit ausgeschlossen wurden.

Die erste positiv ausgefallene Viruslastbestimmung im Plasma erfolgte im Median am Tag +53 (Tag +1 bis Tag +755) und die Dauer der HCMV-DNAämie betrug im Median 20 Tage (1 bis 94 Tage). Im internationalen Vergleich wird die Inzidenz für die HCMV-Infektion post transplantationem in ähnlich durchgeführten Studien fast doppelt so hoch angegeben, ausgeschlossen eine Studie von van Bordon aus Belgien (Matthes-Martin S 2003; Haastrup E 2005; Yoon HS 2009; Kullberg-Lindh C 2011; van Bordon V 2008).

Mit der Weiterentwicklung bereits etablierter Konzepte in der Diagnostik und Therapie einer HCMV-Infektion ist es gelungen, die Rate der HCMV-assoziierten Komplikationen zu dezimieren (Hebart H 2000; Boeckh M 2004). Dennoch blieb die Häufigkeit der Diagnosestellung einer HCMV-Pneumonie mit Abstand die häufigste Manifestation einer HCMV-Endorganerkrankung in den letzten zwei Jahrzehnten konstant (Boeckh M 2011a). Aufgrund hoher Letalität der HCMV-induzierten Pneumonie, die Angaben variieren je nach Literatur zwischen 30 und 50%, ist neben der klinischen Präsentation ein verlässliches und empfindliches Nachweisverfahren sowohl zur Feststellung einer systemischen Infektion als auch zur Überwachung der Viruslast unter antiviraler Therapie von entscheidender Bedeutung.

Die Einführung der teilautomatisierten Geräte in Form von COBAS®AMPLICOR oder LightCycler basierend auf der Polymerase-Kettenreaktion haben andere Verfahren auf dem Gebiet des HCMV-Monitoring wie Serologie, Virusisolierung in der Zellkultur (shell vial assay) oder HCMV-pp65-Antigenämie-Test weitgehend in den Hintergrund gedrängt. Neben der hohen Sensitivität und Spezifität zeichnen sich diese Geräte durch Schnelligkeit und großen Probendurchsatz aus (Schaade L 2000; Pang XL 2003; Lengerke C 2006; Aritaki K 2001).

Allerdings kommen den einzelnen Verfahren in der Prä- und Posttransplantationsphase weiterhin wichtige Aufgaben zu:

- die Serologie erlaubt prädiktive Aussagen bezüglich des Risikos für eine HCMV-Infektion nach der SCT
- die Virusisolierung aus der BAL ist beweisend für die Diagnose der HCMV-Pneumonie (Ljungman P 2011; Razonable RR 2002)

Gerna et al. haben in ihren Studien gezeigt, dass der HCMV-pp65-Antigenämie-Test zwar zum Nachweis der HCMV-Infektion herangezogen werden kann, aber aufgrund mangelnder Korrelation zwischen der Antigenämie und der Virusreplikation keinen ausschlaggebenden Faktor für den Beginn der präemptiven Therapie (Cut-off-Wert) mehr darstellt. Als Grund für die mangelnde Korrelation wird von den Autoren die von der Virusreplikation unabhängige Synthese des Tegumentphosphoproteins pp65 beschrieben (Gerna G 2003; Gerna G 2005; Gerna G 2008).

Die quantitative Viruslastbestimmung der eingesandten Proben der am UKT transplantierten Kinder erfolgte am Institut für Medizinische Virologie Tübingen mit dem COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test™. Die Ergebnisse dieses Verfahrens bildeten die Grundlage dieser retrospektiven Arbeit. Nun konnten den Viruslastbestimmungen einzelner Patienten laborchemische Parameter, Symptome und Komplikationen gegenübergestellt werden.

In dem untersuchten Patientenkollektiv haben 8 der 38 Kinder (21%) in der Posttransplantationsphase eine Endorganerkrankung in Form einer HCMV-Pneumonie entwickelt. Einige Autoren wie Caliendo et al. und Humar et al. vertreten die Ansicht, dass das Auftreten einer HCMV-Erkrankung bei einer Viruslast < 400 HCMV-DNA Kopien sehr unwahrscheinlich ist (Caliendo AM 2000; Humar A 1999).

In dem vorliegenden Kollektiv zeigten drei Kinder (Nr. 14, 33 und 35) zum Zeitpunkt der Diagnose eine Viruslast unter der Nachweisgrenze (< 600 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) und ein Kind (Nr. 5) eine Viruslast von 1050 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma, wobei nur bei Letzgenanntem als einzigen Patient, der HCMV-Nachweis in der BAL erfolgte. Zum heutigen Zeitpunkt gibt es keine ein-

deutigen Daten bezüglich der Korrelation zwischen der Viruslast und einer HCMV-Pneumonie (Boeckh M 2009). In dem ausgewerteten Kollektiv bewegte sich die Viruslast zum Zeitpunkt der Diagnose der HCMV-Pneumonie zwischen < 600 und 647000 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma. Unter Betrachtung des breiten Viruslastspektrums wird es deutlich, welche Problematik bei der Festlegung eines Cut-off-Wertes für den Beginn der präemptiven Therapie auftritt, wenn eine Über- oder Untertherapie vermieden werden sollte.

4.2 Risikofaktoren nach einer SCT

Das gesamte untersuchte Kollektiv zeichnete sich durch hohe Inhomogenität betreffend der Grunderkrankung, Konditionierung, Transplantationsart, Begleiterkrankungen, antiviraler und immunsuppressiver Medikation und schließlich der Koinfektion aus. Im Folgenden werden nun zu berücksichtigende Risikofaktoren wie der Serostatus, die Gabe von mono-/ polyklonalen Antikörpern (ATG oder OKT-3) und die akute GvHD während des Infektionszeitraums erörtert.

Als ein wesentlicher Risikofaktor ist der Serostatus vom Spender und Empfänger vor der SCT zu nennen. Das niedrigste Risiko wird für den seronegativen Empfänger eines seronegativen Transplantats angegeben, sofern die verabreichten leukozytenfreien Blutprodukte ebenfalls seronegativ sind (Zaia JA. 2002). Die zwei seronegativen Patienten (Patient Nr. 5 und 15) aus untersuchtem Patientenkollektiv zeigten nach dem Erhalt eines seropositiven Transplantats (R^-/D^+) eine HCMV-DNAämie (Viruslastpeak: 1050 und 10300 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma), wobei Patient Nr. 5 im weiteren Verlauf eine HCMV-Pneumonie entwickelte. Die Patienten haben nur seronegative Blutprodukte erhalten. Die Wahrscheinlichkeit für die HCMV-Infektion wird bei solch einer Konstellation mit $20-30\%$ angegeben (Emery V et al. 2013). Obwohl das Risiko für eine Infektion in der Ära der präemptiven Therapie nicht dramatisch hoch erscheint, besteht für den seronegativen Empfänger eines seropositiven Transplantats (R^-/D^+) gegenüber R^-/D^- Transplantationen ein höheres Risiko an Folgen einer bakteriellen oder mykotischen Infektion zu versterben ($18,3\%$ vs. $9,7\%$) (Nichols WG 2002).

Zeigt sich der Patient vor der SCT als HCMV-IgG positiv, so wird das Risiko für eine Reaktivierung unabhängig von der Serologie des Spenders (R^+/D^+ , R^+/D^-) in der Literatur mit 75% und für eine HCMV-Erkrankung ohne eine frühinterventionelle Therapie mit 20-30% angegeben (Ljungman P 2002b). Allerdings deuten Hinweise aus einigen Studien darauf hin, dass es bei der R^+/D^+ -Konstellation mit der Übertragung der aktiven Spenderimmunität im Vergleich zur R^+/D^- -Konstellation zu weniger häufigen Reaktivierungen, Erkrankungen oder letalen Verläufen kommt und der Gebrauch der antiviralen Therapie reduziert werden kann (Zhou W 2009; Ugarte-Torres A 2011). Mit den Daten aus unserer HCMV-Pneumonie Kohorte konnte diesbezüglich keine Übereinstimmung gefunden werden. Sechs der 8 Patienten mit einer Diagnose der HCMV-Pneumonie waren seropositive Empfänger eines seropositiven Transplantats und 4 der 8 Patienten haben in der Posttransplantationsphase mehrfache Reaktivierungen gezeigt (Patient Nr. 12: dreimal innerhalb von 180 Tagen nach der SCT, Patient Nr. 33: dreimal innerhalb von 2 Jahren; beide mit regelrechtem leukozytären Engraftment am Tag +9). Nur ein Patient war seropositiver Empfänger eines seronegativen Transplantats, der im weiteren Verlauf ebenfalls an der Pneumonie erkrankt war.

