

Aus dem Zentrum für Innere Medizin der Universität zu Köln  
Klinik und Poliklinik für Innere Medizin I  
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. M. Hallek

**Häusliche Schimmelpilzvorkommen  
bei immunsupprimierten Patienten**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Universität zu Köln

vorgelegt von  
Bernd Jakob  
aus Köln

promoviert am 3. November 2017



Aus dem Zentrum für Innere Medizin der Universität zu Köln  
Klinik und Poliklinik für Innere Medizin I  
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. M. Hallek

**Häusliche Schimmelpilzvorkommen  
bei immunsupprimierten Patienten**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Universität zu Köln

vorgelegt von  
Bernd Jakob  
aus Köln

promoviert am 3. November 2017

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der universität zu Köln, 2017

Druckerei Plan & Kopie Holger Raffin e. K., Charlottenstraße 24, 88045  
Friedrichshafen

Dekan:                    Universitätsprofessor Dr.med. Dr. h.c. Th. Krieg

1. Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. med. J. J. Vehreschild

2. Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. med. H. Seifert

## **Erklärung**

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten:

- Universitätsprofessor Dr. med. J. J. Vehreschild
- Universitätsprofessor Dr. med. O. A. Cornely
- Dr. med. Katharina Schweer

Weitere Personen waren an der geistigen Herstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten ([http://typo3-8169.rrz.unikoeln.de/fileadmin/templates/uni/PDF/Ordnung\\_gute\\_wiss\\_Praxis.pdf](http://typo3-8169.rrz.unikoeln.de/fileadmin/templates/uni/PDF/Ordnung_gute_wiss_Praxis.pdf)) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den 15.11.2016

Das Studiendesign dieser Arbeit wurde von Universitätsprofessor Dr. med. O. A. Cornely entwickelt.

Die in dieser Arbeit angegebenen Experimente bzw. Laborarbeiten sind nach entsprechender Anleitung durch Universitätsprofessor Dr. med. O. A. Cornely und Professor Dr. rer. nat. G. Fischer (RWTH Aachen) von mir selbst ausgeführt worden.

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Untersuchungen (Luftkeimsammlungen und Messungen im häuslichen Umfeld) sind von mir selbst mit Unterstützung von Herrn Blasius Liss (Mitarbeiter Studienzentrum Infektiologie Uniklinik Köln) durchgeführt und dokumentiert worden. Die Auswertung der Ergebnisse wurde von mir selbst durchgeführt.

Die Krankengeschichten der in die Studie eingeschlossenen Patienten wurden von mir selbst erfasst und ausgewertet.

Die statistische Auswertung und Interpretation der erfassten Daten erfolgte unter meiner Beteiligung durch Universitätsprofessor Dr. med. J. J. Vehreschild und Dr. med. Katharina Schweer.

Bei der Herstellung bzw. Korrektur dieser Dissertationsschrift habe ich Korrekturvorschläge von Universitätsprofessor Dr. med. J. J. Vehreschild und Dr. med. Katharina Schweer erhalten.

## **Danksagung**

Ich danke meiner lieben Celia für ihre bedingungslose Liebe, Fürsorge und Aufopferung in der schweren und langwierigen Zeit, während und abseits der Verfassung dieser Doktorarbeit. Danke Celia, dass Du mir immer wieder Mut gemacht hast weiter zu arbeiten und trotz aller Hürden nicht aufzugeben!

Ich danke meinen Eltern, Uta und Khamis Jakob, für ihre umfassende Unterstützung, Liebe und Hilfe zu jeder Zeit.

# 1 Inhaltsverzeichnis

2	Glossar.....	1
3	Einleitung .....	4
3.1	Epidemiologie der IA .....	4
3.2	Gründe für die steigende Inzidenz der IA .....	6
3.3	Risikofaktoren für IA .....	6
3.4	Pathogenese der IA.....	7
3.5	Virulenzfaktoren der <i>Aspergillus</i> spp. ....	9
3.6	Relevante <i>Aspergillus</i> spp. ....	11
3.7	Klinische Zeichen der IA.....	12
3.8	Diagnose der IA.....	12
3.9	Stationäre Prophylaxe und Prävention .....	15
3.10	Nosokomiale Infektion oder im häuslichen Umfeld erworben.....	16
3.11	Pilzquellen im häuslichen Umfeld immunsupprimierter Patienten .....	16
3.12	Luftkeimsammlungen .....	19
4	Fragestellung .....	21
5	Publikation .....	22
5.1	Abstract .....	23
5.2	Introduction.....	23
5.3	Methods.....	24
5.4	Results .....	26
5.5	Discussion .....	30
5.6	Acknowledgments .....	32
5.7	References .....	34
6	Diskussion.....	36
6.1	<i>Aspergillus</i> -Epidemiologie .....	36



6.2	Häusliche Schimmelpilzvorkommen und IA.....	38
7	Zusammenfassung.....	42
8	Literaturverzeichnis.....	43
9	Lebenslauf .....	51

## 2 Glossar

### **Alveole**

Lungenbläschen, in denen bei der Atmung der Gasaustausch zwischen Blut und Alveolarluft erfolgt

### ***Aspergillus***

Die Gießkannenschimmel umfassen eine Gattung von Schimmelpilzen mit aspergillförmigen Sporenträgern. Sie sind weltweit verbreitete Organismen, die überwiegend in toter, sich zersetzender organischer Substanz leben und einen erheblichen Anteil am Stoffkreislauf im Ökosystem der Erde haben. Einige Arten sind Krankheitserreger, die den Menschen, verschiedene Tiere oder Pflanzen befallen können

### **BAL**

Bronchoalveoläre Lavage

### **CFU**

Colony Forming Unit. Siehe KBE.

### **EORTC**

European Organization for Research and Treatment of Cancer/ Invasive Fungal Infections Cooperative Group

### **Gravity plate**

Gravity air-settling plate: Petrischale bzw. Agar-Platte auf welcher über einen frei definierbaren Zeitraum im Rahmen der Gravitationskraft Pilzsporen landen, wodurch eine durchschnittliche Sporenkonzentration pro Zeiteinheit gemessen werden kann

### **HEPA**

„High Efficiency Particulate Air“. Luftfiltersystem in Gebäuden zur Absorbierung von Krankheitserregern

Glossar

### **Hyphen**

Sie sind die fadenförmigen Zellen des Pilzes, die sich durch Zellteilung und Wachstum ausbreiten und dadurch das Myzel bilden

### **IA**

Invasive Aspergillose

### **Inzidenz**

Die Anzahl von Neuerkrankungen innerhalb einer Personengruppe und eines bestimmten Zeitraums

### **IPA**

Invasive Pulmonale Aspergillose

### **KBE**

Koloniebildende Einheit. Pilzspore die über die Luft übertragen auf einen Nährboden gelangt und dort durch erfolgreiche Reifung den Ursprung einer neuen Absiedelung des Pilzes bilden kann

### **Kolonie**

S. KBE

### **Konidien**

Die Konidien, auch Konidiosporen genannt, sind die Ausbreitungsorgane (Nebenfruchtform) des Aspergillus. Sie werden von den Konidiophoren an die Luft abgegeben, und können an anderer Stelle in nährstoffreicher Umgebung reifen, keimen und neue Hyphen bilden

### **Konidiophoren**

Hyphenzelle, die an der Oberfläche des Myzels gebildet wird um die Konidien (Sporen) zu produzieren

## Glossar

### **Luftkeimsammler**

Durch eine Saugvorrichtung gekennzeichnetes Gerät, bei dem eine definierte Menge Luft auf einen Nährboden geleitet wird

### **Myzel**

Die Gesamtheit aller Hyphen, den sichtbaren Fruchtkörper des Pilzes beschreibend

### **Neutropenie**

Verminderung der neutrophilen Granulozyten im Blut unter 1000 Zellen pro Mikroliter. Bei Verminderung auf unter 500 pro Mikroliter spricht man von einer schweren Form der Neutropenie

### **Spp.**

Species pluralis steht in der Biologie für mehrere zu nennende Arten als Zusatz hinter dem Gattungsnamen. Zusammen ergeben Gattungsname und Artenzusatz und Gattung den eindeutigen Artnamen (lat Species)

### 3 Einleitung

*Aspergillus*-Sporen (Konidien), die vermehrungsfähigen Bestandteile der Schimmelpilze, werden täglich vom Menschen eingeatmet [1]. In der Außenluft von Städten und im Rahmen von organischen Zersetzungsprozessen wie z.B. in Heuballen auf dem Land sind sie nachweisbar [2]. Auch im Innenraum von Gebäuden und im Wasser können sie gefunden werden [3]. In einer umfassenden Arbeit, bei der 250 internationale Studien zusammengefasst wurden, konnten *Aspergillus* spp. in allen untersuchten Bereichen des Planeten gefunden werden und sind daher wahrscheinlich ubiquitär auf der Erde vorhanden [4].

Die Konidien gelangen beim Einatmen aufgrund ihrer geringen Größe bis in die Alveolen der Lunge [5] und werden im Normalfall von den Zellen eines kompetenten Immunsystems erfolgreich eliminiert, ohne Schaden anrichten zu können. Verschiedene Abwehrzellen, wie spezifische Epithelzellen, neutrophile Granulozyten und Alveolarmakrophagen, sorgen für eine ständige Beseitigung pathogener Erreger [6, 7]. Nach dem aktuellen medizinischen Wissensstand geht man davon aus, dass die eingeatmeten Konidien erst bei starker Schwächung der körpereigenen Abwehrzellen über eine längere Zeit auskeimen können und ein Geflecht aus Hyphen produzieren, welches invasiv wachsend in das umgebende Gewebe eindringt [8]. Neben dem Wachstum in der Lunge, das mit der klassischen Pilzpneumonie einhergeht, kann es auch zu einer Ausbreitung im ganzen Körper kommen. Je weiter sich das Pilzwachstum ausbreitet, desto geringer sind die Überlebenschancen für den betroffenen Patienten [9].

#### 3.1 Epidemiologie der IA

Invasive Aspergillosen (IA) sind eine häufige Ursache von Morbidität und hoher Mortalität bei immunsupprimierten Patienten. In einer Studie aus dem Jahr 1997 wurde bei 158 von 2496 Knochenmarkstransplantierten Patienten eine IA diagnostiziert (10,1%), wobei nur 8 der Patienten mit IA die ersten 6 Monate nach der Diagnosestellung überlebten [10]. Vor Zulassung der heutigen hochwirksamen Antimykotika errechnete man in einer multizentrischen Studie der „Mycoses Study

## Einleitung

Group“ eine Mortalität der IA von 62% innerhalb einer Zeit von 3 Monaten nach Diagnosestellung [11]. Die Ergebnisse einer weiteren Studie zeigten, dass von 297 Patienten mit hämatologischer Stammzelltransplantation und Erkrankung an IA ein Jahr nach der Diagnose nur noch 20% überlebt hatten [12]. Die Mortalität der Invasiven Pulmonalen Aspergillose (IPA) lag in einer Studie mit 87 Patienten mit hämatologischen Neoplasien bei 69%, wobei die 64 betroffenen Patienten höchstwahrscheinlich an den direkten Folgen der IPA verstarben [13]. In Rahmen einer weiteren Studie aus dem Jahr 2003 wurde berechnet, dass die Mortalität der IPA nach durchgeführter Stammzelltransplantation ein Jahr nach der Diagnose 80% betrug [14]. Auch in zeitlich aktuelleren Studien liegt die Mortalität der IA auf hohem Niveau. In einer Studie mit 642 Patienten, die eine IA im Rahmen von Stammzell- und Organtransplantationen erlangt hatten, lag die Mortalität an IA nach Ausschluss anderer Todesursachen bei 49,4% zum Ende des Überwachungszeitraumes [15]. Insgesamt scheint die Mortalität bei Erkrankung an IA bei 63 - 92% zu liegen [16]. Trotz in den letzten Jahren stetig verbesserter Therapie und Prophylaxe ist sie damit weiterhin hoch, was bei Evaluation einer Therapie der IA mittels Liposomalem Amphotericin B gezeigt wurde. Obwohl die Standarddosis von 3mg/kgKG in der Interventionsgruppe auf 10mg/kgKG erweitert wurde, konnte keine Verbesserung der Überlebenschancen, sondern vielmehr zahlreichere und schwerwiegende unerwünschte Ereignisse festgestellt werden [17].

Die Inzidenz invasiver Aspergillosen hat in den letzten Jahrzehnten zugenommen. In einer im Jahr 2006 publizierten Studie von Chamilos et al. stieg der Anteil an IA, die bei Autopsien zwischen 1989 und 2003 durchgeführt wurden, von 19 auf 25% [18]. A. H. Groll et al. zeigten in einer Studie auf der Basis von Autopsien, die über einen Zeitraum von 14 Jahren durchgeführt wurde, einen Anstieg der von IA betroffenen Patienten von 17% auf 60%, [19]. In einer Studie zu Pilzinfektionen bei hämatologischen Stammzelltransplantationen wurde in der Zeit von 1990 bis 1998 ein Zuwachs der Inzidenz invasiver Aspergillosen von 4% auf 12% beobachtet [12]. Je nach Grunderkrankung und Risikofaktoren scheint die Inzidenz zwischen 5% und 26% zu liegen, was durch Zusammenfassung mehrerer Studien gezeigt werden konnte [20].

### **3.2 Gründe für die steigende Inzidenz der IA**

Die Gründe für die steigende Inzidenz der IA sind noch nicht abschließend verstanden. Es gibt verschiedene Ansätze um dies zu erklären. Der Gebrauch von Chemotherapeutika und weiteren immunsupprimierenden Medikamenten wie Kortison zur Behandlung verschiedenster Krankheitsbilder hat sich ausgedehnt, wodurch mehr Patienten vom Risiko einer IA bedroht werden [18]. Die allogene, hämatopoietische Stammzelltransplantation und die dabei erforderliche Immunsuppression ist mittlerweile eine Routinemaßnahme bei der Therapie von zahlreichen hämatologischen Erkrankungen geworden und wird immer häufiger durchgeführt. Neue Therapiestrategien, die eine Hemmung der B- und T-Zell-vermittelten Immunität nutzen, haben die Entstehung neuer Risikogruppen zur Folge, die auch Patienten mit niedriggradig malignen, hämatologischen Erkrankungen einschließen [21]. Das verbesserte Überleben von ehemals verheerenden bakteriellen Infektionen trägt möglicherweise dazu bei, dass Patienten mittlerweile lange genug überleben, um eine IA entwickeln zu können [22]. Die erhöhte Sensibilisierung für IA unter Medizinern ist wahrscheinlich zusätzlich bei den steigenden Zahlen zu berücksichtigen, da die Erkrankung häufiger und zuverlässiger erkannt wird und verbesserte Testverfahren genutzt werden können [21].

### **3.3 Risikofaktoren für IA**

Auf der Basis von mehreren Studien konnte reproduzierbar festgestellt werden, dass der bedeutendste Risikofaktor für die IA der Abfall der neutrophilen Granulozyten (Neutropenie) im Blut des Patienten ist. Besonders die schwere Neutropenie mit einer Anzahl der neutrophilen Granulozyten von unter 500/ $\mu$ l scheint prädisponierend zu wirken und es konnte beobachtet werden, dass die Wahrscheinlichkeit einer Infektion mit der Dauer einer Neutropeniephase steigt [23-25]. In einer Studie von Schwartz et al. zeigte sich, dass bis zu 70% der Patienten mit hämatologischen Neoplasien nach einer Neutropeniephase von bis zu 30 Tagen eine IA entwickelt hatten [26]. Von einer Neutropenie betroffen sind besonders Patienten, die an akuten Leukämien, myelodysplastischem Syndrom oder aplastischer Anämie leiden und Patienten, die einer Knochenmarkstransplantation unterzogen werden [9]. Die Neutropenie entwickelt sich entweder aufgrund der Grunderkrankung, die mit dem Rückgang der

## Einleitung

funktionierenden Granulozyten einhergehen kann, oder aufgrund der zu therapeutischen Zwecken durchgeführten Chemotherapie [18]. Unter anderem wird zur Immunsuppression und Entzündungshemmung neben den klassischen Chemotherapeutika auch das Medikament Kortison verabreicht, welches in einer Studie von Baddley et al. 2001 als unabhängiger Risikofaktor für Patienten mit allogener Stammzelltransplantation für die Erkrankung an einer IA gefunden wurde [27]. Dabei konnte beobachtet werden, dass das Risiko mit der Dauer der Kortisontherapie und der Dosierungshöhe ansteigt. In einer Studie von Cordonnier konnte außerdem gezeigt werden, dass einige Patientengruppen auch nach einer überwundenen Neutropeniephase noch monatelang zu Hochrisikogruppen gehören können, auch wenn die Ursache der Neutropenie bereits behoben ist und der Körper sich von den Chemotherapien erholen soll [28]. Auch bei Patienten die eine Organtransplantation erhalten, besteht das Risiko an IA zu erkranken, da Immunsuppressiva angewendet werden, um den Körper an einer Abstoßung des Transplantates zu hindern. Laut einer Studie von Morgan et al. und einer Studie von Minari et al. ist das Risiko bei Empfängern von Lungen am höchsten, gefolgt von Herz- und Lebertransplantationen [29, 30]. Zu einer weiteren Risikogruppe werden Patienten mit fortgeschrittener AIDS-Erkrankung gezählt [31]. Die Therapie mit antibakteriellen Breitspektrum-Antibiotika ist ein möglicher Risikofaktor für die Entwicklung einer IA [32], da durch die Abtötung der bakteriellen Flora auf Schleimhäuten das opportunistische Wachstum von Pilzen erleichtert wird [33]. Als weiterer Risikofaktor konnte das Alter der Patienten identifiziert werden, wobei in einer retrospektiven Studie mit Einschluss von 1682 Empfängern von hämatopoietischen Stammzellen die Wahrscheinlichkeit einer Erkrankung an IA mit steigendem Alter anstieg [12]. Auch einer stattgehabten, überwundenen IA in der Krankengeschichte eines Patienten wird ein erhöhtes Risiko zugeordnet, wenn nochmals eine Chemotherapie mit Immunsuppression durchgeführt wird [25].

