

**Diplomarbeit**

**Parvovirus B19 Infektion/Reaktivierung nach allogener  
Stammzelltransplantation im Kindes- und Jugendalter an  
der  
Klinischen Abteilung für pädiatrische Hämato-Onkologie,  
in den Jahren 2000 bis 2019.**

**Eine retrospektive Studie an 124 PatientInnen.**

eingereicht von

**Hildegard Friedrich**

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktorin der gesamten Heilkunde**

**(Dr. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der

**Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz  
Klinischen Abteilung für pädiatrische Hämato-/Onkologie**

unter der Anleitung von

**Priv.-Doz. Dr.<sup>in</sup> med. univ. Daniela Sperl**

**Dr. med. univ. Thomas Perwein**

## *Eidesstattliche Erklärung*

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

*Graz, am 04.05.2021*

*Hildegard Friedrich eh.*

## Danksagungen

Im Folgenden möchte ich an erster Stelle meiner Diplomarbeitsbetreuerin Frau PD Dr.<sup>in</sup> Daniela Sperl danken, die mir die Erarbeitung dieses Themas ermöglichte und mich bei allen organisatorischen und inhaltlichen Fragen stets geduldig unterstützte.

Weiterhin möchte ich Herrn Dr. Perwein und Herrn Prof. Volker Strenger danken, die sich immer wieder Zeit für Problemlösungen bei schwierigen Fragestellungen nahmen und die Bereitstellung von Daten ermöglichten.

Ebenso danke ich meinen Eltern, meinem Freund, meinem Bruder und meinen Freunden, die mich während der gesamten Zeit der Erstellung der Diplomarbeit motivierten und unterstützen.

# Inhaltsverzeichnis

Danksagungen .....	II
Inhaltsverzeichnis.....	III
Abkürzungen und deren Erklärung.....	VI
Abbildungsverzeichnis.....	VIII
Tabellenverzeichnis.....	IX
Zusammenfassung.....	X
Abstract.....	XII
1 Einleitung .....	1
1.1 Grundlagen der allogenen Stammzelltransplantation.....	1
1.1.1 Konditionierung.....	2
1.1.2 Engraftment.....	2
1.1.3 Komplikationen .....	3
1.1.4 Infektionen nach HSZT.....	4
1.2 Viruseigenschaften von <i>Parvovirus B19</i> .....	6
1.2.1 Klassifikation .....	6
1.2.2 Morphologie.....	6
1.2.3 Genom.....	6
1.2.4 Replikation.....	7
1.2.5 Kapsidproteine und Nicht-Strukturproteine.....	7
1.2.6 Pathogenese und Wirtszellbereich .....	8
1.2.7 Immunantwort.....	9
1.2.8 Epidemiologie und Übertragungswege .....	11
1.2.9 <i>PVB19</i> -Nachweismethoden.....	12
1.3 Klinische und pathologische Aspekte.....	12
1.3.1 Klinische Merkmale einer <i>PVB19</i> Infektion.....	12
1.3.2 Andere Krankheitsmanifestationen.....	13
1.3.3 Persistierende Infektionen und TransplantatempfängerInnen .....	14
1.3.4 Antivirale Therapie und Prophylaxe.....	15
1.4 Fragestellung .....	16

2	Material und Methoden.....	17
2.1	Literaturrecherche.....	17
2.2	Studiendesign .....	17
2.3	PatientInnenkollektiv und Fallserie.....	17
2.4	Nachweismethoden <i>PVB19</i> und Definitionen.....	18
2.5	Statistische Methoden.....	19
3	Ergebnisse .....	20
3.1	Demografische Charakteristik .....	20
3.2	Transplantationsdaten: hämatopoetische Stammzelltransplantation .....	23
3.2.1	Konditionierungs-Chemotherapie, Manipulation der Stammzellen, Stammzellquelle und Stammzelltyp .....	23
3.3	<i>PVB19</i> Screening vor HSZT .....	26
3.3.1	<i>PVB19</i> -Verlauf.....	27
3.3.2	<i>PVB19</i> 180-Tage Verlauf.....	27
3.3.3	<i>PVB19</i> Infektionskomplikationen .....	29
3.3.4	<i>PVB19</i> Therapie .....	29
3.3.5	Hb- und Retikulozyten-Verläufe.....	30
3.3.6	Zellulärer Verlauf, Immunologische Rekonstitution.....	34
3.4	GvHD und Koinfektionen.....	38
4	Diskussion.....	40
4.1	Einschränkungen dieser Studie .....	40
4.2	Inzidenz von <i>PVB19</i> .....	41
4.3	Medianes Alter bei <i>PVB19</i> -Infektion.....	46
4.4	Mortalität nach HSZT .....	46
4.5	Konditionierungs-Chemotherapie.....	46
4.6	Leukozytäres Engraftment und Blutprodukte .....	47
4.7	<i>PVB19</i> Nachweistag, -dauer und definiertes Ende .....	47
4.8	<i>PVB19</i> Infektions-assoziierte Komplikationen.....	48
4.9	<i>PVB19</i> Therapie.....	48

4.10	Hb-Werte, Retikulozytenzahl und immunologische Rekonstitution .....	49
4.11	GvHD und Koinfektionen.....	49
4.12	Fazit.....	50
5	Literaturverzeichnis.....	52

## Abkürzungen und deren Erklärung

ALL	Akute lymphoblastische Leukämie
ALPS	Autoimmun-lymphoproliferatives Syndrom
AML	Akute myeloische Leukämie
BKV	BK-Virus
CML	Chronische myeloische Leukämie
CMV	Cytomegalievirus
Cyclo A	Cyclosporin A
EBV	Ebstein-Barr-Virus
GvHD	Graft-versus-Host-Disease, Graft-versus-Host-Erkrankung
Hb	Hämoglobin
HLH	Hämophagozytische Lymphohistiozytose
HSCT, HSZT	Hämatopoetische Stammzelltransplantation
HSV	Herpes simplex Virus
IVIG	Intravenöse Immunglobuline
JCV	JC-Virus
JMML	Juvenile myelomonozytäre Anämie
KM	Knochenmark
KMT	Knochenmarktransplantation
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MMF	Mycophenolatmofetil
MMUD	Mismatched unrelated donor
MRD	Matched related donor
MUD	Matched unrelated donor
NHL	Non Hodgkin Lymphom
PBSC	Peripheral blood stem cells, periphere Blutstammzellen
PSCT	Peripheral stem cell transplantation, periphere Stammzelltransplantation
PCR	Polymerase chain reaction, Polymerasekettenreaktion
PVB19	Parvovirus B19
RSV	Respiratorisches Synzytial-Virus
rh-GCSF	humaner Granulozyten Kolonie-stimulierender Faktor
SAA	Schwere aplastische Anämie

SCID	Schwerer kombinierter Immundefekt
SCN	Schwere kongenitale Neutropenie
UCB	Nabelschnurblut
X-LPS	X-chromosomal vererbtes lymphoproliferatives Syndrom

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Prozentuale Verteilung PVB19-Infizierter im Verlauf von 6 Monaten nach HSZT. ....	28
Abbildung 2: Medianer Hb-Wert-Verlauf bis 6 Monate nach HSZT für die Beobachtungsgruppen PVB19 positiv und negativ.....	30
Abbildung 3: Medianer Retikulozyten [Promille]-Verlauf bis 6 Monate nach HSZT für die Beobachtungsgruppen PVB19 positiv und negativ.....	31
Abbildung 4: Absolute Retikulozytenzahl (Median) bis 6 Monate nach HSZT für die Beobachtungsgruppen PVB19 positiv und negativ.....	32
Abbildung 5: NK-Zellen-Verlauf bis 6 Monate nach HSZT für die beiden Beobachtungsgruppen. ....	34
Abbildung 6: CD3 <sup>+</sup> -Zellen Verlauf bis 6 Monate nach HSZT für die beiden Beobachtungsgruppen. ....	35
Abbildung 7: CD3/4-Zellen Verlauf bis 6 Monate nach HSZT für die beiden Beobachtungsgruppen. ....	35
Abbildung 8: CD3/8-Zellen Verlauf bis 6 Monate nach HSZT für die beiden Beobachtungsgruppen. ....	36

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Konditionierungsregime vor Stammzelltransplantation nach DAG-KBT 2016 (13,14,17,18). .....	2
Tabelle 2: Immunrekonstitution nach HSZT nach Talekar et al. 2017 (24).....	5
Tabelle 3: Infektionsphasen nach allo-HSZT nach Einsele et al. 2001 (23). .....	5
Tabelle 4: Eingesetzte statistische Testverfahren. ....	19
Tabelle 5: Demografische Statistik. ....	21
Tabelle 6: Einteilung der Grunderkrankungen. ....	22
Tabelle 7: Art der Grunderkrankungen der Studienpopulation nach Gruppeneinteilung. ....	22
Tabelle 8: Transplantationsdaten nach Gruppeneinteilung. ....	26
Tabelle 9: Charakteristika der <i>PVB19</i> -Infektionen. ....	27
Tabelle 10: <i>PVB19</i> assoziierte Komplikationen im HSZT-Verlauf. ....	29
Tabelle 11: <i>PVB19</i> Therapie. ....	30
Tabelle 12: Darstellung der einzelnen medianen Hb-Werte und Retikulozytenzahlen in den unterschiedlichen Zeitintervallen nach HSZT. ....	33
Tabelle 13: Darstellung der zellulären Verläufe der immunologischen Rekonstitution über die Zeitintervalle nach HSZT. ....	37
Tabelle 14: Häufigkeit von GvHD und Koinfektionen nach <i>PVB19</i> -Gruppeneinteilung. ....	39
Tabelle 15: Studienvergleich. ....	45

# Zusammenfassung

## Hintergrund:

Eine Infektion mit *Parvovirus B19* (*PVB19*) kann bei Immunsupprimierten zu schweren chronischen Anämien, Panzytopenien und schließlich zu einem komplizierten Verlauf einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation (HSZT) führen. In dieser Studie soll die Häufigkeit von *PVB19*-Infektionen im Kindes- und Jugendalter nach allogener HSZT betrachtet werden. Daneben soll die Auswirkung auf den Posttransplantationsverlauf und mögliche klinische Manifestationen (Verlauf der Hämoglobinwerte, Verlauf der Retikulozytenzahlen und Verlauf der immunologischen Rekonstitution) in Beobachtungsgruppen mit und ohne *PVB19* Infektion untersucht werden. Außerdem gilt es, eventuelle Zusammenhänge zwischen Transplantationsdaten (Konditionierungstherapie, Stammzellmanipulation, Stammzellquelle und Stammzelltyp) und dem Auftreten einer *PVB19*-Infektion darzustellen.

## Material und Methoden:

Für diese Studie wurden demografische, transplantations-spezifische und laborchemischen Daten aus elektronischen und archivierten Krankenakten von allen 124 Kindern und Jugendlichen verarbeitet, die im Zeitraum vom 01.01.2000 bis 01.06.2019 an der Abteilung für Pädiatrische Hämato-Onkologie der Univ. Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde der Medizinischen Universität Graz eine allogene Stammzelltransplantation erhielten. Die PCR-Screenings auf *PVB19* fanden in den ersten 4 Monaten wöchentlich und danach zwei- bis achtwöchentlich statt.

## Ergebnisse:

Bei 9 (6,25 %) aus 144 Posttransplantationsverläufen wurde *PVB19* DNA nachgewiesen. Zusammenhänge zwischen den Transplantationsdaten und dem Auftreten einer *PVB19*-Infektion konnten nicht hergestellt werden. Bei ca. 2/3 der nachgewiesenen *PVB19*-Infektionen konnten keine spezifischen Symptome beobachtet werden. Der Nachweis einer *PVB19*-Infektion erfolgte im Median nach 66 [(6 - 113)] Tagen nach HSZT. Im Median blieb die Infektion im HSZT-Verlauf nur einmal nachweisbar und war im Median nach dem 89. Tag nach HSZT nicht mehr nachzuweisen. Es konnten keine signifikanten Unterschiede der Hb- und Retikulozytenwerte zwischen den Beobachtungsgruppen festgestellt werden. PatientInnen mit einer *PVB19*-Infektion zeigten keine verzögerte immunologische Rekonstitution nach HSZT.

## Schlussfolgerung:

Eine Infektion mit *PVB19* kommt im Posttransplantationsverlauf einer HSZT bei Kindern- und Jugendlichen in der vorliegenden Studie mit einer Inzidenz von 6,25 % selten vor. Bei 66,6 % der positiven *PVB19*-Fälle konnte kein negativer Einfluss auf den Posttransplantationsverlauf festgestellt werden. Bei 33,4 % konnte kein nachweislicher Zusammenhang zwischen einer *PVB19*-Infektion und auftretenden Komplikationen wie Panzytopenie und einem fehlenden Engraftment hergestellt werden.

## **Abstract**

### **Background:**

*Parvovirus B19 (PVB19)* infection can lead to severe anaemia or pancytopenia and may have a negative impact on the outcome of haematopoietic stem cell transplantations (HSCT). The present study investigates the incidence and clinical spectrum (influence on Hb-value and reticulocyte counts) of *PVB19* infections among paediatric patients after allogeneic HSCT. Moreover, transplant-associated data is examined in order to find out which parameters may influence the possibility of an infection.

### **Material and methods:**

This retrospective study included demographic data, transplant-associated data/follow-up data and laboratory tests (clinical material) of the interest groups for six months after HSCT. These data were derived of medical files of a total of 124 paediatric patients that underwent allogeneic HSCT between 01.01.2000 and 01.06.2019 at the Division of Paediatric Haematology/Oncology, Department of Paediatrics and Adolescent Medicine, Medical University of Graz.

*PVB19* screening was performed weekly in the first 4 months after HSCT. After that time, screening was done every 2-8 weeks.

### **Results:**

*PVB19* infections occurred in 9 out of 144 (6,25 %) posttransplant courses within the first 6 months after allogeneic HSCT. The treatment before HSCT showed to have no effect on the occurrence of *PVB19* infections. About two thirds of *PVB19* positive posttransplant courses showed no specific signs or symptoms of an infection. *PVB19* infection was detected 66 days (median) after HSCT. The median showed that *PVB19* infections were only once detectable in the period of 6 months after HSCT. There were no significant differences between *PVB19* positive and negative cases concerning haemoglobin values and reticulocyte counts. Furthermore, there was no evidence of delayed immunological recovery when infected.

### **Conclusion:**

*PVB19* infection is not frequently in the posttransplant course after allogeneic HSCT (incidence 6,25 %). In the majority of *PVB19* positive posttransplant courses (66,6 %), *PVB19* infections had no negative impact regarding complications and immunologic recovery. In 33,4 % of *PVB19* positive posttransplant courses, complications after HSCT cannot be proofed to have been caused by an *PVB19* infection.

# 1 Einleitung

## 1.1 Grundlagen der allogenen Stammzelltransplantation

Ziel der allogenen Stammzelltransplantation ist es, ein voll funktionsfähiges „gesundes“ hämatopoetisches System durch die Transplantation von pluripotenten hämatopoetischen Progenitorzellen eines Fremdspenders herzustellen (1,2). Einsatz findet dieses Verfahren bei vielen malignen (ALL, AML, CML) und nicht-malignen Erkrankungen (Stoffwechselerkrankungen, Knochenmarkversagen) (1).

Laut EBMT 2019 wurden in den letzten 5 Jahren mehr als 35.000 PatientInnen jährlich mit einer Stammzelltransplantation behandelt (2).

Die hämatopoetischen Stammzellen stammen aus dem Knochenmark, aus dem peripherem Blut oder aus Plazenta-/Nabelschnurrestblut (1,3). Das Oberflächenantigen CD34 dient als Marker dieser Zellen (4,5).

Die Gewinnung der Stammzellen aus peripherem Blut erfolgt durch eine Vorstimulierung des Knochenmarks mit rekombinantem humanen Granulozyten-Kolonie-stimulierenden Faktoren (rh-GCSF), woraufhin die Stammzellen aus dem Knochenmark freigesetzt werden (1,3). Zur Freisetzung der Stammzellen wird bei autologen hämatopoetischen Stammzelltransplantationen (HSZT) neben rh-GCSF der Chemokinrezeptor CXCR4-Antagonist (CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4-Antagonist) *Plerixafor* eingesetzt, der einer Interaktion mit dem Chemokin SDF-1 alpha (stromal cell-derived factor) entgegenwirkt (6,7). In kürzerer Zeit können so die nötigen CD34+ Zellen gewonnen werden (6,7). In der folgenden Stammzellapherese können dann die mononukleären Zellen gewonnen werden. Dieses Verfahren liefert, im Vergleich zu Knochenmark-Stammzellen, 10- bis 20-mal mehr Stammzellen und 10-mal mehr T-Zellen. Weiterhin ist bei Stammzellen aus peripherem Blut eine HLA-Kompatibilität nicht unbedingt erforderlich. (1,3)

Durch Transplantation von hochangereicherten, selektionierten CD34<sup>+</sup>-Zellen können HLA-Barrieren überwunden werden und durch eine mit der Selektion verbundene indirekte T-Zell-Depletion (CD3<sup>+</sup> T-Zellen) wird bei HLA-Mismatch das Risiko einer GvHD vermindert (8–10).

In der Pädiatrie wird Plazenta-/Nabelschnurrestblut zur Stammzellgewinnung selten eingesetzt. Grund für den seltenen Einsatz ist die geringe Ausbeute an CD34<sup>+</sup> Zellen und eine verzögerte hämatopoetische Regeneration. (1)

Heute werden hauptsächlich periphere Blutstammzellen transplantiert. (1,2,11)

### 1.1.1 Konditionierung

Vor allem die Konditionierung vor einer HSZT birgt Risiken. Dazu zählen Infektionen mit Viren, Bakterien und Pilzen, welche den immunsupprimierten PatientInnen die Genesung und in manchen Fällen das Überleben nach HSZT erschweren (12). In der Frühphase nach Transplantation gehören die genannten Infektionen zu den wichtigsten Todesursachen neben einem Rezidiv der Grunderkrankung und der Graft-versus-Host-Disease (GvHD) (12).

Die Konditionierung erfolgt mittels Chemotherapie bzw. Ganzkörperbestrahlung mit oder ohne Chemotherapie. Sie dauert zwischen 6 und 13 Tage. Heute findet die Konditionierung überwiegend in reduzierter oder minimaler Form statt, um Komplikationen zu vermindern. (1,13)

Die klassische Hochdosis-Konditionierung bzw. Radio-/Chemotherapie soll die Immunsuppression und die Myeloablation bei den TransplantatempfängerInnen einleiten und hat wegen des zytotoxischen Effekts eine antileukämische Wirkung (1,13). Nach der Konditionierung kommt es zum Untergang der Empfängerhämopoese und zu einem Immunitätsverlust (1,14).

In Tabelle 1 sind die unterschiedlichen Konditionierungsregime beschrieben.

<i>Form</i>	<i>Präparateinsatz</i>	<i>Substanzen</i>
<b>Myeloablatives Regime (MA) ("Standardkonditionierung")</b>	Alkylierende Substanzen (allein/Kombination) mit oder ohne Ganzkörperbestrahlung; irreversible Knochenmarksschädigung; Stammzellsupport notwendig	TBI (Ganzkörperbestrahlung) Cyclophosphamid; BU (Busulfan) (15,16)
<b>Nicht-Myeloablatives Regime (NMA)</b>	Minimale Hämatotoxizität; wenig Zytostatika; Antikörpertherapie; kein Stammzellsupport nötig	TBI Flu (Fludarabine)+ Cy (Cyclophosphamid) +/-ATG (Antithymozytenglobulin; Flu+AraC (Cytarabin)+Ida (Idarubicin); Cladribin+AraC; Lymphoidbestrahlung total + ATG
<b>Intensitätsreduzierte Regime</b>	Stammzellsupport nötig; unterschiedliche Dosisintensitäten der Chemo-/Strahlentherapie	Weder myeloablativ noch nicht-myeloablativ

**Tabelle 1: Konditionierungsregime vor Stammzelltransplantation nach DAG-KBT 2016 (13,14,17,18).**

### 1.1.2 Engraftment

Die Stammzellen werden über einen Zentralvenenkatheter wie eine Bluttransfusion verabreicht und gelangen über die Blutbahn in das blutbildende Knochenmark des

Empfängers/der Empfängerin, wo eine Besiedelung über Homing- und Integrinfaktoren erfolgt (1). Die Zellen können so, in der Phase der Aplasie, im Knochenmark anwachsen und sich anschließend weiter differenzieren (1). Die Aplasiedauer liegt bei 12-21 Tagen. In Anschluss daran kann die hämatopoetische Regeneration beobachtet werden. (1)

Laut Bader 2019 ist das Aplasieende dann, wenn die Leukozytenzahl von mehr als 1000 Zellen/ $\mu$ l erreicht ist (1).

Sobald keine Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentrate mehr verabreicht werden müssen, kann von einem vollständigen Engraftment ausgegangen werden (1). Gerade in der Phase der Aplasie sind das Immunsystem sowie die gastrointestinalen Schleimhäute stark gefährdet, Schaden zu nehmen (1). Deshalb sollte frühestmöglich eine supportive Therapie stattfinden (1). Das Infektionsrisiko mit Bakterien, Viren und Pilzen kann durch eine prophylaktische antibiotische, antimykotische und virostatistische Therapie minimiert werden. (1)

Ein ausreichender Immunschutz ist erst wieder durch einen vollständigen Aufbau des T-Zell-Repertoires erreicht, dies kann bis zu 12 Monate in Anspruch nehmen (1). Gerade in den ersten 12 Monaten nach Transplantation ist die Gefahr eines Rezidives oder von Septikämien erhöht (1).

Laut Bader 2019 ist die Dauer der Wiederherstellung des Immunsystems bei autologer und allogener Stammzellquelle unterschiedlich (1).

Neben den positiven Effekten gibt es bei der allogenen Stammzelltransplantation auch schwere Komplikationen, die in Unterpunkt 1.1.3 beschrieben werden.

Art und Häufigkeit von Komplikationen und die immuntherapeutische Wirksamkeit der HSZT werden von Spenderkompatibilität bzw. dem biologischen Ursprung der hämatopoetischen Stammzelle bestimmt (3,19,20).

### **1.1.3 Komplikationen**

Die Komplikationen nach allogener HSZT reichen von Rezidiven, über akute /chronische GvHD, Organtoxizität und Infektionen bis hin zum Transplantatversagen (21). Die akuten Komplikationen nach Transplantation (bis 100 Tage nach HSZT) sind vor allem durch die Chemo-/Strahlentherapie (i.d.R. vor Engraftment auftretend), sowie durch Infektionen mit Viren, Bakterien und Pilzen verursacht (21). Ebenso können sie durch immunologische Nebenwirkungen ausgelöst werden (21).

Ursache dieser Komplikationen ist die Aktivierung des unspezifischen Immunsystems, was zu einer „*Konditionierungs-induzierten Entzündung*“ führt. Sie gilt als Auslöser der akuten Graft-versus-Host-Disease (aGvHD) (21).