Bei vielen onkologischen und nicht-onkologischen Erkrankungen hat sich die hämatopoetische SCT als die Methode mit den größten Heilungschancen erwiesen. Steht kein HLA-identischer Spender (Geschwister oder Fremdspender) zur Verfügung, ist es mit heutigen Aufbereitungsmethoden wie der in vitro ($CD3^-/CD19^-$ -Zelldepletion, $CD34^+$ -Selektion) oder in vivo Depletion (Gabe von ATG) möglich, die Stammzellen eines haploidenten Familienspenders zu verwenden (Lang P 2005; Lang P 2014). Mit dem Abschöpfen der T-Zellen ($CD3^+$) und B-Zellen ($CD19^+$) wird das Risiko für eine GvHD bzw. für eine lymphproliferative Erkrankung reduziert.

Allerdings ist die $CD34^+$ -Selektion mit einem erhöhten Risiko für lebensbedrohliche Viren- und Pilzinfektionen behaftet, weil immunologisch nützliche Zellen wie z.B. NK nicht mittransplantiert werden (Small TN 1999; Boeckh M 2009). Bis eine komplette Funktionalität der B- und T-Zellen erreicht wird, kommt vor allem in den ersten Monaten nach einer SCT den NK-Zellen eine wichtige Rolle

zu (Lamb LS Jr 1998). In 4 von 6 Fällen (Patient Nr. 8, 9, 18 und 31), bei denen eine CD34⁺-Selektion vorgenommen wurde, konnte bereits zwischen Tag +19 und +34 eine HCMV-DNAämie detektiert werden.

Um das Risiko einer Transplantatabstoßung weiterhin zu minimieren, werden zusätzlich mono-/ polyklonale Antikörper (OKT-3 und/oder ATG) verabreicht. Allerdings ist die Gabe der Antikörper ebenfalls mit erhöhtem Risiko für eine HCMV-Infektion und -Erkrankung assoziiert (Seidel MG 2005). Bei der Kohortenauswertung an HCMV-Pneumonie erkrankten Patienten fällt auf, dass in 6 der 8 Fällen (75%) eine manipulierte (T-Zelldepletion) PBSCT von einem haploidenten Familienspender stattgefunden hat und alle den AK OKT-3 erhalten haben. Nur zwei (25%) an HCMV-Pneumonie erkrankten Patienten haben sich einer nicht manipulierten BMT von einem HLA-identen Fremdspender bzw. Familienspender (Geschwister) unterzogen. Aus der BMT-Gruppe bekam nur ein Patient den polyklonalen Antikörper ATG appliziert und erkrankte während des Infektionszeitraums (HCMV-DNAämie) an einer HCMV-Pneumonie.

Lediglich 4 der 38 Patienten des untersuchten Kollektivs mit einer HCMV-DNAämie bekamen im Rahmen der Konditionierung kein AK-Präparat appliziert. Diesbezüglich kann festgehalten werden, dass in der maximalen Viruslasthöhe (im Median: ohne ATG 2487 HCMV-DNA Kopien vs. 3480 HCMV-DNA Kopien mit ATG) kein signifikanter Unterschied festzustellen war. Bei der Anzahl der Reaktivierungen (ohne ATG keine Mehrfachaktivierungen vs. 7 Mehrfachaktivierungen mit ATG) und der Dauer der HCMV-Infektion (im Median: ohne ATG 21 Tage vs. 14 Tage mit ATG) war eine Differenz zu eruieren. Allerdings sind diese Beobachtungen aufgrund der geringen Anzahl der Patientengruppe "ohne ATG" nur bedingt aussagekräftig.

Der klinische Einsatz hochpotenter Immunsuppressiva ist eine wesentliche Voraussetzung für eine erfolgreiche GvHD-Prophylaxe nach einer hämatopoetischen SCT. Sowohl eine akute GvHD als auch der damit verbundene Einsatz der Immunsuppressiva wurden in zahlreichen Studien als Risikofaktoren für eine Reaktivierung identifiziert (Gor D 1998; Zaia JA. 2002; Ljungman P 2006). Die dargestellten Patientenverläufe im untersuchten Kollektiv (siehe Abschnitt 3.4.) spiegeln diese Aussagen ganz und gar wieder. Trotz einer GvHD-

Prophylaxe zeigten 13 Patienten (30%) eine GvHD (Gesamtstadium II-IV) der Leber (4 Fälle), des Darms (8 Fälle) oder der Haut (6 Fälle) in unterschiedlichen Konstellationen. Unmittelbar nach der Intensivierung der immunsuppressiven Therapie, am häufigsten mit Infliximab, Etanercept oder OKT-3, war bei Patient Nr. 3, 6, 14, 15, 20, 25, 26, 30, 32 und 33 ein deutlicher Anstieg der Viruslast zu beobachten.

4.3 Interpretation der Korrelationsanalyse

Aus zahlreichen Beschreibungen der Vergangenheit geht hervor, dass die Verläufe einer HCMV-Infektion stark variieren können und der Ausprägungsgrad der Infektion sehr eng mit dem Immunstatus der infizierten Person korreliert. Während in einem immunkompetenten Organismus meist asymptomatische bis milde Verläufe beobachtet werden, kann es bei immunsupprimierten Personen einen fatalen Verlauf annehmen.

Grundsätzlich können alle Organsysteme betroffen werden, am häufigsten werden in der Literatur folgende Manifestationen beschrieben: Fieber, Fatigue-Syndrom, Myelosuppression (Leuko- und Thrombopenie), Leberfunktionsstörungen (Transaminasenerhöhung), Retinitis (verminderte Sehschärfe und Sehstörungen), Kolitis (Diarrhö, Ulzera) und Pneumonie (Fieber, Husten ohne Auswurf, Hypoxie) (Zaucha-Prazmo A, JR. 2005; Ljungman P 2011).

Ziel dieser Arbeit ist es, mit Hilfe der durchgeführten Korrelationsanalysen Aussagen bezüglich der Viruslastentwicklung und der Laborparameter für ein Kollektiv aus stammzelltransplantierten Kindern zu treffen.

Im ersten Teil der Korrelationsanalyse wurden 38 Wertepaare erfasst, d.h. pro Patient eine Viruslastbestimmung mit den entsprechenden Laborparametern vom gleichen Tag. Das entsprechende Wertepaar pro Patient wurde mit Hilfe der Statistiksoftware R durch Zufall bestimmt.

Folgende Korrelationskoeffizienten nach Spearman konnten errechnet werden: Leukozyten ($r_s = -0,483$), Thrombozyten ($r_s = 0,204$), Kreatinin ($r_s = -0,464$), Harnstoff ($r_s = -0,336$), GPT ($r_s = 0,463$), GOT ($r_s = 0,422$), GGT ($r_s = -0,450$), und Temperatur ($r_s = -0,450$). Daraus ergab sich ein schwacher bis mäßiger Zusammenhang.

Für die restlichen Laborparameter wie Erythrozyten ($r_s = 0,096$), Hämoglobin ($r_s = 0,135$), Hämatokrit ($r_s = 0,155$), LDH ($r_s = 0,125$) und CRP ($r_s = -0,195$) ergab sich maximal nur ein geringer Zusammenhang.

Für das Zustandekommen eines negativen Korrelationskoeffizienten beim Vergleich der Viruslast mit den Leukozyten können mehrere Ursachen diskutiert werden. Sowohl die HCMV-Präsenz im immunsupprimierten Organismus als auch eine Nebenwirkung antiviraler Medikamente können mit einer Myelosuppression einhergehen und damit verbundene Leukopenie bzw. Thrombozytopenie auslösen. Das verspätete Engraftment oder die immunsuppressive Therapie zur GvHD-Prophylaxe könnten die HCMV-Replikationsrate im immungeschwächten Organismus noch zusätzlich begünstigt haben.

Die Ursachen für einen Anstieg der Nierenretentionsparameter (Kreatinin, Harnstoff) bei zum Teil niedrigen Viruslasten könnten in der supportiven Therapie mit Antibiotika und Cyclosporin A, weiteren viralen Infektionen (ADV, EBV, BKV) oder Septitiden in der Aplasie liegen.

Selbst bei immunkompetenten Patienten wurden immense Anstiege der Leberenzyme (GPT, GOT) ohne eine manifeste HCMV-Hepatitis beobachtet (Wreghitt TG 2003). Daher kann vermutet werden, dass der Anstieg der Transaminasen eher eine unspezifische Reaktion des Körpers auf die HCMV-Persistenz ist. Außerdem kann die von einigen Patienten entwickelte VOD der Leber ebenfalls eine Rolle gespielt haben.

