

Aus der Klinik für pädiatrische Hämatologie und Onkologie
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar
Kommissarischer Direktor: Prof. Dr. Rhoikos Furtwängler

**Untersuchung der flüchtigen organischen Verbindungen
(VOCs) in der Ausatemluft von Kindern mittels
Ionen-Mobilitätsspektrometrie**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2022

vorgelegt von: Anja Julia Hübel
geboren am 29.09.1988 in Stuttgart

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung	5
1.1 Summary	7
2. Einleitung.....	9
2.1 Opportunistische Infektionen im Rahmen der zytostatischen Behandlung bei Kindern mit malignen Systemerkrankungen	9
2.1.1 Die Standardlabordiagnostik ist invasiv, langsam und häufig nicht spezifisch..	13
2.1.2 Die optimale Diagnostik sollte nicht-invasiv, schnell, sensitiv und spezifisch sein	15
2.2 Die Ionenmobilitätsspektrometrie	15
2.2.1 Multi-Capillary-Column-Ion Mobility Spectrometry (MCC-IMS).....	16
2.3 Flüchtige organische Verbindungen (VOCs)	18
2.4 Ziele der Arbeit	19
3. Material und Methodik.....	20
3.1 Studiendesign	20
3.2 Studienkollektiv	20
3.2.1 Einschlusskriterien	20
3.2.2 Ausschlusskriterien	21
3.2.3 Patientengruppe (Neutropenie, Inflammation)	21
3.2.4 Kontrollgruppe (Gesunde).....	21
3.3 Atemluftuntersuchungen	21
3.4 Datenerfassung	23
3.5 Probengewinnung	23
3.6 Multi-Capillary-Column (MCC).....	24
3.6.1 Aufbau und Betrieb der Multi-Capillary-Column	24
3.6.2 Optimierung der Atemluftanalyse durch die Multi-Capillary-Column.....	26
3.7 Ionenmobilitätsspektrometrie	27
3.7.1 Die Bestandteile des Ionenmobilitätsspektrometers (IMS)	27
3.7.2 Ionisationsregion	28
3.7.3 Ionisationsquelle	29
3.7.4 Prinzip der Ionenerzeugung	29
3.7.5 Das elektrische Schaltgitter.....	32
3.7.6 Die Driftregion	32

3.7.7 Signalauswertung.....	36
3.8 Statistische Planung und Auswertung	37
4. Ergebnisse.....	38
4.1 Die Atemluftprofile.....	38
4.2 Neutropenie	39
4.2.1 Gegenüberstellung der Atemluftanalyse von neutropenen Patienten und gesunden Kontrollen	39
4.3 Inflammation	44
4.3.1 Gegenüberstellung der Atemluftanalyse von Patienten mit Inflammation und gesunden Kontrollen	44
4.4 Fieber.....	48
4.4.1 Fieber innerhalb der letzten zwölf Stunden versus Gesunde.....	48
4.4.2 Fieber innerhalb der letzten sechs Stunden versus Gesunde	50
4.5 Zusammenfassung der Peak-Analyse	52
4.6 Timeline Analyse	55
4.6.1 Patient C1.....	55
4.6.2 Patient C2.....	58
4.6.3 Patient C3.....	61
4.6.4 Patient C4.....	62
4.6.5 Patient C5.....	63
4.6.6 Patient C6.....	64
4.6.7 Patient C7.....	64
4.6.8 Patient C8.....	67
4.6.9 Patient C9.....	69
4.6.10 Patient C10	72
4.6.11 Patient C11	72
4.6.12 Patient C12	76
4.6.13 Patient C13	79
4.6.14 Patient C14	79
4.6.15 Patient C15	81
4.6.16 Patient C16	84
4.6.17 Patient C17	87
4.6.18 Patient C18	90
4.6.19 Patient C19	90
4.6.20 Patient C20	91
4.6.21 Patient C21	92
4.7 VOC-Kandidaten.....	95

5. Diskussion	97
5.1 Wertung der Methodik	97
5.1.1 Atemluftanalyse.....	97
5.2 Diskussion der Ergebnisse	100
5.3 Limitationen der Studie	106
7. Tabellenverzeichnis	116
8. Abbildungsverzeichnis	118
9. Danksagung	121
10. Publikation	122
11. Lebenslauf	123

1. Zusammenfassung

Pro Jahr erkranken in Deutschland durchschnittlich 2000 Kinder an einer malignen Neoplasie. In Abhängigkeit der Grunderkrankung kommen multimodale Behandlungsansätze zum Einsatz. Ein bedeutender Nebenaspekt der systemischen Chemo-, Radio- und Immuntherapie ist die Reduzierung der spezifischen und der unspezifischen Immunität. Der schweren, therapiebedingten Neutropenie kommt hier eine besondere Bedeutung zu, da diese mit einem deutlich erhöhten Risiko für opportunistische Infektionen einhergeht und im schlimmsten Falle in einer Sepsis resultiert.

Die Sepsis stellt einen potenziell lebensbedrohlichen Zustand dar und ist eine häufige Ursache für eine erhöhte Krankenhaussterblichkeit vor allem bei immunkompromittierten und kritisch kranken Patienten. Die Sepsis ist definiert als eine akut lebensbedrohliche Multiorgandysfunktion, die aus einer Fehlregulierung der Immunantwort des Wirts auf eine Infektion zurückzuführen ist. Eine frühzeitige und verlässliche Diagnose und eine sich anschließende zielgerichtete Therapie sind für den weiteren Krankheitsverlauf und das Überleben des Patienten von entscheidender Bedeutung. Die Nachteile der bisher verfügbaren diagnostischen Möglichkeiten sind jedoch zum Teil langwierige Kultivierungsprozesse der Erreger, die begrenzte Möglichkeit der Erfassung der Krankheitsdynamik sowie insbesondere im Fall der Pädiatrie, die Invasivität der Probeentnahme.

Die Anforderungen an ein schnelles diagnostisches Werkzeug vor Ort („Point of Care“), dass die genannten Hürden der Standarddiagnostik überwindet und zudem eine hohe Sensitivität und Spezifität aufweist, könnte durch die Analyse der Atemluft mit Hilfe der MCC/IMS Technologie gedeckt werden. Durch kurze Analysezeiten im Minutenbereich ermöglicht die MCC/IMS Technologie nahezu eine Echtzeit-Analyse. Zudem gibt sie aufgrund ihrer hohen Sensitivität im parts-per-trillion (ppt) Bereich ein umfassendes Abbild der volatilen organischen Komponenten (VOC) in der Ausatemluft von Patienten wieder. Die Ausatemluft lässt über den stetigen Gasaustausch in der Lunge Rückschlüsse auf den metabolischen und mikrobiologischen Status des Patienten zu. Das MCC/IMS stellt somit eine vielversprechende Alternative für eine zeitnahe „Point-of-Care“ Diagnostik der Sepsis dar.

Im ersten Abschnitt der vorliegenden Studie erfolgte zunächst der Nachweis von spezifischen Peaks, die eine signifikante Trennung der Gruppen „Patienten mit Neutropenie unter zytostatischer Therapie im Vergleich zu Gesunden“, „Patienten mit Inflammation im Vergleich zu Gesunden“ und „Patienten mit Fieber im Vergleich zu Gesunden“ ermöglichten. Im zweiten Abschnitt erfolgte darauf aufbauend die Reproduktion und Darstellung dieser und weiterer Peaks im individuellen Verlauf einzelner Patienten unter zytostatischen Behandlung.

Aus den insgesamt 974 Atemluftmessungen konnten zehn Peaks als potenzielle Kandidaten für eine Differenzierung zwischen Inflammation/Sepsis und dem gesunden Kontrollkollektiv extrahiert werden. Mit Hilfe der MCC/IMS Datenbank gelang mit Ausnahme von Peak 16 und Peak 135 die Zuordnung der folgenden acht flüchtigen organischen Komponenten: Aceton, Isopropylamin, Butanol, Butanon, Propanal, Butanal, Pentanal, 3-Methylbutanal. Die identifizierten flüchtigen Komponenten müssen jedoch in einem weiteren Untersuchungsschritt unter Zuhilfenahme eines Gaschromatografie-Massenspektrometers (GC-MS) verifiziert werden, da für die Multi-Capillary-Column-Ionenmobilitätsspektrometrie (MCC-IMS) zum Zeitpunkt dieser Arbeit keine Referenz existiert.

Vor allem die Ketone Aceton und Butanon sowie das Aldehyd Pentanal zeigten signifikant erhöhte Intensitäten in allen vier Untersuchungsgruppen im Vergleich zur gesunden Population und stellen somit potentielle Biomarker für eine frühzeitige nicht-invasive Identifizierung einer Inflammation/Sepsis bei Kindern mit maligner Systemerkrankung dar. Zudem konnten bei Patienten mit Neutropenie und Fieber erhöhte Peak-Intensitäten der Aldehyde Butanal und Propanal nachgewiesen werden.

Abschließend ist zusammenfassend zu sagen, sich mit der Multi-Capillary-Column-Ionenmobilitätsspektrometrie neue diagnostische Möglichkeiten in der Atemluftanalyse auf dem Gebiet der hämato-onkologischen Pädiatrie eröffnet werden.

1.1 Summary

Investigation of volatile organic compounds (VOCs) in the exhaled air of children using ion mobility spectrometry

On average, more than 2000 children in Germany suffer from malignant neoplasia every year. Depending on the underlying disease, multimodal treatment approaches are used. An important side aspect of systemic chemo-, radio- and immunotherapy is the reduction of specific and non-specific immunity. Severe, therapy- related neutropenia is of particular importance, as it is associated with a significantly increased risk of opportunistic infections and in the worst-case results in sepsis.

Sepsis is a potentially life-threatening condition and is a frequent cause of increased hospital mortality, especially in immunocompromised and critically ill patients. Sepsis is defined as an acutely life-threatening multiple organ dysfunction resulting from a dysregulation of the host's immune response to infection. Early and reliable diagnosis and subsequent targeted therapy are crucial for the further course of the disease and the survival of the patient. However, the disadvantages of the diagnostic methods available so far are the lengthy cultivation of the pathogens, the limited possibility of recording disease dynamics and particularly in the case of paediatrics, the invasiveness of sampling.

The need for a cost-effective diagnostic tool that overcomes the above-mentioned hurdles of standard diagnostics and also has high sensitivity and specificity, could be met by analysing breathing air using MCC/IMS technology. Thanks to short analysis times in the minute range, the MCC/IMS technology enables real-time analysis. In addition, due to its high sensitivity in the parts-per-trillion range, it reproduces a comprehensive real-time image of the volatile organic components (VOC) in the exhaled air of patients. The exhaled air allows to analyse the metabolic and microbiological status of the patient via gas exchange in the lungs. The MCC/IMS thus represents a promising alternative for a timely "point-of-care" diagnosis of sepsis.

In the first part of the present study, specific peaks were identified that allowed a significant separation of the groups "patients with neutropenia under cytostatic therapy compared to healthy persons", "patients with inflammation compared to healthy persons" and "patients with fever compared to healthy persons". In the second section, the reproduction and representation of these and other peaks in the individual course of cytostatic treatment was carried out.

Ten peaks were extracted from a total of 974 breath measurements as potential candidates for differentiation between inflammation/sepsis and the healthy control group. With the help of the MCC/IMS database, with the exception of peak 16 and peak 135, the following eight volatile organic compounds were detected with: acetone, isopropylamine, butanol, butanone, propanal, butanal, pentanal, 3- methylbutanal. However, the identified volatile components need to be verified in a further step of investigation using a gas chromatography mass spectrometer (GC-MS), as there is no reference for multi-capillary column ion mobility spectrometry (MCC-IMS).

In particular, ketones acetone and butanone as well as the aldehyde pentanal showed significantly increased intensities in all four study groups compared to healthy populations and thus represent potential biomarkers for an early non-invasive identification of inflammation/sepsis in children with malignant systemic disease. In addition, increased peak intensities of the aldehydes butanal and propanal were detected in patients with neutropenia and fever.

In conclusion, multi-capillary-column ion mobility spectrometry offers new diagnostic possibilities in respiratory air analysis in the field of hemato-oncological pediatrics.

2. Einleitung

2.1 Opportunistische Infektionen im Rahmen der zytostatischen Behandlung bei Kindern mit malignen Systemerkrankungen

Pro Jahr erkranken in Deutschland durchschnittlich 2000 Kinder an einer malignen Neoplasie. In Anhängigkeit der Grunderkrankung kommen multimodale Behandlungsansätze bestehend aus Chemotherapie, Radiotherapie, Immuntherapie oder die chirurgische Resektion zum Einsatz. Ein bedeutender Nebenaspekt der systemischen Chemo-, Radio- und Immuntherapie ist die Reduzierung der spezifischen und der unspezifischen Immunität. Als Folge der zytotoxischen Therapien kommt es unter anderem zu einer deutlichen Verminderung der Anzahl an neutrophilen Granulozyten, Monozyten und zytotoxischen Zellen sowie einer Störung der physikalischen Barrieren. Die sich daraus ergebenden Konsequenzen sind eine schwere Immunsuppression mit der Gefahr von opportunistischen Infektionen (1). Eine besondere Bedeutung spielen hierbei die neutrophilen Granulozyten. In einer Studie von Simon et al. konnte gezeigt werden, dass eine Reduktion der neutrophilen Granulozyten unter einen Wert von $0,5 \times 10^9/l$ mit einem deutlich erhöhten Risiko für opportunistische Infektionen einhergeht (2). Opportunistische Keime proliferieren auf gering verteidigten Oberflächen. Hierzu zählen vor allem Bereiche mit hohem Zellumsatz wie die gastrointestinale und pulmonale Mukosa. Durch die auftretenden Unterbrechungen der Epithelbarriere und die hinzukommende Immunsuppression im Rahmen der zytostatischen Therapie können Keime in die Blutbahn eintreten (Bakteriämie) und im ungünstigsten Fall eine Sepsis hervorrufen (1). Die Anzahl der neutrophilen Granulozyten korreliert somit negativ mit dem Risiko des Auftretens opportunistischer Infektionen, die potentiell lebensbedrohlich verlaufen können (2). In seiner Ausprägung ist das klinische Bild der Neutropenie äußerst variabel. Es reicht von völliger Asymptomatik bis hin zur Sepsis mit Multiorganversagen und Exitus letalis. Ein sehr häufiges frühes Symptom einer Infektion während einer Phase der Neutropenie ist Fever of unknown origin (FUO), d.h. ohne einen klaren Infektionsfokus. Als Ursache des Fiebers müssen differentialdiagnostisch sowohl der Tumor als auch Infektionen durch wenig virulente als auch äußerst aggressive Erreger in Betracht gezogen werden. Die Konsequenzen, die sich daraus für die Betroffenen ergeben, sind häufige Hospitalisierungen mit Beginn einer kalkulierten Antibiose. Entscheidende Probleme sind einerseits, dass die Wahl des Antibiotikums ohne Kenntnis des Erregers nicht zielgerichtet erfolgen kann. Andererseits, dass nach Entfieberung ohne Nachweis des auslösenden Ursprungs die Hospitalisierung arbiträr über mehrere Tage fortgesetzt werden muss (2,3).

Ziel ist es ein weiteres Fortschreiten der klinischen Symptomatik und die Entstehung einer Sepsis zu verhindern.

Definition der Sepsis

Die Leitlinien für die Diagnosestellung einer Sepsis wurden in den vergangenen 30 Jahren maßgeblich überarbeitet. Das ursprüngliche Konzept (Sepsis-1-Definition), das von einem Expertengremium des American College of Chest Physicians und der Society of Critical Care Medicine (SCCM) im Jahre 1992 erstellt wurde, unterschied zwischen einer Sepsis, einer schweren Sepsis und einem septischen Schock (4).

Sepsis: Bei ≥ 2 SIRS-Kriterien (SIRS: Systemic Inflammatory Response Syndrome) und gleichzeitig gesicherter oder vermuteter Infektion

Schwere Sepsis: Sepsis plus Vorliegen einer Organdysfunktion

Septischer Schock: Oben genannte Definition einer Sepsis plus flüssigkeitsrefraktäre Hypotonie

SIRS-Kriterien: Hypo- (≤ 36 °C) oder Hyperthermie (≥ 38 °C), Tachykardie (≥ 90 /min), Tachypnoe (≥ 20 /min) und/oder Hyperventilation ($\text{paCO}_2 \leq 4,3\text{kPa} / \leq 33$ mmHg), Leukozytose $\geq 12.000/\mu\text{l}$ oder Leukopenie $\leq 4000/\mu\text{l}$ und/oder > 10 % unreife neutrophile Leukozyten

In der aus dem Jahre 2001 weiter modifizierten Version (Sepsis-2-Definition) wurde die Organdysfunktion noch genauer eingegrenzt. Gemäß den Leitlinien der European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) und der Society of Critical Care Medicine (SCCM) ist die Sepsis und der septische Schock seit dem Jahre 2016 neu definiert. Eine Sepsis wird hier als eine akut lebensbedrohliche Multiorgandysfunktion, die aus einer Fehlregulierung der Immunantwort des Wirts auf eine Infektion zurückzuführen ist, definiert (5). Die ursprünglichen SIRS-Kriterien ebenso wie die Definition der schweren Sepsis (6) kommen in diesen Leitlinien nicht mehr zum Tragen. Um die Diagnose einer Sepsis-assoziierten Organdysfunktion zu stellen, muss im Sequential Organ Failure Assessment Score (SOFA-Score) ein Punktwert ≥ 2 vorliegen. Es konnte gezeigt werden, dass eine mutmaßliche Infektion mit einem SOFA-Score von > 2 Punkten mit einer 10%-igen Krankenhaussterblichkeit einhergeht (7).

Sepsis und septischer Schock im Kindesalter

Die oben angeführten Sepsis-Definitionen wurden im Jahre 2005 an ein pädiatrisches Patientenkollektiv angepasst. Goldstein et al. behielten die ursprüngliche Gliederung in Sepsis, schwere Sepsis und septischer Schock bei und ergänzten altersgruppenspezifische

Referenzwertbereiche für SIRS-Kriterien und Kriterien für die Organdysfunktion bei einer schweren Sepsis. Für die Diagnose einer Sepsis im pädiatrischen Setting anhand der SIRS-Kriterien (≥ 2 Kriterien) ist es jedoch zwingend erforderlich, dass entweder eine abnormale Körpertemperatur oder eine pathologische Leukozytenzahl vorliegt. In den folgenden Tabellen 1-3 sind die SIRS-Kriterien, die Kriterien für die Organdysfunktion sowie die Richtwerte der Vital- und Laborparameter im Kindes- und Jugendalter, die für unsere Studie herangezogen wurden, zusammenfassend aufgeführt (4)(8).

Kriterium	Mögliche zutreffende Befunde (Oder)			Und
Temperatur (T)	> 38,5 °C	< 36,0°C		Messung rektal, oral, ösophageal, intravasculär oder intravesikal
Herzfrequenz (HF)	> 2 SD über Altersnorm oder Bradykardie (< 1 Jahr) für > 0,5 h Dauer	> 2 SD unter Altersnorm für >0,5 h Dauer		Nicht bedingt durch: Stimulation, Schmerz, Herzerkrankung, Medikamente, Vagusstimulation
Atemfrequenz (AF)	> 2 SD über Altersnorm		Beatmung aus akutem Anlass	Nicht bedingt durch: neuromuskuläre Erkrankung, Allgemeinnarkose
Leukozyten (WBC)	Über Altersnorm	Unter Altersnorm	> 10% unreife Neutrophile	Keine Stimulation durch G-CSF o.ä.

Tabelle 1: Kriterien für das Vorliegen eines SIRS bei Kindern jenseits der Neonatalperiode (modifiziert nach (8)) Standardabweichung, G-CSF engl. Granulocyte-Colony Stimulating Factor

Kriterium	Mögliche zutreffende Befunde (Oder)				Und
Herz-Kreislauf	Mittlerer Druck (MAD) < 5. Perzentile der Altersnorm (bezogen auf 50er Größenperzentile)	Systolischer Blutdruck < 5. Perzentile der Altersnorm (bezogen auf 50er Größenperzentile)	Katecholaminbedarf	Zwei Kriterien: - BE < -5mmol/L - Laktat > 4mmol/L (> 36 mg/dl) - Oligurie < 1ml/kg/h - Kapillarfüllungszeit > 2 Sek.	Trotz ≥ 40 ml/kg Volumengabe Nicht alleine bedingt durch zyanotisches Vitium und/oder chronische Lungen-erkrankung
Atmung	PaO ₂ /FiO ₂ < 300			Nicht elektive Beatmung	
Nervensystem	GCS ≤ 11			Krampfanfall	
Blut	Thrombozyten < 100/nl	Thrombozyten 50% gegenüber 3-Tage-Maximum vermindert		INR > 2	
Niere	Kreatinin > 2x Altersnorm		Kreatinin > 2x Ausgangswert		
Leber	Bilirubin (ges.) ≥ 4 mg/dl		ALT (GPT) > 2x Altersnorm		

Tabelle 2: Definition von SIRS mit Organkomplikation (modifiziert nach (8)), MAD: Mittlerer arterieller Druck, BE: Base excess, GCS: Glasgow Coma Score, INR: International Normalized Ratio, ALT: Alanin-Aminotransferase, GPT: Glutamat-Pyruvat-Transaminase

Altersgruppe	Definition	Hypotension (RR systol.)	Bradykardie [min ⁻¹ /bpm]	Tachykardie [min ⁻¹ /bpm]	Tachypnoe [min ⁻¹]	Leukopenie [WBC/nL]	Leukozytose [WBC/nL]
Säugling	29d bis <1Jahr	<65 mmHg	<90	>180	>50	<5,0	>17,5
Kleinkind	1 bis <6 Jahre	<75 mmHg	N.D	>140	>40	<6,0	>15,5
Schulkind	6 bis < 12 Jahre	<83 mmHg	N.D.	>130	>20	<4,5	>13,5
Jugendliche	12 bis < 18 Jahre	<90 mmHg	N.D.	>110	>20	<4,5	>11,0

Tabelle 3: Richtwerte Vital- und Laborparameter im Kindes- und Jugendalter mit Bezug zur SIRS-/Sepsis-Definition (modifiziert nach (8)) WBC: white blood cell, N.D. nicht definiert

Da sich die septischen Symptome innerhalb weniger Stunden entwickeln können und die Sepsis ein potenziell lebensbedrohliches Krankheitsbild darstellt, ist eine frühzeitige und verlässliche Diagnostik sowie das rasche therapeutische Eingreifen für den weiteren Krankheitsverlauf und das Überleben des Patienten entscheidend (9). Die Therapie der Sepsis beruht primär auf den beiden Pfeilern der kausalen und supportiven Therapie. Die kausale Therapie beinhaltet zum einen eine breite kalkulierte antibiotische Therapie sowie die Fokussanierung. In einer Studie von Kumar et al. konnte durch eine verzögerte und inadäquate Antibiotikatherapie eine Erhöhung der Sterblichkeit um 6,7% pro Stunde bei Patienten im septischen Schock gezeigt werden (9). Nicht nur der unmittelbare Beginn einer Breitbandantibiose, entsprechend der „Tarragona Strategie“, sind für das Outcome des Patienten entscheidend. Ebenfalls sollte frühzeitig eine Sanierung des Infektionsherdes erfolgen, da auch dies maßgeblich den weiteren Krankheitsverlauf beeinflusst. Supportiv stehen die Volumengabe und falls erforderlich der Einsatz von Vasopressoren zur Verfügung.

Aus genannten Gründen sollte unmittelbar nach Abnahme der mikrobiologischen Kulturen eine entsprechende Antibiose eingeleitet werden. Auch der schnelle und sensitive Nachweis von Risikofaktoren und vor allem die Identifizierung des auslösenden Keims sind für den weiteren Krankheitsverlauf von entscheidender Bedeutung, da das therapeutische Regime hiervon maßgeblich beeinflusst wird (3). Dies stellt allerdings bis heute noch ein bedeutendes Problem im klinischen Alltag dar.

2.1.1 Die Standardlabordiagnostik ist invasiv, langsam und häufig nicht spezifisch

Die aktuell etablierten diagnostischen Verfahren zur Diagnostik und Evaluation des Schweregrads einer Infektion und zum Erregernachweis beinhalten die Analyse von Blut, die Kultivierung von Blut- und Urinkulturen sowie gegebenenfalls von Bronchial-, Drainagesekreten und Liquor sowie bei entsprechenden Foci Abstriche, Röntgen, Computertomographie, Sonographie sowie Stuhluntersuchungen (1). Im Rahmen der Blutentnahme sind das Differentialblutbild (Erythrozyten, Leukozyten Subpopulationen und Thrombozyten) und die Bestimmung plasmatischer Entzündungsparameter (zum Beispiel C-reaktives Protein und Procalcitonin) von entscheidender Bedeutung. Die nachfolgend dargelegten Nachteile dieser Verfahren, sollen durch die Etablierung einer neuen Methode weitestgehend reduziert werden.

Ein Nachteil, der besonders im Bereich der Pädiatrie eine wichtige Rolle spielt, ist die Invasivität von Abstrichen und Blutabnahmen, die eine erhebliche Traumatisierung für

Patienten und Angehörige bedeutet und deren Gewinnung gerade bei septischen Patienten kompliziert sein kann (10). Diese müssen daher immer auf ein notwendiges Minimum reduziert werden. Insbesondere bei pädiatrischen Patienten kann es durch langwierige diagnostische Prozeduren zu einer Verzögerung der indizierten antibiotischen Therapie kommen („Time to antibiotics“), die mit einer erhöhten Mortalität einhergeht (9).

Ein weiterer wesentlicher Punkt ist die lange Dauer der genannten Analysen. Während ein automatisches Differentialblutbild in weniger als einer Stunde in einem überschaubaren Zeitrahmen erfolgt, benötigt die Bestimmung des CRP nahezu eine Stunde. Seltene Entzündungsparameter wie Procalcitonin und Interleukine werden von den meisten Laboren nur einmal täglich bestimmt und zeigen häufig eine entsprechende diagnostische Latenz. Diagnostiken, bei denen Kulturen angelegt werden, benötigen zwei bis vier Tagen ab der Probenentnahme bei Infektverdacht und dem Ergebnis der mikrobiologischen Analyse (11). Die aus dem verzögerten oder fehlenden Nachweis pathogener Keime resultierenden Konsequenzen für den Patienten sind eine verzögerte und/oder ungünstige Initialtherapie. Weitere zu nennende Nachteile sind der verzögerte Anstieg der plasmatischen Entzündungsparameter wie beispielsweise des CRP's, die teilweise niedrige Sensitivität (nur 20% der Blutkulturen sind positiv) sowie die geringe Spezifität einiger Verfahren (10). Ein ebenfalls nicht unbedeutender Nachteil dieser Verfahren sind die durch die Diagnostik (z.B. Procalcitonin) entstehenden hohen Kosten (12).

In Abhängigkeit des Allgemeinzustandes des Patienten und den Ergebnissen der laborchemischen Untersuchungen müssen im Rahmen der diagnostischen Abklärung die therapeutischen Entscheidungen in Bezug auf eine antibiotische Therapie und eine stationäre Aufnahme getroffen werden (1). Die Initialtherapie sieht im Regelfall eine kalkulierte Antibiose bestehend aus einem Aminoglykosid-Antibiotikum und einem Breitspektrum-Penicillin vor. In speziellen Fällen kommt ein Glykopeptid-Antibiotikum zum Einsatz (3). Entsprechend der Deeskalationsstrategie erfolgt in Abhängigkeit des mikrobiologischen Befundes antibiogrammgerecht im weiteren Verlauf eine zielgerichtete Antibiose (9). Gründe für den umgehenden Beginn der antibiotischen Therapie sind vor allem in der Reduzierung der Mortalität, aber auch in der Vermeidung bzw. Verkürzung des Intensivaufenthalts und der Reduzierung der Kosten begründet. Mit Hilfe der Deeskalation der antibiotischen Therapie werden unangemessene und übermäßige Therapien und ihre Nebenwirkungen vermieden und das Risiko einer Resistenzentwicklung verringert (11). Die eingesetzten Therapien zeigen in der Mehrzahl der Fälle eine gute Verträglichkeit, können jedoch auch Nebenwirkungen haben. Diese sind insbesondere Schädigungen der Nierenfunktion, des Gehörs und der Leberfunktion oder die Induktion einer ebenfalls potentiell fatalen verlaufenden Clostridium difficile Colitis. Die frühzeitige Diagnose des Schweregrads und des Erregers einer Infektion würde es ermöglichen, auf Antibiotika mit

ungünstigem Nebenwirkungsprofil zu verzichten und den Einsatz von Breitspektrumantibiotika zu minimieren.

2.1.2 Die optimale Diagnostik sollte nicht-invasiv, schnell, sensitiv und spezifisch sein

Eine wünschenswerte, optimale Diagnostik sollte die oben aufgeführten Nachteile der bisher zur Verfügung stehenden diagnostischen Möglichkeiten verringern beziehungsweise beheben, um somit die Diagnostik und die sich anschließende Therapie zu optimieren. Wünschenswert wäre eine schnelle, effektive und vor allem sensitive Methode, die zu einem frühen Zeitpunkt Rückschlüsse auf den Schweregrad der Erkrankung, den weiteren klinischen Verlauf und den Erreger der Erkrankung zulässt.

Die sich daraus ergebenden Vorteile sind die Verkürzung des diagnostischen Zeitraums und somit in der Folge eine frühzeitige Stratifizierung der Patienten. Dies beeinflusst maßgeblich das weitere therapeutische Vorgehen. Die Behandlung der Patienten wird beschleunigt und es kann frühzeitig mit einer zielgerichteten erregerspezifischen Therapie begonnen werden.

Dadurch wird einerseits der Einsatz von Antibiotika reduziert und andererseits die Dauer verkürzt. Dies wirkt sich zum einen positiv auf die Reduktion der Resistenzentwicklung verschiedener Bakterienstämme aus (11) und zum anderen bleibt der Einsatz von Antibiotika mit hohem Nebenwirkungsspektrum auf ein selektives Patientengut beschränkt. Durch eine frühzeitige und vor allem erregerspezifische Therapie kann zudem die Hospitalisierungszeit reduziert werden und die Morbidität und Mortalität von Bakteriämien positiv beeinflussen werden. Die frühzeitige Stratifizierung, die eine Unterscheidung zwischen einem Risikopatienten und einem asymptomatischen immunsupprimierten Patienten ermöglicht, würde die ambulante Betreuung beschleunigen, den Fokus primär auf den Risikopatienten legen und das Risiko einer Infektion während der Wartezeiten in der Klinik reduzieren. Ebenfalls spielt die Einführung einer ergänzenden, nicht invasiven Infektionsdiagnostik in der Pädiatrie im Hinblick auf die Schmerzfreiheit eine beachtliche Rolle (1). Zum jetzigen Zeitpunkt ist noch kein Verfahren oder ein schneller verlässlicher Marker verfügbar, der die oben beschriebenen Vorteile miteinander vereint und den schnellen Nachweis von Risikopatienten sowie den Erregernachweis ermöglicht (1). Eine Möglichkeit der schnellen, sensitiven und spezifischen Diagnostik stellt die Ionenmobilitätsspektrometrie dar, deren technisch-physikalische Funktionsweise im Kapitel 3.7 detailliert dargelegt wird.

2.2 Die Ionenmobilitätsspektrometrie

In den vergangenen Jahren hat die Ionenmobilitätsspektrometrie zunehmend an Bedeutung gewonnen. Weltweit sind mehr als 50.000 bis 70.000 IMS-Einheiten in Betrieb (13). Sie

stellen ein hochinteressantes Werkzeug in unterschiedlichsten Anwendungsbereichen dar. Ursprünglich wurde die Ionenmobilitätsspektrometrie für Militär- und Sicherheitszwecke zum Nachweis chemischer Kampfstoffe, Sprengstoffe sowie illegaler Drogen eingesetzt (11,14–16). Der Einsatzbereich des Ionenmobilitätsspektrometers hat sich im Hinblick auf biologische Proben zunehmend erweitert. Heutzutage findet es zum einen Anwendung im Bereich der Lebensmittelkontrolle zur Überprüfung der Lebensmittelqualität und Sicherheit (15,17,18) und zum anderen in der Medizin im Hinblick auf Diagnostik, Therapie- und Medikamentenmonitoring (16,17,19,20). Weitere Einsatzgebiete sind die Prozesskontrolle in der chemischen und pharmazeutischen Industrie (17). Die Hauptgründe für den erweiterten Einsatz des Ionenmobilitätsspektrometers (IMS) sind die bedeutenden Fortschritte der letzten Jahre. Durch Weiterentwicklung und Optimierung des Verfahrens mit Erreichen neuer Sensibilitätsniveaus wurde die Analyse von Spurenelementen im menschlichen Atem möglich (21). Ein solches Gerät wurde auf der Grundlage der Gasphasentrennung von Ionen im schwachen elektrischen Feld am ISAS (Institute for Analytical Sciences, Dortmund) konstruiert und weiterentwickelt. Der primäre Fokus lag auf der Analyse komplexer, feuchter Proben, der spezifischen Probengewinnung, der schnellen Voraufftrennung mittels Multi-Capillary-Column (MCC) und der Datenverarbeitung mit Erstellung von Referenzdatenbanken (17).

2.2.1 Multi-Capillary-Column-Ion Mobility Spectrometry (MCC-IMS)

Das am Institute for Analytical Sciences entwickelte MCC-IMS stellt ein vielversprechendes Werkzeug im Hinblick auf die Analyse von flüchtigen organischen Verbindungen des menschlichen Atems dar und hat in den letzten Jahren eine zunehmende Bedeutung im Hinblick auf medizinische und biologische Fragestellungen erlangt (15).

Der menschliche Atem stellt jedoch aufgrund seines hohen Feuchtigkeitsgehalts eine besondere Herausforderung für die Analyse dar. Durch Interaktionen zwischen Wasser- und Analytmolekülen kommt es zu Veränderungen der molekulspezifischen Ionenmobilitäten (Driftzeiten) mit konsekutiven Veränderungen des identifizierten Messsignals. Zudem besitzen einzelner Analyte teilweise annähernd gleiche Ionenmobilitäten. Die Umgehung der oben genannten Problematik wird in der vorliegenden Studie durch die Vorschaltung einer Multi-Capillary-Column zur optimalen Auftrennung der volatilen organischen Komponenten realisiert.

Durch den effektiven Voraufftrennungsprozess ergeben sich zwei entscheidende Vorteile für die Analyse. Zum einen wird durch den chromatographischen Auftrennungsprozess die Problematik der Clusterbildung zwischen Analytmolekülen und Wassermolekülen umgangen. Zum anderen wurde durch die Differenzierung der Analyte anhand ihrer

individuellen Retentionszeit (Verweilzeit innerhalb der MCC) das Messwertspektrum um eine zusätzliche Dimension erweitert und damit um ein weiteres Differenzierungskriterium geschaffen.

Die klare Trennung und Identifizierung der flüchtigen organischen Verbindungen erfolgt somit anhand der individuellen Retentionszeit (MCC) und der spezifischen Ionenmobilität (IMS) (16). Zusammenfassend kann man sagen, dass durch die chromatographische Vorauftrennung der Probe die Analyse von komplexen feuchten Gasproben ermöglicht wurde (11,16), die Interaktionen der Analyte in der Ionisationsregion minimiert und teilweise vermieden und die Komplexität des Messsignals reduziert wurde (22).

Entscheidende Vorteile, die den Einsatz des Ionenmobilitätsspektrometers in Kombination mit der Multi-Capillary-Column vor allem im Bereich der Diagnostik und der Therapiekontrolle so reizvoll machen, sind die unkomplizierten Betriebsbedingungen. Für die Analyse der Atemluftprobe werden im Vergleich zu anderen spektroskopischen Verfahren keine Vakuumbedingungen, keine hohen Temperaturen und keine Spezialgase wie Argon, Helium oder Stickstoff benötigt. Der Betrieb erfolgt bei Umgebungstemperatur und Umgebungsdruck unter Verwendung von synthetischer Luft (22). Weitere Vorteile sind den technischen Eigenschaften des IMS-MCC geschuldet. Hier sind neben der niedrigen Spannungsversorgung, die geringe Größe und das geringe Gewicht zu nennen (15). Hinzu kommt die geringe Invasivität einer Atemprobe, eine einfach und schnell vor Ort Durchführung, kurzen Probengewinnungszeiten (23) sowie kurze Analysezeiten mit Hochgeschwindigkeitsdatenerfassung (11,16). Dies ermöglicht den Einsatz des MCC-IMS in einem breiten Anwendungsbereich (11,16). Einschränkend können nur die flüchtigen organischen Substanzen mittels MCC-IMS identifiziert werden, die ionisierbar sind (11). Nach Betrachtung der hier dargelegten Vorteile wird das erhebliche Potenzial des MCC-IMS vor allem im Bereich der Gesundheitsversorgung, aber auch in anderen Bereichen wie der Stoffwechseltechnik und der Bioprozesskontrolle deutlich (22). Durch die Kombination beider Verfahren wurde die Auftrennung komplexer feuchter Probe im Spurenbereich und die Identifizierung und Quantifizierung von flüchtigen organischen Verbindungen ermöglicht (11,13,16).

Abschließend ist zu sagen, dass das MCC-IMS ein vielversprechendes diagnostisches Werkzeug in der Analyse von flüchtigen organischen Verbindungen des menschlichen Atems darstellt. Die technischen Betriebseigenschaften sowie die hohe Trennungseffizienz durch den zweifachen Auftrennungsprozess ermöglichen den klinischen bettseitigen Einsatz und erfüllen somit den geforderten hohen Anspruch an die Atemgasanalyse.

2.3 Flüchtige organische Verbindungen (VOCs)

Der Ansatz der aktuellen Studie beruht auf der Annahme, dass bei biologischen Stoffwechselprozessen flüchtige organische Verbindungen (volatile organic compounds VOCs) frei werden, die im menschlichen Atem mit Hilfe des MCC-IMS nachgewiesen werden können. Diese flüchtigen organischen Verbindungen enthalten somit Informationen über den Gesundheitszustand des Individuums (13,23). Im menschlichen Atem sind bisher mehr als 200 verschiedene flüchtige organische Verbindungen nachweisbar. Die Zusammensetzung der Ausatemluft, die durch den Gasaustausch an der Blut-Luft-Schranke bestimmt wird, steht im Zusammenhang mit der Konzentration im Serum. Die Anwesenheit und auch quantitativen Veränderungen spezifischer flüchtiger organischer Verbindungen in der ausgeatmeten Luft korrelieren mit der Zusammensetzung der VOCs im Blut, welches wiederum im direkten Kontakt mit dem Gewebe steht. Ebenso können Stoffwechselprodukte, die sich von Krankheitsprozessen innerhalb des Atemwegsystems ableiten, mithilfe des MCC/IMS im Atem nachgewiesen werden (13).

Stoffwechselprodukte sind immer häufiger Gegenstand von Untersuchungen. Sie liefern Informationen über die aktuell ablaufenden Stoffwechselprozesse und somit über den Zustand des Organismus im Hinblick auf Ernährung, Wachstum sowie Beeinträchtigungen des Organismus durch Krankheit oder durch Kontaminationen mit Mikroorganismen sowie durch Umwelteinflüsse. Aus genannten Gründen werden sie unter anderem als Marker für medizinische Diagnosen und zur Beschreibung der aktuellen Stoffwechsellage eingesetzt (17). Gelingen der Nachweis und die Zuordnung der flüchtigen Stoffwechselprodukte im menschlichen Atem zu den entsprechenden Erkrankungen, ist die Identifizierung potenzieller Biomarker für bestimmte Erkrankungen gegeben (24). In der Studie von Baumbach et al. wurden Atemproben über ein Bronchoskop von der tumortragenden und der gegenüberliegenden Lungenseite entnommen und mittels IMS analysiert. Es konnte gezeigt werden, dass Lungenkarzinome mit unterschiedlicher Histologie unterschiedliche VOCs exprimieren. Für das Plattenepithelkarzinom wurden zwei Peaks, die mit 2-Butanol oder 2-Methylfuran und Nonanal verwandt sind sowie für das Adenokarzinom n-Dodecan identifiziert (25). Ähnliches konnte auch in einer Studie von Handa et al. reproduziert werden. Hier gelang eine Unterscheidung von gesunden Kontrollen und Patienten mit Adenokarzinom, Plattenepithelkarzinom und kleinzelligem Karzinom der Lunge anhand der VOC (26). Im Bereich der funktionellen und strukturellen Lungenerkrankungen sind beispielhaft die Studienergebnisse von Westhoff et al. und Bessa et al. in der Diagnostik der COPD zu nennen. Bessa et al konnte in der ausgeatmeten Luft von 13 COPD Patienten einen signifikanten Peak nachweisen, der eine Trennung von den 33 gesunden Kontrollen ermöglichte (23). Dies war ebenfalls vorab Westhoff et al. gelungen, die

Cyclohexanon als einzigen Analyt identifizierten, der eine Unterscheidung der Gesunden und der COPD Patienten ermöglichte (27).

Weitere medizinische Einsatzbereich in der Pneumologie finden sich bei Asthma (28), Lungeninfektionen (12,29) sowie bei seltenen Lungenerkrankungen wie der Asbestose (30), dem Pleuramesotheliom (31), der zystischen Fibrose (32) und der Sarkoidose (20).

Auch in anderen klinischen Fachbereichen konnten spezifische flüchtige organische Komponenten mittels der Ionenmobilitätsspektrometrie nachgewiesen werden. Pagonas et al. konnte zeigen, dass Hydroxyaceton, 3-Hydroxy-2-butanon und Ammoniak, die bei eingeschränkter Nierenfunktion vermehrt akkumulieren, in der ausgeatmeten Luft nachweisbar sind. Somit wurde eine Unterscheidung von gesunden Kontrollen und chronisch Nierenkranken anhand der VOCs ermöglicht (33). Weitere Einsatzmöglichkeiten finden sich in der Anästhesie und Intensivmedizin, zum Beispiel für den Nachweis einer Sepsis im Tiermodell (34,35) sowie in der Pädiatrie, zur Identifizierung von VOCs bei Kindern mit schwerer Neutropenie unter systemischer Chemotherapie (1). Die beiden zuletzt genannten Einsatzbereiche werden im Folgenden aufgrund der Relevanz für unsere Studie noch einmal näher beleuchtet. Die Identifizierung und Zuordnung der VOCs zu einer bestimmten Erkrankung ist somit ein vielversprechendes Verfahren für den Einsatz als Standarddiagnostik im medizinischen Bereich.

2.4 Ziele der Arbeit

In dieser Arbeit wurde in einem prospektiven Studiendesign die Atemluft von gesunden Kindern und Kindern unter zytostatischer Therapie explorativ untersucht.

Es wurden in einem ersten Schritt zunächst als Kohortenvergleich:

- spezifischer Peaks von Patienten mit Neutropenie unter zytostatischer Therapie im Vergleich zu Gesunden dargestellt
- spezifischer Peaks von Patienten mit Inflammation im Vergleich zu Gesunden dargestellt
- und spezifischen Peaks bei Fieber in Neutropenie in Abhängigkeit zum Zeitpunkt des Fieberereignisses dargestellt

In einem zweiten Schritt wurde der individuelle Verlauf mit Schwerpunkt auf den in ersten Schritt ermittelten VOCs von 21 Patienten mit (rezidivierenden) Neutropeniephasen unter Chemotherapie in zeitlichen Bezug zu klinischen Ereignissen untersucht.

3. Material und Methodik

3.1 Studiendesign

Die vorliegende Studie beschäftigt sich mit der Untersuchung der flüchtigen organischen Verbindungen (volatile organic compounds - VOCs) in der Ausatemluft unter Verwendung eines MCC-IMS vom Typ BioScout. Es handelt sich hierbei um eine nicht-invasive diagnostische Beobachtungsstudie, die prospektiv über einen Zeitraum von 15 Monaten (Zeitraum März 2013 bis April 2014) durchgeführt wurde. Die Studiendurchführung war nicht mit einer therapeutischen Intervention bei den Probanden verbunden. Die Studie wurde nach Begutachtung des Forschungsvorhabens von der Ethik-Kommission der Ärztekammer des Saarlandes genehmigt. Vor der Untersuchungsdurchführung wurden die Eltern und/oder der Patient (zwingend ab dem 14. Lebensjahr) umfassend persönlich und schriftlich in Form einer Patienteninformation über die Studie aufgeklärt. Zudem wurde ein Formular über die Einverständniserklärung angefügt. Die Einverständniserklärung beinhaltet die Zustimmung zur Durchführung der Atemluftanalyse, die Erhebung studienrelevanter Daten und die pseudonymisierte Weitergabe studienrelevanter Daten an den Studienleiter. Eine über die im Rahmen der klinischen Routine hinaus anfallende Diagnostik war ausgeschlossen.

Die Auswahl der Studienteilnehmer erfolgte anhand der vorher definierten Einschluss- und Ausschlusskriterien aus dem Kollektiv der Patienten, die an der Klinik für pädiatrische Hämatologie und Onkologie am Universitätsklinikum des Saarlandes betreut wurden.

Die Klassifizierung der gewonnenen Ergebnisse erfolgte unter Berücksichtigung der Ergebnisse der Routinediagnostik, der Medikation und der bakteriologischen und virologischen Diagnostik (2).

3.2 Studienkollektiv

3.2.1 Einschlusskriterien

- Probanden:

Eingeschlossen wurden Patienten und Gesunde im Alter zwischen 2 und 18 Jahren, die in der Klinik für pädiatrische Hämato- und Onkologie im Universitätsklinikum des Saarlandes vorstellig wurden. Nach durchgeführter Aufklärung und schriftlicher Einwilligung in die Studie konnten die Atemluftmessungen durchgeführt werden.

- Atemluftmessung:

Der Einschluss einer Messung in die Studie erfolgte, sofern die Patienten zum Zeitpunkt der Messung mindestens eine Stunde nüchtern waren, nichts anderes unter Ausnahme

von Wasser getrunken hatten und keine Zahnreinigung und/oder onkologische Mundpflege durchgeführt hatten.