#### **1.1.4 Infektionen nach HSZT**

Das zelluläre und humorale Immunsystem ist in den ersten drei Monaten nach allo-HSZT stark eingeschränkt (22). Infektionen stellen nach einer allogenen Stammzelltransplantation somit eine große Gefährdung für den/die Transplantat-EmpfängerIn dar (22). Grund dafür sind die in der Konditionierung verwendeten Chemotherapeutika und Immunsuppressiva und das Transplantat an sich (22). Die Anfälligkeit gegenüber viralen, bakteriellen und mykotischen Infektionen wird durch eine profunde T- und B-Lymphozytopenie, eine funktionelle Asplenie (v.a. bei Patienten mit chronischer GvHD) oder einen Immunglobulinmangel begünstigt und kann schnell einen lebensbedrohlichen Verlauf annehmen (22). Die Mortalität durch Infektionen im Zeitraum von hämatopoetischer Rekonstitution bis 100 Tage nach Transplantation ist nachweislich erhöht (23). PatientInnen nach HSZT unterliegen auf Grund der reduzierten Anzahl an natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) und T-Zellen einer viralen Infektions- und Reaktivierungsgefahr bis 100 Tage nach allogener HSZT (24).

In Tabelle 3 sind die Infektionsphasen und die vorherrschenden Pathogene in verschiedenen Posttransplantationsphasen nach Einsele et al. 2001 dargestellt (23).

Nach Ayuk et al. 2016 kann von einer vollständigen Wiederherstellung des Immunsystems erst 24 Monaten nach allo-HSZT ausgegangen werden, dieses Zeitintervall ist aber stark abhängig von der Grunderkrankung, dem Konditionierungsregime, einer T-Zell-Depletion des Transplantats und der Stammzellquelle (22).

T-Zellen können bei T-Zelldepletion bis zu zwei Jahre nach HSZT erniedrigt sein, unmanipuliert sind es lediglich 7 Monate (25,26). Im Gegensatz dazu regenerieren die NK-Zellen (unspezifisches Immunsystem) schon im ersten Monat nach HSCT (26,27) (vgl. Tabelle 2). Aufgrund der Aplasie ist bei HSZT-PatientInnen besonders in diesem Zeitraum eine intensive Nachsorge nötig. (25–27)

<i>Immunzellen</i>	<i>Regenerationsdauer nach allogener HSZT</i>
Neutrophile Granulozyten	14 Tage bei PBSZ, 21 Tage bei KM, 30 Tage für CB
NK-Zellen	30-100 Tage
T-Zellen	100 Tage
CD19+- B-Zellen	1-2 Jahre

**Tabelle 2: Immunrekonstitution nach HSZT nach Talekar et al. 2017 (24).**

Tabelle 2 zeigt die Regenerationsdauer der verschiedenen Immunzellen im Zeitraum nach allogener HSZT. HSZT = Hämatopoetische Stammzelltransplantation; PBSZ = periphere Blutstammzellen; KM = Knochenmark; CB = Nabelschnurblut.

Zwar kann durch angepasste Prophylaxe und Therapie das Vorkommen von Infektionen minimiert werden, doch nach wie vor sind besonders virale Infektionen nach einer allogenen Stammzelltransplantation mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität verbunden (28–30). Neben humanen Herpesviren (1/3/4/5/6), humanen Polyomaviren und *Adenoviren* kann eine Infektion/Reaktivierung durch das *Parvovirus B19 (PVB19)* bei immungeschwächten PatientInnen eine große Gefährdung darstellen (31). Die nachfolgende Arbeit soll die Infektion/Reaktivierung mit/von *PVB19* nach allogener HSZT behandeln.

<i>Phase</i>	<i>Zeitintervall</i>	<i>Symptome</i>	<i>Pathogene</i>	<i>Ursache</i>
<b>Frühe Posttransplantationsphase</b>	Präengraftment (Tag 0-32 nach Tx)	Infektionen, Schleimhautschädigung	90% Bakterien (gramnegative), Viren, Pilze	Neutropenie
<b>Mittlere Posttransplantationsphase</b>	hämatopoetische Rekonstitution bis 100 Tage nach Tx	Infektionen	Viren, Pilze, Virusreaktivierungen	T- und B-Zell-Defekte
<b>Späte Posttransplantationsphase</b>	ab Tag 100 nach Tx	Infektionen des oberen/unteren Respirationstraktes	bekapselte Bakterien, <i>Pneumocystis carinii</i>	cGvHD (Mangel an IgA, Schleimhautschäden), Funktionsdefekte der Granulozyten, funktionelle Asplenie, quantitative T-/B-Zell-Defekte

**Tabelle 3: Infektionsphasen nach allo-HSZT nach Einsele et al. 2001 (23).**

Tabelle 3 zeigt die drei Posttransplantationsphasen nach HSZT, unterteilt in die wichtigsten Symptome, Pathogene und Ursachen der Infektionsanfälligkeit während dieser Phasen. Allo-HSZT = Allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation; Tx = Transplantation; cGvHD = chronische Graft-versus-Host-Disease; IgA = Immunglobulin A.

Da bis dato ein Mangel an klinischen Daten für *PVB19* Infektionen nach Stammzelltransplantation im Kindes und Jugendalter herrscht, ging man bei dieser Infektion trotz einer sehr hohen Durchseuchungsrate mit steigendem Alter von einer eher geringen Prävalenz (1-2 %) bei Immunsupprimierten während des ersten Jahres nach Stammzelltransplantation aus (32,33). Neuere Studien wie Rhiala et al. 2013, erwähnen Prävalenzen von *PVB19* Infektionen von bis zu 30% bei immunsupprimierten Kindern (34).

## **1.2 Viruseigenschaften von *Parvovirus B19***

### **1.2.1 Klassifikation**

Das *Parvovirus B19* zählt zu der Virusfamilie der *Parvoviridae*. Diese wird wiederum in zwei Subfamilien eingeteilt (35). *PVB19* gehört zu den autonomen Parvovirinae (Unterfamilie) und zählt zu der Gattung der Erythroparvoviren, die zu einer selbstständigen Vermehrung in der Lage sind (31,36–38). Jedoch vermehren sie sich nur in erythroiden Zellen (Knochenmark) (31,36–38). Es existieren drei verschiedenen Genotypen von *PVB19* (39). Diese haben keine Auswirkung auf die Krankheitsmanifestation (31).

### **1.2.2 Morphologie**

Das *Parvovirus B19* (*PVB19*) ist ein humanpathogenes DNA-Virus ohne Lipidhülle (40). Letzteres macht das Virus sehr Widerstandsfähig gegen äußere Umwelteinflüsse. Nur durch Temperaturen über 56°C (>60 min), sowie Formalin,  $\beta$ -Propiolacton und Gamma-Strahlung kann das Virus geschädigt werden (40–45).

Durch die ssDNA hat *PVB19* eine geringe Größe und kann stark verdichtet werden. Der durchschnittliche Durchmesser liegt bei 18 bis 26 nm (40).

Das Kapsid ist aus 60 Protein-Untereinheiten aufgebaut, welche in ikosahedrischer Symmetrie angeordnet sind (T=1). Die Kapsomere bestehen aus drei Proteinen: VP1, VP2 und VP3 (40).

### **1.2.3 Genom**

Mit einer Größe von ca. 5 kb (5596 Nukleotide) sind die Parvoviridae die einzigen Viren mit linearem ssDNA-Genom (40,41,43,44,46). Dieses ist aus einer inneren Kodierungssequenz von 4830 Nukleotiden aufgebaut, flankiert von terminalen Wiederholungssequenzen mit jeweils 383 Nukleotiden (40,41,43,44,46). 365 der 383

Nukleotide besitzen die Sequenz eines Palindroms, was die Ausbildung von haarnadelartigen Doppelstrang-Strukturen an den Enden des Genoms bewirkt (31). Die 3' terminalen haarnadelähnlichen Strukturen dienen als Primer für die Wirtszell-DNA-Polymerase, um die Virus-Replikation zu initiieren (40,41,43,44). Das Viron enthält DNA-Stränge mit positiver als auch negativer Polarität (31,40).

Die kodierenden Regionen können in zwei gleich große Bereiche aufgeteilt werden. Die rechte Seite des Genoms kodiert für Strukturproteine und virale Kapsidproteine (Cap: VP 1,2,3) die linke Seite des Genoms kodiert für Nicht-Strukturproteine (NS: NS1) oder Replikationsproteine (Rep) (40,43). Dennoch nutzen Viren dieser Familie sehr unterschiedliche Strategien, um die Genexpression zu kontrollieren (40,43). *PVB19* besitzt einen einzigen Promoter, um das gesamte Genom zu transkribieren. Differentielles Spleißen produziert virus-spezifische mRNAs, die vom Virus zur Replikation benötigt werden (40,43).

#### **1.2.4 Replikation**

Parvoviren kodieren keine DNA-Polymerase. Somit ist die Replikation des DNA Genoms vollständig von der Wirtszellen-DNA-Polymerase abhängig (40).

Die Replikation findet nur in mitotisch aktiven Wirtszellen statt, in welchen in den S-Phasen die nötigen Hilfsfunktionen bereitgestellt werden (40).

Alle Parvovirus-Kapsidproteine werden im Zytoplasma translatiert und werden dann in den Zellkern transportiert. Dort werden neue Viruspartikel gesammelt oder aus der Zelle transportiert. (40)

#### **1.2.5 Kapsidproteine und Nicht-Strukturproteine**

Die drei Kapsidproteine (VP 1,2,3) besitzen sich überlappende Aminosäuresequenzen, die im selben Leserahmen translatiert werden (43,47,48). VP2 ist das Hauptstrukturprotein (95 % bis 96 % der gesamten Kapsidproteine) mit einer molekularen Masse von 58 kDa (31,49,50).

Es existiert eine große Anzahl an Nicht-Strukturproteinen, das NS1 hat jedoch eine wichtige Bedeutung. Es besitzt eine molekulare Masse von 77kDa (47–50) und ist im Kern lokalisiert (31). NS1 hat dabei eine wichtige Rolle bei der DNA-Synthese und der Regulation der Genexpression (31,51–56). Weiterhin besitzt NS1 eine Zy-

totoxizität (55,57–59) und besitzt ein hochkonserviertes Nukleosid Triphosphat-Bindungsmotiv, das ihm die Umsetzung der genannten biologischen Funktionen ermöglicht (60).

### 1.2.6 Pathogenese und Wirtszellbereich

Das Virus ist in großem Maße von der Wirtszellfunktion abhängig. Grund hierfür ist die begrenzte Funktionalität (genetische Kodierungskapazität) und die Größe des Virusgenoms (40). Somit können Parvoviren nicht, wie beispielsweise Polyomaviren, Papillomaviren und Adenoviren, die Zelle dazu bewegen, in die DNA-Synthesephase (S-Phase) einzutreten (40). Eine Infektion einer Zelle kann nur bei Zellen erfolgen, die sich in einem mitotisch-aktivem Zellstadium befinden (40). Aufgrund dieser Eigenschaft und der Zelltyp-Abhängigkeit kann die Biologie und die Pathologie von Parvovirusinfektionen erklärt werden (40).

Im Falle von *PVB19* konnte in *in-vitro* Knochenmark-Kulturen gezeigt werden, dass das Virus vornehmlich humane erythropoetischen Zellen infiziert (31). *PVB19* vermehrt sich hauptsächlich im Knochenmark. Dort „*infiziert es die BFU-E (erythroid burst forming units) und CFU-E (colony forming units) der erythroiden Vorläuferzellen*“ (31). Folglich kommt es zu einer Hemmung der Erythropoese (Verhinderung der Koloniebildung von reifen erythropoetischen Vorläuferzellen) (31). Auch andere Zellen, die das Blutgruppen P-Antigen exprimieren, können von *PVB19* befallen werden (31,44,61), jedoch ist nur ein Teil permissiv für die Virusproduktion, da in nicht-erythroiden Zellen die Expression der viralen Transkripte geblockt sein kann (31,61).

Eine Infektion mit *PVB19* verhindert durch Zellyse die Koloniebildung von eben genannten erythropoetischen Vorläuferzellen (44). Obwohl auch die Infektion anderer Zelltypen mit P-Antigen möglich ist, wurde von relevanten Infektionen fast ausschließlich bei erythropoetischen Vorläuferzellen berichtet (44). Eine Ausnahme bilden die fetalen Leberzellen, die auch durch eine Infektion geschädigt werden können (42,43).

Je differenzierter die Zelle, desto geringer ist die Wahrscheinlichkeit einer Infektion mit *PVB19*. Studien zufolge haben pluripotente Stammzellen kein Infektionsrisiko (62). Eine unterschiedlich große Anzahl an Zell-Oberflächenproteinen können das

Bindungsverhalten des Parvovirus und dessen Zelleintritt verändern. Dies beeinflusst ebenfalls die Infektionsempfänglichkeit verschiedener Zellen mit P-Antigenen maßgeblich. (40,42–44,63,64)

Es existieren drei zelluläre Rezeptoren für *Parvovirus B19*, die zur Aufnahme von *PVB19* in eine Zelle nötig sind (59,64,73,65–72). Dazu zählen das Glykoprotein Globoside (P Antigen Rezeptor), welches auf hämatopoetischen Vorläuferzellen, Erythroblasten und Megakaryozyten sowie Endothelzellen, fetalen Myozyten und Hepatozyten sowie plazentaren Throphoblastzellen zu finden ist (31,70,74). Menschen, die vom P-Phänotyp sind (ihnen fehlt P-Antigen) können sich laut Studien nicht mit *PVB19* infizieren (75). Weiterhin zählen zu den zellulären Rezeptoren der Corezeptor alpha5beta1-Integrin (auf erythroiden Vorläuferzellen), welches an der Zelladhäsion beteiligt ist (72). Der dritte Rezeptor ist das Ku80 Autoantigen, welcher ebenso als Corezeptor für *PVB19* agiert (64).

Das Virus wird anschließend in die Zelle aufgenommen (Endozytose) und das Kapsid wandert in die direkte Umgebung des Zellkerns (40). Das Kapsid gelangt über Kern-Porenkomplex in den Zellkern, dort wird es entpackt. Die Replikation der Virus-DNA und die Transkription der mRNA findet im Zellkern statt, jedoch nur wenn die Zelle die S-Phase erreicht hat (40).

### **1.2.7 Immunantwort**

Eine Infektion mit *PVB19* führt zu einem biphasischen klinischen Verlauf (65).

In der ersten Phase treten nach einer Inkubationszeit von 5 bis 10 Tagen grippeähnliche Symptome auf (Fieber, Unwohlsein, Myalgien, Schüttelfrost) (42,44,76). In diesem Stadium ist die Ansteckungsgefahr am höchsten. Die Symptome können auch sehr mild ausgeprägt sein (42,44,76). Während der Virämie (6. bis 14. Tag) ist ein deutlicher Abfall der Retikulozyten zu verzeichnen, welcher sich bei Immunkompetenten nach 7 bis 10 Tagen legt (77). Eine klinisch nicht-signifikante Lymphopenie, Neutropenie und Thrombozytopenie findet sich um den 6. bis 10. Tag (77).

Die zweite Phase beginnt mit einem erneuten Fieberschub (ca. 17. bis 18. Tag nach Infektion), danach bildet sich oft das sogenannte *Erythema infectiosum* aus, ein schmetterlingsförmiges Exanthem an den Wangen (65), welches die häufigste Manifestation der Erkrankung darstellt und besonders bei Kindern im Alter von 4 bis 11 Jahren auftritt (33,44,78). Diese exanthematöse Krankheit vor allem im Kindesalter

ist unter dem Namen Ringelröteln, 'fifth disease' oder 'slapped cheek syndrom' bekannt. Innerhalb von 4 Tagen folgt letzterem ein makulopapulöser Ausschlag an Stamm und den Gliedern, der für 2 bis 3 Wochen bestehen bleibt (40,65). Die Inkubationszeit des Ausschlags beträgt dabei 13 bis 18 Tage. Der Ausschlag und die Arthropathie sind wahrscheinlich auf immunologische Faktoren und auf eine Ablagerung von Immunkomplexen in den Kapillargefäßen der Haut zurückzuführen (40,42). Im frühen Stadium können während des Ausschlags noch Fieber und Unwohlsein vorhanden sein, typisch kann ein mild ausgeprägter fieberhafter Infekt ohne Ausschlag sein (40). Zu diesem Zeitpunkt ist das Virus klinisch nicht nachweisbar (40). Weiterhin können sehr unspezifische Symptome der Infektion auftreten wie Erbrechen, Arthritis (2-3 Wochen nach Krankheitsbeginn), Kopfschmerzen, Fieber, Enzephalitis, Lymphadenopathien, Zytopenien, Kollagenosen und Arthralgien (40).

Die Manifestationsbreite und der klinische Verlauf der *PVB19*-Infektion sind abhängig vom immunologischen und hämatologischen Zustand des Wirts (33). Nach Brolieden et al. 2001 ist der Grund für die unterschiedliche Ausprägung von *PVB19*-Infektionen eine direkte Zelltoxizität, eine Immunkomplexformation oder eine Kombination dieser und anderer Mechanismen (33).

Bei Immunkompetenten ist die Infektion im Allgemeinen selbstlimitierend (79,80). Es folgt auf eine vorübergehende erythroide Aplasie ein Ausschlag oder Arthralgien (81,82). Bei 50 % der PatientInnen verläuft die Infektion asymptomatisch (79,80). Die Immunantwort erfolgt hauptsächlich humoral (83), die transiente Störung der Erythropoese wird somit durch eine Antikörperantwort des Körpers beendet (64,65). Die frühe Antikörperantwort erfolgt durch IgM-Antikörper, die gegen das Kapsidprotein VP2 gerichtet sind. IgM-Antikörper sind im Serum für ca. 3 Monate und teilweise länger nachweisbar (84).

Eine effektivere Abwehr wird ca. 14 Tagen nach Infektion durch IgG-Antikörper erzielt, welche gegen VP1 gerichtet sind (65,83,85). Bei immunkompetenten Individuen wird die (vermutlich) lebenslange Immunität über Antikörper (IgG) (65,83,85) und CTL (zytotoxische T-Zellen) vermittelt (65).

Die neutralisierenden linearen Epitope liegen vorwiegend in der VP1-unique Region und im Bereich der VP1-VP2 Verbindungsstellen (86).

Eine zelluläre Antwort wird laut Studien durch TH1-Zellen vermittelt, bei der Kapsidproteine den CD4 T-Zellen durch MHC II-Rezeptoren präsentiert werden (87).

Die Eliminierung des Virus aus dem Blut, nach circa sieben Tagen, fällt im Normalfall mit einer starken IgM-AK-Antwort zusammen, auf welche kurz danach (am 14. Tag) eine IgG-AK-Antwort folgt (40,42,65). Der Nachweis der Infektion über Dot blot und PCR ist ab dem 7. Tag nach Infektion möglich (40,42,65).

### **1.2.8 Epidemiologie und Übertragungswege**

Es wird angenommen, dass das *PVB19* in einem 4-jährigen Zyklus auftritt (2-jährige Epidemie und 2-jährige Endemie) (88–90). Epidemien treten weltweit während des Spätwinters und im Vorfrühling auf. In den gemäßigten Klimazonen kommen Infektionen mit *PVB19* häufiger vor (89). Dabei infizieren sich vor allem junge Schulkinder mit dem Virus. Kinder im Alter von 7 bis 9 Jahren haben laut Studien das höchste Infektionsrisiko (91). An Schulen beträgt die Infektionsrate 60 % (92), Krankheitsausbrüche sind somit vornehmlich an Schulen zu finden. Die sekundäre Ausbreitungsrate während Epidemien findet sich bei infektfälligen Kindern (50%) und bei Personen, die in engen Kontakt mit Kindern stehen, wie Lehrern (20 bis 30%), Hausfrauen (9 %) und TagesbetreuerInnen (9 %) (93,94). (40,44,99,91–98)

Bereits 10 bis 20 % der 5-Jährigen und 50 % der 18-Jährigen besitzen IgG-Antikörper. Die geriatrische Bevölkerung (>70 Jahre) ist bis zu 85 % seropositiv (Durchseuchungsrate 40 bis 85 %) (92). Dies zeigt, dass die Seroprävalenz mit dem Alter zunimmt. In Entwicklungsländern ist auf Grund der ungünstigen hygienischen Standards als auch in Ballungszentren mit höheren Seroprävalenzen zu rechnen. (33,40,101,102,44,63–65,84,89,92,100)

Trotz einer hohen Seroprävalenz in der allgemeinen Bevölkerung ist das Vorhandensein von Virämie und viraler DNA eher gering. Studien, die die Häufigkeiten der Virämie bei freiwilligen Blutspendern untersuchten, ergaben Schätzungen von 1:167 bis zu 1: 35.000 (50,102–105). Studien über das Vorhandensein von viraler DNA im Knochenmark immunkompetenter Personen sind bis dato unzureichend.

Die Prävalenz des Virus nach HSCT oder Organtransplantation beträgt trotz hoher Durchseuchungsraten nur 1 bis 2 % im ersten Jahr nach Transplantation (33). Neuere Studien beschreiben hingegen eine Prävalenz von bis zu 30 % bei immunsupprimierten Kindern (34). Eine Infektion im Rahmen einer neu auftretenden Anämie sollte daher immer abgeklärt werden (33,79).

Die Übertragung kann aerogen, als auch über Schmierinfektionen, Blutkonserven, Plasmaproducte, Knochenmarkstransplantation und intrauterin erfolgen (44). In

Studien wurde *PVB19*-spezifische DNA in Sekreten der Atemwege während der Virämie gefunden, was für eine aerogene Verbreitung des Virus spricht. Ein Drittel aller Fälle ist auf eine vertikale Transmission zurückzuführen (44). Diese Fälle schließen serologisch bestätigte primäre maternale Infektionen mit ein (106). Auch von nosokomialen Infektionen und Infektion bei Laborarbeitern, die mit dem Virus arbeiteten, wird in Studien berichtet. (33,44,115,107–114)

### **1.2.9 *PVB19*-Nachweismethoden**

Allgemeine Methoden zum Nachweis von *PVB19* sind der IgM- und IgG- Antikörper-Nachweis im Serum durch ELISA, EM und Hämagglutination. Der Nachweis viraler DNA aus Speichel, Blut, Fruchtwasser, Nabelschnurblut, Liquor oder Gewebe erfolgt über PCR und slot-/dot-blot Hybridisierung. Bei Chronizität kann der Nachweis über NS-IgG-Antikörper erfolgen (33,40,42,44,65).

*PVB19*-DNA kann am schnellsten nach Infektion mittels PCR nachgewiesen werden. Zudem ist die PCR bei Immunsupprimierten die Methode der Wahl. Der Nachweis einer *PVB19*-Infektion ist bereits ab  $10^2$  Kopien/ml möglich. Die Definition einer Virämie beginnt ab dieser Einheit. (40,42,65)

Bei einer PCR wird über das Enzym DNA-Polymerase die Virus-DNA in ca. 20 bis 50 Zyklen vervielfältigt. Jeder Zyklus wird aus 3 Schritten zusammengesetzt. Erstens die Denaturierung der DNA, zweitens die Primer-Hybridisierung und letztlich die Elongation (Amplifikation).

