

Aus dem Institut für Hygiene und Laboratoriumsmedizin
Klinikum Krefeld
Akademisches Lehrkrankenhaus der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Prof.Dr.med.C.H.Wirsing von König

Ausbruch von ECHO-Virus-Meningitis bei Kindern

Eine klinische, virologische und epidemiologische
Untersuchung

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der
Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf

vorgelegt von

Daruk Marsan

2003

**Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

**gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. phil. Alfons Labisch, M.A.
Dekan
Referent: Prof. Dr. Wirsing von König
Koreferent: Prof. Dr. Schroten**

Inhaltsverzeichnis

| | <u>Seite</u> |
|--|--------------|
| 1 Einleitung | |
| 1.1 Geschichte des Virus | 1 |
| 1.2 Übertragungswege | 3 |
| 1.3 Verbreitung | 3 |
| 1.4 Pathogenese | 3 |
| 1.5 Klinische Manifestation | 4 |
| 1.6 Ziel dieser Untersuchung | 5 |
| 2 Patienten und Methoden | |
| 2.1 Patienten und Probanden | 6 |
| 2.2 Laboruntersuchungen | 6 |
| 2.2.1 Antikörperbestimmungen | 6 |
| 2.2.2 Virologische Direktnachweise | 7 |
| 2.3 Umgebungsuntersuchungen | 10 |
| 2.4 Statistische Auswertung | 11 |
| 3 Ergebnisse | |
| 3.1 Anamnestische und demographische Daten | 12 |
| 3.2 Klinische Symptomatik | 16 |
| 3.3 Laborergebnisse Primärlabor | 19 |
| 3.3.1 Liquorbefunde | 19 |
| 3.4 Serologische Laborergebnisse | 20 |
| 3.5 Serologische Befunde bei Kontrollkollektiven | 21 |
| 3.6 Virusnachweis bei Patienten | 22 |
| 3.7 Krankheitsverlauf | 23 |
| 3.8 Epidemiologie | 24 |
| 4 Diskussion | |
| 4.1 Klinische Daten | 27 |
| 4.2 Epidemiologie | 36 |
| 4.3 Zukünftige Therapieoptionen | 40 |
| 5 Zusammenfassung | 41 |
| 6 Literaturübersicht | 43 |
| 7 Anhang | 51 |
| 8 Lebenslauf | 52 |
| 9 Danksagung | 53 |

1. Einleitung

1.1 Geschichte des Virus

ECHO-Viren gehören gemeinsam mit den Coxsackieviren und den Polioviren zur Gruppe der Enteroviren. Enteroviren sind RNA-Viren aus der Familie der Picornaviren. ECHO-Viren wurden erstmals 1951 im Stuhl von gesunden Kindern entdeckt. Sie konnten damals keiner Erkrankung zugeordnet werden. In der Namensgebung der ECHO-Viren (enteric-cytopathic-human-orphan) kommt dies zum Ausdruck. Orphan (Waise) beschreibt also einen Erreger ohne Zuordnung zu einer definierten Erkrankung.

Enteroviren sind kleine ikosaedrisch aufgebaute RNA-Viren ohne Hülle mit einem Durchmesser von 24 bis 30 nm. Alle Enteroviren enthalten als Strukturproteine die Polypeptidketten VP1, VP2, VP3 und VP4. Letztere ist an der Innenseite des Viruskapsids gelegen und verbunden mit der viralen RNA. Die Anordnung von VP1, VP2 und VP3 an der Kapsidoberfläche definiert den Serotyp der Enteroviren.

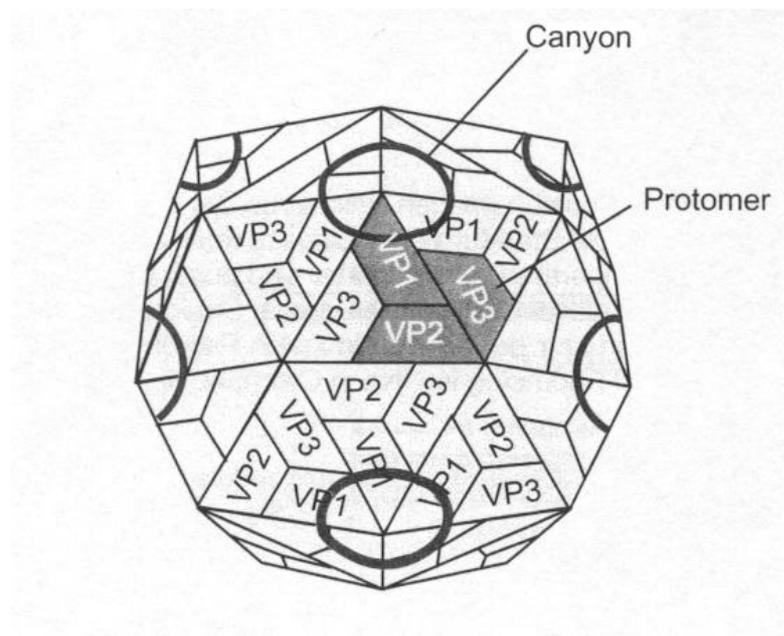


Abbildung 1

Aufbau eines Enteroviruspartikels. Die Virusproteine VP1, VP2 und VP3 sind schematisch dargestellt. VP4 befindet sich an der Innenseite des Kapsids

Aus: Modrow S, Falke D (1997) Molekulare Virologie. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford S.115

Im Bereich von VP1 und VP3 befinden sich grabenartige Vertiefungen der Partikeloberfläche, die sogenannten Canyons. Diese dienen dem Virus als Anheftungsregion an spezifische zelluläre Rezeptoren.

Das Virusgenom besteht aus einer Einzelstrang-RNA in Positivstrangorientierung, so dass die Virusproteine direkt vom viralen Genom translatiert werden können. Die Genomlänge beträgt ca. 7400 Basenpaare. Der nichttranslatierte Bereich am 5'-Ende (5'-NTR) besteht aus ca. 700 Basenpaaren, ein kleines virales Protein (VPg) ist kovalent mit diesem Ende verbunden. Der nichttranslatierte, polyadenylierte Bereich am 3'-Ende (3'-NTR) umfasst ca. 60 -100 Basenpaare.

Alle viralen Proteine werden kodiert von einem offenen Leserahmen. Bei der Translation entsteht somit ein einziges großes Vorläufer-Polyprotein, welches durch virale Proteasen in die Strukturproteine des Capsids (VP1, VP2, VP3 und VP4) sowie in virale Nichtstrukturproteine wie Proteasen, RNA-Polymerase und das VPg gespalten wird.

Humane Enteroviren werden in folgende Gruppen unterteilt: Polioviren umfassen drei verschiedene Serotypen, Coxsackieviren der Gruppe A 23 Serotypen, Coxsackieviren der Gruppe B umfassen sechs Serotypen und die ECHO-Viren 30 verschiedene Serotypen. Darüber hinaus existieren Enteroviren der Serotypen 68 bis 71.

| Humane Enteroviren | |
|---------------------------|----------------------------|
| <u>Virus</u> | <u>Serotypen</u> |
| Polioviren | 1,2 ,3 |
| Coxsackieviren A | 1 - 23 |
| Coxsackieviren B | 1 - 6 |
| ECHO-Viren | 1 – 7, 9, 11 – 27, 29 - 33 |
| Enteroviren | 68 -71 |

Tabelle 1

Einteilung der humanen Enteroviren

Enteroviren sind relativ umweltstabile Viren. Sie sind gegen pH-Werte unter pH3 und gegenüber zahlreichen proteolytischen Enzymen resistent. Sie können ihre Aktivität bei Raumtemperatur über mehrere Tage erhalten. In Zellkulturen wachsen die Viren relativ schnell und zeigen ihre zytopathogene Wirkung innerhalb von 3 bis 7 Tagen.

1.2 Übertragungswege

Der einzige natürliche Wirt für Polioviren, Coxsackieviren und ECHO-Viren scheint der Mensch zu sein. Vereinzelt sind sie auch in Insekten, in Muscheln, Austern und einigen Säugetieren nachgewiesen worden.

Der Übertragungsweg von Enteroviren ist in der Regel fäkal-oral. Im Stuhl von Erkrankten oder von asymptomatisch Infizierten werden große Mengen Viruspartikel (10^6 - 10^9 /g Fäzes) ausgeschieden. (85) Die Dauer der Ausscheidung kann Wochen bis Monate betragen.(77)

Im Bereich der Atemwege können Enteroviren mittels Tröpfcheninfektion oral-oral übertragen werden.

Kontaminierte Gegenstände, Nahrungsmittel, Trinkwasser, sowie infiziertes Wasser in Schwimmbädern können als Vehikel dienen und die Übertragung begünstigen.

Kleinkinder und Schulkinder ohne spezifische Immunität gelten als besonders empfängliche Population für die Infektion mit Enteroviren. Unhygienische Verhaltensweisen von Kindern in diesem Alter tragen hierzu bei.

1.3 Verbreitung

Enteroviren sind weltweit verbreitet. Sie gehören zu den häufigsten und wichtigsten viralen Pathogenen des Menschen. Vor der Einführung einer Impfung Ende der 50-iger Jahren waren es vor allem die drei Serotypen der Polioviren, welche zu großen Epidemien führten und mit ihrer besonderen Neurovirulenz und dramatischen Verläufen auf sich aufmerksam machten. Diese sind in den entwickelten westlichen Ländern mittlerweile fast vollständig eradiziert. Auch in den Entwicklungsländern hat die von der WHO koordinierte Impfpolitik zu einem drastischen Rückgang der Polio-Prävalenz und Inzidenz geführt.