3.2.2 Ausschlusskriterien

Patienten, die den nachfolgenden Ausschlusskriterien unterlagen, wurden nicht in die Studie eingeschlossen:

- Ein Studienausschluss erfolgte bei Patienten, die zum Zeitpunkt der Diagnose jünger als 2 Jahre bzw. älter als 18 Jahre waren.
- Bei fehlender Einverständniserklärung der Sorgeberechtigten bzw. des Patienten konnte eine Teilnahme an der Studie nicht ermöglicht werden.
- Fehlende Nüchternheit mit Ausnahme von Wasser sowie Zahnpflege innerhalb der letzten Stunde vor Durchführung der Messung.
- Das Vorliegen des Grades IV-V entsprechend der ASA-Klassifikation (American Society of Anesthesiologists).

3.2.3 Patientengruppe (Neutropenie, Inflammation)

In die Patientengruppe wurden Kinder im Alter zwischen 2 und 18 Jahren mit einer neu aufgetretenen malignen Systemerkrankung oder mit einem Rezidiv der Grunderkrankung eingeschlossen.

3.2.4 Kontrollgruppe (Gesunde)

In die Kontrollgruppe wurden neben Patienten, die sich nach Abschluss der Therapie in der Nachsorgebehandlung befanden (Langzeitüberlebende > 5 Jahre nach Ende der letzten Therapie) auch gesunde hämatologische Patienten und gesunde Personen (Geschwisterkinder), die in der Ambulanz der pädiatrischen Hämatologie und Onkologie vorstellig wurden, eingeschlossen. Die Kontrollgruppe wurde vorab von einem Arzt visitiert und klinisch beurteilt. Ein Einschluss in die Studie erfolgte bei Fehlen einer aktiven Infektion, sofern keine Behandlungsindikation bestand oder keine andere aktive Erkrankung vorlag.

Insgesamt wurden 123 Probanden in die Kontrollgruppe (55 Langzeitüberlebende in der Nachsorge sowie 36 hämatologische Patienten und 32 gesunde Geschwisterkinder) eingeschlossen und 141 Atemluftmessungen durchgeführt.

3.3 Atemluftuntersuchungen

Alle ausgewerteten Messungen wurden über einen Zeitraum von März 2013 bis April 2014 unter Aufrechterhaltung konstanter Messbedingungen vorgenommen, was unter anderem durch die Verwendung des gleichen Messinstruments über den gesamten Erhebungszeitraum realisiert wurde. Um eine Beeinflussung der Messergebnisse durch

eventuelle Kontaminationen der Umgebungsluft untersuchen zu können, wurde die Analyse der Atemluftprobe in einem abgetrennten Raum durchgeführt und zudem tägliche Raumluftmessungen durchgeführt (17).

Die Durchführung der Atemluftmessungen war ab einem Lebensalter von zwei Jahren möglich, jedoch nur unter Vorbehalt der Bereitschaft zur Mitarbeit. Um eine Negativkonditionierung durch unangenehme Erfahrungen wie Hyperventilation mit Vertigo und Nausea zu vermeiden, wurden die Patienten dazu angehalten, die Atemluftprobe durch kontrollierte, langsame und tiefe Atemzüge abzugeben. Zusätzlich erfolgte bei Kindern < 5 Jahren eine Anpassung des zu überwindenden Totraumvolumens. Das Totraumvolumen wurde für dieses Patientenkollektiv von 500 ml auf 250 ml reduziert. Für die Abgabe einer Atemluftprobe benötigen kleinere Kinder in der Regel mehr Zeit und mehrere Atemzüge, jedoch wurden alle Atemluftproben innerhalb von zwei Minuten gewonnen (1).

Für Probanden der Patientengruppe bestand die Indikation zur Atemluftuntersuchung bei einer Vorstellung wegen:

- Neutropenie (<500 neutrophile Granulozyten/ μ l bzw. <1000 Leukozyten/ μ l (falls keine Differenzierung vorlag)
- Fieber (Temperatur \geq 38.5 °C)
- Subfebrile Temperaturen (Temperatur \geq 38.0 °C < 38.5 °C)
- Im Anschluss an ein Fieberereignis (Ziel 1x/d)
- Anstieg der Infektionsparameter
- Klinische Inflammation: Stomatitis, Pharyngitis, Pneumonie, Gastroenteritis, Konjunktivitis
- Nach Erholung im inflammationsfreien Intervall mit normalisierten Blutwerten
- Bei Diagnosestellung (Ziel 3x innerhalb der ersten Tage vor Beginn der Therapie)

Insgesamt wurden 1036 Messungen im Zeitraum März 2013 bis Juni 2014 erfasst, von denen jedoch nur 974 auswertbar waren. Alle Messungen ab Mai 2014 mussten aufgrund nicht valider Ergebnisse ausgeschlossen werden. In die Verlaufsuntersuchung der Patienten mit (rezidivierenden) Neutropeniephasen konnten insgesamt 21 Probanden eingeschlossen werden. Von Ihnen konnten 896 Messungen innerhalb des Zeitraums März 2013 bis April 2014 ausgewertet werden.

3.4 Datenerfassung

Alle Kinder wurden vor oder nach der Messung von einem Arzt visitiert und hinsichtlich der klinischen und laborchemischen Befunde beurteilt. Zusätzlich wurden unter Zuhilfenahme eines standardisierten Fragebogens folgende studienrelevante Daten erfasst:

- Nüchternheit: Ja/Nein
- Mundpflege durchgeführt: Ja/Nein
 - Falls Ja: Zeitpunkt und Art der Mundpflege
- Medikamenteneinnahme
 - Analgetika, Antiphlogistika, Antipyretika, Antibiotika, Protonenpumpeninhibitoren
- Vorliegende Grunderkrankung
 - Aktuell unter Chemotherapie oder Radiotherapie
- Aktueller Vorstellungsgrund
 - Fieber?, Stomatitis? Gastroenteritis? Pharyngitis? Ösophagitis?
- Bekannte Lungenmetastasen

Zudem erfolgte im Rahmen der ambulanten Vorstellung beziehungsweise im stationären Aufenthalt eine laborchemische Routinediagnostik sowie bei Hinweisen auf eine akute Inflammation, eine erweiterte mikrobiologische/virologische Diagnostik.

Folgende relevante Parameter wurden hierfür in die Studie eingeschlossen:

- Differentialblutbild (Hämoglobinwert in g/dl, Leukozytenzahlen / μ l, Anzahl der neutrophilen Granulozyten, Thrombozyten in μ l)
- Klinische Chemie (C-reaktives Protein, Procalcitonin)
- Mikrobiologische Diagnostik (Blutkulturen, Stuhl- und Urinkulturen, Nasen-,/Rachenabstriche)
- Virologische Diagnostik (Antikörpernachweise aus dem Serum, Direktnachweise mittels PCR aus Sekreten, EDTA-Blut)

3.5 Probengewinnung

Die Gewinnung der Atemluftproben und deren Auftrennung wurde durch den Einsatz des am ISAS (Institute for Analytical Sciences) entwickelten BioScout (B&S Analytik, Dortmund, Deutschland) ermöglicht. Dieses setzt sich aus den folgenden drei Komponenten zusammen.

- Spiroscout® (Spirometer)
- BreathDiscovery® (MCC-IMS)
- Laptop Software VOCan®

Über den Spiroscout® (Ganshorn Medizin Electronic, Niederlauer, Deutschland) erfolgt die Konnektierung des Einmalmundstücks (Ganshorn Medizin Electronic, Niederlauer,

Deutschland) und der Probeneinlass in das System. Die zweite Komponente bildete das BreathDiscovery®. Hier wurden in einer Baueinheit die Multi-Capillary-Column (MCC) und das Ionenmobilitätsspektrometer (IMS) vereint. In diesem Teilabschnitt erfolgt die Auftrennung der zu analysierenden Moleküle. Die graphische Darstellung des aktuellen Messvorgangs mit der Möglichkeit der Steuerung und Überwachung des Systems erfolgt mit Hilfe der auf dem Laptop installierten Software VOCan®.

Bei der Probenentnahme wurden die Probanden gebeten, über das spezielle Einmalmundstück mit mehreren langsamen und tiefen Atemzügen für durchschnittlich eine Minute auszuatmen. Die Ausatmung wurde bei jedem Probanden durch einen im Spiroscout® integrierten Sensor überwacht und aufgezeichnet (12,23). Bei Entnahme der Probe war es von Bedeutung, dass das Mundstück vollständig von den Lippen umschlossen war. Das Eindringen von Umgebungsluft, die das Messergebnis aufgrund von Verunreinigungen verfälschen könnten, sollte damit auf ein Minimum reduziert werden. Ebenfalls sollten kurze hochfrequente Atemzüge vermieden werden. Die Anleitung tiefe und langsame Atemzüge durchzuführen sollte negative Assoziationen und ein sich daraus ableitendes Vermeidungsverhalten verhindern (1). Nach Abgabe der Atemluftprobe erfolgte die Weiterleitung in eine 10 ml große Probenschleife (sample loop). Durch eine elektrisch gesteuerte Umlenkung eines 6-Wege-Ventils (Nalco, Macherey-Nagel, Düren, Deutschland) wurde die Atemluftprobe dann mit Hilfe des Trägergases in die Multi-Capillary-Column (MCC) entlassen. In diesem Bereich erfolgte die erste Auftrennung der zu analysierenden Verbindungen. Nach Passage der Multi-Capillary-Column wurde die Probe in das Ionenmobilitätsspektrometer eingebracht. Hier schlossen sich ein weiterer Auftrennungsprozess und die abschließende Detektierung der flüchtigen organischen Verbindungen (VOCs) an. In Abhängigkeit der Auftrennzeit der einzelnen Verbindungen waren die Ergebnisse innerhalb ca. 600s verfügbar (13,24,36).

3.6 Multi-Capillary-Column (MCC)

3.6.1 Aufbau und Betrieb der Multi-Capillary-Column

Um eine effektive Vorauftrennung der zu analysierenden Probe sicherzustellen, wurde dem Ionenmobilitätsspektrometer eine dünne polare Multi-Capillary-Column (MCC, OV-5, Sibertech, Novosibirsk, Russland) vorgeschaltet. Bei der Multi-Capillary-Column handelt es sich um eine 17 cm lange Chromatographiesäule, die sich aus etwa 1000 nebeneinander angeordneten Kapillaren zusammensetzt. Die einzelnen Kapillaren besitzen einen Innendurchmesser von 40 µm und eine Filmdicke von 0,2 µm. Daraus ergibt sich ein Gesamtdurchmesser der Säule von etwa 3 mm. Für den Betrieb der MCC sind

verschiedene stationäre Phasen verfügbar. Im vorliegenden Fall wurde die OV-5 Phase eingesetzt (13,36).

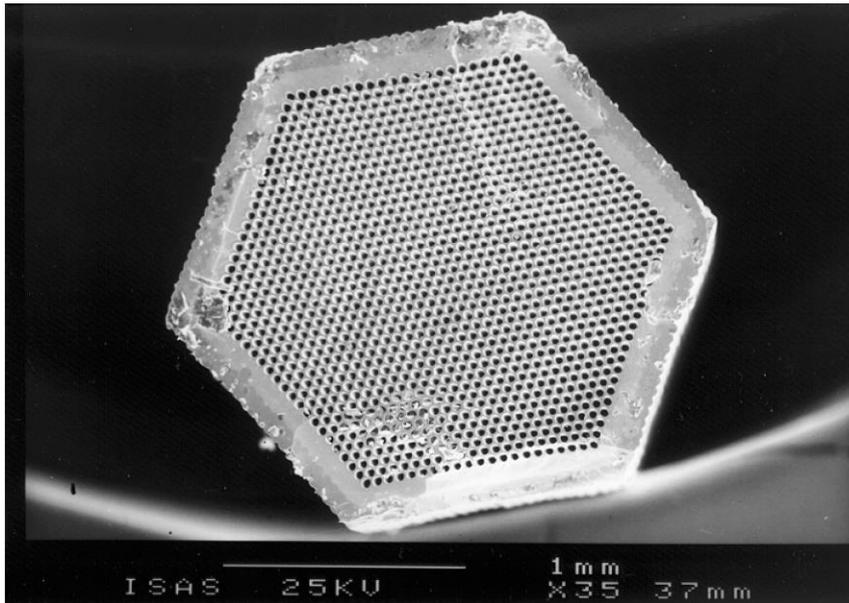


Abbildung 1: Querschnitt einer MCC, Darstellung aus (36)

Die entscheidenden Vorteile der MCC sind zum einen die hohe Probenkapazität der Säule und zum anderen der Betrieb mit hohen Strömungsgeschwindigkeiten. Durch die hohe Probenkapazität der Säule wird das Einbringen großer Probenvolumina im Bereich zwischen 10–50 ml ermöglicht (13). Im aktuellen Fall wurden pro Messung für die Analyse insgesamt 10 ml Atemluft aus der Probenschleife in die MCC übertragen. Die Vermeidung einer Verunreinigung der Chromatographiesäule wurde durch das Sammeln innerhalb der Probenschleife und das elektrisch gesteuerte 6-Wege-Ventil gewährleistet.

Ein weiterer Vorteil ist, dass durch den Einsatz der Multi-Capillary-Column Strömungsgeschwindigkeiten von bis zu 250 ml/min erreicht werden können (13). Die optimale Strömungsgeschwindigkeit für das Ionenmobilitätsspektrometer stellt ein Trägergasfluss von 150 ml/min dar (36). Der Vorteil der Erhöhung des Trägergasflusses im Hinblick auf die Analyse ist eine Steigerung der Sensitivität des Ionenmobilitätsspektrometers (16).

Eine weitere entscheidende Einflussgröße auf die Chromatographie ist die Temperatur. Die konstante Temperatur der Säule ist unumgänglich für die Reproduzierbarkeit der Chromatographieergebnisse. Aus genannten Gründen wird zur Gewinnung von vergleichbaren Retentionszeiten die Temperatur der MCC bei 30 °C konstant gehalten (13,36). Bereits kleine Abweichungen der Temperatur und/oder der Strömungsgeschwindigkeit führen zu Veränderungen in der Retentionszeit (16).

Betriebsbedingungen der Multi-Capillary-Column MCC-OV5	
Stationäre Phase	OV-5 (polar)
Anzahl der gebündelten Kapillaren	1000
Säulenlänge	17 cm
Filmdicke	0,2 µm
Innendurchmesser der Kapillaren	40 µm
Säulendurchmesser	3 mm
Säulentemperatur	30 °C
Trägergasfluss	150 ml/min

Tabelle 4: Betriebsbedingungen der Multi-Capillary-Column (MCC-OV5)

3.6.2 Optimierung der Atemluftanalyse durch die Multi-Capillary-Column

Für den Fall, dass ein komplexes Gemisch wie der menschliche Atem Gegenstand der Untersuchung ist, ist die Analyse der Atemluftprobe mit Hilfe des Ionenmobilitätsspektrometers alleine nicht ausreichend für die Identifizierung der enthaltenen flüchtigen organischen Verbindungen. Einer der Gründe hierfür ist, dass einige Stoffe gleiche oder annähernd gleiche Ionenmobilitäten besitzen. In diesem Fall wird ein weiteres Differenzierungskriterium für die einzelnen Metabolite benötigt. Dies wird durch den Einsatz der MCC gewährleistet. Dadurch erfolgt eine zusätzliche Charakterisierung der einzelnen Verbindungen anhand ihrer Retentionszeit bzw. Verweilzeit innerhalb der Chromatographiesäule. Die Identifizierung der in der Atemluftprobe enthaltenen flüchtigen organischen Verbindungen erfolgt somit anhand von zwei Kriterien. Zum einen anhand der individuellen Retentionszeit (MCC) und zum anderen anhand der reduzierten Ionenmobilität (IMS) (17).

Der zweite wichtige Punkt ist die Herabsetzung der Nachweisgrenze, die durch die Kombination erreicht wird. Dies ist von entscheidender Bedeutung, da das IMS alleine nicht ausreichend selektiv genug ist, um Spuren von Stoffen in komplexen Gemischen nachzuweisen. Viele Verbindungen im menschlichen Atem liegen nur in sehr niedrigen Konzentrationen (ppb_v bis ppt_v Bereich) vor. Durch die Verbindung beider Apparaturen wird die Nachweisgrenze so weit gesenkt, dass ein Nachweis ermöglicht wird (13).

Zudem ist der hohe Wassergehalt der Atemluftprobe (relative Feuchte von 100%) anzuführen. Für den Fall, dass keine Vorauftrennung durch die Multi-Capillary-Column erfolgt, befinden sich Wassermoleküle und Analytmoleküle gemeinsam im Ionisationsbereich des IMS. Die hier auftretenden Probleme sind der Clusterbildung zwischen Analytmolekülen und Wassermolekülen geschuldet. Die Clusterbildung führt durch Verlängerung der Driftzeiten zu abweichenden IMS-Signalen. Dadurch wird die

Identifikation der Moleküle erheblich erschwert oder völlig unmöglich (17). Weiterhin zu beachten ist, dass durch die Anwesenheit der Wassermoleküle die Ionisation von Molekülen mit niedriger Protonenaffinität erschwert ist (37). Diese Probleme können durch die Vorschaltung der MCC beseitigt werden. Durch die Voraufftrennung der Probe erreichen die Wassermoleküle und die Analytmoleküle die Ionisationsregion des Ionenmobilitätsspektrometers zeitlich versetzt und eine Clusterbildung kann vermieden werden (17).

Zusammenfassend kann man sagen, dass durch die Verbindung beider Apparaturen eine vollständige Auftrennung der Probe gewährleistet wird, eine weitere Charakterisierung der zu analysierenden Stoffe gegeben wird, die Nachweisgrenze herabsetzt wird und negative Einflussfaktoren auf die Analyse reduziert werden.

3.7 Ionenmobilitätsspektrometrie

3.7.1 Die Bestandteile des Ionenmobilitätsspektrometers (IMS)

Die zentralen Bestandteile des Ionenmobilitätsspektrometers sind die Ionisationsregion mit integrierter ^{63}Ni -Ionisationsquelle, die Driftröhre mit angelegtem elektrischen Feld und die Faraday-Platte zur Detektion der Ionen (13).

Über den Probeneinlass werden die Analyt-Ionen aus der Multi-Capillary-Column zusammen mit dem Trägergas (Stickstoff oder synthetische Luft) in die Ionisationsregion entlassen. Im Ionisationsbereich erfolgt die Bildung der Reaktions-Ionen (RI) und der Produkt-Ionen (PI) mittels einer radioaktiven ^{63}Ni β -Ionisationsquelle. Der Ionisationsraum und die Driftröhre sind durch ein elektrisch gesteuertes Schaltgitter voneinander getrennt. Bei geschlossenem Schaltgitter erfolgt kein Übertritt von Ionen aus dem Ionisationsraum in die Driftregion. Durch Öffnung des Schaltgitters werden die Produkt-Ionen in die Driftröhre entlassen. Innerhalb der Driftregion erfolgt die Auftrennung der einzelnen Produkt-Ionen durch ein angelegtes homogenes elektrisches Feld anhand ihrer Ladungen und ihrer molekularen Struktur. Die zeitliche Detektierung erfolgt nach Passage des Abschirmgitters an der Faraday-Platte. Mittels eines Verstärkers werden die detektierten Signale im Ionenmobilitätsspektrum graphisch dargestellt (36).

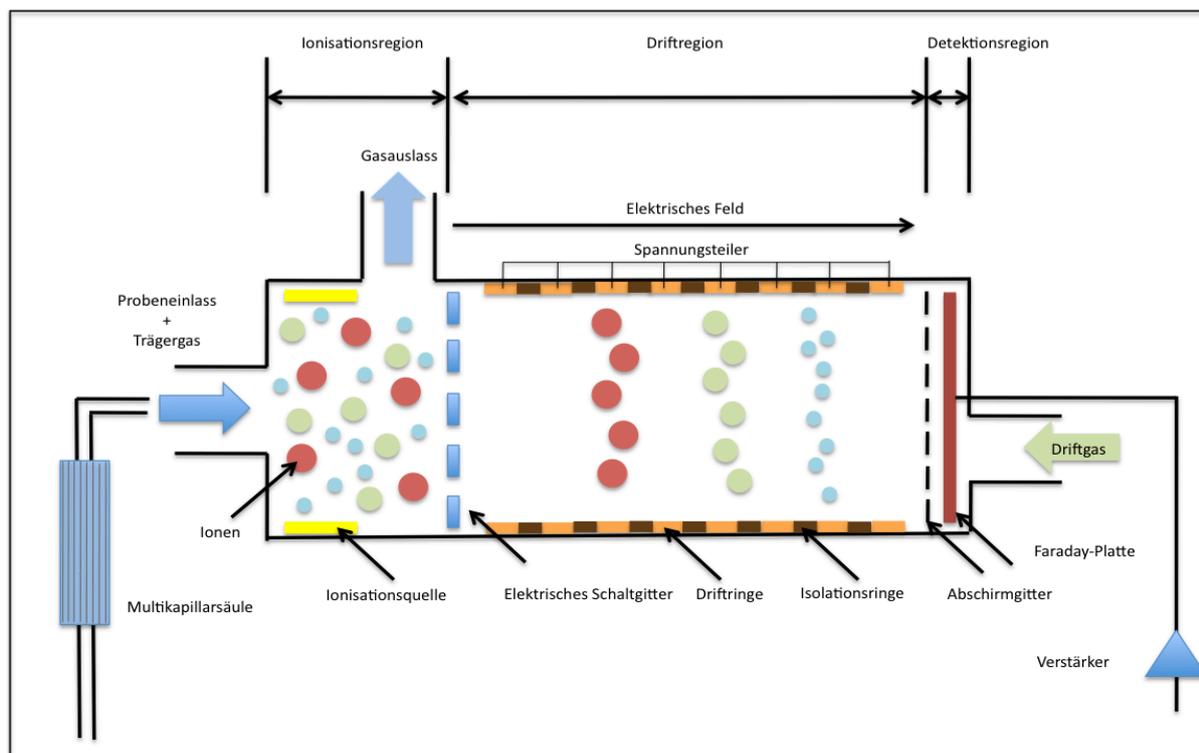


Abbildung 2: Schematische Darstellung eines Ionenmobilitätsspektrometers, modifiziert nach (37)(38)

In der nachfolgenden Tabelle sind die Betriebsparameter des IMS zusammengefasst.

Parameter	
Ionisationsquelle	β - Strahlungsquelle (^{63}Ni , 550 MBq)
Elektrische Feldstärke	300 V/cm
Länge der Driftröhre	12 cm
Durchmesser der Driftröhre	15 mm
Gitteröffnungszeit	300 μs
Impulszeit des Gitters	100 ms
Driftgas	Synthetische Luft
Driftgasfluss	100 ml/min
Trägergasfluss	150 ml/min
Temperatur	40 °C
Druck	101 kPa (Umgebungsdruck)
Volumen der Probenschleife	10 ml
Probenfluss	100 ml/min

Tabelle 5: Zusammenfassung der Betriebsparameter des IMS

3.7.2 Ionisationsregion

Nach Passage der Multi-Capillary-Column wird die zu analysierende Probe zusammen mit dem Trägergas über den Probeneinlass in den Ionisationsraum eingebracht. Unter Verwendung einer radioaktiven ^{63}Ni β - Strahlungsquelle erfolgt im ersten Reaktionsschritt

die Ionisation von neutralen Molekülen des Trägergases mit Bildung positiver und negativer Reaktions-Ionen (RI) durch Wechselwirkung der radioaktiver β -Strahlungsquelle mit Bestandteilen der Luft. Die Reaktionsgleichung ist im Folgenden verallgemeinert dargestellt:



Gleichung 1: Bildung von Reaktions-Ionen: β^- = Ionisationsquelle, R= positive /negative Reaktions-Ionen (38)

Im zweiten Schritt erfolgt die Ionisation der Analyt-Moleküle mit Bildung von Produkt-Ionen (PI). Diese werden durch chemische Reaktion zwischen Reaktions-Ionen und den Analyt-Molekülen gebildet.



Gleichung 2: Bildung von Produkt-Ionen: R= Reaktions-Ionen, M= Analyt-Molekül, M^+ / M^- = positive/ negative Produkt-Ionen (38)

3.7.3 Ionisationsquelle

Häufig eingesetzte Ionisationstechniken sind der Einsatz von radioaktiven Quellen, von UV-Lampen, von Lasern, von Elektrosprays sowie die Koronarentladung. Im vorliegenden Fall wurde ein radioaktiver β^- -Strahler verwendet (36). Bei der β^- -Strahlungsquelle handelt es sich um das ^{63}Ni -Isotop, das auf eine dünne Folie aus Nickel, Nickellegierungen oder Gold aufgetragen wurde. Die beim β^- Zerfall des ^{63}Ni -Isotop freiwerdende Energie liegt bei 67keV. Ein entscheidender Vorteil des radioaktiven β^- -Strahler ist die hohe Langzeitstabilität bei einer Halbwertszeit von 85 Jahren. Weitere Vorteile, die der Gebrauch einer radioaktiven Strahlungsquelle mit sich bringt, sind, dass keine weiteren elektronischen Bauteile und keine zusätzliche Energieversorgung benötigt werden (38).

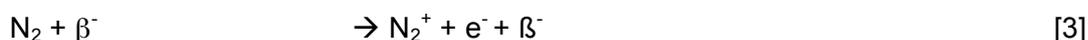
3.7.4 Prinzip der Ionenerzeugung

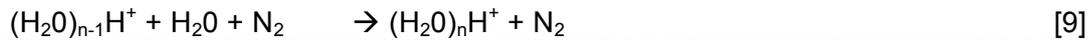
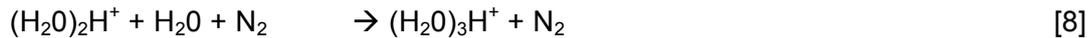
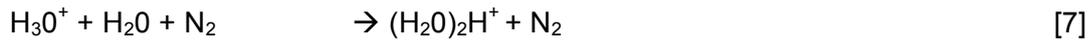
Durch Einsatz des radioaktiven ^{63}Ni β^- Strahlers werden Elektronen emittiert, die im ersten Schritt mit den Molekülen des Trägergases kollidieren. Es erfolgt zunächst die Ionisation des Trägergases mit Bildung von sogenannten Reaktions-Ionen (RI). Im Folgenden wird auf die Bildung positiver und negativer Reaktions-Ionen näher eingegangen. Die ablaufenden Reaktionsschritte sind nachfolgend aufgelistet (36)(38).

Bildung von Reaktions-Ionen (RI):

Positive Reaktions-Ionen

Die Startreaktion setzt eine Reaktionskette in Gang:





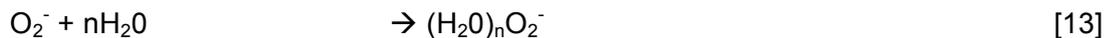
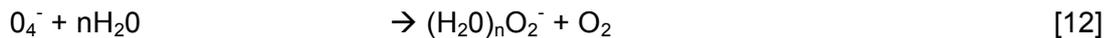
Gleichung 9: Ablaufende Reaktionen bei der Bildung von positiven Reaktions-Ionen vom Typ $(\text{H}_2\text{O})_n\text{H}^+$:

N_2 : Stickstoff, β^- : ^{63}Ni - β^- - Strahlungsquelle, H_2O : Wasser (36)(38)

Am Ende der Reaktionskette steht die Bildung positiv geladener Reaktions-Ionen vom Typ $(\text{H}_2\text{O})_n\text{H}^+$. Bei den gebildeten Reaktions-Ionen handelt es sich um positiv geladene Wasser-Cluster. Die Anzahl n (n = ganze Zahl) der Wassermoleküle innerhalb eines Clusters ist sehr stark abhängig von der Temperatur und dem Wassergehalt, aber auch vom in der Ionisationskammer herrschenden Umgebungsdruck (36) (38)

Negative Reaktions-Ionen:

Neben der Bildung positiv geladenen Reaktions-Ionen vom Typ $(\text{H}_2\text{O})_n\text{H}^+$ kommt es durch Reaktionen zwischen Elektronen und Sauerstoffmolekülen zusätzlich zur Entstehung von negativ geladenen Reaktions-Ionen vom Typ $(\text{H}_2\text{O})_n\text{O}_2^-$. Nachfolgend sind die nacheinander ablaufenden Reaktionen aufgeführt (36)(38)



Gleichung 13: Ablaufende Reaktionen bei der Bildung negativer Reaktions-Ionen vom Typ $(\text{H}_2\text{O})_n\text{O}_2^-$:

O_2 : Sauerstoff, e^- : Elektron, H_2O : Wasser (38)

Im Reaktionsraum erfolgte nun im ersten Schritt die Ionisation der Trägergasmoleküle mittels eines ^{63}Ni - β^- Strahlers. Das Ergebnis dieses ersten Ionisationsprozesses sind die gebildeten, positiv und negativ geladenen Reaktions-Ionen vom Typ $(\text{H}_2\text{O})_n\text{H}^+$ und $(\text{H}_2\text{O})_n\text{O}_2^-$. Im weiteren Reaktionsverlauf erfolgt nun die Bildung der Produkt-Ionen.

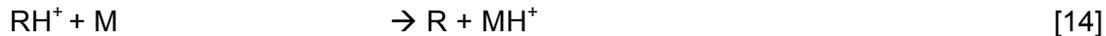
Bildung von Produkt-Ionen (PI)

Nach Voraufftrennung der Probe mittels Multi-Capillary-Column wird die zu analysierende Probe über den Probeneinlass in die Ionisationsregion entlassen. In diesem Bereich treffen die neutralen Probenmoleküle auf die zuvor gebildeten Reaktions-Ionen. Durch Kollisionen kommt es zur Bildung positiv und negativ geladener Produkt-Ionen (PI).

Positive Produkt-Ionen

Bei der Bildung von positiven Produkt-Ionen sind vier Reaktionstypen von entscheidender Bedeutung. Hier sind neben dem Protonentransfer, die nucleophilen Anlagerung, die

Hydridabstraktion sowie die Oxidation zu nennen. Die vorherrschende Ionen-Molekül-Reaktion ist der Protonentransfer (36)(38).

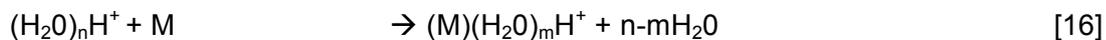
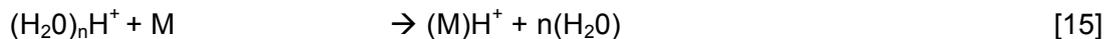


Gleichung 14: Bildung von positiven Produkt-Ionen durch Protonentransfer

R bzw. RH^+ = positive Reaktions-Ionen, M, MH^+ = Probenmoleküle (38)

Die Gründe sind der Protonenaffinität der beteiligten Reaktionspartner geschuldet. Die im ersten Ionisationsschritt gebildeten Wasser-Cluster besitzen eine äußerst geringe Protonenaffinität. Sie ionisieren daher eine große Anzahl an organischen Komponenten. Neben der oben genannten Reaktion kann es des Weiteren zur Cluster-Bildung kommen. In Abhängigkeit der Konzentration der vorliegenden Analyte werden Monomere oder Dimere gebildet (Gleichung 16 und 17) (36)(38).

Bildung von Produkt-Ionen positiver Polarität:



Gleichung 15 - 17: Ablaufende Reaktionen zwischen positiven Reaktions-Ionen ($(H_2O)_nH^+$) und Analyt-Molekülen (M):

Gleichung 15: Ladungstransfer, Gleichung 16 und 17: Monomer- und Dimer-Bildung (36)(38)

Negative Produkt-Ionen

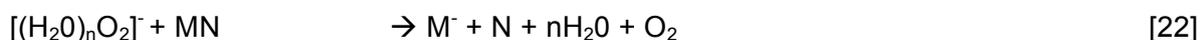
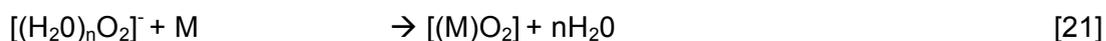
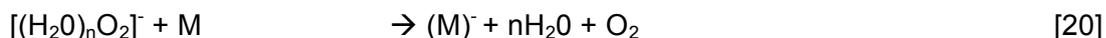
Zusätzlich entstehen negativ geladene Produkt-Ionen. Für die Entstehung der negativen Produkt-Ionen spielt die relative Elektronenaffinität eine entscheidende Rolle. Zudem haben die Analyt-Konzentration, die Temperatur und der Wassergehalt des Trägergases einen entscheidenden Einfluss auf die ablaufenden Reaktionen. Die hier am häufigsten zu findenden Reaktionstypen sind der einfache und der dissoziative Ladungstransfer (38).



Gleichung 18 und 19: Bildung von negativen Produkt-Ionen durch einfachen [18] und dissoziativen Ladungstransfer

[19] R^- = negative Reaktions-Ionen, M, MN = Probenmoleküle (38)

Bildung von Produkt-Ionen negativer Polarität:



Gleichung 20-22: Bildung von negativen Produkt-Ionen $[(H_2O)_nO_2]^-$ = negative Reaktions-Ionen, $(M)^-$, $[(M)O_2]^-$ = Probenmoleküle (36)

Zusammenfassend ist zu sagen, dass im Ionisationsbereich des IMS durch die ^{63}Ni - β -Strahlungsquelle im ersten Schritt unter Verwendung von Trägergas die sogenannten Reaktions-Ionen (RI) gebildet werden. Im weiteren Reaktionsverlauf entstehen durch chemische Ladungsübertragungen positive und negative Produkt-Ionen (PI). Diese indirekte Form der Ionisation von Analyt-Molekülen wird auch als APCI-Prozess (atmospheric pressure chemical ionization) bezeichnet (38).

3.7.5 Das elektrische Schaltgitter

Im Anschluss an die Bildung der Produkt-Ionen werden diese in die Driftregion entlassen. Die Grenze zwischen den beiden Bereichen wird durch ein elektrisch gesteuertes Schaltgitter gebildet. Dieses besteht aus zwei Einzelgittern mit parallel angeordneten Drähten. Mithilfe des Schaltgitters wird der kontrollierte Einlass der Produkt-Ionen in den Driftraum gesteuert. In periodisch getakteten Zeitintervallen von 100ms wechselt es zwischen den beiden Funktionszuständen „offen“ und „geschlossen“. Im Funktionszustand „geschlossen“ wird ein weiteres elektrisches Feld erzeugt, das senkrecht zu dem elektrischen Feld innerhalb der Driftröhre steht. Dadurch wird der Ionenschwarm am Übertritt in die Driftröhre gehindert. Ihren Ladungen entsprechend wandern die Ionen zum negativen beziehungsweise positiven Pol des Drahtgitters und werden dort neutralisiert. Anschließend werden sie über den Gasaustritt aus dem System geleitet. Im „offenen“ Zustand entspricht das Potenzial des Schaltgitters dem Potenzial im Inneren der Röhre. Dadurch tritt keine Störung des elektrischen Feldes auf, sodass die Produkt-Ionen ungehindert aus der Ionisationsregion in die Driftregion übertreten können. Das Zeitintervall zwischen geöffneten und geschlossenen Zustand hat einen erheblichen Einfluss auf die Nachweisempfindlichkeit und die zeitliche Auflösung. Die Abnahme der Empfindlichkeit ist durch die Reduzierung der Anzahl an übertretenden Ionen in die Driftregion durch kurze Gitteröffnungszeiten zu erklären. Jedoch kann dadurch die zeitliche Auflösung verbessert werden (37)(38).

3.7.6 Die Driftregion

Durch Öffnung des elektrischen Schaltgitters wird der Übertritt der Produkt-Ionen in den Driftraum ermöglicht. Hier erfolgt die eigentliche Analyse durch Auftrennung der positiv und negativ geladenen Produkt-Ionen mittels eines elektrischen Feldes anhand ihrer elektrischen Ladungen und ihrer molekularen Struktur. Die Detektion der Ionen wird am Ende der Messröhre durch das Auftreffen auf die Faraday-Platte sichergestellt (36).

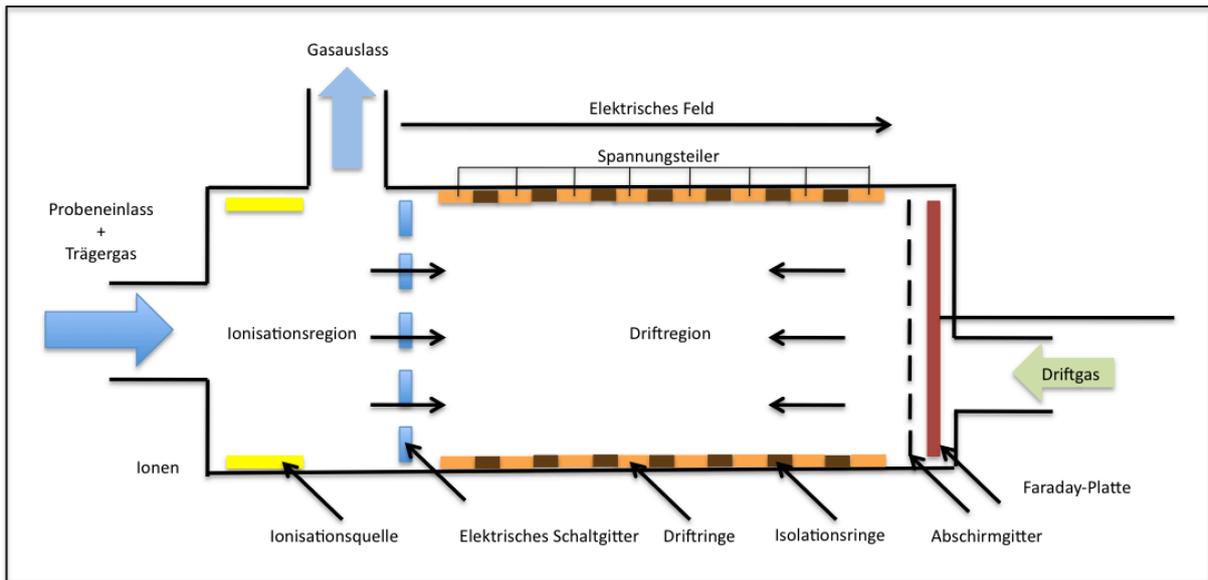


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Messröhre: Modifiziert nach (38)

Aufbau der Driftröhre

Für die Analyse der Produkt-Ionen sind folgende Komponenten der Messröhre von entscheidender Bedeutung: Die Metall- und Isolatorringe einschließlich des Spannungsteilers zur Induktion des elektrischen Feldes, das Abschirmgitter sowie die Faraday-Platte (Ionendetektor).

Das elektrische Feld

Die Aufrechterhaltung eines homogenen elektrischen Feldes mit elektrischen Feldstärken zwischen 150 bis 350 V/cm wird durch alternierende Metallringe und Isolatorringe aus Glas, Keramik oder Teflon entlang der Messröhre sichergestellt. Die Homogenität des elektrischen Feldes ist zum einen vom Abstand der einzelnen Metallringe zueinander und zum anderen von dem Radius der Metallringe abhängig. Mittels Spannungsteiler werden an den einzelnen Metallringen Spannungen zwischen 1000 und 5000 Volt angelegt. Die Detektion sowohl von positiv als auch von negativ geladenen Ionen wird durch Umpolung der Hochspannung im Sekundenbereich realisiert (38).

Das Abschirmgitter und die Faraday-Platte

Am Ende der Driftröhre befindet sich das Abschirmgitter. Dieses dient der Abkopplung der dahinter liegenden Faraday-Platte von dem elektrischen Feld im Inneren der Driftröhre. Für den Nachweis scharfer Signale ist diese unumgänglich. Bei einem Fehlen des Abschirmgitters würden nicht nur die auf die Faraday-Platte auftreffenden Ionen detektiert werden, sondern ebenfalls die heranfliegenden Ionen. Dies hätte eine Peak-Verbreiterung zur Folge (38). Nach Passage des Abschirmgitters treffen die Ionen auf die Faraday-Platte (Abstand: 0,5 mm und 2 mm). Die auftreffenden Ionen werden hier detektiert und erzeugen

ein elektrisches Signal, dass mittel Strom- beziehungsweise Spannungswandler verstärkt und in ein Messsignal umgewandelt wird (37).

Der Auftrennungsprozess

Die im Ionisationsbereich gebildeten Produkt-Ionen werden durch Öffnen des elektrischen Schaltgitters (300 μ s) in die Driftregion entlassen. Der Ionenschwarm erfährt durch das dort herrschende elektrische Feld eine Beschleunigung in Richtung der Faraday-Platte. Der Drift in Richtung des Detektors erfolgt entgegen der Strömungsrichtung des Driftgases. Dies hat zur Folge, dass die Ionen auf dem Weg zur Faraday-Platte mit den ihnen entgegenkommenden Gasmolekülen kollidieren. Durch die Kollision der Moleküle wird Energie freigesetzt. In den kurzen Zeitintervallen zwischen den Kollisionen gewinnen die Ionen durch das umgebene elektrische Feld wieder an Energie. Diese Energie wird bei einem weiteren Zusammenstoß erneut abgegeben. In der Konsequenz stellt sich eine annähernd konstante Geschwindigkeit der Ionen an. Diese Geschwindigkeit, die auch als Driftgeschwindigkeit (v_D) bezeichnet wird, ist abhängig von der Masse und/oder der Struktur der Moleküle. Anhand des oben geschilderten Prinzips kann jedem Molekül eine individuelle Driftgeschwindigkeit zugeordnet werden. Dies ermöglicht zum einen eine Auftrennung und zum anderen eine Differenzierung der zu analysierenden Moleküle durch zeitlich versetztes Auftreffen auf die Faraday-Platte (36)(38). Anhand der gemessenen Driftgeschwindigkeit (v_D) kann unter Beachtung der Stärke des elektrischen Feldes sowie der Temperatur und des Drucks die Berechnung der reduzierten Ionenmobilität K_o erfolgen (16).

$$K_o = \frac{L_d * p * T_o}{E * t_D * p_o * T} \quad [23]$$

Gleichung 23: Berechnung der reduzierten Ionenmobilität K_o .

K_o : Reduzierte Ionenmobilität (cm^2/Vs), L_d : Länge der Driftröhre (cm), E : Elektrische Feld (V/cm), t_D : Zeit (s), p : Druck des Driftgases (hPa), p_o : Standarddruck ($p_o=1013.25$ hPa), T : Temperatur des Driftgases (K), T_o : Standardtemperatur ($T_o =273.2$ K) (16)

Beweglichkeit der Ionen unter den Einflussfaktoren der Temperatur, des Drucks und des elektrischen Feldes

Die mittlere Driftgeschwindigkeit (v_d) ergibt sich aus der Zeit (t_d), die zur Überwindung der Strecke (L_d) nach Einlass der Ionen in die Driftregion bis zum Auftreffen auf die Faraday-Platte benötigt wird. (37).

$$v_D = \frac{L_d}{t_d} \quad [24]$$

Ein weiterer Einfluss auf die mittlere Driftgeschwindigkeit (v_d) der Ionen nimmt das umgebende elektrische Feld E (Gleichung 25). Die Stärke des elektrischen Feldes ist wiederum von der angelegten Spannung (U_d) und der Länge der Driftröhre (L_d) (Gleichung 26) abhängig (37)(38).

$$v_d = \frac{E \cdot K}{1} \quad [25]$$

$$E = \frac{U_d}{L_d} \quad [26]$$

Durch Einsatz von Gleichung 24 in die Gleichung 25 und Auflösung nach der Ionenmobilität K ergibt sich folgende Formel:

$$K = \frac{L_d \cdot v_d}{U_d} \quad [27]$$

Die Ionenmobilität K beschreibt die Bewegung der Ionen entlang der Driftröhre unter Einfluss des elektrischen Feldes. Das Verhältnis der Driftgeschwindigkeit in Bezug auf das elektrische Feld wird als Ionenmobilität K bezeichnet (38). Weitere Einflussfaktoren auf die Ionenmobilität K sind neben dem elektrischen Feld auch die in der Driftröhre herrschende Temperatur (T) und der Druck (p). Um standardisierte Bedingungen zu erhalten, wurde die reduzierte Ionenmobilität K_o eingeführt. Hier wurden die Temperatur und der Druck in das Verhältnis zum Standarddruck ($p_o=1013.25$ hPa) und zur Standardtemperatur ($T_o= 273.2$ K) gesetzt (37)(38).

$$K_o = K \cdot \frac{p \cdot T_o}{p_o \cdot T} \quad [28]$$

Durch Einsatz der Gleichung 27 in die Gleichung 28 ergibt sich die oben genannte Formel 23 für die reduzierte Ionenmobilität K_o :

$$K_o = \frac{L_d \cdot v_d \cdot p \cdot T_o}{U_d \cdot p_o \cdot T} \quad [23]$$

Durch Umstellung der Gleichung 28 und Auflösung nach K ergibt sich folgende Gleichung:

$$K = K_o \cdot \frac{p_o \cdot T}{p \cdot T_o} \quad [29]$$

Aus der Gleichung 29 geht hervor, dass die Ionenmobilität K direkt proportional zur Temperatur und umgekehrt proportional zum Druck ist. In der Folgerung bedeutet dies,

dass durch einen Anstieg der Temperatur innerhalb der Driftröhre die Beweglichkeit der Ionen zunimmt, jedoch bei steigendem Druck sinkt (37).

3.7.7 Signalauswertung

Nach Gewinnung der Atemluftproben erfolgte die weitere Analyse unter Verwendung des Softwareprogramms VisualNow® (Version 3.7, B&S Analytik GmbH, Dortmund, Deutschland). Es erfolgte eine computerassistierte manuell-visuelle Identifizierung und eine weitere Charakterisierung der nachgewiesenen Signalspitzen (Peaks) anhand der Retentionszeit RT (s), der inversen reduzierten Ionenmobilität $1/K_0$ (Vs/cm^2) und der Intensität, entsprechend der Ausschlags-Höhe.