### **3.4 Pathogenese der IA**

Es wurde in mehreren Studien beobachtet, dass ungefähr 90% der IA die Lunge betreffen oder von ihr ausgehend den Körper befallen [34, 35]. Ein Großteil aller Menschen scheint auf den Epithelien der Atemwege mit Pilzen und Pilzbestandteilen



## Einleitung

besiedelt zu sein, ohne dabei Zeichen einer Infektion zu zeigen. Bei einer Untersuchung von Lungengewebe, nach chirurgischen Eingriffen und im Rahmen von Autopsien, wurde bei 62,2% des untersuchten Materials eine Besiedelung mit *Aspergillus* spp. gefunden, wobei vor dem Tod der Patienten keine Zeichen von Infektion vorhanden waren [36]. In einer großen, multizentrischen Studie aus den USA waren 1209 von 1477 (81,58%) der Patienten mit *Aspergillus* spp. besiedelt, wobei der Nachweis aus verschiedenen Körperflüssigkeiten und Organen erbracht wurde [11]. Es konnte dabei auch gesehen werden, dass bei Risikopatienten mit Immunsuppression die Besiedelung mit einem höheren Risiko einhergeht an IA zu erkranken. Dabei betrug das Risiko bei positiver Kultur an einer IA zu erkranken bei Patienten mit hämatologischen Neoplasien, Neutropenie oder allogener Knochenmarks-Transplantation 50%, 64% und 64%. Eine weitere Studie mit Risikopatienten zeigte ein ähnliches Ergebnis, wobei *Aspergillus* spp. aus den unteren Atemwegen bei Patienten mit IA in 55% der Fälle in Kulturen nachweisbar war, während dies bei nicht infizierten Risikopatienten nur in 24% der Fall war [37].

Wenn *Aspergillus*-Konidien eingeatmet werden, treffen sie bei einem normal funktionierenden Immunsystem zuerst auf die Epithelien der Schleimhäute des Respirationstrakts, welche im Rahmen der mukoziliären Clearance eine mechanische Barriere darstellen und die Konidien abtransportieren. Dabei gibt es zwei Arten von Zellen, die an diesem Vorgang beteiligt sind, die sekretorischen, schleimproduzierenden Zellen und die kinezilientragenden Zellen des Flimmerepithels. Die Becherzellen sezernieren den Schleim, der sich als oberste Schicht auf die Zellen legt und die Konidien abfängt. Der oralwärts gerichtete, stetige Flimmerschlag der Kinozilien bewegt die im Schleim gebundenen Pilzbestandteile aus dem Respirationstrakt heraus, sodass sie entweder abgehustet oder geschluckt werden können [38]. Konidien, die trotzdem tiefer eingeatmet werden bzw. durch ein insuffizientes Transportsystem nicht aus den Atemwegen entfernt werden können, treffen wahrscheinlich auf mindestens zwei unterschiedliche Barrieren des Immunsystems, die unabhängig voneinander arbeiten. Diese Mechanismen konnten in der Grundlagenforschung an Mäusen herausgefunden werden, wobei die Tiere in gesundem und in immunsupprimierten Zustand den Konidien von *A. fumigatus* ausgesetzt wurden. Dabei konnte beobachtet werden, dass Makrophagen die

## Einleitung

Konidien aufnehmen und zersetzen [6]. Die Verdauung der Pilzbestandteile erfolgt dabei durch Enzyme, wobei die NADPH-Oxidase eine wichtige zu spielen scheint. Nachgewiesen werden konnte dies in einer Studie, bei der alle Konidien in vitro reifen konnten, wenn die NADPH-Oxidase gehemmt wurde [7].

Wenn Konidien diese Hürde überwinden, was teilweise durch Hemmung der Makrophagen mittels Kortison simuliert werden konnte, keimen sie und wachsen zu Hyphen und einem Myzel heran. Es konnte dabei mikroskopisch gesehen werden, dass Makrophagen nicht groß genug waren, um die Pilzbestandteile in diesem Stadium aufnehmen zu können und beim Phagozytoseversuch von den Hyphen durchstoßen wurden [6]. In diesem Fall müssen die Pilze wohl extrazellulär abgetötet werden und das zweite Abwehrsystem tritt in Kraft. Neutrophile Granulozyten lagerten sich an den Zellwänden der Hyphen an und lösten in vitro von außen die Zerstörung und den Zelltod der Pilze aus, was in einer Studie aus dem Jahr 1978 gesehen wurde [39]. Die neutrophilen Granulozyten scheinen dabei beispielsweise auf lytische Enzyme wie die Myeloperoxidase (MPO) zurückzugreifen, was gesehen wurde, als man in vitro keinen Schaden an Hyphen feststellen konnte, sobald diese mit neutrophilen Granulozyten mit MPO-Mangel in Kontakt kamen [40]. Erst, wenn neutrophile Granulozyten in ihrer Funktion blockiert sind, was bei Mäusen mittels Chlormethin und Kortison vermittelt wurde, scheint das invasive Wachstum in der Lunge mit Infiltration von Blutgefäßen, Gewebeinfarkten und möglicher Ausbreitung im ganzen Körper, möglich zu sein [6]. Die neutrophilen Granulozyten scheinen in der Abwehr einer IA der wichtigste Baustein des Immunsystems zu sein, was in einer Studie mit Patienten, die an akuter Leukämie erkrankt waren, gezeigt werden konnte. Eine 3 Wochen und darüber hinaus anhaltende Neutropenie war von den beobachteten Risikofaktoren der gefährlichste für die Entwicklung einer IA [23].

### **3.5 Virulenzfaktoren der *Aspergillus* spp.**

Der Pilz verhält sich bei der Infektion wahrscheinlich nicht passiv, denn *Aspergillus* spp. scheinen über toxische Moleküle, Enzyme und Mediatoren zu verfügen, die das Immunsystem an bestimmten Stellen außer Kraft setzen, hemmen oder zumindest mit ihm interagieren können, um so für eine bessere Ausbreitung im immunsupprimierten

## Einleitung

Wirt zu sorgen. Beispielsweise wird davon ausgegangen, dass die Konidien Rezeptoren besitzen, mit denen sie an Fibrinogen D [41] und Laminin [42] der Wirtszellen binden können, um im menschlichen Körper bzw. an den Epithelien der Lunge anzuhafte. Einige *Aspergillus* spp. scheinen Teile des Immunsystems durch Bildung von Gliotoxin außer Kraft setzen zu können. Bei einer Konzentration von 20-50ng/ml konnte gesehen werden, dass die Phagozytose durch Makrophagen verhindert wurde und bei 100ng/ml die Aktivität zytotoxischer T-Zellen gehemmt wurde [43]. Verschiedene *Aspergillus* spp. produzieren Proteasen wie z.B. die Elastase, die Gewebe zerstören kann. Dass dies möglicherweise eine Rolle bei der Entstehung von IA spielt, konnte an immunsupprimierten Mäusen gesehen werden, die proteasenbildenden Stämmen von *Aspergillus fumigatus* ausgesetzt wurden. Dabei starben die Mäuse nach 2-4 Tagen, bei fortgeschrittener Nekrose von Lungengewebe und Wachstum von Myzel. Immunsupprimierte Mäuse, die *Aspergillus fumigatus*-Stämmen ohne Elastasebildung ausgesetzt waren, zeigten lediglich einige gereifte Sporen ohne Zerstörung der Alveolen [44]. Resistenzen der Pilze gegen antimykotische Medikamente scheinen eine steigende Rolle in der Behandlung der IA zu spielen. Es wurden Stämme von *A. fumigatus* mit einer Resistenz gegen das Antimykotikum Voriconazol in der Luft im Umfeld von Patienten mit IA gefunden, bei denen die Therapie mit diesem Antimykotikum fehlschlug [45]. Resistenzen gegen das Antimykotikum Amphotericin B wurden bei Stämmen von *A. terreus* nachgewiesen [46]. Es sind weniger nachgewiesene Infektionen durch *A. terreus* bekannt. In einer Studie mit 133 Patienten waren es 13 (9,8%). Kam es jedoch zu einer Infektion mit einem resistenten *A. terreus*-Stamm, bestand die Gefahr eines schlechteren Resultats als bei Infektion mit anderen *Aspergillus* spp., wenn mit Amphotericin B behandelt wurde [47]. *Aspergillus* spp. wachsen bevorzugt bei 25-40°C und haben dadurch wohl die nötigen Eigenschaften, um unter den Voraussetzungen wachsen zu können, die im menschlichen Körper gegeben sind [4]. *A. fumigatus* zeichnet sich im Vergleich zu den anderen pathogenen *Aspergillus* spp. durch sein schnelles Wachstum bei Körpertemperaturen aus. Er wächst am schnellsten bei ca. 37°C und bei dieser Temperatur schneller als die anderen pathogenen *Aspergillus* spp. Dieses Phänomen wurde in vitro an den Isolaten vier verschiedener *Aspergillus* spp. (*A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* und *A. oryzae*) von Tony T. C. Ng et al. im Jahr 1994 beschrieben [48]. Die Konidien der *Aspergillus* spp. sind sehr klein, sodass sie tief in die Lunge

## Einleitung

eingeatmet werden. Beispielsweise sind die Konidien von *A. fumigatus* mit einer Größe von 2,5 – 3 µm klein genug, um bis in die Alveolen zu gelangen [5].

### 3.6 Relevante *Aspergillus* spp.

Taxonomisch wird die Gattung *Aspergillus* in unterschiedliche Spezies mit deren Untergattungen unterteilt. Traditionell wurde dies zunächst anhand phänotypischer Merkmale vorgenommen, während heute zusätzlich genetische Merkmale hinzugezogen werden [49, 50]. Aktuell werden von verschiedenen Autoren ungefähr 200 verschiedene *Aspergillus*-Spezies in acht klinisch relevante Untergattungen eingeteilt, wobei darunter 40 Spezies nachweisbar Infektionen verursachen [51]. Den Großteil der Infektionen beim Menschen machen davon jedoch nur vier bis fünf Spezies aus. *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus*, *A. niger* und *A. nidulans* sind die häufigsten Vertreter, die bei Patienten mit IA in einer Studie des „Fred Hutchinson Cancer Research Center“ zwischen 1993 und 1998 isoliert werden konnten [12]. *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus*, *A. niger* sind gleichzeitig die in verschiedenen Studien regelmäßig in Erde und Abfällen nachweisbaren *Aspergillus* spp. und scheinen daher sehr häufig vorzukommen [4]. Besonders *A. fumigatus* ist gekennzeichnet durch sein ubiquitäres Vorkommen [52] und gehört wahrscheinlich zu den Pilzen mit der größten Verteilungsbreite auf der ganzen Welt [4].

In den meisten Studien wird *A. fumigatus* als wichtigster Erreger unter den verschiedenen *Aspergillus* spp. genannt und scheint verantwortlich für die meisten IA zu sein. Wurde *A. fumigatus* laut älterer Literatur für 90% der IA verantwortlich gemacht [20], scheint diese Einschätzung heute nicht mehr zu gelten. Eine Kohortenstudie die in Italien zwischen 1999 und 2003 durchgeführt wurde, kam zu dem Ergebnis, dass 53% der Infektionen mit *Aspergillus* spp. durch *A. fumigatus* erfolgten [53]. In einer 2009 publizierten Studie mit 218 an IA erkrankten Transplantationspatienten konnte mehrheitlich *A. fumigatus* in 147 (67.4%) Fällen isoliert werden [54]. Eine relativ aktuelle Studie mit 642 Transplantationspatienten (S. oben) kam zu dem Ergebnis, dass *A. fumigatus* für 49,8% der IA verantwortlich war [15].

### **3.7 Klinische Zeichen der IA**

Nur wenige klinische Zeichen deuten eine IA an und eindeutige Symptome werden häufig erst spät erkannt bzw. treten erst spät auf. In einer Studie von Subira et al. wurde eine IA bei 22 Patienten durch Autopsie nachgewiesen, während zu Lebzeiten nur bei zweien dieser Patienten die IA nach den allgemein gängigen diagnostischen Kriterien gesichert werden konnte [55]. Einige Patienten zeigen zu Beginn der Erkrankung an IA keine Symptome, die der IA zugeordnet werden können. In einer Studie von Weiland et al. hatten nur 34% der 25 Patienten mit postmortal nachgewiesener IPA pulmonale Symptome und Zeichen einer Aspergillose [56]. Young zeigte an 98 Fällen, bei denen die IA im Rahmen der Autopsie gesehen wurde, dass die häufigsten beobachteten Symptome Husten, Dyspnoe, Produktion von Sputum und Fieber zu sein scheinen. Teilweise konnten diese unspezifischen Symptome erst bei fortgeschrittener Erkrankung erkannt werden, waren mit den Symptomen einer Bronchopneumonie vergleichbar und dadurch leicht verwechselbar [57]. In einer Studie von Gerson et al. klagten alle 15 Studienteilnehmer, die im Verlauf eine IPA entwickelten, über Brustschmerz und 14 (93%) hatten Husten. Auch konnten bei allen erkrankten bei der Auskultation Rasselgeräusche gehört werden. Alle Erkrankten hatten im Verlauf des stationären Aufenthaltes Fieberepisoden, jedoch kam dies auch bei 91% der 45 Kontrollfälle vor. Auffällige Röntgenbilder des Thorax zeigten sich bei den an IPA erkrankten Patienten sogar signifikant später als bei den Kontrollpatienten der Studie [8]. Im Verlauf der Erkrankung kann es zu Hämoptyse kommen, bedingt durch die Invasion von Blutgefäßen und der damit einhergehenden Instabilität der Gefäßwände [58]. Lange anhaltendes Fieber trotz antibakterieller Therapie kann bei Patienten mit Neutropenie ein Warnzeichen für IA sein. In einer Studie von Gerson et al. konnte gesehen werden, dass die Wahrscheinlichkeit einer Erkrankung an IA mit der Dauer der Körpertemperatur über 38°C stieg [8]. Die Gabe von Kortikosteroiden kann jedoch einen Temperaturanstieg unterdrücken. Ein fehlender Temperaturanstieg ist daher kein Entwarnungszeichen [59].