Seither erlangen, besonders in den entwickelten Ländern, die anderen humanpathogenen Enteroviren – ECHO - und Coxsackie-Viren – eine größere Bedeutung. Sie führen in gemäßigten Klimazonen vor allem in den Sommer- und Herbstmonaten zu epidemischen Ausbrüchen. In wärmeren und tropischen Klimazonen zeigen sie eine über das Jahr gleichmäßig verteilte Infektionsrate.

1.4 Pathogenese

Nach der oralen oder respiratorischen Aufnahme kommt es zu einer Virusreplikation im Pharynx und im unteren Gastrointestinaltrakt. Innerhalb eines Tages kommt es zu einer Ausbreitung der Infektion in die regionalen Lymphknoten. Am dritten Tag führt eine erste Virämie zu einer Besiedelung zahlreicher sekundärer Infektionsorte. Zwischen dem 3. und 7. Tag der Infektion kommt es von diesen Infektionsorten aus zu einer zweiten Virämie. Bei zahlreichen Enteroviren wird das zentrale Nervensystem bereits im Rahmen der ersten Virämie besiedelt. Am Ende der Virämie lassen sich die ersten spezifischen Antikörper nachweisen und die Viruskonzentration an den sekundären Infektionsorten wird abgebaut. Nur im unteren Gastrointestinaltrakt kann die Virusbesiedelung noch für längere Zeit persistieren. Andere Zielorgane der sekundären Virämie sind neben dem zentralen Nervensystem Haut und Schleimhäute, die Atemwege, Muskulatur und Herzmuskulatur sowie Leber, Pankreas und Nebennieren.

Die Besiedlung des ZNS erfolgt mit großer Wahrscheinlichkeit hämatogen im Rahmen der Virämie. Eine direkte Ausbreitung auf neuronalem Wege wird diskutiert, scheint aber keine wesentliche Rolle zu spielen. (65)

Der Übertritt der Enteroviren aus dem Blut in das ZNS wird vermutlich durch endotheliale Enterovirus (EV)-Rezeptoren vermittelt. Im Laufe einer systemischen Enterovirus-Infektion kommt es zu einer „upregulation“ dieser Rezeptoren. (65)

Enteroviren lassen sich im Rahmen einer Virämie auch in mononukleären Zellen nachweisen, die Bedeutung dieses Kompartimentes für die ZNS-Besiedlung ist jedoch nicht sicher.

Der Neurotropismus und die Neurovirulenz von Enteroviren ist je nach Serotyp sehr variabel. Die drei Serotypen der Polioviren haben bekanntlich alle eine ausgesprochene Neurovirulenz. Bei den Non-Polio-Enteroviren sind neben ECHO-Virus Typ 30 besonders Coxsackievirus B5, ECHO-Virus 7, 9, 11 und Enterovirus 70 und 71 für ihre Neurovirulenz bekannt. (66)

Neuere Untersuchungen lassen vermuten, dass spezifische Basensequenzen im Bereich der 5'-nichttranslatierten Region des Virusgenoms, die entsprechenden Sequenzen in Polioviren ähneln, die Neurovirulenz der Non-Polio-Enteroviren determinieren. (60)

1.5 Klinische Manifestation

Die häufigste klinische Manifestationsform der Enterovirusinfektionen ist der unspezifische fieberhafte Infekt.(16,37,40) Manchmal ist der Fieberverlauf zweiphasisch entsprechend der ersten und zweiten Virämie. Bei älteren Kindern sind Kopfschmerzen ein charakteristisches Symptom. Abgeschlagenheit, Appetitlosigkeit, Bauchschmerzen, Übelkeit und Erbrechen und leichter Durchfall weisen auf einen Infektionsverlauf im Magen-Darm-Trakt hin. Die Dauer der Symptomatik beträgt durchschnittlich 3 bis 4 Tage.

Enterovirusinfektionen haben eine globale Verbreiterung. Sie verlaufen in bis zu 90 Prozent der Fälle asymptomatisch. Dieser Umstand hat in der Namensgebung der ECHO-Viren zu der Bezeichnung Orphan (Waise; ohne erkennbare Zuordnung zu einer Krankheit) geführt. Enteroviren persistieren jedoch über Wochen und Monate im Magen-Darm-Trakt von Kindern. Eine unspezifische Symptomatik könnte daher Wochen zuvor durchaus bestanden haben. Somit ist der Enterovirusnachweis bei einem asymptomatischen Kind nicht prinzipiell gleichbedeutend mit einer vollständig asymptomatisch abgelaufenen Infektion. Bei genauer Anamnese und klinischer Untersuchung reduziert sich die hohe Rate der asymptomatischen Infektionen durch Enteroviren. Sie scheint bei Coxsackievirus- und ECHO-Virusinfektionen auch vom Serotyp abhängig zu sein.

Weitere klinische Manifestationen sind Stomatitis, Pharyngitis, die sog. Hand-Mund-Fuss-Krankheit bedingt vor allem durch Coxsackievirus A16, die akute hämorrhagische Konjunktivitis vor allem durch Enterovirus Typ 70, die Bornholmer Erkrankung bzw. Pleurodynie vor allem durch Coxsackievirus Typ B3 und B5. In selteneren Fällen wurden beschrieben Hepatitis, Pankreatitis, Myokarditis, Orchitis und Epididymitis. (37,46,85)

Neonatale Infektionen zeigen eine große Variationsbreite. Sie können sowohl asymptomatisch als auch tödlich im Sinne einer Sepsis verlaufenden. (2,7,14)

Bei immundefizienten Patienten mit Agammaglobulinämie werden chronische bzw. persistierende Meningoenzephalitiden mit zum Teil letalem Ausgang beschrieben.

(41)

Enteroviren verursachen häufig Exantheme im Rahmen fieberhafter Infekte. Die beschriebenen Effloreszenzen sind überwiegend makulopapulös. Die Häufigkeit eines Exanthemausbruches korreliert umgekehrt mit dem Alter des Kindes. (15)

Viele der Enteroviren sind neurotrop und führen häufig zum Krankheitsbild einer serösen Meningitis.

Bei fieberhaften Infekten im Kleinkindesalter, die zum Auftreten von Fieberkrämpfen führen, wurden gehäuft Enteroviren nachgewiesen. (33)

In manchen Fällen kommt es zur Ausbildung einer Enzephalitis, einem Guillain-Barré-Syndrom sowie sehr selten zu einer polioartigen Paralyse infolge Schädigung der Vorderhornzellen des Rückenmarkes.

Die von Enteroviren verursachte seröse Meningitis tritt sporadisch, aber auch in Form epidemischer Ausbrüche auf. Bestimmte Serotypen von Coxsackieviren und ECHO-Viren werden als bevorzugte Erreger beschrieben. ECHO-Virus Typ 30 ist hierbei einer der häufigsten nachgewiesenen Enteroviren.

1.6 Ziel dieser Untersuchung

Die vorliegende Arbeit beschreibt einen regionalen Ausbruch von ECHO-Virus Typ 30 Meningitisfällen im Klein- und Schulkindesalter. Der Ausbruch ereignete sich in Krefeld und im Bereich des linken Niederrheins in den Herbstmonaten des Jahres 2000. Die Untersuchung umfasst klinische, virologische und epidemiologische Aspekte der serösen Meningitis durch ECHO-Virus Typ 30.

2. Patienten und Methoden

2.1 Patienten und Probanden

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich im wesentlichen um eine klinisch-retrospektive Untersuchung. Sie umfasst 51 Patienten, die im Zeitraum zwischen dem 1. September 2000 und dem 31. Dezember 2000 mit der Diagnose Enterovirusmeningitis in der Kinderklinik des Klinikum Krefeld stationär behandelt wurden. Daten aus den Patientenakten wurden systematisch erfasst und ausgewertet. Hierzu wurden die klinischen Daten aller Patienten parametrisiert aus den jeweiligen Krankengeschichten übernommen und zur Auswertung in einer Datenbank (Access) zusammengefasst. Zur Kontrolle der epidemiologischen Situation wurden Seren von Blutspender/Innen der Blutbanken Krefeld und Essen verwendet (s.u.).

2.2 Laboruntersuchungen

Die Laboruntersuchungen erfolgten im Institut für Hygiene und Laboratoriumsmedizin sowie im Labor der Zentrums für Kinder- und Jugendmedizin des Klinikum Krefeld. Blutbild und andere Routinebestimmungen wurden im Labor der Kinderklinik durchgeführt. Die Konzentration des Serum-CRP wurde mittels rate-Nephelometrie (Beckman-Coulter) bestimmt. Die Zählung der Zellen in den Liquorproben erfolgte in einer Fuchs-Rosenthal-Kammer, die Bestimmung von Gesamteiweiß, Glucose und Lactat im Liquor wurde mit Standardmethoden der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie durchgeführt. Alle Untersuchungen wurden am Tag der Liquorentnahme durchgeführt.

2.2.1 Antikörperbestimmungen

Die Konzentration der IgG- und IgM-Antikörper gegen Enterovirusantigen im Serum und im Liquor wurde mittels ELISA (Serion-ELISA classic, ECHO-Virus IgG, IgM quantitativ; Virion-Serion Würzburg) gemessen. Dieser ELISA ist ein Mikrotiter-Assay mit Zellkulturantigenen von ECHO-Viren als Antigen. Die Ausgangsverdünnung zur Bestimmung der IgG-AK beträgt 1:501, die Ausgangsverdünnung zur Bestimmung der IgM-AK 1:101. Die Seren wurden bei der IgM-Bestimmung zur Vermeidung von Interferenzen durch Rheumafaktor mit RF-Absorbens behandelt. Liquorproben wurden zur Bestimmung von IgM-AK 1:2 verdünnt, IgG-AK gegen ECHO-Viren wurden im Liquor nicht bestimmt. Die Proben wurden entweder sofort untersucht oder bis zur Untersuchung bei -20°C gelagert.