Aus den insgesamt 974 erfassten und auswertbaren Messungen, die über einen Zeitraum von 15 Monaten (März 2013 bis April 2014) gewonnen wurden, konnten 284 Peaks identifiziert werden. Ein Peak entspricht, wie oben bereits dargelegt, in der Regel einer flüchtigen organischen Verbindung (VOC). Die Zuordnung eines Peaks zu einer VOC erfolgt durch Abgleich der Ionenmobilität und Retentionszeit mit der IMS-MCC VOC-Datenbank (VisualNow64 3.7). Für die weitere Analyse und Interpretation der Daten wurden von den insgesamt 285 nur 181 Peaks berücksichtigt, da diese in mehreren Messungen nachweisbar waren. Die restlichen 104 Peaks zeigten sich jeweils nur in einer Messung und waren daher zur reproduzierbaren Diskriminierung ungeeignet und wurden von der weiteren Analyse ausgeschlossen.

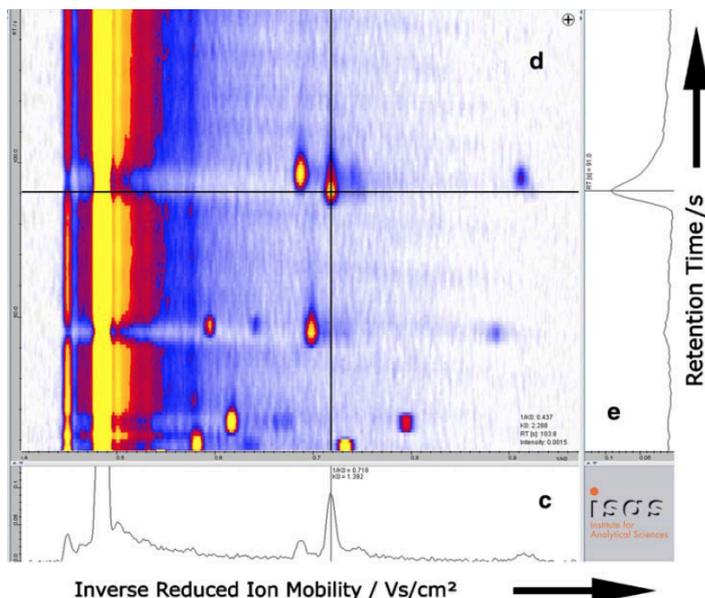


Abbildung 4: Exemplarische Darstellung eines zweidimensionalen IMS-Chromatogramms (39)

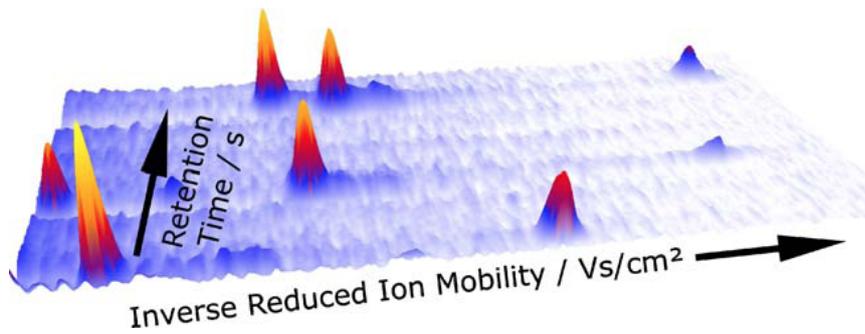


Abbildung 5: Exemplarische Darstellung eines 3-D-IMS-Chromatogramms (39)

3.8 Statistische Planung und Auswertung

Die weitergehende statistische Analyse erfolgte mittels des Peak Analyst Tools (VisualNow 3.7, B&S Analytik GmbH, Dortmund, Germany). Die Peak-Intensitäten der verschiedenen Gruppen wurden unter Zuhilfenahme des Mann-Whitney-U-Test verglichen. Um das Risiko zufälliger signifikanter Unterschiede durch wiederholtes Testen („multiple testing“) zu minimieren, wurde zusätzlich eine Bonferroni-Korrektur durchgeführt. Für alle 181 Peaks wurde bei Patienten mit Minimum einem Fieberereignis und einer Intervallmessung „gesund“ eine Zeitlinienuntersuchung durchgeführt.

Der erste Schritt der statistischen Auswertung stützte sich auf die Gegenüberstellung der Klassen „Neutropenie versus Gesunde“, „Inflammation versus Gesunde“ und „Fieber versus Gesunde“. In den Klassen erfolgte der Vergleich der Peak-Intensitäten der identifizierten VOCs. Ziel dieser Analyse war die Identifizierung von VOCs, die eine signifikante Trennung beider Gruppen ermöglichen, um daraus Hinweise und Rückschlüsse auf den klinischen Zustand der untersuchten Probanden ziehen zu können. Ein weiterer wesentlicher Punkt dieser Analyse war es, Hinweise auf flüchtige organische Verbindungen zu erhalten, die mit dem klinischen Verlauf der untersuchten Patienten korrelieren.

Im zweiten longitudinalen Schritt der Analyse wurde auf die Verlaufsmessungen der 21 Patienten, die im genannten Untersuchungszeitraum klinische und/oder laborchemische Hinweise einer Infektion zeigten, näher eingegangen. Die Analyse von Peak-Intensitäten über eine Zeitspanne nennt sich „Timeline Analyse“. Mit Hilfe dieser wurde der Verlauf der Peak-Intensitäten der 181 identifizierten VOCs von insgesamt 21 Patienten über den entsprechenden Untersuchungszeitraum im Verhältnis zu den klinischen Ereignissen aufgetragen. Unter Berücksichtigung der im ersten Schritt der Analyse gewonnenen Hinweise wurde versucht, eine Korrelation zwischen den Verläufen der Peak-Intensität und dem klinischen Verlauf herzustellen.

4. Ergebnisse

4.1 Die Atemluftprofile

Aus den 974 auswertbaren Messungen, die über den Zeitraum März 2013 bis April 2014 erfasst wurden, konnten in der computerassistierten manuell-visuellen Analyse 285 Peaks identifiziert werden. Von diesen fanden sich 104 Peaks in jeweils nur einer Messung. Da diese hierdurch nicht für eine statistische Untersuchung oder Beobachtung über die Zeit geeignet sind, fanden sie in der weiteren Analyse keine weitere Berücksichtigung. 181 Peaks konnten wiederholt in den Atemluftanalysen nachgewiesen werden. Die spezifischen Drift- und Retentionszeiten sind in der nachfolgenden Tabelle 4 dargestellt.

Peak	1/K0	RT									
P0	0,889	125,3	P49	0,834	1,5	P98	0,873	4,0	P147	0,632	12,2
P1	0,491	5,6	P50	0,842	1,5	P99	0,706	4,6	P148	0,852	21,4
P2	0,534	7,6	P51	0,924	2,0	P100	0,848	3,0	P149	0,841	20,4
P3	0,549	8,1	P52	0,752	10,6	P101	0,824	3,6	P150	0,641	16,3
P4	0,653	3,6	P53	0,775	7,6	P102	0,648	49,6	P151	0,811	10,7
P5	0,578	7,6	P54	0,779	1,5	P103	0,787	7,1	P152	0,799	10,7
P6	0,550	3,6	P55	0,656	32,5	P104	0,794	2,7	P153	0,600	239,3
P7	0,532	2,0	P56	0,746	409,3	P105	0,656	13,3	P154	0,908	74,6
P8	0,477	0,5	P57	0,596	256,5	P106	0,563	38,4	P155	0,779	76,1
P9	0,509	8,1	P58	0,925	106,8	P107	0,751	37,1	P156	0,643	24,6
P10	0,505	2,0	P59	0,906	85,4	P108	0,747	32,3	P157	0,720	75,6
P11	0,578	25,5	P60	0,607	124,6	P109	0,749	28,7	P158	0,748	127,9
P12	0,639	32,6	P61	0,607	106,8	P110	0,748	41,2	P159	0,584	15,4
P13	0,656	9,1	P62	0,606	97,6	P111	0,640	57,1	P160	0,620	13,5
P14	0,560	9,1	P63	0,610	89,5	P112	0,660	27,0	P161	0,519	5,7
P15	0,584	4,6	P64	0,659	84,9	P113	0,914	9,7	P162	0,530	40,5
P16	0,628	3,6	P65	0,664	93,6	P114	0,682	8,2	P163	0,611	12,0
P17	0,604	8,1	P66	0,609	311,7	P115	0,650	12,3	P164	0,515	24,6
P18	0,726	64,3	P67	0,738	107,3	P116	0,719	32,6	P165	1,146	105,9
P19	0,694	37,2	P68	0,721	85,4	P117	0,643	20,9	P166	0,794	106,4
P20	0,692	27,1	P69	0,781	84,4	P118	0,620	21,8	P167	0,581	1,5
P21	0,693	4,1	P70	0,837	84,9	P119	0,534	11,7	P168	0,745	274,5
P22	0,736	3,6	P71	0,753	107,3	P120	0,598	40,3	P169	0,747	53,9
P23	0,762	4,6	P72	0,658	106,3	P121	0,814	31,5	P170	0,748	47,9
P24	0,779	3,6	P73	0,570	24,4	P122	0,838	31,5	P171	0,742	61,1
P25	0,800	3,6	P74	0,619	7,6	P123	0,804	20,9	P172	0,843	9,1
P26	0,900	4,1	P75	0,740	9,1	P124	0,599	15,3	P173	0,649	19,4
P27	0,713	3,0	P76	0,671	7,6	P125	0,633	24,9	P174	0,612	77,1
P28	0,583	44,4	P77	0,762	151,7	P126	0,678	31,5	P175	0,855	46,6
P29	0,674	4,6	P78	0,598	61,1	P127	0,719	3,0	P176	0,639	7,2
P30	0,611	8,1	P79	0,626	61,1	P128	0,717	11,3	P177	0,939	164,9
P31	0,630	8,1	P80	0,600	50,4	P129	0,549	18,8	P178	0,591	3,1
P32	0,728	9,2	P81	0,621	2,0	P130	0,673	540,0	P179	0,606	284,0
P33	0,766	12,3	P82	0,718	7,7	P131	0,827	30,6	P180	0,558	48,0
P34	0,700	9,2	P83	0,698	27,7	P132	0,953	63,2	P181	0,734	43,3
P35	0,601	21,9	P84	0,701	5,6	P133	0,498	0,5	P182	0,543	27,9
P36	0,563	18,9	P85	0,574	144,8	P134	0,685	2,5	P183	0,616	12,8
P37	0,928	124,5	P86	0,931	3,1	P135	0,491	9,9	P184	0,560	21,4
P38	0,595	7,6	P87	0,861	3,6	P136	0,594	26,6	P185	0,746	154,4
P39	0,575	2,0	P88	0,656	24,0	P137	0,738	87,0	P186	0,986	124,0
P40	0,954	4,1	P89	0,737	63,4	P138	0,609	2,0	P187	0,605	11,2
P41	0,601	2,0	P90	0,816	4,1	P139	0,773	2,0	P188	0,628	1,6
P42	0,784	3,6	P91	0,672	19,9	P140	0,848	32,7	P189	0,832	12,2
P43	0,736	2,0	P92	0,640	252,7	P141	0,762	32,7	P190	0,819	48,0
P44	0,673	2,5	P93	0,750	326,3	P142	0,737	6,1	P191	0,782	20,3
P45	0,580	19,1	P94	0,655	17,8	P143	0,598	25,0	P192	0,632	16,2
P46	0,599	32,5	P95	0,660	75,7	P144	0,564	12,7	P193	0,588	118,0
P47	0,692	8,6	P96	0,969	4,7	P145	0,888	6,1	P194	0,666	8,1
P48	0,617	1,5	P97	0,782	8,2	P146	0,745	111,4	P195	0,671	58,3

Peak	1/KO	RT	Peak	1/KO	RT	Peak	1/KO	RT
P196	0,508	13,4	P226	0,591	75,8	P256	0,745	72,0
P197	0,511	6,2	P227	0,631	208,4	P257	0,671	32,3
P198	0,578	42,3	P228	0,631	203,3	P258	0,606	26,5
P199	0,756	3,1	P229	0,634	179,5	P259	0,619	26,5
P200	0,710	7,6	P230	0,934	83,2	P260	0,697	15,3
P201	0,746	95,0	P231	0,679	82,2	P261	0,676	16,8
P202	0,685	32,1	P232	0,887	37,4	P262	0,705	11,4
P203	0,607	111,6	P233	1,051	6,3	P263	0,838	12,5
P204	0,607	104,4	P234	0,660	77,9	P264	0,736	27,1
P205	0,647	187,6	P235	0,613	47,9	P265	0,700	36,2
P206	0,911	93,5	P236	0,747	8,8	P266	0,646	32,7
P207	0,661	124,8	P237	0,745	244,1	P267	0,904	3,0
P208	0,658	112,1	P238	0,744	45,9	P268	0,616	20,6
P209	0,598	45,1	P239	0,721	62,3	P269	0,747	178,3
P210	0,865	13,3	P240	0,635	61,8	P270	0,640	123,8
P211	0,909	3,9	P241	0,606	51,7	P271	0,597	123,8
P212	0,863	7,2	P242	0,842	107,1	P272	0,598	106,0
P213	0,727	70,3	P243	0,723	93,2	P273	0,597	79,5
P214	0,748	213,6	P244	0,780	95,2	P274	0,858	61,6
P215	0,888	73,9	P245	0,851	84,6	P275	0,597	96,7
P216	0,888	69,4	P246	0,736	48,0	P276	0,831	62,1
P217	0,767	9,0	P247	0,827	5,1	P277	0,639	11,8
P218	0,600	20,7	P248	0,844	4,4	P278	0,640	83,7
P219	0,889	2,0	P249	0,939	9,4	P279	0,744	3,6
P220	0,730	2,8	P250	0,580	49,0	P280	0,704	62,6
P221	0,863	256,2	P251	0,755	64,2	P281	0,620	49,9
P222	0,924	102,2	P252	0,700	19,3	P282	0,856	11,7
P223	0,607	101,5	P253	0,731	62,7	P283	0,578	32,7
P224	0,641	35,3	P254	0,743	78,7	P284	0,605	22,3
P225	0,640	30,0	P255	0,740	75,6			

Tabelle 6: Übersicht über die 285 identifizierten Peaks (VOCs): VOCs: volatile organic compounds, 1/Ko: Inverse reduzierte Ionenmobilität, RT: Retentionszeit

4.2 Neutropenie

4.2.1 Gegenüberstellung der Atemluftanalyse von neutropenen Patienten und gesunden Kontrollen

Im Folgenden wurde die Gruppen „Neutropenie“ der Klasse „Gesunde“ gegenübergestellt.

In die Gruppe „Neutropenie“ wurden Messungen von Patienten eingeschlossen, die zum Zeitpunkt der Messdurchführung ≤ 500 neutrophile Granulozyten/ μl beziehungsweise bei fehlendem Differentialblutbild eine Leukozytenzahl ≤ 1000 Leukozyten/ μl aufwiesen und keine Inflammationszeichen zeigten.

Die Gruppe der „Gesunden“ entspricht der Gesamtgruppe der Kontrollen (Vergleiche hierzu Abschnitt 3.2.4). In die Gruppe „Neutropenie“ wurden von insgesamt 33 Patienten 269 Messungen eingeschlossen ($n=296$, $\bar{x}=8,97$ Messungen pro Patient, Range 1-19 Messungen). In der Klasse der „Gesunden“ waren es 141 Messungen ($n=141$, $\bar{x}=1,15$ Messungen pro Patient, Range 1-4 Messungen) von 114 Kontrollen. Die Gesamtanzahl der eingeschlossenen Messungen belief sich somit auf 410 Messungen.

Mathematische Auswertung

In der mathematischen Auswertung unter Verwendung von Peak Analyst VisualNow® (Version 3.7) konnten in der Gegenüberstellung der oben genannten Gruppen insgesamt 149 Peaks identifiziert werden, die nach Bonferroni-Korrektur eine signifikante Trennung

4. Ergebnisse

beider Gruppen ermöglichten. Acht Peaks erzielten eine Signifikanz von $p < 0.05$, 13 Peaks $p < 0.01$ und 128 Peaks $p < 0.001$. Die weitere Analyse stützte sich auf die Betrachtung der richtig klassifizierten Messungen. Hierbei konnten 23 Peaks identifiziert werden, die in der Lage waren ≥ 285 Messungen und bis zu 297 Messungen (72,4%) der richtigen Gruppe zuzuordnen. In der folgenden Tabelle 5 sind diese 23 Peaks zusammengefasst.

	P2	P6	P7	P15	P17	P22	P30	P39	P41	P48	P62
best direction	C1 < C2										
best threshold	0,061	0,050	0,029	0,017	0,010	0,004	0,010	0,014	0,006	0,008	0,001
classified right	293	291	297	285	285	287	285	296	290	288	286
classified wrong	117	119	113	125	125	123	125	114	120	122	124
true positive	44	53	63	65	37	36	40	64	47	50	50
false positive	20	31	35	49	21	18	24	37	26	31	33
true negative	249	238	234	220	248	251	245	232	243	238	236
false negative	97	88	78	76	104	105	101	77	94	91	91
sensitivity	0,312	0,376	0,447	0,461	0,262	0,255	0,284	0,454	0,333	0,355	0,355
spezifity	0,926	0,885	0,870	0,818	0,922	0,933	0,911	0,862	0,903	0,885	0,877
ppv	0,688	0,631	0,643	0,570	0,638	0,667	0,625	0,634	0,644	0,617	0,602
npv	0,720	0,730	0,750	0,743	0,705	0,705	0,708	0,751	0,721	0,723	0,722
a = sen - (1- spez)	0,238	0,261	0,317	0,279	0,184	0,188	0,194	0,316	0,237	0,239	0,232
accuracy	0,715	0,710	0,724	0,695	0,695	0,700	0,695	0,722	0,707	0,702	0,698
Mann-Whitney U	12374	11855	11876	11742	12182	11965	12522	10738	10407	10292	9445
z value from U	5,782	6,238	6,219	6,337	5,951	6,141	5,652	7,218	7,508	7,609	8,352
significance level U	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
siglvl (Bonferroni corr.)	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

	P77	P78	P81	P95	P119	P137	P138	P164	P175	P196	P272	P275
best direction	C1 < C2	C1 > C2	C1 < C2	C1 > C2	C1 < C2	C1 < C2						
best threshold	0,002	0,002	0,009	0,001	0,045	0,001	0,007	0,008	0,001	0,030	0,001	0,001
classified right	291	286	285	286	293	291	288	301	287	287	287	290
classified wrong	119	124	125	124	117	119	122	109	123	123	123	120
true positive	78	27	34	61	53	72	68	77	35	59	42	60
false positive	56	10	18	44	29	50	49	45	17	41	24	39
true negative	213	259	251	225	240	219	220	224	252	228	245	230
false negative	63	114	107	80	88	69	73	64	106	82	99	81
sensitivity	0,553	0,191	0,241	0,433	0,376	0,511	0,482	0,546	0,248	0,418	0,298	0,426
spezifity	0,792	0,963	0,933	0,836	0,892	0,814	0,818	0,833	0,937	0,848	0,911	0,855
ppv	0,582	0,730	0,654	0,581	0,646	0,590	0,581	0,631	0,673	0,590	0,636	0,606
npv	0,772	0,694	0,701	0,738	0,732	0,760	0,751	0,778	0,704	0,735	0,712	0,740
a = sen - (1- spez) accuracy	0,345	0,154	0,174	0,269	0,268	0,325	0,300	0,379	0,185	0,266	0,209	0,281
Mann-Whitney U	9138	10067	11502	9880	12578	9854	9612	10836	9747	12183	10761	9892
z value from U	8,622	7,806	6,547	7,970	5,603	7,993	8,206	7,132	8,087	5,950	7,198	7,960
significance level U	< 0,001											
siglvl (Bonferroni corr.)	< 0,001											

Tabelle 7: Darstellung der 23 Peaks, die eine Trennung von ≥ 285 Messungen ermöglichen, C1: Gesunde Kontrollen (n=141) C2: Neutropenie (n=269)

Zusätzlich zur mathematischen Auswertung wurde für die Identifizierung relevanter Peaks die grafische Darstellung mittels Box- und Whisker-Plot sowie die Timeline-Analyse herangezogen.

Box- und Whisker-Plot und Timeline-Analyse

In der Timeline-Analyse erfolgte die grafische Darstellung des Peak-Verlaufs über den Untersuchungszeitraum. Die Timeline-Analyse diente der weiteren Beurteilung der Trennfähigkeit beider Klassen durch die identifizierten 23 signifikanten Peaks.

13 der 23 Peaks (Peak 2, Peak 6, Peak 7, Peak 15, Peak 17, Peak 22, Peak 30, Peak 39, Peak 41, Peak 48, Peak 81, Peak 119 sowie Peak 138) zeigten sowohl in der Timeline-Analyse als auch in der Darstellung mittels Box- und Whisker-Plot eine gute Trennfähigkeit beider Gruppen. Für Peak 6 und Peak 48 ist dies im Folgenden exemplarisch dargestellt.

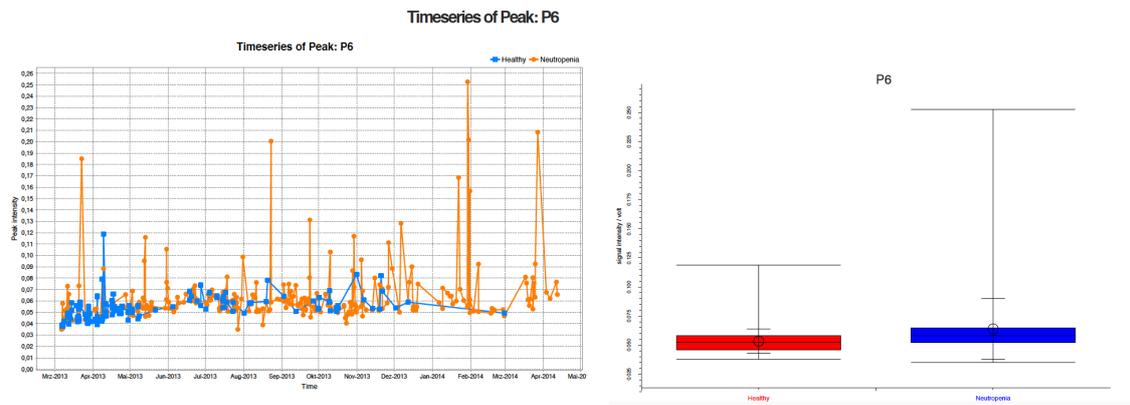


Abbildung 6: Timeline (x-Achse: Zeit, y-Achse: Peak-Intensität) und Box-Plot (x-Achse: Neutropenie, Gesunde y-Achse: Signalstärke/Volt) von Peak 6

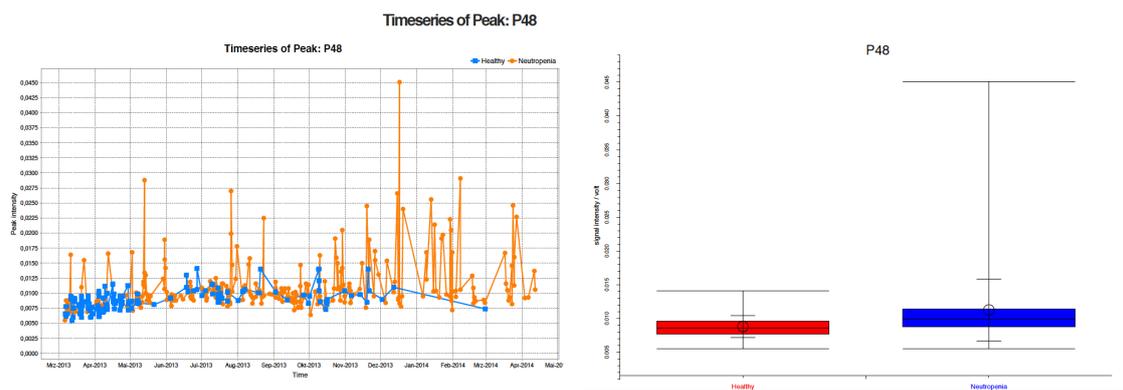


Abbildung 7: Timeline (x-Achse: Zeit, y-Achse: Peak-Intensität) und Box-Plot (x-Achse: Neutropenie, Gesunde y-Achse: Signalstärke/Volt) von Peak 48

Aus der grafischen Darstellung von Peak 6 und Peak 48 wird ersichtlich, dass die Gruppe „Neutropenie“ eine höhere Signalintensität im Vergleich zur Gruppe „Gesunde“ aufweist. Für Peak 6 ergab die mathematische Auswertung einen positiv prädiktiven Wert (PPV) von 68,8 % sowie einen negativ prädiktiven Wert von 72 %, für Peak 48 lag der PPV bei 61,7 % und der NPV bei 72,3%. Die graphische Analyse von der verbleibenden 10 Peaks (Peak 62, Peak 77, Peak 78, Peak 95, Peak 137, Peak 164, Peak 175, Peak 196, Peak 272 und Peak 275) lies hingehen keine klare Trennung der Gruppen „Neutropenie“ und „Gesunde“ erkennen, was exemplarisch anhand von Peak 137 angeführt wird.

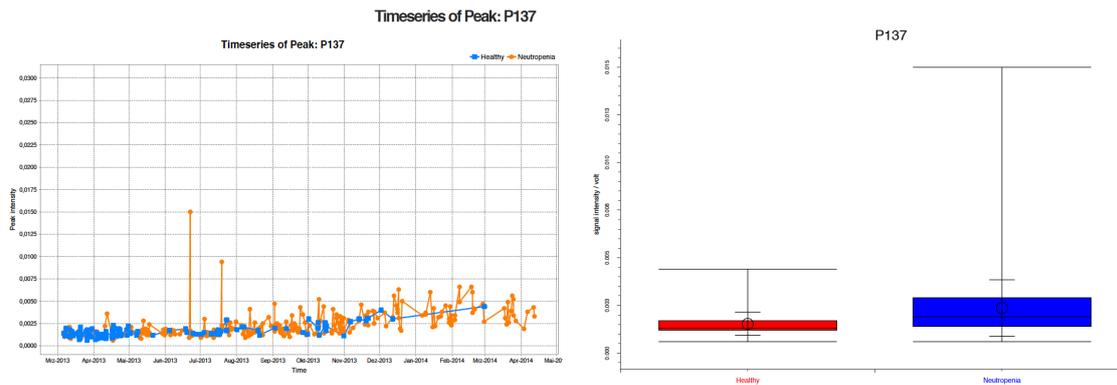


Abbildung 8: Timeline (x-Achse: Zeit, y-Achse: Peak-Intensität) und Box-Plot (x-Achse: Neutropenie, Gesunde y-Achse: Signalstärke/Volt) von Peak 137

Besonders hervorzuheben ist zudem der Kurvenverlauf von Peak 164 und Peak 196. Für Peak 164, der in der mathematischen Auswertung 301 Messungen richtig klassifizierte und somit die beste Trennfähigkeit beider Klassen aufwies, konnte in der Timeline-Analyse keine gute Trennfähigkeit beider Gruppen festgestellt werden. Zu Beginn des Untersuchungszeitraums zeigten sich deutlich höhere Peak-Intensitäten in der Gruppe der „Gesunden“, während zum Ende hin die Peak-Intensität in der Gruppe „Neutropenie“ deutlich zunahm. Dies spiegelt sich auch in der graphischen Darstellung mittels Box- und Whisker-Plot wider. In der Gruppe der „Gesunden“ lag die Peak-Intensität im Mittel deutlich über der Intensität der Gruppe „Neutropenie“.

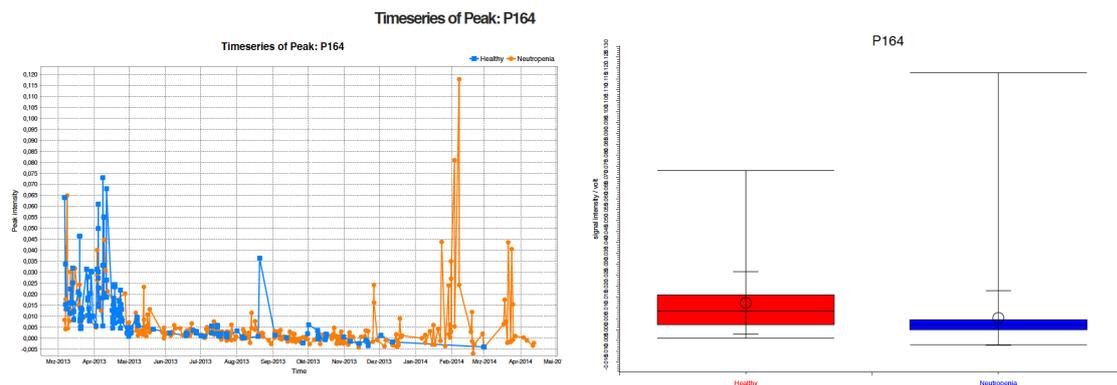


Abbildung 9: Timeline (x-Achse: Zeit, y-Achse: Peak-Intensität) und Box-Plot (x-Achse: Neutropenie, Gesunde y-Achse: Signalstärke/Volt) von Peak 164

Ähnliches konnte auch für Peak 196 nachweisen werden. Hier zeigte sich, wie bei Peak 164, ein Shift der Peak-Intensität und saisonale Intensitätsunterschiede mit deutlichen Maxima in den Monaten Februar bis April. Beide Peaks waren durch diesen Shift auch die einzigen, die ein abnehmendes Signal (Peak-Intensität „Neutropenie“ < „Gesunde“) im Fall einer Neutropenie suggerierten.

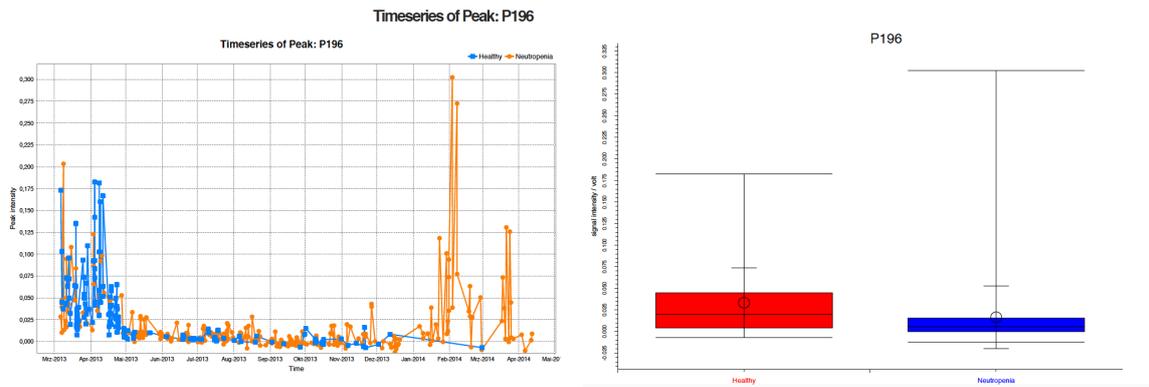


Abbildung 10: Timeline (x-Achse: Zeit, y-Achse: Peak-Intensität) und Box-Plot (x-Achse: Neutropenie, Gesunde y-Achse: Signalstärke/Volt) von Peak 196

Ein weiterer Punkt, der ebenfalls bei der Analyse berücksichtigt werden muss, ist die Tatsache, dass keine gleichmäßige Verteilung der Messungen über den Untersuchungszeitraum vorliegt. Sehr viele Messungen aus der Gruppe der „Gesunden“ wurden zu Beginn des Untersuchungszeitraums durchgeführt. Ab Dezember 2013 überwiegen die Messungen in der Gruppe „Neutropenie“. Dieser Sampling-Bias muss in der Analyse der Daten berücksichtigt werden und wurde bei allen Peaks überprüft. Bei allen weiteren signifikanten Peaks zeigten sich diesbezüglich keine Auffälligkeiten.

4.3 Inflammation

4.3.1 Gegenüberstellung der Atemluftanalyse von Patienten mit Inflammation und gesunden Kontrollen

In der Analyse „Inflammation“ wurden die beiden Gruppen „Inflammation“ und „Gesunde“ einander gegenübergestellt. In die Gruppe „Inflammation“ wurden 177 Messungen ($n=177$) von 33 Patienten eingeschlossen, die im Untersuchungszeitraum von März 2013 bis April 2014 eine neuauftretende Inflammationssymptomatik zeigten. Als Inflammation wurde gewertet: Fieber, B-Symptomatik, Stomatitis, Pharyngitis, Pneumonie, Gastroenteritis sowie Radiatio. Eingeschlossen wurden alle Messungen 48h vor Auftreten bis 48h nach Auftreten der Symptomatik. Des Weiteren wurden alle Messungen 48h vor einem CRP-Anstieg auf ≥ 5 mg/l bis 24h nach dem ersten und anhaltenden CRP-Abfall berücksichtigt. Beim Einschluss der Messungen in die Gruppe „Inflammation“ fand die Anzahl der Leukozyten beziehungsweise der neutrophilen Granulozyten keine Berücksichtigung.

In die Gruppe der „Gesunden“ wurden wie bei der vorherigen Analyse 141 Messungen ($n=141$) von 114 gesunden Kontrollen eingeschlossen. Der Gesamtumfang der Messungen in der Analyse „Inflammation“ belief sich auf 318 Messungen.

Mathematische Auswertung

In der mathematischen Auswertung konnten 18 Peaks identifiziert werden, die ≥ 210 Messungen der insgesamt 318 Messungen in die richtige Gruppe einordneten und eine nach Bonferroni für multiples Testen korrigiertes Signifikanzniveau von $p < 0,001$ aufwiesen.

	P6	P7	P9	P15	P39	P41	P62	P77	P79
best direction	C1 < C2	C1 < C2	C1 > C2	C1 < C2	C1 < C2	C1 < C2	C1 < C2	C1 < C2	C1 < C2
best threshold	0,050	0,032	0,027	0,017	0,014	0,006	0,001	0,002	0,003
classified right	212	213	210	211	217	212	211	218	210
classified wrong	106	105	108	107	101	106	107	100	108
true positive	55	71	73	65	60	54	50	78	119
false positive	20	35	40	31	20	19	16	37	86
true negative	157	142	137	146	157	158	161	140	91
false negative	86	70	68	76	81	87	91	63	22
sensitivity	0,390	0,504	0,518	0,461	0,426	0,383	0,355	0,553	0,844
spezifity	0,887	0,802	0,774	0,825	0,887	0,893	0,910	0,791	0,514
ppv	0,733	0,670	0,646	0,677	0,750	0,740	0,758	0,678	0,580
npv	0,646	0,670	0,668	0,658	0,660	0,645	0,639	0,690	0,805
a = sen - (1-spez)	0,277	0,306	0,292	0,286	0,313	0,276	0,264	0,344	0,358
accuracy	0,667	0,670	0,660	0,664	0,682	0,667	0,664	0,686	0,660
Mann-Whitney U	7279	8747	7863	7996	7231	7107	6455	6089	7406
z value from U	6,384	4,581	5,667	5,503	6,442	6,595	7,395	7,845	6,228
significance level U	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
siglvl (Bonferroni corr.)	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

	P106	P122	P138	P164	P178	P196	P240	P272	P275
best direction	C1 < C2	C1 < C2	C1 < C2	C1 > C2	C1 < C2	C1 > C2	C1 < C2	C1 < C2	C1 < C2
best threshold	0,003	0,001	0,007	0,008	0,016	0,014	0,002	0,002	0,001
classified right	212	210	221	228	221	215	212	211	212
classified wrong	106	108	97	90	97	103	106	107	106
true positive	64	72	100	77	100	84	97	97	60
false positive	29	39	56	26	56	46	62	63	25
true negative	148	138	121	151	121	131	115	114	152
false negative	77	69	41	64	41	57	44	44	81
sensitivity	0,454	0,511	0,709	0,546	0,709	0,596	0,688	0,688	0,426
spezifity	0,836	0,780	0,684	0,853	0,684	0,740	0,650	0,644	0,859
ppv	0,688	0,649	0,641	0,748	0,641	0,646	0,610	0,606	0,706
npv	0,658	0,667	0,747	0,702	0,747	0,697	0,723	0,722	0,652
a = sen - (1-spez)	0,290	0,290	0,393	0,399	0,393	0,336	0,338	0,332	0,284
accuracy	0,667	0,660	0,695	0,717	0,695	0,676	0,667	0,664	0,667
Mann-Whitney U	6852	7641	6467	6904	6994	7968	7000	7192	6647
z value from U	6,908	5,939	7,380	6,844	6,733	5,538	6,726	6,490	7,159
significance level U	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
siglvl (Bonferroni corr.)	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

Tabelle 8: Darstellung der 18 VOCs, die eine korrekte Klassifizierung von ≥ 210 Messungen ermöglichen C1: Gesunde Kontrollen (n=141) C2: Inflammation (n=177)

Box- und Whisker-Plot und Timeline-Analyse

In Zusammenschau der in der mathematischen Auswertung nachgewiesenen signifikanten Peaks sowie unter Berücksichtigung der grafischen Analyse mittels Timeline und Box- und Whisker-Plot konnten insgesamt acht Peaks identifiziert werden, die eine hinreichende Trennung der Gruppe „Inflammation“ und der Gruppe „Gesunde“ ermöglichten. Folgende Peaks zeigten sowohl in der mathematischen Auswertung als auch in der grafischen Darstellung eine gute Trennung beider Gruppen: Peak 6, Peak 7, Peak 15, Peak 39, Peak 41, Peak 79, Peak 138 und Peak 178. Die Timeline-Darstellungen sowie die Darstellungen mittels Box-Whisker-Plot werden für Peak 6, Peak 15 und Peak 138 exemplarisch angeführt.

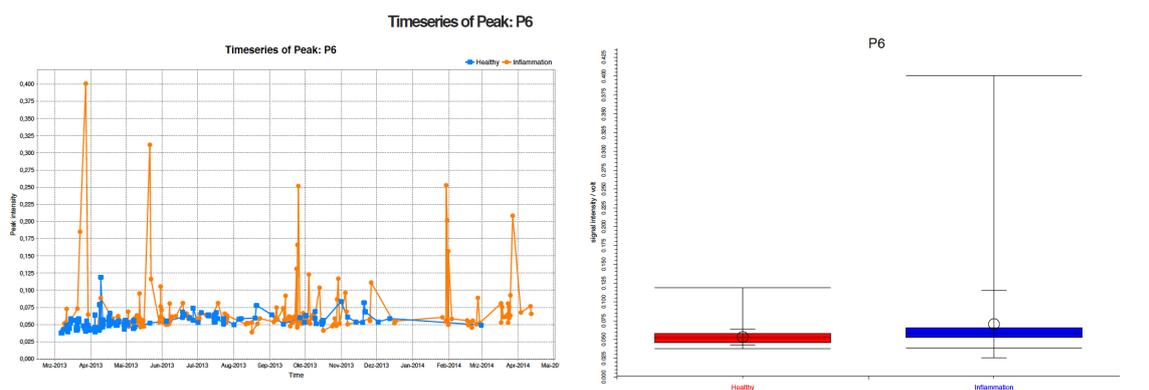


Abbildung 11: Timeline (x-Achse: Zeit, y-Achse: Peak-Intensität) und Box-Plot (x-Achse: Inflammation, Gesunde y-Achse: Signalstärke/Volt) von Peak 6

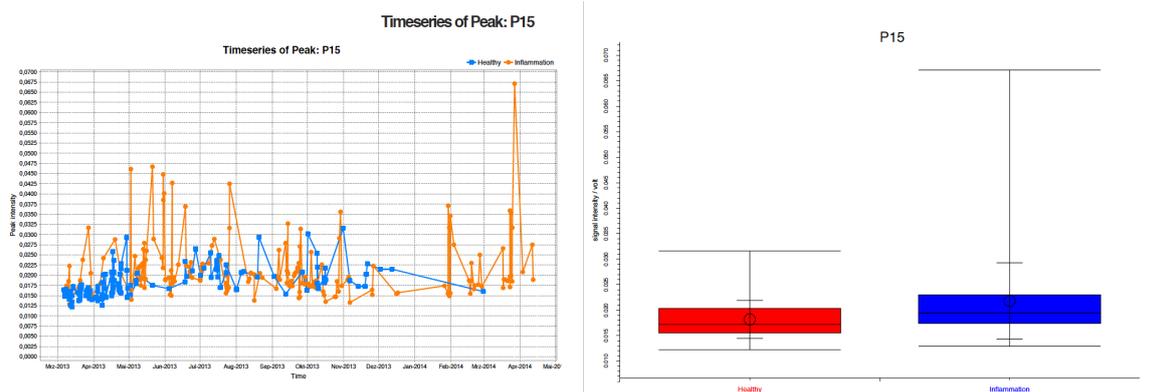


Abbildung 12: Timeline (x-Achse: Zeit, y-Achse: Peak-Intensität) und Box-Plot (x-Achse: Inflammation, Gesunde y-Achse: Signalstärke/Volt) von Peak 15

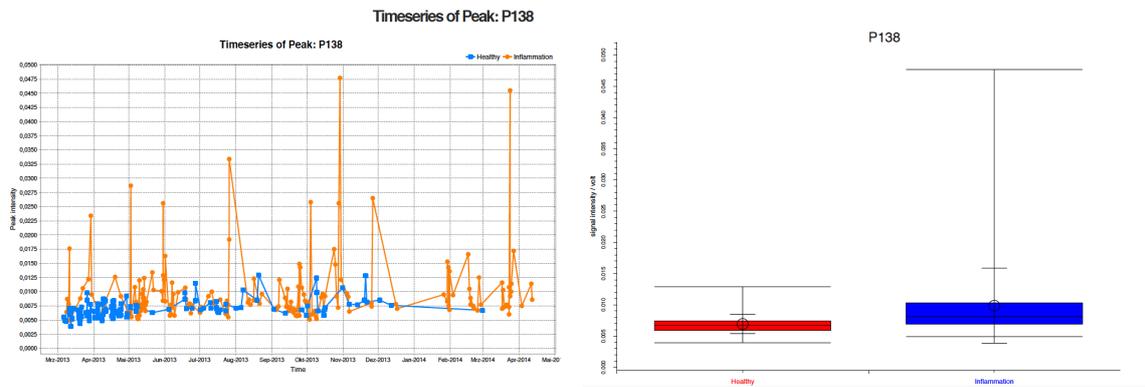


Abbildung 13: Timeline (x-Achse: Zeit, y-Achse: Peak-Intensität) und Box-Plot (x-Achse: Inflammation, Gesunde y-Achse: Signalstärke/Volt) von Peak 138

Für die genannten acht Peaks zeigte sich sowohl in der Timeline-Analyse als auch in der grafischen Darstellung im Box-Whisker-Plot eine im Mittel höhere Peak-Intensität in der Gruppe „Inflammation“ im Vergleich zur Gruppe „Gesunde“. Die weiteren zehn Peaks (P9, P62, P77, P106, P122, P164, P196, P240, P272, P275), die in der mathematischen Auswertung angeführten wurden, konnten in der grafischen Analyse keine eindeutige Trennung beider Gruppen gezeigt werden und werden für die weitere Analyse nicht berücksichtigt. Peak 164 und Peak 196 verhielt sich auch in der Analyse „Inflammation“ ähnlich wie in der oben angeführten Analyse „Neutropenie“ (siehe Kapitel 4.2). Sie zeigen einen deutlichen Shift über den Untersuchungszeitraum und die Peak-Intensität lag in der Gruppe „Gesunde“ oberhalb der Peak-Intensität in der Gruppe „Inflammation“.

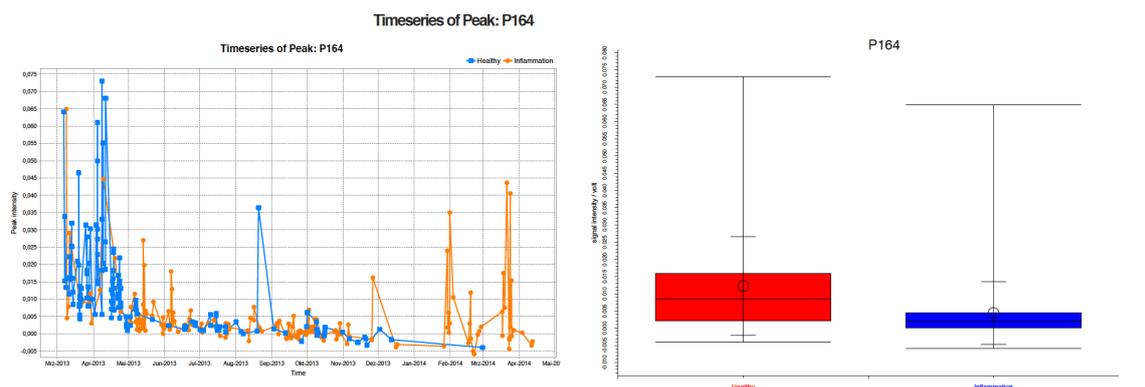


Abbildung 14: Timeline (x-Achse: Zeit, y-Achse: Peak-Intensität) und Box-Plot (x-Achse: Inflammation, Gesunde y-Achse: Signalstärke/Volt) von Peak 164

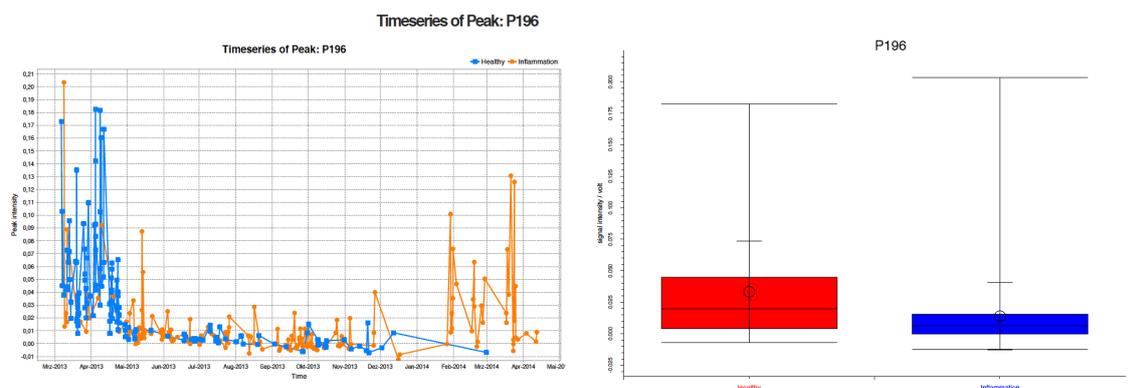


Abbildung 15: Timeline (x-Achse: Zeit, y-Achse: Peak-Intensität) und Box-Plot (x-Achse: Inflammation, Gesunde y-Achse: Signalstärke/Volt) von Peak 196

4.4 Fieber

In der Analyse „Fieber“ wurde die Inflammationssymptomatik noch weiter präzisiert. Hier wurde im Speziellen das Auftreten von Fieber (Körperkerntemperatur $\geq 38,5$ °C) zum Untersuchungszeitpunkt als Zeichen einer Inflammation näher betrachtet.