Zusätzlich hat die Berechnung des Korrelationskoeffizienten für die Viruslast und Temperatur ergeben, dass niedrige Viruslasten eher mit höherer Körpertemperatur assoziiert sind. Allerdings sollte berücksichtigt werden, dass das Fieber ebenfalls in die Kategorie eher unspezifischer Parameter einzuordnen ist. Aufgrund der Multimorbidität der Patienten und der damit verbundenen Medikation ist eine objektive Zuordnung einer Ursache für den Fieberanstieg nicht immer möglich. Botenstoffe wie Prostaglandine, Bradykinine und Zytokine (IL-1, IL-6 und TNF- α) sind maßgeblich am Fieberanstieg beteiligt. Möglicherweise könnte HCMV diesen Weg der Aktivierung hemmen, d.h. eine hohe Viruslast könnte dafür verantwortlich sein, dass der Fieberanstieg durch Inhibition verschiedener Kaskaden ausblieb.

Angesichts eines sehr niedrigen Korrelationskoeffizienten wird auf die Erörterung weiterer Korrelationen verzichtet.

Im Vergleich zum ersten wurden im zweiten Teil Wertepaare aller Patienten berücksichtigt, die während des Infektionszeitraums mehr als drei Viruslastbestimmungen aufwiesen. Somit wurden 160 Wertepaare in die Korrelationsanalyse einbezogen. Nach Auswertung dieser ergab sich für alle Laborparameter ein Korrelationskoeffizient unterhalb von $\pm 0,2$. Folglich konnten die Ergebnisse aus dem ersten Teil der Korrelationsanalyse unter Einbezug der 26 Patienten mit 160 Viruslastbestimmungen nicht reproduziert werden.

Infolgedessen kann davon ausgegangen werden, dass ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Viruslast und der hier festgelegten Laborparametern für das untersuchte Patientenkollektiv nicht nachzuweisen ist.

4.4 Evaluation der antiviralen Therapie

Im klinischen Alltag werden zwei Therapiekonzepte gegen HCMV-Infektion verfolgt. Die präventive Strategie verfolgt den Ansatz, die risikogefährdeten Patienten frühzeitig zu identifizieren und unter Gabe eines antiviral wirksamen Medikaments eine virusassoziierte Symptomatik zu vermeiden. Welche Substanz dabei zum Einsatz kommt, hängt häufig von den Risikofaktoren, wie die Serologie des Spenders und Empfängers, die HLA-Übereinstimmung sowie dem Konditionierungsregime mit und ohne ATG ab.

Nach dem Tübinger Behandlungslogarithmus (siehe Abschnitt 1.3.4) wird die antivirale Prophylaxe der seronegativen Empfänger eines seronegativen Transplantats mit Aciclovir durchgeführt. Klinische Studien von Ljungman und Prentice haben gezeigt, dass die prophylaktische Anwendung von Aciclovir/Valaciclovir mit einem geringeren Risiko für die HCMV-Infektion behaftet ist. Außerdem kann unter Aciclovir und wöchentlichem HCMV-Screening eine Dosisreduzierung um ca. 40% der präemptiven Therapie erreicht werden, die mit erheblichen Nebenwirkungen verbunden ist (Prentice HG 1994; Ljungman P 2002).

Zwei weitere, häufig zur Prophylaxe eingesetzte Virustatika sind Ganciclovir und Foscarnet. Bei Hochrisikopatienten für eine HCMV-Infektion, wie im vorlie-

genden Fall, empfiehlt sich eine intensiviertere Prophylaxe mit einer Kombination aus drei Präparaten (Aciclovir, Ganciclovir und Foscarnet) (Emery V et al. 2013).

Bereits frühere Studien haben gezeigt, dass die Inzidenz für eine HCMV-Infektion und -Erkrankung durch Ganciclovir zwar gesenkt, nicht aber das Gesamtüberleben verbessern werden konnte (Goodrich JM 1993). Sherek et al. haben an einer Pilotstudie bestehend aus 53 Kindern und Jugendlichen (seropositive Empfänger eines seropositiven oder seronegativen Transplantats) demonstriert, dass eine alternierende Gabe von Ganciclovir und Foscavir für 100 Tage trotz aufgetretener GvHD und damit verbundener Immunsuppression einen 100 prozentigen Schutz vor der HCMV-Erkrankung bietet. Ziel dieser Studie war es zu prüfen, ob sich die häufig beschriebenen und gleichzeitig zum Abbruch der Therapie zwingenden Nebenwirkungen von Ganciclovir und Foscarnet in Form von Myelo- und Nephrotoxizität minimieren lassen und ein noch ausreichender Schutz gegen eine HCMV-Erkrankung besteht (van de Shereck EB 2007).

Allerdings impliziert die prolongierte Gabe von Ganciclovir zum einen die Entstehung einer Ganciclovir-assoziierten Neutropenie (in 30% der Fälle), die das Risiko für bakterielle und Pilzinfektionen erhöht (Salzberger B 1997), zum anderen die Entstehung einer "late-onset" Erkrankung aufgrund verlängerter Rekonstitution des Immunsystems (Ljungman P 2011). Diesbezüglich konnten ähnliche Beobachtungen in dieser Arbeit gemacht werden. Bei Patient Nr. 7 und 34 erfolgte die Diagnosestellung der HCMV-Pneumonie erst am Tag +133 bzw. Tag +205. Zugleich kam es bei zahlreichen Patienten zu Mehrfachreaktivierungen, von denen 13 Patienten eine HCMV-DNAämie nach Tag +100 zeigten.

Außerdem werden sowohl die prolongierte Ganciclovir-Therapie als auch niedrige Replikationsraten unter antiviraler Therapie und potenter Immunsuppression von Lurain und Chou als Risikofaktoren für eine Ganciclovir-Resistenz ausgemacht (Lurain NS 2010). Nach der kritischen Durchsicht der individuellen Verläufe des Patientenkollektivs im Abschnitt 3.4 muss aufgrund der bestehenden Persistenz oder sogar eines Anstiegs der Viruslast unter antiviraler Therapie bei einigen Patienten eine Ganciclovir-Resistenz in Betracht gezogen wer-

den. Häufiger liegt jedoch der Grund für den Viruslastanstieg nicht in der genetischen Mutation sondern in der potenten Immunsuppression (klinische Resistenz) (Ljungman P 2011), die oft im Rahmen der GvHD-Behandlung verabreicht werden muss. Im untersuchten Patientenkollektiv wurde bei 4 Kindern eine genotypische Resistenzanalyse (RFLP, Gensequenzierung und real-time-PCR) durchgeführt, lediglich beim Patient Nr. 12 wurde der Verdacht einer UL-97 Punktmutation in der Gensequenzierung bestätigt.

Als Grundlage für das Einleiten einer präemptiven Therapie dient die Erkenntnis, dass vom Beginn einer manifesten Erkrankung das Virus bereits einige Wochen zuvor im Blut des Patienten nachweisbar ist (Einsele H 2001). Das verfolgte Ziel dieser Strategie ist die Vermeidung einer Übertherapie und der Schutz der Patienten vor weiteren Komplikationen, die von den antiviralen Präparaten ausgehen können. Allerdings besteht unter den Autoren kein Konsens bezüglich der Therapiedauer, der Dosierung und vor allem der Viruslasthöhe für die Einleitung der frühinterventionellen Therapie (Cut-off-Wert). Sowohl Gerna et al. als auch Verkruyse et al. haben in ihren Studien demonstriert, dass das Einleiten der präemptiven Therapie bei einem Schwellenwert von > 10000 HCMV-DNA Kopien eine sichere und effiziente Strategie bei der Behandlung von Patienten mit einer HCMV-Infektion sei. In beiden Studien wurden jedoch Patienten mit einer in vitro T-Zelldepletion ausgeschlossen und im Falle von Verkruyse et al. bestand das Patientenkollektiv zu 30% aus seronegativen Empfängern eines seronegativen Transplantats (Gerna G 2008; Verkruyse LA 2006). Wie in der hier vorgestellten Studie gezeigt, kann sich eine HCMV-Erkrankung bereits im niedrigen Viruslastbereich manifestieren. Sowohl die Patienten Nr. 14, 33 und 35 (< 600 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) als auch Patient Nr. 5 (1050 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma) wiesen bei der Feststellung der HCMV-Pneumonie niedrige Viruslastwerte auf, wobei zu diesem Zeitpunkt bei Patient Nr. 14 und 33 eine ausgeprägte GvHD und bei Patient Nr. 35 eine kateter-induzierte Sepsis vorlag.

Weitere Medikamente, die den Einsatz in der Behandlung der HCMV-Infektion gefunden haben, sind Valganciclovir und bei refraktären HCMV-Infektionen das Cidofovir (Einsele H 2006; Ljungman P 2001). Im Hinblick auf Resistenzent-

wicklungen sollte Valganciclovir jedoch gegenüber Ganciclovir vorgezogen werden (Boivin G 2004).