Die Auswertung erfolgte im Vergleich zu den AK-Konzentrationen einer Standardkurve in arbiträren Einheiten (U/ml). Die Berechnung wurde mittels Ein-Punkt-Quantifizierungsmethode durchgeführt. Die technische Validierung wurde hierbei im Vergleich zu einer Kontrollprobe mit bekanntem Gehalt vorgenommen. Bei der Messung der IgG-AK wurde der cut-off des Testsystems laut Auskunft des Herstellers so eingestellt, dass 90% von erwachsenen Blutspendern keine messbaren IgG-AK und 100% keine IgM-AK aufwiesen. Der Hersteller weist darauf hin, dass die cut-offs bei Kindern möglicherweise niedriger sind.

Die Proben wurden nach folgendem Schema ausgewertet:

IgG-AK gegen ECHO-Viren: <80 U/ml keine AK nachweisbar
80-100 U/ml grenzwertiges Testergebnis
>100 U/ml IgG-AK gegen ECHO-Viren nachweisbar

IgM-AK gegen ECHO-Viren: <30 U/ml keine AK nachweisbar
30-50 U/ml grenzwertiges Testergebnis
>50 U/ml IgM-AK gegen ECHO-Viren nachweisbar

Bei der Auswertung der Liquorproben wurden in Ermangelung von Referenzdaten alle messbaren (>99% des Konfidenzintervalls (CI) der negativen Kontrollen) Werte zur Berechnung herangezogen bzw. parallel nach den oben angegebenen Kriterien ausgewertet.

Zur Überprüfung der Referenzbereiche und zur Erstellung von aktuellen epidemiologischen Daten wurden in der Zeit des Ausbruchs, der vor allem in Krefeld (siehe unten) stattfand, 92 Seren von Blutspender/Innen der Blutbank Krefeld und 100 Seren von Blutspender/Innen der Blutbank der Universität/GHS Essen (Direktor: Univ.Prof.Dr.N.Müller) ausgewertet. In dieser Population wurden jeweils sowohl IgG- als auch IgM-AK gegen ECHO-Viren bestimmt.

2.2.2 Virologische Direktnachweise

Für den Nachweis von Enterovirusgenom in den Liquorproben wird die Polymerase Kettenreaktion (PCR) eingesetzt.

Durch PCR ist lediglich eine Vervielfältigung von DNA-Abschnitten möglich, so ist es erforderlich, die aufgereinigte virale RNA in einer vorgeschalteten Reversen Transkription (RT) in eine cDNA (komplementäre DNA) zu überführen.

Eine höhere Sensitivität sowie Spezifität wird erreicht durch zwei hintereinander geschaltete PC-Reaktionen (nested PCR).

Zielbereich für den Genomnachweis mittels dieser RT-nPCR-Technik ist der konservierte Bereich der 5'NT-Region. Die Länge des Amplifikates beträgt 325 Basenpaare (bp).

Abbildung 2 gibt die Lage der Primer für den Beginn der Reversen Transkription sowie für die geschachtelte PCR wieder.

```
>gnl|NCBICG|seq_D00820
TTAAAACAGCTCTGGGGTTGTTCCACCCAGAGGCCACGTTGGCGGCTAGTACTCCGGTACCCCGGTAC 70
CCTTGACGCCTGTTTTATACTCCCTTTCCCAAGTAACTTTAGAAGAAATAAACTAATGTTCAACAGGAG
GGGTACAAACCAGTACCACCACGAAACACACTTCTGTTCCCGGTGAAGTTGCATAGACTGTACCCA s-1
CGGTTGAAAGCGATGAATCCGTTACCCGCTTAGGTACTTCGAGAAGCCTAGTATCATCTTGAATCTTCG s-2
ATGCGTTGCGATCAGCACTCTACCCGAGTGTAGCTTGGGTCGATGAGTCTGGACACCCACACCCGGCGA
CGTGGTCCAGGCTGCGTTGGCGGCCTACCCATGGCTAGCACCATGGGACGCTAGTTGTGAACAAGGTGCG 420
AAGAGCCTATTGAGTACCTGAGAGTCTCCGGCCCTGAATGCGGCTAATCCCAACCACGGAGCAAATG
CTCACAATCCAGTGAGTGGTTTGTGCGTAATGCGCAAGTCTGTGGCGGAACCGACTACTTTGGGTGTCCGT as-2
GTTTCTTTTATTTTATTAATGGCTGCTTATGGTGACAATCTGAGATTGTTATCATATAGCTATTGGATT as-1
AGCCATCCGGTGATATCTTGAAATTTTGCATAACTTTTTACAAATCCTACAACATTACACTACACTTT 700
CTCTTGAATAAATTGAGACAACCTATAATGGGAGCACAAGTTTCTAGACAACAACTGGCAGCATGAGAA
TGCTAACGTTGCCACTGGAGGCTCAAGCATAACTTACAATCAAATAAATTTCTACAAAGATAGTTATGCA
GCCTCAGCTAGTAAACAAGATTTAGCCCAAGACCCATCCAAGTTCACAGAGCCTGTAGCTGAAGCCCTAA
```

Abbildung 2

Nukleotidsequenz der 5' NTR eines Enterovirusgenoms

rot: äußeres Primerpaar der ersten PCR (s-1, as-1), der as-1 Primer wird ebenfalls in der RT-Reaktion eingesetzt.

grün: inneres Primerpaar für die zweite PCR

Aufbereitung der Liquorproben:

Aus jeweils 140 µl Liquor wurde mit Hilfe des QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen) entsprechend der Testanleitung virale RNA extrahiert. Hierbei wurde die Probe unter stark denaturierenden Bedingungen lysiert. Das Lysat wurde anschließend auf Silicagel-Säulchen aufgetragen und nach zwei Waschschritten in 60 µl Puffer eluiert. In dem Eluat befand sich letztendlich reine, intakte RNA.

Synthese der cDNA durch Reverse Transkription (RT):

Die Reverse Transkription (RT) stellt eine isotherme Reaktion dar, bei der mittels Reverse Transkriptase die RNA in eine cDNA umgeschrieben wird.

Der RT-Reaktionsansatz war wie folgt zusammengesetzt:

| Reagenzien | Konzentration | Volumen (µl) | Endkonzentration |
|-----------------------|----------------------|---------------------|-------------------------|
| RT-Puffer | 5 x | 4 | 1 x |
| Nukleotide-Mix | 20 mM | 1 | 1 mM |
| as1-Primer | 50 pmol/µl | 1 | 50 pmol |
| Reverse Transkriptase | 50 U/µl | 1 | 50 U |
| RNase-Inhibitor | 20 U/µl | | |
| DTT | 100 mM | 2 | 10 mM |
| Aqua dest. | | 1 | |
| RNA-Extrakt | | 10 | |

Tabelle 2
RT-Reaktionsansatz

Die Reaktionszeit betrug 60 Minuten, die Inkubationstemperatur 42 °C. Anschließend wurde der Reaktionsansatz zum Abstoppen der Reaktion direkt ins Eisbad gestellt.

Amplifikation der cDNA durch nested Polymerase Kettenreaktion (nPCR):

Bei der Polymerase Kettenreaktion wird derjenige Genombereich amplifiziert, der von dem jeweiligen Primerpaar eingeschlossen wird. Gesteuert werden die drei Einzelreaktion der PCR (Denaturierung, Annealing, Elongation) durch den zyklischen Ablauf von drei aufeinanderfolgenden Temperaturen.

Der Reaktionsansatz für die erste PCR war wie folgt zusammengesetzt:

| Reagenzien | Konzentration | Volumen (μl) | Endkonzentration |
|-----------------------|------------------------|---------------------------|------------------|
| PCR-Puffer | 10 x | 5 | 1 x |
| MgCl ₂ | 25 mM | 0 | 1,5 |
| Nukleotide-Mix | 20 mM | 0,5 | 0,2 mM |
| as1- Primer | 50 pmol/ μl | 0,5 | 25 pmol |
| s1- Primer | 50 pmol/ μl | 0,5 | 25 pmol |
| Taq-Polymerase | 5 U/ μl | 0,25 | 1,25 U |
| Aqua dest. | | 38,25 | |
| Aliquot aus RT-Ansatz | | 5 | |

Tabelle 3

Reaktionsansatz für 1. PCR

Der Reaktionsansatz für die zweite PCR war wie folgt zusammengesetzt:

| Reagenzien | Konzentration | Volumen (μl) | Endkonzentration |
|---------------------------|------------------------|---------------------------|------------------|
| PCR-Puffer | 10 x | 5 | 1 x |
| MgCl ₂ | 25 mM | 0 | 1,5 |
| Nukleotide-Mix | 20 mM | 0,5 | 0,2 mM |
| as2- Primer | 50 pmol/ μl | 0,5 | 25 pmol |
| s2- Primer | 50 pmol/ μl | 0,5 | 25 pmol |
| Taq-Polymerase | 5 U/ μl | 0,25 | 1,25 U |
| Aqua dest. | | 38,25 | |
| Aliquot aus 1. PCR-Ansatz | | 5 | |

Tabelle 4

Reaktionsansatz für 2. PCR

Die Temperaturbedingungen für die erste und zweite PCR wurden wie folgt definiert:

- Zur Aktivierung des Enzyms Taq-Polymerase wird der gesamte Ansatz 15 Minuten bei 95 ° C inkubiert.
- Ein PCR-Zyklus besteht aus folgenden drei Inkubationsschritten:
 - 15 Sekunden bei 95 ° C (Denaturierung)
 - 60 Sekunden bei 42 ° C (Annealing)
 - 60 Sekunden bei 72 ° C (Elongation)

- Der Temperaturzyklus wird 40 mal wiederholt
- Zur Vervollständigung der begonnenen Elongationsreaktionen wird abschließend eine 5-minütige Inkubation bei 72 ° C durchgeführt.