4.4.1 Fieber innerhalb der letzten zwölf Stunden versus Gesunde

In die Gruppe „Fieber < 12h“ wurden alle Messungen der Patienten eingeschlossen, bei denen innerhalb der vergangenen 12h ein Anstieg der Körpertemperatur $\geq 38,5$ °C zu verzeichnen war. Insgesamt belief sich die Anzahl der Fieberereignisse auf 29 Messungen (n=29) von insgesamt 15 Patienten. Einschluss in die Gruppe der „Gesunden“ fanden 141 Messungen (n=141) von 114 gesunden Kontrollen. Der Gesamtumfang der Analyse belief sich somit auf 170 Messungen.

Mathematische Auswertung

21 Peaks waren in der Lage ≥ 145 Messungen und bis zu 150 Messungen (88,2%) der korrekten Gruppe zuzuordnen und wiesen zudem eine nach Bonferroni korrigierte Signifikanz auf. Für Peak 6, Peak 138 sowie Peak 178 konnte ein Signifikanzniveau von $p < 0,001$ nachgewiesen werden.

	P6	P15	P16	P39	P41	P48	P62	P70	P77	P81
best direction	C1 > C2	C1 > C2								
best threshold	0,087	0,032	0,016	0,023	0,010	0,014	0,003	0,003	0,004	0,016
classified right	148	148	149	148	148	150	146	145	148	149
classified wrong	22	22	21	22	22	20	24	25	22	21
true positive	8	7	8	10	11	9	10	10	11	8
false positive	1	0	0	3	4	0	5	6	4	0
true negative	140	141	141	138	137	141	136	135	137	141
false negative	21	22	21	19	18	20	19	19	18	21
sensitivity	0,276	0,241	0,276	0,345	0,379	0,310	0,345	0,345	0,379	0,276
spezifity	0,993	1,000	1,000	0,979	0,972	1,000	0,965	0,957	0,972	1,000
ppv	0,889	1,000	1,000	0,769	0,733	1,000	0,667	0,625	0,733	1,000

4. Ergebnisse

npv	0,870	0,865	0,870	0,879	0,884	0,876	0,877	0,877	0,884	0,870
a = sen - (1-spez)	0,269	0,241	0,276	0,324	0,351	0,310	0,309	0,302	0,351	0,276
accuracy	0,871	0,871	0,876	0,871	0,871	0,882	0,859	0,853	0,871	0,876
Mann-Whitney U	780	984	1006	1027	1038	1030	998	1083	992	1002
z value from U	5,238	4,393	4,302	4,215	4,170	4,203	4,335	3,983	4,360	4,319
significance level U	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
siglvl (Bonferroni corr.)	< 0.001	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.05	< 0.01	< 0.01

	P85	P121	P130	P138	P178	P188	P193	P230	P271	P273	P275
best direction	C1 > C2										
best threshold	0,005	0,002	0,004	0,011	0,020	0,016	0,003	0,002	0,003	0,003	0,003
classified right	147	146	149	150	146	149	146	147	145	147	147
classified wrong	23	24	21	20	24	21	24	23	25	23	23
true positive	9	12	13	13	15	8	12	12	6	13	8
false positive	3	7	5	4	10	0	7	6	2	7	2
true negative	138	134	136	137	131	141	134	135	139	134	139
false negative	20	17	16	16	14	21	17	17	23	16	21
sensitivity	0,310	0,414	0,448	0,448	0,517	0,276	0,414	0,414	0,207	0,448	0,276
spezifity	0,979	0,950	0,965	0,972	0,929	1,000	0,950	0,957	0,986	0,950	0,986
ppv	0,750	0,632	0,722	0,765	0,600	1,000	0,632	0,667	0,750	0,650	0,800
npv	0,873	0,887	0,895	0,895	0,903	0,870	0,887	0,888	0,858	0,893	0,869
a = sen - (1-spez)	0,289	0,364	0,413	0,420	0,446	0,276	0,364	0,371	0,193	0,399	0,262
accuracy	0,865	0,859	0,876	0,882	0,859	0,876	0,859	0,865	0,853	0,865	0,865
Mann-Whitney U	1137	1165	977	946	819	1118	1038	1104	1047	1092	1037
z value from U	3,760	3,644	4,422	4,551	5,077	3,838	4,170	3,896	4,132	3,946	4,174
significance level U	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
siglvl (Bonferroni corr.)	< 0.05	< 0.05	< 0.01	< 0.001	< 0.001	< 0.05	< 0.01	< 0.05	< 0.01	< 0.05	< 0.01

Tabelle 9: Darstellung der 21 Peaks, die eine korrekte Klassifizierung von ≥ 145 Messungen ermöglichen, C1: Fieber $\leq 12h$ (n=29) C2: Gesunde (n=141)

Box- und Whisker-Plot und Timeline-Analyse

Durch weitere Untersuchung der identifizierten 21 Peaks in der Timeline-Analyse konnte die Anzahl der relevanten Peaks auf 11 Peaks reduziert werden. Folgende Peaks finden in der weiteren Analyse keine weitere Berücksichtigung mehr: Peak 62, Peak 70, Peak 77, Peak 121, Peak 130, Peak 193, Peak 230, Peak 271, Peak 273 und Peak 275. Die Gründe hierfür werden anhand von Peak 130 verdeutlicht. Zeigte Peak 130 in der mathematischen Auswertung noch eine korrekte Zuordnung von insgesamt 149 Messungen und eine Signifikanzniveau von $p < 0.01$ so konnte in der grafischen Darstellung kein wesentlicher Unterschied der Peak-Intensitäten und somit keine Trennung beider Gruppen festgestellt werden.

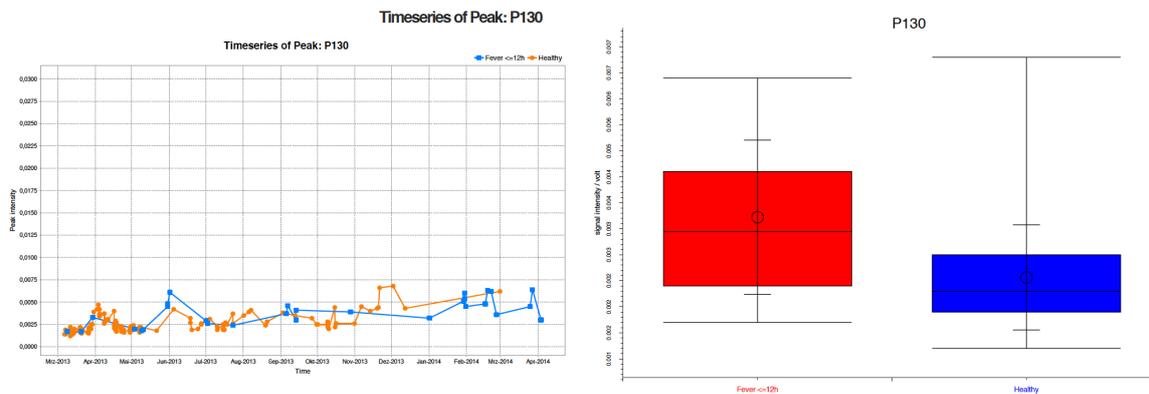


Abbildung 16: Timeline (x-Achse: Zeit, y-Achse: Peak-Intensität) und Box-Plot (x-Achse: Fieber $\leq 12h$, Gesunde y-Achse: Signalstärke/Volt) von Peak 130

Für die verbleibenden 11 der 21 Peaks konnten in der Timeline-Analyse ebenfalls keine eindeutige Trennung beider Klassen nachgewiesen werden. Jedoch zeigte sich im Mittel eine höhere Peak-Intensität in der Gruppe der Patienten mit „Fieber $< 12h$ “. Dies konnte in der Darstellung mittels Box- und Whisker-Plot bestätigt werden. Im Folgenden wird dies anhand von Peak 138 grafisch ausgeführt.

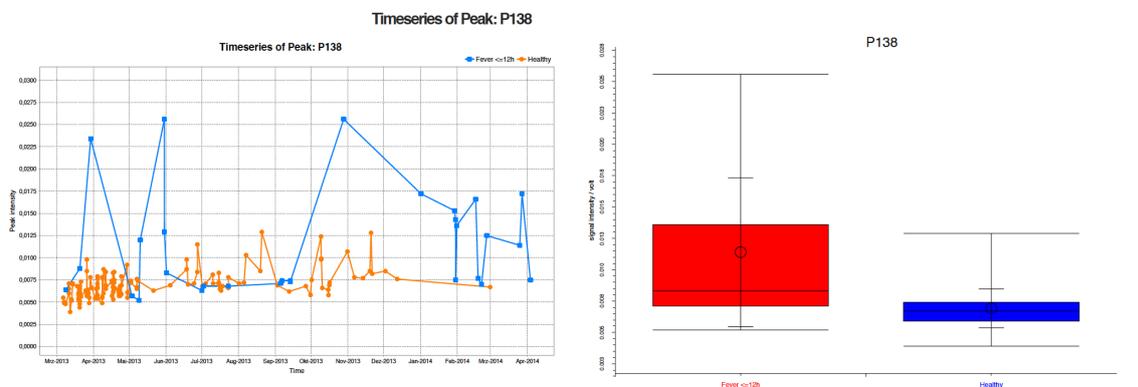


Abbildung 17: Timeline (x-Achse: Zeit, y-Achse: Peak-Intensität) und Box-Plot (x-Achse: Fieber $\leq 12h$, Gesunde y-Achse: Signalstärke/Volt) von Peak 138

Peak 138 zeigte in der Timeline-Analyse die beste Trennfähigkeit beider Gruppen mit 150 richtig klassifizierten Messungen. 137 von 141 Messungen aus der Klasse „Gesunde“ und 13 von 29 Messungen aus der Klasse „Fieber $< 12h$ “ konnten somit richtig eingeordnet werden. Peak 138 weist einen positiv prädiktiven Wert von 76,5% und einen negativ prädiktiven Wert von 89,5% auf. Zu beachten ist jedoch der deutliche Abfall der Peak-Intensität im Zeitraum Juni bis September 2013.

4.4.2 Fieber innerhalb der letzten sechs Stunden versus Gesunde

Eine Präzisierung der oben gewonnenen Ergebnisse erfolgte durch die weitere Eingrenzung des berücksichtigten Zeitraums des Fieberanstiegs. Messungen, die innerhalb von 6h nach Auftreten von Fieber durchgeführt wurden, wurden der Gruppe „Gesunde“ gegenübergestellt. Berücksichtigung in der Gruppe „Fieber $\leq 6h$ “ fanden insgesamt 21

Messungen von 13 Patienten. Von den 114 gesunden Kontrollen wurden 141 Messungen eingeschlossen. Der Gesamtumfang belief sich auf 162 Messungen.

Mathematische Auswertung

In der mathematischen Auswertung wurde durch die weitere Einschränkung des Zeitraums der Messung um das Fieberereignis die Anzahl der nach Bonferroni korrigierten signifikanten Peaks ebenfalls reduziert. Für Peak 39, Peak 41, Peak 48 und Peak 85 konnte keine Bonferroni korrigierte Signifikanz mehr nachgewiesen werden.

Acht Peaks (Peak 6, Peak 15, Peak 16, Peak 81, Peak 130, Peak 138, Peak 178 und Peak 188) konnten auch weiterhin in der Analyse „Fieber $\leq 6h$ “ nachgewiesen werden. Allerdings zeigte sich hier durch die weitere Reduktion der Anzahl an Messungen (von 29 auf 21 Messungen) nur noch ein Bonferroni korrigiertes Signifikanzniveau von $p < 0,01$ (Peak 6, Peak 16 und Peak 178) beziehungsweise eine Signifikanzniveau von $p < 0,05$ (Peak 15, Peak 81, Peak 130, Peak 138 und Peak 188).

	P6	P15	P16	P81	P130	P138	P178	P188
best direction	C1 > C2	C1 > C2	C1 > C2	C1 > C2	C1 > C2	C1 > C2	C1 > C2	C1 > C2
best threshold	0,087	0,032	0,016	0,016	0,004	0,012	0,025	0,016
classified right	146	146	147	147	144	148	144	147
classified wrong	16	16	15	15	18	14	18	15
true positive	6	5	6	6	8	10	3	6
false positive	1	0	0	0	5	3	0	0
true negative	140	141	141	141	136	138	141	141
false negative	15	16	15	15	13	11	18	15
sensitivity	0,286	0,238	0,286	0,286	0,381	0,476	0,143	0,286
spezifity	0,993	1,000	1,000	1,000	0,965	0,979	1,000	1,000
ppv	0,857	1,000	1,000	1,000	0,615	0,769	1,000	1,000
npv	0,903	0,898	0,904	0,904	0,913	0,926	0,887	0,904
a = sen - (1-spez)	0,279	0,238	0,286	0,286	0,345	0,455	0,143	0,286
accuracy	0,901	0,901	0,907	0,907	0,889	0,914	0,889	0,907
Mann-Whitney U	614	720	666	680	745	711	616	714
z value from U	4,321	3,792	4,061	3,992	3,667	3,837	4,311	3,822
significance level U	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
siglvl (Bonferroni corr.)	< 0.01	< 0.05	< 0.01	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.01	< 0.05

Tabelle 10: Darstellung der acht Peaks, die eine korrekte Klassifizierung von ≥ 144 Messungen ermöglichen C1: Fieber $\leq 6h$ (n=21) C2: Gesunde (n=141)

Box- und Whisker-Plot und Timeline-Analyse

Die Betrachtung der acht Peaks in der Box- und Whisker-Plot Darstellung zeigte zwar im Mittel eine höhere Peak-Intensität in der Gruppe „Fieber $\leq 6h$ “ jedoch ließ sich bei Betrachtung der Timeline-Analyse keine eindeutige Trennung beider Gruppen erkennen. Exemplarisch wird dies anhand von Peak 6 und Peak 138 verdeutlicht. Anhand von Peak 6 konnten 146 Messungen der insgesamt 162 Messungen in die entsprechende Gruppe

eingesortiert werden. Jedoch wurden nur sechs Messungen der 21 Messungen „Fieber <6h“ richtig zugeordnet. 15 Messungen konnten aufgrund ähnlicher Peak-Intensitäten nicht von der Gruppe „Gesunde“ getrennt werden. Eine Messung aus der Gruppe der Gesunden wurde fälschlicherweise als „krank“ eingestuft.

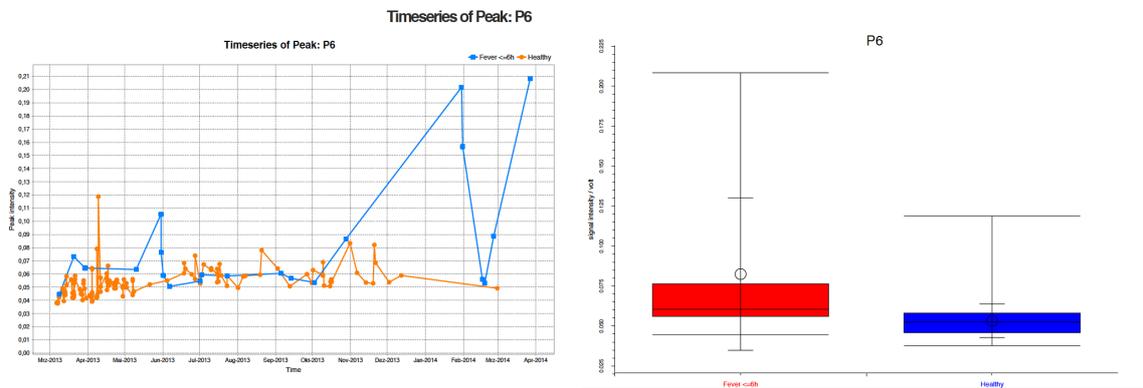


Abbildung 18: Timeline (x-Achse: Zeit, y-Achse: Peak-Intensität) und Box-Plot (x-Achse: Fieber \leq 6h, Gesunde y-Achse: Signalstärke/Volt) von Peak 6

Für Peak 138 konnte in der Timeline-Analyse die beste Trennfähigkeit beider Gruppen nachgewiesen werden. 148 Messungen wurden der korrekten Klasse zugeordnet. Durch Minimierung des Zeitrahmens für ein Fieberereignis auf unter 6h konnte eine Anhebung des positiv prädiktiven Werts von 76,5% auf 76,9% und des negativ prädiktiven Werts von 89,5% auf 92,6% erreicht werden.

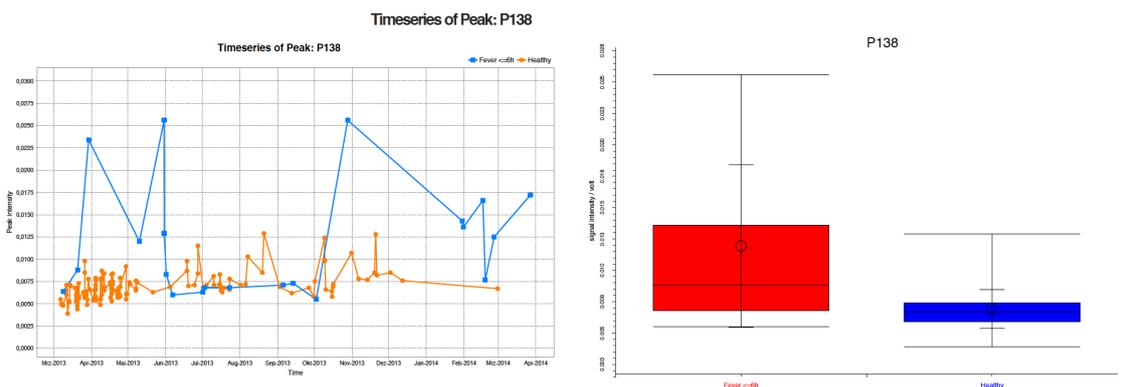


Abbildung 19: Timeline (x-Achse: Zeit, y-Achse: Peak-Intensität) und Box-Plot (x-Achse: Fieber \leq 6h, Gesunde y-Achse: Signalstärke/Volt) von Peak 138

4.5 Zusammenfassung der Peak-Analyse

Wie bereits zu Beginn beschrieben, umfasste der erste Teil der Datenanalyse die Gegenüberstellung der Gruppe „Neutropenie versus Gesunde“, „Inflammation versus Gesunde“ und „Fieber versus Gesunde“. Ziel war die Identifizierung relevanter Peaks, die eine signifikante Trennung der gegenübergestellten Gruppen ermöglichen. Zusätzlich wurden durch den ersten Teil der Analyse erste Hinweise auf relevante Peaks in Bezug auf die Timeline-Analyse geliefert. Im Folgenden wurden die im ersten Abschnitt der Analyse identifizierten Peaks tabellarisch zusammengefasst.

Weiterführende Erläuterung der tabellarischen Zusammenfassung:

- Signifikante Peaks, die nur in der Gruppe „Neutropenie“ auftreten und nicht mit einer Inflammation assoziiert sind. (P2, P17, P22, P30, P78, P95, P119, P137, P175) (rot)
- Ausschließlich mit Fieber assoziierte signifikante Peaks (P16, P70, P85, P121, P130, P188, P193, P230, P271, P273) (orange)
- Signifikante Peaks bei Inflammation jeglicher Art (P9, P79, P106, P122, P240) (grün)
- Signifikante Peaks bei Fieber und Neutropenie (P48, P81) (hellblau)
- Signifikante Peaks bei Inflammation einschließlich Fieber (P178) (dunkelblau)
- Signifikante Peaks bei Neutropenie und Inflammation (P7, P272) (braun)
- Signifikante Peaks in allen genannten Gruppen (P6, P15, P39, P41, P62, P77, P138, P275) (violett)

	Neutropenie versus Gesunde	Inflammation versus Gesunde	Fieber < 12h versus Gesunde	Fieber ≤6h versus Gesunde
Peak 2	p<0,001 +			
Peak 6	p<0,001 +	p<0,001 +	p<0,001 +	p<0,01 +
Peak 7	p<0,001 +	p<0,001 +		
Peak 9		p<0,001 -		
Peak 15	p<0,001 +	p<0,001 +	p<0,01 +	p<0,05 +
Peak 16			p<0,01 +	p<0,01 +
Peak 17	p<0,001 +			
Peak 22	p<0,001 +			
Peak 30	p<0,001 +			
Peak 39	p<0,001 +	p<0,001 +	p<0,01 +	
Peak 41	p<0,001 +	p<0,001 +	p<0,01 +	
Peak 48	p<0,001 +		p<0,01 +	
Peak 62	p<0,001 +	p<0,001 +	p<0,01 +	
Peak 70			p<0,05 +	
Peak 77	p<0,001 +	p<0,001 +	p<0,01 +	
Peak 78	p<0,001 +			
Peak 79		p<0,001 +		
Peak 81	p<0,001 +		p<0,01 +	p<0,01 +
Peak 85			p<0,05 +	
Peak 95	p<0,001 +			
Peak 106		p<0,001 +		
Peak 119	p<0,001 +			
Peak 121			p<0,05 +	

4. Ergebnisse

Peak 122		p<0,001 +		
Peak 130			p<0,01 +	p<0,05 +
Peak 137	p<0,001 +			
Peak 138	p<0,001 +	p<0,001 +	p<0,001 +	p<0,05 +
Peak 164	p<0,001 -	p<0,001 -		
Peak 175	p<0,001 +			
Peak 178		p<0,001 +	p<0,001 +	p<0,01 +
Peak 188			p<0,05 +	p<0,05 +
Peak 193			p<0,01 +	
Peak 196	p<0,001 -	p<0,001 -		
Peak 230			p<0,05 +	
Peak 240		p<0,001 +		
Peak 271			p<0,01 +	
Peak 272	p<0,001 +	p<0,001 +		
Peak 273			p<0,05 +	
Peak 275	p<0,001 +	p<0,001 +	p<0,01 +	

Tabelle 11: Zusammenfassung der Peak-Analyse

Die in der Explorationsanalyse gefundenen Peaks werden nun in der longitudinalen Untersuchung (Timeline Analyse) in Bezug zum zeitlichen Auftreten klinischer Ereignissen auf Ihre Konsistenz überprüft.

4.6 Timeline Analyse

In diesem Abschnitt wurde der Zusammenhang zwischen den klinischen Verläufen der Patienten, die im genannten Untersuchungszeitraum Fieber und weitere Inflammationssymptome aufwiesen und dem Verlauf der oben identifizierten 181 Peaks untersucht. Im Untersuchungszeitraum von März 2013 bis April 2014 konnten insgesamt 21 Patienten mit klinischen und/oder laborchemischen Zeichen einer Infektion erfasst werden. Im Folgenden werden die klinischen Verläufe der 21 Patienten tabellarisch zusammengefasst. Die Bezifferung der Patienten erfolgte mit dem Buchstaben „C“ für „Child“ sowie einer fortlaufenden Nummerierung. Ein besonderes Augenmerk lag im zweiten Abschnitt des Ergebnisteils auf den bereits identifizierten signifikanten Peaks (siehe Kapitel 4.5). Da in einem explorativen klinischen Setting keine zu 100% standardisierten Messzeitpunkte und Umgebungen möglich sind, und es dadurch möglich ist, dass unberücksichtigte Einflussgrößen die Messungen zeitweise verfälscht haben können, wurden auch alle verbliebenen 173 Peaks in Bezug auf den individuellen klinischen Verlauf analysiert, um potentiell bestehende Zusammenhänge nicht zu übersehen. Es wurde eine Korrelation zu dem Verlauf des Peak 135 identifiziert, der in der statistischen Explorationsuntersuchung nicht signifikant trennend war.

4.6.1 Patient C1

Von Patient C1 wurden über den Zeitraum April 2013 bis Juli 2013 insgesamt 14 Messungen eingeschlossen.

Messung 1-3	Asymptomatische Neutropenie
Messung 4,5	Neutropenie, subfebrile Temperaturen
Messung 6	Subfebrile Temperaturen
Messung 7-11	Fieber, Neutropenie, CRP-Anstieg 34,9 mg/l, Antibiose: Piperacillin/ Tazobactam
Messung 12	Routinevorstellung ohne akute Erkrankung
Messung 13,14	Asymptomatische Neutropenie, Bestrahlung

Tabelle 12: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C1

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Im Hinblick auf den oben dargelegten klinischen Verlauf wurden die Peak-Verläufe genauer analysiert. Es konnte ein Zusammenhang der Inflammationseignisse zu den Verläufen von **Peak 135**, **Peak 138** und **Peak 178** hergestellt werden. Weitere Peaks konnten optisch nicht korreliert werden. Erhöhte Ausschläge in der Signalintensität finden sich sowohl bei Peak 135, Peak 138 als auch für Peak 178 zum Zeitpunkt der Messungen 6-8. Die erhöhten Intensitäten zu den Zeitpunkten der Messung 7 und 8 deckt sich mit dem oben

beschriebenen Fieberereignis und dem CRP-Anstieg auf 34,9 mg/l. Was jedoch bei genauer Betrachtung auffällt, ist, dass sich die Peak-Intensität zum Zeitpunkt der Messung 4 sowohl bei Peak 138 als auch bei Peak 178 im Vergleich zum Fieberereignis (Messung 7,8), ebenfalls deutlich erhöht zeigt. Zum genannten Zeitpunkt wies der Patient laborchemisch eine Neutropenie sowie subfebrile Temperaturen auf. Aufgrund der ausgeprägten klinischen Symptomatik zum Zeitpunkt des Fieberereignisses (Messung 7,8) würde man hier den höchsten Peak Ausschlag erwarten. Bei Peak 135 hingegen zeigt sich entsprechend der klinischen Symptomatik die höchste Intensität zum Zeitpunkt des Fieberereignisses. Hingegen fällt auf, dass die Peak-Intensität zum Zeitpunkt der Messung 4 noch nicht erhöht ist. Diese steigt erst verzögert an (Messung 5).

Bei denen am Ende des Untersuchungszeitraums erfassten Atemluftmessungen (Messung 13,14) zeigt sich ebenfalls eine diskret erhöhte Intensität. Dies kann als mögliche Folge der Inflammation durch Bestrahlung oder der asymptomatischen Neutropenie gewertet werden.

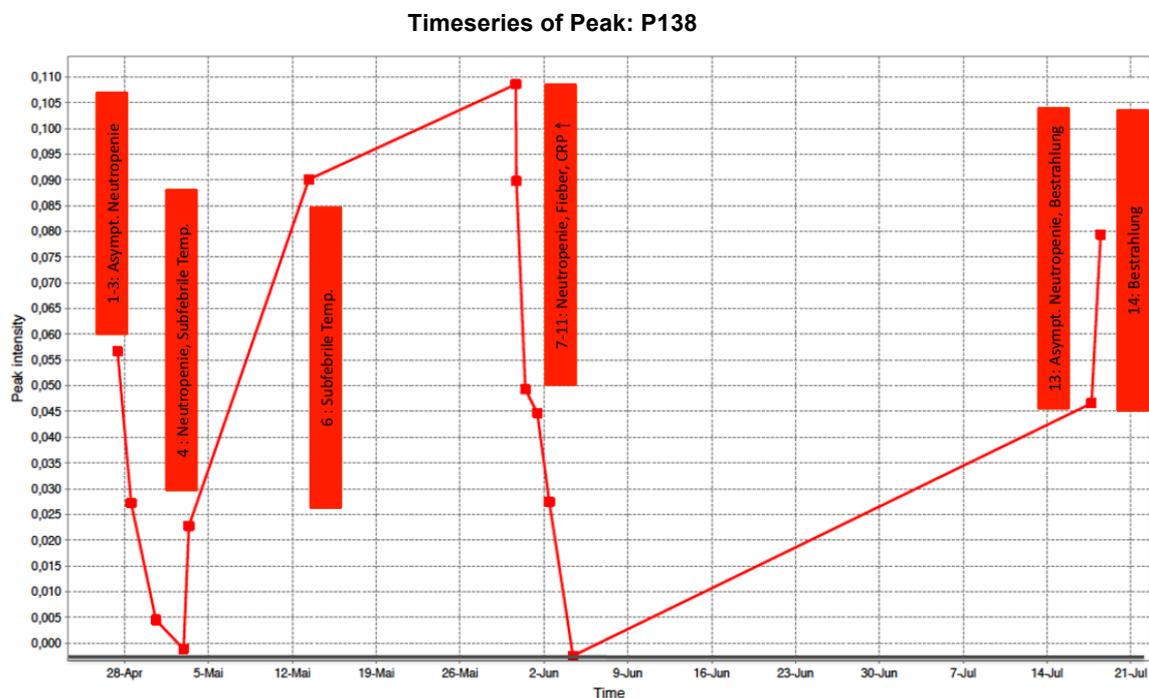


Abbildung 20: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 135 und dem klinischen Verlauf von Patient C1. Jedes rote Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen roten Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

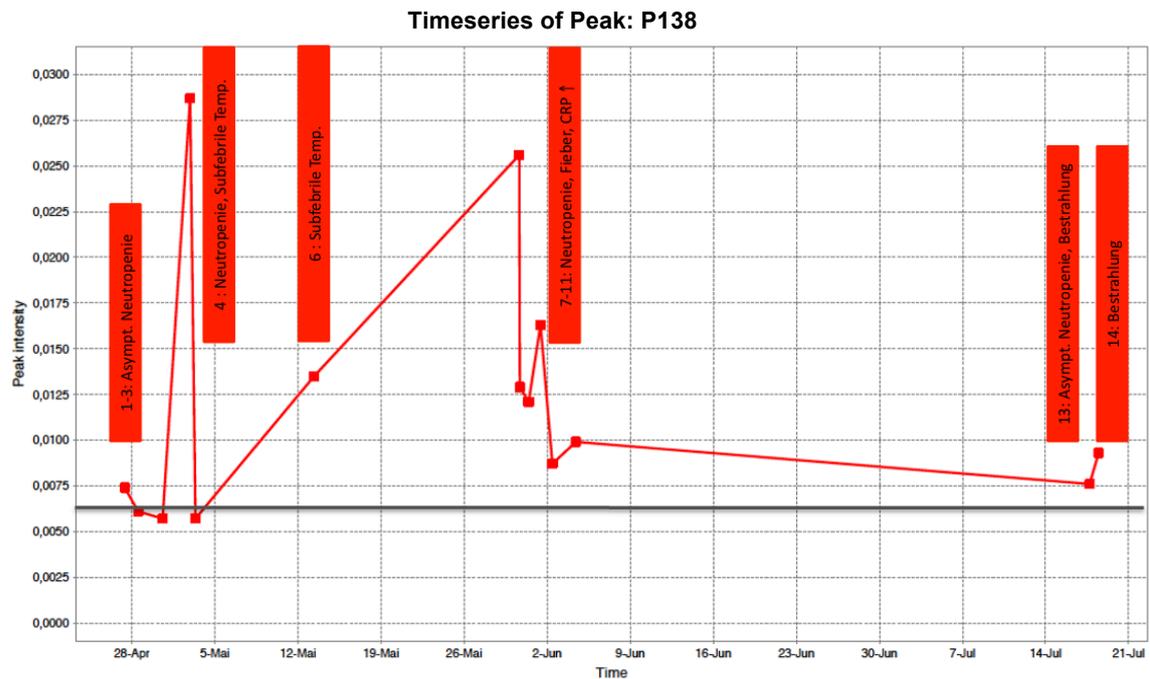


Abbildung 21: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 138 und dem klinischen Verlauf von Patient C1. Jedes rote Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen roten Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

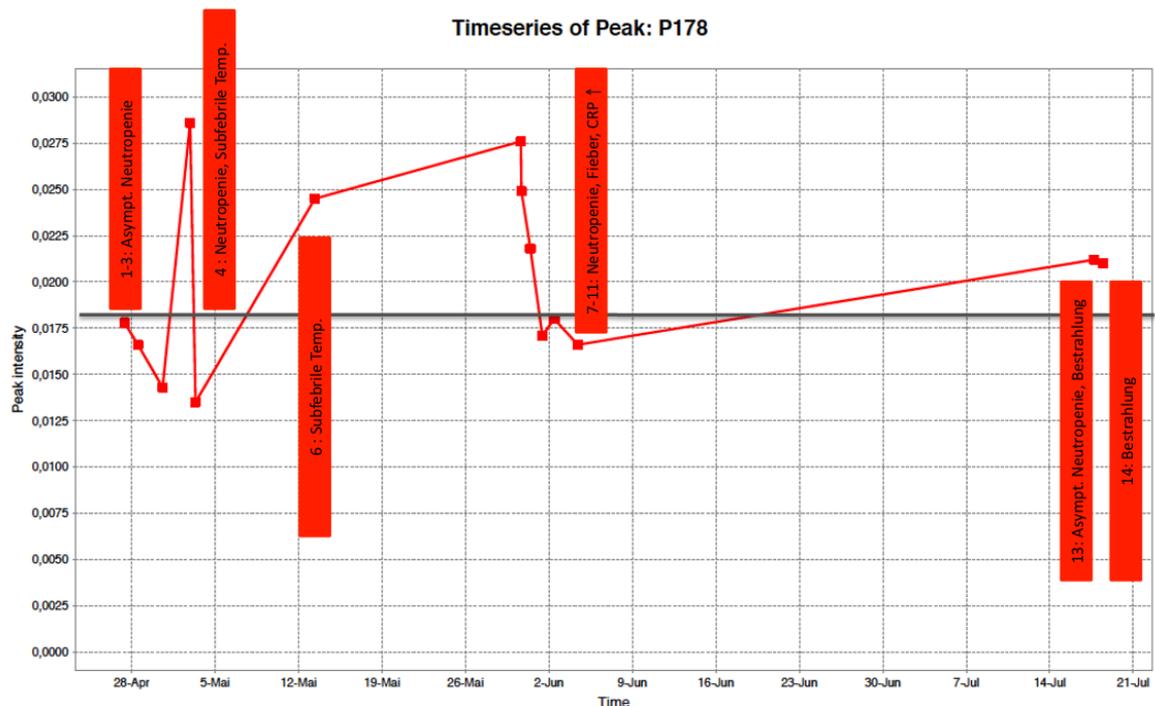


Abbildung 22: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 178 und dem klinischen Verlauf von Patient C1. Jedes rote Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen roten Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

4.6.2 Patient C2

Von Patient C2 wurde über den Zeitraum Januar 2014 bis März 2014 insgesamt zwölf Atemluftmessungen erfasst.

Messung 1-5	Neuerkrankung, B-Symptome, CRP-Anstieg 19,5 mg/l (Messung 2)
Messung 6,7	Neutropenie, CRP-Anstieg 43,3 mg/l, Antibiose: Ciprofloxacin
Messung 8,9	CRP-Abfall 9,8 mg/l, Antibiose: Ciprofloxacin
Messung 10,11	Fieber (Messung 10), CRP 10,9 mg/l, Antibiose: Ciprofloxacin
Messung 12	Asymptomatische Neutropenie, CRP 28,9 mg/l

Tabelle 13: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C2

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Eine Korrelation konnte zwischen dem klinischen Verlauf von Patient C2 und den Verläufen von **Peak 6**, **Peak 15**, **Peak 48**, **Peak 81** und **Peak 138** hergestellt werden. In den grafischen Darstellungen ist zu erkennen, dass sich die Verläufe der aufgeführten Peaks ähnlich verhalten. Die erhöhten Intensitäten stimmen hier weitestgehend mit den beiden Inflammationsereignissen Ende Januar 2014 (Messung 1-5) sowie Mitte/Ende Februar 2014 (Messung 6,7 sowie 10) überein. Zum Zeitpunkt der Messung 1-5 zeigte der Patient eine B-Symptomatik im Rahmen der neu diagnostizierten Grunderkrankung. Die B-Symptomatik ging klinisch und laborchemisch mit einer ausgeprägten systemischen Inflammation einher. Auffällig ist jedoch ein Abfall der Intensität zum Zeitpunkt der Messung 2. Anhand der vorliegenden Dokumentation konnte hierfür keine eindeutige Erklärung gefunden werden.

Ein weiterer Zusammenhang lässt sich auch zwischen dem Verlauf des zweiten Inflammationsereignisses mit einem CRP-Anstieg auf 43,3 mg/l (Messung 6,7) und dem auftretenden Fieber (Messung 10) herstellen. Hier zeigt sich in den nachfolgenden Grafiken ebenfalls ein Anstieg der Peak-Intensität.

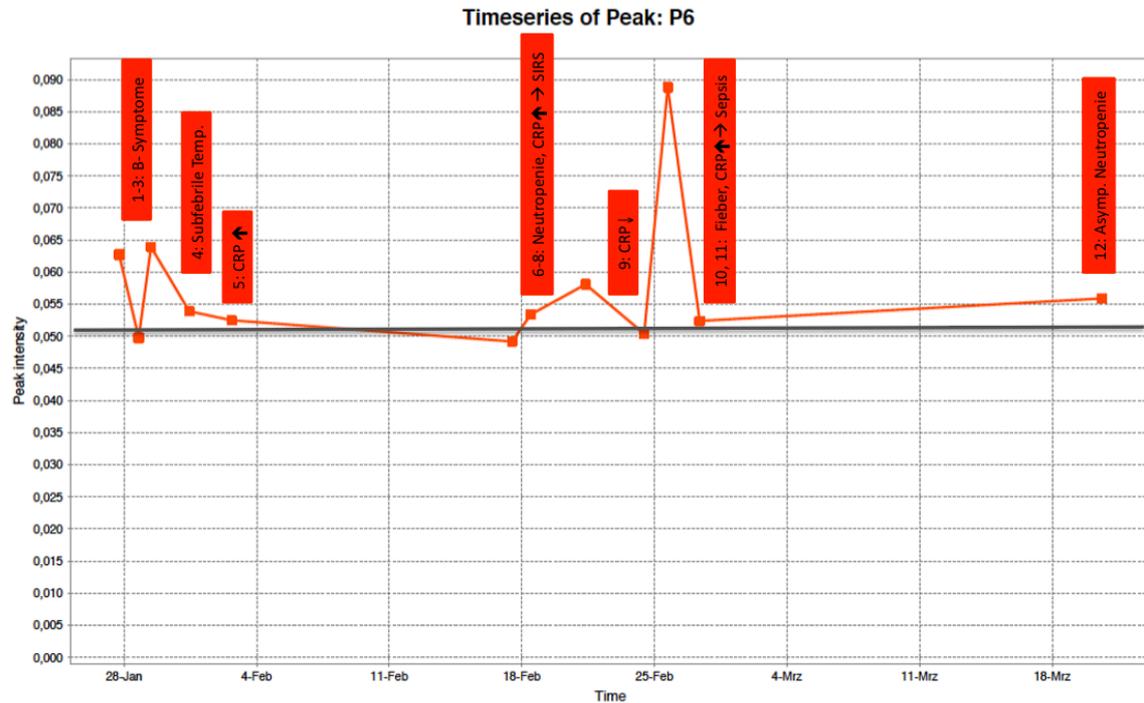


Abbildung 23: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 6 und dem klinischen Verlauf von Patient C2
 Jedes rote Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen roten Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

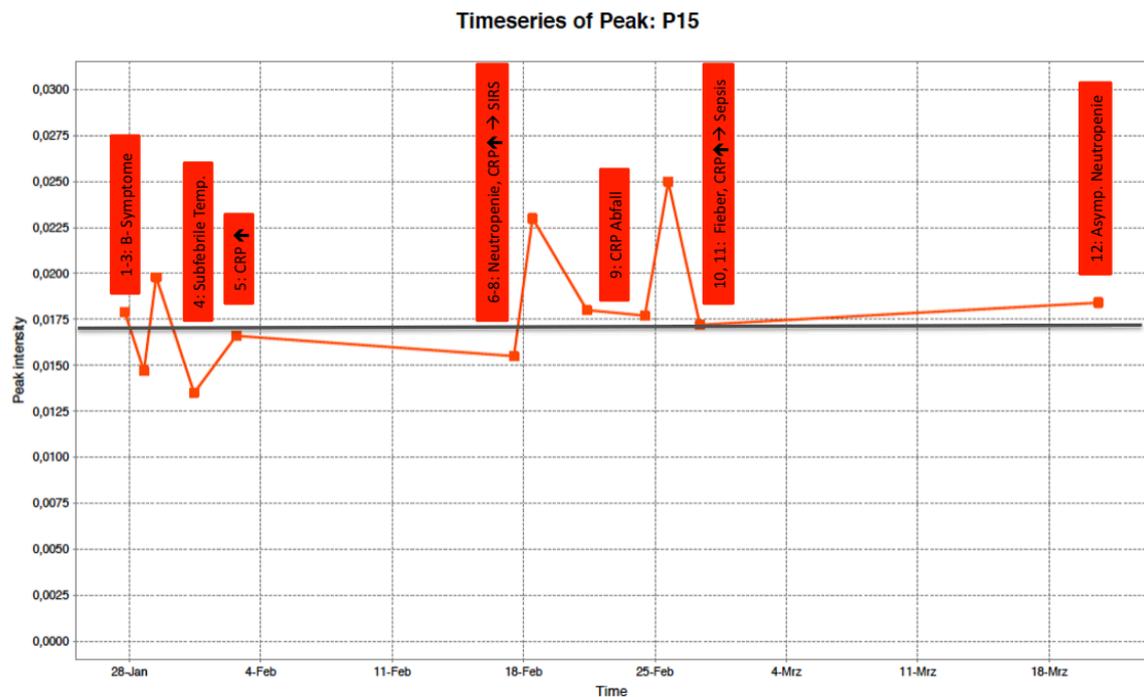


Abbildung 24: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 15 und dem klinischen Verlauf von Patient C2
 Jedes rote Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen roten Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

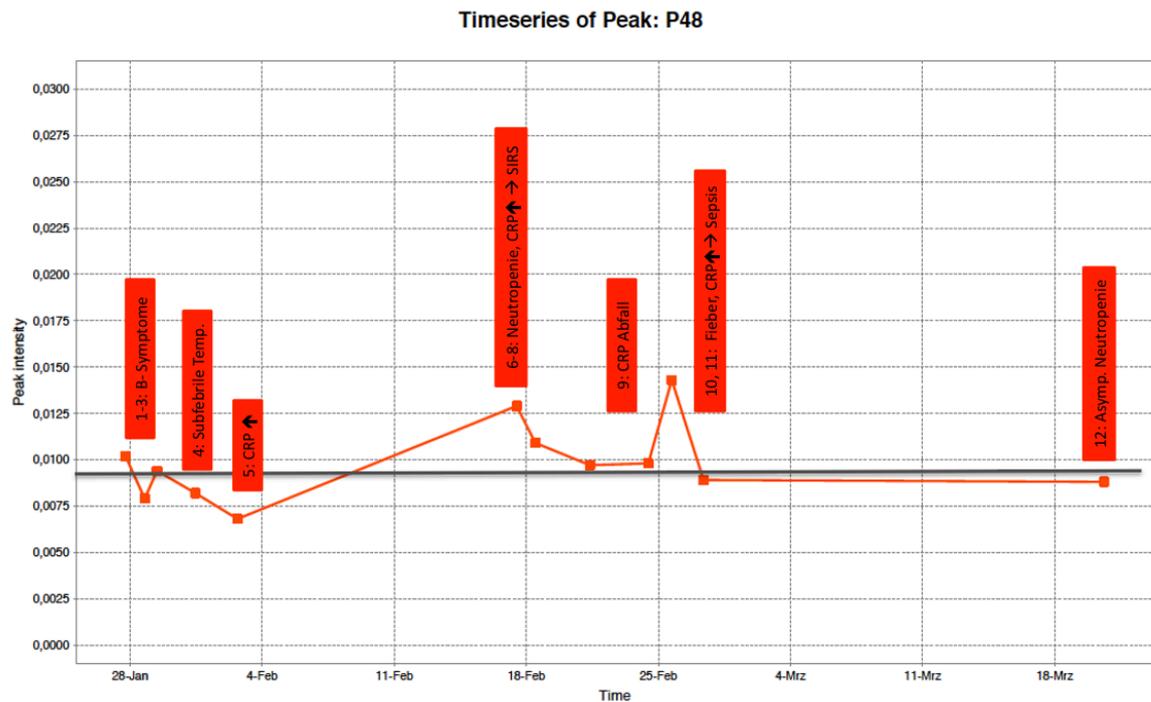


Abbildung 25: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 48 und dem klinischen Verlauf von Patient C2. Jedes rote Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen roten Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

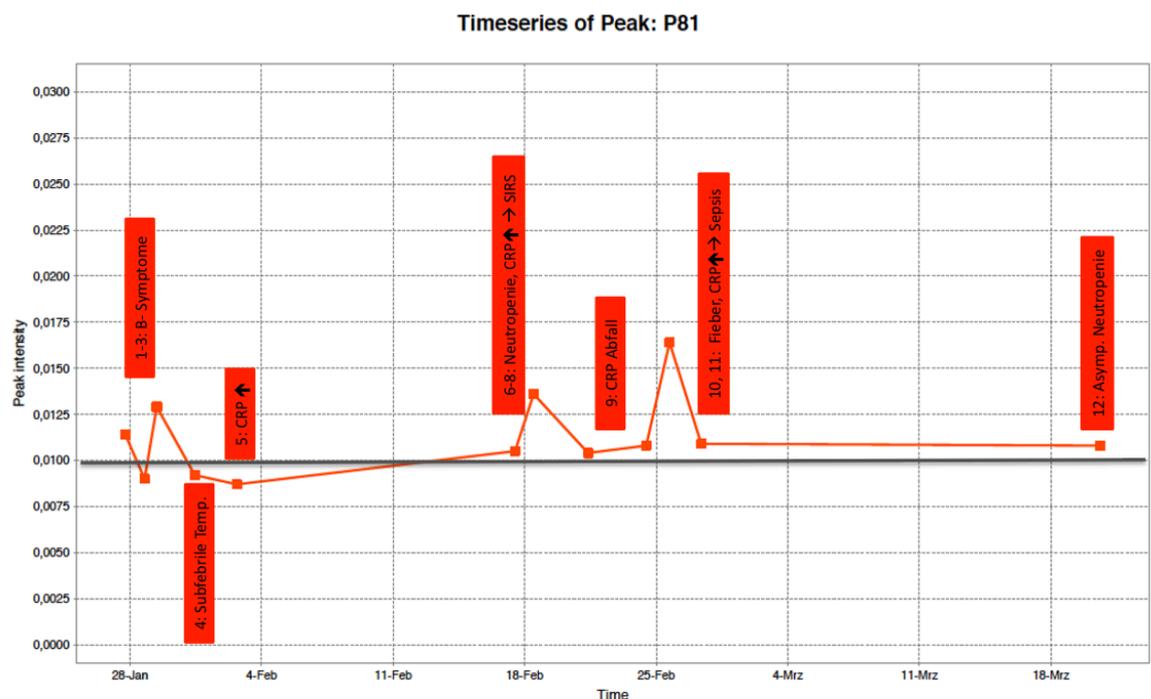


Abbildung 26: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 81 und dem klinischen Verlauf von Patient C2. Jedes rote Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen roten Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

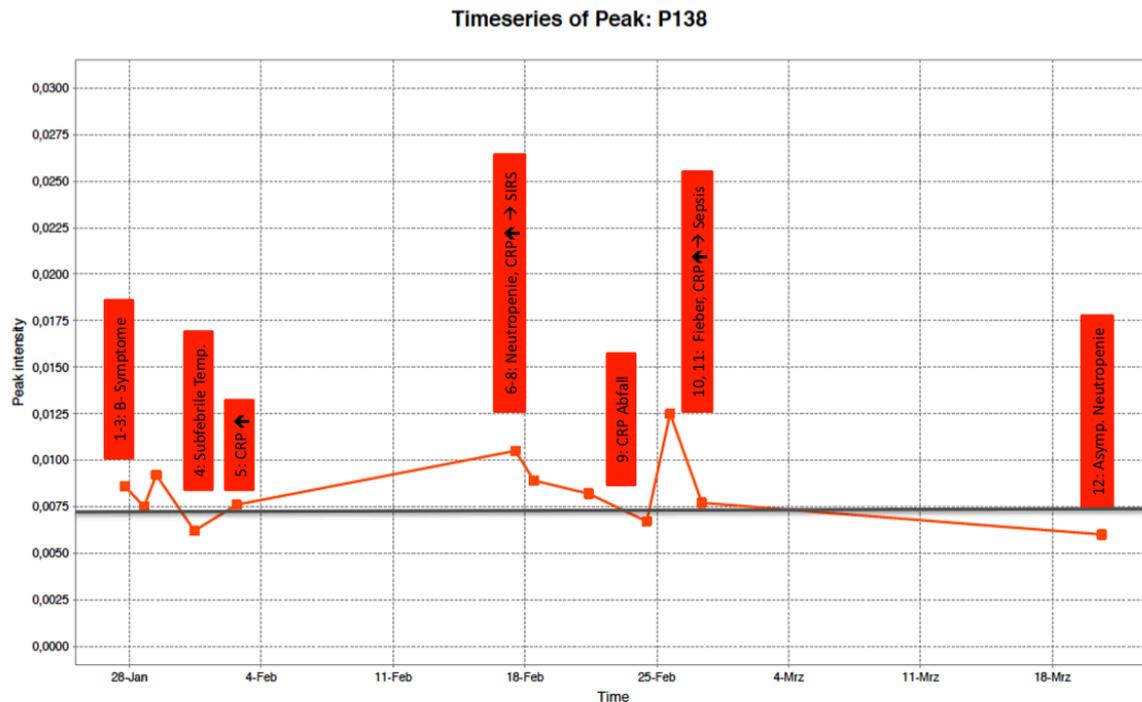


Abbildung 27: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 138 und dem klinischen Verlauf von Patient C2
Jedes rote Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen roten Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

4.6.3 Patient C3

Der Patient C3 wurde Anfang Dezember 2013 aufgrund eines Rezidivs der Grunderkrankung in der Klinik für pädiatrische Hämatologie und Onkologie vorstellig. Innerhalb des Beobachtungszeitraums wurden insgesamt 18 Messungen erfasst.