Eine weitere vielversprechende Methode in der Behandlung einer HCMV-Infektion und -Erkrankung ist der Transfer von HCMV-spezifischen T-Zellen. Es bietet die Möglichkeit, die Zeitspanne bis zur kompletten Rekonstitution des Immunsystems zu überbrücken. Sowohl Feuchtinger et al. als auch Einsele et al. konnten in ihren Studien eine deutliche Reduzierung der Viruslast demonstrieren, in 83% der Fälle sogar eine komplette Viruselimination (Einsele H 2002; Feuchtinger T 2010). Jedoch existieren zurzeit bezüglich der Dosis und dem Zeitpunkt der Gabe noch keine einheitlichen Richtlinien. Unter Betrachtung der individuellen Verläufe der Patienten Nr. 12, 20, 32 und 33, die sich dem Transfer von spezifischen T-Zellen unterzogen haben, lässt sich Folgendes festhalten:

- bei allen Patienten wurde eine deutliche Viruslastsenkung erreicht, in 50% der Fälle eine komplette Virusclearance im Plasma (Patienten Nr. 20, 32)
- Patienten Nr. 12 und 33 sind trotz Maximaltherapie anschließend mit positiv ausgefallener Viruslastbestimmung innerhalb von 23 bzw. 43 Tagen verstorben

Die Wirksamkeit von HCMV-spezifischen T-Zellen lässt sich am Patient Nr. 32 erfolgreich demonstrieren. Trotz der 4-fachen Immunsuppression konnte innerhalb von 12 Tagen eine Virusclearance erreicht werden.

Aufgrund der geringen Patientenzahl im untersuchten Kollektiv können keine Aussagen bezüglich des optimalen Zeitfensters für den Transfer HCMV-spezifischer T-Zellen gemacht werden. Aufgrund dessen sind weitere größere Studien notwendig um diese vielversprechende Methode objektiv evaluieren zu können. In der Zusammenschau der Viruslastverläufe kann festgehalten werden, dass mit Ganciclovir, Valganciclovir, Foscarnet und Cidofovir sehr verlässliche, in vielen Studien erprobte Medikamente zur Verfügung stehen, die eine erfolgreiche Behandlung der HCMV-Infektion/ -Erkrankung ermöglichen.

5 Zusammenfassung

Die systemische HCMV-Infektion stellt im Anschluss an die allogene SCT eine schwere Komplikation dar, die maßgeblich am Outcome transplantierten Patienten beteiligt ist. In den meisten Fällen kommt es aufgrund einer Störung der zellulären Immunantwort zu einer Reaktivierung der latent verlaufenden Virusinfektion. Ziel dieser retrospektiven Arbeit bestand darin, Korrelationen zwischen der Viruslast im Plasma und den definierten Laborparametern zu ermitteln um in der Zukunft mögliche prädiktive Aussagen in Bezug auf Krankheitsverlauf treffen zu können. In dieser Studie wurden die Daten von 38 Kindern ausgewertet, die sich in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin des Uniklinikums Tübingen einer Stammzelltransplantation unterzogen haben und im Verlauf eine systemische HCMV-Infektion zeigten.

Mit Hilfe des statistischen Programms SPSS® konnten für die zuvor ermittelten Viruslasten (HCMV-DNA Kopien/ml Plasma), basierend auf der Polymerase-Kettenreaktion, und für die festgelegten Laborparameter die Korrelationskoeffizienten berechnet und anschließend in graphischer Form dargestellt werden.

Im ersten Teil der Analyse, die von jedem Patienten nur ein Wertepaar (d.h. eine Viruslastbestimmung mit den entsprechenden Laborparametern vom gleichen Tag) beinhaltet, können folgende Spearman-Korrelationskoeffizienten ermittelt werden: Leukozyten ($r_s = -0,483$), Kreatinin ($r_s = -0,464$), Harnstoff ($r_s = -0,336$), GPT ($r_s = 0,463$), GOT ($r_s = 0,422$), GGT ($r_s = -0,450$), Temperatur ($r_s = -0,450$) und Thrombozyten ($r_s = 0,204$). Daraus ergibt sich eine schwache bis mäßige Korrelation. Für die restlichen Laborparameter wie Erythrozyten ($r_s = 0,096$), Hämoglobin ($r_s = 0,135$), Hämatokrit ($r_s = 0,155$), LDH ($r_s = 0,125$) und CRP ($r_s = -0,195$) zeichnet sich maximal nur ein geringer Zusammenhang ab. Diese Ergebnisse konnten im zweiten Teil der Korrelationsanalyse nicht reproduziert werden.

Als einzige Endorganmanifestation der HCMV-Erkrankung trat bei 8 Patienten eine HCMV-Pneumonie auf. Bei 3 Patienten betrug die Viruslast bei der Diagnosestellung < 600 HCMV-DNA Kopien/ml Plasma.

Als häufige Ursache für die Reaktivierung einer latenten Infektion konnte eine mit der GvHD verbundene Intensivierung der Immunsuppression beobachtet werden.

Bezüglich der antiviralen Therapie konnte bei 34 der 38 Patienten (89,5 %) trotz Mehrfachreaktivierungen stets eine komplette Viruselimination erzielt werden. Vier Patienten sind unter der Maximaltherapie mit Virustatika und dem Transfer HCMV-spezifischer T-Zellen mit einem positiv ausgefallenen Viruslastnachweis verstorben.

Eine signifikante Korrelation zwischen der Viruslast und der in vorliegender Untersuchung definierten Laborparameter konnte für das untersuchte Patientenkollektiv nicht nachgewiesen werden.

6 Literaturverzeichnis

- Aritaki K, Ohyashiki JH Suzuki A. Ojima T. Abe K. Shimizu N. Yamamoto K. Ohyashiki K. Hoshika A. (2001): A rapid monitoring system of human herpesviruses reactivation by LightCycler in stem cell transplantation. In: *Bone Marrow Transplant.* 28(10):975-80.
- Bland JM, Altman D. G. (1994): Correlation, regression, and repeated data. In: *BMJ.* 308(6933):896.
- Bland JM, Altman D. G. (1995a): Calculating correlation coefficients with repeated observations: Part 1--Correlation within subjects. In: *BMJ.* 310(6977):446.
- Bland JM, Altman D. G. (1995b): Calculating correlation coefficients with repeated observations: Part 2--Correlation between subjects. In: *BMJ.* 310(6980):633.
- Boeckh M (2011a): Complications, Diagnosis, Management, and Prevention of CMV Infections: Current and Future. In: *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2011:305-9.
- Boeckh M, Geballe A. P. (2011b): Cytomegalovirus: pathogen, paradigm, and puzzle. In: *J Clin Invest.* 121(5):1673-80.
- Boeckh M, Leisenring W. Riddell SR Bowden RA Huang ML Myerson D. Stevens-Ayers T. Flowers ME Cunningham T. Corey L. (2003): Late cytomegalovirus disease and mortality in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants: importance of viral load and T-cell immunity. In: *Blood.* 101(2):407-14.
- Boeckh M, Ljungman P. (2009): How we treat cytomegalovirus in hematopoietic cell transplant recipients. In: *Blood.* 113(23):5711-9.
- Boeckh M, Nichols W. G. (2004): The impact of cytomegalovirus serostatus of donor and recipient before hematopoietic stem cell transplantation in the era of antiviral prophylaxis and preemptive therapy. In: *Blood.* 103(6):2003-8.
- Boivin G, Goyette N. Gilbert C. Roberts N. Macey K. Paya C. Pescovitz MD Humar A. Dominguez E. Washburn K. Blumberg E. Alexander B. Freeman R. Heaton N. Covington E. (2004): Absence of cytomegalovirus-resistance mutations after valganciclovir prophylaxis, in a prospective multicenter study of solid-organ transplant recipients. In: *J Infect Dis.* 189(9):1615-8.
- Bowden RA, Slichter SJ Sayers M. Weisdorf D. Cays M. Schoch G. Banaji M. Haake R. Welk K. Fisher L. McCullough J. Miller W. (1995): A comparison of filtered leukocyte-reduced and cytomegalovirus (CMV) seronegative blood products for the prevention of transfusion-associated CMV infection after marrow transplant. In: *Blood.* 86(9):3598-603.
- Bowden RA, Slichter SJ Sayers MH Mori M. Cays MJ Meyers JD (1991): Use of leukocyte-depleted platelets and cytomegalovirus-seronegative red blood cells for prevention of primary cytomegalovirus infection after marrow transplant. In: *Blood.* 78(1):246-50.
- Caliendo AM, St George K. Kao SY Allega J. Tan BH LaFontaine R. Bui L. Rinaldo CR (2000): Comparison of Quantitative Cytomegalovirus (CMV) PCR in Plasma and CMV Antigenemia Assay: Clinical Utility of the Prototype AMPLICOR CMV MONITOR Test in Transplant Recipients. In: *J Clin Microbiol.* 38(6):2122-7.
- Chen J, Stinski M. F. (2002): Role of regulatory elements and the MAPK/ERK or p38 MAPK pathways for activation of human cytomegalovirus gene expression. In: *J Virol.* 76(10):4873-85.
- Cope AV, Sabin C. Burroughs A. Rolles K. Griffiths PD Emery VC (1997): Interrelationships among quantity of human cytomegalovirus (HCMV) DNA in blood, donor-recipient serostatus, and administration of methylprednisolone as risk factors for HCMV disease following liver transplantation. In: *J Infect Dis.* 176(6):1484-90.
- Copelan EA. (2006): Hematopoietic stem-cell transplantation. In: *N Engl J Med.* 354(17):1813-26.