Amplifikatnachweis

Das Amplifikat nach der zweiten PCR hat eine Länge von 325 bp. Zur Detektion dieses PCR-Produktes wurde ein Aliquot des zweiten PCR-Ansatzes im Ethidiumbromid-Agarosegel (1,25 %ig) elektrophoretisch aufgetrennt und die Größe der im UV-Licht sichtbaren Banden mittels DNA-Längenstandards im Vergleich zu einer Positivkontrolle ermittelt.

Virusisolierung und Serotypisierung

Die Virusisolierung in der Zellkultur und die Serotypisierung im Neutralisationstest wurde im Referenzlabor für Poliomyelitis und Enteroviren am Robert-Koch-Institut in Berlin durchgeführt.

2.3 Umgebungsuntersuchungen

Alle Virusmeningitisfälle, die im Zeitraum zwischen 1. September 2000 und 31. Dezember 2000 nach den Bestimmungen des zum damaligen Zeitpunkt gültigen Bundesseuchengesetzes an das Gesundheitsamt der Stadt Krefeld sowie an die Gesundheitsämter aller Nachbarregionen gemeldet wurden, wurden systematisch erfasst. Zu den Gesundheitsämtern der Nachbarregionen zählten die kreisfreien Städte Mönchengladbach, Duisburg, Neuss und Düsseldorf, wegen der Untersuchung der Blutspender (siehe unten) die Stadt Essen, sowie der Kreis Viersen.

Im Bereich des Gesundheitsamtes Krefeld und (soweit betroffen) im Bereich des Gesundheitsamtes Viersen wurden durch Mitarbeiter des GA Krefeld (Herr StMedDir Dr.G.Orth) alle Haushaltskontakte sowie alle Kontakte in Schulen, Kindergärten und anderen Gemeinschaftseinrichtungen der betroffenen Patienten dokumentiert und ausgewertet.

Die wie weiter oben erwähnt zur Überprüfung der Referenzbereiche entnommenen 92 Seren von Spendern der Blutbank Krefeld und 100 Seren von Blutspender/Innen der Blutbank der Universität/GHS Essen (Direktor: Univ.Prof.Dr.N.Müller) wurden im regionalen Vergleich ausgewertet. In dieser Population wurden jeweils sowohl IgG- als auch IgM-AK gegen ECHO-Viren bestimmt.

2.4 Statistische Auswertung

Die Studie ist primär eine deskriptive epidemiologische Untersuchung. Daten aus kontinuierlichen Variablen wurden tabuliert und entsprechend dargestellt. Daten aus diskontinuierlichen Variablen wurden auf ihre Verteilung hin untersucht. Quantitative Messdaten wurden als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt, bei fehlender Normalverteilung als 5-95% Bereich. Beim Vergleich zweier Kollektive wurde, falls möglich, der chi-Quadrat-Test verwendet. Alle statistischen Auswertungen wurden mittels Standardsoftware (Sigma-Stat, SAS, über Jandel Scientific) durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Anamnestische und demographische Daten

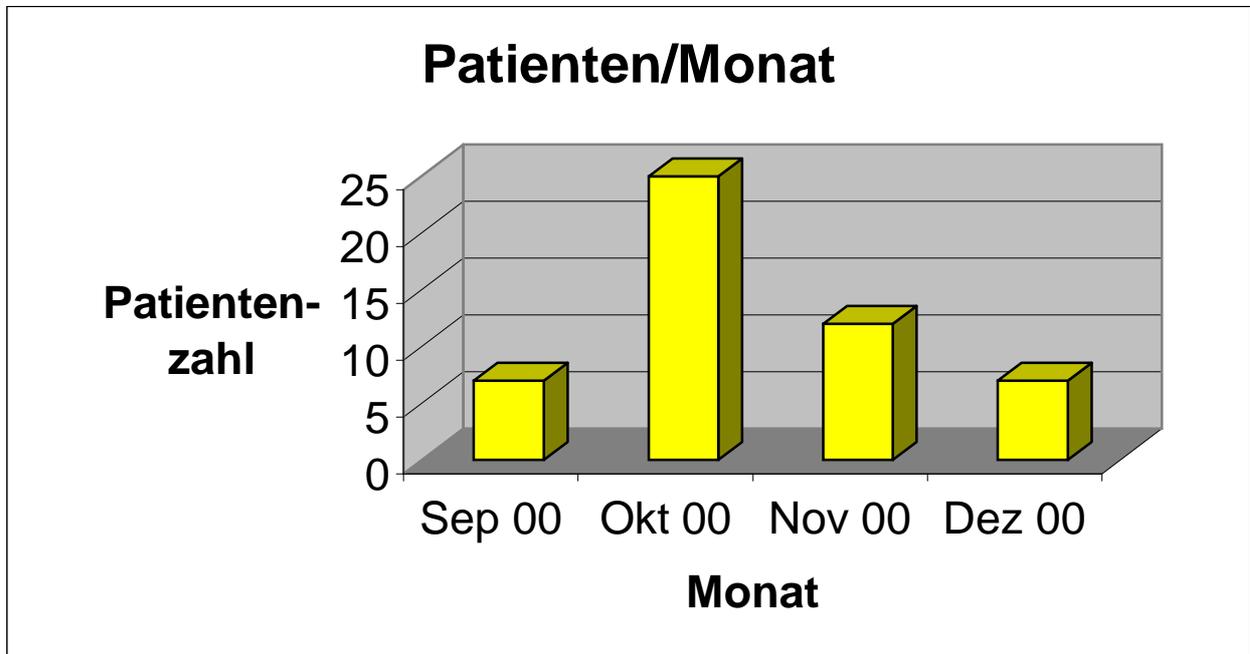


Abbildung 3
Patientenzahl je Monat

Abb.3 zeigt die Anzahl der Fälle im Untersuchungszeitraum. Dieser erstreckt sich vom 1. September 2000 bis 31. Dezember 2000. Die ersten Fälle von Enterovirusmeningitis traten in der 2. Septemberhälfte auf. Die höchste Fallzahl war im Oktober 2000 zu registrieren. Im November und Dezember 2000 kam es zu einem Rückgang der Erkrankungsfälle und zu einem Ende des beschriebenen Ausbruches.

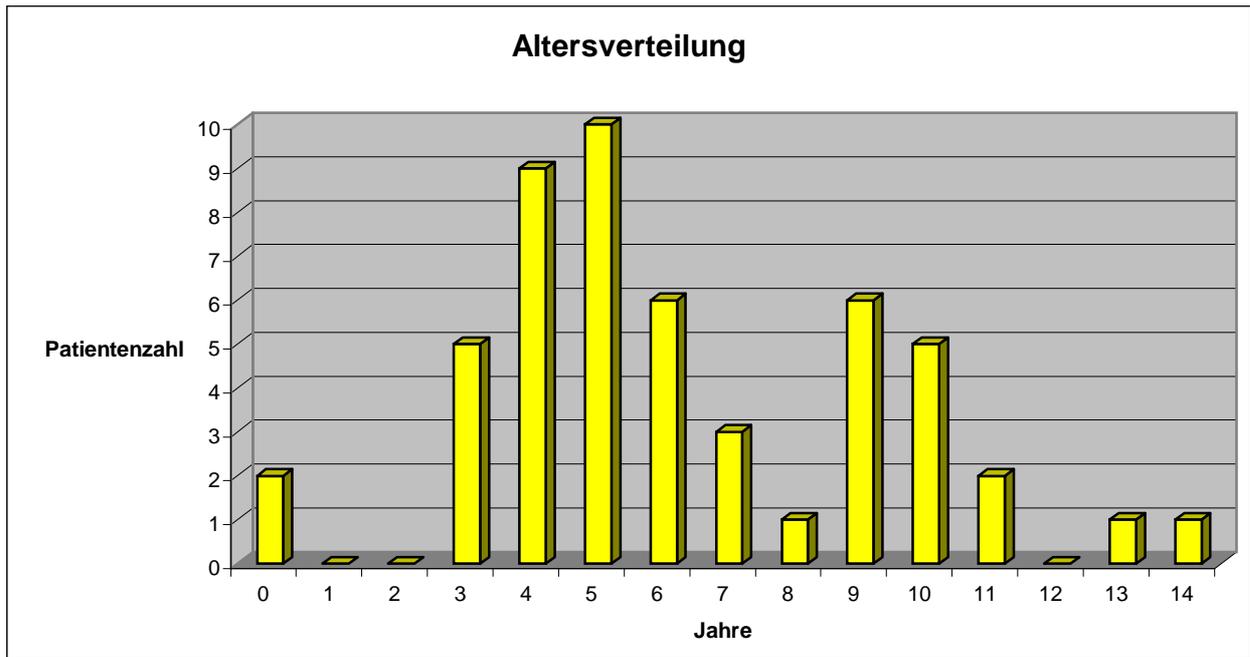


Abbildung 4
Altersverteilung der Patienten

Abb. 4 gibt die demographischen Primärdaten der Patienten wieder. Das Alter der betroffenen Kinder lag zwischen 8 Monaten und 15 Jahren. 2 Kinder waren im 1. Lebensjahr, die höchste Fallzahl war in der Altersklasse zwischen 3 und 7 Jahren. Zeitgleich wurden 3 Erwachsene aus den Familien der Kinder mit einer ECHO-Virus-Meningitis stationär behandelt.