Messung 1	Routinevorstellung im Rahmen der Nachsorge ohne akute Erkrankung
Messung 2	Rezidiv der Grunderkrankung, Katheterimplantation, Antibiose: Cefuroxim
Messung 3,4	Rezidiv der Grunderkrankung
Messung 5,6	Induktionstherapie, gastrointestinale Symptome, Neutropenie, CRP 7,8 mg/l
Messung 7	Routinevorstellung, CRP 9,6 mg/l
Messung 8	Stomatitis
Messung 9-12	Routinevorstellung
Messung 13-16	Gastroenteritis, Fieber und Neutropenie (Messung 14), CRP 21,3 g/dl (Messung 15,16), Antibiose: Piperacillin/ Tazobactam, Gentamicin Cytarabin i.v. (Messung 12-14)
Messung 17	Gastroenteritis, CRP-Abfall 6,6 mg/l
Messung 18	Neutropenie, CRP-Anstieg 40,4 mg/l

Tabelle 14: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C3

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Für den oben beschriebenen klinischen Verlauf von Patient C3 konnte keine Korrelation zu den Peak-Verläufen hergestellt werden. Zum Zeitpunkt des Fieberereignisses mit zusätzlichen klinischen Hinweisen für eine Gastroenteritis konnte in keinem der genannten Verläufe eine Erhöhung oder Verringerung der Peak-Intensität gegenüber der Basis festgestellt werden.

4.6.4 Patient C4

Vom Patienten C4 wurden über einen Untersuchungszeitraum von Juni 2013 bis Februar 2014 49 Messungen erfasst.

Messung 1	Neuerkrankung, Zytolyse
Messung 2-4	Neuerkrankung, Zytolyse, Neutropenie, CRP-Anstieg Maximum 21,1 mg/l
Messung 5	Neuerkrankung, Zytolyse, Neutropenie, CRP-Abfall auf 12,5 mg/l
Messung 6-8	Routinevorstellung
Messung 9	Katheter Implantation, CRP 15 mg/l
Messung 10,11	Fieber, CRP 40,7 mg/l, virologische Diagnostik: Nachweis HHV7, EBV, Bakteriologie: Bacillus cereus
Messung 12-49	Routinevorstellung

Tabelle 15: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C4

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Die Prüfung eines möglichen Zusammenhangs zeigte eine begrenzte Korrelation zu dem Verlauf von **Peak 135**. In der sich anschließenden grafischen Darstellung zeigte sich eine deutliche Erhöhung der Peak-Intensität zu Beginn des Untersuchungszeitraums. Die Intensitätserhöhung zum Zeitpunkt der Messung 1-5 legt einen Zusammenhang zur Zytolyse im Rahmen der Neuerkrankung und der damit einhergehenden Neutropenie und dem CRP-Anstieg nahe. Der erneute Intensitätsanstieg zum Zeitpunkt der Messung 9-11 kann als Folge des septischen Inflammationsereignisses gesehen werden. Im weiteren klinischen Verlauf ergaben sich bei dem Patienten keine weiteren Hinweise auf eine Inflammation. Dies entspricht weitestgehend dem Verlauf von Peak 135. Allerdings fällt Anfang Oktober (Messung 23) ein deutlicher Anstieg der Peak-Intensität auf. Anhand der Dokumentation konnte kein Anhaltspunkt für eine Ursache der Intensitätserhöhung festgestellt werden. Zum Zeitpunkt der genannten Messung ergaben sich sowohl klinisch als auch laborchemisch keine Hinweise auf eine Inflammation.

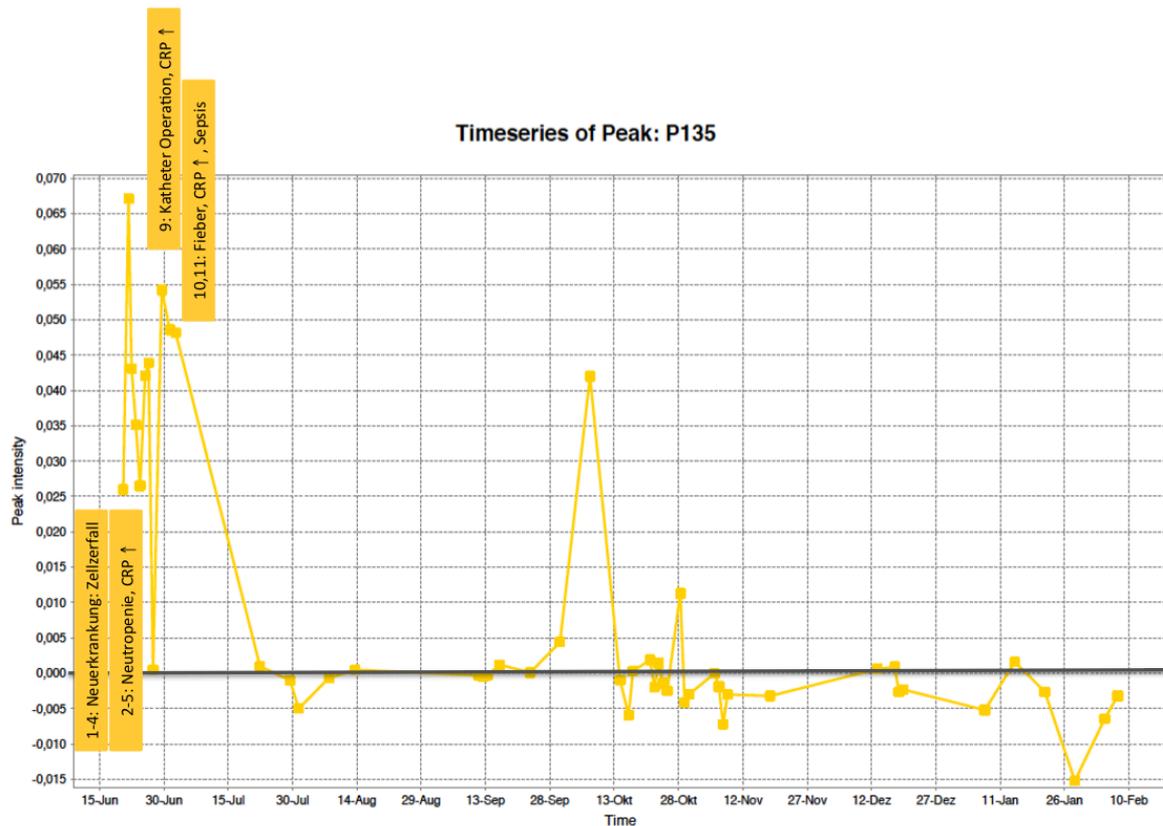


Abbildung 28: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 135 und dem klinischen Verlauf von Patient C4
 Jedes gelbe Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezählten Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen gelben Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie. Kein dokumentiertes Ereignis für die Intensitätserhöhung am 07.10.2013 (Messung 23)

4.6.5 Patient C5

Vom Patienten C5 wurde im Untersuchungszeitraum von März 2013 bis Januar 2014 11 Messungen dokumentiert.

Messung 1,2	Routinevorstellung
Messung 3,4	Fieber, Neutropenie, CRP-Anstieg 36,3 mg/l, Influenza B
Messung 5,6	Neutropenie, CRP-Abfall: 11,0 mg/l, Influenza B
Messung 7,8	Chemotherapie: Mercaptopurin
Messung 9-11	Routinevorstellung, CRP 24,1 mg/l (Messung 10)

Tabelle 16: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C5

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Für Patient C5 konnte kein Zusammenhang zu den Peak-Verläufen hergestellt werden.

4.6.6 Patient C6

Der Patient C6 wurde über den Zeitraum November 2013 bis Anfang Februar 2014 beobachtet. Im genannten Untersuchungszeitraum wurden neun Messungen erfasst.

Messung 1	Routinevorstellung
Messung 2	Stomatitis
Messung 3-7	Pulmonale Aspergillose, Fieber, Neutropenie (Messung 3) Therapie: Piperacillin/ Tazobactam, Antimykotische Therapie: Caspofungin
Messung 8-9	Routinevorstellung

Tabelle 17: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C6

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Für keinen der genannten Peaks konnte ein Zusammenhang zum klinischen Verlauf aufgezeigt werden.

4.6.7 Patient C7

Die Datenerfassung bei Patient C7 erfolgte von März 2013 bis Februar 2014. Innerhalb dieses Zeitraums wurden insgesamt 27 Messungen von dem Patient C7 erfasst.

Messung 1,2	Asymptomatische Neutropenie, CRP 17,7 mg/l
Messung 3,4	Fieber, Neutropenie, CRP-Anstieg 56,8 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 5,6	Fieber, Neutropenie, CRP-Abfall: 20,6 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 7-9	Asymptomatische Neutropenie, CRP-Abfall: 4,9 mg/l
Messung 10-27	Routinevorstellung, CRP-Anstieg: Maximum 10,4 mg/l (Messung 12,13) Cytarabin s.c. (Messung 12-17, 20, 23)

Tabelle 18: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C7

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Bei Patient C7 zeigte sich direkt zu Beginn der Datenerfassung Anfang/Mitte März 2013 (Messung 1-9) ein Fieberereignis. Dies spiegelt sich auch in den Peak Verläufen von **Peak 6**, **Peak 41**, **Peak 48** und **Peak 81** wider, die nachfolgend abgebildet sind. Bei allen vier Peaks findet man hier den höchsten Ausschlag in der Peak-Intensität. Betrachtet man diesen Intensitätsanstieg, fällt auf, dass der höchste Intensitätsausschlag zum Zeitpunkt der Messung 6 zu finden ist. Zu diesem Zeitpunkt hatte sich bereits eine klinisch und laborchemisch Besserung eingestellt. Anhand des klinischen/laborchemischen Verlaufs würde man den höchsten Ausschlag zum Zeitpunkt der Messung 3 bis 5 erwarten. Anhand dieser Beobachtung ist dahingegen anzunehmen, dass eine Intensitätserhöhung zeitlich

verzögert auftritt. Im Zeitraum April 2013 bis Februar 2014 fällt in allen vier Grafiken eine schwankende Peak-Intensität auf. Innerhalb dieses Zeitraums war der Patient klinisch asymptomatisch, jedoch erhielt er im Rahmen des Therapiekonzepts Cytarabin subkutan. Cytarabin kann eine milde systemischen Inflammation einschließlich subfebriler Temperaturen und CRP-Anstieg verursachen und könnte somit eine mögliche Erklärung für die graduelle Intensitätserhöhung sein. Laborchemisch konnte dies durch den leichten Anstieg der CRP-Werte (Messung 12, 13) untermauert werden.

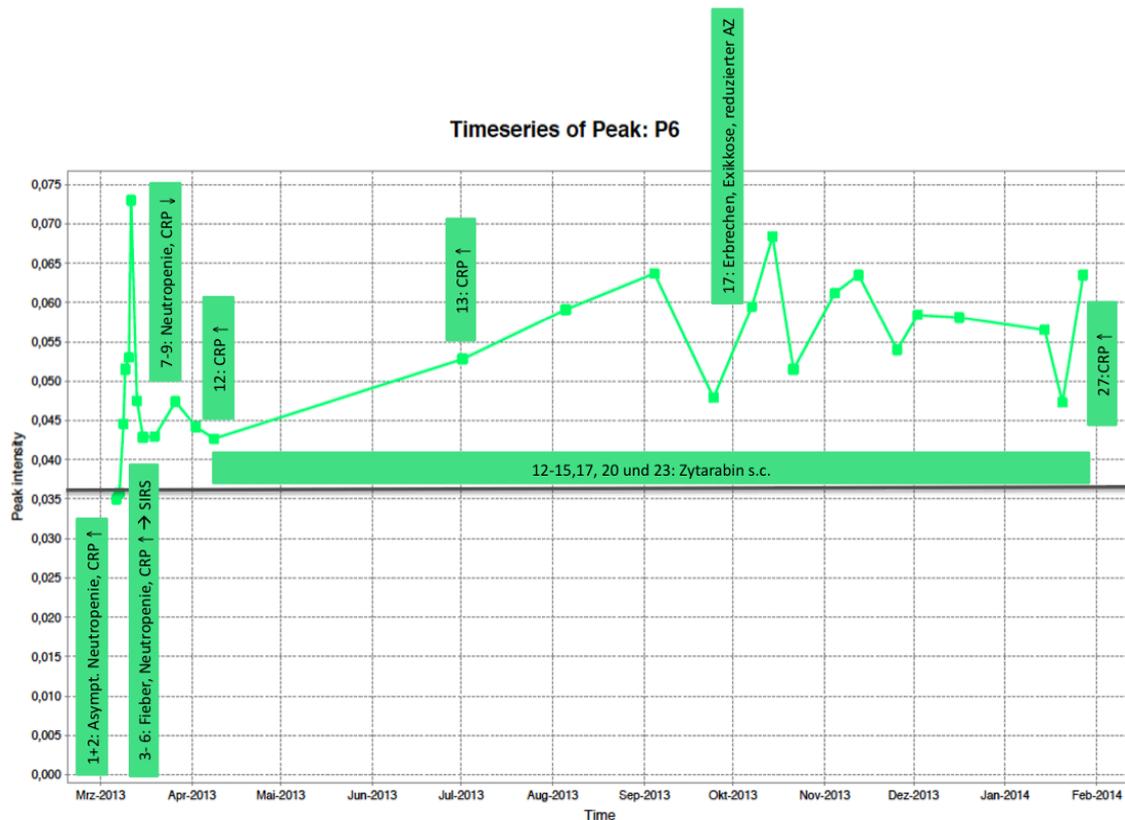


Abbildung 29: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 6 und dem klinischen Verlauf von Patient C7 Jedes grüne Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen grünen Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

Timeseries of Peak: P41



Abbildung 30: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 41 und dem klinischen Verlauf von Patient C7
 Jedes grüne Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen grünen Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

Timeseries of Peak: P48

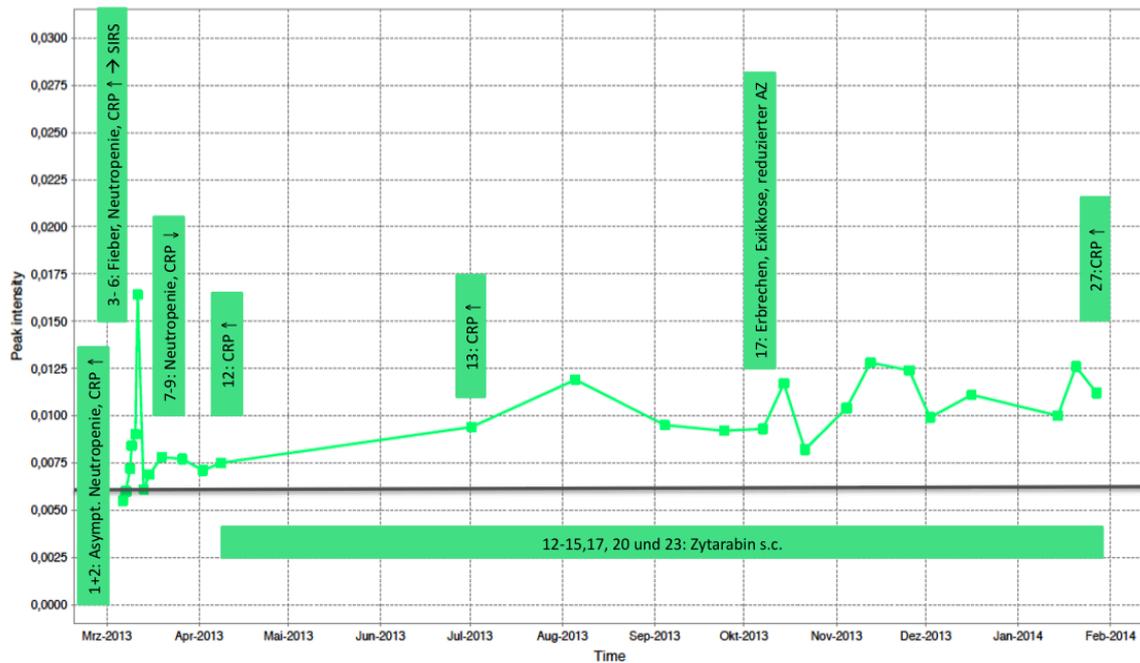


Abbildung 31: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 48 und dem klinischen Verlauf von Patient C7
 Jedes grüne Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen grünen Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

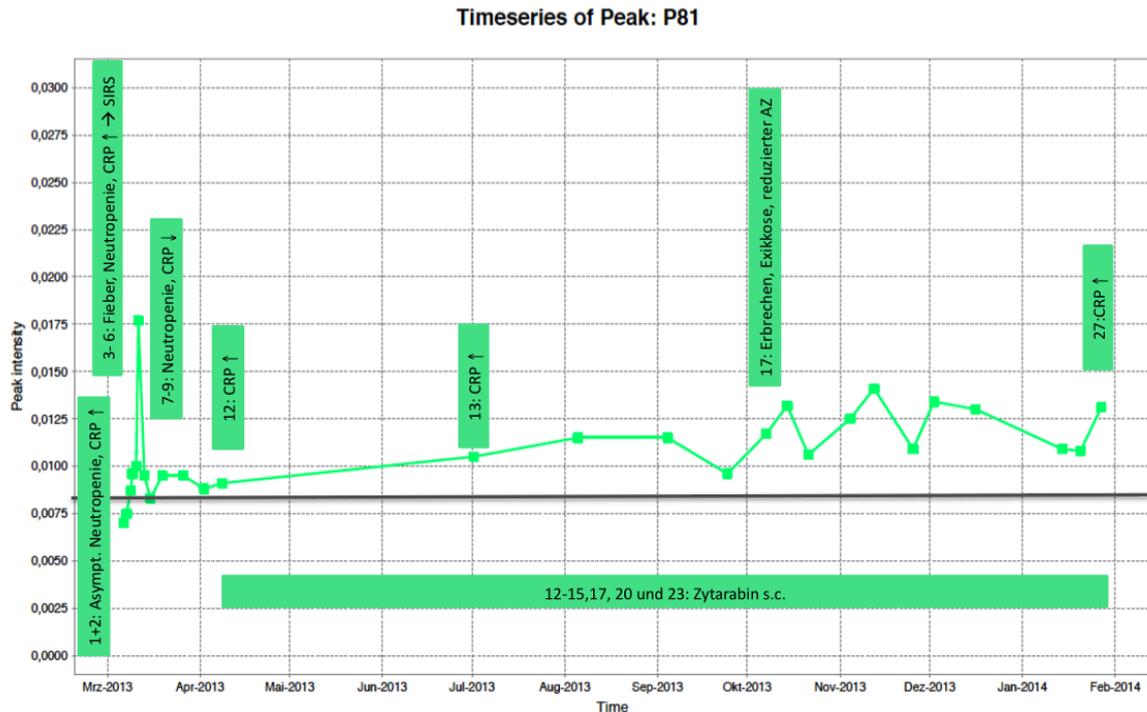


Abbildung 32: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 81 und dem klinischen Verlauf von Patient C7
 Jedes grüne Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen grünen Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

4.6.8 Patient C8

Von Patient C8 wurden insgesamt 47 Atemluftmessungen über den Zeitraum März 2013 bis Februar 2014 gewonnen.

Messung 1-5	Stomatitis, Neutropenie
Messung 6-10	Routinevorstellung
Messung 11-13	Stomatitis, Neutropenie, CRP-Anstieg 8,3 mg/l Antibiose: Piperacillin/ Tazobactam
Messung 14	Routinevorstellung
Messung 15,16	Stomatitis, Neutropenie, CRP-Anstieg 7,8 mg/l
Messung 17	Asymptomatische Neutropenie
Messung 18-23	Routinevorstellung
Messung 24-27	Stomatitis, CRP-Anstieg 15,6 mg/l, Cytarabin s.c. (Messung 26)
Messung 28	Stomatitis, CRP rückläufig 5,2 mg/l
Messung 29-32	Asymptomatische Neutropenie, Cytarabin s.c. (Messung 31)
Messung 33,34	CRP-Anstieg 19,0 mg/l
Messung 35-43	Routinevorstellung, CRP 7,9 mg/l (Messung 40), Cytarabin s.c. (Messung 41,43)
Messung 44-46	Fieber, Neutropenie, CRP-Anstieg Maximum 59,1 mg/l (Messung 46), Antibiose: Piperacillin/ Tazobactam
Messung 47	Klinische Symptombesserung, CRP-Abfall 20,5 mg/l

Tabelle 19: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C8

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Die Analyse der Peak-Verläufe unter Berücksichtigung der inflammatorischen Ereignisse zeigte eine begrenzte Übereinstimmung zum Verlauf von **Peak 6** und von **Peak 135**. Die Verläufe sind in den folgenden Grafiken dargestellt. Es konnte sowohl für das Ereignis Mitte März 2013 (Messung 1-5), Anfang Juli 2013 (Messung 11-13), Mitte August 2013 (Messung 15-17) sowie Mitte/Ende Oktober 2013 (Messung 24-28) eine erhöhte Peak-Intensität nachgewiesen werden. Jedoch ließ sich dies nicht für das Fieberereignis Ende Januar/Anfang Februar 2014 (Messung 44-47) reproduzieren. Im genannten Fall spiegelte sich die klinische Symptomatik nicht in der Peak-Intensität wider.

Des Weiteren zeigte sich eine erhöhte Peak-Intensität Ende Juni (Messung 10 bei Peak 135), Mitte September (Messung 18), Anfang Dezember (Messung 36) sowie Anfang Januar (Messung 38), wofür kein klinisches oder laborchemisches Korrelat gefunden werden konnte. Im Hinblick auf die oben genannten Punkte zeigt sich somit nur eine begrenzte Übereinstimmung zu den Verläufen von Peak 6 und Peak 135.

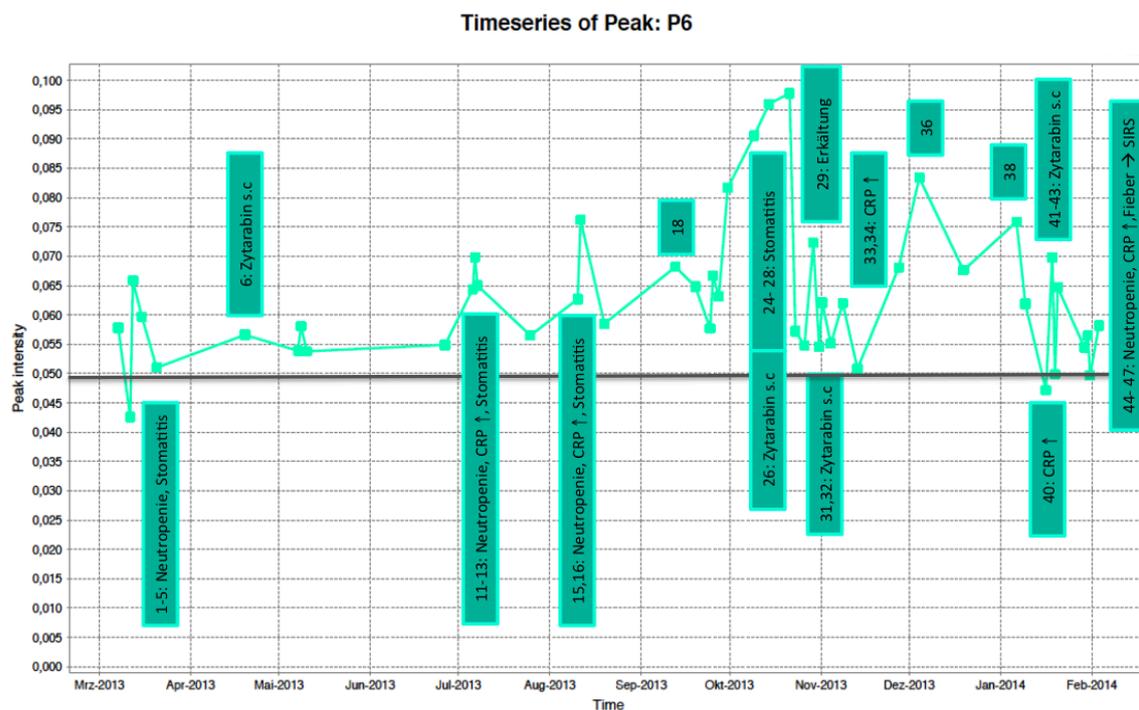


Abbildung 33: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 6 und dem klinischen Verlauf von Patient C8
 Jedes grüne Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen grünen Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

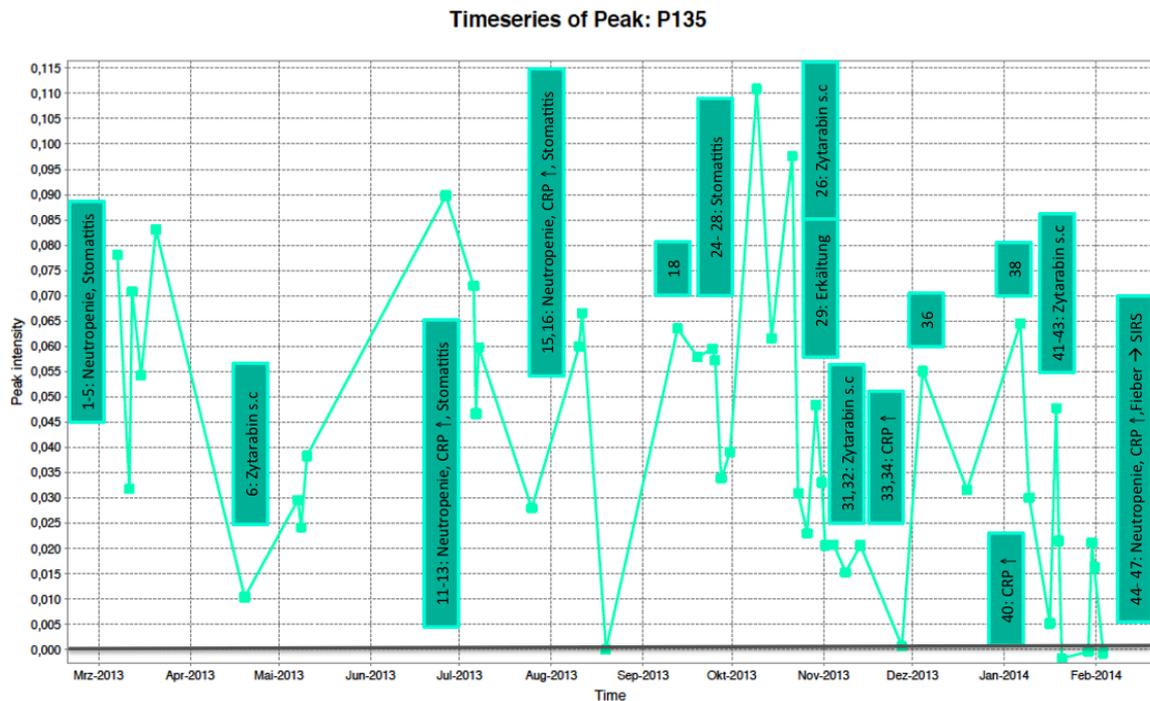


Abbildung 34: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 135 und dem klinischen Verlauf von Patient C8. Jedes grüne Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen grünen Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

4.6.9 Patient C9

Der Gesamtumfang der Messungen belief sich bei Patient C9 auf 35 Messungen, die von Ende August 2013 bis Ende Februar 2014 erfasst wurden. Ähnlich wie Patient C8 äußerte sich bei Patient C9 die Inflammation in Form einer Stomatitis. Eine Gliederung des klinischen Verlaufs erfolgte in sechs verschiedene Abschnitte.

Messung 1	Stomatitis, Neutropenie
Messung 2-4	Asymptomatische Neutropenie, CRP 7,9 mg/l
Messung 5,6	Stomatitis, Neutropenie, CRP-Anstieg 97,3 mg/l
Messung 7-9	Stomatitis, CRP-Abfall 71,2 mg/l
Messung 10	Routinevorstellung, Erkältung
Messung 11	Routinevorstellung
Messung 12-14	Stomatitis, Neutropenie, CRP-Anstieg 63,7 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 15,16	Stomatitis, CRP-Abfall 35,5 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 17	Klinische Symptombesserung, CRP-Abfall 2,1 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 18	Routinevorstellung
Messung 19-21	Stomatitis, Neutropenie, CRP-Anstieg 61,1 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 22	Klinische Symptombesserung, CRP-Abfall 33,8 mg/l,

	Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 23	Routinevorstellung, Erkältung
Messung 24,25	Stomatitis, Neutropenie, CRP-Anstieg 93,1 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 26	Stomatitis, Neutropenie, CRP-Abfall 63,2 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 27	Klinische Symptombesserung, Neutropenie, CRP-Abfall 20,8 mg/l
Messung 28	Routinevorstellung, CRP 29,6 mg/l
Messung 29	Ösophagitis, Fieber, Neutropenie, CRP 210,0 mg/l, Therapie: Piperacillin/Tazobactam und Fluconazol
Messung 30,31	Ösophagitis, Fieber, CRP-Abfall 65,6 mg/l
Messung 32	Asymptomatische Neutropenie
Messung 33	Routinevorstellung
Messung 34	Asymptomatische Neutropenie
Messung 35	Routinevorstellung

Tabelle 20: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C9

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Auch bei der Analyse der Verläufe von Patient C9 zeigte sich die größte Übereinstimmung zwischen dem klinischen Verlauf und dem Verlauf von **Peak 6** und von **Peak 135**, die nachfolgend dargestellt sind.

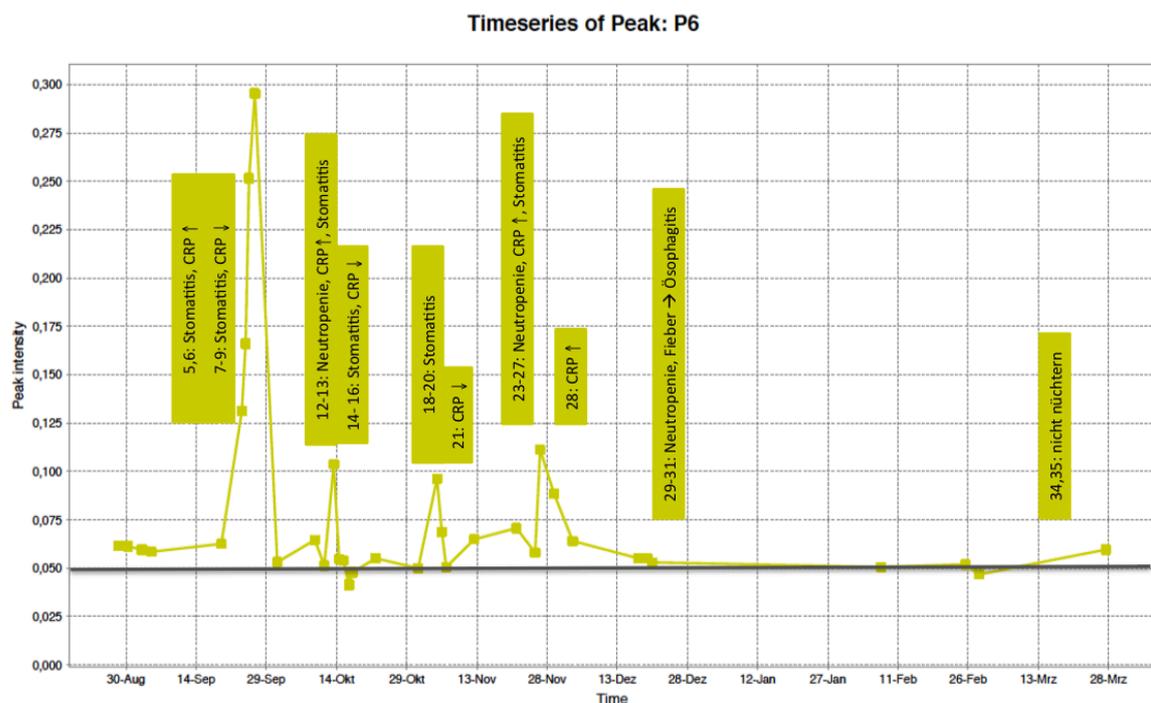


Abbildung 35: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 6 und dem klinischen Verlauf von Patient C9
Jedes gelbe Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen gelben Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

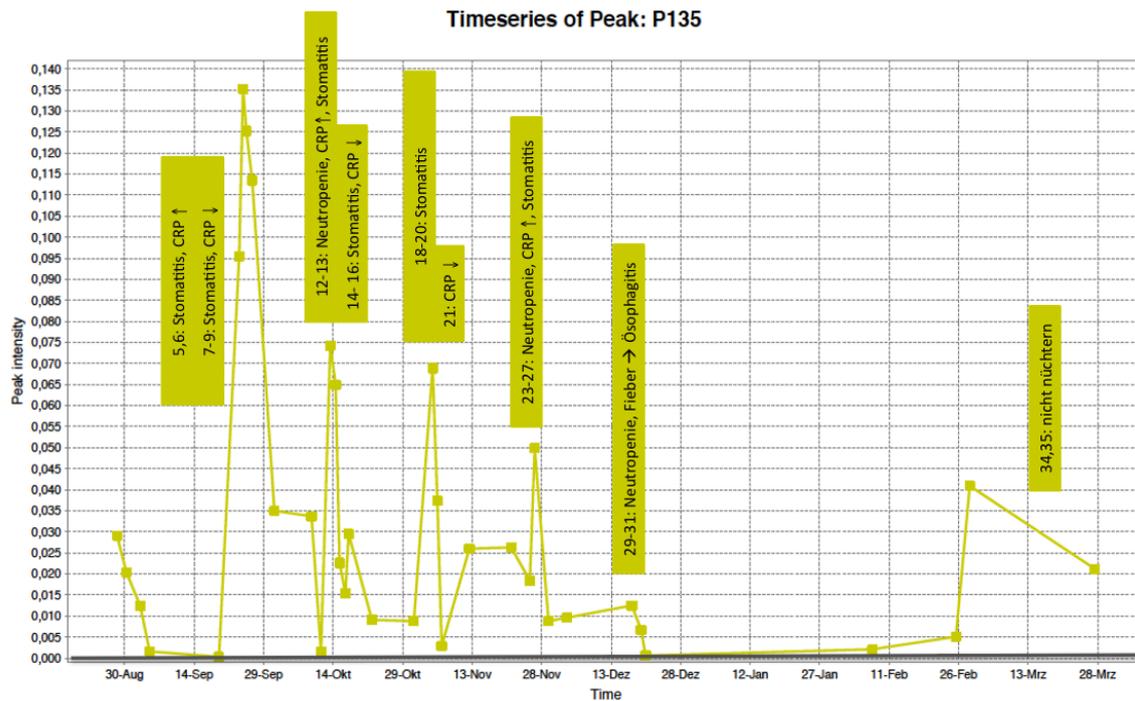


Abbildung 36: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 135 und dem klinischen Verlauf von Patient C9. Jedes gelbe Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezählten Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen gelben Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

Auch in den Verläufen von Peak 6 und Peak 135 konnte nur eine begrenzte Übereinstimmung zum klinischen Verlauf aufgezeigt werden. Zu den oben genannten Inflammationsereignissen mit klinisch imponierender Stomatitis zeigte sich zwar eine Erhöhung der Signalintensität im Vergleich zu den übrigen Messungen jedoch konnte kein Zusammenhang zur Höhe des Signalausgangs und dem laborchemischen CRP-Anstieg hergestellt werden. Zum Zeitpunkt des zweiten inflammatorischen Ereignisses (Messung 5-9) zeigte sich ein CRP-Anstieg auf ein Maximum 97,3 mg/l sowie klinisch eine Stomatitis. Eine ähnliche klinische und laborchemische Konstellation lag Ende November 2013 (Messung 24-26) vor. Dies ließ sich jedoch nicht anhand der Signalintensität reproduzieren. Zudem konnte das sechste inflammatorische Ereignis mit schwerer Ösophagitis (Messung 29-31) mit einem CRP-Anstieg auf 210 mg/l nicht anhand der Signalintensität identifiziert werden. Für die Ausreißer im Verlauf von Peak 135 (Messung 34 und 35) konnte keine eindeutige Erklärung gefunden werden, allerdings war der Patient zu den genannten Messungen nicht nüchtern. Als denkbare Ursache der Abweichungen ist daher eine Beeinflussung durch VOCs, die in Zusammenhang mit der Nahrungsaufnahme stehen, möglich.

4.6.10 Patient C10

Von Mai 2013 bis Januar 2014 wurden vom Patienten C10 insgesamt 22 Messungen erfasst. Innerhalb dieses Zeitrahmens konnten zwei Inflammationsereignisse erfasst werden.

Messung 1-4	Neuerkrankung, Fieber, CRP-Anstieg 13,7 mg/l
Messung 5	Asymptomatische Neutropenie, Z.n. Katheterimplantation
Messung 6	Routinevorstellung
Messung 7,8	Asymptomatische Neutropenie, Cytarabin s.c. (Messung 8)
Messung 9	Routinevorstellung
Messung 10	Asymptomatische Neutropenie
Messung 11-14	Routinevorstellung
Messung 15	Stomatitis, CRP 9,7 mg/l
Messung 16-18	Routinevorstellung, Cytarabin s.c. (Messung 17)
Messung 19-21	Asymptomatische Neutropenie, Cytarabin s.c. (Messung 20)
Messung 22	Routinevorstellung

Tabelle 21: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C10

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Im Hinblick auf den geschilderten klinischen Verlauf konnte kein Zusammenhang zu den Peak-Verläufen hergestellt werden. Zum Zeitpunkt der Messungen 1-4 sowie der Messung 15 zeigte sich im Vergleich zu den übrigen Messungen keine deutliche Veränderung der Peak-Intensität.

4.6.11 Patient C11

Der Patient C11 wurde über den Zeitraum März bis April 2014 beobachtet. Innerhalb dieses Zeitraums wurden insgesamt zehn Atemluftmessungen durchgeführt und es zeigten sich zwei Inflammationsereignisse.

Messung 1	Neuerkrankung
Messung 2	Gastroenteritis, Neutropenie, CRP-Anstieg Maximum 78,1 mg/l, Antibiose Piperacillin/Tazobactam
Messung 3,4	Gastroenteritis, Neutropenie, CRP rückläufig 40,1 mg/l, Antibiose Piperacillin/Tazobactam
Messung 5	Neutropenie, erneuter CRP-Anstieg 54,8 mg/l, Antibiose: Unacid
Messung 6	CRP-Anstieg 57,1 mg/l, Antibiose: Unacid
Messung 7,8	CRP rückläufig: 38,1 mg/l, Antibiose: Unacid
Messung 9,10	Subfebrile Temperaturen, Neutropenie, CRP-Anstieg 104,3 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam

Tabelle 22: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C11

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Im Hinblick auf die beiden Inflammationsereignisse Mitte März und Mitte April 2014 zeigten sich ähnlich wie in den vorherigen Analysen bei Patient C11 eine Übereinstimmung zu den Verläufen von **Peak 6**, **Peak 48**, **Peak 81** und **Peak 178**. Das erste inflammatorische Ereignis mit klinischen Hinweisen auf eine Gastroenteritis und einem CRP-Anstieg auf 78,1 mg/l trat Mitte März 2014 (Messung 2) auf. Die Peak-Intensität zeigte sich zum Zeitpunkt der Messung 2 in allen vier Verläufen deutlich erhöht. Nach Beginn der antibiotischen Therapie zeigte sich klinisch und laborchemisch ein Rückgang der Infektsymptomatik, was sich wiederum auch auf den Abfall der Peak-Intensität übertragen lässt. (Messung 3,4). Ähnlich verhält es sich für das zweite Inflammationsereignis (Messung 9,10). In den folgenden Grafiken wird dies noch einmal schematisch verdeutlicht.