### **3.8 Diagnose der IA**

Da die fehlenden oder unspezifischen Symptome die Diagnose der IA erschweren, wurde die Diagnose in vielen Fällen erst nach dem Tode während einer Autopsie

## Einleitung

gesichert. Angesichts der hohen Mortalität sind eine frühe Diagnosestellung und die entsprechende Therapie jedoch von großer prognostischer Bedeutung [34]. Die gesicherte Diagnose einer IA mittels des aktuellen Goldstandards der Diagnosekriterien gelingt selten, da sie nur durch eine positive kulturelle oder histologische Untersuchung aus einer normalerweise sterilen Umgebung im Körper des Patienten zu erbringen ist. Bei Anfertigung von Kulturen aus bronchoalveolärer Lavage-Flüssigkeit oder Blutentnahmen wird das Wachstum von *Aspergillus* spp. trotz einer möglichen Infektion nur begrenzt gesehen [55]. Mulabecirovic et al. konnten den Nutzen von transbronchialen Lungenbiopsien zur Diagnose von IA beobachten [60]. Jedoch ist die Durchführung von transbronchialen Lungenbiopsien zur Anfertigung einer histologischen Untersuchung bei Hochrisikopatienten mit Verdacht auf IA aktuell kontraindiziert, wenn ein hohes Blutungsrisiko herrscht und weil bei der Durchführung die Gefahr eines iatrogenen Pneumothorax besteht. [61]. Die Diagnose bzw. eine Therapieentscheidung basiert daher meist auf einer Kombination aus indirekten und nichtinvasiven Methoden. Die "European Organization for Research and Treatment of Cancer/ Invasive Fungal Infections Cooperative Group" (EORTC) und das "National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group" (MSG) hat in gemeinsamem Konsens Kriterien erarbeitet, um wahrscheinliche und mögliche IA zu klassifizieren. Der Grad der Wahrscheinlichkeit wurde dabei in „proven“ (bewiesen), „probable“ (wahrscheinlich) und „possible“ (möglich) unterteilt. Durch diese Einteilung soll der Patient klar einer der Gruppen zugeordnet werden und es entsteht die Möglichkeit internationaler Vergleichbarkeit von Studien und Behandlungsstrategien [62]. Zu den Kriterien, die für eine IA sprechen, gehören verschiedene Krankheitsbilder wie Tracheobronchitis oder nach außen hin sichtbare Infektionszeichen und besonders das Vorhandensein von Hinweisen aus der Bildgebung [63]. Anhand konventioneller Röntgenbilder des Thorax konnten pilzverdächtige Infiltrate nicht zuverlässig von pneumonischen Infiltraten abgegrenzt werden und zeigten oft trotz Infektion keine Auffälligkeiten [64]. Die Computertomographie des Thorax scheint die entscheidende bildgebende Maßnahme zu sein, ist sehr hilfreich für die möglichst frühe Diagnosestellung einer IA und die umgehende Durchführung wird bei verdächtigen klinischen Zeichen empfohlen [65]. Die frühesten und am häufigsten vorkommenden Zeichen, die im CT auf eine IA hindeuten können, sind Knoten [66]. Die wichtigsten CT-Befunde, die in einer Studie von Caillot mit hoher Sensitivität für eine IA sprachen,

## Einleitung

sind das „Air-crescent-Zeichen“ und das „Halo-Zeichen“ [67]. Die Magnetresonanztomographie ist in der Diagnostik der IA wahrscheinlich eine ebenbürtige Alternative zur Computertomographie [68], hat jedoch noch keinen Einzug in den klinischen Alltag gefunden und wurde bisher noch nicht in internationalen Konsensusdefinitionen invasiver Pilzkrankungen einbezogen [62]. Als weitere hilfreiche Kriterien bei der Diagnose der IA dienen das Galactomannan- und Beta-D-Glucan-Antigen, welche in Serum und Bronchialflüssigkeit der Patienten nachgewiesen werden konnten [21, 69]. Galactomannan und Beta-D-Glucan wurden als Zellwand-Bestandteile bzw. extrazelluläre Antigene des *Aspergillus*-Myzels beschrieben [70]. Ein Nachteil der Beta-D-Glucan-Bestimmung bei der Diagnose der IA scheint zu sein, dass ein positives Testergebnis nicht eindeutig auf eine Infektion durch *Aspergillus* spp. hinweist, da es auch bei Patienten nachgewiesen werden konnte, die an invasivem Wachstum durch verschiedene andere Pilze erkrankt waren [71, 72]. Die Untersuchung von Galactomannan-Antigen im Serum hatte in einer Studie eine Sensitivität von 90% und eine Spezifität von 98% [73], während die Sensitivität der Bestimmung von Galactomannan-Antigen aus der Broncho-Alveolären Lavage (BAL) bei 93% und die Spezifität bei 86% lag [74]. Das Galactomannan-Antigen konnte häufiger aus der BAL als aus dem Serum von Risikopatienten nachgewiesen werden. Daher wurde die Anfertigung von BAL als vorteilhafter zur Diagnose einer IA gegenüber dem Antigen-Nachweis aus dem Serum eingestuft [75]. Problematisch bei der Galactomannan-Antigenbestimmung sind mögliche falsch-positive und falsch-negative Untersuchungsergebnisse. Falsch-negative Laborergebnisse sind bei gleichzeitigem therapeutischen oder prophylaktischen Gebrauch von Antimykotika zu beobachten, wodurch der Nachweis von Galactomannan-Antigen verhindert und eine mögliche IA verschleiert werden kann [76]. Falsch-positive Laborergebnisse können wahrscheinlich durch Kreuzreaktionen bei Gebrauch von Piperazillin-Tazobactam und anderen Betalactam-Antibiotika entstehen [77]. Kreuzreaktionen scheinen auch bei Anwesenheit einiger Pilze vorzukommen, deren Zellwandbestandteile Ähnlichkeiten mit dem Galactomannan-Antigen haben [78]. Gründe für falsch-positive Galactomannan-Tests aus dem Serum wurden auch bei der Infusion von Plasma-Lyte [79] und anderen intravenös verabreichten Gluconat-haltigen Flüssigkeiten beschrieben [80].

### 3.9 Stationäre Prophylaxe und Prävention

Da der zur Erkrankung an einer IA führende Infektionsweg mit dem Einatmen der Konidien in die Lunge zu beginnen scheint, wird die Expositionsprophylaxe gegenüber dem Erreger als wichtige Präventionsmaßnahme gesehen und wird auf Stationen mit Risikopatienten durch Verwendung von speziellen Luftfiltern gewährleistet. Durch Einbau von „High Efficiency Particulate Air“ - Luftfiltern (HEPA-Filtern) kann die Konzentration von Konidien im Innenraum von Gebäuden wahrscheinlich deutlich erniedrigt werden. In einer Studie von Blum et al. wurde bei eingebauter HEPA-Filterung eine durchschnittliche Konidien-Konzentration von  $0.037 \text{ CFU/m}^3$  gemessen, während Außenluftmessungen eine Konzentration von  $24,3 \text{ CFU/m}^3$  ergaben [81]. Nach dem Einbau einer Filteranlage im Rambam Medical Center Haifa wurde festgestellt, dass 29% der Patienten mit akuten Leukämien und Neutropenie an IPA erkrankten, wenn sie aus Platzmangel nicht auf der geschützten Station therapiert wurden, während kein Patient innerhalb des Überwachungszeitraums von 3 Jahren auf der geschützten Station erkrankte [82]. Bei einer Untersuchung durch Cornet et al. kam es während einer dysfunktionalen Phase des Filtersystems durch Umbaumaßnahmen und Renovierung prompt zu einer erhöhten Inzidenz invasiver Aspergillosen, was möglicherweise Hinweise darauf gibt, dass es bei dysfunktionalen Filteranlagen zu vermehrtem Auftreten von IA kommt [83]. Einige Autoren nehmen an, dass möglicherweise schon geringe *Aspergillus*-Konzentrationen von über  $1 \text{ KBE/m}^3$  (Koloniebildende Einheit pro Kubikmeter) in der Atemluft für immunsupprimierte Patienten ein erhöhtes Risiko darstellen, an einer IA zu erkranken. Diese Hypothesen konnten jedoch bisher nicht durch kontrollierte Studien bestätigt werden [84]. Um die Sporenkonzentration im stationären Umfeld gering zu halten, werden zusätzlich zur Luftfilterung verschiedene Maßnahmen empfohlen. Topfpflanzen und Blumen sollten nicht in Patientenzimmern stehen, denn es gibt Hinweise darauf, dass Pflanzen eine Gefahr für Risikopatienten darstellen, da sie ein Reservoir für Pilzbestandteile sind [85]. Es wird empfohlen, Umbaumaßnahmen und Renovierungsarbeiten auf Stationen mit Immunsupprimierten Patienten zu vermeiden, da sie mit Staubaufwirbelung einhergehen und wahrscheinlich eine Gefahr für immunsupprimierte Patienten darstellen. Während Umbaumaßnahmen des Krankenhauses konnten Opal et al. einen Anstieg der Sporenkonzentration auf der Station mit Immunsupprimierten Patienten beobachten, was mit dem Anstieg der Erkrankungen an IA einherging [86].



## Einleitung

Die Reinigung von Zimmern und Fluren durch trockenes Staubsaugen wird nicht empfohlen, denn dadurch werden *Aspergillus*-Konidien aufgewirbelt und verteilt, sodass ein Einatmen der pathogenen Pilzbestandteile wahrscheinlich erleichtert wird. Nassreinigung wird dagegen als unbedenklich angesehen [87]. In Pfeffer und weiteren Gewürzen konnten Bestandteile von *A. fumigatus* nachgewiesen werden [88], weshalb empfohlen wird, das Essen immunsupprimierter Patienten nicht mit unsterilisierten Gewürzen zu versehen [89].

### **3.10 Nosokomiale Infektion oder im häuslichen Umfeld erworben**

Verschiedene Hypothesen existieren, ob die IA hauptsächlich während des stationären Aufenthaltes oder im häuslichen Umfeld erworben wird. Einerseits wird das stationäre Umfeld als wichtigster Infektionsort beschrieben, wobei entweder die Inhalation der Erreger aus der stationären Atemluft oder der direkte Kontakt des Erregers mit menschlichem Gewebe auslösend ist [90]. Blum et al. gehen hingegen davon aus, dass der größte Teil der IA zuhause erworben wird, wobei beobachtet wurde, dass 88% der Studienteilnehmer mit IA mehr als eine Woche nach Entlassung aus dem stationären Umfeld erkrankten. Es wird dabei angenommen, dass häusliche Risikofaktoren für die Infektion verantwortlich sind, welche anhand eines Patienten-Fragebogens bei den erkrankten Patienten aufgedeckt wurden [91]. Ein weiterer Grund für die Annahme des Erwerbs der IA im häuslichen Umfeld ist die Beobachtung, dass bei einem Großteil der Risikopatienten schon vor der Aufnahme ins Krankenhaus eine Besiedelung mit den Erregern nachweisbar ist. Dabei wird angenommen, dass die Erreger in den Atemwegen persistieren und möglicherweise im stationären Umfeld ein invasives Wachstum beginnen, wenn es zur Immunsuppression kommt [36].

### **3.11 Pilzquellen im häuslichen Umfeld immunsupprimierter Patienten**

Die Konzentration von Konidien in der Außenluft um häusliche Umgebungen ist möglicherweise von meteorologischen Umständen abhängig, jedoch scheint es schwierig, global geltende Zusammenhänge auszumachen. In Studien aus Spanien im Raum Madrid und aus den USA in den Städten Seattle und Houston konnte bei Wärme ein Anstieg und bei niedrigen Temperaturen ein Absinken gemessen werden

## Einleitung

[92, 93]. In einigen anderen Studien wurden zwar ebenfalls saisonal unterschiedlich hohe Pilzvorkommen gemessen, jedoch waren im Frühling und Sommer geringere Konzentrationen vorhanden, während im Herbst oder Winter das Maximum erreicht wurde [2, 92, 94-96]. Eine andere Studie konnte einen saisonalen Zusammenhang nur zum Teil bestätigen, wobei in zwei unterschiedlichen Klimazonen der USA (Texas und Washington) gemessen wurde und nur in einer der Zonen eine saisonabhängige Sporenkonzentration gefunden wurde [93]. Wind und Regen bewirken wohl eher ein Absinken der Sporenkonzentration [92]. In dicht bewohnten Umgebungen konnten höhere Konzentration luftübertragener Pilze gemessen werden, sodass Risikopatienten möglicherweise besonders in Städten mit den Erregern konfrontiert werden [92]. Pilzquellen im ländlichen Bereich konnten auf Landwirtschaft mit Pflanzen und Feldern, Farmtierhaltung und Düngemittel zurückgeführt werden [91]. Pflanzliche Abfälle in Form von Komposthaufen oder Heu- und Strohballen mit ihrer hohen Feuchtigkeit und selbstwärmenden Prozessen sorgten gerade auch in ländlichen Gegenden für punktuell außergewöhnlich hohe Konidienkonzentration [2]. Die Konzentration der Konidien konnte in der Außenluft in Abhängigkeit von der Klimazone unterschiedlich hoch gemessen werden, war dabei jedoch regelmäßig höher als in der dazugehörigen Innenraumluftmessung, unabhängig von der Jahreszeit. Ausnahmen konnten bei besonders aktiven Pilzquellen im Innenraum, wie sichtbarem Schimmel an Wänden, gefunden werden [94, 97].

Risikopatienten werden in Therapiepausen oder nach abgeschlossener stationärer Therapie regelmäßig in immunsupprimiertem Zustand nach Hause entlassen [91]. Im häuslichen Umfeld werden Vorkehrungen bisher nicht in dem Maße getroffen, wie es im stationären Umfeld der Fall ist und es gibt keine klaren Richtlinien für die Prävention invasiver Pilzinfektionen für Risikopatienten im häuslichen Umfeld [98]. Es wird als sehr wahrscheinlich angesehen, dass die Gefahr einer Erkrankung an IA bei Risikopatienten mit der Höhe der Konidienkonzentrationen in der Atemluft korreliert, was in einer Studie aus den USA bei Messungen der Sporenkonzentration in Seattle unter Beachtung der Neuerkrankungen von immunsupprimierten Patienten gezeigt werden konnte [93]. Es scheint daher wichtig, häusliche Risikofaktoren zu beachten und Quellen für Konzentrationserhöhungen von Pilzbestandteilen in der Luft auszumachen [98].

## Einleitung

Bei Messungen in alten Häusern konnten höhere Konidienkonzentrationen gemessen werden als bei neueren Bauwerken. Konidienkonzentrationen im Innenraum unterschiedlicher Gebäude waren dabei äußerst variabel, auch bei Häusern gleichen Typs und gleicher Bauart, wobei unterschiedliche Gewohnheiten der Bewohner in Bezug auf Reinigungsmaßnahmen, Renovierungsarbeiten, Lüftungsverhalten und Nutzungsfrequenz von Räumlichkeiten als mögliche Gründe ausgemacht wurden [97]. Im Wohnbereich erhöhen Topfpflanzen und Bioabfälle die Konzentration der *Aspergillus*-Konidien [91]. Teppiche konnten als Reservoir für *Aspergillus*-Konidien ausgemacht werden und bei ihrer Reinigung werden diese sehr wahrscheinlich freigesetzt [99]. In Kellern wird *Aspergillus* spp. für gewöhnlich gefunden [100] und auch der Hausstaub ist ein Reservoir für Pilze [101]. Da der Mensch viele Stunden in seinem Bett verbringt, kommt er wohl sehr lange und ausgiebig in Kontakt mit den großen Mengen an Pilzbestandteilen, die in der Bettwäsche und besonders in Kopfkissen gefunden werden konnten [102]. Als mögliche Konidienquelle wurden Wasserhähne und Duschköpfe identifiziert. Badezimmer zeigen eine höhere Konidienkonzentration als andere Räume [3]. Als Beispiel für einen besonderen persönlichen Risikofaktor wurde das Rauchen von Marihuana identifiziert, denn es kann bei ungefilterter Ausführung zu direktem Einatmen von *Aspergillus*-Bestandteilen kommen [103-105].

Trotz der Identifikation vieler Risikoquellen bleiben wichtige Fragen offen. Es ist unklar, welchen Einfluss maximale Konzentration und Dauer einer Exposition durch Pilzbestandteile auf die Erkrankungswahrscheinlichkeit haben [91, 98]. Es konnten bisher keine Grenzwerte für Konzentrationen von luftübertragenen Pilzen festgelegt werden, da bisherige Studien ohne sicheren Zusammenhang zwischen gemessenen Pilzvorkommen und nachweisbaren Gesundheitsschäden durchgeführt wurden [106]. Es ist nicht bekannt, inwiefern Umweltfaktoren, Wetter, Jahreszeiten bei der Prophylaxe mit einberechnet werden müssen [98]. Es gibt Hinweise darauf, dass es im häuslichen Umfeld immunsupprimierter Patienten mit IA höhere Vorkommen von *Aspergillus* spp. gibt. Rocchi et al. fanden im häuslichen Umfeld von Patienten mit IA einen höheren Anteil an *A. fumigatus* und *A. flavus* in Bezug zur Gesamtheit der gefundenen Pilzvorkommen, auch wenn dabei die Gesamtzahl der gefundenen

## Einleitung

*Aspergillus* spp. nicht signifikant erhöht war [107]. Valider nachweisbare Zusammenhänge könnten neue Aspekte der Prävention erforderlich machen [97].