38 der 51 Kinder hatten deutsche - 13 Kinder nicht deutsche Nationalität.

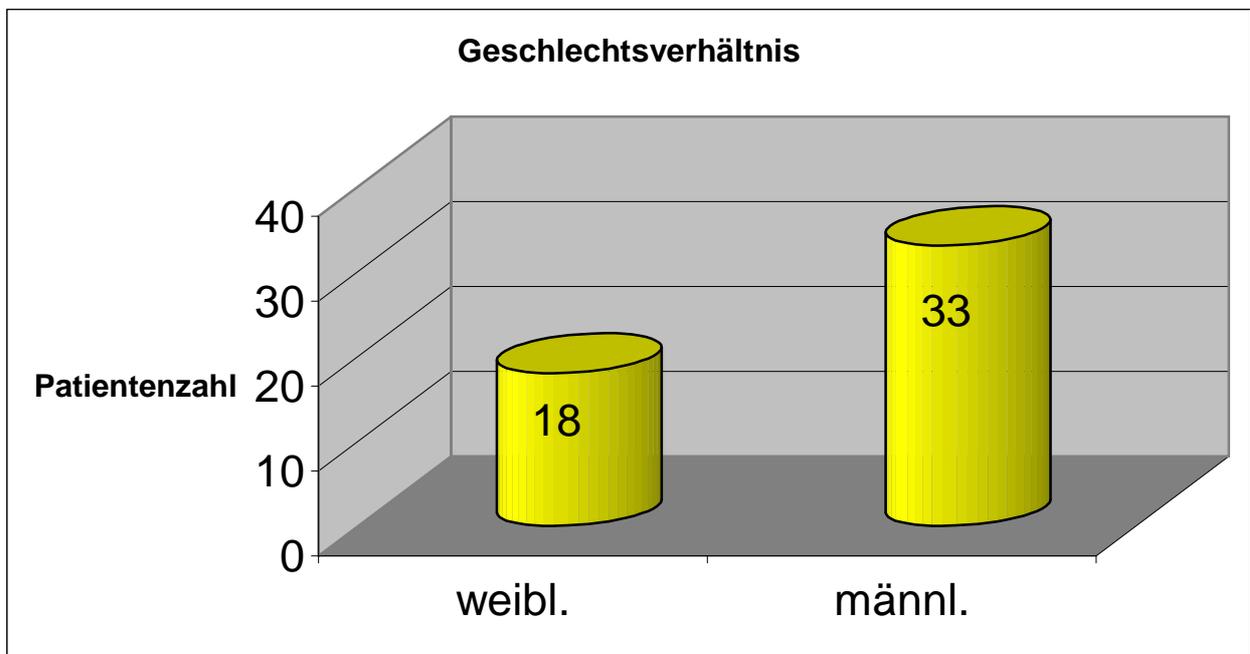


Abbildung 5
Geschlechtsverhältnis der Patienten

Abb. 5 zeigt das Geschlechtsverhältnis, das mit 33 Jungen und 18 Mädchen entsprechend 1,8: 1 war.

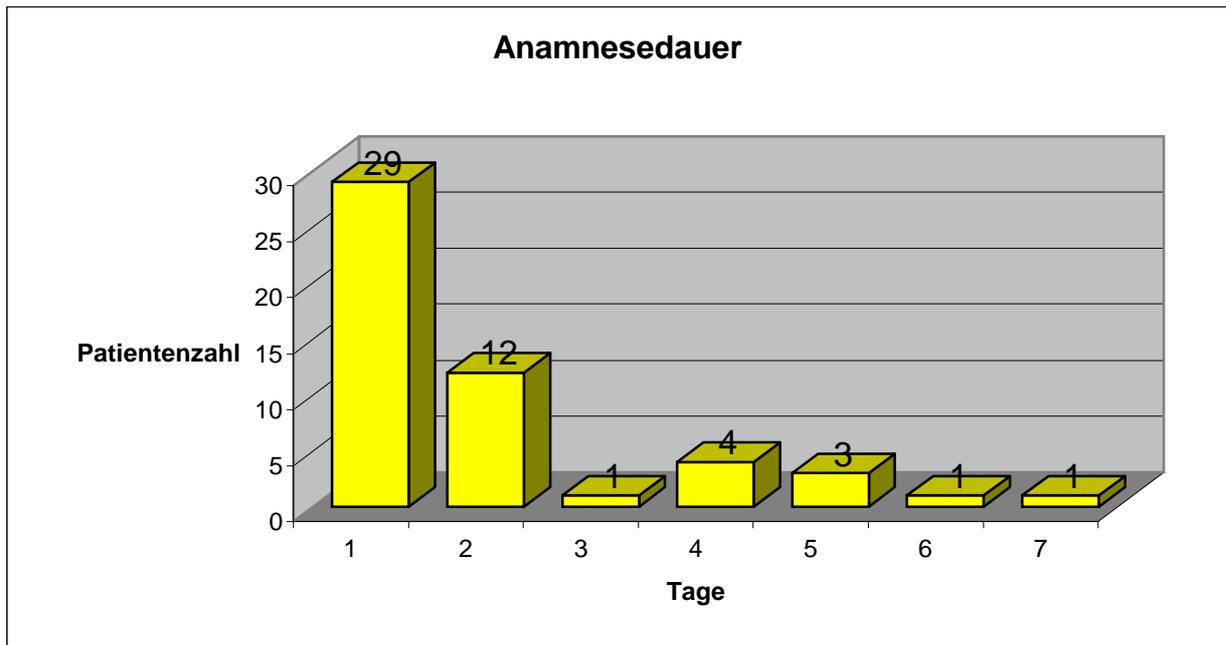


Abbildung 6
Dauer der Prodromi bis Klinikaufnahme

Abb. 6 gibt Auskunft über die Dauer des Prodromalstadiums, wobei die überwiegende Mehrheit der Patienten eine Anamnesedauer von lediglich 1 bis 2 Tagen (60,8 %) aufwies.

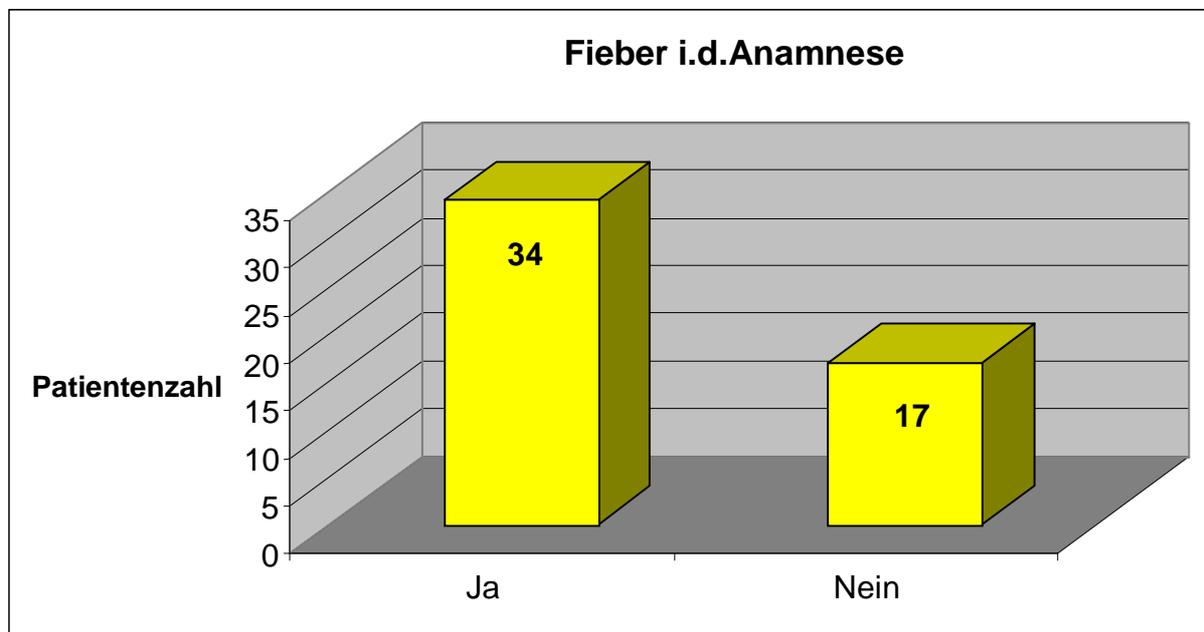


Abbildung 7
Fieber > 37,5° C in der Anamnese

Laut Auskunft der Eltern oder der Patienten bestand, wie Abb.7 ausweist, bei 34 Patienten ein Anstieg der Körpertemperatur > 37,5° C (66,6 %).