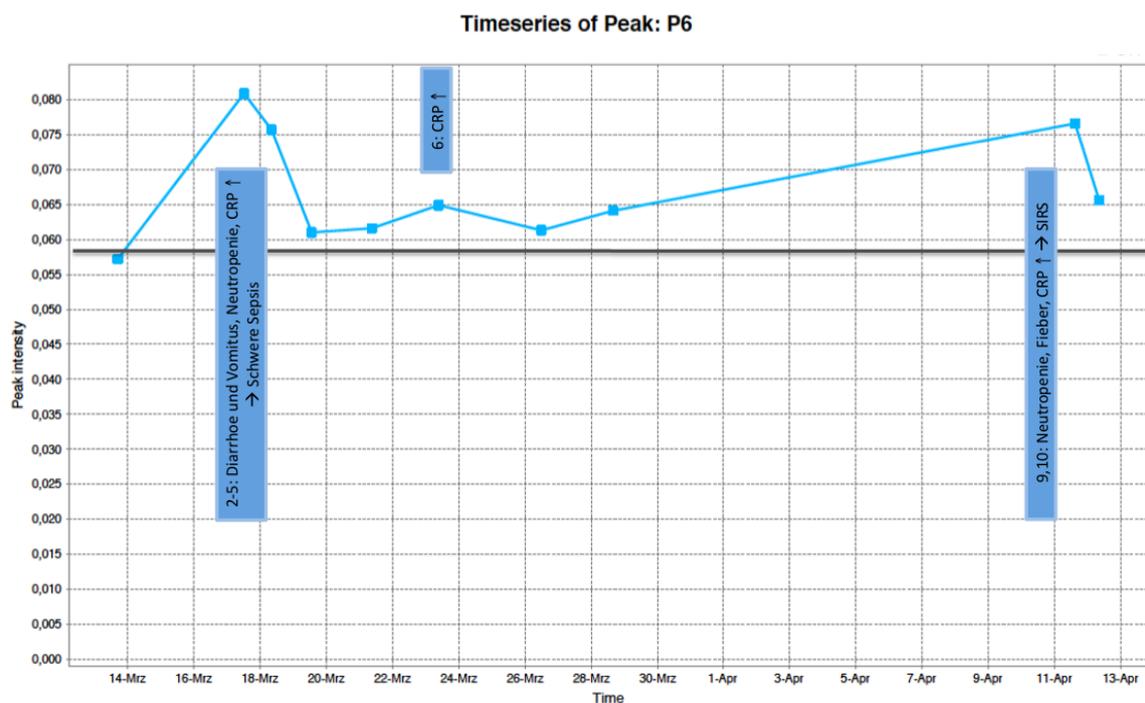


Abbildung 37: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 6 und dem klinischen Verlauf von Patient C11
Jedes blaue Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen blauen Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

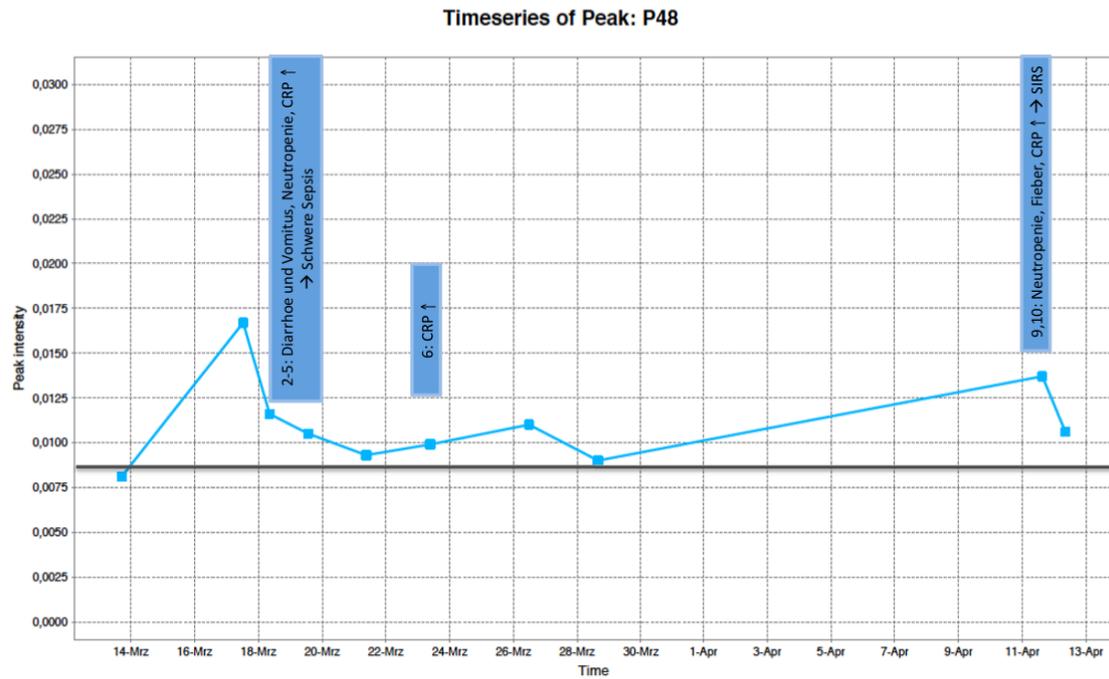


Abbildung 38: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 48 und dem klinischen Verlauf von Patient C11. Jedes blaue Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezählten Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen blauen Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

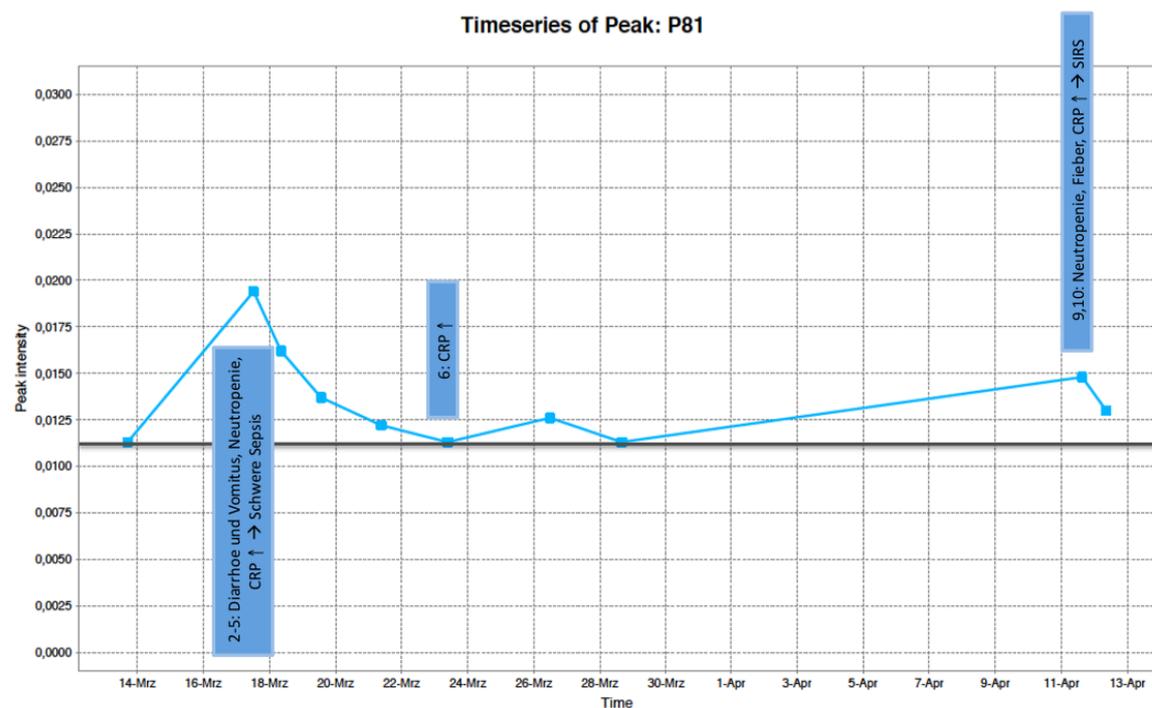


Abbildung 39: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 81 und dem klinischen Verlauf von Patient C11. Jedes blaue Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezählten Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen blauen Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

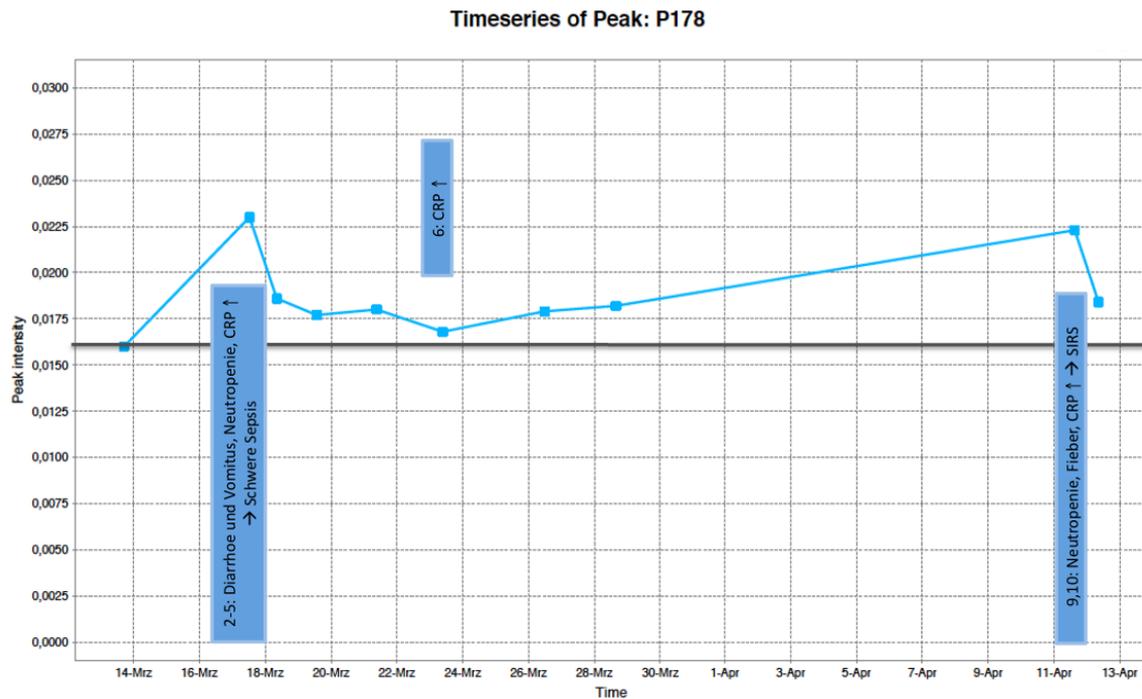


Abbildung 40: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 178 und dem klinischen Verlauf von Patient C11
Jedes blaue Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen blauen Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

4.6.12 Patient C12

Im Zeitraum von Anfang Oktober bis Ende Dezember 2013 wurden vom Patient C12 insgesamt 19 Messungen erfasst.

Messung 1	Neuerkrankung, B-Symptomatik, CRP-Anstieg 209,7 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 2,3	Neuerkrankung, B-Symptomatik, CRP-Abfall 125,8 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 4-9	Neuerkrankung, B-Symptomatik, CRP-Abfall 116,3 mg/l, Antibiose: Unacid, Katheter Implantation (Messung 8)
Messung 10	Routinevorstellung, CRP 5,9 mg/l
Messung 11	Asymptomatische Neutropenie
Messung 12-15	Routinevorstellung
Messung 16	Asymptomatische Neutropenie
Messung 17-19	Routinevorstellung

Tabelle 23: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C12

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Bei dem Patienten C12 ist zu beachten, dass das Inflammationsereignis zu Beginn der Atemluftmessung nicht als Fieber im Rahmen einer Infektion zu interpretieren ist. Vielmehr ist dies Ausdruck der B-Symptomatik im Rahmen der zugrunde liegenden Neuerkrankung. Der deutlichste Zusammenhang konnte anhand von **Peak 6** erbracht werden. Der Verlauf ist nachfolgend dargestellt.

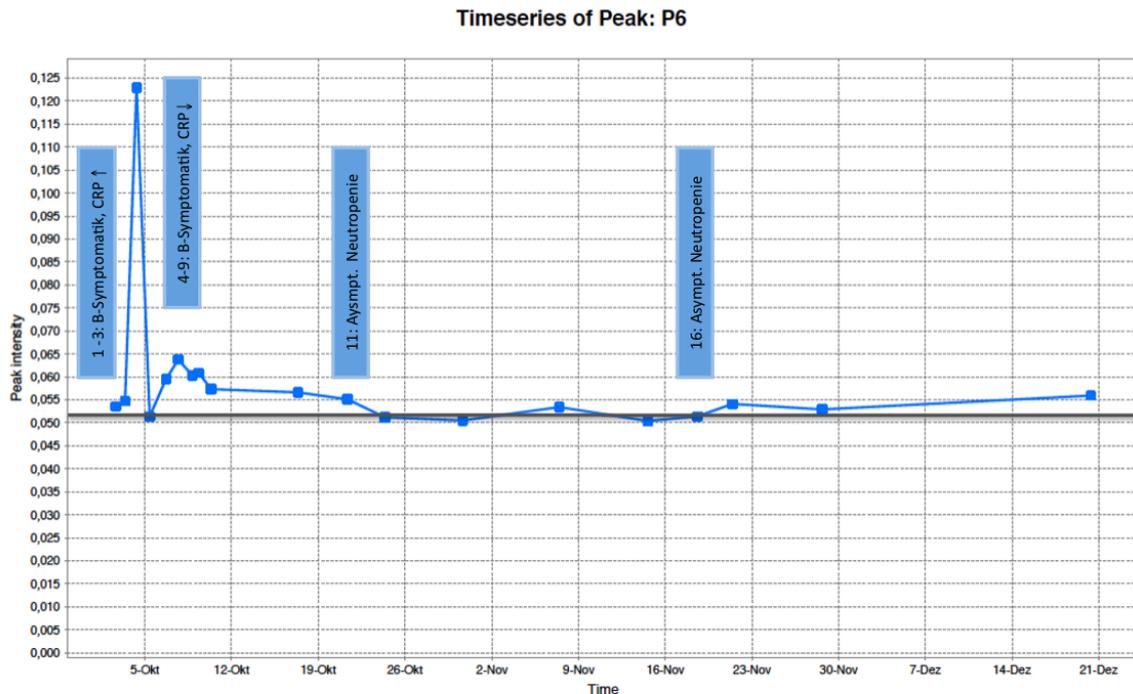


Abbildung 41: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 6 und dem klinischen Verlauf von Patient C12
 Jedes blaue Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen blauen Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

Die aufgetretene B-Symptomatik im Rahmen der Neuerkrankung Anfang Oktober (Messung 1-3) deckt sich weitestgehend mit einem Anstieg der Peak-Intensität. Man würde jedoch zum Zeitpunkt der Messung 1 mit Fieber und eine von CRP 209,7 mg/l den höchsten Ausschlag erwarten und im Verlauf der Messung 2 und 3 ein Absinken der Peak-Intensität. In Verlauf von Peak 6 zeigt sich jedoch der höchste Ausschlag zum Zeitpunkt der Messung 3. Zu diesem Zeitpunkt hatte sich klinisch und laborchemisch durch Einleitung der Antibiose mit Piperacillin/Tazobactam bereits eine Besserung eingestellt. In genannten Fall liegt ein verzögerter Anstieg der Peak-Intensität von Peak 6 vor.

Der weitere klinische und laborchemische Verlauf zwischen Mitte Oktober und Mitte Dezember gestaltete sich bei der Patientin, ähnlich wie der Verlauf von Peak 6, unauffällig.

Ein weiterer Zusammenhang konnte auch für den **Peak 48** sowie für den **Peak 138** aufgezeigt werden. Anfang Oktober, zum Zeitpunkt der aufgetretenen B-Symptomatik, zeigte sich auch hier ein verzögerter Intensitätsanstieg. Was jedoch bei der Betrachtung dieser Verläufe zudem auffällt, war eine deutliche Intensitätserhöhung Mitte Oktober (Messung 12). Anhand der Dokumentation konnte für diesen Ausreißer keine sinnvolle Erklärung gefunden werden, sodass wir von einer exogenen Quelle des VOC ausgehen.

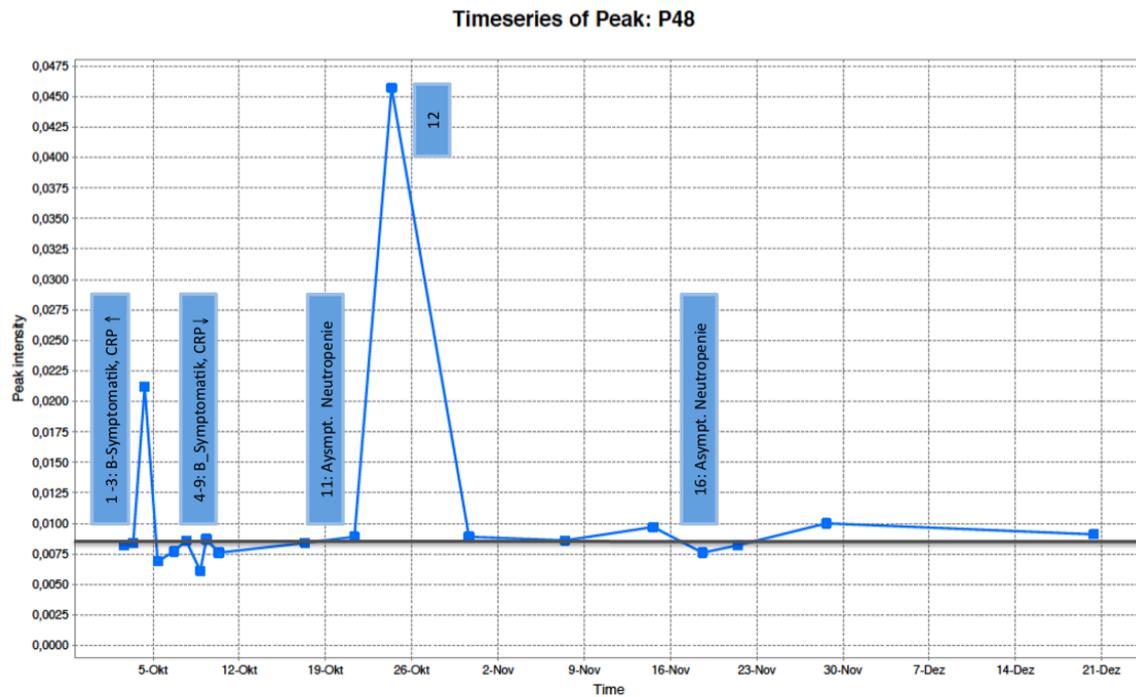


Abbildung 42: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 48 und dem klinischen Verlauf von Patient C12. Jedes blaue Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezählten Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen blauen Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

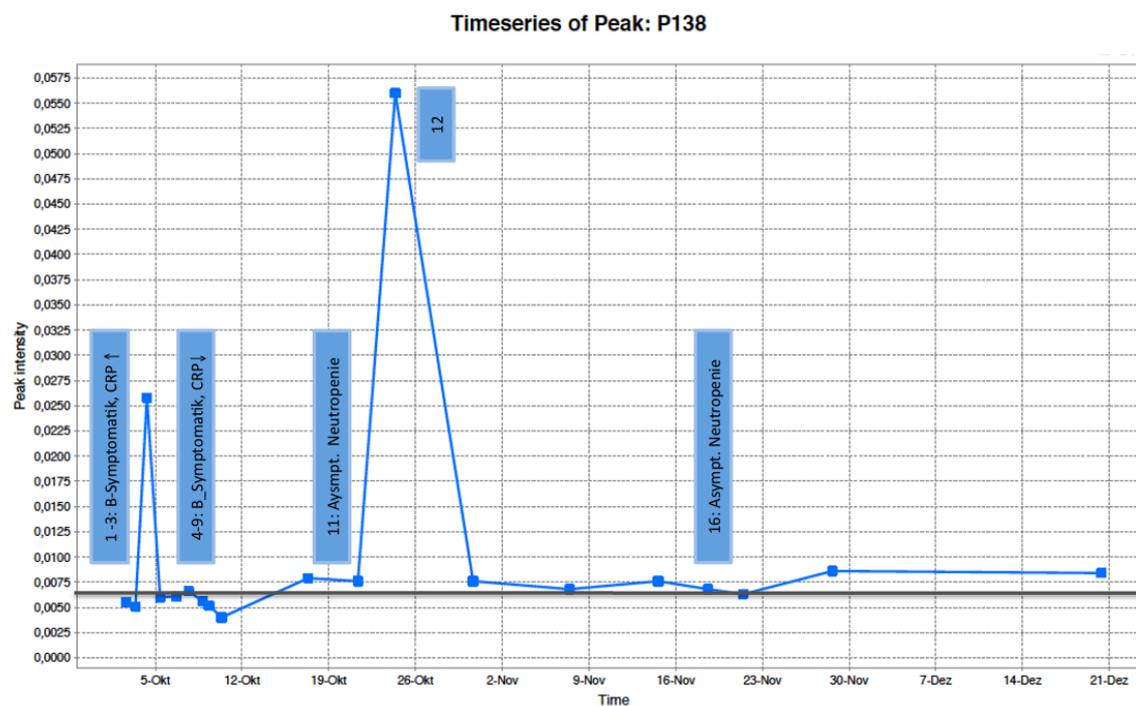


Abbildung 43: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 138 und dem klinischen Verlauf von Patient C12. Jedes blaue Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezählten Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in

Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen blauen Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

4.6.13 Patient C13

Vom Patient C13 wurden insgesamt 28 Messungen im Zeitraum Juni 2013 bis Februar 2014 in die Studie eingeschlossen.

Messung 1-4	Asymptomatische Neutropenie
Messung 5	Routinevorstellung
Messung 6	Asymptomatische Neutropenie
Messung 7,8	Fieber, CRP-Anstieg 12,9 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 9,10	Stomatitis
Messung 11	Stomatitis
Messung 12	Routinevorstellung
Messung 13	Asymptomatische Neutropenie
Messung 14	Routinevorstellung
Messung 15	Asymptomatische Neutropenie
Messung 16,17	Erkältung
Messung 18	Routinevorstellung
Messung 19	Erkältung
Messung 20	Routinevorstellung
Messung 21	Stomatitis
Messung 22	Routinevorstellung, CRP 5,9 g/dl
Messung 23	Asymptomatische Neutropenie
Messung 24	Routinevorstellung
Messung 25-28	Asymptomatische Neutropenie, Erkältung (Messung 26)

Tabelle 24: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C13

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Die Analyse konnte keinen visuellen Zusammenhang zwischen dem beschriebenen klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen herstellen.

4.6.14 Patient C14

Von dem Patient C14 wurden von Mai 2013 bis November 2013 elf Atemluftmessungen erfasst. Innerhalb dieser Zeitspanne trat Mitte Mai 2013 ein inflammatorisches Ereignis auf.

Messung 1	Routinevorstellung
Messung 2	Asymptomatische Neutropenie
Messung 3,4	Neutropenie, CRP-Anstieg 39,2 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 5	Neutropenie, CRP-Abfall 24,6 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 6,7	Neutropenie, CRP-Abfall 24,6 mg/l, Antibiose: Unacid
Messung 8-11	Routinevorstellung, Erkältung (Messung 9)

Tabelle 25: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C14

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Für den Patienten C14 konnte in der Analyse ein Zusammenhang zwischen dem klinischen Verlauf und dem Verlauf von **Peak 15** und **Peak 39** hergestellt werden.

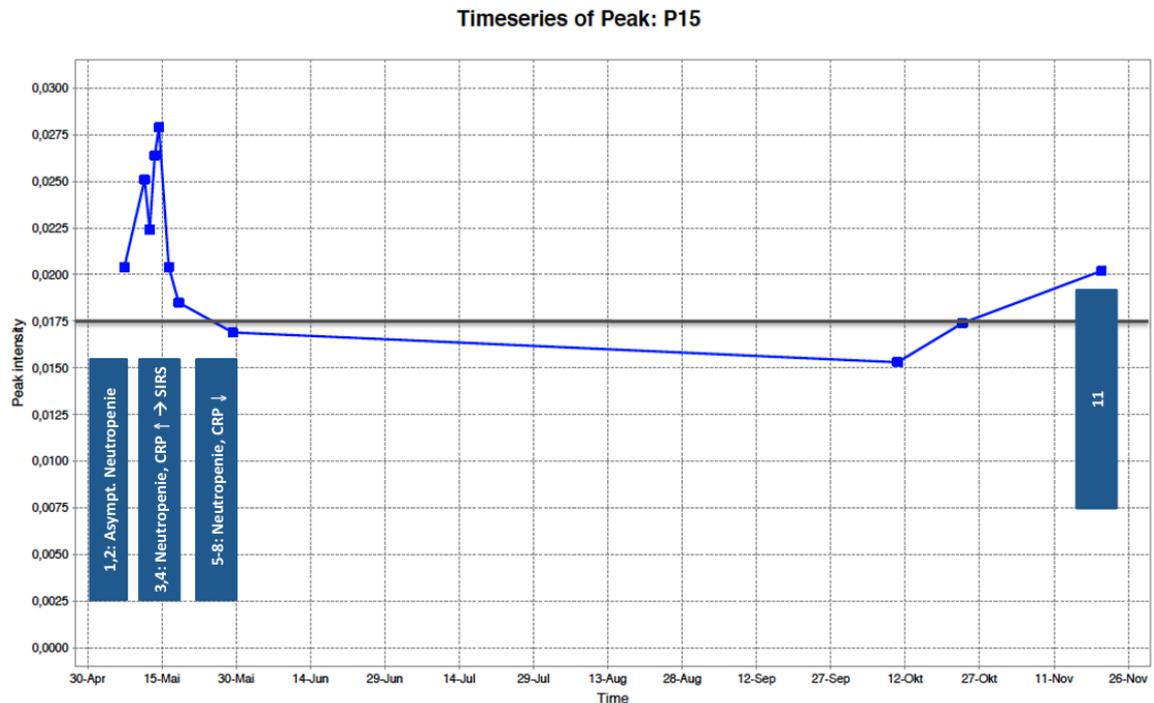


Abbildung 44: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 15 und dem klinischen Verlauf von Patient C14
 Jedes blaue Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen blauen Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

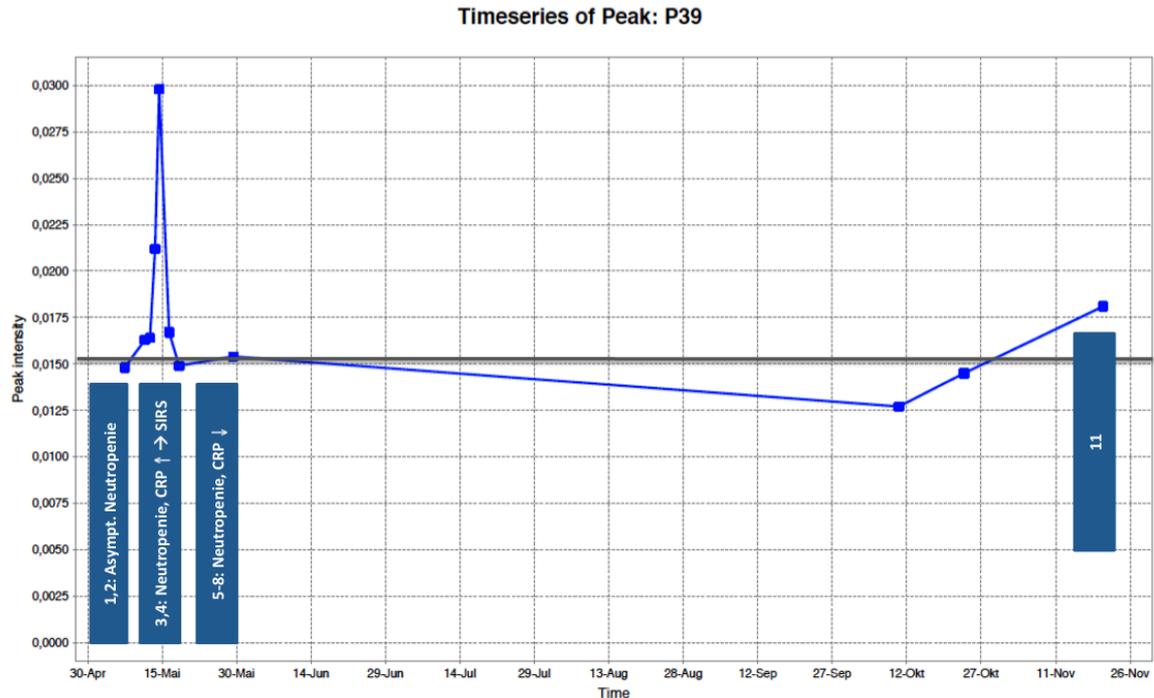


Abbildung 45: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 39 und dem klinischen Verlauf von Patient C14
Jedes blaue Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen blauen Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

Das inflammatorische Ereignis (Messung 3-7) spiegelt sich in der Intensitätserhöhung Mitte Mai sowohl bei Peak 15 als auch bei Peak 39 wider. In beiden graphischen Darstellungen zeigte sich zudem Mitte November (Messung 11) ein diskreter Anstieg der Intensität (Messung 11). Gründe für diesen Anstieg konnten in den erfassten Einflussgrößen nicht gefunden werden.

4.6.15 Patient C15

Die Atemluftmessungen von dem Patient C15 wurden über den Zeitraum April 2013 bis Januar 2014 durchgeführt. Innerhalb dieses Zeitraums konnten acht Inflammationsereignisse dokumentiert werden.

Messung 1	Routinevorstellung
Messung 2	Diarrhoe, Neutropenie, CRP-Anstieg 24,6 mg/l
Messung 3	Fieber, Stomatitis, Pharyngitis, Neutropenie, CRP-Anstieg 143,2 mg/l, Antibiose: Meropenem, Teicoplanin
Messung 4,5	Fieber, Stomatitis, Pharyngitis, Neutropenie, CRP-Abfall 92,4 mg/l, Antibiose: Meropenem, Teicoplanin
Messung 6,7	Neutropenie, CRP-Abfall 68,4 mg/l, Antibiose: Meropenem, Teicoplanin, Antimykotische Therapie: Amphotericin B
Messung 8,9	Neutropenie, erneuter CRP-Anstieg 99,1 mg/l,

	Antibiose: Meropenem, Teicoplanin
Messung 10,11	Diarrhoe, Neutropenie, CRP-Anstieg 107,9 mg/l, Antibiose: Meropenem + Teicoplanin, Antimykotische Therapie: Caspofungin
Messung 12,13	Neutropenie, CRP-Abfall 59,2 mg/l, Antibiose: Meropenem + Teicoplanin → Ciprofloxacin
Messung 14	Fieber, CRP-Anstieg 117,3 mg/l, Antibiose: Ciprofloxacin
Messung 15	CRP 110,9 mg/l, Antibiose: Ciprofloxacin
Messung 16,17	Konjunktivitis, CRP 73,8 mg/l
Messung 18,19	Konjunktivitis, Fieber, CRP-Anstieg 134,1 mg/l, Antibiose: Meropenem, Antivirale Therapie: Aciclovir
Messung 20-23	Konjunktivitis, Herpes labialis, CRP-Abfall 67,3 mg/l, Antibiose: Meropenem, Antivirale Therapie: Aciclovir, Virus PCR: Nachweis Herpes simplex
Messung 24,25	Herpes labialis, CRP-Abfall 4,3 mg/l, Antibiose: Unacid Antivirale Therapie: Aciclovir
Messung 26	Routinevorstellung
Messung 27	Stomatitis, Pharyngitis, Ösophagitis, Neutropenie, CRP-Anstieg 105,5 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 28	Stomatitis, Pharyngitis, Ösophagitis, Neutropenie, CRP-Abfall 97,4 mg/l Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 29-31	Neutropenie, CRP-Abfall 35,9 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 32	Erbrechen, CRP 52,7 mg/l
Messung 33-36	Neutropenie, CRP-Abfall 8,1 mg/l, Antibiose: Ciprofloxacin
Messung 37-39	Asymptomatische Neutropenie
Messung 40	Routinevorstellung
Messung 41,42	Neutropenie, CRP-Anstieg 30,2 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 43	Fieber, Hypotonie, Neutropenie, CRP-Anstieg 145,9 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam, Blutkulturen: Nachweis E.coli
Messung 44	Fieber, Hypotonie, Neutropenie, CRP 130,0 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 45	Stomatitis, Neutropenie, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam, Antivirale Therapie: Aciclovir, Antimykotische Therapie: Fluconazol
Messung 46,47	Neutropenie, CRP-Abfall 77,8 mg/l, Antibiose: Unacid
Messung 48,49	Routinevorstellung, CRP 11,5 mg/l
Messung 50,51	Neutropenie, CRP 16,4 mg/l
Messung 52-54	Konjunktivitis, Fieber, Neutropenie, CRP-Anstieg 206,4 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 55	Konjunktivitis, Fieber, Neutropenie, CRP-Abfall 120,2 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 56	Neutropenie, CRP-Abfall 60,3 mg/l
Messung 57-59	Diarrhoe, Neutropenie, CRP-Anstieg 191,3 mg/l,

	Antibiose: Piperacillin/Tazobactam, Vancomycin
Messung 60-62	Neutropenie, CRP-Abfall 98,2 mg/l, Antibiose: Ciprofloxacin, Vancomycin
Messung 63,64	Erkältung, Neutropenie, CRP-Abfall 16,5 mg/l
Messung 65-69	Routinevorstellung, Cytarabin s.c. (Messung 66, 68)
Messung 70	Routinevorstellung, CRP 12,1 mg/l
Messung 71-76	Routinevorstellung, Erkältung (Messung 73)

Tabelle 26: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C15

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Die Analyse der Peak-Verläufe im Hinblick auf den klinischen Verlauf erbrachte bei dem Patienten C15 eine eingeschränkte Korrelation zu dem Verlauf von **Peak 135**. Dieser Zusammenhang ist im Folgenden dargestellt.

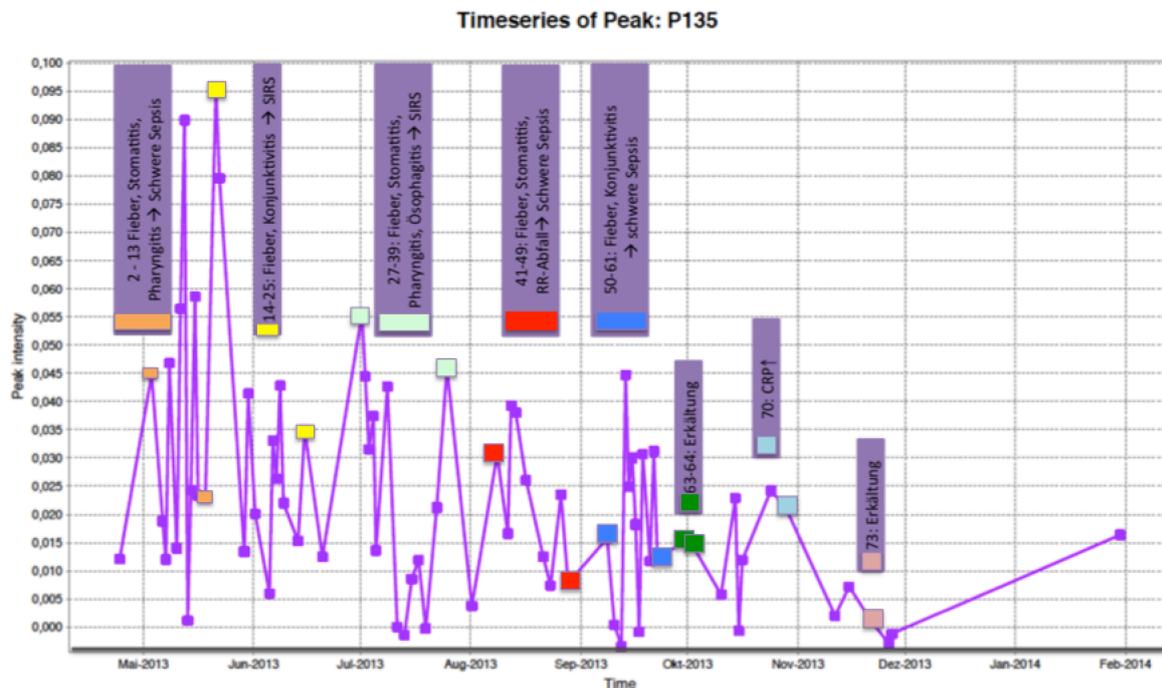


Abbildung 46: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 135 und dem klinischen Verlauf von Patient C15. Jedes lila Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezählten Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen lila Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

Der Verlauf von Peak 135 zeigte zwar eine Erhöhung der Intensität mit weitestgehender Übereinstimmung zu den oben beschriebenen acht inflammatorischen Ereignissen, jedoch wurde die Analyse durch die Tatsache erschwert, dass der Patient fast während des gesamten Untersuchungszeitraums klinische und laborchemische Zeichen einer Inflammation aufwies. Zeiten ohne klinischen Zeichen einer Inflammation waren selten und betrafen nur die Messungen (1,26,40). Zudem findet sich eine sehr große Schwankungsbreite der Intensitäten innerhalb der jeweiligen Ereignisse. Diese

Schwankungen ließen sich mit Hilfe der Dokumentation nicht eindeutig nachvollziehen. Betrachtet man nun die Höhe der Peak-Intensität der einzelnen Inflammationsereignisse fallen ebenfalls deutliche Unterschiede auf. Zum Zeitpunkt der Inflammationsereignisse Anfang September (08.09.13- 16.09.13, Messung 50-56) sowie Mitte September bis Anfang Oktober (17.09.13- 02.10.13, Messung 57-64) zeigte sich ein laborchemischer Anstieg des CRP-Wertes auf ein Maximum von 206,4 mg/l bzw. 191,3 mg/l. Zu den genannten Zeiträumen würde man ebenso im Intensitätsverlauf den höchsten Ausschlag erwarten. Der höchste Ausschlag im Intensitätsverlauf zeigte sich jedoch im Mai 2013 im Zeitraum 03.05.13- 21.05.13 (Inflammatorisches Ereignis 1 und 2). Unter Berücksichtigung der oben genannten Punkte sind somit anhand des Kurvenverlaufs keine lineare Korrelation mit der schwere und den klinischen Verlauf zu treffen.

4.6.16 Patient C16

Von dem Patienten C16 wurde über den Zeitraum von März 2013 bis Februar 2014 insgesamt 21 Messungen erfasst. Innerhalb dieses Zeitraums konnten zwei Fieberereignisse verzeichnet werden.

Messung 1	Asymptomatische Neutropenie
Messung 2,3	Fieber, Neutropenie, CRP-Anstieg 73,5 mg/l, Antibiose: Cefaclor
Messung 4	Neutropenie, CRP-Abfall 16,7 mg/l, Antibiose: Cefaclor
Messung 5-7	Routinevorstellung
Messung 8	Erkältung
Messung 9-14	Routinevorstellung
Messung 15	Erkältung
Messung 16	Routinevorstellung
Messung 17-19	Fieber, Neutropenie, CRP-Anstieg 89,3 mg/l, Antibiose: Ciprofloxacin
Messung 20	Fieber, Neutropenie, CRP-Abfall 23,4 mg/l, Antibiose: Ciprofloxacin
Messung 21	Routinevorstellung

Tabelle 27: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C16

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Die Analyse konnte zwischen **Peak 6**, **Peak 81** und **Peak 178** einen Zusammenhang zum klinischen Verlauf herstellen. Im Folgenden sind die Peak-Verläufe und der korrelierende klinische Verlauf in einer Grafik dargestellt.

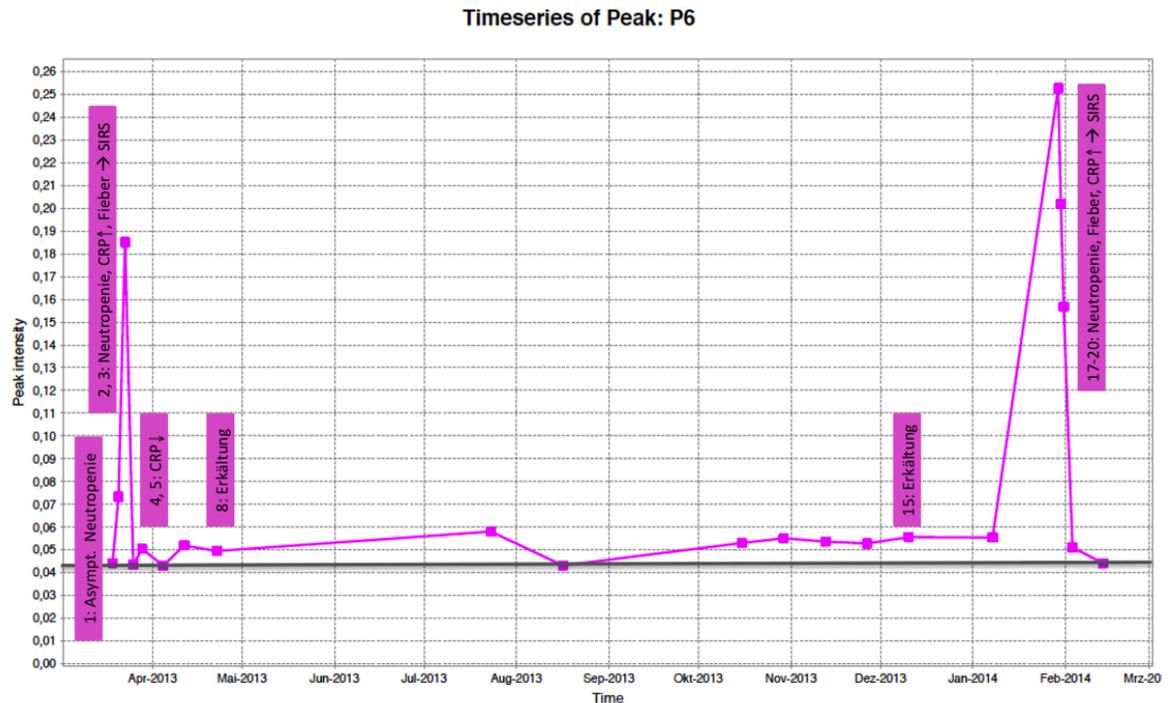


Abbildung 47: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 6 und dem klinischen Verlauf von Patient C16
 Jedes rosa Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen rosa Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

Anhand von Peak 6 ist der Zusammenhang zwischen den beiden Verläufen deutlich zu erkennen. Die Intensität von Peak 6 ist Mitte April 2013 (Messung 2,3) und Ende Januar/Anfang Februar 2014 (Messung 17-19) im Vergleich zu den Peak Intensitäten der übrigen Messungen deutlich erhöht. Dieser Anstieg der Peak-Intensität deckt sich mit den beiden dokumentierten Fieberereignissen.

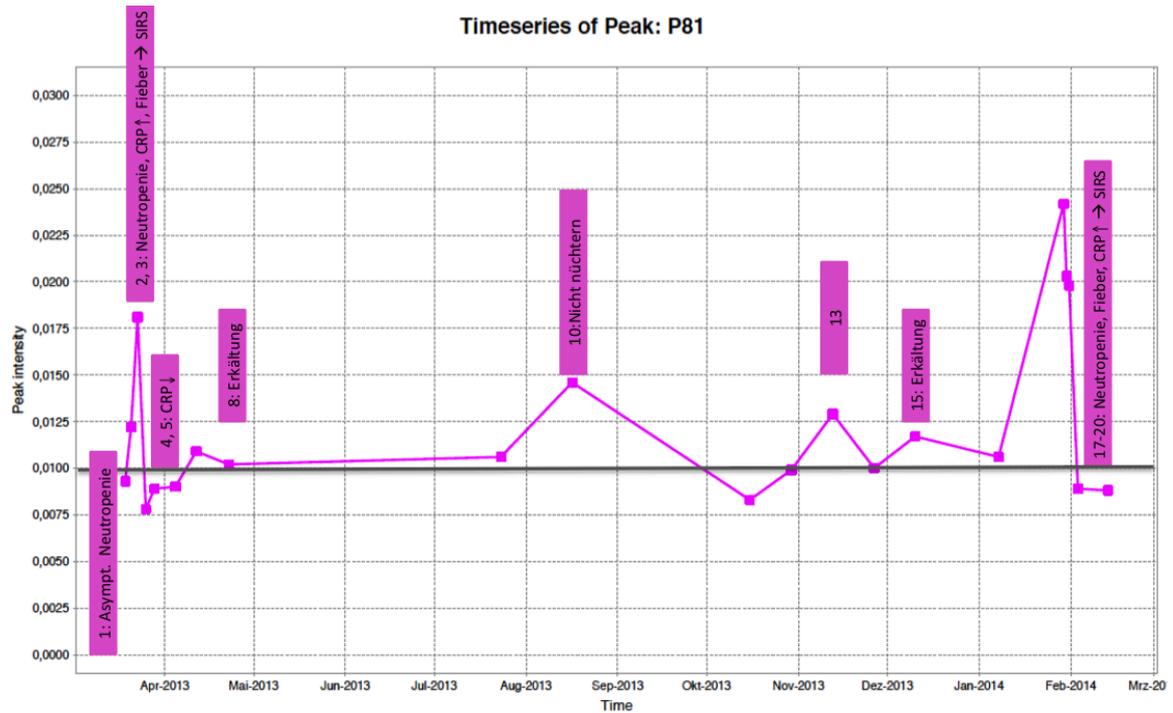


Abbildung 48: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 81 und dem klinischen Verlauf von Patient C16. Jedes rosa Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen rosa Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

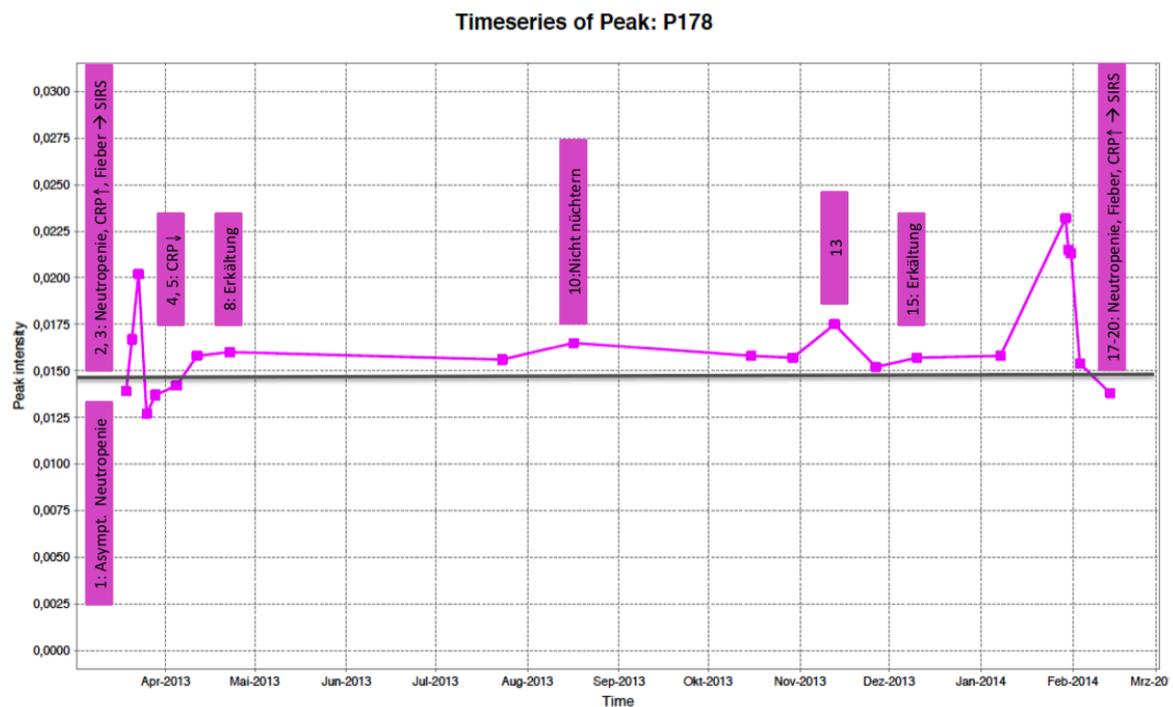


Abbildung 49: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 178 und dem klinischen Verlauf von Patient C16. Jedes rosa Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen rosa Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

Ähnlich wie bei Peak 6 findet sich auch bei **Peak 81** und **Peak 178** eine visuelle Korrelation zum klinischen Verlauf. Im Unterschied zu Peak 6 fallen bei Peak 81 und Peak 178 Ausreißer auf. Zum Zeitpunkt der Messung 10 und der Messung 13 zeigt sich eine erhöhte Peak-Intensität. Anhand der Dokumentation konnte festgestellt werden, dass der Patient zum Zeitpunkt der Messung 10 möglicherweise nicht lange genug nüchtern war. Eine Erklärung für den erhöhten Ausschlag Mitte November 2013 (Messung 13) ließ sich anhand der Dokumentation jedoch nicht finden.