## **1.3 Klinische und pathologische Aspekte**

### **1.3.1 Klinische Merkmale einer *PVB19* Infektion**

Parvoviren wie *PVB19* sind der Verursacher von drei Krankheitsbildern (40). Einerseits können sie aplastische Krisen bei anämischen PatientInnen auslösen. Dabei hat das Virus eine lytische Wirkung auf die Vorläufer der roten Blutkörperchen. Klinisch wird dies bei ansonsten gesunden Menschen nicht auffällig. Bei Menschen, die bereits unter einer chronischen hämolytischen Anämie (Sichelzellerkrankung, Thalassämie) leiden, können Veränderungen im Blutbild auftreten. (40,42,44,116,117) Dabei können Infektionen mit *PVB19* eine aplastische Krise auslösen (niedrige Hämoglobinwerten, Retikulozytopenie) (33,65,118). Unbehandelt (ohne Bluttransfusion) kann diese schwerwiegenden Folgen haben. (40,42,44,116,117)

Bei einer Knochenmarksinsuffizienz und bei Immungeschwächten können im Falle einer *PVB19* Infektion keine neutralisierenden Antikörper gebildet werden und eine Viruseradikation bleibt völlig aus. Dies kann zu einer chronischen Anämie führen (44,118). Prädispositioniert sind u.a. PatientInnen mit Knochenmarkstransplantation (119,120) oder unter Chemotherapie (121).

Auch bei stammzelltransplantierten Kindern ist das häufigste Symptom nach Infektion die Anämie. Weiters wurden Leukopenie und Thrombozytopenie beobachtet (33). Somit kann eine *PVB19* Infektion ernstzunehmende Komplikationen bei Transplantatempfängern hervorrufen (79). Besonders in diesen PatientInnengruppen sind chronische Verläufe und Re-Infektionen zu beobachten (122).

Nach einer Bluttransfusion bei PatientInnen mit einer hämolytischen Anämie deutet eine asymptomatische Serokonversion auf eine Maskierung der Symptome durch die Transfusion mit „agileren“ Erythrozyten hin (123).

Das zweite Krankheitsbild stellt das *Erythema Infectiosum* bei Immunkompetenten dar. Wie bereits beschrieben tritt es vornehmlich bei Kindern auf.

Seltener werden bei Erwachsenen (v.a. Frauen) Krankheitsmanifestationen wie Arthralgien und Arthritis beobachtet (40). Betroffen können hierbei die Gelenke (v.a. Hand, Finger) sein. Auch von Arthropathien der Arme, Beine und Wirbelsäule wird berichtet. Die Arthralgien bestehen in solchen Fällen über einige Wochen (40). Wobei 60 % der Frauen und 30 % der Männer betroffen sind. (81,98,124)

Fetale Infektionen stellen das dritte Krankheitsbild dar. In der Schwangerschaft kann eine Infektion mit dem Virus zu den fetalen Komplikationen wie Hydrops fetalis und einem intrauterinen Fruchttod führen (40,64,65). Weiterhin kann eine Infektion mit *PVB19* mit einer kongenitalen Anämie, Abort oder Totgeburt einhergehen (44). Pathogenetisch sind dabei die Erythroblasten in den fetalen Leberzellen von einer *PVB19* Infektion betroffen (125,126).

### **1.3.2 Andere Krankheitsmanifestationen**

#### Arthropathien

Bei Kindern mit *Erythema infectiosum* beträgt die Inzidenz von Arthralgien bis zu 10 % (127). In einer Studie konnte bei 19 % aller Kinder mit einer kürzlich stattgehabten Arthritis eine kürzlich erfolgte Infektion mit *PVB19* nachgewiesen werden (127). Die Arthropathie ist wahrscheinlich immun-mediert, da der Beginn der Symptome mit dem Auftreten von Antikörpern einhergeht (44).

### Thrombozytopenien

Die meisten Fälle von immunmediierter Thrombozytopenie beginnen bei Kindern akut und sind die Folge unterschiedlicher viraler Infektion (128,129).

In einigen Studien konnten *PVB19*-Infektionen mit einer subklinischen Thrombozytopenie bei PatientInnen in Verbindung gebracht werden (44,81,82,130,131). Grund für eine zentrale Thrombozytopenie bei einer *PVB19* Infektion ist eine Knochenmarkssuppression (132). Die zytopathologische Wirkung des von *PVB19* produzierten NS1 führt zur Unterdrückung der Megakaryozyten-Koloniebildung (58,59). Diese Ergebnisse deuten auf einen Gewebetropismus außerhalb der erythropoetischen Vorläuferzellen hin und darauf, dass virale Proteine möglicherweise für Zellpopulationen, die eine Virusreplikation nicht ermöglichen, toxisch sind. Die periphere Thrombozytopenie geht wahrscheinlich auf eine immunologisch medierte Thrombozyten-Antikörperproduktion zurück. (44,133)

### Neutropenie

Die primäre Autoimmun-Neutropenie wird durch Granulozyten-spezifische Autoantikörper verursacht (44). Eine Studie von Bux et al. 1998 (134) legt einen Zusammenhang mit *PVB19* nahe, der noch nicht vollständig geklärt ist.

Selten wurde von Meningitis- und Encephalitisfällen nach einer *PVB19* Infektion berichtet (33,40,135).

### **1.3.3 Persistierende Infektionen und TransplantatempfängerInnen**

Persistierende Infektionen mit *PVB19*, assoziiert mit chronischer Anämie, werden v.a. bei Immundefekten (darunter ALL), HIV-Infektionen und therapeutischer Immunsuppression beobachtet. Grund dafür könnte unter einer fortbestehenden Infektion die anhaltende Produktion von neu mutierten DNA-Strängen sein. (33,40,65,136–139)

Insbesondere TransplantatempfängerInnen sind, je nach Grad der Immunsuppression, anfällig für Virusinfektionen und -reaktivierungen (33). Letztere sind, besonders bei kleinen Kindern, eine wichtige Ursache für Morbidität und Mortalität nach Transplantation (33). Ursächlich ist bei sehr jungen TransplantatempfängerInnen ein unzureichend ausgebildetes Immunsystem und ein Mangel an vorbestehender Immunität gegenüber Erregern (33).

### *PVB19-Infektion bei Transplantierten*

Nach Transplantationen (Organe, HSZT) bei Kindern wurde von Anämie bis hin zur Panzytopenie, Leberfunktionsstörungen, Myokarditis (140,141), Vaskulitis (142) und Atemstillstand berichtet. Die Symptome können dabei nach Broliden et al. 2001 wenige Tage nach Transplantation und über ein Jahr nach Primärinfektion auftreten (33). Schwere Verläufe sind selten beobachtet worden (33,79). Anämien sind jedoch in dieser PatientInnengruppe aufgrund myelotoxischer Medikamente nichts Untypisches und müssen nicht mit einer Infektion mit *PVB19* zusammenhängen. Dennoch sollte bei Verdacht auf Infektion auf *PVB19* getestet werden (33).

### **1.3.4 Antivirale Therapie und Prophylaxe**

Derzeit ist kein Impfstoff gegen *PVB19* verfügbar. Die Prophylaxe mit Antikörpern ist hauptsächlich Menschen vorbehalten, die unteren schweren Anämien leiden oder Laborpersonal, das einer hohen Viruslast ausgesetzt ist (33,40). Immunglobuline finden Anwendung, um die Persistenz der Infektion mit *PVB19* zu verhindern (40). Die Therapie von *PVB19*-Infektionen erfolgt in den oben genannten Fällen unspezifisch mit intravenösen Immunglobulinen (IVIg) (welche oft *PVB19*-spezifische IgG-Antikörper enthalten) (33). Es kommt zu einer Reduktion der Viruslast durch eine Neutralisation des Virus (33). Die Therapie sollte unter ständigem Monitoring auf *PVB19* DNA erfolgen bis die Immunität zurückerlangt ist, um Rückfälle zu vermeiden (33). Broliden et al. (2001) merken an, *„dass für Kinder nach einer HSZT diese Therapie möglich sei und in den meisten Fällen zur einer schnelleren Genesung und zu weniger Einsatz von Blutprodukten führe, aber einschlägige Studien hierzu noch nicht vorhanden seien“* (33).

Als Alternativen nennen Broliden et al. 2001 bei schweren Fällen Bluttransfusionen und eine Reduktion der Chemotherapie (33).

Im Allgemeinen ist das Erythema infectiosum eine selbst-limitierende Erkrankung, die keiner Behandlung bedarf. Bei *PVB19*-induzierten Arthralgien kann gemäß Heegaard et al. 2002 eine symptomatische Therapie hilfreich sein (44).

Die *PVB19*-induzierte, transiente aplastische Krise hat eine sehr gute Prognose, sobald eine adäquate Hämoglobinkonzentration nach Gabe von Erythrozytenkonzentraten erreicht ist (143).

Die persistierende Erythroblastopenie kann mit einer Infusion aus Immunglobulinen behandelt werden (44).

Eine standardisierte Prävention ist auf Grund der multiplen Übertragungswege erschwert. Möglichkeiten der Prävention sind vor allem nahe Kontakte mit infizierten Personen zu meiden und die Durchführung von intensivierten Standardhygienemaßnahmen. (33,44)

Neben der Immunglobulin-Therapie stehen als weitere Therapiemöglichkeiten Hydroxyurea (hemmt die DNA-Synthese) (144), Cidofovir und Brincidofovir zur Verfügung (145).

## 1.4 Fragestellung

Bei immunkompetenten Kindern und Jugendlichen sind *PVB19* Infektionen überwiegend selbstlimitierend. Anders verhält es sich bei Kindern, deren Immunsystem nicht voll funktionsfähig ist. Durch das Therapieregime vor einer allogenen Stammzelltransplantation kommt es vorerst zu einer gänzlichen Eliminierung des Immunsystems und anschließend zu einer verzögerten Immunrekonstitution (10), sodass eine *PVB19*-Infektionen/Reaktivierung im weiteren Verlauf nicht effektiv abgewehrt werden kann. Dies ist vor allem im Zeitraum bis 100 Tage nach HSZT der Fall. Die Folgen können aplastische Krisen, chronische Anämien und eine erhöhte infektionsassoziierte Mortalität sein. Wie oft jedoch derartige *PVB19*-Infektionen/Reaktivierungen mit ihren krankheitsbedingten Komplikationen nach allogener HSZT bei Kindern und Jugendlichen vorkommen, wurde in bereits durchgeführten Studien kontrovers diskutiert.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Inzidenz von *Parvovirus B19* Infektionen/Reaktivierungen sowie etwaige virusassoziierte Erkrankungen nach allogener Stammzelltransplantation bei pädiatrischen PatientInnen zu untersuchen. Es sollen die möglichen Auswirkungen einer Infektion auf den Therapieverlauf, unter Berücksichtigung des Aktivitäts- und Infektionsstadiums mit *PVB19*, über ein halbes Jahr beobachtet werden. Ebenso soll der mögliche Einfluss des Spendertyps, des Konditionierungsregimes und der Art der Graftmanipulation auf die Infektionswahrscheinlichkeit mit *PVB19* betrachtet werden. Außerdem soll der Einfluss einer Infektion auf das Engraftment analysiert werden.

Die vorliegende Arbeit soll somit einen Beitrag in der Früherkennung von Krankheitssymptomen und Risikofaktoren leisten, die eine *PVB19*-Infektion begünstigen. Letztlich soll so eine Reduktion von infektionsbedingten Therapiekomplikationen erreicht werden.

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Literaturrecherche**

Für die Literaturrecherche wurden die folgenden Literaturdatenbanken herangezogen: Pubmed (Literaturdatenbank) und das Portal: Uptodate. Dabei wurden folgenden Suchbegriffe genutzt: „Parvovirus B19“, „allogenic stem cell transplantation“, „anemia“, „Erythema infectiosum“, „Parvovirus B19 in children“, „pediatric patients“. Weiterhin wurden einzelne Kapitel aus Fachbüchern genutzt, die an entsprechenden Stellen zitiert wurden.

### **2.2 Studiendesign**

Es handelt sich um eine retrospektive Studie, welche entsprechend der Deklaration von Helsinki sowie GCP-Richtlinien umgesetzt wurde. Es fand eine Genehmigung durch die Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz statt (EK-Nummer 32-003 ex 19/20).

Die klinischen Daten hierfür wurden unter Verwendung der stationären und ambulanten (elektronischen) Krankenakten, Ambulanzakten und OP-Berichte im Datenarchiv und durch das Klinikinformationssystem Medocs der Abteilung für Pädiatrische Hämato-/Onkologie der Univ. Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz erhoben. Die Dokumentation der Daten erfolgte anonymisiert und fortlaufenden codiert in einer SPSS/Excel-Tabelle.

### **2.3 PatientInnenkollektiv und Fallserie**

Die vorliegende Studie umfasst den Zeitraum vom 01.01.2000 bis 01.06.2019. Bei den insgesamt 159 Posttransplantationsverläufen, aufgeteilt auf 124 pädiatrische PatientInnen, handelt es sich um Kinder und Jugendliche im Alter von 0-18 Jahren, die an der Abteilung für Pädiatrischen Hämato-/Onkologie der Univ. Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde der Medizinischen Universität Graz eine Therapie mit allogener Stammzelltransplantation erhielten. Zehn der PatientInnen waren zum Transplantationszeitpunkt älter als 18 Jahre. Der Einschluss in die Studie erfolgte dennoch, da diese jungen Erwachsenen bereits im Kindesalter mit entsprechender Grunderkrankung an der Abteilung für Pädiatrische Hämato-/Onkologie Graz behandelt wurden.

Neben demografischen Daten wurden die Diagnosen, transplantationsbezogene Daten (Konditionierung, Spendertyp, Immunsuppression), Daten zum Transplan-

tationsverlauf, GvHD, infektionsbezogene Analysen (*Parvovirus B19*-Serostatus, Viruslast [PCR]) sowie Koinfektionen erhoben.

Daneben fand eine Dokumentation von möglichen infektionsassoziierten Krankheitsmanifestationen (bei vorliegender *PVB19*-Infektion) nach Transplantation statt (Anämiezeichen, Veränderungen der Retikulozytenzahl, Panzytopenien).

Die Beobachtungsdauer nach Transplantation betrug 180 Tage.

## **2.4 Nachweismethoden *PVB19* und Definitionen**

Der *PVB19* Status wurde bis zu 90 Tage vor und bis zu 180 Tage nach Stammzelltransplantation (nachgewiesene Infektion/Reaktivierung) erhoben. Das Ausgangsmaterial für den Nachweis einer *PVB19*-Infektion war vorwiegend EDTA-Plasma und Knochenmark aber auch Biopsiematerial/Harn/Serum/Liquor/Respiratorischesekret/Sondermaterial/Rachenspülflüssigkeit/Sputum/Trachialsekret.

Die Überwachungen und das Screening des Probenmaterials erfolgten bei den PatientInnen in den meisten Fällen wöchentlich via PCR. Nach 4 Monaten überwiegend alle 2 bis 8 Wochen. Das Screening wurde bis zum Ablauf von 180 Tagen bewertet. Ebenso wurde in der Mehrheit der Fälle bereits vor HSZT auf *PVB19* DNA mittels PCR gescreent. Der Nachweis erfolgte mittels PCR-Analysen. Der Serostatus konnte von einigen wenigen PatientInnen aus den PatientInnenakten entnommen werden.

Die Infektion mit *PVB19* wurde dann als gültig/positiv gewertet, sobald ein *PVB19*-Nachweis von  $10^2$  Kopien/ml *PVB19*-DNA mittels PCR in den 6 Monaten nach HSZT, unabhängig vom klinischem Probenmaterial, erfolgte. PatientInnen die jedoch bereits vor Transplantation positiv auf *PVB19* getestet wurden, wurden aus der Studie ausgeschlossen (n=9).

Der 180-Tage Verlauf wurde in der vorliegenden Arbeit in 30-Tage-Schritten verarbeitet. Wenn eine *PVB19* Infektion innerhalb der ersten 30 Tage nach HSZT auftrat, so wurde dies in den Zeitraum 1 bis 30 Tage als positiv gewertet, gleiches gilt für folgenden 30-Tage Intervalle bis 180 Tage.

Das leukozytäre Engraftment ist wie folgt definiert: gesamte weiße Blutzellen  $> 1.000/\mu\text{l}$  [WBC  $> 1 \times 10^9/\text{l}$ ].

Der Normwertbereich für Hämoglobin liegt zwischen 12,3 – 15 g/dl. Für die Retikulozyten in Promille wird der Normwertbereich zwischen 5,00 – 20,00 angegeben.

Was die Retikulozyten absolut betrifft so wird ein Normwertbereich von  $0,027 - 0,095 \times 10^{12}/l$  beschrieben.

## 2.5 Statistische Methoden

Alle PatientInnen wurden mit einer fortlaufenden Nummer codiert (pseudonymisiert). Die auszuwertenden Daten wurden nur mit diesem Code versehen in einer Excel-Tabelle sowie einem SPSS-Datenblatt auf einem PC mit Zugriffsbeschränkung an der Abteilung für Pädiatrische Hämato-/Onkologie Graz gespeichert und anschließend ausgewertet. Nur autorisierte Personen haben Zugriff auf die Originaldaten.

Die 159 Postransplantations-Datensätze wurden über eine Excel/SPSS-Tabelle dokumentiert.

Die statistische Auswertung der Datensätze erfolgte über IBM SPSS 26. Die grafische Darstellung wurde über die Software Graph Pad Prism umgesetzt.

Die Auswertung demografischer und klinischen Daten erfolgte mittels deskriptiver Statistik. Für numerische Daten wurden – abhängig von der Verteilung – Mittelwerte und Standardabweichungen oder Mediane und Spannweite berechnet. Kategorische Daten wurden als absolute und relative Häufigkeiten dargestellt. Die Einteilung und Auswertung erfolgte nach Beobachtungsgruppen. Diese sind definiert als *Parvovirus B19* positive Posttransplantationsverläufe (*PVB19 +*) und *Parvovirus B19* negative Posttransplantationsverläufe (*PVB19 -*).

Tabelle 4 zeigt die eingesetzten Testverfahren zur Bestimmung einer statistischen Signifikanz, wobei ein p-Wert von  $<0,05$  angenommen wurde, um statistische Signifikanz anzuzeigen.

<i>Variablen</i>	<i>Testverfahren</i>
Kontinuierlich, ungepaart	Mann-Whitney-U-Test
Kategorisch	Exakter Test nach Fisher / Chi-Quadrat-Test

**Tabelle 4: Eingesetzte statistische Testverfahren.**

Die Fallzahl ergibt sich aus der Anzahl der durchgeführten Transplantationen. PatientInnen, die einen Boost nach erfolgter Stammzelltransplantation erhielten, werden als neuer Posttransplantationsverlauf in die Statistik miteinbezogen. Da es

sich um eine rein explorative Studie handelt, wurde auf eine formale Fallzahl/Power-Berechnung verzichtet.

### **3 Ergebnisse**

Von ursprünglich 159 Stammzelltransplantationsverläufen konnten 15 Fälle aufgrund von fehlenden/ungültigen PCR-Ergebnissen nicht verwertet werden (fehlen von 6 Datensätzen aufgrund von fehlenden *PVB19* PCRs und Ausschluss von neun *PVB19* positiven Fällen aufgrund von positiven *PVB19* PCRs bis 90 Tage vor HSZT und Übergang dieser Infektion in den ersten Monat nach HSZT).

Bei 144 Transplantationen konnten gültige *PVB19* PCRs im Verlauf von 180 Tagen erhoben werden, teilweise jedoch nicht für alle Zeitintervalle. Somit stehen 144 auswertbare Datensätze zu Posttransplantationsverläufen (unter Einschluss wiederholter Boost-Behandlungen) bei einer korrigierten PatientInnenzahl von 114 (Ausschluss von 10 PatientInnen durch ungültige PCR-Ergebnisse) zur Verarbeitung zur Verfügung.

Ebenso werden Datensätze, bei denen fehlenden Werte für die gefragte Variable existierten, bei bestimmten Auswertungen ausgeschlossen.

Um einen Überblick über die Gesamtzahl der durchgeführten Stammzelltransplantationen zu haben, wird im ersten Absatz der allgemeinen demographischen Statistik die ursprüngliche Anzahl an Posttransplantationen ( $n = 159$ ) und PatientInnen ( $n = 124$ ) erwähnt.

#### **3.1 Demografische Charakteristik**

Im Beobachtungszeitraum wurde bei 124 PatientInnen eine allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation durchgeführt. Von den insgesamt 124 PatientInnen waren 38,7 % ( $n=48$ ) weiblich und 61,3 % ( $n=76$ ) männlich. 42 von 124 Kindern und Jugendlichen verstarben im Verlauf (33,9 %), davon 21 männliche und 21 weibliche PatientInnen. Auf die Beobachtungsgruppen *PVB19* positiv und *PVB19* negativ bezogen heißt das, dass 28,6 % der *PVB19* positiven PatientInnen und 34,6 % der *PVB19* negativen PatientInnen verstarben ( $p$ -Wert: 0,080).

Im Folgenden soll auf die Stammzelltransplantationsverläufe Bezug genommen werden (144 Fälle). In einigen Fällen wurde zur Anschaulichkeit und Inzidenzberechnung auch die PatientInnenzahl ( $n = 114$ ) herangezogen.

Von den gültigen 144 Stammzelltransplantationsverläufen wurde in 9 Posttransplantationsverläufen (6,25 %) *PVB19* im Verlauf von 180 Tagen nach HSZT nachgewiesen.

Umgerechnet auf 114 PatientInnen (zehn PatientInnen fehlend, durch ungültige PCR-Ergebnisse im Verlauf) waren sieben (6,1 %) PatientInnen im Verlauf *PVB19* positiv, davon waren vier weiblich (57,1 %) und drei (42,9 %) männlich.

Das mediane Alter zum Zeitpunkt der Stammzelltransplantation lag bei 9,52 [(0,1 – 28,3)] Jahren. Bei den *PVB19* positiven Fällen lag das Alter im Median bei 16 [(6,7-21,3)] Jahren und bei den *PVB19* negativen Fällen bei neun [0,1-28,3] Jahren. Bezogen auf das mediane Alter wird somit zwischen den beiden Beobachtungsgruppen ein signifikanter Unterschied festgestellt (*p*-Wert: 0,005) siehe Tabelle 5.

Berechnet aus den 144 gültigen Transplantationsverläufen wurde die hämatopoetische Stammzelltransplantation bei 86 Verläufen (59,7 %) aufgrund einer malignen Erkrankung, bei 58 Verläufen (40,3 %) wegen einer nicht-malignen Erkrankung durchgeführt vergleiche hierzu Tabelle 6. Eine signifikanter Unterscheid zwischen den Beobachtungsgruppen konnte nicht festgestellt werden (*p*-Wert: 0,740).

Zu den häufigsten Grunderkrankungen, die mit einer Stammzelltransplantation behandelt wurden, zählen die ALL (n=30/144; 20,8 %) gefolgt von der AML (n=20/144; 13,9 %) und der SAA (n=14; 9,7 %) siehe hierzu Tabelle 7.

In Tabelle 5, 6 und 7 kann die genaue Verteilung der eben besprochenen Daten betrachtet werden.

	Total (n=144)	PVB 19 + (n=9)	PVB 19 - (n=135)	p-Wert
<b>Posttransplantationsverläufe</b>		9 (6,25%)	135 (93,7%)	
<b>Anteil an Verstorbenen im Posttransplantationsverlauf</b>	59 (41 %)	3 (33,3%)	56 (41,5%)	0,737
<b>Geschlecht</b>				
Männlich	86 (59,7%)	4 (44,4%)	82 (60,7%)	0,458
Weiblich	58 (40,3%)	5 (55,6%)	53 (39,3 %)	
<b>Alter (Jahre)</b>				
Median (Min-Max)	9,52 (0,1-28,3)	16,0 (6,7-21,3)	9,0 (0,1-28,3)	0,005

**Tabelle 5: Demografische Statistik.**

Tabelle 5 zeigt die demographischen Charakteristika der Studienpopulation.