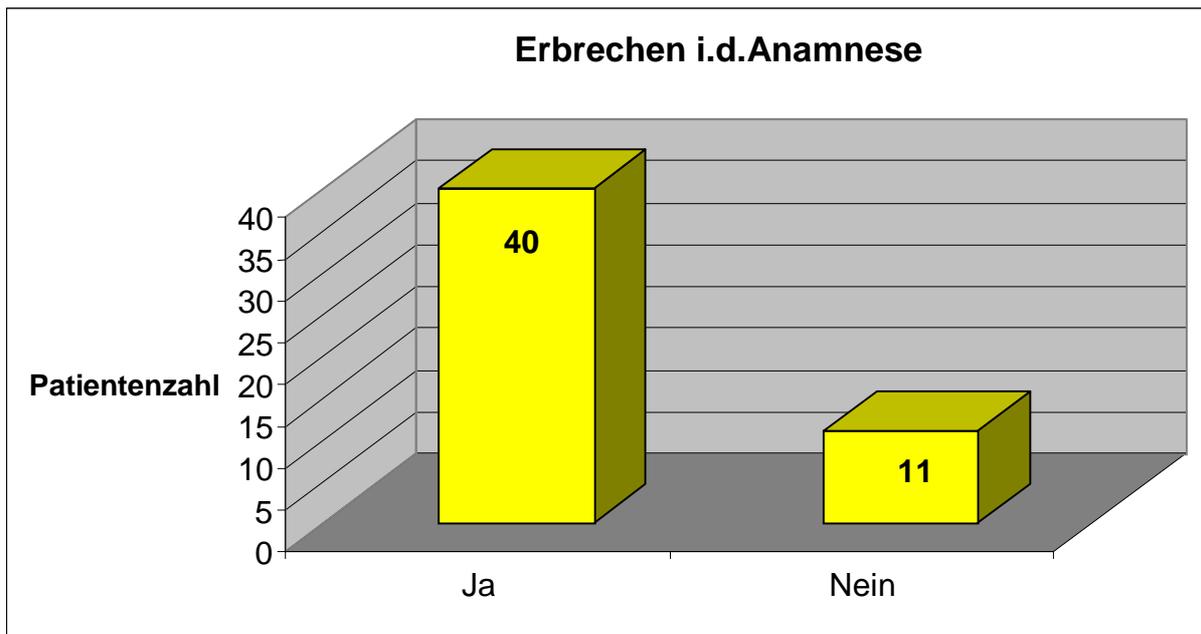


Abbildung 8
Erbrechen in der Anamnese

Abb.8 zeigt, dass bei 40 Patienten Erbrechen anamnestisch angegeben (78,4 %) wurde.

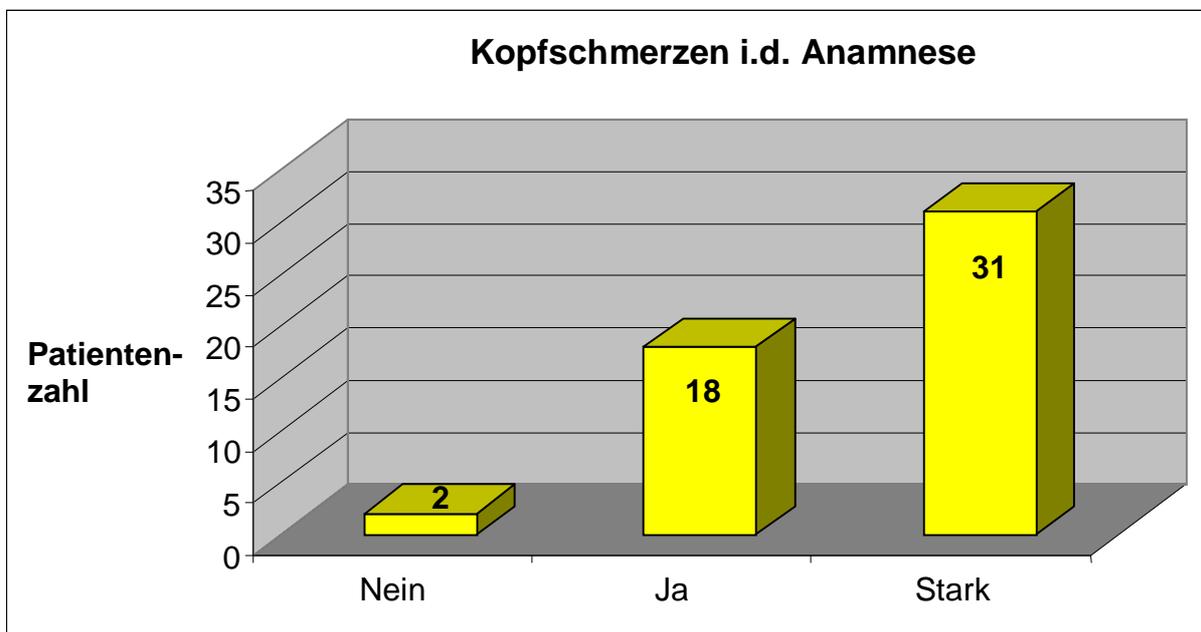


Abbildung 9
Kopfschmerzen in der Anamnese

Bei 49 Patienten erfolgte die anamnestische Angabe von Kopfschmerzen (96 %). (Abbildung 9), wobei diese von 31 Patienten (60,8 %) als besonders stark charakterisiert wurden

3.2 Klinische Symptomatik

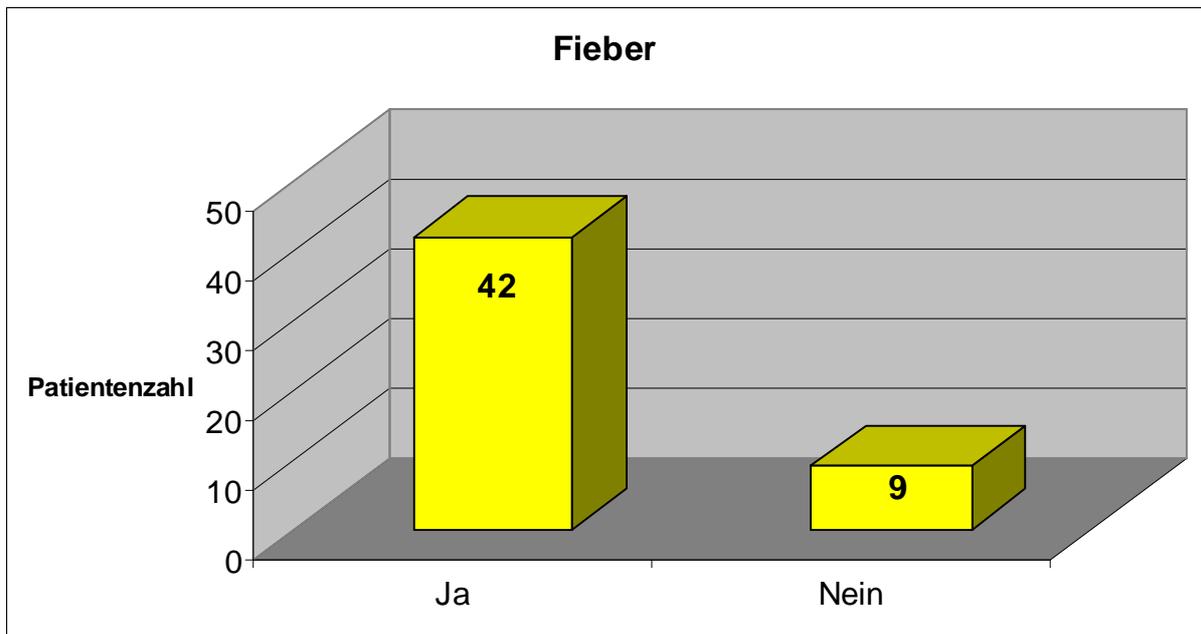


Abbildung 10
Fieber >37,5° C in der Klinik

Abb.10 zeigt, dass bei stationärer Aufnahme 42 Kinder (82,3 %) eine rektale Temperatur > 37,5° C aufwiesen.

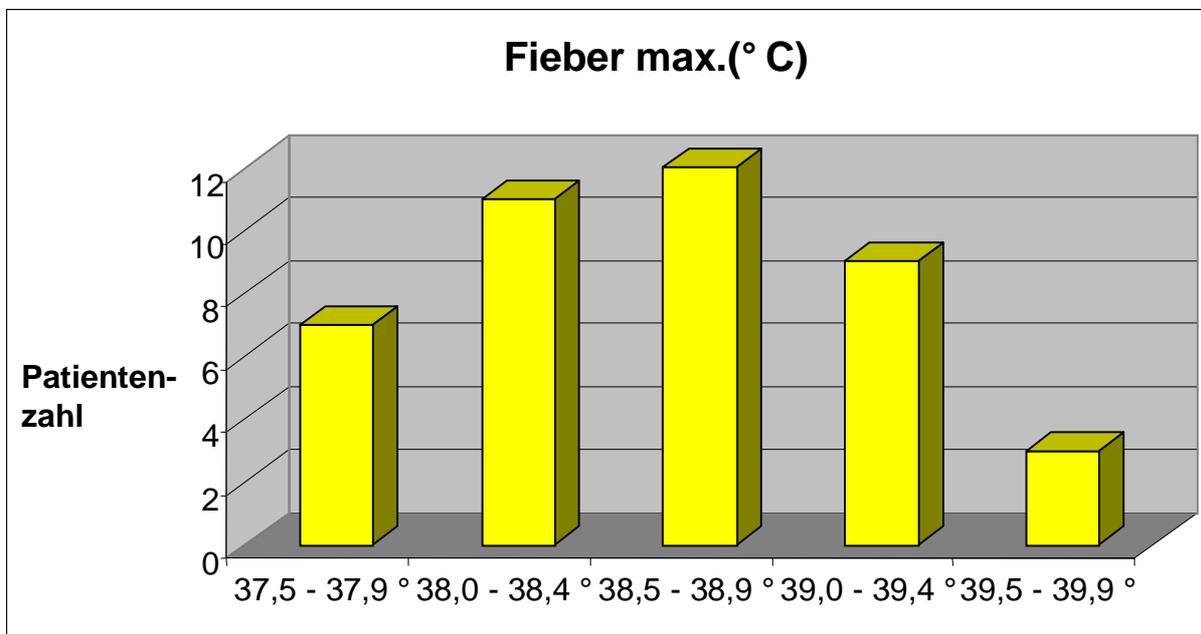


Abbildung 11
Maximale Temperatur in der Klinik

Die meisten Patienten zeigten Temperaturen im Bereich von 38,0° C bis 39,4° C. Keiner der Patienten hatte Fieber über 39,9° C. (Abb. 11)