4.6.17 Patient C17

Der Patient C17 wurde über den Zeitraum von Juni 2013 bis März 2014 beobachtet. Innerhalb des genannten Zeitraums traten drei inflammatorische Ereignisse auf.

Messung 1-3	Routinevorstellung
Messung 4	Fieber, Neutropenie, CRP-Anstieg 24,7 mg/l
Messung 5	Stomatitis, Fieber, Neutropenie, CRP-Anstieg 29,6 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam, Gentamicin
Messung 6-8	Stomatitis, Neutropenie, CRP-Abfall 7,7 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam, Gentamicin
Messung 9-11	Asymptomatische Neutropenie
Messung 12-17	Routinevorstellung
Messung 18	Stomatitis, Neutropenie, CRP-Anstieg 8,8 mg/l
Messung 19-21	Routinevorstellung
Messung 22	Asymptomatische Neutropenie
Messung 23	Routinevorstellung
Messung 24-25	Bronchopneumonie, Fieber, Neutropenie, CRP-Anstieg 106,1 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 26	Bronchopneumonie, Fieber, Neutropenie, CRP-Abfall 99,3 mg/l Antibiose: Meropenem, Clarithromycin

Tabelle 28: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C17

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Für den Patienten C17 erbrachte die Analyse einen Zusammenhang zu den Peak-Verläufen von **Peak 6**, **Peak 48** und **Peak 81**. Dieser Zusammenhang wird in der nachfolgenden Grafik dargestellt.

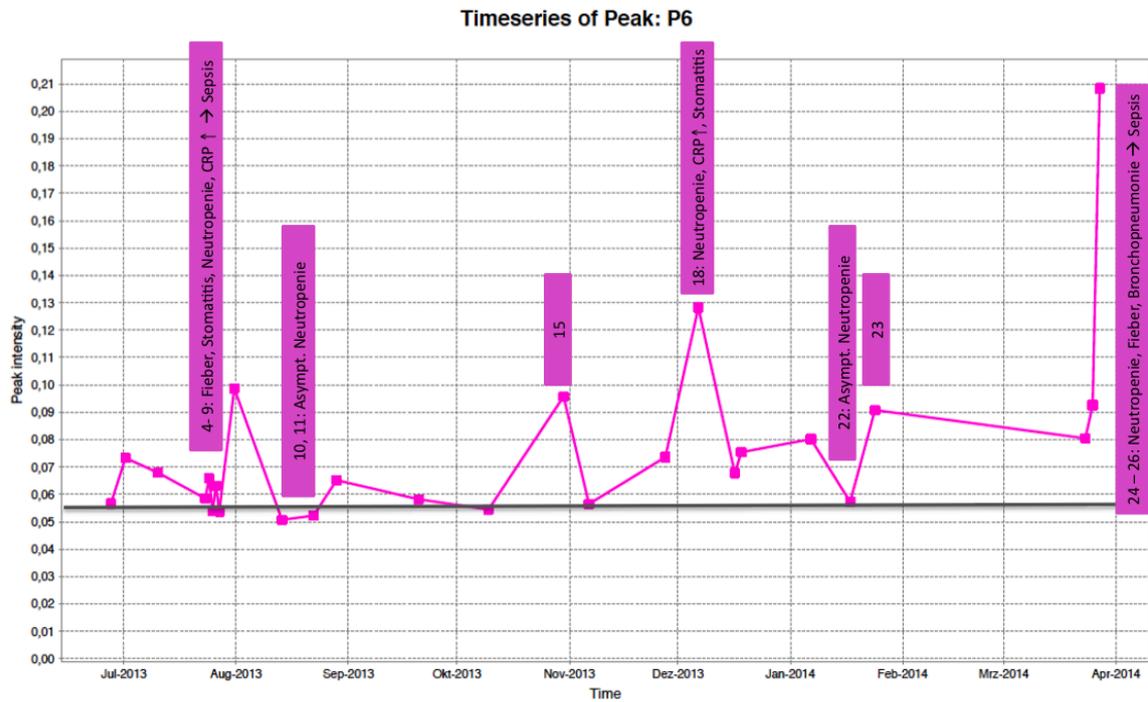


Abbildung 50: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 6 und dem klinischen Verlauf von Patient C17. Jedes rosa Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezählten Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen rosa Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

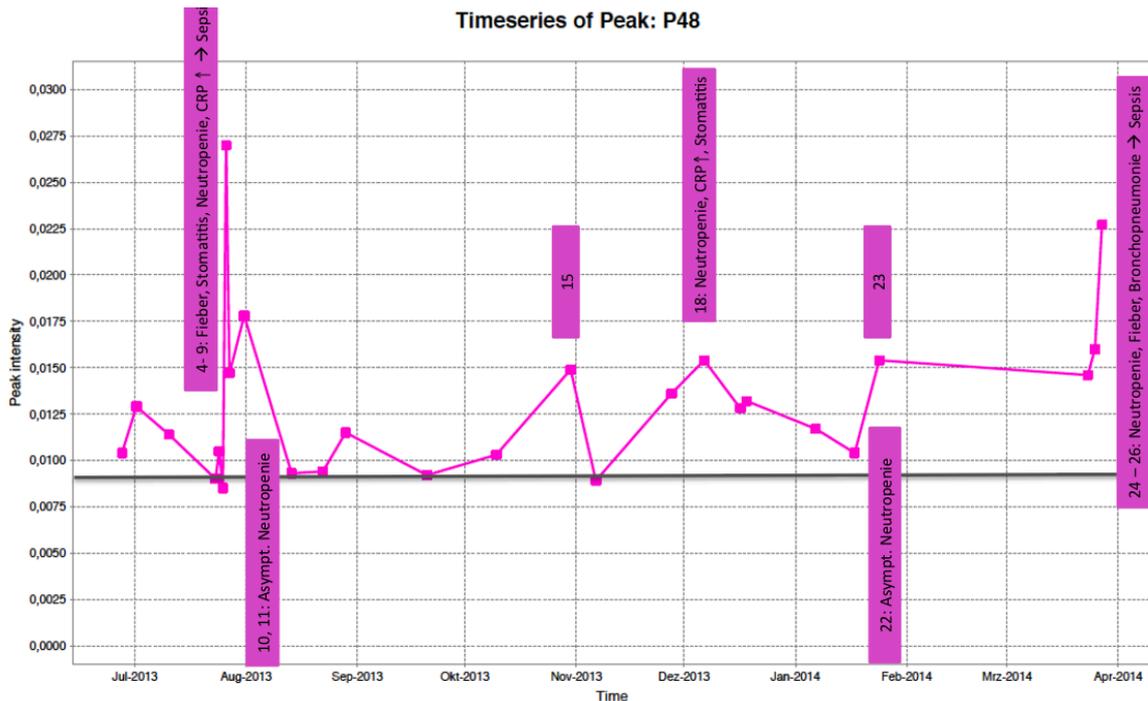


Abbildung 51: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 48 und dem klinischen Verlauf von Patient C17. Jedes rosa Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezählten Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen rosa Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

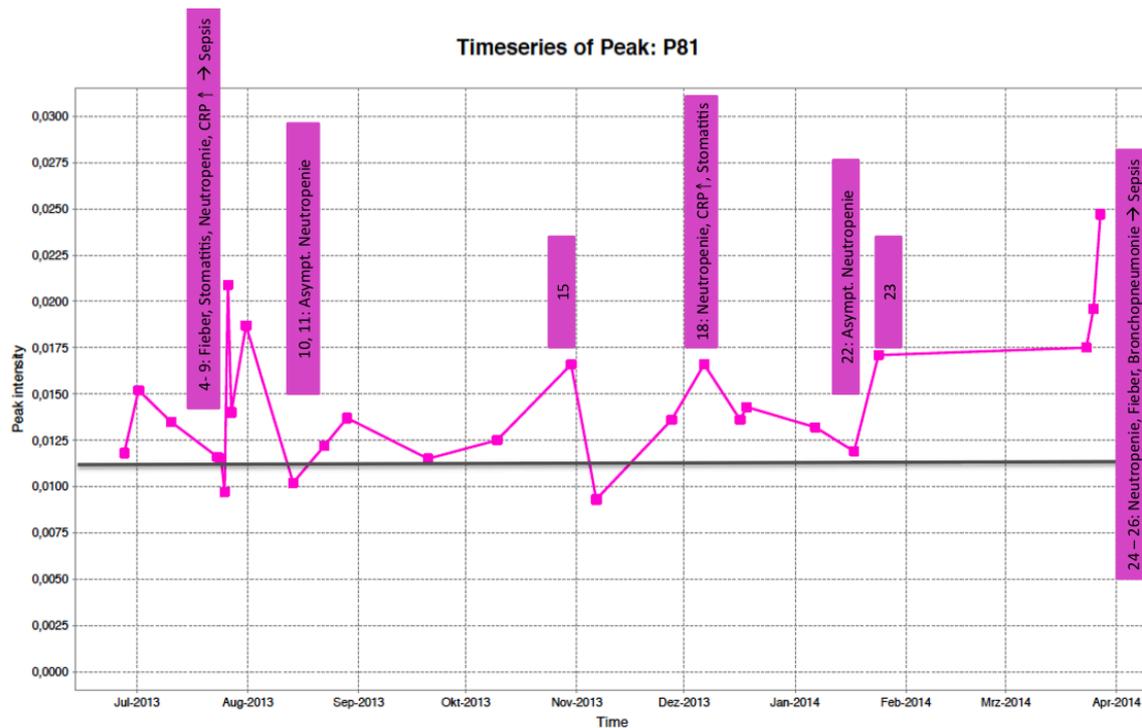


Abbildung 52: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 81 und dem klinischen Verlauf von Patient C17
 Jedes rosa Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen rosa Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

Aus den Grafiken wird ersichtlich, dass sich zu den Zeitpunkten der drei Inflammationsereignisse eine, wenn auch verzögerte, erhöhte Peak-Intensität zeigt. Im Zeitraum des ersten inflammatorischen Ereignisses würde man den höchsten Ausschlag zum Zeitpunkt der Messung 5 erwarten. Jedoch zeigt sich dieser bei Peak 6 zum Zeitpunkt der Messung 9 und bei Peak 48 und 81 zum Zeitpunkt der Messung 7. Zu diesen Zeitpunkten hatte sich bereits eine klinische und laborchemische Symptombesserung eingestellt. Somit gelangt man zu der Annahme, dass sich ein Anstieg der Peak-Intensität erst zeitverzögert nachweisen lässt. Dies lässt sich exemplarisch auch auf das dritte Inflammationsereignis übertragen. Zum Zeitpunkt der Messungen 24 bis 26 litt der Patient unter einer Bronchopneumonie. Bei Betrachtung des Kurvenverlaufs zeigte sich zu diesen Zeitpunkten ebenfalls erst im Verlauf ein Anstieg der Intensität. Ein weiterer zu diskutierender Punkt sind die zwei Ausreißer zum Zeitpunkt der Messung 15 und 23. Eine mögliche Erklärung für die erhöhte Intensität konnte anhand der vorliegenden Dokumentation nicht gefunden werden. Somit muss auch hier von einer exogenen Quelle der VOC ausgegangen werden.

4.6.18 Patient C18

Der Patient C18 wurde über den Zeitraum November 2013 bis März 2014 in die Studie eingeschlossen. Im klinischen und laborchemischen Verlauf zeigten sich zwei inflammatorische Ereignisse.

Messung 1-3	Routinevorstellung
Messung 4-6	Asymptomatische Neutropenie
Messung 7-10	Routinevorstellung
Messung 11-13	Asymptomatische Neutropenie
Messung 14	Fieber, CRP-Anstieg 9,4 mg/l, Cytarabin s.c.
Messung 15	Routinevorstellung
Messung 16	Asymptomatische Neutropenie
Messung 17	Routinevorstellung
Messung 18-23	Asymptomatische Neutropenie
Messung 24	Neutropenie, CRP-Anstieg 39,0 mg/l

Tabelle 29: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C18

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Unter Beachtung des klinischen Verlaufs von Patient C18 konnte kein Zusammenhang zu den genannten Peak-Verläufen hergestellt werden. Zumindest das erste Fieberereignis war wahrscheinlich eine milde Inflammation im Rahmen der Cytarabingabe und stellt somit keine echte systemische Inflammation dar.

4.6.19 Patient C19

Von Patient C19 wurde über den Zeitraum April 2013 bis März 2014 insgesamt 14 Atemluftmessungen in die Studie eingeschlossen. Bei dem Patienten trat Mitte Dezember sowie Ende März ein Inflammationsereignis auf.

Messung 1,2	Routinevorstellung, Katheter Implantation (Messung 1)
Messung 3,4	Asymptomatische Neutropenie
Messung 5	Routinevorstellung
Messung 6	Asymptomatische Neutropenie
Messung 7,8	Routinevorstellung
Messung 9	Neutropenie, Subfebrile Temperaturen, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 10	Neutropenie, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 11	Routinevorstellung
Messung 12	Asymptomatische Neutropenie
Messung 13	Pharyngitis, Fieber, CRP-Anstieg 10,1 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 14	Pharyngitis, Fieber, CRP-Abfall 6,6 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam

Tabelle 30: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C19

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Die Analyse der oben angeführten Peaks unter Beachtung des klinischen Verlaufs von Patient C19 konnte keinen Zusammenhang aufzeigen.

4.6.20 Patient C20

Von dem Patient C20 konnte im Zeitraum vom Mai 2013 bis Februar 2014 nur ein Fieberereignis dokumentiert werden.

Messung 1	Neuerkrankung
Messung 2,3	Fieber, Neutropenie, CRP-Anstieg 24,8 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 4	Fieber, Neutropenie, CRP-Abfall 20,2 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 5	Routinevorstellung
Messung 6	Asymptomatische Neutropenie
Messung 7	Routinevorstellung, CRP 9,6 mg/l
Messung 8	Routinevorstellung, CRP 6,5 mg/l
Messung 9-13	Routinevorstellung, Chemotherapie (Messung 11,12)
Messung 14-19	Routinevorstellung, RTx

Tabelle 31: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C20

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Bei dem Patient C20 zeigte die Analyse einen Zusammenhang zum Verlauf von **Peak 6**. Für das Inflammationsereignis Ende Juni (Messung 2-4) konnte ein sichtbarer Anstieg der Intensität nachgewiesen werden. Die beiden weiteren Ausschläge Mitte Dezember (Messung 9-12) und Ende Januar/Anfang Februar (Messung 14-19) stehen zeitlich in Zusammenhang mit der Chemo- und Radiotherapie. Unter Vernachlässigung der möglicherweise therapiebedingten Ausreißer zeigte sich somit ein deutlich zu erkennender Zusammenhang zwischen dem oben beschriebenen klinischen Verlauf und dem Verlauf von Peak 6.

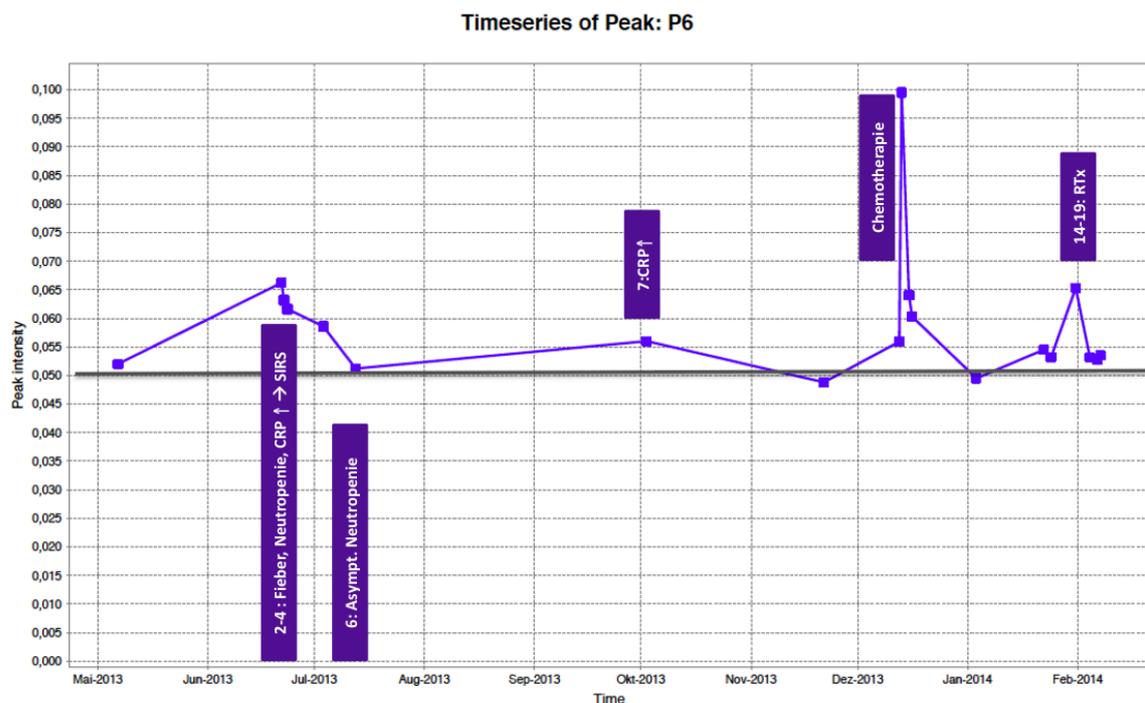


Abbildung 53: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 6 und dem klinischen Verlauf von Patient C20
Jedes lila Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähltem Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen lila Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

4.6.21 Patient C21

Von dem Patient C21 wurden insgesamt 49 Messungen im Zeitraum Juli 2013 bis Februar 2014 in die Studie eingeschlossen. Es konnten fünf Fieberereignisse erfasst werden.

Messung 1	Asymptomatische Neutropenie
Messung 2	Fieber, Neutropenie
Messung 3,4	Stomatitis, Fieber, Neutropenie, CRP-Anstieg 64,5 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 5	Stomatitis, Neutropenie, CRP-Abfall, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam

Messung 6	Stomatitis, Fieber, CRP-Abfall 17,2 mg/l,
Messung 7	Routinevorstellung, CRP 9,3 mg/l
Messung 8	Routinevorstellung
Messung 9-11	Stomatitis, Neutropenie, CRP-Anstieg 47,7 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 12,13	Routinevorstellung
Messung 14	Asymptomatische Neutropenie
Messung 15	Neutropenie, CRP-Anstieg 44,7 mg/l
Messung 16	Fieber, Neutropenie, CRP-Anstieg 54,2 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 17,18	Fieber, Neutropenie, CRP-Abfall 24,5 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 19	Neutropenie, CRP-Abfall 12,7 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 20,21	Routinevorstellung
Messung 22,23	Stomatitis, CRP-Anstieg 18,4 mg/l
Messung 24,25	Stomatitis, Neutropenie, CRP-Anstieg 33,9 mg/l, Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 26,27	Stomatitis, Fieber, CRP-Anstieg 169,1 mg/l, Antibiose: Gentamicin Diarrhoe, Nachweis von C.difficile
Messung 28	CRP-Abfall 83,5 mg/l, Antibiose: Vancomycin p.o.
Messung 29-32	Routinevorstellung, Antibiose: Vancomycin p.o.
Messung 33-37	Stomatitis, Neutropenie, CRP-Anstieg 50,3 mg/l
Messung 38-41	Stomatitis, Fieber, Neutropenie, CRP-Anstieg 120,2 mg/l (Messung 41), Antibiose: Piperacillin/Tazobactam
Messung 42-49	Routinevorstellung

Tabelle 32: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C21

Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und den Peak-Verläufen:

Bei dem Patient C21 konnte für die fünf Fieberereignisse ebenfalls ein Zusammenhang zu dem Verlauf von **Peak 6** aufgezeigt werden.

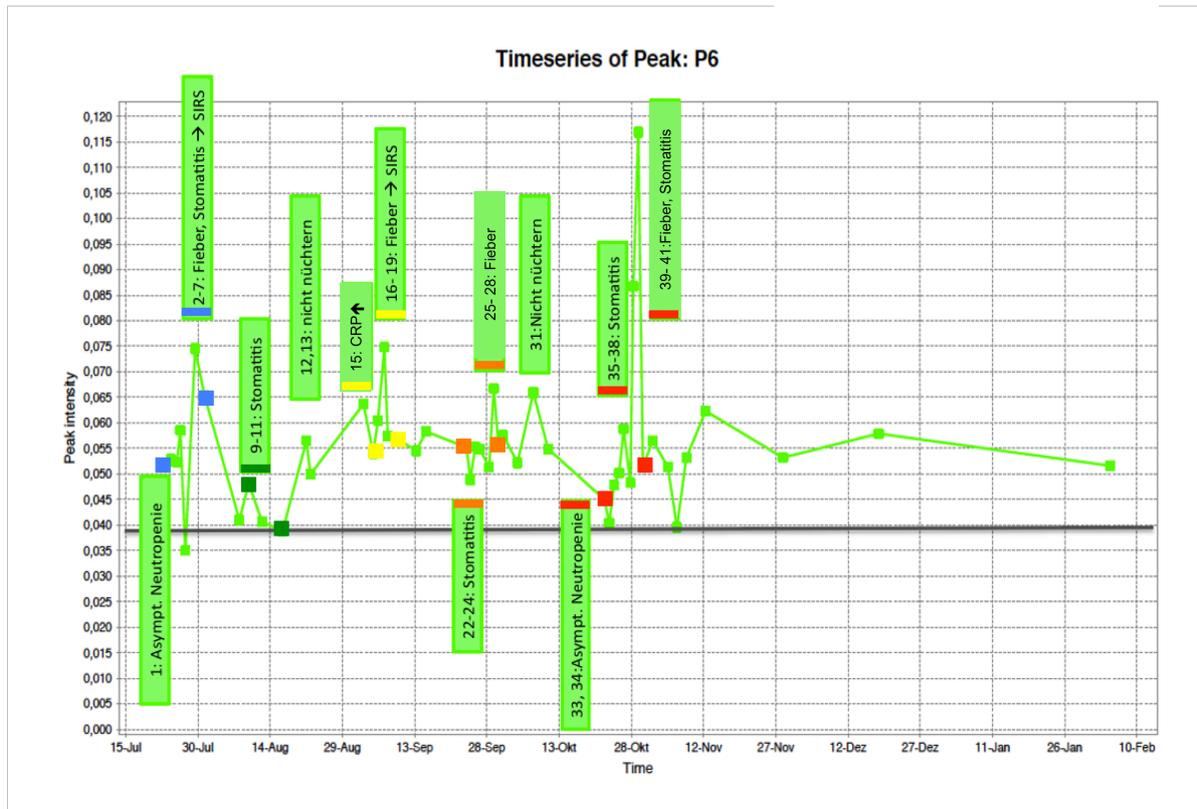


Abbildung 54: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 6 und dem klinischen Verlauf von Patient C21. Jedes grüne Quadrat entspricht einem von links nach rechts gezähmten Messzeitpunkt. Die Ereignisse sind in Bezug zum Messzeitpunkt in den vertikalen grünen Rechtecken erläutert. Die hervorgehobene graue Linie dient zur Orientierung als untere Basislinie.

Zu den Zeitpunkten der tabellarisch zusammengefassten Inflammationsereignisse Ende Juli (Messung 1-7), Anfang/Mitte August (Messung 9-11), Anfang September (Messung 15-19), Ende September (Messung 22-28) sowie Ende Oktober (Messung 33-41) zeigt sich ebenfalls im Verlauf von Peak 6 ein Anstieg der Intensität. Es fällt jedoch auf, dass sich die Höhe der Intensität nicht in der Schwere der klinisch/laborchemischen Symptomatik widerspiegelt. Dies kann anhand des vierten und fünften Inflammationsereignisses beispielhaft aufgezeigt werden. Zum Zeitpunkt des fünften Inflammationsereignisses zeigte sich im Kurvenverlauf der höchste Ausschlag zum Zeitpunkt der Messung 40. Zu diesem Zeitpunkt wies der Patient zwar klinische Zeichen einer Stomatitis mit Fieber, Neutropenie und einem CRP 78,4 mg/l auf, jedoch zeigte sich der Höhepunkt des Inflammationsereignisses zum Zeitpunkt der Messung 41 (CRP 120,2 mg/l). Betrachtet man hier die Intensität von Peak 6 zeigt sich bereits wieder ein Abfall der Intensität. Anders als in den vorangegangenen Verläufen beobachtet, zeigte sich hier ein verfrühter Anstieg mit einer zeitlichen Latenz von einem Tag. Vergleicht man nun die Inflammationsereignisse untereinander, würde man zum Zeitpunkt der Messung 26 und 27 mit einem CRP-Anstieg auf 169,1 mg/l (viertes Inflammationsereignis) den höchsten Ausschlag im Kurvenverlauf erwarten. Hier zeigte sich jedoch der niedrigste Ausschlag im Vergleich zu den anderen

vier Inflammationsereignissen. Zudem zeigt sich zum Zeitpunkt der Messung 12 und 31 ein Intensitätsanstieg. Anhand der vorliegenden Dokumentation konnte eine mögliche Ursache eine nicht ausreichende Nüchternheit zu den genannten Zeitpunkten sein. Zusammenfassend kann man hier sagen, dass sich zwar zu den Zeitpunkten der genannten Inflammationsereignisse eine Erhöhung der Peak-Intensität zeigt, diese jedoch kein Ausschlag über die Schwere und den Verlauf zulässt.

4.7 VOC-Kandidaten

Die in den ersten beiden Analyseabschnitten identifizierten relevanten Peaks werden, wie bereits im Kapitel 3 Material und Methodik beschrieben, anhand ihrer spezifischen Drift-, Retentionszeit und Signalintensität charakterisiert. Anhand dieser charakteristischen Zeiten kann unter Zuhilfenahme von Visual Now® ein Abgleich und eine Zuordnung mit den durch standardisierte Messungen in der MCC/IMS Datenbank bekannten VOC erfolgen. In Tabelle 31 sind die identifizierten Peaks mit den dazugehörigen, bekannten flüchtigen organischen Verbindungen aufgeführt. Für Peak 16 und 135 konnte bisher keine charakterisierte flüchtige organische Verbindung gefunden werden.

Peaks	Flüchtige organische Verbindungen (VOC)	1/K0	RT
6	Aceton	0,550	3,6
15	Isopropylamin	0,584	4,6
16	NN	0,628	3,6
39	Butanol	0,575	2,0
41	Butanon	0,601	2,0
48	Propanal	0,617	1,5
81	Butanal	0,621	2,0
135	NN	0,491	9,9
138	Pentanal	0,609	2,0
178	3- Methylbutanal	0,591	3,1

Tabelle 33: Übersicht der gefundenen VOC, VOC: Volatile Organic Compounds, 1/K0 = Driftzeit, RT = Retentionszeit. NN= not named

Die nachgewiesenen signifikanten flüchtigen organischen Verbindungen werden nachfolgend in Tabelle 34 in Zusammenhang zu den vier Untersuchungsgruppen (Neutropenie, Inflammation, Fieber und Timeline) gebracht.

VOC	Neutropenie	Inflammation	Fieber	Timeline
Aceton (P6)	x	x	x	x
Isopropylamin (P15)	x	x	x	x
NN (P16)			x	x
Butanol (P39)	x	x	x	x
Butanon (P41)	x	x	x	x
Propanal (P48)	x		x	x
Butanal (P81)	x		x	x
NN (P135)				x
Pentanal (P138)	x	x	x	x
3- Methylbutanal (P178)		x	x	x

Tabelle 34: Zusammenfassung der signifikanten VOCs in Zusammenhang mit den einzelnen Untersuchungsgruppen, NN= not named

5. Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war der Nachweis von flüchtigen organischen Komponenten (VOC) als potenzielle frühzeitige Biomarker für das Vorliegen einer Inflammation/Sepsis bei Kindern mit maligner Systemerkrankung unter zytostatischer Therapie.

5.1 Wertung der Methodik

5.1.1 Atemluftanalyse

Bedeutung und Wertung exogene Einflussfaktoren auf die Atemluftanalyse

In der vorliegenden Studie bildeten Kinder im Alter zwischen 2 und 18 Jahren das Patientenkollektiv. Ein besonderes Augenmerk sollte vor allem in einem so jungen Patientenkollektiv der Berücksichtigung von potenziellen exogenen Confoundern zukommen.

Seit den 1970er-Jahren ist bekannt, dass das menschliche Exhalom eine komplexe Zusammensetzung aus Hunderten von Verbindungen unterschiedlichen Ursprungs ist. Unter anderem spielen flüchtigen organischen Verbindungen (VOC) hier eine bedeutende Rolle (40). Bei der Analyse und Interpretation der identifizierten VOCs müssen im Zusammenhang mit der Krankheitsdiagnose mehrere Einflussfaktoren berücksichtigt werden. Hier sind neben den flüchtigen organischen Komponenten, die einerseits gesunden und andererseits krankheitsspezifischen Stoffwechselprozessen entstammen, die VOCs zu nennen, die durch den Einfluss der Ernährung sowie durch die eingeatmete Umgebungsluft im Exhalom nachzuweisen sind (41–43). Filipiak et al. konnte zeigen, dass eine große Anzahl flüchtiger organischer Komponenten als Aromen in Lebensmitteln und Getränken vorhanden sind und sie somit maßgeblich den Stoffwechsel und daraus folgernd ebenfalls das Exhalom beeinflussen (44). Allerdings zeigten sich die nachweisbaren Lebensmittel- und insbesondere auf ätherischen Ölen basierenden Mundspüllösungs-VOC in der Regel nicht später als 60 Minuten nach Ingestion, wie wir bereits in Vorversuchen ermittelt konnten. Um mögliche auf die Ernährung und Mundspüllösungen zurückzuführende Confounder auf ein Minimum zu reduzieren, wurden daher zur Identifizierung relevanter Peaks ausschließlich Probandenmessungen in die Vergleichsmessungen eingeschlossen, die zum Zeitpunkt der Messung mindestens eine Stunde nüchtern waren. (siehe Abschnitt 4.2,4.3 und 4.4)

Neben den Einflüssen durch die Ernährung spielen die exogenen Einflussfaktoren durch Einatmung der Umgebungsluft bei der Analyse und der Interpretation der Ergebnisse eine zentrale Rolle. Ohne hinreichende Informationen über die Zusammensetzung der eingeatmeten Luft im Besonderen der Raumluft des Untersuchungsraums sind keine eindeutigen Rückschlüsse im Hinblick auf eine Krankheitsdiagnose zu stellen (21,45,46). Hier zu berücksichtigende Faktoren sind neben dem Patienten selbst auch der Untersucher sowie die Häufigkeit der Durchführung von Raumluftbelüftungen. Westhoff et al. konnte zeigen, dass bereits ein kurzer Aufenthalt in einem mit Desinfektionsmittel kontaminierten Raum zu signifikant höheren Intensitäten der Analyte 3-Pentanon-Monomer, 3-Pentanon-Dimer, Hexanal, 3-Pentanon-Trimer, 2-Propanamin, 1-Propanol, Benzol, Nonanal sowohl in der ausgeatmeten Luft des Probanden als auch in der Luft des Untersuchungsraums im Vergleich zu den entsprechenden Ausgangsmessungen führte. Zudem ergaben sich Hinweise darauf, dass exogene Analyte nach Aufnahme physikochemische Veränderungen im Sinne einer Metabolisierung erfahren oder eine rasche Produktion weiterer VOCs induzieren. Dies hätte wiederum eine Fehlinterpretation der nachgewiesenen Analyte zur Folge (47).

Eine weitere zu beachtende Tatsache ist, dass Analyte unterschiedliche Zeitkonstanten und Halbwertszeiten hinsichtlich ihrer Elimination durch die Ausatmung aufweisen. Zeigte sich bei 3-Pentanone Monomer, Benzene sowie Nonanal, bereits nach fünf Minuten eine relevante Reduktion der Intensität, konnte bei Hexanal innerhalb dieser Zeitspanne keine Änderung der Intensität verzeichnet werden (47). Eine Möglichkeit, die exogenen Einflussfaktoren auf ein Minimum zu reduzieren, wurde mit dem Ansatz der vorausgegangenen Inhalation von synthetischer Luft verfolgt. Hieraus ergab sich jedoch die Problematik, dass neben den exogenen Analyten auch die endogenen Analyte ausgewaschen wurden. Dies hatte neben der Reduktion dieser auch eine Polaritätsänderung des Alveolargradienten und eine daraus resultierende Verfälschung der Analyse zur Folge (48).

Für die korrekte und fehlerfreie Analyse und Interpretation der flüchtigen organischen Verbindungen war es somit von entscheidender Bedeutung, exogene VOCs auszuschließen und sich auf die VOCs systemischen Ursprungs zu fokussieren. Um dies zu gewährleisten, war ein maximal möglicher Standardisierungsgrad der Probenentnahme entscheidend. Dies beinhaltete zum einen die konsequente Belüftung des Untersuchungsraumes, um dadurch die Akkumulation von exogenen Analyten zu vermeiden (46). Zum anderen die Verwendung des gleichen Messinstruments und synthetischer Luft mit höchstem Reinheitsgehalt sowie das Einhalten einer gewissen zeitlichen Latenz zwischen dem Betreten des Untersuchungsraums und der Durchführung

der Atemgasmessung. Dies diene der Herstellung eines Gleichgewichts zwischen der Umgebungsluft und der kontaminierten eingebrachten Luft. Eine Vernachlässigung der oben genannten Umstände hätte eine Fehlinterpretation der Analyten zur Folge und somit würden exogene Faktoren fälschlicherweise also krankheitsspezifisch identifizieren werden. Diese hohen Anforderungen an die Probenentnahme ließen sich neben Beachtung oben genannter Punkte am ehesten durch unmittelbar aufeinanderfolgende Atemgasmessungen und Raumluftmessungen realisieren. Durch diese unmittelbar simultan durchgeführten Messungen mit anschließend durchgeführter Subtraktion (49) ist eine Reduktion der exogenen VOCs auf ein Minimum möglich. Allerdings war eine standardisierte Wartezeit im Untersuchungsraum von 30 Minuten, wie sie für Erwachsenenstudien umsetzbar war, im pädiatrischen Setting nicht realisierbar. Insbesondere Patienten mit septisch-fieberhaftem Geschehen konnte eine solche Akklimatisationszeit nicht zugemutet werden. Darüber hinaus war es aufgrund der angespannten räumlichen Gegebenheiten der Station für pädiatrische Onkologie nicht möglich, einen Raum ausschließlich für die Atemgasmessungen zur Verfügung zu stellen.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

In der vorliegenden Studie konnten im Rahmen der Analyse der insgesamt 974 auswertbaren Atemgasmessungen 285 unterschiedliche Peaks nachgewiesen werden. 181 Peaks bildeten aufgrund von Mehrfachvorkommen die weiterführende Analysegrundlage. Für die Beurteilung der identifizierten Peaks und zum Nachweis eines Zusammenhangs im Hinblick auf die oben definierten Studienziele wurde die Ergebnisanalyse zunächst in zwei Abschnitte untergliedert.

Im primären Schritt erfolgte der statistische Nachweis signifikanter Peaks innerhalb des Patientenkollektivs bei asymptomatischer Neutropenie, klinischer Inflammation und Fieber im Vergleich zum gesunden Kontrollkollektiv. Es konnten insgesamt 39 statistisch signifikante Peaks (39 $p < 0,05$; 33 $p < 0,01$; 29 $p < 0,001$; siehe Tabelle 9), die auch für multiples Testen adjustiert wurden (Bonferroni-Korrektur), innerhalb der drei Gruppen nachgewiesen werden. Diese wurden im Hinblick auf den zweiten Abschnitt der Ergebnisanalyse mit Nachweis einer zeitlichen Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und der Peak-Intensität genauer betrachtet. Hier zeigte sich vor allem für Peak 6, Peak 16, Peak 48, Peak 81, Peak 135, Peak 138 und Peak 178 in der Mehrzahl der 21 Probanden mit klinischen Hinweisen auf eine Inflammation ein zeitlicher Zusammenhang. Zudem konnte ein eingeschränkter Zusammenhang für Peak 15, Peak 39 und Peak 41 gezeigt werden. Anhand der MCC/IMS Datenbank konnten mit Ausnahme von Peak 16 und Peak 135 alle anderen flüchtigen organischen Komponenten identifiziert werden (siehe Kapitel 4.7).

Die identifizierten VOCs Aceton (P6), Isopropylamin (P15), Butanol (P39), Butanon (P41) sowie Pentanal (P138) zeigten in allen vier Untersuchungsgruppen (Neutropenie, Inflammation, Fieber und Timeline) eine signifikante Signalerhöhung im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe. Zudem wiesen sie eine weitestgehende optische Übereinstimmung zum dargelegten klinischen Inflamationsverlauf dar. Diese fünf „Inflammations“-VOCs stellen somit mögliche Differenzierungskandidaten zwischen einer Inflammation mit Fieber in Neutropenie im Vergleich zum gesunden Kontrollkollektiv dar.

Für Patienten mit Neutropenie und Fieber zeigte sich eine signifikante Signalerhöhung von Propanal (P48) und Butanal (P81) sowie ausschließlich bei Fieber eine Signalerhöhung von Peak 16, dem in der Datenbank kein VOC zugeordnet werden konnte.

Für 3-Methylbutanal (P178) konnte kein signifikanter Zusammenhang zur Neutropenie nachgewiesen werden. Es zeigte sich jedoch ein Intensitätsanstieg bei Fieber und

Inflammation, sodass 3-Methylbutanal für zukünftige Untersuchungen ein potenziell möglicher Kandidat für die frühzeitige Identifikation einer schweren Infektion ist.

Wie bereits in Einleitung dargelegt, lag der Fokus in der vorliegenden Arbeit auf dem Nachweis von VOCs, als mögliche Biomarker zur frühzeitigen nicht-invasiven Identifizierung einer Inflammation/Sepsis bei Kindern mit maligner Systemerkrankung.

In der Literatur fanden sich unter anderem drei Publikationen im Hinblick auf VOCs bei Inflammation. Zwei Arbeitsgruppen beschäftigten sich mit dem Nachweis von VOCs bei Inflammation und Sepsis im Tiermodell sowie eine Weitere mit dem Nachweis von VOCs bei Kindern mit malignem Grundleiden und zugrunde liegender Neutropenie.

In der ersten Studie erfolgte im Tiermodell bei zehn Sprague-Dawley-Ratten, bei denen zuvor mittels Lipopolysacchariden aus E.coli Bakterien eine Sepsis induziert wurde, über ein Zeitintervall von 24 Stunden der Nachweis von VOCs mittels IMS und SPME-GC/MS, im Vergleich zu zehn gesunden Kontrollratten. Insgesamt konnten 15 Verbindungen, hierunter Aceton, nachgewiesen werden, die eine signifikante Trennung beider Gruppen ermöglichten (34).

In einer zweiten Studie untersuchten Fink et al. die ausgeatmete Luft von insgesamt 40 Sprague-Dawley-Ratten mittels MCC-IMS. Bei zehn Ratten wurde durch Ligatur und Inzision des Zökums eine Sepsis induziert, bei weiteren Zehn durch Lipopolysaccharide eine Endotoxinämie ausgelöst sowie bei weiteren zehn Ratten ein hämorrhagischer Schock bis zu einem mittleren arteriellen Druck von 35 ± 5 mmHg induziert. Die identifizierten VOCs der drei Gruppen wurden untereinander sowie mit den VOCs von zehn scheinoperierten Tieren verglichen. Unter Berücksichtigung der oben identifizierten VOCs zeigten sich in dieser Studie unter anderem signifikante Unterschiede für Aceton in der Gruppe der Sepsis und der Endotoxinämie im Vergleich zu den scheinoperierten Tieren. Zudem zeigte sich für Butanal in der Gruppe „Endotoxinämie“ ein statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zur „Sepsis- und scheinoperierten Gruppe“ (35).

In einer Studie von Furtwängler et al. konnten insgesamt elf signifikante flüchtigen organischen Verbindungen aufgezeigt werden, die eine Trennung von neutropenen Patienten aus einem onkologischen Patientenkollektiv und zehn gesunden Kontrollen ermöglichten. Aceton konnte auch in dieser Studie nachgewiesen werden (1).

In Anbetracht der oben vorgestellten Studien und den Ergebnissen der vorliegenden Studie ist bereits ersichtlich, das Aceton eine zentrale flüchtige organische Substanz im menschlichen Atem darstellt. Die genaue Herkunft und die metabolische Bedeutung vieler nachgewiesener Stoffwechselprodukte sind bislang unbekannt. Dies trifft jedoch nicht auf

Aceton zu. Bei Aceton handelt es sich um ein Dimethylketon, das bei Säugetieren primär im Rahmen von zwei Stoffwechselwegen entsteht. Die Hauptquelle des im Körper produzierten Acetons stellt die Ketogenese mit hepatischer Decarboxylierung von Acetoacetat dar. Diese erfolgt zum einen im Rahmen der Lipolyse (Lipidperoxidation) und zum anderen beim Abbau von den Aminosäuren wie Phenylalanin und Tyrosin. Eine weitere Acetonquelle bildet die Dehydrierung von Isopropanol beziehungsweise 2-Propanol durch die Alkoholdehydrogenase zu Aceton (50). Aufgrund der begrenzten Möglichkeiten der Metabolisierung von Aceton wird dies primär über den Urin sowie über die Ausatmung eliminiert (50,51).

Die Abatmung von Aceton über die Lunge bildet in der vorliegenden Studie den zentralen Angriffspunkt. Erhöhte Aceton-Konzentrationen in der Ausatemluft finden sich in der einschlägigen Literatur vor allem bei Patienten mit Diabetes mellitus und sind verantwortlich für den fruchtig-süßlichen Atemgeruch, der an den Duft von faulen Äpfeln erinnert (50,52,53). Der Acetongehalt der Ausatemluft steht in unmittelbarem Zusammenhang mit dem Acetongehalt des Bluts und lässt somit gewisse Rückschlüsse auf den metabolischen Zustand des Patienten zu. Aceton stellt somit ein potenzieller nicht-invasiver volatiler Biomarker für die Diagnose und Therapieeinstellung des Diabetes mellitus dar (50,54,55).

Auch im Hinblick auf unsere Studie zeigte sich für Aceton eine signifikant erhöhte Intensität im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe, die sich auch in der longitudinalen Korrelation mit den Inflammationsereignissen gegenüber der Basislinie nachvollziehen lässt. Aufgrund dieser Gegebenheit kann postuliert werden, dass Aceton ebenfalls ein potenzieller Biomarker für den frühzeitigen Nachweis einer Inflammation und Sepsis darstellt. Betrachtet man hier die vorausgegangenen Studien von Guamán et al. und Fink et al. beschrieben auch diese Aceton als einen potenziellen Marker der Inflammation und Sepsis. Guamán et al. identifizierte neben 14 weiteren flüchtigen organischen Komponenten Aceton als potenziellen Biomarker für den Nachweis einer Sepsis im Rattenmodell (34). Fink et al. verzeichneten hingegen im Tiermodell nach Induktion einer Sepsis einen signifikanten Abfall der Acetonproduktion. Dieser Abfall wurde zum einen durch die reduzierte ketogenetische Kapazität der Leber im Rahmen der Sepsis mit erhöhtem Verbrauch der Ketonkörper im peripheren Gewebe (37,56,57) und zum anderen durch die Hemmung der Ketogenese durch die Freisetzung der Zytokine TNF α und IL-6 begründet (37,58).

Eine Erklärung für die gemessenen erhöhten Aceton-Konzentrationen in der vorliegenden Studie ist eine möglicherweise vorliegende Insulinresistenz im Rahmen des septischen Geschehens (59). In vorherigen Studien konnte gezeigt werden, dass in Folge einer

hepatischen Insulinresistenz erhöhte Konzentrationen der Ketone Aceton, 2-Pentanon und 2-Butanon nachzuweisen waren (53,60). Zudem könnte der beeinträchtigte Leberstoffwechsel im Rahmen der Sepsis mit Hemmung der Cytochrom-P450-Enzyme zu einem Anstieg des Ketons Aceton führen. Es konnten gezeigt werden, dass eine Hemmung des Enzyms CYP2E1 zum Anstieg von Methylketonen wie Aceton führte (53,61). Ebenfalls muss berücksichtigt werden, dass zum Zeitpunkt der Messerhebung bis auf vereinzelte Ausnahmen eine Neutropenie vorlag. Furtwängler et al. hatte bereits zuvor gezeigt, dass auch dies mit einer erhöhte Aceton-Konzentration einhergehen kann (1).