	Total (n=144)	PVB 19 + (n=9)	PVB 19 - (n=135)	p-Wert
<b>HSZT-Verlauf: Grunderkrankung</b>				
maligne	86 (59,7%)	6 (66,7%)	80 (59,3%)	0,740
nicht-maligne	58 (40,3%)	3 (33,3%)	55 (40,7%)	

**Tabelle 6: Einteilung der Grunderkrankungen.**

	Total (n=144)	PVB + (n=9)	PVB - (n=135)
Grunderkrankung			
ALL	30 (20,8%)	2 (22,2%)	28 (20,7%)
AML	20 (13,9%)	3 (33,3%)	17 (12,6%)
Atyp. ALPS	2 (1,3%)	0 (0%)	2 (1,5%)
CML	4 (2,8%)	0 (0%)	4 (3,0%)
Diamond-Blackfan-Anämie	1 (0,7%)	0 (0%)	1 (0,7%)
EBV	1 (0,7%)	0 (0%)	1 (0,7%)
Evans-Syndrom	1 (0,7%)	0 (0%)	1 (0,7%)
Ewing-Sarkom	4 (2,8%)	0 (0%)	4 (3,0%)
Fanconi-Anämie	1 (0,7%)	0 (0%)	1 (0,7%)
Griscelli-Syndrom	2 (1,4%)	0 (0%)	2 (1,5%)
HLH	2 (1,4%)	0 (0%)	2 (1,4%)
Hyper-IgM-Syndrom	1 (0,7%)	0 (0%)	1 (0,7%)
JHML	4 (2,8%)	0 (0%)	4 (3,0%)
Keimzelltumor	1 (0,7%)	0 (0%)	1 (0,7%)
Leukodystrophie	6 (4,2%)	1 (11,1%)	5 (3,7%)
Mb.Hodgkin	1 (0,7%)	1 (11,1%)	0 (0%)
Mb. Krabbe	3 (2,1%)	1 (11,1%)	2 (1,5%)
MDS	3 (2,1%)	0 (0%)	3 (2,2%)
Medulloblastom	2 (1,4%)	0 (0%)	2 (1,5%)
Mucopolysaccharidose Hurler 1	1 (0,7%)	0 (0%)	1 (0,7%)
NHL	5 (3,7%)	0 (0%)	5 (3,5%)
Neuroblastom	8 (5,6%)	0 (0%)	8 (5,9%)
Nijmegen-Breakage-Syndrom	1 (0,7%)	0 (0%)	1 (0,7%)
Osteosarkom	4 (2,8%)	0 (0%)	4 (3,0%)
SAA	14 (9,7%)	1 (11,1%)	13 (9,6%)
SCN	3 (2,1%)	0 (0%)	3 (2,2%)
SCID	7 (4,9%)	0 (0%)	7 (5,1%)
septische Granulomatose	1 (0,7%)	0 (0%)	1 (0,7%)
Sichelzell-Krankheit	6 (4,2%)	0 (0,0%)	6 (4,5%)
WAS-like Syndrom	4 (2,8%)	0 (0%)	4 (3,0%)
X-LPS	1 (0,7%)	0 (0%)	1 (0,7%)

**Tabelle 7: Art der Grunderkrankungen der Studienpopulation nach Gruppen-einteilung.**

ALL = Akute lymphatische Leukämie; AML = Akute myeloische Leukämie, ALPS = Autoimmun-lymphoproliferatives Syndrom; CML = Chronische myeloische Leukämie; EBV = Epstein-Barr-Virus, HLH = Hämophagozytische Lymphohistiozytose; MDS = Myelodysplastisches Syndrom; NHL = Non-Hodgkin-Lymphom; SAA = Schwere aplastische Anämie; SCN = Schwere kongenitale Neutropenie; SCID = Schwere kombinierter Immundefekt; X-LPS = X-linked lymphoproliferatives Syndrom; WAS-like Syndrom = Wiscott-Aldrich-like Syndrom.

## **3.2 Transplantationsdaten: hämatopoetische Stammzelltransplantation**

### **3.2.1 Konditionierungs-Chemotherapie, Manipulation der Stammzellen, Stammzellquelle und Stammzelltyp**

Bei 54,9 % (n = 79) von 144 Stammzell-Transplantationen wurde die Konditionierung myeloablativ und bei 41,7 % (n = 60) nicht-myeloablativ durchgeführt. Bei 3,5 % (n = 5) der Transplantationen fand keine Konditionierungs-Chemotherapie statt. Bezogen auf die Gruppen *PVB19* positiv und *PVB19* negativ erhielten 77,8 % (n = 7/9) der *PVB19* positiven Fälle eine nicht-myeloablative Therapie, während 39,3 % (n = 43/135) der *PVB19* negativen Fälle nicht-myeloablativ konditioniert wurden. Im Gruppenvergleich der *PVB19* positiven und *PVB19* negativen Fälle existiert kein signifikanter Unterschied bezüglich der Art der Konditionierung ( $p=0,074$ ). Statistisch liegt so kein Zusammenhang zwischen einer Infektion und dem Konditionierungsregime vor.

Was die Stammzellquelle betrifft, so wurden bei 41 (28,5 %) Stammzelltransplantationen hämatopoetische Stammzellen aus dem Knochenmark verabreicht, 98 (68,1 %) erhielten hämatopoetische Stammzellen aus dem peripheren Blut. Zwei (1,4%) Verläufe erhielten sowohl Zellen aus dem Knochenmark und peripherem Blut. Eine Patientin (0,7 %) erhielt Stammzellen rein aus Nabelschnurblut. Auch hier zeigte sich betreffend der Stammzellquelle zwischen den Gruppen kein signifikanter Unterschied ( $p$ -Wert: 0,981). In Tabelle 9 können die Werte der statistischen Auswertung abgelesen werden.

Die Manipulation der Stammzellen erfolgte bei 31,9 % (n = 46) der HSZT unmanipuliert. Bei 29,2 % (n = 42) wurde eine Manipulation mittels CD3/19 Depletion vorgenommen. In 27,1 % (n = 39) der Fälle wurden die Apheresate TCR $\alpha\beta$ /CD19-depletiert. Nur 11,8 % (n = 17) wurden CD34<sup>+</sup> selektioniert.

Bezüglich der Manipulation der Stammzellen gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Untersuchungsgruppen (*p*-Wert: 0,092). In Tabelle 8 kann die Verteilung innerhalb der beiden Untersuchungsgruppen abgelesen werden.

Im Median wurden bei einer HSZT 8,28 [(1,5 – 19,3)] x 10<sup>6</sup> CD34<sup>+</sup> Zellen/kg bei den *PVB19* positiven Fällen und bei den negativen Fällen 10,75 [(0,44-400)] x 10<sup>6</sup> CD34<sup>+</sup> Zellen/kg transplantiert (*p*-Wert: 0,131). Bei *PVB19* positiven Transplantationsverläufen lag die mediane CD3<sup>+</sup> Zellzahl/kg bei 0,10 [(0-276)] x 10<sup>6</sup> Zellen/kg, und bei 10 [(0-1600)] x 10<sup>6</sup> Zellen/kg bei den *PVB19* negativen Postransplantationsverläufen (*p*-Wert: 0,325).

Bei 52 (36,11 %) Fällen wurden Stammzellen von einem/r HLA-kompatiblen unverwandtem SpenderInnen (MUD) verabreicht. Davon waren im Verlauf 3 (33,3 % innerhalb der *PVB19* positiv Fälle) *PVB19* positiv und 49 (36,3% innerhalb der *PVB19* negativ Fälle) *PVB19* negativ. Bei 49 (34,0 %) Verläufen wurden Stammzellen von HLA-identen familiären SpenderInnen (Geschwister/MSD) gegeben. Bei 41 (28,5 %) der Posttransplantationsverläufe wurden Stammzellen von einem haploidenten Spender/einer haploidenten Spenderin (Vater/Mutter) gespendet. Bei 55,6 % (n = 5/9) der *PVB19* positiven Fälle wurden Stammzellen von haploidenten SpenderInnen verwendet. Lediglich bei 2 (1,4%) Verläufen wurde mit Stammzellen von HLA-differenten unverwandten SpenderInnen (MMUD) behandelt. Auch hier wird innerhalb der Gruppenunterschiede keine Signifikanz festgestellt (*p*-Wert: 0,25).

Die Immunsuppression erfolgte bei 29,9 % (n = 43) der Verläufe mit Cyclosporin A (Cyclo A). 41,7 % (n = 60) erhielten Mycophenolatmofetil (MMF) zur Immunsuppression. 13,2 % (n = 19) erhielten sowohl Cyclosporin A und Mycophenolatmofetil. Bei 22 Verläufen wurde eine Therapie aus verschiedenen Immunsuppressiva gewählt (vgl. hierzu Tabelle 8). Im Gruppenvergleich zwischen *PVB19* positiv und

*PVB19* negativ Verläufen konnte kein signifikanter Unterschied bei der Immunsuppression festgestellt werden (*p*-Wert: 0,618). Ein Zusammenhang der Immunsuppression auf das Vorkommen einer *PVB19*-Infektion kann nicht hergestellt werden.

Im Median wurde das leukozytäre Engraftment für die *PVB19* positive Gruppe nach 10 [(8-25)] Tagen und für die *PVB19* negative Gruppe nach 11 [(0-56)] Tagen erreicht (*p*-Wert: 0,478). Der mediane WBC-Wert lag bei 1255 [(1000-15570)] Zellen/ $\mu$ l. Bei *PVB19* positiven Fällen bei 1500 [(1000-3840)] Zellen/ $\mu$ l und bei *PVB19* negativen Fällen bei 1245 [(1000-15570)] Zellen/ $\mu$ l. Bei einem *PVB19* positiven Fall konnte kein ausreichendes Engraftment erreicht werden (*p*-Wert: 0,699).

Im Median wurde am 14. [(11-45)] Tag bei Verläufen mit nachgewiesener Infektion und bei Verläufen ohne Infektion am 11. [(0-82)] Tag das letzte Erythrozytenkonzentrat transfundiert (*p*-Wert: 0,127), dies gilt ebenso für das letzte verabreichte Thrombozytenkonzentrat (*PVB19* positive Fälle [(8-41)]; *PVB19* negative Fälle [(0-142)] (*p*-Wert: 0,724).

	Total (n=144)	PVB 19 + (n=9)	PVB 19 - (n=135)	p-Wert
<b>Konditionierungs-Chemotherapie</b>				
keine	5 (3,5%)	0 (0%)	5 (3,5%)	0,074
myeloablativ	79 (54,9%)	2 (22,2%)	77 (57,0%)	
nicht-myeloablativ	60 (41,7 %)	7 (77,8%)	43 (39,3%)	
<b>Stammzellquelle</b>				
KM	41 (28,5%)	3 (33,3%)	38 (28,1%)	0,981
KM/PBSC	2 (1,4%)	0 (0,0%)	2 (1,5%)	
KM/NS	2 (1,4%)	0 (0,0%)	2 (1,5%)	
PBSC	98 (68,1%)	6 (66,7%)	92 (68,1%)	
NS	1 (0,7%)	0 (0,0%)	1 (0,7%)	
<b>Manipulation</b>				
CD34 selektioniert	17 (11,8%)	3 (33,3%)	14 (10,4%)	0,092
CD3/19 depl.	42 (29,2%)	3 (33,3%)	39 (28,9%)	
TCR $\alpha$ $\beta$ /CD19 depl.	39 (27,1%)	0 (0,0%)	39 (28,9%)	
unmanipuliert	46 (31,9%)	3 (33,3%)	43 (31,9%)	
<b>Zellzahl</b>				
<b>CD 34+ Zellen x 10<sup>6</sup>/kg</b>				
Median (Min-Max)	10,6 (0,44-400)	8,28 (1,5-19,3)	10,75 (0,44-400)	0,131
<b>CD3 + Zellen x 10<sup>6</sup>/kg</b>				
Median (Min-Max)	6,9 (0,00-1600)	0,1015 (0-276)	10 (0-1600)	0,325

	Total (n=144)	PVB 19 + (n=9)	PVB 19 - (n=135)	p-Wert
<b>Stammzelltyp</b>				
Haplo	41 (28,5%)	5 (55,6%)	36 (26,7%)	0,25
MMUD	2 (1,4%)	0 (0,0%)	2 (1,5%)	
MSD	49 (34,0%)	1 (11,1%)	48 (35,6%)	
MUD	52 (36,11%)	3 (33,3%)	49 (36,3%)	
<b>Immunsuppression</b>				
andere	7 (4,9%)	0 (0,0%)	7 (5,2%)	0,618
Cyclo A	43 (29,9%)	3 (33,3%)	40 (29,6%)	
Cyclo A basiert	10 (6,9%)	0 (0,00%)	10 (7,4%)	
Cyclo A, MMF	19 (13,2%)	2 (22,2%)	17 (12,6%)	
MMF	60 (41,7%)	3 (33,3%)	57 (42,2%)	
MMF basiert	5 (3,5%)	1 (11,1%)	4 (3,0%)	
<b>Leukozytäres Engraftment (Zellzahl)</b>				
	n=108	n=7	n=92	0,699
Median (Min-Max)	1255 (1000-15570)	1500 (1000-3840)	1245 (1000-15570)	
<b>Leukozytäres Engraftment (Tag)</b>				
	n=117	n=7	n=110	0,478
Median (Min-Max)	11 (0-56)	10 (8-25)	11 (0-56)	
<b>letzte Erythrozytenkonzentrat</b>				
	n=86	n=6	n=80	0,127
Median (Min-Max)	11,5 (0-82)	14 (11-45)	11(0-82)	
<b>letztes Thrombozytenkonzentrat</b>				
	n=107	n=7	n=100	0,724
Median (Min-Max)	12 (0-124)	14 (8-41)	11 (0-124)	

**Tabelle 8: Transplantationsdaten nach Gruppeneinteilung.**

Aufgrund von Datenverlust bei verstorbenen PatientInnen konnte keine vollständige Datenerhebung stattfinden (leukozytäres Engraftment, letztes Erythrozytenkonzentrat/Thrombozytenkonzentrat). Die erhobenen Daten geben die tatsächlich gegebenen Blutprodukte wieder. Haplo = haplo-ident/r SpenderIn; depl. = depletiert KM = Knochenmark; NS = Nabelschnurblut; PBSC = periphere Stammzellen; Cyclo A = Cyclosporin A; MMF = Mycophenolatmofetil; MUD = Matched unrelated donor; MMUD = Mismatched unrelated donor; MSD = Matched sibling donor.

### 3.3 PVB19 Screening vor HSZT

In keinem der *PVB19* positiven Fälle konnte vor der Transplantation *PVB19*-IgM, also eine frische Infektion, nachgewiesen werden.

Bei 22,2 % (n = 2/9) der später positiven Verläufe konnten im Vorfeld *PVB19*-IgG gefunden werden.

In zwei der neun *PVB19*-positiven Fälle war die PCR vor HSZT positiv, ein erneuter Infektionsnachweis wurde jedoch erst 4 Monate nach Stammzelltransplantation eruiert. In dem routinemäßig durchgeführten PCR-Screenings auf *PVB19* konnte bis

90 Tage vor HSZT bei 7 von 142 Posttransplantationsverläufen (4,9 %) *PVB19* nachgewiesen werden (zwei der Verläufe erhielten keine vorgeschaltete PCR).

### 3.3.1 *PVB19*-Verlauf

Im Median wurde eine *PVB19*-Infektion 66 [(6 – 113)] Tagen nach erfolgter HSZT nachgewiesen. Die mediane Nachweisdauer von *PVB19* betrug 1 [(1 – 77)] Tag im Nachweismaterial, was heißt, dass *PVB19* DNA nur zu einem Zeitpunkt im 180 Tage Verlauf nachgewiesen werden konnte. In den darauffolgenden PCRs konnte das Virus nicht mehr detektiert werden. Das definierte Ende einer *PVB19* Infektion betrug im Median 89 [(18 - 149)] Tage nach HSZT.

Die maximale Viruslast im EDTA-Plasma konnte innerhalb von 180 Tagen nach HSZT erhoben werden. Im Median lag die maximale Viruslast bei  $6.6 + E02$  [( $1.0+E02 - 7.6+E03$ )] cp/ml. Siehe hierzu Tabelle 9.

Tabelle 9 zeigt die Daten zum medianen Nachweistag, der Nachweisdauer, dem definierten Ende der Infektion als auch der max. Viruslast bei *PVB19*-Infektion. Bei einem bzw. zwei Fällen konnten keine Information bzgl. des Verlauf gefunden werden.

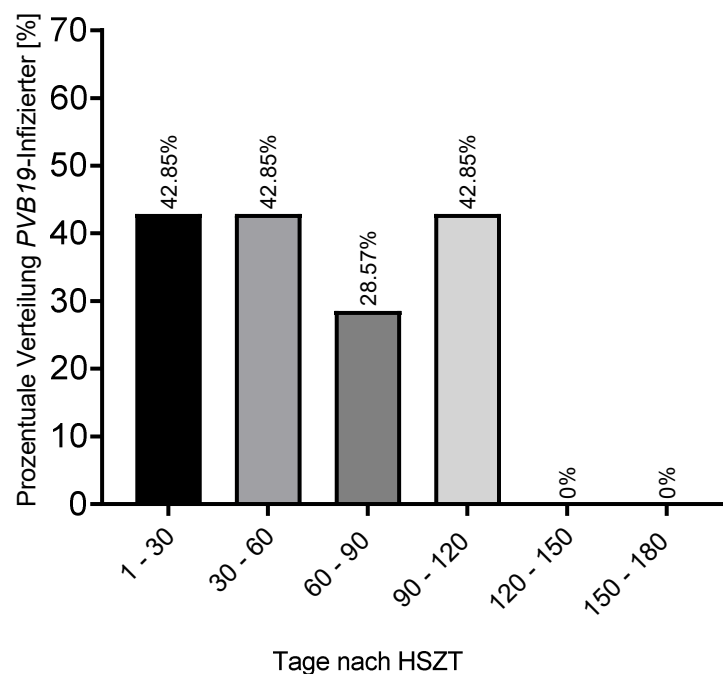
<i>PVB19</i> Positivität		<i>PVB19</i> + (n=9)
Nachweistag		n=8
	Median (Min-Max)	66,0 (6-113)
Nachweisdauer (Tage)		n=7
	Median (Min-Max)	1 (1-77)
definiertes Ende einer <i>PVB19</i> Infektion (Tage)		n=7
	Median (Min-Max)	89 (18-149)
Max. Viruslast im EDTA-Plasma		
	Median (Min-Max)	$6.6E+02$ ( $1.0E+02-7.6E+03$ )

**Tabelle 9: Charakteristika der *PVB19*-Infektionen.**

### 3.3.2 *PVB19* 180-Tage Verlauf

In den ersten 30 Tagen nach HSZT konnte bei drei aus 140 (2,1 %) Posttransplantationsverläufen das *PVB19* nachgewiesen werden (fehlende Transplantationsverläufe aufgrund von fehlenden *PVB19* PCRs in diesem Zeitintervall). Im zweiten Monat nach HSZT waren 3 von 125 (2,4%) Verläufen positiv (fehlende Verläufe aufgrund von fehlenden PCR-Ergebnissen im entsprechenden Zeitintervall). Die nied-

rigste Zahl an infizierten Proben konnte im Zeitraum 90-120 Tage festgestellt werden mit zwei aus 124 (1,6%) *PVB19* positiven Posttransplantationsverläufen. Im vierten Monat nach HSZT wurde bei fünf aus 117 (4,27%) Verläufen (fehlende Verläufe aufgrund von fehlenden PCR-Ergebnissen im entsprechenden Zeitintervall) *PVB19* nachgewiesen. Dies war in den sechs Zeiträumen à 30 Tage der höchste Prozentsatz. In den darauffolgenden Monaten konnten keine positiven Proben nachgewiesen werden. Die Anzahl an Infektionen über die sechs Zeitintervalle hinweg umfasst auch die Verläufe, die über mehrere Zeitintervalle hinweg positiv waren. Zur besseren Darstellung wurden in Abbildung 1 nicht die Transplantationsverläufe in den Zeitintervallen, sondern die *PVB19*-positiven PatientInnen prozentual dargestellt (n = 7/114).



**Abbildung 1: Prozentuale Verteilung PVB19-Infizierter im Verlauf von 6 Monaten nach HSZT.**

Die Abbildung 1 zeigt wie viele der sieben *PVB19*-positiven PatientInnen in den jeweiligen Zeitintervallen nach HSZT auftraten. 14,29 % entspricht dabei einem Patienten/einer Patientin. *PVB19* DNA konnte in den ersten 4 Monaten nach HSZT nachgewiesen werden, danach nicht mehr. Dabei ist anzumerken, dass auch jene Infizierten in den Prozentsatz eingehen, die über ein längeres Zeitintervall *PVB19*-positiv waren. In den Monaten 1, 2 und 4 konnte am häufigsten *PVB19*-DNA nachgewiesen werden. HSZT = Hämatopoetische Stammzelltransplantation.

### 3.3.3 PVB19 Infektionskomplikationen

Von den 9 *PVB19* positiven Verläufen der 144 Posttransplantationsverläufe konnte bei sechs Verläufen (66,7 %) keine Komplikation festgestellt werden (Grunderkrankungen: ALL (2), AML, Mb. Hodgkin, Mb. Krabbe (2)). Die restlichen drei Verläufe (Grunderkrankungen: AML (2), SAA) zeigten zum Teil multiple, sich überlappende Komplikationen pro Verlauf. Bei zwei Verläufen (22,2%) zeigte sich innerhalb der 180 Tage eine Panzytopenie (Grunderkrankungen: AML, SAA). Eine fehlende Erythropoese und mangelndes Engraftment zeigte sich ebenso während eines Verlaufs (11,1 %) (Grunderkrankung: AML). Vergleiche hierzu Tabelle 10.

<b>PVB19 infekt-assoziierte Komplikationen</b>	<b>Total (n=9)</b>
fehlende Erythropoese, mangelndes Engraftment	1 (11,1%)
SAA, Panzytopenie	2 (22,2%)
Keine	6 (66,7%)

**Tabelle 10: PVB19 assoziierte Komplikationen im HSZT-Verlauf.**

HSZT = hämatopoetische Stammzelltransplantation; SAA = Schwere aplastische Anämie.

### 3.3.4 PVB19 Therapie

Insgesamt sechs (66,7 %) der neun nachgewiesenen *PVB19* positiven Verläufe wurde nicht therapiert. Bei zwei *PVB19* Verläufen (22,2 %) wurde eine Therapie mit intravenösen Immunglobulinen gegeben. In einem Fall (5,6 %) wurde Ganciclovir genutzt.

Zwei von drei behandelten Infektionen wurden im Median 5,5 [(3 - 130)] Tage therapiert. Die max. Viruslast nach IVIG-Therapie belief sich auf 1.3E+03 [(1.0E+02 - 1.5E+0,4)] cp/ml (vgl. hierzu Tabelle 11).