- Craig JM, Macauley JC Weller TH Wirth P. (1957): Isolation of intranuclear inclusion producing agents from infants with illnesses resembling cytomegalic inclusion disease. In: *Proc Soc Exp Biol Med.* 94(1):4-12.
- Cutler C, Giri S. Jeyapalan S. Paniagua D. Viswanathan A. Antin JH (2001): Acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic peripheral-blood stem-cell and bone marrow transplantation: a meta-analysis. In: *J Clin Oncol.* 19(16):3685-91.
- Doerr H.W, Gerlich W. H. (Hg.) (2009): Medizinische Virologie: Grundlagen, Diagnostik, Prävention und Therapie viraler Erkrankungen. Herpesviren: Zytomegalieviren. Unter Mitarbeit von Koszinowski U. 2. Aufl. Stuttgart: Thieme SS. 666-676.
- Einsele H, Bertz H. Beyer J. Kiehl MG Runde V. Kolb HJ Holler E. Beck R. Schwerdfeger R. Schumacher U. Hebart H. Martin H. Kienast J. Ullmann AJ Maschmeyer G. Krüger W. Link H. Schmidt CA Oettle H. Klingebiel T. (2001): Epidemiology and interventional treatment strategies of infectious complications after allogeneic stem-cell transplantation. In: *Dtsch Med Wochenschr.* 126(45):1278-84.
- Einsele H, Reusser P. Bornhäuser M. Kalhs P. Ehninger G. Hebart H. Chalandon Y. Kröger N. Hertenstein B. Rohde F. (2006): Oral valganciclovir leads to higher exposure to ganciclovir than intravenous ganciclovir in patients following allogeneic stem cell transplantation. In: *Blood.* 107(7):3002-8.
- Einsele H, Roosnek E. Rufer N. Sinzger C. Riegler S. Löffler J. Grigoleit U. Moris A. Rammensee HG Kanz L. Kleihauer A. Frank F. Jahn G. Hebart H. (2002): Infusion of cytomegalovirus (CMV)-specific T cells for the treatment of CMV infection not responding to antiviral chemotherapy. In: *Blood.* 99(11):3916-22.
- Elion GB. (1982): Mechanism of action and selectivity of acyclovir. In: *Am J Med.* 73(1A):7-13.
- Emanuel D, Cunningham I. Jules-Elysee K. Brochstein JA Kernan NA Laver J. Stover D. White DA Fels A. Polsky B. et al (1988): Cytomegalovirus pneumonia after bone marrow transplantation successfully treated with the combination of ganciclovir and high-dose intravenous immune globulin. In: *Ann Intern Med.* 109(10):777-82.
- Emery VC, Cope AV Bowen EF Gor D. Griffiths PD (1999): The dynamics of human cytomegalovirus replication in vivo. In: *J Exp Med.* 190(2):177-82.
- Emery VC, Sabin CA Cope AV Gor D. Hassan-Walker AF Griffiths PD (2000): Application of viral-load kinetics to identify patients who develop cytomegalovirus disease after transplantation. In: *Lancet.* 355(9220):2032-6.
- Emery V, Zuckerman M. Jackson G. Aitken C. Osman H. Pagliuca A. Potter M. Peggs K. Clark A.; British Committee for Standards in Haematology; British Society of Blood and Marrow Transplantation; UK Virology Network. (2013): Management of cytomegalovirus infection in haemopoietic stem cell transplantation. In: *Br J Haematol.* 162(1):25-39.
- Fahnestock ML, Johnson JL Feldman RM Neveu JM Lane WS Bjorkman PJ (1995): The MHC class I homolog encoded by human cytomegalovirus binds endogenous peptides. In: *Immunity.* 3(5):583-90.
- Ferrara J, Levine J. Reddy P. Holler E. (2009): Graft-versus-Host Disease. In: *Lancet.* 373(9674): 1550–1561.
- Feuchtinger T, Opherk K. Bethge WA Topp MS Schuster FR Weissinger EM Mohty M. Or R. Maschan M. Schumm M. Hamprecht K. Handgretinger R. Lang P. Einsele H. (2010): Adoptive transfer of pp65-specific T cells for the treatment of chemorefractory cytomegalovirus disease or reactivation after haploidentical and matched unrelated stem cell transplantation. In: *Blood.* 116(20):4360-7.
- Fleckenstein B, Müller I. Collins J. (1982): Cloning of the complete human cytomegalovirus genome in cosmids. In: *Gene.* 18(1):39-46.

- Gerna G, Lilleri D, Caldera D, Furione M, Zenone Bragotti L, Alessandrino EP (2008): Validation of a DNAemia cutoff for preemptive therapy of cytomegalovirus infection in adult hematopoietic stem cell transplant recipients. In: *Bone Marrow Transplant*. 41(10):873-9.
- Gerna G, Lilleri D, Zecca M, Alessandrino EP, Baldanti F, Revello MG, Locatelli F. (2005): Rising antigenemia levels may be misleading in pre-emptive therapy of human cytomegalovirus infection in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. In: *Haematologica*. 90(4):526-33.
- Gerna G, Sarasini A, Lilleri D, Percivalle E, Torsellini M, Baldanti F, Revello MG (2003): In vitro model for the study of the dissociation of increasing antigenemia and decreasing DNAemia and viremia during treatment of human cytomegalovirus infection with ganciclovir in transplant recipients. In: *J Infect Dis*. 188(11):1639-47.
- Gilbert C, Boivin G. (2005): Human cytomegalovirus resistance to antiviral drugs. In: *Antimicrob Agents Chemother*. 49(3):873-83.
- Glucksberg H, Storb R, Fefer A, Buckner CD, Neiman PE, Clift RA, Lerner KG, Thomas ED (1974): Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. In: *Transplantation*. 18(4):295-304.
- Göhring K, Wolf D, Bethge W, Mikeler E, Faul C, Vogel W, Vöhringer MC, Jahn G, Hamprecht K. (2013): Dynamics of coexisting HCMV-UL97 and UL54 drug-resistance associated mutations in patients after haematopoietic cell transplantation. In: *J Clin Virol*. 57(1):43-9.
- Goodrich JM, Bowden RA, Fisher L, Keller C, Schoch G, Meyers JD (1993): Ganciclovir prophylaxis to prevent cytomegalovirus disease after allogeneic marrow transplant. In: *Ann Intern Med*. 118(3):173-8.
- Goodrich JM, Mori M, Gleaves CA, Mond C, Cays M, Ebeling DF, Buhles WC, DeArmond B, Meyers JD (1991): Early treatment with ganciclovir to prevent cytomegalovirus disease after allogeneic bone marrow transplantation. In: *N Engl J Med*. 325(23):1601-7.
- Gor D, Sabin C, Prentice HG, Vyas N, Man S, Griffiths PD, Emery VC (1998): Longitudinal fluctuations in cytomegalovirus load in bone marrow transplant patients: relationship between peak virus load, donor/recipient serostatus, acute GVHD and CMV disease. In: *Bone Marrow Transplant*. 21(6):597-605.
- Haastrup E, Müller K, Baekgaard H, Heilmann C. (2005): Cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplant in children. In: *Pediatr Transplant*. 9(6):734-40.
- Hamprecht K, Jahn G. (2007): Human cytomegalovirus and congenital virus infection. In: *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*. 50(11):1379-92.
- Hebart H, Jahn G, Sinzger C, Kanz L, Einsele H. (2000): CMV Infection in Bone Marrow and Solid Organ Transplant Patients in the Era of Antiviral Prophylaxis. In: *Herpes*. 7(1):13-17.
- Hengel H, Reusch U, Gutermann A, Ziegler H, Jonjic S, Lucin P, Koszinowski UH (1999): Cytomegaloviral control of MHC class I function in the mouse. In: *Immunol Rev*. 168:167-76.
- Ho VT, Soiffer R. J. (2001): The history and future of T-cell depletion as graft-versus-host disease prophylaxis for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. In: *Blood*. 98(12):3192-204.
- Holmberg LA, Boeckh M, Hooper H, Leisenring W, Rowley S, Heimfeld S, Press O, Maloney DG, McSweeney P, Corey L, Maziarz RT, Appelbaum FR, Bensinger W. (1999): Increased incidence of cytomegalovirus disease after autologous CD34-selected peripheral blood stem cell transplantation. In: *Blood*. 94(12):4029-35.
- Humar A, Gregson D, Caliendo AM, McGeer A, Malkan G, Krajden M, Corey P, Greig P, Walmsley S, Levy G, Mazzulli T. (1999): Clinical utility of quantitative cytomegalovirus viral load determination for predicting cytomegalovirus disease in liver transplant recipients. In: *Transplantation*. 68(9):1305-11.
- Jong MD, Galasso B, Gazzard PD, Griffiths J de (1998): Summary of the II International Symposium on Cytomegalovirus. In: *Antiviral Res*. 39(3):141-62.