Bei der Interpretation müssen jedoch auch wieder endogene und exogene Einflussfaktoren auf den Acetonstoffwechsel berücksichtigt werden.

Ein weiterer Ansatzpunkt ist der mögliche Einfluss der malignen Grunderkrankung auf die erhöhte Acetonintensität. In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass sich bei Patienten mit Bronchialkarzinom signifikant höhere Aceton-Konzentrationen in der ausgeatmeten Luft im Vergleich zu gesunden Kontrollen zeigten (62–64). Dies stellt eine der Limitationen unserer Studie dar. Es erfolgte keine Differenzierung der VOC im Hinblick auf die zugrunde liegende Erkrankung. Über den Einfluss der malignen Grunderkrankung auf den VOC Gehalt kann in der vorliegenden Studie somit keine Aussage getroffen werden.

Ein wichtiger Einflussfaktor stellt auch die zytostatische Therapie dar, deren sich die Patienten in unserer Studie zwangsläufig aufgrund der zugrunde liegenden Erkrankung unterziehen mussten. Ulanowska et al. konnte zeigen, dass unter dem Einfluss von Zytostatika erhöhte Konzentrationen von Aceton und Isopren in der ausgeatmeten Luft nachzuweisen waren. Als mögliche Erklärung wurde die Verminderung des Sauerstoffgehalts durch Zytostatika und die daraus resultierende verminderte Bildung von Kohlenstoffdioxid (CO_2) aus Acetyl-CoA angeführt (65).

Der Acetongehalt der Ausatmung wird zudem maßgeblich von der Nahrungskarenz beeinflusst (42,54,66,67). In vorausgegangenen Studien konnte bereits gezeigt werden, dass ähnlich hohe Aceton-Konzentration nach dem Fasten wie beim Diabetes mellitus vorlagen (53,66). Dies ist ein wichtiger Punkt der bei der Interpretation unserer Daten berücksichtigt werden muss. Bei der Datenerhebung wurde in der Mehrzahl der Fälle darauf geachtet, dass die Patienten zum Zeitpunkt der Messerhebung seit mindestens einer Stunde nüchtern waren. Es wurde ebenfalls erhoben, wann die letzte Nahrungsaufnahme erfolgte. Hier zeigte sich teilweise eine Nahrungskarenz von bis zu zwölf Stunden. Eine Standardisierung dieser Gegebenheit war aufgrund des erheblichen

Eingriffs in die Privatsphäre der Patienten und auch im Hinblick auf das teilweise sehr junge Patientenalter nicht umzusetzen. Somit ist die Nahrungskarenz als Einflussfaktor auf die nachgewiesenen erhöhten Intensitäten von Aceton nicht mit letzter Sicherheit auszuschließen.

Neben den oben genannten Einflüssen spielen auch der circadiane Rhythmus, die Nährstoffzusammensetzung der Nahrung, das Geschlecht sowie die körperliche Aktivität eine Rolle für den Acetongehalt der Ausatemluft (42,50,67). Abschließend wird somit deutlich das Aceton einer Vielzahl von endogenen und exogenen Einflussfaktoren unterliegt, was die Interpretation der Daten erheblich erschwert und damit die Bedeutung von Aceton als potenzieller volatiler Biomarker limitiert. Die Einbindung des Aceton-Peaks in einer klassifizierenden Gruppe von Biomarkern erscheint aber denkbar.

Ein weiteres nachgewiesenes Keton, das neben Aceton in allen Gruppen eine signifikante Intensitätserhöhung zeigte, war Butanon (Peak 41). Die bereits oben postulierten Annahmen für Aceton lassen sich auch teilweise auf Butanon übertragen. So zeigte sich durch den gestörten Leberstoffwechsel mit Hemmung des Cytochrom-P450-Enzyms CYP2E1 ebenfalls ein Anstieg des Ketons Butanon (53)(61).

Um diese Annahme noch weiter zu untermauern, konnte gezeigt werden, dass im Rahmen einer Sepsis die CYP2E1-Aktivität abnimmt (68). Dies unterstützt wiederum die Behauptung, dass auch Butanon ein möglicher Biomarker der Inflammation und Sepsis darstellt. Andererseits konnten ebenfalls erhöhte Butanon Konzentrationen bei Patienten mit COPD, Leberzirrhose, Bronchialkarzinom sowie bei Rauchern nachgewiesen werden (53,63,69,70). Eine mögliche Erklärung, die bereits von Fink postuliert wurde, ist, dass Butanon aktive und chronische Inflammationszustände in der Atemluft widerspiegelt (37). Diese lagen jedoch in dem von uns untersuchten Kollektiv bis auf einen Patienten mit diagnostizierter zystischer Fibrose sicherlich nicht vor.

Neben den Ketonen konnten die Aldehyde Pentanal (P138), Propanal (P48) und Butanal (P81) als mögliche Differenzierungskandidaten in unserer Studie nachgewiesen werden. Trotz der Tatsache, dass es sich bei Aldehyden um reaktive Verbindungen handelt, die zudem in sehr niedrigen Konzentrationen auftreten, gelang der Nachweis mit Hilfe der MCC/IMS Technologie (71). Nach aktuellem Wissensstand entstehen diese sauerstoffhaltigen Verbindungen durch den Angriff reaktiver Sauerstoffspezies an Membranstrukturen. Dies hat die (Per-) Oxidation von mehrfach ungesättigten Fettsäuren zur Folge, aus der dann die Bildung von monofunktionellen C3-C10 Aldehyden resultiert (71,72). Dieser oxidative Stress wurde als eine potentielle Ursache der Tumorentstehung

identifiziert. Entsprechend konnte in Tumorgewebe eine erhöhte oxidative Aktivität nachgewiesen werden (71,73,74). Nachgewiesene erhöhte Aldehyd-Konzentrationen in der ausgeatmeten Luft könnten somit Ausdruck eines malignen Geschehens sein, die entweder aus der erhöhten oxidativen Aktivität der Tumorzellen oder aus dem vermehrten oxidativen Stress durch Interaktion des Organismus mit den Tumorzellen abzuleiten sind (71).

Im Falle des Aldehyds Pentanal (P138) konnte Fuchs et al. sowie Ulanowska et al. zeigen, dass Patienten mit Bronchialkarzinom signifikant höhere Pentanal-Konzentrationen der Ausatemluft aufwiesen als vergleichbare gesunde Kontrollen und Rauchern (62,71). Ebenfalls gelang Yazdanpanah et al. der Nachweis von signifikant höheren Plasma Pentanal-Konzentrationen bei Kindern mit akuter myeloischer Leukämie (75).

Ob nun in unserem konkreten Fall Pentanal ein möglicher Biomarker für eine Inflammation und Sepsis oder eher Ausdruck der zugrundeliegenden malignen Grunderkrankung ist, kann nicht abschließend geklärt werden. Aufgrund der zeitlichen Korrelation der Peaks mit dem Inflammationsereignis ist jedoch eine rein neoplastische Genese unwahrscheinlich. Was wahrscheinlich erscheint, ist die Tatsache, dass die nachgewiesenen Aldehyde Ausdruck von oxidativem Stress sind, sei es durch die Tumorerkrankung, durch die Inflammation oder eine Kombination aus beidem.

Die Aldehyde Propanal (P48) und Butanal (P81) zeigte ebenfalls eine signifikante Intensitätserhöhung in der Gruppe der neutropenen Patienten mit Fieber. Auch die Bildung dieser Aldehyde steht mit der Lipidperoxidation durch radikale Sauerstoffmoleküle in Verbindung (71). Jedoch ist auch hier zu hinterfragen, ob diese Erhöhung auf den oxidativen Stress im Rahmen der Inflammation zurückzuführen ist oder Zeichen eines endogenen oder exogenen Confounders ist.

Eine potenzielle endogene Quelle ist auch in diesem Falle die neoplastische Grunderkrankung. Ulanowska et al. sowie Buszewski et al. fanden für Propanal und unter anderem auch für Butanal erhöhte Intensitäten bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich zu Gesunden (62,63). Jedoch spricht auch hier die zeitliche Korrelation des Anstiegs mit den Fieberereignissen für einen metabolischen Zusammenhang mit dem proinflammatorischen Ereignis und gegen eine durchgehende Erhöhung von Propanal beziehungsweise Butanal als Ausdruck der Neoplasie. Insbesondere die weitergehende Eingrenzung auf die Fieberereignisse (Vergleiche hierzu Peak 48 und 81, Tabelle 9) legt einen zeitlichen Zusammenhang des Anstiegs des oxidativen Stresses durch zunehmende Erregerausbreitung nahe.

Weitere Störfaktoren sind die zytostatische Therapie und Umwelteinflüsse. Es wurde ein Zusammenhang von erhöhten 2-Propanal-Konzentrationen und dem Metabolismus des Zytostatikum Cyclophosphamid beschrieben (65). Ebenfalls ist bekannt, dass Propanal ein typischer Bestandteil von Desinfektionsmitteln ist (76). Die genaue Ursache der Propanal-Erhöpfung bleibt in unserem Fall ungeklärt und erfordert weitere Untersuchungen, die den Zusammenhang der Erreger bedingten Inflammation und den Propanal-Anstieg untermauern.

Das Aldehyd 3-Methylbutanal (P178) zeigte in der vorliegenden Studie einen signifikanten Intensitätsanstieg bei Fieber und Inflammation. Wir stellten daher die Vermutung an, dass es sich hierbei um einen frühzeitigen potenziellen Biomarker für eine Infektion handeln könnte. In einer Studie von Filipiak et al. wurden mithilfe einer Gaschromatografie-Massenspektrometrie (GC-IM) die freigesetzten flüchtigen organischen Verbindungen aus zwei Bakterienstämmen (*Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa*) untersucht. Hier konnte gezeigt werden, dass 3-Methylbutanal, ein Zwischenprodukt im Metabolismus der Aminosäure Leucin und Isoleucin (77), in deutlich erhöhten Konzentrationen bei *Staphylococcus aureus* Kulturen nachzuweisen waren. Diese erhöhten Konzentrationen zeigten sich bereits bei niedriger Zelldichte der Bakterienkultur nach einer Inkubationszeit von 1,5-2 Stunden. Erhöhte Intensitäten des Aldehyds 3-Methylbutanal könnten damit erste Hinweise auf eine Infektion mit *Staphylococcus aureus* liefern und könnte somit ein flüchtiger Marker für die frühzeitige Erregerdiagnostik darstellen (78).

Limitierend ist jedoch anzuführen, dass in der genannten Studie 3-Methylbutanal bei *Staphylococcus aureus* in vitro nachgewiesen wurde. Die freigesetzten VOCs variieren in Abhängigkeit von dem Medium, auf dem die Bakterien wachsen. Aus diesem Grund sollten weitere Untersuchungen in vivo bei einer Infektion mit *Staphylococcus aureus* angestrebt werden, um die oben aufgestellte Vermutung weiter zu untermauern.

5.3 Limitationen der Studie

Nach Darlegung und Diskussion der gefundenen Ergebnisse werden mehrere Einschränkungen unserer Studie deutlich.

Erstens ist der Einfluss von endogenen und exogenen Confoundern ein entscheidender Punkt. Es ist hinreichend bekannt, dass Faktoren wie die Ernährung (79), Rauchen (80), körperliche Aktivität (81), Komorbiditäten (82), Medikation (83), Alter, Geschlecht (50) und die Umgebungsluft (47) zu signifikanten Veränderungen des Exhaloms führen. Für die Analyse und die Interpretation der Daten ist dieses Wissen von immenser Bedeutung, um die genannten Störfaktoren auf ein mögliches Minimum zu reduzieren. Jedoch ist die Kontrolle nur im begrenzten Maße möglich, da dies einen erheblichen Eingriff in das

Patientenverhalten darstellt (zum Beispiel Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme), ethisch nicht vertretbar ist (zum Beispiel Verzögerung der Medikamentengabe) oder nicht modifizierbar ist (zum Beispiel Alter, Geschlecht, Komorbiditäten). Es ist zudem nicht bekannt, ob der Ausschluss dieser Faktoren, sofern möglich, die Zuverlässigkeit verbessert (84). Um die Signifikanz der identifizierten Peaks zu untermauern, überprüfen wir diese prospektiv im Verlauf von 21 Patienten mit Therapie bedingten Neutropenie und Infektionen. Hierbei konnten sich die Peaks P6, P15, P39, P41, P48, P81, P135, P138, P178 bei 14 Patienten als weitestgehend korrelierend nachweisen lassen und sind somit Kandidaten für weitere Untersuchungen. Aufgrund des explorativen Charakters der Studie und des klinischen Settings war eine Standardisierung der Messzeitpunkte nur mit einem mehrere Stunden umfassenden Messfenster von bis zu zwölf Stunden nach Fieberereignis möglich. Insbesondere bei schweren septischen Verläufen war eine Messung aufgrund des Zustands der Patienten und der notwendigen Kooperation und Standortgebundenheit der Messeinheit nicht durchführbar. Kontinuierliche Messung von VOCs, wie sie zum Beispiel in Inkubatoren oder über das Ausatemventil einer Sauerstoffmaske denkbar wären, stellen einen alternativen Ansatzpunkt für weitere Untersuchungen dar.

Zweitens ist der zeitliche Zusammenhang zwischen den genannten Abweichungen der Peak-Intensitäten und der klinischen Symptomatik und den laborchemischen Veränderungen zum jetzigen Zeitpunkt nicht abschließend zu beurteilen und in weiterführenden Untersuchungen zu klären.

Als letzter Punkt ist anzuführen, dass zur Quantifizierung der Ionen-Mobilitäts-Spektrometrie Intensitäten (Einheit: Millivolt) anstelle von Konzentrationseinheiten als Maßeinheit verwendet wurden. Somit sind quantitative Aussagen teilweise spekulativ und nicht mit anderen Studien vergleichbar, da die Detektorantwort des Ionenmobilitätsspektrometers stoffspezifisch ist (85). Eine Normierung auf zuverlässig nachweisbare endogene VOC könnte eine alternative Herangehensweise darstellen. Bisher konnte keine solche VOC definiert werden.

All diese Einschränkungen sind im Rahmen größerer Studien weiter zu erörtern, um exogenen und endogene Faktoren näher zu beleuchten, die Variabilität der VOC Zusammensetzung von Patient zu Patient zu charakterisieren sowie die Einflüsse verschiedener Krankheiten auf das Exhalom aufzudecken.

5.4 Schlussfolgerung

Die vorliegende Studie lässt darauf schließen, dass eine Inflammation und Sepsis zu signifikanten Veränderungen der flüchtigen organischen Komponenten im Exhalom führen. Im Speziellen wurden hier pädiatrische Patienten mit onkologischem Grundleiden näher betrachtet. Hierbei scheinen vor allem die Ketonmetabolite wie Aceton und Butanon und die Aldehyde wie Pentanal, Propanal und Butanal als Folge von oxidativem Stress eine Rolle zu spielen. Die MCC/IMS Technologie bieten durch die Möglichkeit der Miniaturisierung und der daraus resultierenden bettseitigen Anwendung vereint mit hoher Sensitivität, Spezifität und kurzer Analysezeit die entscheidende Analysegrundlage.

Mit Ausnahme von Aceton (P6), Butanon (P41) und den Aldehyden (Pentanal (P138), Propanal (P48), Butanal (P81) und 3-Methylbutanal (P178)) ist die Genese der metabolischen Veränderungen einzelner VOCs noch weitestgehend unverstanden. Für den Peak 135 und 16 konnte bisher noch keine flüchtige organische Verbindung zugeordnet werden, sodass für diese VOCs nur die reine Korrelation bleibt, ohne ihre Bedeutung kausal untermauern zu können. Um die Relevanz und die Praktikabilität der MCC/IMS Atemgasanalyse weiter voranzutreiben und eine Einordnung der identifizierten VOCs zu gewährleisten, sind molekularbiologischen Untersuchungen von entscheidender Bedeutung.

Zudem ist es zwingend erforderlich, im Rahmen von größer angelegten Studien die Bedeutung und den Einfluss von endogenen und exogenen Confoundern näher zu beleuchten.

6. Literaturverzeichnis

1. Furtwängler R, Hauschild A-C, Hübel J, Rakicioglou H, Bödeker B, Maddula S, u. a. Signals of neutropenia in human breath? *Int J Ion Mobil Spectrom.* März 2014;17(1):19–23.
2. Simon A, Ammann RA, Bode U, Fleischhack G, Wenchel H-M, Schwamborn D, u. a. Healthcare-associated infections in pediatric cancer patients: results of a prospective surveillance study from university hospitals in Germany and Switzerland. *BMC Infect Dis.* Dezember 2008;8(1):70.
3. Ammann RA, Tissing WJE, Phillips B. Rationalizing the approach to children with fever in neutropenia. *Curr Opin Infect Dis.* Juni 2012;25(3):258–65.
4. 2020-07-16_Freigabe-IQTIG-Bericht_Konzeptstudie-QS-Sepsis.pdf [Internet]. [zitiert 14. Januar 2022]. Verfügbar unter: https://www.g-ba.de/downloads/39-261-4382/2020-07-16_Freigabe-IQTIG-Bericht_Konzeptstudie-QS-Sepsis.pdf
5. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, u. a. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 23. Februar 2016;315(8):801–10.
6. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, u. a. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest.* Juni 1992;101(6):1644–55.
7. Deutsche Sepsis-Gesellschaft: Sepsisdefinition und -kodierung [Internet]. [zitiert 23. April 2020]. Verfügbar unter: <https://www.sepsis-gesellschaft.de/sepsisdefinition-und-kodierung/>
8. Bosk et al. - Leitlinie Sepsis bei Kindern jenseits der Neonatal.pdf [Internet]. [zitiert 14. Januar 2022]. Verfügbar unter: https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/024-025l_S2k_Sepsis_nach_Neonatalperiode_2016-04-abgelaufen.pdf
9. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, u. a. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med.* Juni 2006;34(6):1589–96.
10. Agyeman P, Aebi C, Hirt A, Niggli FK, Nadal D, Simon A, u. a. Predicting bacteremia in children with cancer and fever in chemotherapy-induced neutropenia: results of the prospective multicenter SPOG 2003 FN study. *Pediatr Infect Dis J.* Juli 2011;30(7):e114-119.
11. Jünger M, Vautz W, Kuhns M, Hofmann L, Ulbricht S, Baumbach JI, u. a. Ion mobility spectrometry for microbial volatile organic compounds: a new identification tool for human pathogenic bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol.* März 2012;93(6):2603–14.
12. Rabis T, Sommerwerck U, Anhenn O, Darwiche K, Freitag L, Teschler H, u. a. Detection of infectious agents in the airways by ion mobility spectrometry of exhaled breath. *Int J Ion Mobil Spectrom.* Dezember 2011;14(4):187–95.

13. Ruzsanyi V, Baumbach JI, Sielemann S, Litterst P, Westhoff M, Freitag L. Detection of human metabolites using multi-capillary columns coupled to ion mobility spectrometers. *J Chromatogr A*. 1. September 2005;1084:145–51.
14. Baumbach JI, Eiceman GA. Ion mobility spectrometry: arriving on site and moving beyond a low profile. *Appl Spectrosc*. September 1999;53(9):338A-355A.
15. Jünger M, Bödeker B, Baumbach JI. Peak assignment in multi-capillary column–ion mobility spectrometry using comparative studies with gas chromatography–mass spectrometry for VOC analysis. *Anal Bioanal Chem*. 1. Januar 2010;396(1):471–82.
16. Perl T, Bödeker B, Jünger M, Nolte J, Vautz W. Alignment of retention time obtained from multicapillary column gas chromatography used for VOC analysis with ion mobility spectrometry. *Anal Bioanal Chem*. Juli 2010;397(6):2385–94.
17. Vautz W, Baumbach JI. Exemplar application of multi-capillary column ion mobility spectrometry for biological and medical purpose. *Int J Ion Mobil Spectrom*. 1. Dezember 2008;11(1):35–41.
18. Vautz W, Zimmermann D, Hartmann M, Baumbach JI, Nolte J, Jung J. Ion mobility spectrometry for food quality and safety. *Food Addit Contam*. November 2006;23(11):1064–73.
19. Westhoff M, Litterst P, Freitag L, Urfer W, Bader S, Baumbach J-I. Ion mobility spectrometry for the detection of volatile organic compounds in exhaled breath of patients with lung cancer: results of a pilot study. *Thorax*. September 2009;64(9):744–8.
20. Westhoff M, Litterst P, Freitag L, Baumbach JI. ION MOBILITY SPECTROMETRY IN THE DIAGNOSIS OF SARCOIDOSIS: RESULTS OF A FEASIBILITY STUDY. :13.
21. Bödeker B, Davies AN, Maddula S, Baumbach JI. Biomarker validation—room air variation during human breath investigations. *Int J Ion Mobil Spectrom*. Dezember 2010;13(3–4):177–84.
22. Maddula S, Blank LM, Schmid A, Baumbach JI. Detection of volatile metabolites of *Escherichia coli* by multi capillary column coupled ion mobility spectrometry. *Anal Bioanal Chem*. Juni 2009;394(3):791–800.
23. Bessa V, Darwiche K, Teschler H, Sommerwerck U, Rabis T, Baumbach JI, u. a. Detection of volatile organic compounds (VOCs) in exhaled breath of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) by ion mobility spectrometry. *Int J Ion Mobil Spectrom*. April 2011;14(1):7–13.
24. Bunkowski A, Bödeker B, Bader S, Westhoff M, Litterst P, Baumbach JI. Signals in human breath related to Sarcoidosis. — Results of a feasibility study using MCC/IMS. *Int J Ion Mobil Spectrom*. Juni 2009;12(2):73–9.
25. Baumbach JI, Maddula S, Sommerwerck U, Besa V, Kurth I, Bödeker B, u. a. Significant different volatile biomarker during bronchoscopic ion mobility spectrometry investigation of patients suffering lung carcinoma. *Int J Ion Mobil Spectrom*. Dezember 2011;14(4):159–66.
26. Handa H, Usuba A, Maddula S, Baumbach JI, Mineshita M, Miyazawa T. Exhaled Breath Analysis for Lung Cancer Detection Using Ion Mobility Spectrometry. *Aguayo*

- FR, Herausgeber. PLoS ONE. 9. Dezember 2014;9(12):e114555.
27. Westhoff M, Litterst P, Maddula S, Bödeker B, Rahmann S, Davies AN, u. a. Differentiation of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) including lung cancer from healthy control group by breath analysis using ion mobility spectrometry. *Int J Ion Mobil Spectrom.* Dezember 2010;13(3–4):131–9.
 28. Neuhaus S, Seifert L, Vautz W, Nolte J, Bufe A, Peters M. Comparison of metabolites in exhaled breath and bronchoalveolar lavage fluid samples in a mouse model of asthma. *J Appl Physiol.* Oktober 2011;111(4):1088–95.
 29. Maddula S, Rabis T, Sommerwerck U, Anhenn O, Darwiche K, Freitag L, u. a. Correlation analysis on data sets to detect infectious agents in the airways by ion mobility spectrometry of exhaled breath. *Int J Ion Mobil Spectrom.* Dezember 2011;14(4):197–206.
 30. Cakir Y, Métrailler L, Baumbach JI, Kraus T. Signals in asbestos related diseases in human breath - preliminary results. *Int J Ion Mobil Spectrom.* Juni 2014;17(2):87–94.
 31. Lamote K, Vynck M, Van Cleemput J, Thas O, Nackaerts K, van Meerbeeck JP. Detection of malignant pleural mesothelioma in exhaled breath by multicapillary column/ion mobility spectrometry (MCC/IMS). *J Breath Res.* 26. September 2016;10(4):046001.
 32. Lamote K, Joos G, Van Meerbeeck J. Volatile organic compounds in the breath of cystic fibrosis patients: a pilot phase. In: *Breath Analysis Summit, Abstracts* [Internet]. 2013 [zitiert 23. April 2020]. Verfügbar unter: <http://hdl.handle.net/1854/LU-4108611>
 33. Pagonas N, Vautz W, Seifert L, Slodzinski R, Jankowski J, Zidek W, u. a. Volatile Organic Compounds in Uremia. Singh SR, Herausgeber. PLoS ONE. 25. September 2012;7(9):e46258.
 34. Guamán AV, Carreras A, Calvo D, Agudo I, Navajas D, Pardo A, u. a. Rapid detection of sepsis in rats through volatile organic compounds in breath. *J Chromatogr B.* Januar 2012;881–882:76–82.
 35. Fink T, Wolf A, Maurer F, Albrecht FW, Heim N, Wolf B, u. a. Volatile organic compounds during inflammation and sepsis in rats: a potential breath test using ion-mobility spectrometry. *Anesthesiology.* Januar 2015;122(1):117–26.
 36. Baumbach JI. Ion mobility spectrometry coupled with multi-capillary columns for metabolic profiling of human breath. *J Breath Res.* 1. September 2009;3(3):034001.
 37. Fink, T. (2015). Flüchtige organische Verbindungen in der Ausatemluft während systemischer Inflammation und Sepsis bei der Ratte.pdf.
 38. SCHUMANN, A.- Einführung in die Ionenmobilitätsspektrometrie (IMS), 2001.pdf.
 39. Bödeker B, Vautz W, Baumbach JI. Visualisation of MCC/IMS-data. *Int J Ion Mobil Spectrom.* Dezember 2008;11(1–4):77–81.
 40. Pauling L, Robinson AB, Teranishi R, Cary P. Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Oktober 1971;68(10):2374–6.

41. Amann A, Costello B de L, Miekisch W, Schubert J, Buszewski B, Pleil J, u. a. The human volatilome: volatile organic compounds (VOCs) in exhaled breath, skin emanations, urine, feces and saliva. *J Breath Res.* 19. Juni 2014;8(3):034001.
42. Ye M, Chien P-J, Toma K, Arakawa T, Mitsubayashi K. An acetone bio-sniffer (gas phase biosensor) enabling assessment of lipid metabolism from exhaled breath. *Biosens Bioelectron.* 15. November 2015;73:208–13.
43. Wlodzimirow KA, Abu-Hanna A, Schultz MJ, Maas MAW, Bos LDJ, Sterk PJ, u. a. Exhaled breath analysis with electronic nose technology for detection of acute liver failure in rats. *Biosens Bioelectron.* März 2014;53:129–34.
44. Filipiak W, Ruzsanyi V, Mochalski P, Filipiak A, Bajtarevic A, Ager C, u. a. Dependence of exhaled breath composition on exogenous factors, smoking habits and exposure to air pollutants. *J Breath Res.* 1. September 2012;6(3):036008.
45. Bunkowski A, Maddula S, Davies AN, Westhoff M, Litterst P, Bödeker B, u. a. One-year time series of investigations of analytes within human breath using ion mobility spectrometry. *Int J Ion Mobil Spectrom.* Dezember 2010;13(3–4):141–8.
46. Westhoff M, Rickermann M, Franieck E, Litterst P, Baumbach JI. Time series of indoor analytes and influence of exogeneous factors on interpretation of breath analysis using ion mobility spectrometry (MCC/IMS). *Int J Ion Mobil Spectrom.* April 2019;22(1):39–49.
47. Westhoff M, Rickermann M, Litterst P, Baumbach JI. Exogenous factors of influence on exhaled breath analysis by ion-mobility spectrometry (MCC/IMS). *Int J Ion Mobil Spectrom.* Oktober 2019;22(2):59–69.
48. Maurer F, Wolf A, Fink T, Rittershofer B, Heim N, Volk T, u. a. Wash-out of ambient air contaminations for breath measurements. *J Breath Res.* Juni 2014;8(2):027107.
49. Phillips M, Greenberg J, Sabas M. Alveolar Gradient of Pentane in Normal Human Breath. *Free Radic Res.* 1. Januar 1994;20(5):333–7.
50. Das S, Pal S, Mitra M. Significance of Exhaled Breath Test in Clinical Diagnosis: A Special Focus on the Detection of Diabetes Mellitus. *J Med Biol Eng.* Oktober 2016;36(5):605–24.
51. Kalapos M. On the mammalian acetone metabolism: From chemistry to clinical implications. *Biochim Biophys Acta.* 1. Juni 2003;1621:122–39.
52. Guo D, Zhang D, Zhang L, Lu G. Non-invasive blood glucose monitoring for diabetics by means of breath signal analysis. *Sens Actuators B Chem.* 1. Oktober 2012;173:106–13.
53. Vandenvelde S, Nevens F, Vanhee P, Vansteenbergh D, Quirynen M. GC–MS analysis of breath odor compounds in liver patients. *J Chromatogr B.* 15. November 2008;875(2):344–8.
54. Greiter MB, Keck L, Siegmund T, Hoeschen C, Oeh U, Paretzke HG. Differences in exhaled gas profiles between patients with type 2 diabetes and healthy controls. *Diabetes Technol Ther.* Juni 2010;12(6):455–63.
55. Leopold JH, van Hooijdonk RTM, Sterk PJ, Abu-Hanna A, Schultz MJ, Bos LDJ. Glucose prediction by analysis of exhaled metabolites - a systematic review. *BMC*

- Anesthesiol. 2014;14:46.
56. Lanza-Jacoby S, Rosato E, Braccia G, Tabares A. Altered ketone body metabolism during gram-negative sepsis in the rat. *Metabolism*. November 1990;39(11):1151–7.
 57. Ohtoshi M, Jikko A, Asano M, Uchida K, Ozawa K, Tobe T. Ketogenesis during sepsis in relation to hepatic energy metabolism. *Res Exp Med (Berl)*. August 1984;184(4):209–19.
 58. Pailla K, El-Mir MY, Cynober L, Blonde-Cynober F. Cytokine-mediated inhibition of ketogenesis is unrelated to nitric oxide or protein synthesis. *Clin Nutr Edinb Scotl*. August 2001;20(4):313–7.
 59. Van Cromphaut SJ, Vanhorebeek I, Van den Berghe G. Glucose metabolism and insulin resistance in sepsis. *Curr Pharm Des*. 2008;14(19):1887–99.
 60. Kim HJ, Kim HJ, Lee KE, Kim DJ, Kim SK, Ahn CW, u. a. Metabolic significance of nonalcoholic fatty liver disease in nonobese, nondiabetic adults. *Arch Intern Med*. 25. Oktober 2004;164(19):2169–75.
 61. Mathews JM, Raymer JH, Etheridge AS, Velez GR, Bucher JR. Do endogenous volatile organic chemicals measured in breath reflect and maintain CYP2E1 levels in vivo? *Toxicol Appl Pharmacol*. Oktober 1997;146(2):255–60.
 62. Ulanowska A, Kowalkowski T, Trawińska E, Buszewski B. The application of statistical methods using VOCs to identify patients with lung cancer. *J Breath Res*. 1. Dezember 2011;5(4):046008.
 63. Buszewski B, Ligor T, Jezierski T, Wenda-Piesik A, Walczak M, Rudnicka J. Identification of volatile lung cancer markers by gas chromatography–mass spectrometry: comparison with discrimination by canines. *Anal Bioanal Chem*. Juli 2012;404(1):141–6.
 64. Machado RF, Laskowski D, Deffenderfer O, Burch T, Zheng S, Mazzone PJ, u. a. Detection of lung cancer by sensor array analyses of exhaled breath. *Am J Respir Crit Care Med*. 1. Juni 2005;171(11):1286–91.
 65. Ulanowska A, Trawińska E, Sawrycki P, Buszewski B. Chemotherapy control by breath profile with application of SPME-GC/MS method. *J Sep Sci*. November 2012;35(21):2908–13.
 66. Statheropoulos M, Agapiou A, Georgiadou A. Analysis of expired air of fasting male monks at Mount Athos. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 7. März 2006;832(2):274–9.
 67. Minh TDC, Blake DR, Galassetti PR. The clinical potential of exhaled breath analysis for diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. August 2012;97(2):195–205.
 68. Lee S-H, Lee S-M. Suppression of hepatic cytochrome p450-mediated drug metabolism during the late stage of sepsis in rats. *Shock Augusta Ga*. Februar 2005;23(2):144–9.
 69. Koczulla R, Hattesoehl A, Schmid S, Bödeker B, Maddula S, Baumbach JI. MCC/IMS as potential noninvasive technique in the diagnosis of patients with COPD with and without alpha 1-antitrypsin deficiency. *Int J Ion Mobil Spectrom*. Dezember 2011;14(4):177–85.

70. Buszewski B, Ulanowska A, Ligor T, Denderz N, Amann A. Analysis of exhaled breath from smokers, passive smokers and non-smokers by solid-phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry. *Biomed Chromatogr. Mai* 2009;23(5):551–6.
71. Fuchs P, Loesecken C, Schubert JK, Miekisch W. Breath gas aldehydes as biomarkers of lung cancer. *Int J Cancer*. 2009;NA-NA.
72. Reinheckel T, Noack H, Lorenz S, Wiswedel I, Augustin W. Comparison of protein oxidation and aldehyde formation during oxidative stress in isolated mitochondria. *Free Radic Res*. 1998;
73. Szatrowski TP, Nathan CF. Production of large amounts of hydrogen peroxide by human tumor cells. *Cancer Res*. 1. Februar 1991;51(3):794–8.
74. Toyokuni S. Molecular mechanisms of oxidative stress-induced carcinogenesis: from epidemiology to oxygenomics. *IUBMB Life*. Juli 2008;60(7):441–7.
75. Yazdanpanah M, Luo X, Lau R, Greenberg M, Fisher LJ, Lehotay DC. Cytotoxic Aldehydes as Possible Markers for Childhood Cancer. *Free Radic Biol Med*. Januar 1997;23(6):870–8.
76. Kischkel S, Miekisch W, Sawacki A, Straker EM, Trefz P, Amann A, u. a. Breath biomarkers for lung cancer detection and assessment of smoking related effects — confounding variables, influence of normalization and statistical algorithms. *Clin Chim Acta*. November 2010;411(21–22):1637–44.
77. Belizário JE, Faintuch J, Malpartida MG. Breath Biopsy and Discovery of Exclusive Volatile Organic Compounds for Diagnosis of Infectious Diseases. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2021 [zitiert 17. Januar 2022];10. Verfügbar unter: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2020.564194>
78. Filipiak W, Sponring A, Baur MM, Filipiak A, Ager C, Wiesenhofer H, u. a. Molecular analysis of volatile metabolites released specifically by *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Microbiol*. 20. Juni 2012;12:113.
79. Bikov A, Paschalaki K, Logan-Sinclair R, Horváth I, Kharitonov SA, Barnes PJ, u. a. Standardised exhaled breath collection for the measurement of exhaled volatile organic compounds by proton transfer reaction mass spectrometry. *BMC Pulm Med*. 9. Juli 2013;13:43.
80. Cheng ZJ, Warwick G, Yates DH, Thomas PS. An electronic nose in the discrimination of breath from smokers and non-smokers: a model for toxin exposure. *J Breath Res*. September 2009;3(3):036003.
81. Bikov A, Lazar Z, Schandl K, Antus BM, Losonczy G, Horvath I. Exercise changes volatiles in exhaled breath assessed by an electronic nose. *Acta Physiol Hung*. September 2011;98(3):321–8.
82. Fens N, Douma RA, Sterk PJ, Kamphuisen PW. Breathomics as a diagnostic tool for pulmonary embolism. *J Thromb Haemost*. 2010;8(12):2831–3.
83. van der Schee MP, Palmay R, Cowan JO, Taylor DR. Predicting steroid responsiveness in patients with asthma using exhaled breath profiling. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. November 2013;43(11):1217–25.

84. Neerincx AH, Vijverberg SJH, Bos LDJ, Brinkman P, van der Schee MP, de Vries R, u. a. Breathomics from exhaled volatile organic compounds in pediatric asthma. *Pediatr Pulmonol.* Dezember 2017;52(12):1616–27.
85. Hüppe T, Lorenz D, Wachowiak M, Maurer F, Meiser A, Groesdonk H, u. a. Volatile organic compounds in ventilated critical care patients: a systematic evaluation of cofactors. *BMC Pulm Med.* Dezember 2017;17(1):116.

7. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Kriterien für das Vorliegen eines SIRS bei Kindern jenseits der Neonatalperiode	11
Tabelle 2: Definition von SIRS mit Organkomplikation	12
Tabelle 3: Richtwerte Vital- und Laborparameter im Kindes- und Jugendalter	13
Tabelle 4: Betriebsbedingungen der Multi-Capillary-Column (MCC-OV5)	26
Tabelle 5: Zusammenfassung der Betriebsparameter des IMS	28
Tabelle 6: Übersicht über die 285 identifizierten Peaks (VOCs)	39
Tabelle 7: Darstellung der 23 Peaks, die eine Trennung von ≥285 Messungen ermöglichen	41
Tabelle 8: Darstellung der 18 VOCs, die eine korrekte Klassifizierung von ≥ 210 Messungen ermöglichen	45
Tabelle 9: Darstellung der 21 Peaks, die eine korrekte Klassifizierung von ≥ 145 Messungen ermöglichen	49
Tabelle 10: Darstellung der acht Peaks, die eine korrekte Klassifizierung von ≥ 144 Messungen ermöglichen	51
Tabelle 11: Zusammenfassung der Peak-Analyse	54
Tabelle 12: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C1	55
Tabelle 13: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C2	58
Tabelle 14: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C3	61
Tabelle 15: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C4	62
Tabelle 16: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C5	63
Tabelle 17: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C6	64
Tabelle 18: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C7	64
Tabelle 19: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C8	68
Tabelle 20: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C9	70
Tabelle 21: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C10	72
Tabelle 22: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C11	72
Tabelle 23: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C12	76
Tabelle 24: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C13	79
Tabelle 25: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C14	79
Tabelle 26: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C15	83
Tabelle 27: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C16	84
Tabelle 28: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C17	87

Tabelle 29: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C18	90
Tabelle 30: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C19	90
Tabelle 31: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C20	91
Tabelle 32: Tabellarische Zusammenfassung des klinischen Verlaufs von Patient C21	93
Tabelle 33: Übersicht der gefundenen VOCs	95
Tabelle 34: Zusammenfassung der signifikanten VOCs in Zusammenhang mit den einzelnen Untersuchungsgruppen	96

8. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Querschnitt einer MCC	25
Abbildung 2: Schematische Darstellung eines Ionenmobilitätsspektrometers	28
Abbildung 3: Schematische Darstellung der Messröhre: Modifiziert nach (36)	33
Abbildung 4: Exemplarische Darstellung eines zwei dimensionalen IMS-Chromatogramms	36
Abbildung 5: Exemplarische Darstellung eines 3D IMS-Chromatogramms (37)	37
Abbildung 6: Timeline und Box-Plot von Peak 6	42
Abbildung 7: Timeline und Box-Plot von Peak 48	42
Abbildung 8: Timeline und Box-Plot von Peak 137	43
Abbildung 9: Timeline und Box-Plot von Peak 164	43
Abbildung 10: Timeline und Box-Plot von Peak 196	44
Abbildung 11: Timeline und Box-Plot von Peak 6	46
Abbildung 12: Timeline und Box-Plot von Peak 15	46
Abbildung 13: Timeline und Box-Plot von Peak 138	47
Abbildung 14: Timeline und Box-Plot von Peak 164	47
Abbildung 15: Timeline und Box-Plot von Peak 196	48
Abbildung 16: Timeline und Box-Plot von Peak 130	50
Abbildung 17: Timeline und Box-Plot von Peak 138	50
Abbildung 18: Timeline und Box-Plot von Peak 6	52
Abbildung 19: Timeline und Box-Plot von Peak 138	52
Abbildung 20: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 135 und dem klinischen Verlauf von Patient C1	56
Abbildung 21: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 138 und dem klinischen Verlauf von Patient C1	57
Abbildung 22: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 178 und dem klinischen Verlauf von Patient C1	57
Abbildung 23: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 6 und dem klinischen Verlauf von Patient C2	59
Abbildung 24: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 15 und dem klinischen Verlauf von Patient C2	59
Abbildung 25: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 48 und dem klinischen Verlauf von Patient C2	60
Abbildung 26: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 81 und dem klinischen Verlauf von Patient C2	60

Abbildung 27: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 138 und dem klinischen Verlauf von Patient C2	61
Abbildung 28: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 135 und dem klinischen Verlauf von Patient C4	63
Abbildung 29: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 6 und dem klinischen Verlauf von Patient C7	65
Abbildung 30: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 41 und dem klinischen Verlauf von Patient C7	66
Abbildung 31: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 48 und dem klinischen Verlauf von Patient C7	66
Abbildung 32: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 81 und dem klinischen Verlauf von Patient C7	67
Abbildung 33: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 6 und dem klinischen Verlauf von Patient C8	68
Abbildung 34: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 135 und dem klinischen Verlauf von Patient C8	69
Abbildung 35: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 6 und dem klinischen Verlauf von Patient C9	70
Abbildung 36: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 135 und dem klinischen Verlauf von Patient C9	71
Abbildung 37: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 6 und dem klinischen Verlauf von Patient C11	73
Abbildung 38: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 48 und dem klinischen Verlauf von Patient C11	74
Abbildung 39: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 81 und dem klinischen Verlauf von Patient C11	74
Abbildung 40: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 178 und dem klinischen Verlauf von Patient C11	75
Abbildung 41: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 6 und dem klinischen Verlauf von Patient C12	77
Abbildung 42: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 48 und dem klinischen Verlauf von Patient C12	78
Abbildung 43: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 138 und dem klinischen Verlauf von Patient C12	78
Abbildung 44: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 15 und dem klinischen Verlauf von Patient C14	80

Abbildung 45: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 39 und dem klinischen Verlauf von Patient C14	81
Abbildung 46: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 135 und dem klinischen Verlauf von Patient C15	83
Abbildung 47: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 6 und dem klinischen Verlauf von Patient C16	85
Abbildung 48: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 81 und dem klinischen Verlauf von Patient C16	86
Abbildung 49: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 178 und dem klinischen Verlauf von Patient C16	86
Abbildung 50: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 6 und dem klinischen Verlauf von Patient C17	88
Abbildung 51: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 48 und dem klinischen Verlauf von Patient C17	88
Abbildung 52: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 81 und dem klinischen Verlauf von Patient C17	89
Abbildung 53: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 6 und dem klinischen Verlauf von Patient C20	92
Abbildung 54: Korrelation zwischen dem Verlauf von Peak 6 und dem klinischen Verlauf von Patient C21	94

9. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Norbert Graf, Leiter der Klinik für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie am Universitätsklinikum des Saarlandes, sowie Herrn Prof. Dr. Rhoikos Furtwängler, kommissarischer Klinikleiter der Klinik für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie am Universitätsklinikum des Saarlandes für das ermöglichen dieser Arbeit, die Bereitstellung des Themas sowie die hervorragende Betreuung während der gesamten Zeit.

Ein weiterer ausgesprochener Dank gilt allen Teilnehmerinnen und Teilnehmern dieser Studie sowie dem Pflegepersonal der Ambulanz und der Station KK05 am Universitätsklinikum für pädiatrische Onkologie und Hämatologie für die Partizipation an der Studie.

Zudem möchte ich meinen wunderbaren Eltern, Herrn Dr. Eugen Hübel und Marion Hübel sowie und meinem Bruder, Herrn Matthias Hübel für die wertvolle Unterstützung in all der Zeit danken.

Abschließend geht mein Dank an meinen Mann, Herrn Richard Zaccaria und meine beiden Kinder, die mich unterstützt haben und mir die Kraft gegeben haben, die Arbeit fertigzustellen.

10. Publikation

Signals of neutropenia in human breath?

R. Furtwängler & A.-C. Hauschild & J. Hübel & H. Rakicioglou & B. Bödeker & S. Maddula & A. Simon & J. I. Baumbach

Abstract

Children undergoing systemic chemotherapy often suffer from severe immunosuppression usually associated to severe neutropenia (neutrophils $<0.5 \times 10^9/l$). Clinical courses during those periods range from asymptomatic to septic general conditions. Development of septic symptoms can be very fast and life-threatening. Swift detection of risk factors in those patients is therefore needed. So far no early, rapid and reliable marker or tool exists. Ion-Mobility-Spectrometry coupled with a Multi-Capillary-Column (IMS-MCC) can analyze more than 600 volatile components from exhaled air within a few minutes and hence is a potential, rapid detection tool. As a proof of concept we measured the exhaled breath of 11 patients with neutropenia and 10 healthy controls ranging from 3 to 18 years of age at the time of measurement. Ten milliliters breath samples were taken at the outpatient clinic and analyzed with an onsite IMS-MCC (BreathDiscovery, B&S Analytik, Dortmund, Germany). Dead-space-volume was adapted to two groups (small 250 ml, large 500 ml). Interestingly 59 differing peaks were measured. Eleven were significantly different ($p \leq 0.05$), three of which highly significant ($p \leq 0.01$) in Mann-Whitney-Rank-Sum-testing. The corresponding analytes used in the decision tree are 2-Propanol, D-Limonene and Acetone. The analytes with the lowest rank sum identified are 2-Hexanone, Iso-Propylamine and 1-Butanol. Eventually we were able to show a three-step-decision tree, which discerns the 21 samples except one from each group. Sensitivity was 90 % and specificity was 91 %. Naturally these findings need further confirmation within a bigger population. Our pilot-study proves that Ion-Mobility-Spectrometry coupled with a Multi-Capillary-Column is a feasible rapid diagnostic tool in the setting of a pediatric oncology outpatient clinic for patients 3 years and older. Our first results furthermore encourage additional analysis as to whether patients at risk for septic events during immunosuppression can be diagnosed in advance by rapidly assessing risk factors such as Neutropenia in exhaled breath.

11. Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.

Tag der Promotion: 15.12.2022
Dekan: Univ.-Prof. Dr. Michael D. Menger
Berichterstatter: Prof. Dr. Norbert Graf
Prof. Dr. Markus Meyer