### 3.12 Luftkeimsammlungen

Luftkeimsammlungen ermöglichen die qualitative und quantitative Analyse von Pilzkonzentrationen in der Atemluft. Durch Nachweis von erhöhten Pilzkonzentrationen lassen sich möglicherweise Rückschlüsse auf gesundheitsschädliche Konzentrationen und Gefahrenquellen für Risikopatienten ziehen [97, 98, 107]. Aktuell sind sogenannte „Impactor-Luftkeimsammler“ die am häufigsten eingesetzten Geräte. Ein wählbares Luftvolumen wird angesaugt und trifft im Gerät auf einen eingelegten Nährboden. Die Geräte sind zumeist batteriebetrieben, kompakt und tragbar, sodass sie leicht zu transportieren sind und unabhängig von einer Stromversorgung aufgestellt werden können. Nach der Messung wird der Nährboden aus dem Gerät entfernt und im Inkubator bebrütet. Hier keimen die eingesaugten Pilzsporen und formen Kolonien, die nach einigen Tagen analysiert werden können [108]. Es konnte gezeigt werden, dass jedes Luftkeimsammler-Modell ein eigenes Profil der Pilzbestandteile in der Umgebungsluft erstellt, welches zwar reproduzierbar, jedoch nicht vollständig deckungsgleich mit den Ergebnissen der anderen Luftkeimsammler war. Der Vergleich zwischen einzelnen Studien, bei denen unterschiedliche Geräte benutzt wurden, ist daher schwierig [108, 109]. Der in unserer Studie benutzte Luftkeimsammler MAS-100 ECO (Merck) zeigte zumindest im Vergleich mit drei anderen modernen Luftkeimsammlern vergleichbare Ergebnisse und scheint daher empfehlenswert für eine valide Messung der Pilzbestandteile in der Umgebungsluft zu sein [108, 110, 111].

Es existieren unterschiedliche Empfehlungen, um Studien, die auf Luftkeimsammlungen basieren, valider und vergleichbarer zu gestalten. Für alle Messungen sollte der gleiche Luftkeimsammler verwendet werden [112]. Luftkeimsammlungen im Innenraum sollten immer eine Messung im Außenbereich als Referenz zur Folge haben. Wetterdaten inklusive Temperatur und Luftfeuchtigkeit sollten bei den Messungen dokumentiert werden. Die Luftkeimsammlungen sollten wiederholt werden, um zu jeder Messung eine Vergleichsmessung zur Verfügung zu

## Einleitung

stellen. Personal, dass die Luftkeimsammlungen durchführt, sollte gut geschult sein, um Kontamination der Nährböden zu vermeiden und den Ablauf der Messungen reibungslos und vergleichbar zu gestalten [113].

## 4 Fragestellung

Da nicht alle Patienten mit Immunsuppression, Neutropenie und anderen Risikokonstellationen an einer IA erkranken, stellt sich die Frage, welche Faktoren eine Erkrankung begünstigen. Das Ausmaß der Exposition gegenüber *Aspergillus* spp. und besonders die Konzentration der *Aspergillus*-Konidien in der Umgebungsluft im Alltag des Patienten könnte ein ausschlaggebender Faktor für die Entwicklung einer IA sein. Wenn der Konidiengehalt in der Umgebungsluft maßgebend für die Erkrankung ist, hätte dies große Auswirkungen auf Therapie und besonders die Prävention invasiver Aspergillosen bei immunsupprimierten Patienten, insbesondere für deren häusliche Umgebung, wo keine HEPA-Filtration zu Verfügung steht.

Wir analysieren daher die Luft innerhalb und im nahen Umfeld der häuslichen Umgebung von immunsupprimierten Patienten mit und ohne Erkrankung an IA, um Hinweise auf einen möglichen Zusammenhang zwischen IA und häuslicher Exposition zu erhalten und um Daten zur *Aspergillus*-Epidemiologie zu gewinnen.

1. Welche *Aspergillus*-Konidien können im Innenraum und Außenbereich der häuslichen Umgebung von immunsupprimierten Patienten gefunden werden? (qualitative Analyse)
2. Wie viele *Aspergillus*-Konidien können im Innenraum und Außenbereich der häuslichen Umgebung von immunsupprimierten Patienten gefunden werden? (quantitative Analyse)
3. Gibt es in der häuslichen Umgebung von immunsupprimierten Patienten mit probable/proven Aspergillose eine höhere Exposition gegenüber *Aspergillus*-Konidien im Vergleich zur häuslichen Umgebung von immunsupprimierten Patienten ohne Aspergillose?

## 5 Publikation

Medical Mycology Advance Access published March 3, 2016



*Medical Mycology*, 2016, 0, 1–8  
doi: 10.1093/mmy/myw007  
Advance Access Publication Date: 0 2016  
Original Article



---

Original Article

# Domestic mould exposure and invasive aspergillosis — air sampling of *Aspergillus* spp. spores in homes of hematological patients, a pilot study

KE Schweer<sup>1, 2</sup>, B Jakob<sup>1, 2</sup>, B Liss<sup>1, 2</sup>, H Christ<sup>3</sup>, G Fischer<sup>4</sup>,  
MJGT Vehreschild<sup>1,2,5</sup>, OA Cornely<sup>1,2,5,6,7</sup> and JJ Vehreschild<sup>1,2,5,\*</sup>

<sup>1</sup>Department I of Internal Medicine, University Hospital of Cologne, Cologne, Germany, <sup>2</sup>Center for Integrated Oncology CIO Köln-Bonn, Medical Faculty, University of Cologne, Cologne, Germany, <sup>3</sup>Institute of Medical Statistics, Informatics and Epidemiology, University of Cologne, Cologne, Germany, <sup>4</sup>Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg (local health authority Baden-Württemberg), Germany, <sup>5</sup>German Centre for Infection Research (DZIF), partner site Bonn-Cologne, Cologne, Germany, <sup>6</sup>Clinical Trials Centre Cologne, ZKS Köln, Medical Faculty, University of Cologne, Cologne, Germany and <sup>7</sup>Cologne Excellence Cluster on Cellular Stress Responses in Aging-Associated Diseases (CECAD), Medical Faculty, University of Cologne, Cologne, Germany

\* To whom correspondence should be addressed. Jörg Janne Vehreschild, MD, Department I for Internal Medicine and Hematology and Oncology, University Hospital of Cologne, Herderstraße 52–54, 50931 Cologne, Germany.

Tel: +49 (221) 478–88794; Fax: +49 (211) 478–1422546; E-mail: [joerg-janne.vehreschild@uk-koeln.de](mailto:joerg-janne.vehreschild@uk-koeln.de)

Received 1 December 2015; Revised 12 January 2016; Accepted 13 January 2016

## 5.1 Abstract

*Aspergillus* spp.-related morbidity and mortality remains a major challenge in the management of neutropenic patients. Little is known about the impact of domestic *Aspergillus* spp. exposure. In this controlled prospective study, fungal spores were collected from homes of neutropenic patients. Cases were defined as patients with probable or proven controls as patients with no invasive pulmonary aspergillosis, while patients with possible disease were evaluated as a third group. Forty patients were enrolled and returned questionnaires on high-risk activities and mould exposure. *A. fumigatus* was detected in concentrations of 0 to 76 cfu/m<sup>3</sup> in every home. *A. terreus* was detected in nine (18%) homes. Mean *Aspergillus* spp. cfu/m<sup>3</sup> according to EORTC criteria were: proven/probable IA (15 patients) – 36; possible IA (12 patients) – 42; no IA (13 patients) – 42. Of the seven patients with self-reported moulded walls at home, four had probable and three had possible aspergillosis; the risk ratio of developing IA was 1.65 (95% CI: 1.25–2.17). In conclusion self-reported domestic mould exposure was associated with a high incidence of IA and may be a feasible tool for identifying high-risk patients. There was no correlation between domestic ambient-air spore counts and IA.

**Key words:** domestic exposure, spores, pathogenesis, risk factors, hygiene

## 5.2 Introduction

As treatment options for patients with hematological, oncological, or immunological diseases multiply, more patients under severe immunosuppression have to be managed in the hospital as well as in the outpatient setting. A significant number of these patients experience lifethreatening opportunistic infections. Among them, invasive aspergillosis (IA) is an important clinical entity,<sup>1</sup> especially for patients with hematological malignancies receiving anti-cancer chemotherapy.

*Aspergillus* spp. are ubiquitous opportunistic pathogens. The clinically most relevant species comprise *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, and *A. terreus*. Conidia, the sporal form of *Aspergillus* spp. with high environmental resistance, can be detected in and



## Publikation

outside of buildings year round.<sup>2-4</sup> Air concentrations of conidia are expressed as colony-forming units (cfu) per volume and are reportedly influenced by numerous environmental factors such as temperature, humidity, and precipitation.<sup>5-7</sup> They are also often present during periods of construction work.<sup>8</sup>

The infection mechanism of aspergillosis has been subject to numerous studies; airborne infection by inhalation of *Aspergillus* conidia is a common hypothesis. Nevertheless both the role of quantity and duration of exposure to *Aspergillus* conidia remain unclear.<sup>9</sup>

Some observational studies reported that infection control measures focussing on air purification might reduce air-borne *Aspergillus* spore counts and the number of hospital-acquired IA among neutropenic patients.<sup>8,10-14</sup> It is an ongoing debate whether all IA are hospital-acquired, as some authors suggest.<sup>15-17</sup> Another hypothesis would be that patients arriving in the hospital after domestic mould exposure are later infected by dormant conidia or bronchial mould colonization.

*Aspergillus* air-sampling has been used for over two decades to gain estimates on air contamination.<sup>18-21</sup> Analysis of *Aspergillus* spp. air samples from patient homes and surroundings has rarely and only in the recent past been correlated with development of IA, even though exposition to moulds at home might be an important risk factor to consider.<sup>22</sup>

## 5.3 Methods

### Study design

In this prospective case-control pilot study, we aimed to assess if differences in *Aspergillus* spp. exposure in the homes and domestic surroundings of neutropenic haematological patients exist between patients with or without later diagnosis of IA. Patients with probable or proven IA according to the revised EORTC/MSG criteria<sup>23</sup> were compared to patients without signs for IA.

### **Patient selection**

Key inclusion criterion was a galactomannan (GM) test performed in bronchoalveolar lavage (BAL) fluid or serum of a patient with clinical suspicion of IA. Patients with GM  $\geq 0.5$  optical density (OD) index were matched to patients with a GM result of  $\leq 0.5$  OD according to underlying disease, duration of neutropenia, and age. We then classified patients according to the EORTC criteria for possible, probable, proven or no aspergillosis.

### **Intervention**

All eligible patients were informed about the study and written informed consent was obtained before participation. If the patient agreed, we performed air sampling with the MAS-100 eco<sup>R</sup> (Merck Millipore, Merck KGaA, Darmstadt, Germany) air sampler in and around patients' homes on two occasions separated by at least one week. The used device previously had shown comparable results with new generation impactors.<sup>19–21</sup> For each sampling inside and outside, 500 l of air were impacted on one culture plate (malt extract agar with chloramphenicol or Sabouraud agar with gentamycin and chloramphenicol) in the MAS-100 Eco.

Exact places for measurement of the *Aspergillus*-spore air concentration were determined together with the patients on the spot. We performed measurements in rooms or home surroundings where patients spent most of their time (such as bedroom, living room, balcony, garden next to the compost, etc.) throughout the year. If patients were not able to specify their preferred room, we used the room with the highest expected mould concentration. The investigator recorded places of measurement and climatic conditions (season, clouds, wind, rain, temperature). Some examples can be found in Table 2. Patients completed a questionnaire as presented in the appendix, providing information on housekeeping habits, housing interior, and outside conditions, including possible surrounding *Aspergillus* spp. sources, (urban vs. rural neighbourhood, closeby park, forest, farming, waste disposal site, factory, or waste water treatment plant, presence of a bio-waste container, compost, damp or mouldy walls, mouldy basement, type of flooring like PCV, parquet, tiles, carpet or laminate, potted plants, pets, frequency and method of cleaning, age of mattress, vacuum cleaner and building, duration of residence). Potential *Aspergillus* spp.

## Publikation

sources in the surrounding area were confirmed by analysing satellite images with metadata of a three kilometre radius surrounding the patient's home using GOOGLE Earth™ (Google Inc., Mountain View, United States).

### **Analysis**

We expressed *Aspergillus* spp. findings as cfu/plate (colony-forming units per agar plate), which corresponds to analysis of 500 l of air impacted on one plate. Fungi were cultured on the impacted agar plates at 37° C for 2–5 days (depending on colony growth speed), thus only the few species relevant for infections were able to grow. For quality control plates were photographed and sent electronically to the coauthor Dr. G. Fischer at the LGA in Stuttgart, where identification by macro-morphology is routinely performed. In a later stage, identification was validated only in doubtful cases.

### **Statistics**

We used IBM<sup>®</sup> SPSS<sup>®</sup> Statistics, version 22 (IBM, Armonk, New York, US) for data procession and analysis. Fisher's exact test, two sided was used for contingency-table data. We expected considerable curtosis for cfu data, so the Mann–Whitney-U was used to test for differences in cfu/plate by EORTC group, for possible influential factors on cfu/plate and for differences in the EORTC groups. We used two-sided tests and allowed a type I error likelihood of 0.05 in this pilot study. Given the small sample size, all analyses were exploratory in nature. For the same reason, we decided to refrain from performing multivariate statistics.

### **Ethical considerations**

This study was approved by the ethics committee of the University Hospital of Cologne. All patients included received detailed oral and written information and signed a written informed consent.

## **5.4 Results**

### **Demographics**

Patients at risk for IA were consented during inpatient periods and followed up during discharge periods. From a total of 40 patients enrolled, 15 had probable or proven IA

## Publikation

(IA positives) and 13 had no IA (IA negatives). Because of the intrinsic lack of diagnostic accuracy, the 12 patients with possible IA were excluded from analysis of risk factors for IA. Patient age ranged from 19 to 75 years (median 49). GM levels were >0.5 optical density index (OD) for 14 patients and <0.5 for 26 patients, levels varied between 0.1 and 5.2 OD for BAL testing and between 0.1 and 144 OD in serological testing. *Aspergillus* spp. were detected by histology from lobectomy and BAL PCR in one patient each. Mean duration of neutropenia was longer for IA positive patients compared to IA negative patients (25 days vs. 16 days, one-sided *P*-value .16). Distribution of sex, age, and underlying disease was roughly even between cases and controls (IA negatives vs. IA positives). Table 1 gives an overview of the patient demographics.

### ***Aspergillus* air sampling**

Of 158 incubated impact plates, two could not be analysed. One patient died before the second measurement. We performed analysis for the five most common species (*A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus*, *A. niger*, *A. nidulans*). Air sampling yielded between 0 and 38 (median 6) *Aspergillus* spp. cfu per plate and measurement. *Aspergillus fumigatus* was the most frequently detected species; it was found in the homes of all 40 patients. The *A. fumigatus* cfu counts ranged from 0 to 38 (median 4). Other *Aspergillus* spp. were found in lower quantities and less frequently, for example, *A. terreus* in nine (23%), and *A. flavus* in six (15%) homes. We measured lower *Aspergillus* spore counts inside than outside patients' homes. Median cfu/plate inside vs. outside were two vs. three (first measurement) and one vs. five (second measurement), two-sided *P*-values were .104 and .003, respectively. Median cfu/plate were not higher during autumn than during other seasons. Peak values, however, were recorded during autumn season (Table 2, a detailed overview of the results per season is provided in the appendix 4). Of note, these patients did not report mouldy walls.

There was no significant correlation between results from the first and second measurement or between outside and inside spore counts from one measurement. Univariate analysis also did not show a correlation between *Aspergillus* spore counts and any weather condition, house-keeping habits or any interior design. Mean *Aspergillus* spp. cfu counts inside and outside of the homes of patients with IA were

## Publikation

not elevated compared to spore counts from the homes of patients without IA (Table 3).

**Table 1.** Patient demographics according to EORTC criteria.

	Absolute patient numbers			Total
	IA negative	IA possible	IA positive	
Mean GM in BAL	0.29 (SD 0.44)	0.136 (SD 0.05)	1.35 (SD 1.34)	
Mean GM in serum	0.136 (SD 0.05)	0.108 (SD 0,03)	10.57 (SD 37)	
Female sex	6	4	5	15
Mean age	46	47	55	*
Mean duration of neutropenia	16	31	25	**
Autologous stem cell transplantation	2	2	2	6
Allogenic stem cell transplantation	5	4	4	13
AML/MDS	5	8	7	20
ALL	1	1	3	5
Lymphoma	4	3	5	12
Other hematologic malignancy	3	0	0	3
Positive culture	0	0	1	1
Positive histology	0	0	1	1
Admission to ICU	2	3	6	11
Death after 90 days of follow up	1	1	7	9

Abbreviations: ALL = acute lymphoblastic leukemia; AML = acute myeloid leukemia; BAL = bronchoalveolar lavage; EORTC = European Organisation for Research and Treatment of Cancer; GM = galactomannan (*Aspergillus* antigen); IA = invasive Aspergillosis; IA positive = probable and proven IA according to EORTC criteria; ICU = intensive care unit; MDS = myelodysplastic syndrome; SD = standard deviation.