- Kinney TD (1942): Intranuclear Inclusions in Infancy. In: *Am J Pathol.* 18(5):799-811.
- Krech U, Jung M. Jung F. (1971): CMV infections of man. Basel: Karger.
- Krejci M, Doubek M. Buchler T. Brychtova Y. Vorlicek J. Mayer J. (2005): Mycophenolate mofetil for the treatment of acute and chronic steroid-refractory graft-versus-host disease. In: *Ann Hematol.* 84(10):681-5.
- Kullberg-Lindh C, Mellgren K. Friman V. Fasth A. Ascher H. Nilsson S. Lindh M. (2011): Opportunistic virus DNA levels after pediatric stem cell transplantation: serostatus matching, anti-thymocyte globulin, and total body irradiation are additive risk factors. In: *Transpl Infect Dis.* 13(2):122-30.
- Lamb LS Jr, Gee AP Henslee-Downey PJ Geier SS Hazlett L. Pati AR Godder K. Abhyankar SA Turner MW Lee C. Harris WG Parrish RS (1998): Phenotypic and functional reconstitution of peripheral blood lymphocytes following T cell-depleted bone marrow transplantation from partially mismatched related donors. In: *Bone Marrow Transplant.* 21(5):461-71.
- Lang P, Schumm M. Greil J. Bader P. Klingebiel T. Müller I. Feuchtinger T. Pfeiffer M. Schlegel PG Niethammer D. Handgretinger R. (2005): A comparison between three graft manipulation methods for haploidentical stem cell transplantation in pediatric patients: preliminary results of a pilot study. In: *Klin Padiatr.* 217(6):334-8.
- Lang P, Teltschik HM Feuchtinger T. Müller I. Pfeiffer M. Schumm M. Ebinger M. Schwarze CP Gruhn B. Schrauder A. Albert MH Greil J. Urban C. Handgretinger R. (2014): Transplantation of CD3/CD19 depleted allografts from haploidentical family donors in paediatric leukaemia. In: *Br J Haematol.* 165(5):688-98.
- Lee OK, Kuo TK Chen WM Lee KD Hsieh SL Chen TH (2004): Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. In: *Blood.* 103(5):1669-75.
- Lengerke C, Ljubicic T. Meisner C. Loeffler J. Sinzger C. Einsele H. Hebart H. (2006): Evaluation of the COBAS Amplicor HCMV Monitor for early detection and monitoring of human cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. In: *Bone Marrow Transplant.* 38(1):53-60.
- Li CR, Greenberg PD Gilbert MJ Goodrich JM Riddell, SR. (1994): Recovery of HLA-restricted cytomegalovirus (CMV)-specific T-cell responses after allogeneic bone marrow transplant: correlation with CMV disease and effect of ganciclovir prophylaxis. In: *Blood.* 83(7):1971-9.
- Ljungman P, Aschan J. Lewensohn-Fuchs I. Carlens S. Larsson K. Lönnqvist B. Mattsson J. Sparrelid E. Winiarski J. Ringdén O. (1998): Results of different strategies for reducing cytomegalovirus-associated mortality in allogeneic stem cell transplant recipients. In: *Transplantation.* 66(10):1330-4.
- Ljungman P, de Camara R. Milpied N. Volin L. Russell CA Crisp A. Webster A.; Valacyclovir International Bone Marrow Transplant Study Group. (2002): Randomized study of valacyclovir as prophylaxis against cytomegalovirus reactivation in recipients of allogeneic bone marrow transplants. In: *Blood.* 99(8):3050-6.
- Ljungman P, Deliliers GL Platzbecker U. Matthes-Martin S. Bacigalupo A. Einsele H. Ullmann J. Musso M. Trenschele R. Ribaud P. Bornhäuser M. Cesaro S. Crooks B. Dekker A. Gratecos N. Klingebiel T. Tagliaferri E. Ullmann AJ Wacker P. Cordonnier C. (2001): Cidofovir for cytomegalovirus infection and disease in allogeneic stem cell transplant recipients. The Infectious Diseases Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. In: *Blood.* 97(2):388-92.
- Ljungman P, Griffiths P. Paya C. (2002a): Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients. In: *Clin Infect Dis.* 34(8):1094-7.
- Ljungman P, Hakki M. Boeckh M. (2011): Cytomegalovirus in hematopoietic stem cell transplant recipients. In: *Hematol Oncol Clin North Am.* 25(1):151-69.

- Ljungman P, Larsson K, Kumlien G, Aschan J, Barkholt L, Gustafsson-Jernberg A, Lewensohn-Fuchs I, Ringdén O. (2002b): Leukocyte depleted, unselected blood products give a low risk for CMV infection and disease in CMV seronegative allogeneic stem cell transplant recipients with seronegative stem cell donors. In: *Scand J Infect Dis.* 34(5):347-50.
- Ljungman P, Perez-Bercoff L, Jonsson J, Avetisyan G, Sparrelid E, Aschan J, Barkholt L, Larsson K, Winiarski J, Yun Z, Ringdén O. (2006): Risk factors for the development of cytomegalovirus disease after allogeneic stem cell transplantation. In: *Haematologica.* 91(1):78-83.
- Ljungman P, Reusser P, de Camara R, Einsele H, Engelhard D, Ribaud P, Ward K.; European Group for Blood and Marrow Transplantation. (2004): Management of CMV infections: recommendations from the infectious diseases working party of the EBMT. In: *Bone Marrow Transplant.* 33(11):1075-81.
- Lurain NS, Chou S. (2010): Antiviral drug resistance of human cytomegalovirus. In: *Clin Microbiol Rev.* 23(4):689-712.
- Mackall CL, Fleisher TA, Brown MR, Andrich MP, Chen CC, Feuerstein IM, Horowitz ME, Magrath IT, Shad AT, Steinberg SM et al (1995): Age, thymopoiesis, and CD4+ T-lymphocyte regeneration after intensive chemotherapy. *N Engl J Med.* 332(3):143-9.
- Martin PJ, Schoch G, Fisher L, Byers V, Anasetti C, Appelbaum FR, Beatty PG, Doney K, McDonald GB, Sanders JE et al (1990): A retrospective analysis of therapy for acute graft-versus-host disease: initial treatment. In: *Blood.* 76(8):1464-72.
- Martin SI, Marty FM, Fiumara K, Treon SP, Gribben JG, Baden LR (2006): Infectious complications associated with alemtuzumab use for lymphoproliferative disorders. In: *Clin Infect Dis.* 43(1):16-24.
- Matthes-Martin S, Lion T, Aberle SW, Fritsch G, Lawitschka A, Bittner B, Frommlet F, Gadner H, Peters C. (2003): Pre-emptive treatment of CMV DNAemia in paediatric stem cell transplantation: the impact of recipient and donor CMV serostatus on the incidence of CMV disease and CMV-related mortality. In: *Bone Marrow Transplant.* (9):803-8.
- McDonald GB, Hinds MS, Fisher LD, Schoch HG, Wolford JL, Banaji M, Hardin BJ, Shulman HM, Clift RA (1993): Venous-occlusive disease of the liver and multiorgan failure after bone marrow transplantation: a cohort study of 355 patients. In: *Ann Intern Med.* 118(4):255-67.
- Mickelson EM, Petersdorf EW, Hansen JA (2002): HLA matching and hematopoietic cell transplant outcome. In: *Clin Transpl.* 263-71.
- Miller W, Flynn P, McCullough J, Balfour HH Jr, Goldman A, Haake R, McGlave P, Ramsay N, Kersey J. (1986): Cytomegalovirus infection after bone marrow transplantation: an association with acute graft-versus-host disease. In: *Ann Intern Med.* 118(4):255-67.
- Mocarski E.S., Shenk T, Griffiths P.D., Pass R.F (2013): Cytomegaloviruses. In: *Fields Virology, 6th ed. Wolters Kluwer Lippincott Williams & Wilkins, pp. 1960–2014.*
- Mocarski ES Jr. (2004): Immune escape and exploitation strategies of cytomegaloviruses: impact on and imitation of the major histocompatibility system. In: *Cell Microbiol.* 6(8):707-17.
- Murphy E, Shenk T. (2008): Human cytomegalovirus genome. In: *Curr Top Microbiol Immunol.* 325:1-19.
- Nash RA, Etzioni R, Storb R, Furlong T, Gooley T, Anasetti C, Appelbaum FR, Doney K, Martin P, Slattery J. et al (1995): Tacrolimus (FK506) alone or in combination with methotrexate or methylprednisolone for the prevention of acute graft-versus-host disease after marrow transplantation from HLA-matched siblings: a single-center study. In: *Blood.* 85(12):3746-53.
- Nash RA, Johnston L, Parker P, McCune JS, Storer B, Slattery JT, Furlong T, Anasetti C, Appelbaum FR, Lloid ME, Deeg HJ, Kiem HP, Martin PJ, Schubert MM, Witherspoon RP, Forman SJ, Blume KG, Storb R. (2005): A phase I/II study of mycophenolate mofetil in combination with cyclosporine for prophylaxis of acute graft-versus-host disease after myeloablative conditioning and allogeneic hematopoietic cell transplantation. In: *Biol Blood Marrow Transplant.* 11(7):495-505.