<b>PVB19 Therapie</b>	<b>Total (n= 9)</b>
IVIG	2 (22,2%)
Ganciclovir	1 (5,6%)
keine Therapie	6 (66,7%)

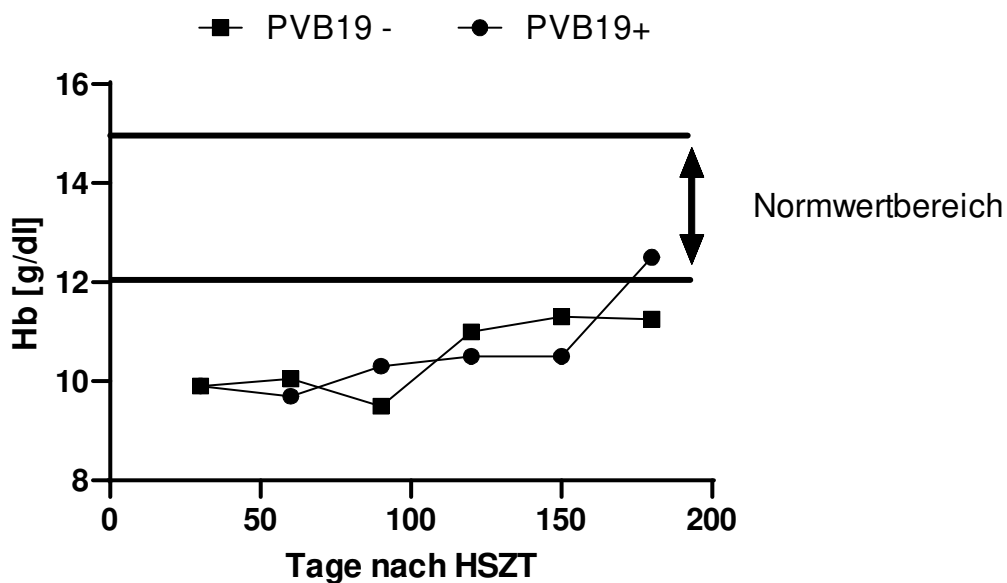
<b>Max. Viruslast nach Therapie (Median (Min-Max)) [cp/ml]</b>	<b>Total (n=9)</b>
IVIG	n=2; 1.3E+03 (1.0E+02-7.6E+03)

**Tabelle 11: PVB19 Therapie.**

Tabelle 11 zeigt die verwendeten Medikamente bei PVB19 Infektion. IVIG = intravenöses Immunglobulin.

**3.3.5 Hb- und Retikulozyten-Verläufe**

Als Marker einer PVB19-Infektion wurden der Hämoglobin-Wert (Hb-Wert) und die Retikulozyten-Zahlen herangezogen. Aus Abbildung 2 ist ersichtlich, dass die medianen Hb-Werte [(9,5 g/dl - 12,5 g/dl)] beider Gruppen im Verlauf der 180 Tage nach HSCT keine signifikanten Unterschiede innerhalb der Beobachtungsgruppen zeigten (*p*-Werte: 0,287 – 0,748). Sowohl die PVB19-negativen als auch -positiven Verläufe lagen unterhalb des Normwertbereichs für das Hämoglobin.

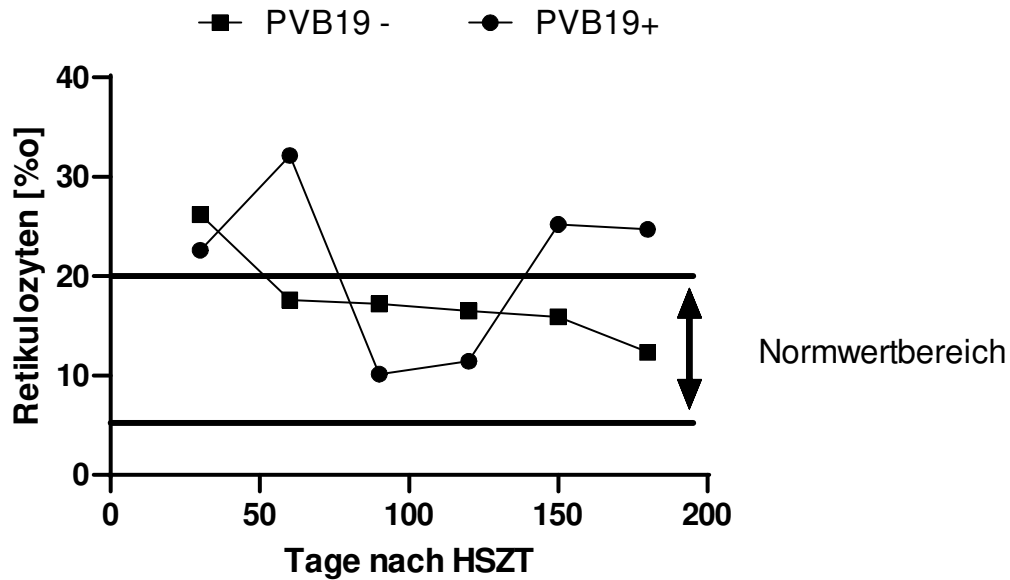


**Abbildung 2: Medianer Hb-Wert-Verlauf bis 6 Monate nach HSZT für die Beobachtungsgruppen PVB19 positiv und negativ.**

Der Normbereich für Hb liegt zwischen 12,3 g/dl und 15 g/dl. Die Graphen der Beobachtungsgruppen zeigen einen ähnlichen Verlauf. Für beide Gruppen liegen die Werte unterhalb des Normbereichs. HSZT = Hämatopoetische Stammzelltransplantation.

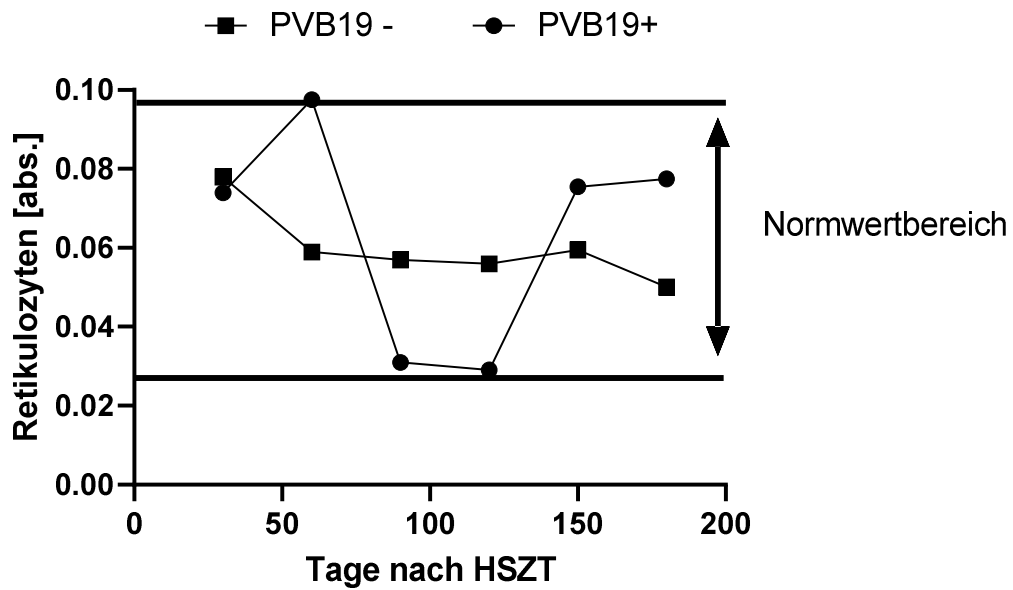
Für die Retikulozyten in Promille konnten keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden (*p*-Wert: 0,064 – 0,2). In der absoluten Retikulozytenzahl zeigte sich an Tag 150 ein signifikanter Unterscheid zwischen den beiden Gruppen (vergleiche hierzu

Abbildung 3 und 4) (*p*-Wert: 0,043). Im weiteren Verlauf der medianen Retikulozyten-Werte [abs.] zeigte sich diese Signifikanz nicht mehr. Die medianen Zellzahlen lagen für die Retikulozyten in Promille zwischen 10,2 - 32,2 und für die Retikulozyten absolut zwischen 0,03 – 0,10 Retikulozyten x 10<sup>12/l</sup>. In beiden Abbildungen 3 und 4 verlaufen die Grafen überwiegend im Normbereich.



**Abbildung 3: Medianer Retikulozyten [Promille]-Verlauf bis 6 Monate nach HSZT für die Beobachtungsgruppen PVB19 positiv und negativ.**

Der Normwertbereich liegt zwischen 5,00 – 20,00 Promille. Beide Graphen liegen im bzw. oberhalb des Normwertbereichs. HSZT = Hämatopoetische Stammzelltransplantation.



**Abbildung 4: Absolute Retikulozytenzahl (Median) bis 6 Monate nach HSZT für die Beobachtungsgruppen PVB19 positiv und negativ.**

Der Normwertbereich der Retikulozyten liegt zwischen 0,027 – 0,095 [abs.]. Die Graphen beider Beobachtungsgruppen liegen im Normwertbereich. HSZT = Hämatopoetische Stammzelltransplantation.

In Tabelle 12 werden die einzelnen Werte der Intervalle für die medianen Hb-Werte und Retikulozytenzahlen dargestellt.

<b>Hb-Wert-Verläufe [g/dl]</b>	<b>Total</b>	<b>PVB19+</b>	<b>PVB19 -</b>	<b>p-Wert</b>
Median (Min-Max)				
Hb-Wert 30 Tage, Median (Min-Max)	n=9;115	9,9 (6,9-11,2)	9,9 (7,2-15,7)	0,679
Hb-Wert 60 Tage	n=9;114	9,7 (0,145-11,8)	10,05 (7,1-15,1)	0,287
Hb-Wert 90 Tage	n=9;109	10,3 (6,2-15,7)	9,5 (7,7-15,6)	0,207
Hb-Wert 120 Tage	n=9;108	10,5 (7,5-16,4)	11 (6,5-15)	0,638
Hb-Wert 150 Tage	n=9;101	10,5 (9-16,6)	11,3 (8,1-15)	0,748
Hb-Wert 180 Tage	n=9;96	12,5 (8,9-15,2)	11,25 (7,7-15,8)	0,419

<b>Retikulozyten [Promille]</b>	<b>Total</b>	<b>PVB19+</b>	<b>PVB19 -</b>	<b>p-Wert</b>
Median (Min-Max)				
Retikulozyten 30 Tage, Median (Min-Max)	n=8;111	22,7 (1,2-53,2)	26,2 (0,07-136,3)	0,61
Retikulozyten 60 Tage	n=8;110	32,2 (7,7-65,6)	17,7 (0,4-119)	0,093
Retikulozyten 90 Tage	n=8;106	10,2 (3,4-19,7)	17,2 (0,11-143,7)	0,064
Retikulozyten 120 Tage	n=8;103	11,5 (0,4-37,4)	16,5 (0,09-277,2)	0,198
Retikulozyten 150 Tage	n=8;98	25,2 (10,8-83,5)	15,9 (0,7-326,8)	0,053
Retikulozyten 180 Tage	n=8;92	24,7 (3,6 -42,1)	12,4 (0,3-196,4)	0,139

<b>Retikulozyten [absolut]</b>	<b>Total</b>	<b>PVB19+</b>	<b>PVB19 -</b>	<b>p-Wert</b>
Median (Min-Max)				
Retikulozyten 30 Tage, Median (Min-Max)	n=8;109	0,07 (0,00-0,18)	0,08 (0,00-0,42)	0,619
Retikulozyten 60 Tage	n=8;109	0,10 (0,03-0,21)	0,06 (0,00-0,39)	0,064
Retikulozyten 90 Tage	n=8;105	0,03 (0,01-0,06)	0,06 (0,00-0,4)	0,200
Retikulozyten 120 Tage	n=8;104	0,03 (0,00-0,08)	0,06 (0,00-0,75)	<b>0,043</b>
Retikulozyten 150 Tage	n=8;98	0,08 (0,03-0,25)	0,06 (0,00-0,75)	0,146
Retikulozyten 180 Tage	n=8;92	0,08 (0,01-0,14)	0,05 (0,00-0,44)	0,485

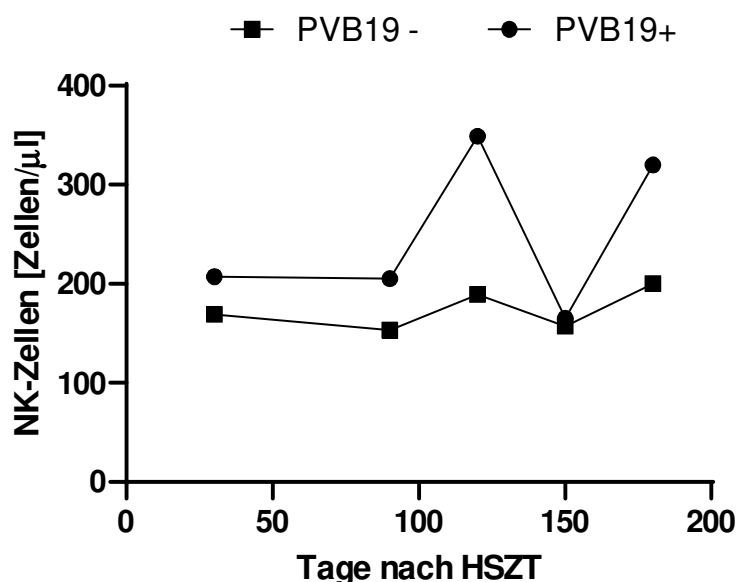
**Tabelle 12: Darstellung der einzelnen medianen Hb-Werte und Retikulozytenzahlen in den unterschiedlichen Zeitintervallen nach HSZT.**

Unter der Spalte *Total* findet sich die ausgewertete Anzahl der jeweiligen Beobachtungsgruppen mit Strichpunkt getrennt. Nur für die hier aufgelistete Anzahl an Post-HSZT-Verläufen fand eine Auswertung im Labor statt. Die Daten entstammen der vollständigen Originaldaten des Labors. Hb = Hämoglobin.

### 3.3.6 Zellulärer Verlauf, Immunologische Rekonstitution

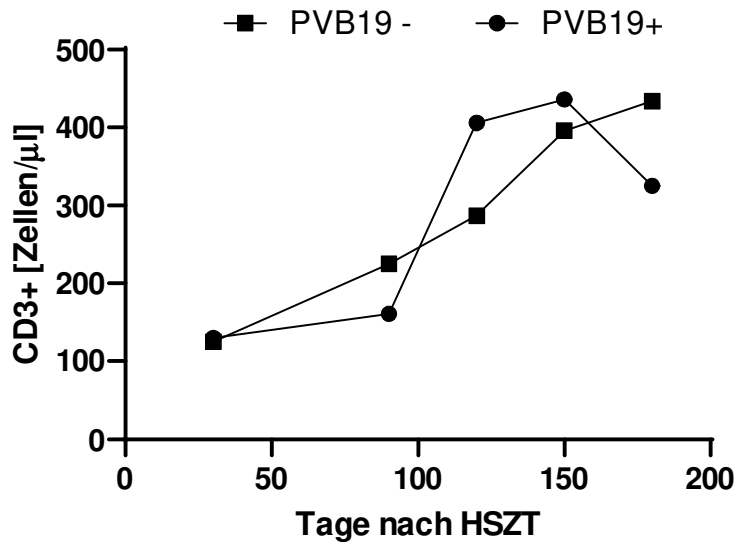
Auch hinsichtlich der immunologischen Rekonstitution zeigten sich zwischen den Beobachtungsgruppen keine signifikanten Unterschiede. Die Graphen der Beobachtungsgruppen zeigen hinsichtlich der unterschiedlichen Zelltypen und innerhalb der Zeitintervalle ähnliche Verläufe. Dies legt nahe, dass eine Infektion keinen Einfluss auf die immunologische Rekonstitution hat.

Die medianen NK-Zellzahlen lagen für beide Gruppen zwischen 153 Zellen/ $\mu\text{l}$  und 320 Zellen/ $\mu\text{l}$  ( $p$ -Werte: 0,127 – 0,829). Die mediane Anzahl der CD3<sup>+</sup> Zellen bewegte sich für beide Untersuchungsgruppen zwischen 125 Zellen/ $\mu\text{l}$  und 436 Zellen/ $\mu\text{l}$  im Posttransplantationsverlauf ( $p$ -Werte: 0,211 – 0,903). Im Median konnten für CD3/4-Zellen Werte für beide Beobachtungsgruppen von 26 Zellen/ $\mu\text{l}$  – 182 Zellen/ $\mu\text{l}$  beschrieben werden ( $p$ -Werte: 0,187 – 0,979). Die mediane Zellenzahl von CD3/8-Zellen lag zwischen 32 Zellen/ $\mu\text{l}$  und 242 Zellen/ $\mu\text{l}$  während des Beobachtungszeitraumes ( $p$ -Werte: 0,411 – 0,973). In den Abbildungen 5, 6, 7 und 8 können die Verläufe der Zellzahlen in den Zeitintervallen nachvollzogen werden. In Tabelle 13 kann die genau Anzahl an medianen Zellzahlen für die Beobachtungsgruppen nachvollzogen werden.



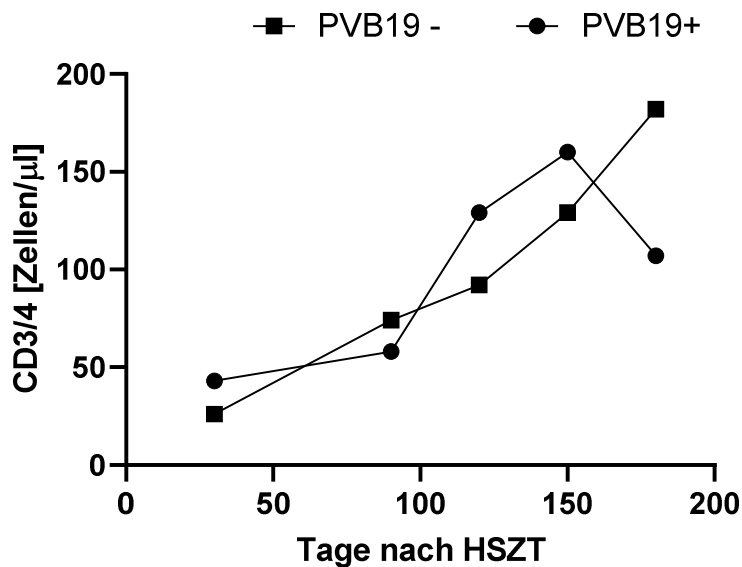
**Abbildung 5: NK-Zellen-Verlauf bis 6 Monate nach HSZT für die beiden Beobachtungsgruppen.**

Die Graphen beider Untersuchungsgruppen zeigen über die sechs Monate ähnliche Verläufe. HSZT = Hämatopoetische Stammzelltransplantation.



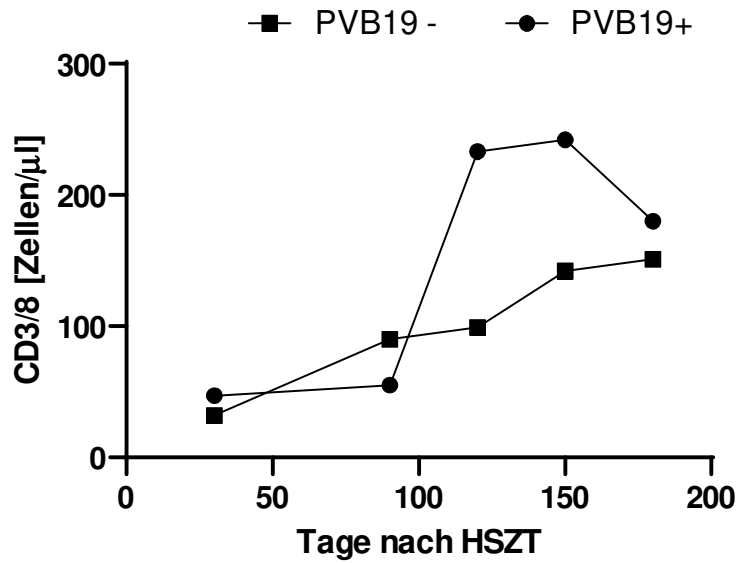
**Abbildung 6: CD3<sup>+</sup>-Zellen Verlauf bis 6 Monate nach HSZT für die beiden Beobachtungsgruppen.**

Die Graphen beider Untersuchungsgruppen zeigen über die 6 Monate ähnliche Verläufe. HSZT = Hämatopoetische Stammzelltransplantation.



**Abbildung 7: CD3/4-Zellen Verlauf bis 6 Monate nach HSZT für die beiden Beobachtungsgruppen.**

Die Graphen beider Untersuchungsgruppen zeigen über die 6 Monate ähnliche Verläufe. HSZT = Hämatopoetische Stammzelltransplantation.



**Abbildung 8: CD3/8-Zellen Verlauf bis 6 Monate nach HSZT für die beiden Beobachtungsgruppen.**

Die Graphen beider Untersuchungsgruppen zeigen (mit zwei Ausnahmen) über die 6 Monate ähnliche Verläufe. HSZT = Hämatopoetische Stammzelltransplantation.

Zellulärer Verlauf	Total	PVB 19 +	PVB 19 -	p-Wert
<b>NK-Zellen (Zellen/<math>\mu</math>l) (Median (Min-Max))</b>				
NK-Zellen 30 Tage	n=7;99	207 (31-496)	169 (18-1311)	0,829
NK-Zellen 90 Tage	n=7;94	205 (27-735)	153(1-2364)	0,426
NK-Zellen 120 Tage	n=7;88	349 (71-592)	189 (3-2198)	0,142
NK-Zellen 150 Tage	n=5;75	165 (66-574)	157 (0-1334)	0,773
NK-Zellen 180 Tage	n=7;82	320 (4-421)	200 (6-3847)	0,127
<b>CD3+ Zellen (Zellen/<math>\mu</math>l) (Median (Min-Max))</b>				
CD3+ Zellen 30 Tage	n=8;100	130 (7-520)	125 (0-3466)	0,87
CD3+ Zellen 90 Tage	n=7;93	161 (6-389)	225 (0-3135)	0,211
CD3+ Zellen 120 Tage	n=7;90	406 (3-882)	287 (0-4748)	0,526
CD3+ Zellen 150 Tage	n=6;78	436 (2-670)	396 (3-5901)	0,903
CD3+ Zellen 180 Tage	n=7;85	325 (0-945)	434 (0-9116)	0,401
<b>CD3/4 Zellen (Zellen/<math>\mu</math>l) (Median (Min-Max))</b>				
CD3/4 Zellen 30 Tage	n=8;99	43 (2-85)	26 (0-671)	0,948
CD3/4 Zellen 90 Tage	n=7;92	58 (2-200)	74 (0-914)	0,53
CD3/4 Zellen 120 Tage	n=7;90	129 (1-287)	92 (0-1551)	0,635
CD3/4 Zellen 150 Tage	n=6;160	160 (1-232)	129 (3-1795)	0,979
CD3/4 Zellen 180 Tage	n=7;83	107 (0-228)	182 (0-1923)	0,187
<b>CD3/8 Zellen (Zellen/<math>\mu</math>l) (Median (Min-Max))</b>				
CD3/8 Zellen 30 Tage	n=8;99	47 (0-329)	32 (0-2790)	0,657
CD3/8 Zellen 90 Tage	n=7;93	55 (3-154)	90 (0-2784)	0,437
CD3/8 Zellen 120 Tage	n=7;90	233 (2-670)	99 (0-3084)	0,411
CD3/8 Zellen 150 Tage	n=6;79	242 (1-358)	142 (0-4554)	0,973
CD3/8 Zellen 180 Tage	n=7;84	180 (0-491)	151 (0-7633)	0,899

**Tabelle 13: Darstellung der zellulären Verläufe der immunologischen Rekonstitution über die Zeitintervalle nach HSZT.**

Unter der Spalte *Total* findet sich die ausgewertete Anzahl der jeweiligen Beobachtungsgruppen. Nur für die hier aufgelistete Anzahl an Post-HSZT-Verläufen fand eine Auswertung im Labor statt. Die Daten entstammen der vollständigen Originaldaten des Labors. HSZT = hämatopoetische Stammzelltransplantation.