Note: N = absolute number of patients, except for GM (as optical density index) age (in years), neutropenia (in days), in total: 40 patients enrolled.

\*mean age of total study population: 49 years.

\*\*mean duration of neutropenia in total study population: 24 days.

**Table 2.** Peak spore counts, their site of measurement and weather conditions.

Type of sampling	Peak	Site of measurement + weather conditions
<b>INDOOR</b>		
<i>Aspergillus fumigatus</i>	24	Living room, October, 22°C, cloudy, dry (patient 26)
<i>Aspergillus niger</i>	15	Bedroom, September, 23°C, cloudy, dry
<i>Aspergillus terreus</i>	4	Dairy Counter in patient's cheese parlor, January, 8°C, cloudy, dry
<i>Aspergillus flavus</i>	11	Living room, April, 10°C, cloudy, dry
<i>Aspergillus nidulans</i>	3	Living room, July, 13°C, cloudy, rainy
<b>OUTDOOR</b>		
<i>Aspergillus fumigatus</i>	38	Balcony, October, 22°C, cloudy, dry (patient 26) Garden, November, 5°C, cloudy, dry (patient 28)
<i>Aspergillus niger</i>	14	Compost in driveway, September, 21°C, cloudy, dry
<i>Aspergillus terreus</i>	3	Front door, January, 0°C, cloudy, dry
<i>Aspergillus flavus</i>	2	Dustbin at front door, August, 25°C, cloudy, rainy
<i>Aspergillus nidulans</i>	2	Site not specified, July, 13°C, cloudy, rainy

Note: Peak *Aspergillus* spore counts expressed as cfu/plate (500 l of ambient air impacted on each plate) for *Aspergillus* air samplings indoors and outdoors (exemplary single patient data from a pool of 40 domestic measurements on two separate occasions).

## Questionnaire data

All patients filled an extensive questionnaire as presented in the supplementary files. Data from questionnaires were analysed for statistical differences between patients with and without IA. Of the seven patients who reported mouldy walls in their home, four were diagnosed with probable/proven IA (total cfu/plate from both measurements

## Publikation

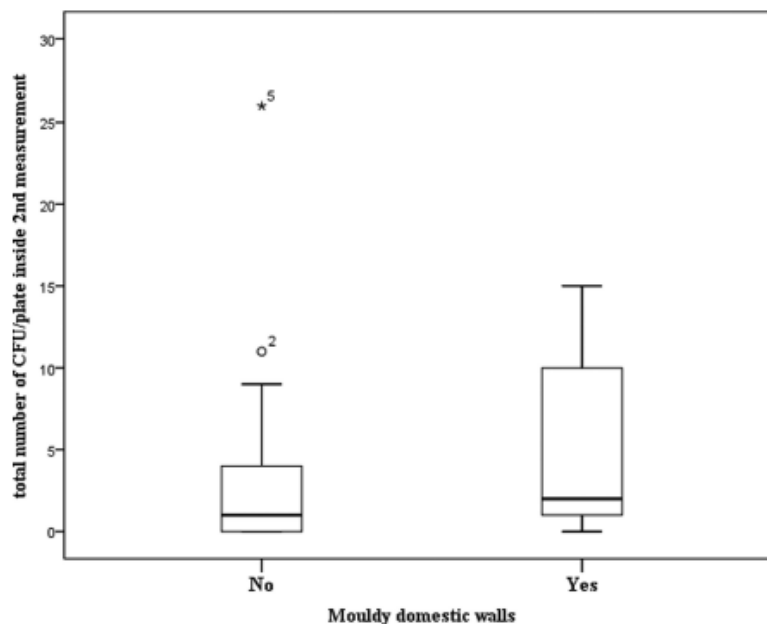
7, 13, 21, 48) and the other three with possible IA (total cfu/plate from both measurements 24, 38, 48). From 33 patients without visible mould growth at home, 13 did not have IA, 9 had possible IA, and 11 had probable or proven IA. The risk ratio of developing possible, probable, or proven IA after self-reported domestic mould exposure was 1.65 (95% CI: 1.25–2.17). Mean indoor spore counts in mouldy homes were 6 cfu/plate (standard deviation (SD) = 7) compared to 3 cfu/plate (SD = 5) in homes without mould growths (Figure 1, a detailed overview of the results is provided in the appendix 5). This difference did not reach statistical significance (two-sided *P*-value .3).

**Table 3.** Mean spore counts in and around IA-positive and IA-negative patients' homes.

	Total <i>Aspergillus</i> spp. in cfu/plate		<i>A. Fumigatus</i> in cfu/plate	
	IA negatives	IA positives	IA negatives	IA positives
1 <sup>st</sup> inside measurement	5 (1–9)	3 (0–6)	2 (1–4)	3 (0–5)
2 <sup>nd</sup> inside measurement	3 (0–5)	3 (2–4)	2 (0–3)	2 (1–3)
1 <sup>st</sup> outside measurement	5 (2–8)	5 (2–8)	5 (2–7)	4 (1–7)
2 <sup>nd</sup> outside measurement	8 (1–14)	7 (3–10)	7 (1–13)	6 (3–9)

Abbreviations: EORTC = European Organisation for Research and Treatment of Cancer; IA = invasive aspergillosis.

Note: Mean spore counts expressed as cfu/plate, with 500 l of ambient air impacted on each plate, 95% CI given in brackets, IA positive = probable and proven invasive aspergillosis according to EORTC criteria; IA negative = no suspicion of invasive aspergillosis.



**Figure 1.** Aspergillus spore counts given in absolute numbers of cfu/plate (500 l of ambient air impacted on culture plate), data from 38 participants. No statistically significant difference between the spore counts from homes with mouldy walls and those without was found.

Patients who had ongoing construction work in their homes during their oncologic treatment were not diagnosed with IA more often than those who did not. Patients with pets did not develop IA more frequently than those without. Likewise, no difference

was observed for any reported housekeeping routine or different types of flooring or bedding (appendix 1, 2). Between the proven/probable IA patients and those without IA, we found no differences in home surroundings (appendix 3).

## 5.5 Discussion

To our knowledge, this is one of the first studies exploring potential influences of home mould exposure on development of IA. We were able to confirm that *Aspergillus fumigatus*, the predominant pathogen causing IA, was isolated most frequently and in highest quantities in and around the homes of our patients. In addition, we found *Aspergillus terreus* in 23% and *Aspergillus flavus* in 15% of the homes investigated. Mean cfu/m<sup>3</sup> with MAS 100 eco were comparable to values from air samplings around the globe by different samplers (Table 4).

By air-sampling in this pilot study, we found no correlation between airborne *Aspergillus* spores in patients' homes and development of probable or proven IA. Attempts to show a correlation between cfu/air volume and IA incidence have failed repetitively in different study setups,<sup>2,24</sup> while other evidence supports a direct connection.<sup>8,10–14</sup> Correlation of spore counts and IA in the domestic setting is generally more difficult to interpret since the precise time spent in the surroundings by a patient is significantly more variable than in the hospital. Further inference is limited by the difficulty of establishing diagnosis of IA,<sup>23</sup> and the fact that the infectious inoculum and exposure time-frame for development of IA are not known.<sup>9</sup> In our study, for all but one patient, the causative *Aspergillus* spp. remained unknown and we were not able to perform correlation analysis on species level.

**Table 4.** Mean indoor cfu/ m<sup>3</sup> in different countries measured by different air samplers.

Sampler	Impact plate	Country	Year	cfu/m <sup>3</sup> indoors
This study	MAS 100 eco	Germany	2010–2013	4–10
Boff et al. <sup>2</sup>	Six-Stage Andersen	Brazil	2010–2011	3–8
Hospenthal et al. <sup>24</sup>	Single-Stage Andersen	USA	1997–1998	4
Cornet et al. <sup>8</sup>	Bio-Impactor 100.8	France	1996–1997	2–41

*Note:* Exemplary comparison of mean spore counts acquired with different air samplers in different countries during different years. (NB: Results given in cfu/m<sup>3</sup>, values from the literature were acquired in hospitals, we measured in patient homes.)

## Publikation

Of note, patients reporting walls with visible mouldinfestation in their home had a higher chance of developing IA. These results are far from statistical relevance and unfortunately wall smears and detailed information on wall covering (wall paper, emulsion, etc.) were not obtained. Still IA may be homeborne, as is also suggested by the findings of Rocchi et al.<sup>22</sup> Explanations for the difficulty of proving a clinically established risk factor (exposure to mouldy walls or ongoing construction) by air sampling of *Aspergillus* spp. are manifold: spore counts may be highly variable even during one day and in one place and are easily influenced by external factors as simple as type and frequency of ventilation.<sup>25</sup> In this pilot study, we found no correlation of spore counts between the two measurements, suggesting that we recorded some transient high counts and missed others. Dust analysis is complementary to air sampling as it reflects the presence of fungi over an accumulated period of time and might in fact be more accurate than air sampling because it is less influenced by wind and movement.<sup>18</sup> Gravity plates on the other hand might be an alternative to capture peak spore levels during a set time period.<sup>26</sup> In addition, especially in the supposedly less rigorously supervised and cleaned domestic surroundings, it might be worth considering water-borne IA.<sup>27-34</sup>

While some publications report peaks of conidial air-concentrations in autumn season measured by air sampling,<sup>2-4,35-37</sup> others<sup>24</sup> could not reproduce this finding. From our data we cannot deduce that spore counts are generally elevated in autumn season; however, peak spore levels were more often measured during autumn season than during the rest of the year. Panackal et al. came to the conclusion that geoclimatic influences such as temperature and precipitation have different effects on spore counts and IA in geographically distinct areas with differences in baseline spore counts.<sup>5</sup> While we investigated the impact of weather conditions on air mould concentrations, we cannot provide data on humidity, an important external factor for fungal growth.<sup>6,7</sup>

Our analysis was not powered to test the impact of interior design aspects such as type of ventilation (natural like open windows, circulatory like heat-exchanger, etc.), flooring, wall covering, bedding and pillows on the incidence of IA. Still, this might be an important factor, should more evidence emerge that a significant part of IA is homeborne.<sup>38</sup>



Future studies assessing development of IA following environmental fungal exposure should combine multiple methods to further determine the actual mould exposure in patients' homes. We propose the complementary use of gravity plates, 24 hour sampling, dust, and wall samples as well as water sampling coupled with on the spot visits and questionnaires as presented in this pilot study. To evaluate a possible correlation of domestic mould burden and clinical infection, ideally DNA of the domestic and clinical patient isolates should be quantified and sequenced. Data on humidity should be obtained, as well as objective information on interior design and dimension (size and type) of possible home mould infestation. Even though we could not proof a correlation between outside and inside spore counts the dominant effects of outdoor air on indoor mould incidence seems obvious.<sup>38</sup> Habits and ways of home ventilation should be recorded. Roussel et al. even propose to exclude measurement during summer months and to close all windows 1 h before air sampling for spores.<sup>25</sup> Supplementary home counselling of patients at risk, as proposed by Rocchi et al.<sup>22</sup> may be useful.

## 5.6 Acknowledgments

This study was supported by an unrestricted grant from Pfizer.

### Declaration of Interests

OAC is supported by the German Federal Ministry of Research and Education and the European Commission, and has received research grants from, is an advisor to, or received lecture honoraria from 3 M, Actelion, Anacor, Astellas, AstraZeneca, Basilea, Bayer, Celgene, Cidara, Cubist/Optimer, Da Volterra, Daiichi Sankyo, Duke University (NIH M1AI104681), F2G, Genentech, Genzyme, Gilead, GSK, Leeds University, Matinas, Medpace, Merck Serono, MSD, Miltenyi, NanoMR, Novartis, Parexel, Pfizer, Quintiles, Roche, Sanofi Pasteur, Scynexis, Seres, Summit, Vical, Vifor, Viropharma.

JJV is supported by the German Centre for Infection Research and has received research grants from Astellas, Gilead Sciences, Infectopharm, Merck Sharp Dohme/Merck, Pfizer, and Essex/Schering-Plough; has consulted Merck Sharp

Publikation

Dohme/Merck; and served on the speakers' bureau of Merck Sharp Dohme/Merck, Gilead Sciences, Pfizer, and Essex/Schering-Plough.

MJGTV has served at the speakers' bureau of Pfizer, Merck/MSD, Gilead Sciences, and Astellas Pharma, received research funding from 3 M, DaVolterra, Gilead Sciences and Astellas Pharma and been a consultant to Astellas Pharma, Berlin Chemie, Merck/MSD and DaVolterra.

KS has served on the speakers' bureau of Astellas.

GF, HC, BJ, and BL have declared to have no conflicts of interest.

### **Supplementary Material**

Supplementary material is available at *Medical Mycology* online (<http://www.mmy.oxfordjournals.org/>).

### **Author's Contributions**

KES analysed data and wrote the manuscript.

BJ consented patients, conducted measurements, identified fungi, collected, processed and analysed data from patient records, and revised the manuscript.

BL consented patients, conducted measurements, and revised the manuscript.

GF identified fungi and revised the manuscript. HC analysed data and revised the manuscript.

MJGTV selected patients, analysed data and revised the manuscript OAC designed study, analysed data, and revised the manuscript. JJV selected patients, analysed data, and prepared the final manuscript.

## 5.7 References

1. Aspergillus Segal BH. *N Engl J Med* 2009; **360**: 1870–1884.
2. Boff C, Zoppas BCDA, Aquino VR et al. The indoor air as a potential determinant of the frequency of invasive aspergillus in the intensive care. *Mycoses* 2013; **56**: 527–531.
3. Vonberg RP, Gastmeier P. Nosocomial aspergillus in outbreak settings. *J Hosp Infect* 2006; **63**: 246–254.
4. Brenier-Pinchart MP, Lebeau B, Quesada JL et al. Influence of internal and outdoor factors on filamentous fungal flora in hematology wards. *Am J Infect Cont* 2009; **37**: 631–637.
5. Panackal AA, Li H, Kontoyiannis DP et al. Geoclimatic influences on invasive aspergillus after hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis* Jun 15 2010; **50**: 1588–1597.
6. Garrett MH, Rayment PR, Hooper MA et al. Indoor airborne fungal spores, house dampness and associations with environmental factors and respiratory health in children. *Clin Exp Allergy* 1998; **28**: 459–467.
7. Ruping MJ, Gerlach S, Fischer G et al. Environmental and clinical epidemiology of *Aspergillus terreus*: data from a prospective surveillance study. *J Hosp Infect* 2011; **78**: 226–230.
8. Cornet M, Levy V, Fleury L et al. Efficacy of prevention by high-efficiency particulate air filtration or laminar airflow against *Aspergillus* airborne contamination during hospital renovation. *Infect Cont Hosp Epidemiol* 1999; **20**: 508–513.
9. Hope WW, Walsh TJ, Denning DW. The invasive and saprophytic syndromes due to *Aspergillus* spp. *Med Mycol* 2005; **43** (Suppl 1): S207–238.
10. Barnes RA, Rogers TR. Control of an outbreak of nosocomial aspergillus by laminar air-flow isolation. *J Hosp Infect* 1989; **14**: 89–94.
11. Sherertz RJ, Belani A, Kramer BS et al. Impact of air filtration on nosocomial *Aspergillus* infections. Unique risk of bone marrow transplant recipients. *Am J Med* 1987; **83**: 709–718.
12. Arnow PM, Sadigh M, Costas C et al. Endemic and epidemic aspergillus associated with in-hospital replication of *Aspergillus* organisms. *J Infect Dis* 1991; **164**: 998–1002.
13. Rhome FS. Prevention of nosocomial aspergillus. *J Hosp Infect* 1991; **18** (Suppl A): 466–472.
14. Loo VG, Bertrand C, Dixon C et al. Control of construction-associated nosocomial aspergillus in an antiquated hematology unit. *Infect Cont Hosp Epidemiol* 1996; **17**: 360–364.
15. Walsh TJ, Dixon DM. Nosocomial aspergillus: environmental microbiology, hospital epidemiology, diagnosis and treatment. *Eur J Epidemiol* 1989; **5**: 131–142.
16. Carter CD, Barr BA. Infection control issues in construction and renovation. *Infect Cont Hosp Epidemiol* 1997; **18**: 587–596.
17. VandenBergh MF, Verweij PE, Voss A. Epidemiology of nosocomial fungal infections: invasive aspergillus and the environment. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; **34**: 221–227.
18. Portnoy JM, Barnes CS, Kennedy K. Sampling for indoor fungi. *J Allerg Clin Immunol* 2004; **113**: 189–198; quiz 199.
19. Nesa D, Lortholary J, Bouakline A et al. Comparative performance of impactor air samplers for quantification of fungal contamination. *J Hosp Infect* 2001; **47**: 149–155.
20. Bellanger AP, Reboux G, Scherer E et al. Contribution of a cyclonic-based liquid air collector for detecting *Aspergillus fumigatus* by QPCR in air samples. *J Occupat Environ Hyg* 2012; **9**: D7–D11.
21. Engelhart S, Glasmacher A, Simon A et al. Air sampling of *Aspergillus fumigatus* and other thermotolerant fungi: Comparative performance of the Sartorius MD8 airport and the Merck MAS-100 portable bioaerosol sampler. *Int J Hyg Environ Health* 2007; **210**: 733–739.
22. Rocchi S, Reboux G, Larosa F et al. Evaluation of invasive aspergillus risk of immunocompromised patients alternatively hospitalized in hematology intensive care unit and at home. *Ind Air* 2014; **24**: 652–661.