Nash RA, Pepe MS, Storb R, Longton G, Pettinger M, Anasetti C, Appelbaum FR, Bowden RA, Deeg HJ, Doney K. et al (1992): Acute graft-versus-host disease: analysis of risk factors after allogeneic marrow transplantation and prophylaxis with cyclosporine and methotrexate. In: *Blood*. 80(7):1838-45.

Nichols WG, Corey L, Gooley T, Davis C, Boeckh M. (2002): High risk of death due to bacterial and fungal infection among cytomegalovirus (CMV)-seronegative recipients of stem cell transplants from seropositive donors: evidence for indirect effects of primary CMV infection. In: *J Infect Dis*. 185(3):273-82.

Pang XL, Chui L, Fenton J, LeBlanc B, Preiksaitis JK (2003): Comparison of LightCycler-based PCR, COBAS amplicor CMV monitor, and pp65 antigenemia assays for quantitative measurement of cytomegalovirus viral load in peripheral blood specimens from patients after solid organ transplantation. In: *J Clin Microbiol*. 41(7):3167-74.

Passweg JR, Baldomero H, Peters C, Gaspar HB, Cesaro S, Dreger P, Duarte RF, Falkenburg JH, Farge-Bancel D, Gennery A, Halter J, Kröger N, Lanza F, Marsh J, Mohty M, Sureda A, Velardi A, Madrigal A. (2014): Hematopoietic SCT in Europe: data and trends in 2012 with special consideration of pediatric transplantation. In: *Bone Marrow Transplant*. 49(6): 744–750.

Patel SR, Ridwan RU, Ortín M. (2005): Cytomegalovirus reactivation in pediatric hemopoietic progenitors transplant: a retrospective study on the risk factors and the efficacy of treatment. In: *J Pediatr Hematol Oncol*. 27(8):411-5.

Polić B, Hengel H, Krmpotić A, Trgovcich J, Pavić I, Luccaronin P, Jonjić S, Koszinowski UH (1998): Hierarchical and redundant lymphocyte subset control precludes cytomegalovirus replication during latent infection. In: *J Exp Med*. 188(6):1047-54.

Prentice HG, Gluckman E, Powles RL, Ljungman P, Milpied N, Fernandez Rañada JM, Mandelli F, Kho P, Kennedy L, Bell AR (1994): Impact of long-term acyclovir on cytomegalovirus infection and survival after allogeneic bone marrow transplantation. European Acyclovir for CMV Prophylaxis Study Group/A randomised study of Valaciclovir. In: *Lancet*. 343(8900):749-53.

Rausser G, Einsele H, Sinzger C, Wernet D, Kuntz G, Assenmacher M, Campbell JD, Topp MS (2004): Rapid generation of combined CMV-specific CD4+ and CD8+ T-cell lines for adoptive transfer into recipients of allogeneic stem cell transplants. In: *Blood*. 103(9):3565-72.

Razonable RR, Paya CV, Smith TF (2002): Role of the laboratory in diagnosis and management of cytomegalovirus infection in hematopoietic stem cell and solid-organ transplant recipients. In: *J Clin Microbiol*. 40(3):746-52.

Reed EC, Bowden RA, Dandliker PS, Lilleby KE, Meyers JD (1988): Treatment of cytomegalovirus pneumonia with ganciclovir and intravenous cytomegalovirus immunoglobulin in patients with bone marrow transplantation. In: *Ann Intern Med*. 109(10):783-8.

Reusser P, Attenhofer R, Hebart H, Helg C, Chapuis B, Einsele H. (1997): Cytomegalovirus-specific T-cell immunity in recipients of autologous peripheral blood stem cell or bone marrow transplants. In: *Blood*. 89(10):3873-9.

Reusser P, Einsele H, Lee J, Volin L, Rovira M, Engelhard D, Finke J, Cordonnier C, Link H, Ljungman P.; Infectious Diseases Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. (2002): Randomized multicenter trial of foscarnet versus ganciclovir for preemptive therapy of cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. In: *Blood*. 99(4):1159-64.

Reusser P, Riddell SR, Meyers JD, Greenberg PD (1991): Cytotoxic T-lymphocyte response to cytomegalovirus after human allogeneic bone marrow transplantation: pattern of recovery and correlation with cytomegalovirus infection and disease. In: *Blood*. 78(5):1373-80.

Reynolds DW, Stagno S, Hosty TS, Tiller M, Alford CA, JR. (1973): Maternal cytomegalovirus excretion and perinatal infection. In: *N Engl J Med*. 289(1):1-5.

Ribbert H (1904): Über protozoenartige Zellen in der Niere eines syphilitischen Neugeborenen und in der Parotis von Kindern. In: *Zbl. allg. Path. path. Anat*. 15: 945–948.

- Salzberger B, Bowden RA Hackman RC Davis C. Boeckh M. (1997): Neutropenia in allogeneic marrow transplant recipients receiving ganciclovir for prevention of cytomegalovirus disease: risk factors and outcome. In: *Blood*. 90(6):2502-8.
- Sauer M. (2007): Graft-versus-Host-Erkrankung. In: *Monatsschrift Kinderheilkunde*, 155: 1021-1030.
- Schaade L, Kockelkorn P. Ritter K. Kleines M. (2000): Detection of cytomegalovirus DNA in human specimens by LightCycler PCR. In: *J Clin Microbiol*. 38(11):4006-9.
- Seidel MG, Fritsch G. Matthes-Martin S. Lawitschka A. Lion T. Pötschger U. Rosenmayr A. Fischer G. Gadner H. Peters C. (2005): In vitro and in vivo T-cell depletion with myeloablative or reduced-intensity conditioning in pediatric hematopoietic stem cell transplantation. In: *Haematologica*. 90(10):1405-14.
- Shah AJ, Kapoor N. Crooks GM Weinberg KI Azim HA Killen R. Kuo L. Rushing T. Kohn DB Parkman R. (2007): The effects of Campath 1H upon graft-versus-host disease, infection, relapse, and immune reconstitution in recipients of pediatric unrelated transplants. In: *Biol Blood Marrow Transplant*. 13(5):584-93.
- Sinclair J, Sissons P. (2006): Latency and reactivation of human cytomegalovirus. In: *J Gen Virol*. 87(Pt 7):1763-79.
- Sinzger C, Digel M. Jahn G. (2008): Cytomegalovirus cell tropism. In: *Curr Top Microbiol Immunol*. 325:63-83.
- Small TN, Papadopoulos EB Boulad F. Black P. Castro-Malaspina H. Childs BH Collins N. Gillio A. George D. Jakubowski A. Heller G. Fazzari M. Kernan N. MacKinnon S. Szabolcs P. Young JW O'Reilly RJ (1999): Comparison of immune reconstitution after unrelated and related T-cell-depleted bone marrow transplantation: effect of patient age and donor leukocyte infusions. In: *Blood*. 93(2):467-80.
- Smith IL, Cherrington JM Jiles RE Fuller MD Freeman WR Spector SA (1997 Jul): High-level resistance of cytomegalovirus to ganciclovir is associated with alterations in both the UL97 and DNA polymerase genes. In: *J Infect Dis*. 176(1):69-77.
- Staras SA, Dollard SC Radford KW Flanders WD Pass RF Cannon MJ (2006): Seroprevalence of cytomegalovirus infection in the United States, 1988-1994. In: *Clin Infect Dis*. 43(9):1143-51.
- Staras SA, Flanders WD Dollard SC Pass RF McGowan JE Jr Cannon MJ (2008): Influence of sexual activity on cytomegalovirus seroprevalence in the United States, 1988-1994. In: *Sex Transm Dis*. 35(5):472-9.
- Tabbara IA, Zimmerman K. Morgan C. Nahleh Z. (2002): Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: complications and results. In: *Arch Intern Med*. 162(14):1558-66.
- Trenschel, R. (2000): Reduced risk of persisting cytomegalovirus pp65 antigenemia and cytomegalovirus interstitial pneumonia following allogeneic PBSCT. In: *Bone Marrow Transplant*. 25(6):665-72.
- Ugarte-Torres A, Hoegh-Petersen M. Liu Y. Zhou F. Williamson TS Quinlan D. Sy S. Roa L. Khan F. Fonseca K. Russell JA Storek J. (2011): Donor serostatus has an impact on cytomegalovirus-specific immunity, cytomegalovirus disease incidence, and survival in seropositive hematopoietic cell transplant recipients. In: *Biol Blood Marrow Transplant*. 17(4):574-85.
- van Bacigalupo A, Lamparelli T. Barisione G. Bruzzi P. Guidi S. Alessandrino PE Bartolomeo P. Oneto R. Bruno B. Sacchi N. Lint MT Bosi A.; Gruppo Italiano Trapianti Midollo Osseo (GITMO) (2006): Thymoglobulin prevents chronic graft-versus-host disease, chronic lung dysfunction, and late transplant-related mortality: long-term follow-up of a randomized trial in patients undergoing unrelated donor transplantation. In: *Biol Blood Marrow Transplant*. 12(5):560-5.
- van Bordon V, Bravo S. Renterghem L. de Moerloose B. Benoit Y. Laureys G. Dhooge C. (2008): Surveillance of cytomegalovirus (CMV) DNAemia in pediatric allogeneic stem cell transplantation: incidence and outcome of CMV infection and disease. In: *Transpl Infect Dis*. 10(1):19-23.