### 3.4 GvHD und Koinfektionen

Bei 70 von 144 Posttransplantationsverläufen konnte eine GvHD festgestellt werden.

In der Unterteilung nach *PVB19* positiven Verläufen und *PVB19* negativen Verläufen nach HSZT zeigte sich, dass 7 der 9 (77,8%) *PVB19* positiven Fälle und 63 von 135 (46,7%) der negativen *PVB19* Fälle eine GVHD entwickelten. Ein signifikanter Unterschied konnte nicht festgestellt werden (*p*-Wert: 0,091).

Was die Koinfektionen betrifft, so konnten bei 144 Posttransplantationsverläufen 96 Koinfektionen nachgewiesen werden. Sechs aus neun (66,7 %) *PVB19* positiven Fällen erlitten mindestens eine Koinfektion. Von 135 im Verlauf *PVB19* negativen Fällen erkrankten 90 (66,7%) an mindestens einer Koinfektion.

Die häufigsten Koinfektionen bei 144 Posttransplantationsverläufen waren die HHV6-Infektion mit 42 Fällen (26,4%) zusammen mit dem BK-Virus (n = 40; 25,2%), gefolgt von CMV mit 36 Fällen (22,6 %) und von EBV (n = 36; 22,6%). In Tabelle 14 kann die Auflistung weiterer erhobener Koinfektionen und deren Gruppenteilung gefunden werden.

	Total n=144)	PVB 19 + (n=9)	PVB 19 - (n=135)	p-Wert
<b>GvHD</b>				
negativ	74 (51,4%)	2 (22,2%)	72 (53,3%)	0,091
positiv	70 (48,6%)	7 (77,8%)	63 (46,7%)	
<hr/>				
	Total (n=144)	PVB 19 + (n=9)	PVB 19 - (n=135)	p-Wert
<b>Koinfektionen</b>				
positiv	96 (66,7%)	6 (66,7%)	90 (66,7%)	1
negativ	48 (33,3%)	3 (33,3 %)	45 (33,3%)	
<hr/>				
		PVB 19 + (n=9)	PVB 19 - (n=135)	
<b>Art der Koinfektionen</b>				
Aspergillus flavus	1 (0,6%)	0 (0%)	1 (0,74%)	
ADV	28 (17,6%)	3 (33,3%)	25 (18,52%)	
Polyoma BK-Virus	34 (21,4%)	5 (55,5%)	29 (21,48%)	
CMV	33 (20,8%)	3 (33,3%)	30 (22,2%)	
EBV	33 (20,8%)	2 (22,2%)	31 (22,96%)	
HHV6	37 (23,3%)	2 (22,2%)	35 (25,9%)	
HHV7	8 (5%)	2 (22,2%)	6 (4,4%)	
Hepatitis B	5 (3,1%)	1 (11,1%)	4 (2,96%)	
Herpes Simplex Typ 1	6 (3,8%)	0 (0%)	6 (4,4%)	
Influenza A	2 (1,3%)	0 (0%)	2 (1,48%)	
Polyoma JC-Virus	4 (2,5%)	1 (11,1%)	2 (1,48%)	
Klebsiella pneumoniae	1 (0,6%)	0 (0%)	1 (0,74%)	
Mycoplasma pneumoniae	1 (0,6%)	0 (0%)	1 (0,74%)	
Noro-Virus	7 (4,4%)	0 (0%)	7 (5,19%)	
Pneumocystitis jirovecii	1 (0,6%)	0 (0%)	1 (0,74%)	
Rota-Virus	4 (2,5%)	1 (11,1%)	3 (2,22%)	
RSV	3 (1,9%)	0 (0%)	3 (2,22%)	

**Tabelle 14: Häufigkeit von GvHD und Koinfektionen nach PVB19-Gruppeneinteilung.**

GvHD = Graft-versus-Host-Disease; ADV = Adenovirus; CMV = Zytomegalievirus; EBV = Epstein-Barr-Virus; HHV = Humanes Herpes Virus; RSV = Humanes Respiratorische Synzytial-Virus. Es wird die Gesamtanzahl der Koinfektionen dargestellt, welche Überschneidung mehrerer Infektionen beinhaltet.

## 4 Diskussion

Aktuell existieren nur wenige Studien, die das Vorkommen und das klinische Spektrum von *PVB19* nach HSZT bei Kindern- und Jugendlichen untersuchen. Die vorliegende Arbeit dient dazu, die Inzidenz/Prävalenz und das Spektrum von *PVB19* Infektionen nach HSZT zu beleuchten und Vergleiche mit bereits existierenden Studien zu ermöglichen.

### 4.1 Einschränkungen dieser Studie

Die Hauptlimitation der vorliegenden Studie ist die geringe Gesamt-Fallzahl, welche die Aussagekraft der Ergebnisse reduziert. Weiterhin konnten Mängel bei der Datenerhebung festgestellt werden. Aufgrund des retrospektiven Charakters der Studie war eine nachträgliche Datenerfassung einiger Werte erschwert oder unmöglich. Zusätzlich konnten, durch das Versterben von PatientInnen während des Posttransplantationsverlaufs, wichtige Daten nicht mehr vervollständigt werden. Was die Daten über die Hb-Werte, Retikulozytenzahlen und die immunologische Rekonstitution betrifft, so wurden die vollständigen Originaldaten des Labors genutzt. Diese waren jedoch ebenso nicht für alle Posttransplantationsverläufe vollständig in der originalen Datenbank vorhanden. Darüber hinaus fiel eine fehlende Datenkonsistenz auf, was vor allem das *PVB19* Screening betraf, welches zu unterschiedlichen Zeitpunkten vor und nach HSZT stattfand und andererseits an einer diffusen Anzahl an unterschiedlichen klinischen Materialien durchgeführt wurde, sowie in unzusammenhängender Reihenfolge.

Auch diese Studie enthält Ausschlusskriterien. Von den ursprünglichen 159 Datensätzen wurden sechs Datensätze aufgrund fehlender PCRs ausgeschlossen. Weiterhin wurden neun *PVB19* positive Posttransplantationsverläufe ausgeschlossen, da nicht genug Testzeitpunkte und Testungen des gleichen klinischen Materials vor HSZT vorlagen, um eine eindeutige Aussage treffen zu können, ob die *PVB19* Infektion innerhalb des ersten Monats nach HSZT auf eine chronische Infektion vor HSZT oder eine Reaktivierung zurückzuführen war. Deshalb wurden nur jene Fälle in die Studie eingeschlossen, die während der 90 Tage vor HSZT eine negative *PVB19*-PCR aufwiesen. Somit wird ausgeschlossen, dass jene Fälle als gültig gezählt werden, die möglicherweise eine chronische Infektion in den Posttransplanta-

tionsverlauf einbringen. Gültige Aussagen über Zusammenhänge des Transplantationsablaufs (Konditionierungsregime, Stammzelltyp, Stammzellspender) und dem Auftreten einer *PVB19* Infektion könnten sonst nicht untersucht werden. Weiterhin wäre eine wichtige Fragestellung hinsichtlich einer Steigerung der Aussagekraft - wie lange persistierenden Infektionen, also Virus-DNA, im Serum und Knochenmark nach akuter Infektion bestehen

bleiben?

Eine Studie von Lindblom et al. 2005 (146) legt nahe, dass eine jahrelange Persistenz im Serum und Knochenmark möglich ist. Da bei chronischen Infektionen über Jahre hin, eine zulässige Aussage über Reaktivierung oder ein erhöhtes Infektionsrisiko unter HSZT-Behandlung unmöglich wäre. Zumal eine persistierende Infektion über die HSZT hinaus wohl mit schlimmeren Folgen verbunden sein könnte. In vorliegender Studie wurde deshalb versucht dieser Möglichkeit gerecht zu werden, weshalb Verläufe mit *PVB19*-positiven PCRs vor HSZT und direkt folgender Positivität im ersten Monat nach HSZT ausgeschlossen wurden, um eine Verzerrung durch eine chronischen/persistierende Infektion (gerade bei Immunsupprimierten und erkrankten Kindern- und Jugendlichen) zu verhindern/zu minimieren. Es wurde bei den statistischen Auswertungen auf die Inzidenz nach HSZT das Augenmerk gelegt nicht auf die Prävalenz vor und nach einer HSZT. Dennoch soll auch die Prävalenz erwähnt und betrachtet werden.

## **4.2 Inzidenz von *PVB19***

Grundsätzlich konnte in dieser Studie eine Inzidenz von *PVB19* von 6,25 % innerhalb der ersten 180 Tage bei 144 Posttransplantationsverläufen nachgewiesen werden, umgerechnet auf die tatsächliche PatientInnenzahl ist dies 6,1 % (7 *PVB19*-positive PatientInnen von 114 PatientInnen).

Die Prävalenz (Fälle inkludiert die bereits vor HSZT *PVB19* positiv waren) liegt in unserer Studie bei 11,8 %, anhand der Posttransplantationsverläufe berechnet (18 *PVB19* Fälle bei 153 Posttransplantationsverläufen). Die Prävalenz liegt, errechnet aus einer PatientInnenzahl von 122 PatientInnen ( $n=15/122$ ), bei 12,3 %. Da diese Studie jedoch die Infektionsrate nach HSZT, ohne den Einfluss einer bereits vorhandenen Infektion betrachten sollte (Inzidenz), soll die Prävalenz lediglich als Vergleichsmöglichkeit für andere Studien herangezogen werden.

In einer Studie von Rahiala et al. 2013 (34), konnte im Vergleich zu unserer vorliegenden Prävalenz von 12,3 % (berechnet nach PatientInnenzahl) eine Prävalenz von 30 % (n = 16/53) bei Kindern und Jugendlichen vor und während einer HSZT beschrieben werden. Ebenso wird von Zaki et al. 2010 und Soliman et al. 2009 (147,148) ein Vorkommen von *PVB19* bei Kinder- und Jugendlichen mit maligner Grunderkrankung von ca. 22 bis 27 % beschrieben, jedoch ohne den Kontext einer HSZT. Bei Zaki et al. 2010 wurde bei 22,2 % der 45 Kinder mit ALL, die eine Chemotherapie erhielten, das Virus nachgewiesen (147).

Letzteres verursachte in der Studienpopulation Zytopenien. Ebenso war die Infektion mit *PVB19* in dieser Studie mit Lymphadenopathien als auch Hepato- und Splenomegalie assoziiert (147,149). Soliman et al. 2009 berichtete, dass in seiner Studie, bei 27,1 % von 59 Kindern, unter Chemotherapie, virale *PVB19* DNA nachgewiesen werden konnte. Nach Soliman et al. 2009 lag bei *PVB19* positiven Fällen die Anzahl von unerklärten Anämien, Menge an Bluttransfusionen und verlängerter Liegedauer im Krankenhaus signifikant höher als bei nicht Infizierten. (148)

In einer Studie von Lindblom et al. 2008 (150), die das Vorkommen von *PVB19* bei Kindern mit ALL und damit assoziierter Zytopenie beschreibt, konnte bei einem von 18 Kindern das Virus nachgewiesen werden, dies aber im Kontext einer Verzögerung der benötigten HSZT, nicht im Verlauf einer HSZT.

Diese letzten drei genannten Studien können anhand der Fragestellung nicht mit der vorliegenden Studie verglichen werden, in der es hauptsächlich um die Inzidenz von *PVB19* im Rahmen einer HSZT geht und nicht dem generellen Vorkommen bei malignen Erkrankungen im Kindes- und Jugendalter. Dennoch bieten diese Studien Anhaltspunkte für die Häufigkeit von *PVB19*-Virämien in dieser Altersstufe und bei malignen Grunderkrankungen.

Zwei Studien, die für eine niedrige Prävalenz und somit auch Inzidenz von *PVB19* nach HSZT sprechen stammen von Söderlund et al. 1996. In dieser Studie wiesen von 201 Knochenmarkstransplantat-EmpfängerInnen kein Patient/keine Patientin im Verlauf von sechs Monate nach HSZT eine Infektion mit *PVB19* auf (151). Auch Azzi et al. 1993 konnte in seiner Studie an 51 Knochenmarkstransplantat-EmpfängerInnen keine *PVB19*-DNA im Posttransplantationsverlauf nachweisen (119).

Anders verhält es sich mit Rahiala et al. 2013, hier ist die Fragestellung zu der vorliegenden Studie ähnlich. Ebenso wurden ähnlich Ausgangsbedingungen geschaffen was die Studienpopulation (demografische Charakteristika) und abgefragten

Variablen (Diagnose, medianes Alter, Anämiezeichen, Vorkommen einer GvHD und Sterblichkeit) der Beobachtungsgruppen (*PVB19* + und *PVB19* -) betrifft.

Der Vergleich unserer Studie mit der von Rahiala et al. 2013 weist jedoch klare Einschränkungen auf. Rahiala et al. 2013 inkludiert auch jene PatientInnen, die bereits vor HSZT *PVB19* positiv waren, also 17 % (n = 9/53). Übertragen auf die vorliegende Studie (also Einschluss jener PatientInnen die bereits vor HSCT ein positives PCR-Ergebnis hatten) würde dies einen Prozentsatz von 10,7 % (n = 13/122 PatientInnen) ergeben, der ebenso um 6,3 % niedriger als der von Rahiala et al. 2013 liegt. (34)

Die Studie von Rahiala et al. 2013 wurde in den Jahren 1997 bis 2006 durchgeführt (34). Nachdem sich seit 2002 die Art der Behandlung (Konditionierung, Aufbereitung der Stammzellen, Screening von Blutprodukten) von malignen Erkrankungen mittels HSZT stark verändert hat, wurde durch den Autor eine Prävalenz an *PVB19* positiven PatientInnen ab 2002 untersucht, mit dem Ergebnis von 12 % (3 von 35 PatientInnen wiesen *PVB19*-DNA vor und nach einer HSZT auf). Würden in der vorliegenden Studie die Fälle vor HSZT inkludiert sein, so wären 15 von 122 PatientInnen also 12,3 % im Zeitraum von 2002 bis 2019 *PVB19* positiv, was unter gegebenen Bedingungen ein vergleichbares Ergebnis darstellt (2 PatientInnen schieden aufgrund ungültiger PCR-Ergebnisse aus).

Das Ergebnis der Studie von Rahiala et al. 2013 war, im Gegensatz zu dieser Studie, dass eine *PVB19*-Virämie bei Kindern- und Jugendlichen mit hämatopoetischen malignen Grunderkrankung und allogener HSZT häufig (Prävalenz von 30%) nachgewiesen werden kann (34). Mit einer Prävalenz von 11,8 % *PVB19*-positiven Kinder und Jugendlichen ist in dieser Studie die Wahrscheinlichkeit um 18,2 % geringer eine *PVB19* Infektion in der Zeit um eine HSZT zu erleiden als bei Rahiala et al. 2013.

In einer Fallstudie nach Eid et al. 2006, in welcher von 98 *PVB19* Fällen (zusammengetragen aus der Literatur) nach diversen Transplantation im Erwachsenen- und Jugendalter berichtet wird, wurden 20 berichtete Fälle, die im Verlauf nach einer HSZT auftraten, zur Vergleichbarkeit isoliert (32). Demografisch gleichen diese Fälle jedoch den Vorliegenden wenig (vgl. Tabelle 15).

Dennoch zeigen Eid et al. 2006, wie auch die vorliegende Untersuchung, dass *PVB19*-Infektionen nach Transplantationen selten vorkommen. Eid et al. 2006 be-

schreiben eine Inzidenz von *PVB19*-Infektionen im Allgemeinen nach Transplantationen von ca. 2 %, was durch Studien über Transplantat-EmpfängerInnen bestätigt wurde (32). Darunter ist Gallinella et al. 1999 zu nennen. Es handelt sich um eine Studie über Organ- und Knochenmarkstransplantierte. Der Kontrollzeitraum lief über sechs Monate nach Transplantation. Dabei wurde eine *PVB19* Inzidenz von 1,42 % angegeben (79). Weiterhin berichten Ndimbie et al. 1996 in einer Studie über 533 Lebertransplantat-EmpfängerInnen (Beobachtungszeitraum über sechs Monate nach Transplantation) von einer *PVB19* Inzidenz von 1,5 % (152). Zudem konnten im Vergleich zu einer Beobachtungsgruppe (keine bekannte *PVB19* Infektion) keine signifikanten laborchemischen Unterschiede festgestellt werden (152). Ebenso berichten Zolnourian et al. 2000 in einer Studie an Nierentransplantat-EmpfängerInnen, mit einem Beobachtungszeitraum von vier Monaten vor Transplantation und vier Monate nach Transplantation, von einer Prävalenzen von *PVB19* (n =2/110) von 1,8 % (153).

Die zuletzt aufgezählten Studien umfassten Transplantationen im Allgemeinen (unabhängig vom Alter oder Art der Transplantation).

	<b>Eid et al. 2006 (32)</b>	<b>Rahiala et al. 2013 (34)</b>	<b>Aktuelle Studie</b>
<b>Zeitraum</b>	1990-2005	1997-2006	2000-2019
<b>PatientInnenzahl</b>	20	53	124
<b>Beobachtungszeitraum</b>	HSZT+12 Monate	1 Monat vor HSZT + 3 Monate	HSZT + 6 Monate
<b>Grunderkrankung</b>		ALL 10/16, AML 4/16	ALL 2/9, AML 3/9
<b>Geschlechterverhältnis m:w</b>	12:8	31:22	48:76
<b>Medianes Alter bei HSZT (Min-Max)</b>	34,5 +/- 11 Jahre	8,2 (0,9-19,0)	9,52 (0,1-28,3)
<b>Medianer Nachweistag einer PVB19 Infektion (Min-Max)</b>	90 Tage		66 Tage (6-113)
<b>niedrigste Hb-Werte im Median</b>	6,4 g/dl		6,2 g/dl
<b>GvHD</b>		46/53	55/124
<b>Mortalität</b>		Gesamtmortalität: 43 %	Gesamtmortalität: 33,9 %
<b>PVB19 Positivität</b>		Prävalenz 16/53 (30%)	Prävalenz 15/122 (12,3%)
<b>Klinische Manifestation</b>	Anämien bei 98,8%	Keine Korrelation mit PVB19 Infektion	Nicht zuordenbar
<b>Behandlung</b>	IVIg (93,7 %)	Nicht angegeben	IVIg, keine
<b>Ergebnis</b>	<i>PVB19 Infektionen kommen selten nach Transplantation vor; aber mit massiver klinischer Signifikanz der Symptome</i>	<i>PVB19 ist eine häufige Infektion, mit wenig Einfluss auf den Post-HSZT-Verlauf</i>	<i>PVB19-Infektionen sind nach HSZT selten; wenig Einfluss auf den Post-HSZT-Verlauf</i>

### **Tabelle 15: Studienvergleich.**

Tabelle 15 zeigt einen Studienvergleich der vorliegenden Studie mit Rahiala et al. 2013 und Eid et al. 2006 (32,34). Die Angaben beziehen sich, aus Gründen des Vergleichs, auf die PatientInnenzahlen. In Angaben, die mit einem Schrägstrich getrennt wurden, befinden sich jeweils die Anzahl von betroffenen Personen aus der Grundgesamtheit/Beobachtungsgruppe und die Gesamtkohorte. HSZT = Hämatopoetische Stammzelltransplantation; GvHD = Graft-versus-Host-Disease; IVIG = Intravenöse Immunglobuline.

### **4.3 Medianes Alter bei *PVB19*-Infektion**

Was das mediane Alter betrifft so konnte in der vorliegenden Studie ein signifikanter Altersunterschied der beiden Beobachtungsgruppen festgestellt werden (*p*-Wert: 0,005). Diese Signifikanz kann jedoch mit hoher Wahrscheinlichkeit auf den Einschluss von über 18-jährigen PatientInnen zurückgeführt werden. Eine Aussage, dass bei älteren PatientInnen eine Infektion mit *PVB19* häufiger vorkommt ist bereits auf Grund der geringen Fallzahl nicht zulässig und würde zu falschen Schlussfolgerungen führen. Bei Rahiala et al. 2013 konnte zwischen den Beobachtungsgruppen keine Altersunterschiede bestätigt werden (34). Rahiala et al. 2013 gibt bei *PVB19*-positiven PatientInnen ein medianes Alter von 7,7 Jahren und bei den *PVB19*-negativen PatientInnen ein medianes Alter von 8,3 Jahren an (34). In unserer vorliegenden Studie lag das mediane Alter bei 9,52 [(0,1–28,3)] Jahren. In der *PVB19*-positiven Gruppe lag das mediane Alter bei 16 [(6,7-21,3)] Jahren und in der *PVB19*-negativen Gruppen bei neun Jahren. In einer Studie von Urban et al. 2011, in welcher Kinder mit *PVB19*-induzierter MDS und SAA untersucht wurden, konnte ein medianes Alter bei Stammzelltransplantation von neun Jahren angegeben werden (154).

### **4.4 Mortalität nach HSZT**

Die mediane Anzahl an Verstorbenen in beiden Beobachtungsgruppen deckt sich mit Angaben von Rahiala et al. 2013 (34). Vergleiche hierzu Tabelle 15.

### **4.5 Konditionierungs-Chemotherapie**

In vorliegender Studie konnte kein signifikanter Unterschied der Beobachtungsgruppen (*PVB19*-Positive, *PVB19*-Negative) in Zusammenhang mit der Konditionierung festgestellt werden. 78 % der *PVB19* positiven Verläufe erhielt eine nicht-myeloablative Therapie. In der Beobachtungsgruppe ohne Infektion waren es lediglich 40 %. Durch eine höhere Intensität der Konditionierungs-Chemotherapie bei myeloablativen Regimen hätte man sich vor allem im Rahmen einer myeloablativen Therapie dieses Ergebnis erwartet, wie auch in Ayuk et al. 2016 beschrieben (22).

Hinsichtlich der Stammzellmanipulation, Stammzellquelle, Stammzelltyp und Immunsuppression konnten keine Zusammenhänge einer Variablen mit dem Auftreten einer *PVB19* Infektion gefunden werden. Was die Stammzellquelle betrifft so konnte

bestätigt werden, dass die Mehrzahl an HSZT mit peripheren Blutstammzellen (68,1%) durchgeführt wurde, wie auch bei Bensinger et al. 2001 beschrieben (11).

#### **4.6 Leukozytäres Engraftment und Blutprodukte**

In einer Studie nach Urban et al. 2011 konnte das leukozytäre Engraftment nach HSZT bei Kindern- und Jugendlichen mit *PVB19* Infektion im Median an Tag 15 erreicht werden (154). In dieser Studie konnte das leukozytäre Engraftment nach zehn Tagen für *PVB19*-Infizierte beobachtet werden. Bei dieser Aussage muss jedoch beachtet werden, dass im Median das erste Auftreten einer *PVB19*-Infektion an Tag 66 war. Davor konnte somit kein Effekt auf leukozytäre Engraftment ausübt werden. Gleich verhält es sich mit der letzten Gabe von Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentrat, die bei *PVB19* Positiven im Median an Tag 14 gegeben wurden. Die größte Anzahl an *PVB19* positiven Posttransplantationsverläufen konnten von Tag 0-30, 30-60 und 90-120 beobachtet werden. Der Einfluss auf eben genannte Größen kann somit kaum abgeschätzt werden.