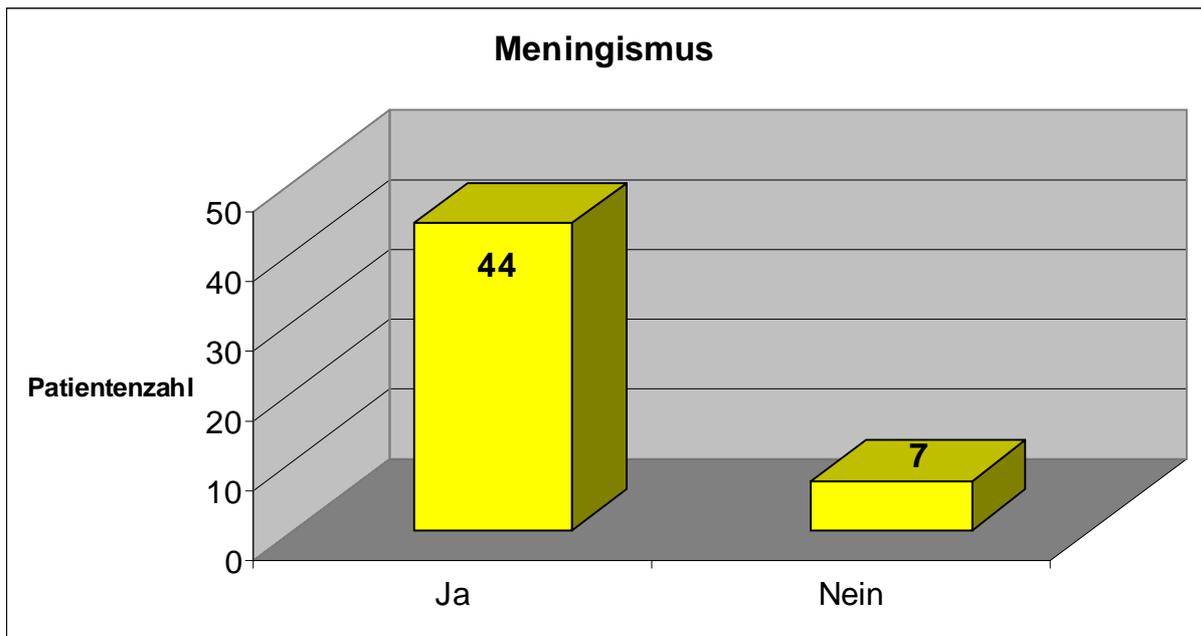


Abbildung 12
Patientenzahl mit Meningismus

Wie in Abb.12 dargestellt, waren Nackensteifigkeit oder andere Symptome einer meningealen Reizung bei 44 Kindern (86,2 %) nachweisbar .

Weitere klinische Symptome, die bei den stationär behandelten Kindern vorlagen, sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

| | Ja | Nein |
|----------------------------|----------|----------|
| Enzephalitische Symptome | 2 (4%) | 49 (96%) |
| Atemwegssymptome | 10 (20%) | 41 (80%) |
| Gastrointestinale Symptome | 16 (31%) | 35 (69%) |

Tabelle 5
Symptome an anderen Organsystemen

Damit bestanden enzephalitische Symptome (Bewusstseinstörung, Krampfanfälle) bei 2 Patienten (4 %).

Symptome einer Atemwegsinfektion wurden bei 10 Patienten (20 %) gefunden, während gastrointestinale Symptome (Bauchschmerzen, Durchfall) bei 16 Patienten (31,4 %) vorlagen.

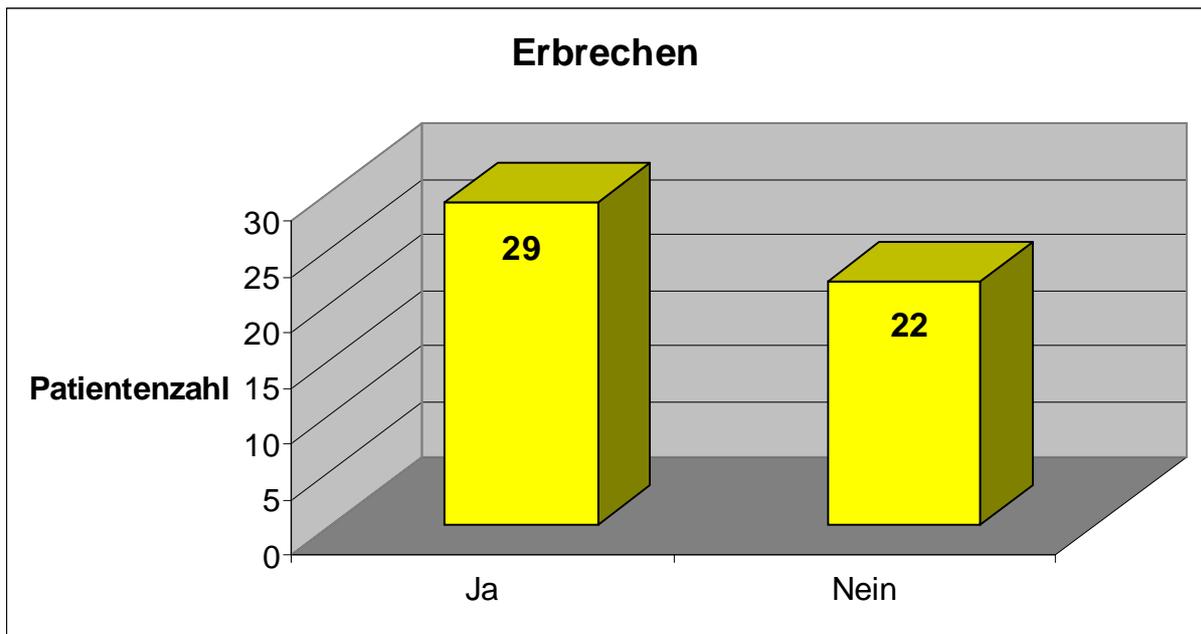


Abbildung 13
Patientenzahl mit Erbrechen in der Klinik

Abb.13 zeigt, dass insgesamt bei 29 Kindern (56,9 %) Erbrechen beobachtet wurde.

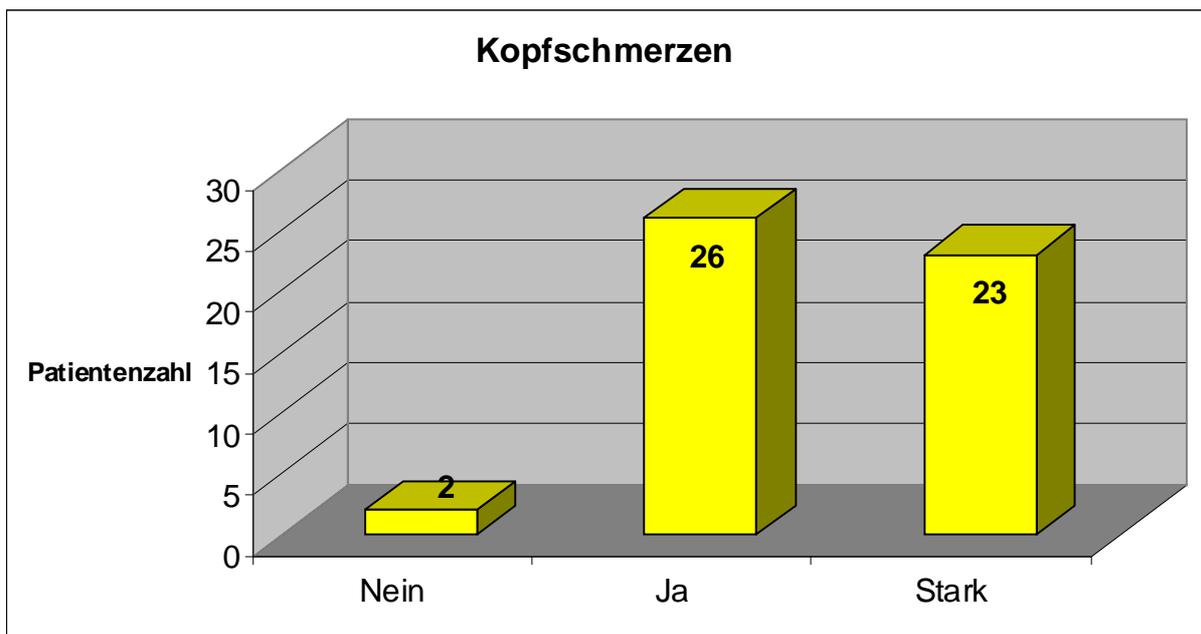


Abbildung 14
Patientenzahl mit Kopfschmerzen in der Klinik

Entsprechend den anamnestisch erhobenen Daten zeigt Abb.14, dass von 49 Kindern (96 %) Kopfschmerzen während ihres stationären Aufenthaltes angegeben wurden. Diese Kopfschmerzen wurden, soweit vom Alter her erhebbar, bei 23 Kindern (45,1%) als sehr stark charakterisiert.