- van de Shereck EB, Cooney E. Ven C. Della-Lotta P. Cairo MS (2007): A pilot phase II study of alternate day ganciclovir and foscarnet in preventing cytomegalovirus (CMV) infections in at-risk pediatric and adolescent allogeneic stem cell transplant recipients. In: *Pediatr Blood Cancer*. 49(3):306-12.
- Verkruyse LA, Storch GA Devine SM Dipersio JF Vij R. (2006): Once daily ganciclovir as initial pre-emptive therapy delayed until threshold CMV load $>$ or $=10000$ copies/ml: a safe and effective strategy for allogeneic stem cell transplant patients. In: *Bone Marrow Transplant*. 37(1):51-6.
- von Hehn Ulrike (2014): Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman. Hg. v. medistat GmbH. Online verfügbar unter http://medistat.de/statistikberatung-glossar-artikel.php?id=Rangkorrelationskoeffizient_nach_Spearman, zuletzt geprüft am 17.01.2015.
- Wills MR, Carmichael AJ Mynard K. Jin X. Weekes MP Plachter B. Sissons JG (1996): The human cytotoxic T-lymphocyte (CTL) response to cytomegalovirus is dominated by structural protein pp65: frequency, specificity, and T-cell receptor usage of pp65-specific CTL. In: *J Virol*. 70(11):7569-79.
- Wreghitt TG, Teare EL Sule O. Devi R. Rice P. (2003): Cytomegalovirus infection in immunocompetent patients. In: *Clin Infect Dis*. 37(12):1603-6.
- Yoon HS, Lee JH Choi ES Seo JJ Moon HN Kim MN HJ (2009): Cytomegalovirus infection in children who underwent hematopoietic stem cell transplantation at a single center: a retrospective study of the risk factors. In: *Pediatr Transplant*. 13(7):898-905.
- Zaia JA. (2002): Prevention and management of CMV-related problems after hematopoietic stem cell transplantation. In: *Bone Marrow Transplant*. 29(8):633-8.
- Zaucha-Prazmo A, Wójcik B. Drabko K. Choma M. Kowalczyk, JR. (2005): Cytomegalovirus (CMV) infections in children undergoing hematopoietic stem cell transplantation. In: *Pediatr Hematol Oncol*. 22(4):271-6.
- Zhou W, Longmate J. Lacey SF Palmer JM Gallez-Hawkins G. Thao L. Spielberger R. Nakamura R. Forman SJ Zaia JA Diamond DJ (2009): Impact of donor CMV status on viral infection and reconstitution of multifunction CMV-specific T cells in CMV-positive transplant recipients. In: *Blood*. 113(25):6465-76.

7 Anhang

7.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Virionstruktur des Cytomegalovirus

Abbildung 2: Graphische Darstellung der Ursachen und Auswirkungen einer HCMV-Infektion

Abbildung 3: Graphische Darstellung des Mechanismus zur Entwicklung einer Graft-versus-Host-Erkrankung

Abbildung 4: Einteilung der akuten GvHD nach befallenem Organsystem

Abbildung 5: Gesamtstadium der akuten GvHD

Abbildung 6: Therapieempfehlungen und Dosierungen der antiviralen Therapeutika

Abbildung 7: Graphische Übersicht der Prodrugs mit Aktivierungs- bzw. Resistenzmechanismus

Abbildung 8: Typisierung und Verwandtschaftsgrad der Spender

7.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Patientencharakteristik

Tabelle 2: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter Erythrozyten

Tabelle 2: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter Leukozyten

Tabelle 3: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter Hämoglobin

Tabelle 4: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter Hämatokrit

Tabelle 5: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter Thrombozyten

Tabelle 6: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter Kreatinin

Tabelle 7: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter Harnstoff

Tabelle 8: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter GPT

Tabelle 9: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter GOT

Tabelle 10: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter LDH

Tabelle 11: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter GGT

Tabelle 12: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter CRP

Tabelle 13: Ergebnis der Kovarianzanalyse für den Parameter Temperatur

7.3 Diagrammverzeichnis

Diagramm 1: Korrelation zwischen der Viruslast und Erythrozyten

Diagramm 2: Korrelation zwischen der Viruslast und Leukozyten

Diagramm 3: Korrelation zwischen der Viruslast und Hämoglobin

Diagramm 4: Korrelation zwischen der Viruslast und Hämatokrit

Diagramm 5: Korrelation zwischen der Viruslast und Thrombozyten

Diagramm 6: Korrelation zwischen der Viruslast und Kreatinin
Diagramm 7: Korrelation zwischen der Viruslast und Harnstoff
Diagramm 8: Korrelation zwischen der Viruslast und GPT
Diagramm 9: Korrelation zwischen der Viruslast und GOT
Diagramm 10: Korrelation zwischen der Viruslast und LDH
Diagramm 11: Korrelation zwischen der Viruslast und GGT
Diagramm 12: Korrelation zwischen der Viruslast und CRP
Diagramm 13: Korrelation zwischen der Viruslast und Temperatur
Diagramm 14: Anzahl der Patienten, Viruslasthöhe und Anzahl der Bestimmungen
Diagramm 15: Korrelation zwischen der Viruslast und Erythrozyten
Diagramm 16: Korrelation zwischen der Viruslast und Leukozyten
Diagramm 17: Korrelation zwischen der Viruslast und Hämoglobin
Diagramm 18: Korrelation zwischen der Viruslast und Hämatokrit
Diagramm 19: Korrelation zwischen der Viruslast und Thrombozyten
Diagramm 20: Korrelation zwischen der Viruslast und Kreatinin
Diagramm 21: Korrelation zwischen der Viruslast und Harnstoff
Diagramm 22: Korrelation zwischen der Viruslast und GPT
Diagramm 23: Korrelation zwischen der Viruslast und GOT
Diagramm 24: Korrelation zwischen der Viruslast und LDH
Diagramm 25: Korrelation zwischen der Viruslast und GGT
Diagramm 26: Korrelation zwischen der Viruslast und CRP
Diagramm 27: Korrelation zwischen der Viruslast und Temperatur
Diagramm 28 - 49: Darstellung der Viruslast und antiviraler Therapie im Verlauf des Infektionszeitraums

8 Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift

Sehr geehrte Damen und Herren,

hiermit erkläre ich, dass ich die beigefügte Dissertation selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel genutzt habe. Alle wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen habe ich als solche gekennzeichnet. Die statistische Auswertung erfolgte nach Beratung durch das Institut für klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie der Eberhard-Karls-Universität Tübingen. Ich versichere außerdem, dass ich die beigefügte Dissertation nur in diesem und keinem anderen Promotionsverfahren eingereicht habe.

Tübingen, den 30.01.2015

W. Podolski