## Publikation

23. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis* 2008; **46**: 1813–1821.
24. Hospenthal DR, Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Concentrations of airborne *Aspergillus* compared to the incidence of invasive aspergillosis: lack of correlation. *Med Mycol* 1998; **36**: 165–168.
25. Roussel S, Reboux G, Bellanger AP et al. Characteristics of dwellings contaminated by moulds. *J Environ Monit* 2008; **10**: 724–729.
26. Iwen PC, Davis JC, Reed EC et al. Airborne fungal spore monitoring in a protective environment during hospital construction, and correlation with an outbreak of invasive aspergillosis. *Infect Cont Hosp Epidemiol* 1994; **15**: 303–306.
27. Anaissie EJ, Costa SF. Nosocomial aspergillosis is waterborne. *Clin Infect Dis* 2001; **33**: 1546–1548.
28. Arvanitidou M, Kanellou K, Constantinides TC et al. The occurrence of fungi in hospital and community potable waters. *Lett Appl Microbiol* 1999; **29**: 81–84.
29. Arvanitidou M, Kanellou K, Katsouyannopoulos V et al. Occurrence and densities of fungi from northern Greek coastal bathing waters and their relation with faecal pollution indicators. *Water Res* 2002; **36**: 5127–5131.
30. Loudon KW, Coke AP, Burnie JP et al. Kitchens as a source of *Aspergillus niger* infection. *J Hosp Infect* 1996; **32**: 191–198.
31. ter Maaten JC, Golding RP, Strack van Schijndel RJ et al. Dis-seminated aspergillosis after near-drowning. *Netherlands J Med* 1995; **47**: 21–24.
32. Burco JD, Etienne KA, Massey JG et al. Molecular sub-typing suggests that the environment of rehabilitation centers may be a potential source of *Aspergillus fumigatus* infecting rehabilitating seabirds. *Med Mycol* 2012; **50**: 91–98.
33. Walsh TJ, Dixon DM. Nosocomial aspergillosis: environmental microbiology, hospital epidemiology, diagnosis and treatment. *Eur J Epidemiol* 1989; **5**: 131–142.
34. Warris A, Voss A, Abrahamsen TG et al. Contamination of hospital water with *Aspergillus fumigatus* and other molds. *Clin Infect Dis* 2002; **34**: 1159–1160.
35. Cabral JP. Can we use indoor fungi as bioindicators of indoor air quality? Historical perspectives and open questions. *Sci Tot Environ* 2010; **408**: 4285–4295.
36. Panagopoulou P, Filioti J, Petrikos G et al. Environmental surveillance of filamentous fungi in three tertiary care hospitals in Greece. *J Hosp Infect* 2002; **52**: 185–191.
37. Sautour M, Sixt N, Dalle F et al. Profiles and seasonal distribution of airborne fungi in indoor and outdoor environments at a French hospital. *Sci Tot Environ* 2009; **407**: 3766–3771.
38. Nevalainen A, Taubel M, Hyvarinen A. Indoor fungi: companions and contaminants. *Ind Air* Apr 2015; **25**: 125–156.

## 6 Diskussion

### 6.1 *Aspergillus*-Epidemiologie

Im Rahmen der 156 Luftkeimsammlungen in der häuslichen Umgebung immunsupprimierter Patienten konnten wir insgesamt 758 KBE von *Aspergillus* spp. (*A. fumigatus*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. terreus* und *A. nidulans*) nachweisen, welche auch in anderen Studien als häufigste Vertreter von *Aspergillus* spp. gefunden wurden [4] und aufgrund ihrer hohen Vorkommen in der Atemluft die häufigsten Erreger von IA zu sein scheinen [12]. 64% aller *Aspergillus*-Kolonien fanden wir in der Atemluft außerhalb der häuslichen Umgebung und 36% in der Innenraumlufte. Bei 26% der Messungen war die Konzentration der *Aspergillus*-Vorkommen in der Innenraumlufte zwar höher, jedoch war der Unterschied zur Außenluft meist nur geringfügig im Rahmen von wenigen KBE. Dieses Ergebnis bestätigt die häufig reproduzierten, internationalen Studienergebnisse, bei denen in der Außenluft konstant höhere *Aspergillus*-Konzentrationen gefunden werden als in der Innenraumlufte [2, 94, 97]. *A. fumigatus* wurde in unserer Studie mit Abstand am häufigsten von allen *Aspergillus* spp. gefunden, wobei ihm 618 der bestimmten KBE zugeordnet werden konnten, was einen Anteil von 81,5% an der Gesamtsumme ausmacht. Kolonien von *A. niger* wurden mit einem Anteil von 10,4% gefunden. Kolonien von *A. flavus*, *A. terreus*, und *A. nidulans* wurden zu 4,2%, 1,6% und 2,2% bestimmt. Diese Zahlen unterstützen vorangegangene epidemiologische Studien, in denen *A. fumigatus* stetig als häufigster Vertreter der pathogenen Schimmelpilze in der Atemluft gefunden wurden und die anderen *Aspergillus* spp. im ähnlicher Häufigkeit bestimmt wurden [2, 20, 96, 114]. Der Anteil von *A. fumigatus* im Verhältnis zur Gesamtmenge der gefundenen *Aspergillus* spp. scheint in unserer Studie vergleichsweise hoch zu sein, da andere internationale Studien einen Anteil von 54-67% beschreiben [54, 115]. Diese Abweichungen könnten an regionalen Unterschieden liegen, da wir im Großraum der Stadt Köln gemessen haben, während vergleichbare Messungen unter anderem aus Spanien und den USA stammen [54, 115]. Bestätigt wird diese Annahme durch eine Studie, die im Jahre 2008 an der Universitätsklinik Köln durchgeführt wurde, um die Epidemiologie von *Aspergillus* spp. an verschiedenen Stellen des klinischen Umfelds zu erforschen. In den Ergebnissen jener Studie betrug der Anteil von *A. fumigatus* im Verhältnis zu allen

## Diskussion

gefundenen *Aspergillus* spp. sogar über 90%, was ebenfalls weit mehr ist, als im internationalen Vergleich [95]. Auf den ersten Blick sind die von uns gemessenen niedrigen Vorkommen von *A. terreus* ebenfalls mit jener Studie vergleichbar. Mit 1,6% und 0,2% hat *A. terreus* in beiden Studien den geringsten Anteil an den Gesamtvorkommen der *Aspergillus* spp. Jedoch ist das Verhältnis von 1,6% zu 0,2% auffällig groß und es ist interessant, dass wir *A. terreus* in 23% aller häuslichen Umgebungen finden konnten. Auch wenn die Menge der von uns gefundenen *A. terreus* im internationalen Vergleich nicht erhöht ist [81], könnte dies ein Hinweis darauf sein, dass die klinische Bedeutung von *A. terreus* im Großraum Köln höher ist als bisher angenommen und besonders im Hinblick auf bekannte Resistenzen gegen Amphotericin nicht unterschätzt werden sollte. Die Unterschiede zwischen der internationalen Datenlage und unseren Studienergebnissen können auf heterogenes Studiendesign und technische Variablen zurückgeführt werden. Der Gebrauch von Luftkeimsammlern, Laborausstattung, Inkubatoren und Nährmedien ist international verschieden und nicht standardisiert. Je nach gegebenen Voraussetzungen, variiert beispielsweise die Sensitivität der Geräte oder die gewählte Temperatur der Inkubatoren. Es wird daher angenommen, dass bestimmte Pilzarten studienabhängig bevorzugt oder weniger gut wachsen bzw. nachgewiesen werden können, wodurch die Vergleichbarkeit der verschiedenen Studien eingeschränkt ist [108, 109, 116, 117].

Bei unseren Messungen fanden wir Kolonien von *A. fumigatus* mit einer durchschnittlichen Häufigkeit von 16 koloniebildenden Einheiten pro Kubikmeter (KBE/m<sup>3</sup>). Die Messungen fanden im Laufe von 3 Jahren statt und wurden zu jeder Jahreszeit durchgeführt. *A. niger* lag dabei durchschnittlich bei 2,0 KBE/m<sup>3</sup>, während *A. flavus*, *A. terreus*, und *A. nidulans* sich mit einer Häufigkeit von 0,8 KBE/m<sup>3</sup>, 0,3 KBE/m<sup>3</sup> und 0,4 KBE/m<sup>3</sup> zeigten. Beim Vergleich dieser Ergebnisse zeigt die internationale Studienlage eine breite Divergenz. Einige Autoren nennen ähnliche Zahlen und beschreiben das durchschnittliche Vorkommen von *A. fumigatus* mit maximal 11-13,5 KBE/m<sup>3</sup> [96, 118]. An anderer Stelle werden niedrigere Messwerte genannt, wobei die durchschnittliche Konidienkonzentration von *A. fumigatus* 1 KBE/m<sup>3</sup> bzw. 6 KBE/m<sup>3</sup> betrug [119, 120]. Es könnte sein, dass auch hierbei technische Unterschiede zu den unterschiedlichen Ergebnissen geführt haben. Eine Kontamination der Nährmedien durch zusätzliche Pilzbestandteile, im Verlauf der

## Diskussion

Messungen oder während des Transports der Nährmedien, ist nicht vollständig auszuschließen und könnte ebenfalls zu der erhöhten Zahl der Kolonien geführt haben. Die Einfachheit der praktischen Ausführung bei den Messungen macht eine Kontamination nicht unmöglich, ist jedoch bei der unkomplizierten Prozedur von Beladung und Entladung des Luftkeimsammlers nicht wahrscheinlich. Als weiterer Hinweis für die Validität unserer Ergebnisse kann die durchschnittliche Sporenkonzentration aller *Aspergillus* spp. in der Innenraumluft dienen. Sie betrug im Rahmen unserer Messungen 4-10 KBE/m<sup>3</sup> und ist mit der internationalen Datenlage trotz Gebrauch unterschiedlicher Luftkeimsammler vergleichbar [83, 121, 122].

In mehreren Studien wird eine Jahreszeitabhängigkeit der Pilzvorkommen in der Atemluft beschrieben, wobei hohe Konzentrationen von *A. fumigatus* häufiger im Herbst gefunden werden und niedrige zumeist im Frühling [92, 95, 96]. Jedoch gibt es auch Studien, die eine Jahreszeitabhängigkeit nicht bestätigen konnten [93]. Im Rahmen unserer Messergebnisse können wir eine saisonale Abhängigkeit statistisch nicht nachweisen, jedoch zeigten sich Spitzenkonzentrationen von *A. fumigatus* in zwei Fällen mit je 76 KBE/m<sup>3</sup>, welche beide im Herbst vorkamen. Von den fünf darauf folgenden Spitzenkonzentrationen von *A. fumigatus* (30, 34, 40, 44 und 48 KBE/m<sup>3</sup>) wurden drei im Herbst gemessen, was ein Hinweis auf eine mögliche saisonale Häufung sein könnte. Die von uns gemessenen hohen Konzentrationen von *A. fumigatus*, sind im Abgleich mit der internationalen Datenlage vergleichbar. Manche Autoren beschreiben sporadisch erhöhte Messwerte von 70 KBE/m<sup>3</sup> bis zu 400KBE/m<sup>3</sup> [92, 123]. Insgesamt liegen die von uns erhobenen epidemiologischen Daten also im international vergleichbaren Rahmen. Wir konnten zeigen, dass *A. terreus* in der Kölner Umgebung möglicherweise häufiger vorkommt als bisher angenommen.

## 6.2 Häusliche Schimmelpilzvorkommen und IA

Im Rahmen unserer Studie konnten wir nicht feststellen, dass es in der häuslichen Umgebung von immunsupprimierten Patienten mit probable/proven IA eine höhere Exposition gegenüber *Aspergillus*-Konidien gibt, im Vergleich zu immunsupprimierten Patienten ohne Zeichen einer Aspergillose. Ein fehlender bzw. nicht sicher nachweisbarer Zusammenhang zwischen Sporenkonzentration und Auftreten von IA

## Diskussion

wird in der internationalen Datenlage mehrfach beschrieben [121, 122], wobei es auch Studien gibt, die einen Zusammenhang zwischen Inzidenz der IA und Konzentration von *Aspergillus* spp. in der Atemluft errechnen [83, 84, 124-126]. Dass im häuslichen Umfeld bei vier von sieben Patienten mit sichtbarem Pilzbefall eine IA diagnostiziert wurde, könnte auf einen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Pilzbefall in der häuslichen Umgebung mit dem Auftreten von IA schließen lassen, wobei der sichtbare Pilzbefall nicht zu messbar erhöhten Pilzvorkommen führte und von uns keine statistische Aussagekraft nachgewiesen werden konnte. Grund dafür könnte sein, dass im Rahmen unserer Luftkeimsammlungen im Innenraum vor den Messungen nicht die von Fairs et al. 2010 beschriebenen [97], einheitlichen Maßnahmen bezüglich der Luftzirkulation mit den Patienten abgesprochen wurden und daher die aus Decken und Wänden freigesetzten Pilzbestandteile möglicherweise aufgrund ihrer Volatilität durch offene Fenster entweichen konnten. Ein weiterer Grund für das Fehlen eines Zusammenhanges zwischen sichtbarem Pilzwachstum und dem vermehrten Nachweis von Pilzbestandteilen könnte dadurch erklärt werden, dass unsere Luftkeimsammlungen in Form von Momentaufnahmen stattfanden und kurzzeitig bestehende, gesundheitsgefährdende Spitzenkonzentrationen nicht nachgewiesen werden konnten. Dales zeigte in einer Studie aus dem Jahr 1999, dass Kinder vermehrt über Infekt-Symptome klagten, wenn sichtbarer Pilzbefall an Wänden herrschte, wobei jedoch auch in dieser Studie die quantitativen Pilzvorkommen in Form von Luftkeimsammlungen nachgewiesen wurden und kein weiterer Zusammenhang gesehen werden konnte [127]. Möglicherweise sind Sporenkonzentrationen zeitlich hochvariabel, sodass punktuelle Luftkeimsammlungen allein nicht der richtige Weg zum Nachweis von hohen Pilzvorkommen sind. Methoden der Staubanalysen, welche gewinnbringend in manchen Studien angewendet wurden, sind möglicherweise sinnvoll, um die Pilzvorkommen in der häuslichen Umgebung über einen längeren Zeitraum hinweg zu messen, da sie nicht den kurzfristig veränderlichen Faktoren wie Wind und Wetter unterliegen [113]. Iwen et al. versuchten in einer 1994 veröffentlichten Studie dieses Problem durch sogenannte „gravity plates“ zu lösen, welche eine Rolle bei der Langzeitmessung von erhöhten Pilzkonzentrationen spielen, da sie über einen beliebig und genau definierbaren Zeitraum eingesetzt werden können [128].



## Diskussion

Die kontrovers diskutierte Jahreszeitabhängigkeit der Inzidenz der IA konnte im Konsens mit einigen vorhandenen Studien von uns nicht festgestellt werden [122, 129]. Jedoch könnte die Jahreszeitabhängigkeit von der untersuchten Region abhängen, was durch Panackal et al. gezeigt werden konnte, wobei sich in unterschiedlichen Klimazonen einen Zusammenhang zeigte [93]. Saisonale Unterschiede könnten in verschiedenen Regionen der Erde vorhanden sein, wobei die klimatischen Unterschiede in Form von Feuchtigkeit und Niederschlagsmenge möglicherweise eine wichtige Rolle spielen [93, 95]. Diese Parameter wurden in unserer Studie jedoch nicht dokumentiert. Wir konnten zudem keinen Zusammenhang zwischen *Aspergillus*-Spitzenkonzentrationen und Inzidenz der IA feststellen. Grenzwerte für maximale Konidienkonzentrationen im häuslichen Umfeld und deren Gefahrestufung können daher im Rahmen unserer Studie nicht bestimmt werden und existieren bisher international auch nicht [116].