Ähnliche Aussagen, was die mediane Verabreichungsdauer von Erythrozytenkonzentraten betrifft, können bei Rahiala et al. 2013 gefunden werden. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Beobachtungsgruppen bzgl. der Gabedauer festgestellt werden. Grundsätzlich lag aber die mediane Gabedauer bei Rahiala et al. 2013 bei *PVB19*-Infizierten bei 24,8 Tagen und bei den Patientinnen ohne Infektion bei 25,2 Tagen (34). In vorliegender Studie lagen die medianen Werte niedriger. Bei den *PVB19*-positiven Posttransplantationsverläufen lag die mediane Gabe bei 14 Tagen und bei den *PVB19*-negativen HSZT-Verläufen bei 11 Tagen. In Tabelle 15 findet sich eine Zusammenschau der wichtigsten vergleichbaren Parameter.

#### **4.7 *PVB19* Nachweistag, -dauer und definiertes Ende**

Eid et al. 2006 gibt in seiner Studie für HSZT-EmpfängerInnen (unterschiedlicher Altersklassen) einen medianen Nachweistag für *PVB19* nach 90 Tagen nach HSZT an. In unserer Studie lag dieser bei 66 [(6 - 113)] Tagen. Urban et al. 2011 (155) gibt weiterhin eine mediane Nachweisdauer von 112 Tagen an. Auch diese Aussage kann in dieser Arbeit mit einer medianen Nachweisdauer von gerade einmal einem

Tag nicht bestätigt werden. Grund für diese angegebene Nachweisdauer ist ein einmaliges positives *PVB19* Ergebnis zu einem Testzeitpunkt im Verlauf nach HSZT. Aussagen zur maximalen Viruslast können in keiner Studie gefunden werden.

#### **4.8 *PVB19* Infektions-assoziierte Komplikationen**

Wie auch bei Rahiala et al. 2013 ist eine Aussage dieser Studie, dass die klinische Manifestation einer *PVB19*-Infektion (was die Anzahl an Retikulozyten und die Hb-Werte betrifft) keine signifikanten Unterschiede zu den Werten der Studienpopulation ohne Infektion zeigte (34). Hauptmanifestationen einer symptomatischen *PVB19*-Infektion nach Transplantation seien nach Eid et al. 2006 refraktäre Anämien und Zytopenien (32). Die Auswertung in der vorliegenden Studie ergab bei  $n = 2/9$  (22,2 %) der Fälle das Vorliegen einer Panzytopenie und einer SAA. Bei 11,1 % der positiven Fälle konnte ein mangelndes Engraftment festgestellt werden. Ob aber ein Zusammenhang dieser Komplikationen mit einer *PVB19*-Infektion vorliegt, kann retrospektiv nicht nachgewiesen werden. Die Mehrheit (sechs aus neun *PVB19* positiven Posttransplantationsverläufe) (66,7 %) zeigte keine Komplikationen. Ähnliches wird von Rahiala et al. 2013 berichtet. Im Ganzen konnte bei keiner klinischen Manifestation eine signifikante Korrelation mit einer *PVB19*-Infektion nachgewiesen werden. Somit konnten die Symptome nicht nachweislich auf eine *PVB19*-Infektion zurückgeführt werden. Viele Symptome die einer *PVB19* Infektion ähneln können, treten häufig im normalen Verlauf einer HSZT auch ohne Infektion auf (34).

Anders als bei Eid et al. 2006 kann in vorliegender Studie der Zusammenhang einer *PVB19* Infektion mit schweren Anämien oder komplizierenden Verläufen einer Hepatitis, einer Myokarditis, einer Pneumonie oder einer Fehlfunktion des Grafts, bis hin zum Todesfall, nicht hergestellt werden. Es konnte nicht eine dieser genannten Komplikationen verzeichnet werden (32).

#### **4.9 *PVB19* Therapie**

Anders als bei Eid et al. 2006 (Therapie mit IVIG bei 93,7% der HSZT-EmpfängerInnen) (32), wurden in dieser Studie lediglich bei 2 aus 9 Verläufen (22,2%) im Median 5,5 Tage mit IVIG therapiert. In 66,67% der Fälle wurde keine Therapie bei *PVB19* Infektion durchgeführt.

#### **4.10 Hb-Werte, Retikulozytenzahl und immunologische Rekonstitution**

Es liegen keine Studien vor, die einen Vergleich der vorliegenden Daten erlauben. Ausgesagt werden kann dennoch, dass zwischen den hier vorliegenden zwei Beobachtungsgruppen kein signifikanter Unterschied der Werte (Hb-Werte, Retikulozyten, Immunzellen) im Verlauf von 180 Tagen nachgewiesen werden konnte. Mehr noch zeigten die Graphen ähnliche Verläufe über die Zeit auf. Ein Einfluss einer *PVB19*-Infektion auf Hb-Werte, Retikulozytenzahlen und die immunologische Rekonstitution konnte nicht beobachtet werden.

Es konnte ein signifikanter Unterschied der Retikulozyten-Zahl [abs.] zur Vergleichsgruppe am Tag 150 festgestellt werden. Es bleibt jedoch fraglich, ob eine Infektion mit *PVB19* diese Reduktion verursacht haben könnte.

#### **4.11 GvHD und Koinfektionen**

Bezüglich des Auftretens einer GvHD und dem Auftreten von Koinfektionen lassen sich innerhalb der Beobachtungsgruppen keine signifikanten Unterschiede finden. Bei 77,8 % der *PVB19*-positiven Posttransplantationsverläufe konnte eine GvHD beobachtet werden, bei den *PVB19*-negativen Verläufen waren 46,7 % von einer GvHD betroffen.

(Für Vergleichszwecke kann gesagt werden, dass von 114 PatientInnen in vorliegender Studie 71,4 % (n = 5) der 7 *PVB19* positiven PatientInnen und 42,1 % (n = 45) *PVB19* negativer PatientInnen an einer GvHD litten.

Bei Rahiala et al. 2013 konnte bei *PVB19*-positiven PatientInnen das Auftreten einer GvHD bei 88 % festgestellt werden (34), für *PVB19*-negative PatientInnen lag sie bei 86 %.

Allgemein kann gesagt werden, dass Infektionen/Koinfektionen häufig nach HSZT auftreten. Eine der häufigsten stellt in dieser Studie HHV6 dar. Laut De Pagter et al. 2008 treten HHV6 Infektionen nach HSZT bei Kindern mit einer Inzidenz von 67% auf (156). In vorliegender Studie konnte lediglich bei 26,4 % das Vorkommen von HHV6 beobachtet werden. Ob PatientInnen mit einer *PVB19* Infektion anfälliger für andere Koinfektionen sind, kann nicht gesagt werden.

## 4.12 Fazit

Die *PVB19*-Inzidenz bei Posttransplantationsverläufen bei Kindern- und Jugendlichen nach HSZT liegt bei 6,25 %. Einerseits kann in der Literatur eine niedrige Inzidenz durch zahlreiche Studien nachgewiesen werden, andererseits weist eine ebenso große Zahl auf eine deutlich höhere Inzidenz/Prävalenz einer *PVB19*-Infektion im Rahmen einer HSZT hin.

Anhand der Ergebnisse dieser Studie kann gesagt werden, dass eine *PVB19* Infektion bei Kindern- und Jugendlichen nach HSZT mit einer Inzidenz von 6,25 % selten ist.

Bei dem Versuch einer Anpassung der Studie an den Studienablauf bei Rahiala et al. 2013 konnte eine vergleichbare Prävalenz von 12,3 % (berechnet anhand der PatientInnenzahl) erzielt werden (34).

Bei anderen Studien, über mehrere Altersgruppen und mit diversen Transplantationen, konnten jedoch ähnlich niedrige *PVB19*-Prävalenzen/Inzidenzen nach Transplantation wie in dieser Studie gefunden werden.

Zusammenhänge zwischen der Art des Konditionierungsregimes, der Stammzellquelle, der Stammzellmanipulation als auch des Stammzelltyps und einer *PVB19* Infektion konnten nicht hergestellt werden.

Die infektions-assoziierten Komplikationen werden in einschlägigen Studien kontrovers diskutiert. Es wurde keine Korrelation der auftretenden Komplikationen und vorliegender *PVB19*-Infektionen durch Rahiala et al. 2013 beobachtet. Während Eid et al. 2006 klare Assoziationen von Komplikationen und einer positiven *PVB19*-PCR im HSCT-Verlauf zulassen (32,34).

Die Ergebnisse dieser Studie erlauben die Aussage, dass bei 66,6% der *PVB19* positiven Verläufe keine infektassoziierten Komplikationen nachgewiesen werden konnten. Bei den anderen 33,4 % konnte kein ursächlicher Zusammenhang (aufgrund einer Grunderkrankung mit ähnlichen Auswirkungen) mit einer *PVB19*-Infektion hergestellt werden.

Wie auch bei Rahiala et al. 2013 ist die Schlussfolgerung dieser Studie, dass eine *PVB19*-Infektion den Posttransplantationsverlauf generell nicht negativ beeinflusst, da die Symptome nicht eindeutig auf eine Infektion mit *PVB19* zurückzuführen sind (34).

Um für die Zukunft die Qualität durchgeführter Studien zu verbessern, sollte auf ein strukturiertes Screening vor und nach HSZT Wert gelegt werden. Ebenso sollte eine klare Linie bzgl. des Probematerials verfolgt werden.

Weiterhin ist zu erwähnen, dass v.a. Rahiala et al. 2013 Nachdruck auf die Verwendung von gescreenten Blutprodukten legt, um *PVB19*-Infektionen durch kontaminierte Blutprodukte zu verhindern (34). Da dies bereits seit langer Zeit in Österreich getan wird, hat diese Empfehlung mit hoher Wahrscheinlichkeit aktuell wenig Auswirkung auf die Prävalenz/Inzidenz von *PVB19*-Infektion während HSZT.

## 5 Literaturverzeichnis

1. Bader P. Transplantation hämatopoetischer Stammzellen bei Kindern und Jugendlichen. In: Hoffmann GF, Lentze MJ, Spranger J, Zepp F, Berner R, editors. Pädiatrie: Grundlagen und Praxis [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2019. p. 1–11. Available from: [https://doi.org/10.1007/978-3-642-54671-6\\_228-2](https://doi.org/10.1007/978-3-642-54671-6_228-2)
2. Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kröger N. The EBMT Handbook Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies [Internet]. 2019. Part II: 49-50; Part: IX: 507-688. Available from: [https://www.ebmt.org/sites/default/files/2019-01/2019\\_Book\\_TheEBMTHandbook.pdf](https://www.ebmt.org/sites/default/files/2019-01/2019_Book_TheEBMTHandbook.pdf)
3. Gratwohl A, Schmid O, Baldomero H, Horisberger B, Urbano-Ispizua A. Haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in Europe 2002. Changes in indication and impact of team density. A report of the EBMT activity survey. *Bone Marrow Transplant.* 2004;34(10):855–75.
4. Berenson RJ, Andrews RG, Bensinger WI, Kalamasz D, Knitter G, Buckner CD, et al. Antigen CD34+ marrow cells engraft lethally irradiated baboons. *J Clin Invest.* 1988;(81):951–5.
5. Handgretinger R, Lang P, Schumm M, Taylor G, Neu S, Koscielnak E, et al. Isolation and transplantation of autologous peripheral CD34+ progenitor cells highly purified by magnetic-activated cell sorting. *Bone Marrow Transplant.* 1998;(21):987–93.
6. DiPersio JF, Stadtmauer EA, Nademanee A, Micallef INM, Stiff PJ, Kaufman JL, et al. Plerixafor and G-CSF versus placebo and G-CSF to mobilize hematopoietic stem cells for autologous stem cell transplantation in patients with multiple myeloma. *Blood.* 2009 Jun;113(23):5720–6.
7. DiPersio JF, Micallef I, Stiff PJ, Bolwell BJ, Maziarz RT, Angell J, et al. A Phase III, Multicenter, Randomized, Double-Blind, Placebo Controlled, Comparative Trial of AMD3100 (Plerixafor)+G-CSF vs. Placebo+G-CSF in Non-Hodgkin's Lymphoma (NHL) Patients for Autologous Hematopoietic Stem Cell (aHSC) Transplantation. *Blood* [Internet]. 2007 Nov 16;110(11):601. Available from: <https://doi.org/10.1182/blood.V110.11.601.601>

8. Champlin RE, Schmitz N, Horowitz MM, Champus B, Chopra R, Cornelissen JJ, et al. Blood stem cells compared with bone marrow as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation. IBMTR Histocompatibility and Stem Cell Sources Working Committee and the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Blood*. 2000;(95):3702–9.
9. Handgretinger R, Klingebiel T, Lang P, Schumm M, Neu S, Geiselhart A, et al. Megadose transplantation of purified peripheral blood CD34+ progenitor cells from HLA-mismatched parental donors in children. *Bone Marrow Transplant*. 2001;(27):777–83.
10. Aversa F, Tabilio A, Velardi A, Cunningham I, Terenzi A, Falzetti F, et al. Treatment of high-risk acute leukemia with T-cell-depleted stem cells from related donors with one fully mismatched hla haplotype. *N Engl J Med*. 1998;(339):1186–93.
11. Bensinger WI, Martin PJ, Storer B, Clift R, Forman SJ, Negrin R, et al. Transplantation of bone marrow as compared with peripheral-blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematologic cancers. *N Engl J Med*. 2001;(344):175–81.
12. Zeiser R, Dreger P, Finke J, Greinix H, Al. E. GVHD-Prophylaxe und Therapie [Internet]. LEITLINIEN zur allogenen Stammzelltransplantation von der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Knochenmark- und Blutstammzelltransplantation (DAG-KBT). 2019. p. Cap.9; 1-9. Available from: [https://www.dag-kbt.de/files/downloads/Leitlinien\\_Kap-09\\_GvHD-Prophylaxe\\_und\\_Therapie.pdf](https://www.dag-kbt.de/files/downloads/Leitlinien_Kap-09_GvHD-Prophylaxe_und_Therapie.pdf)
13. Kröger N, Burchert A. Konditionierung [Internet]. LEITLINIEN zur allogenen Stammzelltransplantation von der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Knochenmark- und Blutstammzelltransplantation (DAG-KBT). 2016. p. Cap. 7; 1-4. Available from: [https://www.dag-kbt.de/files/downloads/Leitlinien\\_Kap-07\\_Konditionierung.pdf](https://www.dag-kbt.de/files/downloads/Leitlinien_Kap-07_Konditionierung.pdf)
14. Zeiser R, Bader P, Beelen D, Al. E. Prävention und Behandlung von Rezidiven nach allogener Stammzelltransplantation [Internet]. LEITLINIEN zur allogenen Stammzelltransplantation von der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Knochenmark- und Blutstammzelltransplantation (DAG-KBT). 2018. p. Cap. 12; 1-21. Available from: [https://www.dag-kbt.de/files/downloads/Leitlinien\\_Kap-12\\_Prävention\\_und\\_Behandlung\\_von](https://www.dag-kbt.de/files/downloads/Leitlinien_Kap-12_Prävention_und_Behandlung_von)

- Rezidiven nach allogener Stammzelltransplantation.pdf
15. Santos, G.W; Tutschka, P.J.; Brookmeyer R. Marrow Transplantation for Acute Nonlymphocytic Leukemia after Treatment with Busulfan and Cyclophosphamid. N Engl J Med. 1983;
  16. Thomas ED, Clift RA, Hersman J, Sanders JE, Stewart P, Buckner CD, et al. Marrow transplantation for acute nonlymphoblastic leukemia in first remission using fractionated or single-dose irradiation. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 1982;8(5):817–21.
  17. Giralt S, Ballen K, Rizzo D, Bacigalupo A, Horowitz M, Pasquini M, et al. Reduced Intensity Conditioning Regimen Workshop - Defining The Dose Spectrum: Biol Blood Marrow Transplant. 2009;15(3):367–9.
  18. Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, Giralt S, Lazarus H, Apperley J, et al. Defining the intensity of conditioning regimens: working definitions. Biol Blood Marrow Transpl. 2009;15(12):1628–33.
  19. Ottinger HD, Albert E, Arnold R, Beelen DW, Blasczyk R, Bunjes D, et al. German consensus on immunogenetic donor search for transplantation of allogeneic bone marrow and peripheral blood stem cells. Bone Marrow Transplant. 1997;20(2):101–5.
  20. Beelen DW, Bornhäuser M. Indikationen zur allogenen Stammzelltransplantation [Internet]. Leitlinien zur allogenen Stammzelltransplantation von der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Knochenmark- und Blutstammzelltransplantation (DAG-KBT). 2016. p. Cap.4; 1-5. Available from: [https://www.dag-kbt.de/files/downloads/Leitlinien\\_Kap-04\\_Indikationen\\_zur\\_allogenen\\_SZT.pdf](https://www.dag-kbt.de/files/downloads/Leitlinien_Kap-04_Indikationen_zur_allogenen_SZT.pdf)
  21. Beelen DW, Bethge W, Brecht A. Akute Komplikationen und support. Maßnahmen (mit Ausnahme von Infektionen und GvHD) [Internet]. LEITLINIEN zur allogenen Stammzelltransplantation von der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Knochenmark- und Blutstammzelltransplantation (DAG-KBT). 2016. p. Cap.8; 1-34. Available from: [https://www.dag-kbt.de/files/downloads/Leitlinien\\_Kap-08\\_Akute\\_Komplikationen\\_und\\_supp.Massnahmen.pdf](https://www.dag-kbt.de/files/downloads/Leitlinien_Kap-08_Akute_Komplikationen_und_supp.Massnahmen.pdf)
  22. Ayuk F, Bug G, Hemmati P. Langzeitnachsorge nach SZT [Internet]. LEITLINIEN zur allogenen Stammzelltransplantation von der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Knochenmark- und Blutstammzelltransplantation

- (DAG-KBT). 2016. p. Cap. 11; 1-19. Available from: [https://www.dag-kbt.de/files/downloads/Leitlinien\\_Kap-11\\_Langzeitnachsorge nach SZT.pdf](https://www.dag-kbt.de/files/downloads/Leitlinien_Kap-11_Langzeitnachsorge_nach_SZT.pdf)
23. Einsele H, Bertz H, Beyer J, Kiehl MG, Runde V, Kolb HJ, et al. Epidemiologie und interventionelle therapiestrategien infektiöser komplikationen nach allogener stammzelltransplantation. Dtsch Medizinische Wochenschrift. 2001;(126):1278–84.
  24. Talekar MK, Olson T. Immune reconstitution after hematopoietic stem cell transplantation. Hematop Stem Cell Transplant Pediatr Hematol. 2017;7(November):371–83.
  25. Ho VT, Soiffer RJ. The history and future of T-cell depletion as graft-versus-host disease prophylaxis for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Blood. 2001;(98):3192–204.
  26. Neuhäuser FL. Untersuchungen zur Inzidenz von Viruserkrankungen nach allogener Stammzelltransplantation bei Kindern. Medizinischen Fakultät der Eberhard- Karls- Universität zu Tübingen; 2009.
  27. Kook H, Goldman F, Padley D, Giller R, Rumelhart S, Holidia M, et al. Reconstruction of the immune system after unrelated or partially matched T-cell-depleted bone marrow transplantation in children: Immunophenotypic analysis and factors affecting the speed of recovery. Blood. 1996;(88):1089–97.
  28. Zaia JA. Viral infections associated with bone marrow transplantation. Hematol Oncol Clin North Am. 1990;(4):603–23.
  29. Wasserman R, August CS, Plotkin SA. Viral infections in pediatric bone marrow transplant patients. Pediatr Infect Dis J. 1988;(7):109–15.
  30. Maltezou HC, Kafetzis DA, Abisaid D, Mantzouranis EC, Chan KW, Rolston KVI. Viral infections in children undergoing hematopoietic stem cell transplant. Pediatr Infect Dis J. 2000;(19):307–12.
  31. Blümel J, Drosten C, Gröner A, Gürtler L. Parvovirus B19. Bundesgesundheitsblatt (BekanntmachungStellungnahmen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit). 2010;53(9):944–56.
  32. Eid AJ, Brown RA, Patel R, Razonable RR. Parvovirus B19 Infection after Transplantation: A Review of 98 Cases. Clin Infect Dis. 2006;43:9.
  33. Broliden K. Parvovirus B19 infection in pediatric solid-organ and bone

- marrow transplantation. *Pediatr Transplant*. 2001;5(5):320–30.
34. Rahiala J, Koskenvuo M, Norja P, Meriluoto M, Toppinen M, Lahtinen A, et al. Human parvoviruses B19, PARV4 and bocavirus in pediatric patients with allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*. 2013;48(10):1308–12.
  35. ICTV. ICTV Master Species List 2018 v1 [Internet]. Vol. 1. 2019. Available from: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/vmr/m/vmr-file-repository/8287>
  36. O’Sullivan MG, Anderson DC, Fikes JD, Bain FT, Carlson CS, Green SW, et al. Identification of a novel simian parvovirus in cynomolgus monkeys with severe anemia. A paradigm of human B19 parvovirus infection. *J Clin Invest*. 1994;93(4):1571–6.
  37. Yoo BC, Lee DH, Park SM, Park JW, Kim CY, Lee HS, et al. A novel parvovirus isolated from Manchurian chipmunks. *Virology*. 1999;253(2):250–8.
  38. Green SW, Malkovska I, O’Sullivan MG, Brown KE. Rhesus and pig-tailed macaque parvoviruses: Identification of two new- members of the Erythrovirus genus in monkeys. *Virology*. 2000;269(1):105–12.
  39. Servant A, Laperche S, Lallemand F, Marinho V, De Saint Maur G, Meritet JF, et al. Genetic Diversity within Human Erythroviruses: Identification of Three Genotypes. *J Virol*. 2002;(76):9124–34.
  40. John Oxford; P. Kellam; L. Collier. *Human Virology*. In: Fifth Edit. London: Oxford University Press; 2016. p. 352; 268–72.
  41. Tobler Kurt, Ackermann Mathias FC. *Allgemeine Virologie*. Haupt Verlag; 2016. p. 324–5.
  42. Tille PM. *Bailey and Scott’s Diagnostic Microbiology* [Internet]. Fourteenth. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2017. 1136; 902–905 p. Available from: <http://jmm.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/00222615-35-2-125b?crawler=true&mimetype=application/pdf%0Ahttp://labmed.oxfordjournals.org/content/44/4/e138.short>
  43. Acheson NH. *Fundamentals of Molecular Virology*. In: 2nd ed. Wiley & Sons; 2011. p. 528; 238–46. Available from: <http://books.google.com/books?id=qoMhuQAACAAJ&pgis=1>
  44. Heegaard ED, Brown KE. Human parvovirus B19. *Clinical Microbiology*

- Reviews. 2002.
45. Schwarz TF, Serke S, Von Brunn A, Hottenträger B, Huhn D, Deinhardt F, et al. Heat stability of parvovirus B19: Kinetics of inactivation. *Zentralblatt für Bakteriologie*. 1992;
  46. Deiss V, Tratschin JD, Weitz M, Siegl G. Cloning of the human parvovirus B19 genome and structural analysis of its palindromic termini. *Virology*. 1990;
  47. Ozawa K, Ayub J, Yu-Shu H. Novel transcription map for the B19 (human) pathogenic parvovirus. *J Virol*. 1987;(61):12891–6.
  48. Cotmore SF, McKie VC, Anderson LJ, Astell CR, Tattersall P. Identification of the major structural and nonstructural proteins encoded by human parvovirus B19 and mapping of their genes by procaryotic expression of isolated genomic fragments. *J Virol*. 1986;
  49. Ozawa K, Young N. Characterization of capsid and noncapsid proteins of B19 parvovirus propagated in human erythroid bone marrow cell cultures. *J Virol*. 1987;
  50. Shade RO, Blundell MC, Cotmore SF, Tattersall P, Astell CR. Nucleotide sequence and genome organization of human parvovirus B19 isolated from the serum of a child during aplastic crisis. *J Virol*. 1986;58:921–36.
  51. Christensen J, Cotmore SF, Tattersall P. Minute virus of mice transcriptional activator protein NS1 binds directly to the transactivation region of the viral P38 promoter in a strictly ATP- dependent manner. *J Virol*. 1995;
  52. Christensen J, Cotmore SF, Tattersall P. A novel cellular site-specific DNA-binding protein cooperates with the viral NS1 polypeptide to initiate parvovirus DNA replication. *J Virol*. 1997;
  53. Christensen J, Pedersen M, Aasted B, Alexandersen S. Purification and characterization of the major nonstructural protein (NS- 1) of Aleutian mink disease parvovirus. *J Virol*. 1995;
  54. Cotmore SF, Christensen J, Nüesch JP, Tattersall P. The NS1 polypeptide of the murine parvovirus minute virus of mice binds to DNA sequences containing the motif [ACCA]<sub>2-3</sub>. *J Virol*. 1995;
  55. Doerig C, Hirt B, Antonietti JP, Beard P. Nonstructural protein of parvoviruses B19 and minute virus of mice controls transcription. *J Virol*. 1990;64:387–96.

56. Wilson GM, Jindal HK, Yeung DE, Chen W, Astell CR. Expression of minute virus of mice major nonstructural protein in insect cells: Purification and identification of ATPase and helicase activities. *Virology*. 1991;
57. Moffatt S, Yaegashi N, Tada K, Tanaka N, Sugamura K. Human parvovirus B19 nonstructural (NS1) protein induces apoptosis in erythroid lineage cells. *J Virol*. 1998;72:3018–28.
58. Ozawa K, Ayub J, Kajigaya S, Shimada T, Young N. The gene encoding the nonstructural protein of B19 (human) parvovirus may be lethal in transfected cells. *J Virol*. 1988;62:2884–9.
59. Srivastava A, Bruno E, Briddell R, Cooper R, Srivastava C, Van Besien K, et al. Parvovirus B19-induced perturbation of human megakaryocytopoiesis in vitro. *Blood*. 1990;76:1997–2004.
60. Momoeda M, Wong S, Kawase M, Young NS, Kajigaya S. A putative nucleoside triphosphate-binding domain in the nonstructural protein of B19 parvovirus is required for cytotoxicity. *J Virol*. 1994;
61. Liu JM, Green SW, Shimada T, Young NS. A block in full-length transcript maturation in cells nonpermissive for B19 parvovirus. *J Virol*. 1992;66:4686–92.
62. Takahashi T, Ozawa K, Takahashi K, Asano S, Takaku F. Susceptibility of human erythropoietic cells to B19 parvovirus in vitro increases with differentiation. *Blood*. 1990;(75):603–10.
63. Brown KE, Young NS. Parvoviruses and bone marrow failure. *Stem Cells*. 1996.
64. Broliden K, Tolfvenstam T, Norbeck O. Clinical aspects of parvovirus B19 infection. *J Intern Med*. 2006;260(4):285–304.
65. Falke D. 68 Parvoviren. In: Suerbaum S, editor. *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2012; 2012. p. 525–7.
66. Brown K, Anderson S, Young N. Erythrocyte P antigen: cellular receptor for B19 parvovirus. *Science* (80- ). 2006;
67. Brown KE, Hibbs JR, Gallinella G, Anderson SM, Lehman ED, McCarthy P, et al. Resistance to parvovirus B19 infection due to lack of virus receptor (erythrocyte P antigen). *N Engl J Med*. 1994;
68. Jordan JA, Deloia JA. Globoside expression within the human placenta. *Placenta*. 1999;

69. Cooling LLW, Koerner TAW, Naides SJ. Multiple glycosphingolipids determine the tissuetropism of parvovirus b19. *J Infect Dis.* 1995;
70. Rouger P, Gane P, Salmon C. Tissue distribution of H, Lewis and P antigens as shown by a panel of 18 monoclonal antibodies. *Rev Fr Transfus Immunohematol.* 1987;(30):699–708.
71. Weigel-Kelley KA, Yoder MC, Srivastava A. Recombinant Human Parvovirus B19 Vectors: Erythrocyte P Antigen Is Necessary but Not Sufficient for Successful Transduction of Human Hematopoietic Cells. *J Virol.* 2001;
72. Weigel-Kelley KA, Yoder MC, Srivastava A.  $\alpha 5\beta 1$  integrin as a cellular coreceptor for human parvovirus B19: Requirement of functional activation of  $\beta 1$  integrin for viral entry. *Blood.* 2003;
73. Munakata Y, Saito-Ito T, Kumura-Ishii K, Huang J, Koderia T, Ishii T, et al. Ku80 autoantigen as a cellular coreceptor for human parvovirus B19 infection. *Blood.* 2005;
74. Kr. vondem Borne AEG, Bos MJE, Joustra-Maas N, Tromp JF, Van Wijngaarden-du Bois R, Tetteroo PAT. A murine monoclonal IgM antibody specific for blood group P antigen (globoside). *Br J Haematol.* 1986;(63):35–46.
75. Brown KE, Young NS. Parvoviruses and bone marrow failure. *Stem Cells.* 1996;14(2):151–63.
76. Valentin MN, Cohen PJ. Pediatric Parvovirus B19: Spectrum of Clinical Manifestations. 2013;92(October):179–84.
77. Kurtzman GJ, Gascon P, Caras M, Cohen B, Young NS. B19 parvovirus replicates in circulating cells of acutely infected patients. *Blood.* 1988;
78. Schleuning M, Jäger G, Holler E, Hill W. Human parvovirus B19-associated disease in bone marrow transplantation. *Infection [Internet].* 1999;27(2):114–7. Available from:  
<http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L29142165%0Ahttp://sfx10.usaco.co.jp/ncchd?sid=EMBASE&issn=03008126&id=doi:&atitle=Human+parvovirus+B19-associated+disease+in+bone+marrow+transplantation&stitle=Infection&title=Infec>
79. Gallinella G, Manaresi E, Venturoli S, Grazi GL, Musiani M, Zerbini M. Occurrence and clinical role of active parvovirus B19 infection in transplant

- recipients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1999;18(11):811–3.
80. Slavov SN, Kashima S, Pinto ACS, Covas DT. Human parvovirus B19: General considerations and impact on patients with sickle-cell disease and thalassemia and on blood transfusions. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 2011.
  81. Anderson MJ, Higgins PG, Davis LR, Willman JS, Jones SE, Kidd IM, et al. Experimental parvoviral infection in humans. *J Infect Dis*. 1985;152:257–65.
  82. Potter CG, Potter AC, Hatton CSR, Chapel HM, Anderson MJ, Pattison JR, et al. Variation of erythroid and myeloid precursors in the marrow and peripheral blood of volunteer subjects infected with human parvovirus (B19). *J Clin Invest*. 1987;79:1486–92.
  83. Kurtzman GJ, Cohen BJ, Field AM, Oseas R, Blaese RM, Young NS. Immune response to B19 parvovirus and an antibody defect in persistent viral infection. *J Clin Invest*. 1989;
  84. Anderson LJ, Tsou C, Parker RA, Chorba TL, Wulff H, Tattersall P, et al. Detection of antibodies and antigens of human parvovirus B19 by enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol*. 1986;
  85. Gray JJ, Cohen BJ, Desselberger U. Detection of human parvovirus B19-specific IgM and IgG antibodies using a recombinant viral VP1 antigen expressed in insect cells and estimation of time of infection by testing for antibody avidity. *J Virol Methods*. 1993;
  86. Saikawa T, Anderson S, Momoeda M, Kajigaya S, Young NS. Neutralizing linear epitopes of B19 parvovirus cluster in the VP1 unique and VP1-VP2 junction regions. *J Virol*. 1993;
  87. Franssila R, Hokynar K, Hedman K. T Helper Cell–Mediated In Vitro Responses of Recently and Remotely Infected Subjects to a Candidate Recombinant Vaccine for Human Parvovirus B19. *J Infect Dis*. 2001;
  88. Katta R. Parvovirus B19: A review. *Dermatologic Clinics*. 2002.
  89. Kelly HA, Siebert D, Hammond R, Leydon J, Kiely P, Maskill W. The age-specific prevalence of human parvovirus immunity in Victoria, Australia compared with other parts of the world. *Epidemiol Infect*. 2000;
  90. Cohen B. Fortnightly Review: Parvovirus B19: An expanding spectrum of disease. *BMJ*. 1995;
  91. Mossong J, Hens N, Friederichs V, Davidkin I, Broman M, Litwinska B, et al.

- Parvovirus B19 infection in five European countries: Seroepidemiology, force of infection and maternal risk of infection. *Epidemiol Infect.* 2008;
92. Cohen BJ, Buckley MM. The prevalence of antibody to human parvovirus B19 in England and Wales. *J Med Microbiol.* 1988;
  93. Gillespie SM, Cartter ML, Asch S, Rokos JB, Gary GW, Tsou CJ, et al. Occupational Risk of Human Parvovirus B19 Infection for School and Day-care Personnel During an Outbreak of Erythema Infectiosum. *JAMA J Am Med Assoc.* 1990;
  94. Anderson LJ, Gillespie SM, Torok TJ, Hurwitz Tsou ESCJ, Gary GW. Risk of infection following exposures to human parvovirus B19. In: Behring Institut Mitteilungen. 1990.
  95. Servey JT, Reamy B V, Hodge J. Clinical presentations of parvovirus B19 infection. *Am Fam Physician.* 2007;75(3):373–6.
  96. Miron D, Horovitz Y, Luder A, Ohnona FS, Schelisinger Y. Age-related immunoglobulin G seroprevalence of human parvovirus B-19 in Israeli children. *Isr Med Assoc J.* 2010;
  97. Chorba T, Coccia P, Holman RC, Tattersall P, Anderson LJ, Sudman J, et al. The role of parvovirus b19 in aplastic crisis and erythema infectiosum (Fifth disease). *J Infect Dis.* 1986;
  98. Woolf AD, Champion G V., Chishick A, Wise S, Cohen BJ, Klouda PT, et al. Clinical manifestations of human parvovirus B19 in adults. *Arch Intern Med.* 1989;149:1153–6.
  99. Cartter ML, Farley TA, Rosengren S, Quinn DL, Gillespie SM, Gary GW, et al. Occupational risk factors for infection with parvovirus b19 among pregnant women. *J Infect Dis.* 1991;163:282–5.
  100. Flunker G, Peters A, Wiersbitzky S, Modrow S, Seidel W. Persistent parvovirus B19 infections in immunocompromised children. *Med Microbiol Immunol.* 1998;
  101. Modrow S. Parvovirus B19. *Dtsch Arztebl.* 2001;Heft 24(Jg. 98):A 1620-1624.
  102. Tsujimura M, Matsushita K, Shiraki H, Sato H, Okochi K, Maeda Y. Human Parvovirus B19 Infection in Blood Donors. *Vox Sang.* 1995;
  103. Jordan JA, Tiangco B, Kiss J, Koch W. Human parvovirus B19: Prevalence of viral DNA in volunteer blood donors and clinical outcomes of transfusion

- recipients. *Vox Sang.* 1998;
104. Wakamatsu C, Takakura F, Kojima E, Kiriya Y, Goto N, Matsumoto K, et al. Screening of blood donors for human parvovirus B19 and characterization of the results. *Vox Sang.* 1999;
  105. Yoto Y, Kudoh T, Haseyama K, Suzuki N, Oda T, Katoh T, et al. Incidence of human parvovirus B19 DNA detection in blood donors. *Br J Haematol.* 1995;
  106. Prospective study of human parvovirus (B19) infection in pregnancy. Public Health Laboratory Service Working Party on Fifth Disease. *BMJ.* 1990;
  107. Cohen BJ, Beard S, Knowles WA, Ellis JS, Joske D, Goldman JM, et al. Chronic anemia due to parvovirus B19 infection in a bone marrow transplant patient after platelet transfusion. *Transfusion.* 1997;
  108. Erdman DD, Anderson BC, Török TJ, Finkel TH, Anderson LJ. Possible transmission of parvovirus B19 from intravenous immune globulin. *J Med Virol.* 1997;
  109. Hino M, Ishiko O, Honda KI, Yamane T, Ohta K, Takubo T, et al. Transmission of symptomatic parvovirus B19 infection by fibrin sealant used during surgery. *Br J Haematol.* 2000;
  110. Heegaard E.D. LPB. Parvovirus B19 transmitted by bone marrow. *J Haematol.* 2000;111:659–61.
  111. Evans JPM, Rossiter MA, Kumaran TO, Marsh GW. Human parvovirus aplasia: Case due to cross infection in a ward. *Br Med J.* 1984;
  112. Koziol DE, Kurtzman G, Ayub J, Young NS, Henderson DK. Nosocomial Human Parvovirus B19 Infection: Lack of Transmission from a Chronically Infected Patient to Hospital Staff. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1992;
  113. Miyamoto K, Ogami M, Takahashi Y, Mori T, Akimoto S, Terashita H, et al. Outbreak of human parvovirus B19 in hospital workers. *J Hosp Infect.* 2000;
  114. Cohen, B.J., Courouce A.M. STF. Laboratory infection with parvovirus B19. *J Clin Pathol.* 1988;41:1027–8.
  115. Shiraishi H., Sasaki T. NM. Laboratory infection with human parvovirus B19. *J Infect.* 1991;22:308–10.
  116. Neild G, Anderson M, Hawes S, Colvin BT. PARVOVIRUS INFECTION AFTER RENAL TRANSPLANT. *The Lancet.* 1986.
  117. Frickhofen N, Abkowitz JL, Safford M, Berry JM, Antunez-de-Mayolo J,

- Astrow A, et al. Persistent B19 parvovirus infection in patients infected with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1): A treatable cause of anemia in AIDS. *Ann Intern Med.* 1990;
118. Koch WC, Massey G, Russell CE, Adler SP. Manifestations and treatment of human parvovirus B19 infection in immunocompromised patients. *J Pediatr.* 1990;
  119. Azzi A, Fanci R, Ciappi S, Zakrzewska K, Bosi A. Human parvovirus B19 infection in bone marrow transplantation patients. *Am J Hematol.* 1993;44:207–9.
  120. Frickhofen N, Arnold R, Hertenstein B, Wiesneth M, Young NS. Parvovirus B19 infection and bone marrow transplantation. *Ann Hematol.* 1992;64:A121–4.
  121. Graeve JLA, De Alarcon PA, Naides SJ. Parvovirus B19 infection in patients receiving cancer chemotherapy: The expanding spectrum of disease. *Am J Pediatr Hematol Oncol.* 1989;11:441–4.
  122. Shen Q, Xu H, Cao Q, Zhou LJ, Xu J, Fang XY, et al. Long-term remission of recurrent severe anemia as a result of parvovirus B19 infection in a pediatric renal transplant recipient. *Pediatr Transplant.* 2011;
  123. Anderson MJ, Davis LR, Hodgson J, Jones SE, Murtaza L, Pattison JR, et al. Occurrence of infection with a parvovirus-like agent in children with sickle cell anaemia during a two-year period. *J Clin Pathol.* 1982;35:744–9.
  124. Joseph PR. Fifth disease: The frequency of joint involvement in adults. *N Y State J Med.* 1986;86:560–3.
  125. Anand A, Gray ES, Brown T, Clewley JP, Cohen BJ. Human Parvovirus Infection in Pregnancy and Hydrops Fetalis. *N Engl J Med.* 1987;316:183–6.
  126. Caul EO, Usher MJ, Burton PA. Intrauterine infection with human parvovirus B19: A light and electron microscopy study. *J Med Virol.* 1988;24:55–66.
  127. Nocton JJ, Miller LC, Tucker LB, Schaller JG. Human parvovirus B19-associated arthritis in children. *J Pediatr.* 1993;122:186–90.
  128. Baranski B, Young N. Hematologic consequences of viral infections. *Hematology/Oncology Clinics of North America.* 1987;167–83.
  129. Kaplan C, Morinet F, Cartron J. Virus-induced autoimmune thrombocytopenia and neutropenia. *Semin Hematol.* 1992;29:34–44.
  130. Murray JC, Kelley PK, Hogrefe WR, McClain KL. Childhood idiopathic

- thrombocytopenic purpura: Association with human parvovirus B19 infection. *Am J Pediatr Hematol Oncol.* 1994;16:314–9.
131. Yoto Y, Kudoh T, Suzuki N, Katoh S, Matsunaga Y, Chiba S. Thrombocytopenia induced by human parvovirus B19 infections. *Eur J Haematol.* 1993;(50):255–7.
  132. Nagai K, Morohoshi T, Kudoh T, Yoto Y, Suzuki N, Matsunaga Y. TRANSIENT ERYTHROBLASTOPENIA OF CHILDHOOD WITH MEGAKARYOCYTOPENIA ASSOCIATED WITH HUMAN PARVOVIRUS B19 INFECTION. *Br J Haematol.* 1992;80:131–2.
  133. Inoue S, Kinra NK, Mukkamala SR, Gordon R. Parvovirus B–19 infection: Aplastic crisis, erythema infectiosum and idiopathic thrombocytopenic purpura. *Pediatr Infect Dis J.* 1991;10:251–3.
  134. Bux J, Behrens G, Jaeger G, Welte K. Diagnosis and clinical course of autoimmune neutropenia in infancy: Analysis of 240 cases. *Blood.* 1998;9:181–6.
  135. Klümpen HJ, Petersen EJ, Verdonck LF. Severe multiorgan failure after parvovirus B19 infection in an allogeneic stem cell transplant recipient [3]. *Bone Marrow Transplant.* 2004;34(5):469–70.
  136. Gahr M, Pekrun A, Eiffert H. Persistence of parvovirus B19-DNA in blood of a child with severe combined immunodeficiency associated with chronic pure red cell aplasia. *Eur J Pediatr.* 1991;
  137. Kurtzman GJ, Meyers P, Cohen B, Amunullah A, Young NS. PERSISTENT B19 PARVOVIRUS INFECTION AS A CAUSE OF SEVERE CHRONIC ANAEMIA IN CHILDREN WITH ACUTE LYMPHOCYTIC LEUKAEMIA. *Lancet.* 1988;
  138. Weiland HT, Salimans MM, Fibbe WE, Kluin PM, Cohen BJ. Prolonged parvovirus B19 infection with severe anaemia in a bone marrow transplant patient. *British journal of haematology.* 1989.
  139. Broliden K, Tolfvenstam T, Ohlsson S, Henter JI. Persistent B19 parvovirus infection in pediatric malignancies. *Med Pediatr Oncol.* 1998;
  140. Schowengerdt KO, Ni J, Denfield SW, Gajarski RJ, Bowles NE, Rosenthal G, et al. Association of parvovirus B19 genome in children with myocarditis and cardiac allograft rejection: Diagnosis using the polymerase chain reaction. *Circulation.* 1997;96:3549–54.

141. Schowengerdt KO, Ni J, Denfield SW, Gajarski RJ, Radovancevic B, Frazier OH, et al. Diagnosis, surveillance, and epidemiologic evaluation of viral infections in pediatric cardiac transplant recipients with the use of the polymerase chain reaction. *J Hear Lung Transplant*. 1996;15:111–23.
142. Shiraishi H, Umetsu K, Yamamoto H, Hatakeyama Y, Yaegashi N, Sugamura K. Human Parvovirus (HPV/B19) Infection with Purpura. *Microbiol Immunol*. 1989;33:369–72.
143. Harris JW. Parvovirus B19 for the hematologist. *Am J Hematol*. 1992;39:119–30.
144. Gallicchio VS. Ribonucleotide reductase: target therapy for human disease. *Expert Opin Ther Pat [Internet]*. 2005;15(6):659–73. Available from: <https://doi.org/10.1517/13543776.15.6.659>
145. Manaresi E, Gallinella G. Advances in the development of antiviral strategies against parvovirus B19. *Viruses*. 2019;11(7).
146. Lindblom A, Isa A, Norbeck O, Wolf S, Johansson B, Broliden K, et al. Slow clearance of human parvovirus B19 viremia following acute infection. *Clin Infect Dis*. 2005;1201–3.
147. Zaki MES, Ashray RE. Clinical and hematological study for Parvovirus b19 infection in children with acute leukemia. *Int J Lab Hematol*. 2010;(32):159–66.
148. Soliman OES, Hegazi Hasan MAEA, El-Ashry R, Zaghloul MHE, Kora B. Parvovirus B19 infection in pediatric oncology patients: Diagnostic value of clinical and serologic parameters compared with nested PCR. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2009;(31):173–6.
149. El Sayed Zaki M, ebrary Inc. Parvovirus B19 and hematological disorders in children. *Virology research progress*. 2010.
150. Lindblom A, Heyman M, Gustafsson I, Norbeck O, Kaldensjo T, Vernby A, et al. Parvovirus B19 Infection in Children with Acute Lymphoblastic Leukemia is Associated with Cytopenia Resulting in Prolonged Interruptions of Chemotherapy. *Clin Infect Dis*. 2008;(41):1201–3.
151. Söderlund M, Ruutu P, Ruutu T, Asikainen K, Franssila R, Hedman K. Primary and secondary infections by human parvovirus B19 following bone marrow transplantation: Characterization by PCR and B-cell molecular immunology. *Scand J Infect Dis*. 1997;(29):129–35.

152. Ndimbie OK, Frezza E, Jordan JA, Koch W, Van Thiel DH. Parvovirus B19 in anemic liver transplant recipients. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1996;3:756–60.
153. Zolnourian ZR, Curran MD, Rima BK, Coyle P V., O’Neill HJ, Middleton D. Parvovirus B19 in kidney transplant patients. *Transplantation.* 2000;(69):2198–202.
154. Urban C, Lackner H, Mller E, Benesch M, Strenger V, Sovinz P, et al. Stem cell transplantation in 6 children with parvovirus B19- induced severe aplastic anaemia or myelodysplastic syndrome. *Klin Padiatr.* 2011;223(6):332–4.
155. Lempp T. *Kinder- und Jugendpsychiatrie Basics.* Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH; 2010. 112 p.
156. Anne de Pagter PJ, Schuurman R, Visscher H, de Vos M, Bierings M, van Loon AM, et al. Human Herpes Virus 6 Plasma DNA Positivity after Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children: an Important Risk Factor for Clinical Outcome. *Biol Blood Marrow Transplant* [Internet]. 2008;14(7):831–9. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1083879108001821>