Da *Aspergillus* spp. auch im Wasser nachgewiesen werden konnte und Infektionen aus dieser Quelle beschrieben wurden, kann es sinnvoll sein, im Rahmen der o.g. Maßnahmen auch eine Überprüfung der häuslichen Wasserleitungen vorzunehmen [130]. Zwar konnten wir keine unterschiedlichen Auswirkungen auf Pilzvorkommen beim Vergleich von Alter und Typ der von den Patienten benutzten Matratzen und Bettwäsche ausmachen, jedoch können genauere Untersuchungen des Schlafplatzes von Bedeutung für die zukünftige Infektionsforschung sein. Ausgeprägte Pilzvorkommen in Kissen wurden bereits nachgewiesen [102] und der Mensch verbringt einen großen Teil der Zeit im Bett, der geschwächte Patient mutmaßlich noch erheblich mehr. Abgesehen von der häuslichen Umgebung gibt es zahlreiche weitere Orte im Umfeld des Patienten, deren Pilzvorkommen wir nicht kennen. Da bisher nicht bekannt ist, wie hoch eine Mindestkonzentration der Konidien oder welche Mindesteinwirkungszeit durch Pilzbestandteile nötig ist, um die Entwicklung einer IA zu gewährleisten [131], wären umfangreiche Daten von großem Vorteil. Möglicherweise spielt der Arbeitsplatz der Patienten eine Rolle, da dort oft ein erheblicher Teil der Tageszeit verbracht wird. Gleiches gilt für Hobbys und Freizeitaktivitäten.

## Diskussion

Wir konnten zwar nicht zeigen, dass es in der häuslichen Umgebung von immunsupprimierten Patienten mit IA eine höhere Exposition gegenüber *Aspergillus*-Konidien im Vergleich zur häuslichen Umgebung von immunsupprimierten Patienten ohne Aspergillose gibt. Trotzdem zeigen aktuelle Studien einen möglichen Zusammenhang, sodass die häusliche Umgebung in Zukunft ein Schwerpunkt bei der Suche nach möglichen Zusammenhängen bleiben sollte [107]. Folgestudien sollten berücksichtigen, dass sich Pilzvorkommen möglicherweise von Raum zu Raum unterscheiden, da manche Autoren erhöhte Konzentrationen in bestimmten Zimmern nachweisen konnten [3]. Um Pilzvorkommen in der häuslichen Umgebung also besser darstellen zu können, sollte im Idealfall jeder Raum Ausgangspunkt ausgiebiger Vergleichsmessungen sein. Die Durchführung von punktuellen Luftkeimsammlungen in Kombination mit „gravity plates“ und Staubanalysen scheint sinnvoll, da auf diese Weise temporäre Spitzenkonzentrationen und längere Zeitabschnitte abgebildet werden können. Sorgfältiges Sammeln von Wetterdaten und genaue Erörterung möglicher Pilzquellen in der häuslichen Umgebung durch Interviews mit den Patienten in Bezug auf Lüftungsgewohnheiten, Hygiene und Verhaltensweisen wie z.B. Rauchen versprechen eine bessere Ergebnisqualität [132]. Nicht unterlassen werden darf dabei die intensive Begutachtung des Wohnbereiches mit Dokumentation des Interieurs und möglicher Schimmelpilzvorkommen an den Wänden.

## 7 Zusammenfassung

### Häusliche Schimmelpilzvorkommen bei immunsupprimierten Patienten

von Bernd Jakob

Aus dem Zentrum für Innere Medizin der Universität zu Köln, Klinik und Poliklinik für Innere Medizin I, Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. M. Hallek

Die Inzidenz invasiver Pilzinfektionen durch *Aspergillus* spp. stieg in den letzten 20 Jahren aufgrund des Wachstums der Risikogruppen an, da immer mehr Patienten mit fortschrittlichen, immunsupprimierenden Therapieregimen behandelt werden. Invasive Aspergillosen sind ein Hauptfaktor für Mortalität und Morbidität unter immunsupprimierten Patienten. Ungeklärt bei der Entwicklung der IA ist die für eine Erkrankung notwendige Sporen-Dosis und Expositionszeit und die Rolle der Exposition gegenüber *Aspergillus*-Sporen in der häuslichen Umgebung der Patienten. Wir untersuchten systematisch die Exposition gegenüber *Aspergillus*-Sporen im häuslichen Umfeld immunsupprimierter Patienten, um Unterschiede zwischen Patienten mit probable/proven aspergillosis und Patienten ohne Hinweise auf eine invasive Aspergillose zu finden. Durch einen Umgebungsscan mit Google Earth und mit Hilfe eines standardisierten Fragebogens wurden gemeinsam mit den Patienten mögliche Quellen erhöhter Pilzvorkommen in der häuslichen Umgebung identifiziert. Anschließend führten wir Luftkeimsammlungen im Wohnraum und Außenbereich der häuslichen Umgebung zu zwei unterschiedlichen Zeiten im Abstand von ca. einer Woche durch. Einschlusskriterien waren Neutropenie und durchgeführter Galactomannan-Antigen-Test aus Bronchoalveolärer Lavage oder Serum. Die *Aspergillus*-Kulturen wurden nach makroskopischen Gesichtspunkten auf den Agarplatten identifiziert und die Anzahl der Koloniebildenden Einheiten (KBE) erfasst. In dieser Pilotstudie konnten wir bestätigen, dass Sporen von *Aspergillus* spp. ubiquitär vorkommen. Wir konnten zeigen, dass sich die Sporenkonzentrationen in den häuslichen Umgebungen von Patienten mit probable/proven aspergillosis und bei Patienten ohne Hinweise auf Aspergillose nicht signifikant unterscheiden. Es ist daher fraglich, ob Patienten im häuslichen Umfeld erkranken und ob IA durch expositionsprophylaktische Maßnahmen im häuslichen Umfeld verhindert werden können. Größere Studien oder wiederholte Testung sollten die Ergebnisse unseres Pilotprojekts bestätigen.

## 8 Literaturverzeichnis

1. Amend, A.S., et al., *Indoor fungal composition is geographically patterned and more diverse in temperate zones than in the tropics*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. **107**(31): p. 13748-53.
2. Mullins, J., R. Harvey, and A. Seaton, *Sources and incidence of airborne Aspergillus fumigatus (Fres)*. Clin Allergy, 1976. **6**(3): p. 209-17.
3. Anaissie, E.J., et al., *Pathogenic Aspergillus species recovered from a hospital water system: a 3-year prospective study*. Clin Infect Dis, 2002. **34**(6): p. 780-9.
4. Klich, M.A., *Biogeography of Aspergillus species in soil and litter*. Mycologia, 2002. **94**(1): p. 21-7.
5. Samson, R.A., and A. S. Van Reenen-Hoekstra, *Introduction to food-borne fungi*. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Delft, The Netherlands, 1988: p. 70.
6. Schaffner, A., H. Douglas, and A. Braude, *Selective protection against conidia by mononuclear and against mycelia by polymorphonuclear phagocytes in resistance to Aspergillus. Observations on these two lines of defense in vivo and in vitro with human and mouse phagocytes*. J Clin Invest, 1982. **69**(3): p. 617-31.
7. Philippe, B., et al., *Killing of Aspergillus fumigatus by alveolar macrophages is mediated by reactive oxidant intermediates*. Infect Immun, 2003. **71**(6): p. 3034-42.
8. Gerson, S.L., et al., *Invasive pulmonary aspergillosis in adult acute leukemia: clinical clues to its diagnosis*. J Clin Oncol, 1985. **3**(8): p. 1109-16.
9. Patterson, T.F., et al., *Invasive aspergillosis. Disease spectrum, treatment practices, and outcomes*. I3 Aspergillus Study Group. Medicine (Baltimore), 2000. **79**(4): p. 250-60.
10. Wald, A., et al., *Epidemiology of Aspergillus infections in a large cohort of patients undergoing bone marrow transplantation*. J Infect Dis, 1997. **175**(6): p. 1459-66.
11. Perfect, J.R., et al., *The impact of culture isolation of Aspergillus species: a hospital-based survey of aspergillosis*. Clin Infect Dis, 2001. **33**(11): p. 1824-33.
12. Marr, K.A., et al., *Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients*. Clin Infect Dis, 2002. **34**(7): p. 909-17.
13. Yeghen, T., et al., *Management of invasive pulmonary aspergillosis in hematology patients: a review of 87 consecutive cases at a single institution*. Clin Infect Dis, 2000. **31**(4): p. 859-68.
14. Fukuda, T., et al., *Risks and outcomes of invasive fungal infections in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants after nonmyeloablative conditioning*. Blood, 2003. **102**(3): p. 827-33.
15. Baddley, J.W., et al., *Factors associated with mortality in transplant patients with invasive aspergillosis*. Clin Infect Dis, 2010. **50**(12): p. 1559-67.
16. Singh, N. and D.L. Paterson, *Aspergillus infections in transplant recipients*. Clin Microbiol Rev, 2005. **18**(1): p. 44-69.

## Literaturverzeichnis

17. Cornely, O.A., et al., *Liposomal amphotericin B as initial therapy for invasive mold infection: a randomized trial comparing a high-loading dose regimen with standard dosing (AmBiLoad trial)*. Clin Infect Dis, 2007. **44**(10): p. 1289-97.
18. Chamilos, G., et al., *Invasive fungal infections in patients with hematologic malignancies in a tertiary care cancer center: an autopsy study over a 15-year period (1989-2003)*. Haematologica, 2006. **91**(7): p. 986-9.
19. Groll, A.H., et al., *Trends in the postmortem epidemiology of invasive fungal infections at a university hospital*. J Infect, 1996. **33**(1): p. 23-32.
20. Denning, D.W., *Invasive aspergillosis*. Clin Infect Dis, 1998. **26**(4): p. 781-803; quiz 804-5.
21. Maertens, J., et al., *Advances in the serological diagnosis of invasive Aspergillus infections in patients with haematological disorders*. Mycoses, 2007. **50 Suppl 1**: p. 2-17.
22. Maschmeyer, G., A. Haas, and O.A. Cornely, *Invasive aspergillosis: epidemiology, diagnosis and management in immunocompromised patients*. Drugs, 2007. **67**(11): p. 1567-601.
23. Gerson, S.L., et al., *Prolonged granulocytopenia: the major risk factor for invasive pulmonary aspergillosis in patients with acute leukemia*. Ann Intern Med, 1984. **100**(3): p. 345-51.
24. Muhlemann, K., et al., *Risk factors for invasive aspergillosis in neutropenic patients with hematologic malignancies*. Leukemia, 2005. **19**(4): p. 545-50.
25. Cornely, O.A., et al., *Risk factors for breakthrough invasive fungal infection during secondary prophylaxis*. J Antimicrob Chemother, 2008. **61**(4): p. 939-46.
26. Schwartz, R.S., et al., *Multivariate analysis of factors associated with invasive fungal disease during remission induction therapy for acute myelogenous leukemia*. Cancer, 1984. **53**(3): p. 411-9.
27. Baddley, J.W., et al., *Invasive mold infections in allogeneic bone marrow transplant recipients*. Clin Infect Dis, 2001. **32**(9): p. 1319-24.
28. Cordonnier, C., et al., *Prognostic factors for death due to invasive aspergillosis after hematopoietic stem cell transplantation: a 1-year retrospective study of consecutive patients at French transplantation centers*. Clin Infect Dis, 2006. **42**(7): p. 955-63.
29. Morgan, J., et al., *Incidence of invasive aspergillosis following hematopoietic stem cell and solid organ transplantation: interim results of a prospective multicenter surveillance program*. Med Mycol, 2005. **43 Suppl 1**: p. S49-58.
30. Minari, A., et al., *The incidence of invasive aspergillosis among solid organ transplant recipients and implications for prophylaxis in lung transplants*. Transpl Infect Dis, 2002. **4**(4): p. 195-200.
31. Denning, D.W., et al., *Pulmonary aspergillosis in the acquired immunodeficiency syndrome*. N Engl J Med, 1991. **324**(10): p. 654-62.
32. Aisner, J., et al., *Invasive aspergillosis in acute leukemia: correlation with nose cultures and antibiotic use*. Ann Intern Med, 1979. **90**(1): p. 4-9.
33. Walsh, T.J., J. Hiemenz, and P.A. Pizzo, *Evolving risk factors for invasive fungal infections--all neutropenic patients are not the same*. Clin Infect Dis, 1994. **18**(5): p. 793-8.
34. Fisher, B.D., et al., *Invasive aspergillosis. Progress in early diagnosis and treatment*. Am J Med, 1981. **71**(4): p. 571-7.
35. McNeil, M.M., et al., *Trends in mortality due to invasive mycotic diseases in the United States, 1980-1997*. Clin Infect Dis, 2001. **33**(5): p. 641-7.

## Literaturverzeichnis

36. Lass-Flörl, C., et al., *Pulmonary Aspergillus colonization in humans and its impact on management of critically ill patients*. Br J Haematol, 1999. **104**(4): p. 745-7.
37. Horvath, J.A. and S. Dummer, *The use of respiratory-tract cultures in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis*. Am J Med, 1996. **100**(2): p. 171-8.
38. Oczenski, W., *Atmen-Atemhilfen Atemphysiologie und Beatmungstechnik*. Thieme Verlag, 2012. **9. Überarbeitete Auflage**.
39. Diamond, R.D., et al., *Damage to hyphal forms of fungi by human leukocytes in vitro. A possible host defense mechanism in aspergillosis and mucormycosis*. Am J Pathol, 1978. **91**(2): p. 313-28.
40. Segal, B.H., et al., *Aspergillus nidulans infection in chronic granulomatous disease*. Medicine (Baltimore), 1998. **77**(5): p. 345-54.
41. Annaix, V., et al., *Specific binding of human fibrinogen fragment D to Aspergillus fumigatus conidia*. Infect Immun, 1992. **60**(5): p. 1747-55.
42. Bouchara, J.P., et al., *Sialic acid-dependent recognition of laminin and fibrinogen by Aspergillus fumigatus conidia*. Infect Immun, 1997. **65**(7): p. 2717-24.
43. Mullbacher, A. and R.D. Eichner, *Immunosuppression in vitro by a metabolite of a human pathogenic fungus*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1984. **81**(12): p. 3835-7.
44. Kothary, M.H., T. Chase, Jr., and J.D. Macmillan, *Correlation of elastase production by some strains of Aspergillus fumigatus with ability to cause pulmonary invasive aspergillosis in mice*. Infect Immun, 1984. **43**(1): p. 320-5.
45. van der Linden, J.W., et al., *Aspergillosis due to Voriconazole Highly Resistant Aspergillus fumigatus and Recovery of Genetically Related Resistant Isolates From Domiciles*. Clin Infect Dis, 2013. **57**(4): p. 513-20.
46. Sutton, D.A., et al., *In vitro amphotericin B resistance in clinical isolates of Aspergillus terreus, with a head-to-head comparison to voriconazole*. J Clin Microbiol, 1999. **37**(7): p. 2343-5.
47. Iwen, P.C., et al., *Invasive pulmonary aspergillosis due to Aspergillus terreus: 12-year experience and review of the literature*. Clin Infect Dis, 1998. **26**(5): p. 1092-7.
48. Ng, T.T., G.D. Robson, and D.W. Denning, *Hydrocortisone-enhanced growth of Aspergillus spp.: implications for pathogenesis*. Microbiology, 1994. **140 ( Pt 9)**: p. 2475-9.
49. Alastruey-Izquierdo, A., E. Mellado, and M. Cuenca-Estrella, *Current section and species complex concepts in Aspergillus: recommendations for routine daily practice*. Ann N Y Acad Sci, 2012. **1273**: p. 18-24.
50. Samson, R.A., S.B. Hong, and J.C. Frisvad, *Old and new concepts of species differentiation in Aspergillus*. Medical Mycology, 2006. **44**: p. S133-S148.
51. Klich, M.A., *Identification of clinically relevant aspergilli*. Medical Mycology, 2006. **44**.
52. Mullins, J., R. Harvey, and A. Seaton, *Sources and Incidence of Airborne Aspergillus-Fumigatus (Fres)*. Clin Allergy, 1976. **6**(3): p. 209-217.
53. Pagano, L., et al., *The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM-2004 study*. Haematologica, 2006. **91**(8): p. 1068-75.

## Literaturverzeichnis

54. Balajee, S.A., et al., *Molecular identification of Aspergillus species collected for the Transplant-Associated Infection Surveillance Network*. J Clin Microbiol, 2009. **47**(10): p. 3138-41.
55. Subira, M., et al., *Clinical applicability of the new EORTC/MSG classification for invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematological malignancies and autopsy-confirmed invasive aspergillosis*. Ann Hematol, 2003. **82**(2): p. 80-2.
56. Weiland, D., et al., *Aspergillosis in 25 renal transplant patients. Epidemiology, clinical presentation, diagnosis, and management*. Ann Surg, 1983. **198**(5): p. 622-9.
57. Young, R.C., et al., *Aspergillosis. The spectrum of the disease in 98 patients*. Medicine (Baltimore), 1970. **49**(2): p. 147-73.
58. Albelda, S.M., et al., *Pulmonary cavitation and massive hemoptysis in invasive pulmonary aspergillosis. Influence of bone marrow recovery in patients with acute leukemia*. Am Rev Respir Dis, 1985. **131**(1): p. 115-20.
59. Lionakis, M.S. and D.P. Kontoyiannis, *Glucocorticoids and invasive fungal infections*. Lancet, 2003. **362**(9398): p. 1828-38.
60. Mulabecirovic, A., et al., *Pulmonary infiltrates in patients with haematologic malignancies: transbronchial lung biopsy increases the diagnostic yield with respect to neoplastic infiltrates and toxic pneumonitis*. Ann Hematol, 2004. **83**(7): p. 420-2.
61. Peikert, T., S. Rana, and E.S. Edell, *Safety, diagnostic yield, and therapeutic implications of flexible bronchoscopy in patients with febrile neutropenia and pulmonary infiltrates*. Mayo Clin Proc, 2005. **80**(11): p. 1414-20.
62. De Pauw, B., et al., *Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group*. Clin Infect Dis, 2008. **46**(12): p. 1813-21.
63. Maschmeyer, G., *Pneumonia in febrile neutropenic patients: radiologic diagnosis*. Curr Opin Oncol, 2001. **13**(4): p. 229-35.
64. Heussel, C.P., et al., *Pneumonia in febrile neutropenic patients and in bone marrow and blood stem-cell transplant recipients: use of high-resolution computed tomography*. J Clin Oncol, 1999. **17**(3): p. 796-805.
65. Caillot, D., et al., *Improved management of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients using early thoracic computed tomographic scan and surgery*. J Clin Oncol, 1997. **15**(1): p. 139-47.
66. Greene, R.E., et al., *Imaging findings in acute invasive pulmonary aspergillosis: clinical significance of the halo sign*. Clin Infect Dis, 2007. **44**(3): p. 373-9.
67. Caillot, D., et al., *Increasing volume and changing characteristics of invasive pulmonary aspergillosis on sequential thoracic computed tomography scans in patients with neutropenia*. J Clin Oncol, 2001. **19**(1): p. 253-9.
68. Eibel, R., et al., *Pulmonary abnormalities in immunocompromised patients: comparative detection with parallel acquisition MR imaging and thin-section helical CT*. Radiology, 2006. **241**(3): p. 880-91.
69. Miyazaki, T., et al., *Plasma (1-->3)-beta-D-glucan and fungal antigenemia in patients with candidemia, aspergillosis, and cryptococcosis*. J Clin Microbiol, 1995. **33**(12): p. 3115-8.

## Literaturverzeichnis

70. Latge, J.P., et al., *Chemical and immunological characterization of the extracellular galactomannan of Aspergillus fumigatus*. Infect Immun, 1994. **62**(12): p. 5424-33.
71. Marty, F.M., et al., *(1->3)beta-D-glucan assay positivity in patients with Pneumocystis (carinii) jiroveci pneumonia*. Ann Intern Med, 2007. **147**(1): p. 70-2.
72. Odabasi, Z., et al., *Beta-D-glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: validation, cutoff development, and performance in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome*. Clin Infect Dis, 2004. **39**(2): p. 199-205.
73. Maertens, J., et al., *Screening for circulating galactomannan as a noninvasive diagnostic tool for invasive aspergillosis in prolonged neutropenic patients and stem cell transplantation recipients: a prospective validation*. Blood, 2001. **97**(6): p. 1604-10.
74. Brownback, K.R., L.R. Pitts, and S.Q. Simpson, *Utility of galactomannan antigen detection in bronchoalveolar lavage fluid in immunocompromised patients*. Mycoses, 2013. **56**(5): p. 552-8.
75. Danpornprasert, P., S. Foongladda, and J. Tscheikuna, *Impact of bronchoalveolar lavage galactomannan on the outcome of patients at risk for invasive pulmonary aspergillosis*. J Med Assoc Thai, 2010. **93** **Suppl 1**: p. S86-93.
76. Petraitiene, R., et al., *Antifungal activity and pharmacokinetics of posaconazole (SCH 56592) in treatment and prevention of experimental invasive pulmonary aspergillosis: correlation with galactomannan antigenemia*. Antimicrob Agents Chemother, 2001. **45**(3): p. 857-69.
77. Aubry, A., et al., *Occurrence and kinetics of false-positive Aspergillus galactomannan test results following treatment with beta-lactam antibiotics in patients with hematological disorders*. J Clin Microbiol, 2006. **44**(2): p. 389-94.
78. Stynen, D., et al., *Rat monoclonal antibodies against Aspergillus galactomannan*. Infect Immun, 1992. **60**(6): p. 2237-45.
79. Racil, Z., et al., *Intravenous PLASMA-LYTE as a major cause of false-positive results of platelia Aspergillus test for galactomannan detection in serum*. J Clin Microbiol, 2007. **45**(9): p. 3141-2.
80. Surmont, I. and W. Stockman, *Gluconate-containing intravenous solutions: another cause of false-positive galactomannan assay reactivity*. J Clin Microbiol, 2007. **45**(4): p. 1373.
81. Blum, G., et al., *A 1-year Aspergillus terreus surveillance study at the University Hospital of Innsbruck: molecular typing of environmental and clinical isolates*. Clin Microbiol Infect, 2008. **14**(12): p. 1146-51.
82. Oren, I., et al., *Invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients during hospital construction: before and after chemoprophylaxis and institution of HEPA filters*. Am J Hematol, 2001. **66**(4): p. 257-62.
83. Cornet, M., et al., *Efficacy of prevention by high-efficiency particulate air filtration or laminar airflow against Aspergillus airborne contamination during hospital renovation*. Infect Control Hosp Epidemiol, 1999. **20**(7): p. 508-13.
84. Arnow, P.M., et al., *Endemic and epidemic aspergillosis associated with in-hospital replication of Aspergillus organisms*. J Infect Dis, 1991. **164**(5): p. 998-1002.
85. Meunier, F., *Prevention and mycoses in immunocompromised patients*. Rev Infect Dis, 1987. **9**(2): p. 408-16.



## Literaturverzeichnis

86. Opal, S.M., et al., *Efficacy of infection control measures during a nosocomial outbreak of disseminated aspergillosis associated with hospital construction*. J Infect Dis, 1986. **153**(3): p. 634-7.
87. Carter, C.D. and B.A. Barr, *Infection control issues in construction and renovation*. Infect Control Hosp Epidemiol, 1997. **18**(8): p. 587-96.
88. Nolard, N., *Ecology of Aspergillus Species in the Human Environment*. 1988: p. 35-41.
89. Beyer, J., et al., *Strategies in prevention of invasive pulmonary aspergillosis in immunosuppressed or neutropenic patients*. Antimicrob Agents Chemother, 1994. **38**(5): p. 911-7.
90. Walsh, T.J. and D.M. Dixon, *Nosocomial aspergillosis: environmental microbiology, hospital epidemiology, diagnosis and treatment*. Eur J Epidemiol, 1989. **5**(2): p. 131-42.
91. Blum, G., et al., *Airborne fungus exposure prior to hospitalisation as risk factor for mould infections in immunocompromised patients*. Mycoses, 2012. **55**(3): p. 237-43.
92. Guinea, J., et al., *Outdoor environmental levels of Aspergillus spp. conidia over a wide geographical area*. Med Mycol, 2006. **44**(4): p. 349-56.
93. Panackal, A.A., et al., *Geoclimatic influences on invasive aspergillosis after hematopoietic stem cell transplantation*. Clin Infect Dis, 2010. **50**(12): p. 1588-97.
94. Shelton, B.G., et al., *Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States*. Appl Environ Microbiol, 2002. **68**(4): p. 1743-53.
95. Ruping, M.J., et al., *Environmental and clinical epidemiology of Aspergillus terreus: data from a prospective surveillance study*. J Hosp Infect, 2011. **78**(3): p. 226-30.
96. Mullins, J., P.S. Hutcheson, and R.G. Slavin, *Aspergillus fumigatus spore concentration in outside air: Cardiff and St Louis compared*. Clin Allergy, 1984. **14**(4): p. 351-4.
97. Fairs, A., et al., *Guidelines on ambient intramural airborne fungal spores*. J Investig Allergol Clin Immunol, 2010. **20**(6): p. 490-8.
98. Kontoyiannis, D.P., *Preventing fungal disease in chronically immunosuppressed outpatients: time for action?* Ann Intern Med, 2013. **158**(7): p. 555-6.
99. Gerson, S.L., et al., *Aspergillosis Due to Carpet Contamination*. Infection Control and Hospital Epidemiology, 1994. **15**(4): p. 221-223.
100. Staib, F., *Ecological and epidemiological aspects of aspergilli pathogenic for man and animal in Berlin (West)*. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A, 1984. **257**(2): p. 240-5.
101. Fischer, G. and W. Dott, *Relevance of airborne fungi and their secondary metabolites for environmental, occupational and indoor hygiene*. Arch Microbiol, 2003. **179**(2): p. 75-82.
102. Woodcock, A.A., et al., *Fungal contamination of bedding*. Allergy, 2006. **61**(1): p. 140-2.
103. Kagen, S.L., et al., *Marijuana smoking and fungal sensitization*. J Allergy Clin Immunol, 1983. **71**(4): p. 389-93.
104. Szyper-Kravitz, M., et al., *Early invasive pulmonary aspergillosis in a leukemia patient linked to aspergillus contaminated marijuana smoking*. Leuk Lymphoma, 2001. **42**(6): p. 1433-7.

## Literaturverzeichnis

105. Hamadeh, R., et al., *Fatal aspergillosis associated with smoking contaminated marijuana, in a marrow transplant recipient*. Chest, 1988. **94**(2): p. 432-3.
106. Verhoeff, A.P. and H.A. Burge, *Health risk assessment of fungi in home environments*. Ann Allergy Asthma Immunol, 1997. **78**(6): p. 544-54; quiz 555-6.
107. Rocchi, S., et al., *Evaluation of invasive aspergillosis risk of immunocompromised patients alternatively hospitalized in hematology intensive care unit and at home*. Indoor Air, 2014. **24**(6): p. 652-61.
108. Nesa, D., et al., *Comparative performance of impactor air samplers for quantification of fungal contamination*. J Hosp Infect, 2001. **47**(2): p. 149-55.
109. Ambrose, D., E. Barbotte, and P. Hartemann, *Comparing microbial performance of impactor air samplers: an uneasy task*. J Hosp Infect, 2002. **51**(2): p. 145-6.
110. Engelhart, S., et al., *Air sampling of Aspergillus fumigatus and other thermotolerant fungi: comparative performance of the Sartorius MD8 airport and the Merck MAS-100 portable bioaerosol sampler*. Int J Hyg Environ Health, 2007. **210**(6): p. 733-9.
111. Bellanger, A.P., et al., *Contribution of a cyclonic-based liquid air collector for detecting Aspergillus fumigatus by QPCR in air samples*. J Occup Environ Hyg, 2012. **9**(1): p. D7-D11.
112. Tavora, L.G., et al., *Comparative performance of two air samplers for monitoring airborne fungal propagules*. Braz J Med Biol Res, 2003. **36**(5): p. 613-6.
113. Portnoy, J.M., C.S. Barnes, and K. Kennedy, *Sampling for indoor fungi*. J Allergy Clin Immunol, 2004. **113**(2): p. 189-98; quiz 199.
114. Latge, J.P., *Aspergillus fumigatus and aspergillosis*. Clin Microbiol Rev, 1999. **12**(2): p. 310-50.
115. Guinea, J., et al., *Evaluation of Czapeck agar and Sabouraud dextrose agar for the culture of airborne Aspergillus conidia*. Diagn Microbiol Infect Dis, 2005. **53**(4): p. 333-4.
116. O'Gorman, C.M., *Airborne Aspergillus fumigatus conidia: a risk factor for aspergillosis*. Fungal Biol, 2011. **25**(3): p. 151-157.
117. Sehulster, L. and R.Y. Chinn, *Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. Recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC)*. MMWR Recomm Rep, 2003. **52**(RR-10): p. 1-42.
118. Hudson, H.J., *Thermophilous and thermotolerant fungi in the air spora at Cambridge*. Trans. Brit. Mycol. Soc., 1973. **60**: p. 596-598.
119. Jones, B.L. and J.T. Cookson, *Natural atmospheric microbial conditions in a typical suburban area*. Appl Environ Microbiol, 1983. **45**(3): p. 919-34.
120. Solomon, W.R., H.P. Burge, and J.R. Boise, *Airborne Aspergillus-Fumigatus Levels Outside and within a Large Clinical Center*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 1978. **62**(1): p. 56-60.
121. Boff, C., et al., *The indoor air as a potential determinant of the frequency of invasive aspergillosis in the intensive care*. Mycoses, 2013. **56**(5): p. 527-31.
122. Hospenthal, D.R., K.J. Kwon-Chung, and J.E. Bennett, *Concentrations of airborne Aspergillus compared to the incidence of invasive aspergillosis: lack of correlation*. Med Mycol, 1998. **36**(3): p. 165-8.
123. O'Gorman, C.M., *Prevalence of culturable airborne spores of selected allergenic and pathogenic fungi in outdoor air*. 2008.

## Literaturverzeichnis

124. Barnes, R.A. and T.R. Rogers, *Control of an outbreak of nosocomial aspergillosis by laminar air-flow isolation*. J Hosp Infect, 1989. **14**(2): p. 89-94.
125. Sherertz, R.J., et al., *Impact of air filtration on nosocomial Aspergillus infections. Unique risk of bone marrow transplant recipients*. Am J Med, 1987. **83**(4): p. 709-18.
126. Rhame, F.S., *Prevention of nosocomial aspergillosis*. J Hosp Infect, 1991. **18 Suppl A**: p. 466-72.
127. Dales, R.E., D. Miller, and J. White, *Testing the association between residential fungus and health using ergosterol measures and cough recordings*. Mycopathologia, 1999. **147**(1): p. 21-7.
128. Iwen, P.C., et al., *Airborne fungal spore monitoring in a protective environment during hospital construction, and correlation with an outbreak of invasive aspergillosis*. Infect Control Hosp Epidemiol, 1994. **15**(5): p. 303-6.
129. Lortholary, O., et al., *Epidemiological trends in invasive aspergillosis in France: the SAIF network (2005-2007)*. Clin Microbiol Infect, 2011. **17**(12): p. 1882-9.
130. Anaissie, E.J. and S.F. Costa, *Nosocomial aspergillosis is waterborne*. Clin Infect Dis, 2001. **33**(9): p. 1546-8.
131. Hope, W.W., T.J. Walsh, and D.W. Denning, *The invasive and saprophytic syndromes due to Aspergillus spp.* Med Mycol, 2005. **43 Suppl 1**: p. S207-38.
132. Nevalainen, A., M. Taubel, and A. Hyvarinen, *Indoor fungi: companions and contaminants*. Indoor Air, 2015. **25**(2): p. 125-56.

## 9 Lebenslauf

### **Persönliche Daten**

Name	Bernd Jakob
Geburtsdatum / Ort	31.03.1987 in Köln
Staatsangehörigkeit	Deutsch
Mutter	Uta Jakob, Arzthelferin
Vater	Khamis Jakob, Ingenieur der Elektrotechnik

### **Schulbildung**

08/1993 - 07/1997	Grundschule in Köln
08/1997 - 05/2006	Heinrich-Mann-Gymnasium in Köln
	Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

### **Wehrdienst**

07/2006 - 03/2007	Bundeswehr Grundwehrdienst
-------------------	----------------------------

### **Studium**

04/2007	Beginn des Medizinstudiums an der Universität zu Köln
03/2009	1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung („Physikum“)
06/2013	2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

### **Berufliche Tätigkeiten**

Seit 07/2014	Assistenzarzt in der Unfallchirurgie, KH Überlingen
12/2013 – 05/2014	Assistenzarzt der Chirurgie im Kantonsspital Frauenfeld