3.3 Laboregebnisse Primärlabor

3.3.1 Liquorbefunde

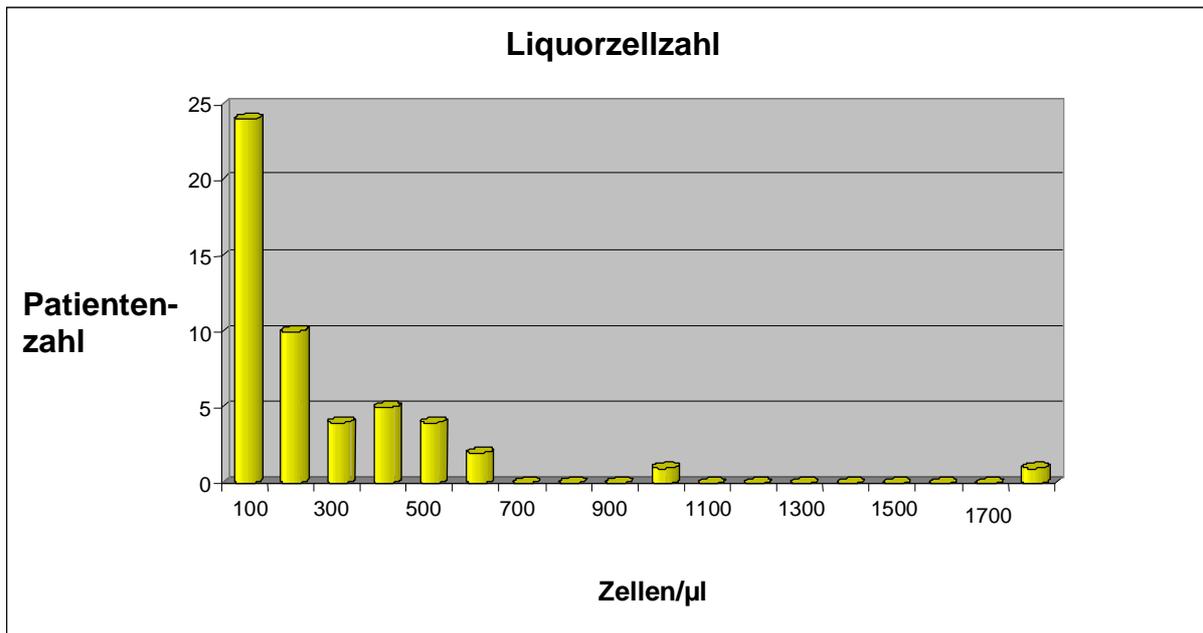


Abbildung 15
Liquorzellzahl der Patienten

Abb.15 zeigt die Liquorzellzahl des Primärliquors. Die Liquorzellzahl der Patienten lag zwischen <1 Zellen/µl und 1700 Zellen/µl mit einem Mittelwert von 211 Zellen/µl und einem Median von 105 Zellen/µl. Das 5-95% Intervall betrug 2 – 530 Zellen. Die Pleozytose war log-normal verteilt mit einer K-S-Wahrscheinlichkeit von 0,566 bei log-Transformation. Altersentsprechend normale Liquorzellzahlen (< 3 Zellen/µl) wurden lediglich bei drei Kindern (6%) gefunden.

| | Protein mg/dl | Glucose mg/dl | Lactat mg/dl |
|------------|---------------|---------------|--------------|
| Min | 2 | 50 | 12 |
| Max | 118 | 116 | 169 |
| Mittelwert | 28,90 | 66,47 | 23,62 |
| SD | 20,85 | 12,81 | 21,48 |

Tabelle 6
Klinisch-chemische Liquorbefunde

Tabelle 6 zeigt die klinisch-chemischen Befunde der Primärliquorproben. Die Liquoreiweißkonzentration lag zwischen 2 mg/dl und 118 mg/dl, mit einem Mittelwert von 28,9 mg/dl, einer Standardabweichung von 20,85 mg/dl, einem Median von 30,0 mg/dl und einem 5%-95% Intervall zwischen 4,0 und 73,0 mg/dl. Innerhalb des Referenzbereichs (<50 mg/dl) lagen die Werte bei 92% der Kinder (47/51).

Die Liquorglukosekonzentration lag zwischen 50 mg/dl und 116 mg/dl, Mittelwert 66,47 mg/dl, Standardabweichung 12,81.

Die Liquorlaktatkonzentration lag zwischen 12 mg/dl und 169 mg/dl, der Mittelwert betrug 23,62 mg/dl, die Standardabweichung 21,48. Es fand sich ein Median von 19,3 mg/dl mit einem 5%-95% Intervall zwischen 12,8 und 35,1 mg/dl . Innerhalb des Referenzbereichs lagen die Werte bei 25 Kindern (49%).

3.3.2 Laborbefunde im peripheren Blut / Serum

In der Tabelle 7 sind die Entzündungsparameter Leukozytenzahl, Differentialblutbild und CRP-Konzentration in den Serumproben unmittelbar nach Aufnahme zusammengefasst.

Die Leukozytenzahl lag zwischen 5000/ μ l und 21.300/ μ l, bei einem Mittelwert von 11.500/ μ l und einer Standardabweichung 3.680/ μ l. Der Median betrug 11.700/ μ l, der 5-95% Bereich lag zwischen 6.020/ μ l und 17.090/ μ l, wobei die Werte weitgehend normalverteilt erschienen. Bei der Zählung der Leukozyten ergab sich, dass 24 Kinder (47%) Werte innerhalb des altersentsprechenden Referenzbereichs aufwiesen.

Der Anteil der Lymphozyten im Differentialblutbild lag zwischen 1% und 58%, bei einem Mittelwert von 20% und einer von Standardabweichung von 12,9%. Der Median betrug 18%, der 5%-95%-Bereich lag zwischen 2% und 47%.

| | CRP (mg/l) | Leukocyten/ μ l | Lymphozyten (%) |
|------------|---------------|---------------------|--------------------|
| Min | 1 | 5000 | 1 |
| Max | 103 | 21300 | 58 |
| Mittelwert | 12,7 | 11500 | 20 |
| SD | 16,0 | 3680 | 12,8 |

Tabelle 7
Entzündungsparameter im Serum

Die Konzentration des CRP im Serum lag zwischen 1 mg/l und 103 mg/l, Mittelwert 12,7 mg/l, Standardabweichung 16,0. Der Median betrug 6,0 mg/dl mit einem 5%-95% Bereich zwischen 3,7 und 40,6% mg/dl. Die CRP-Werte erschienen log-normal verteilt. 34 (67%) der Kinder hatten eine CRP-Konzentration innerhalb des Referenzbereichs (<6 mg/l).

Die Blutkörperchensenkung (BKS) betrug im Mittel 42 mm mit einer Standardabweichung von 20 mm, der Median lag bei 43 mm, der 5%-95% Bereich zwischen 4 und 75 mm.

3.4 Serologische Laborergebnisse

Von allen Kindern konnten initial IgG- und IgM-AK gegen ECHO-Viren im Serum und im Liquor bestimmt werden. Tabelle 8 zeigt das Ergebnis der AK-Bestimmungen aus den primär entnommenen Proben, wobei bei der Bewertung der Serumwerte die vom Hersteller angegebenen cut-offs zugrunde gelegt wurden. Der Hersteller hat keine cut-offs für Liquorproben validiert, so dass zunächst die cut-off Werte für Serumproben auch für Liquorproben verwendet wurden.

| | Serum IgG (ELISA) | Serum IgM (ELISA) | CSF IgM (ELISA) |
|-----|----------------------|----------------------|--------------------|
| pos | 18 (35%) | 2 (4%) | 1 (2%) |
| neg | 33 (65%) | 49 (96%) | 50 (98%) |

Tabelle 8

IgG- und IgM-AK gegen ECHO-Viren in Serum und Liquor

Serum-IgG gegen Enteroviren (ELISA) war zu Anfang der Erkrankung bei 22 Patienten (43 %) nachweisbar. Es fand sich ein Mittelwert von 184 U/l, bei einer Standardabweichung von 91 U/l; der Median betrug 152 U/l, der 5%-95% Bereich lag zwischen 105 und 401 U/l. Bei 29 Patienten (57 %) konnten keine IgG-AK gegen ECHO-Viren nachgewiesen werden.

IgM-AK gegen ECHO-Viren wurden bei 2 Patienten (4 %) gefunden, 49 Patienten (96 %) wiesen keine IgM-AK gegen ECHO-Viren auf. Aus den gemessenen Werten kann somit für die Primärdiagnostik einer ECHO-Virus-Meningitis für den Nachweis von IgM-AK gegen ECHO-Viren eine Sensitivität von nur 5% angenommen werden.

Wie oben erwähnt, wurde zunächst mangels entsprechender valider Referenzwerte für Liquorproben die IgM-AK im Liquor mit dem cut-off für Serumproben berechnet, wobei sich lediglich bei einem Kind ein positiver Nachweis ergab. Um hier zur Schätzung eines effektiveren cut-offs zu gelangen, wurden aus allen untersuchten Liquorproben (n=81) sämtliche OD's oberhalb der Nachweisgrenze ohne Berücksichtigung eines cut-offs ausgewertet. Hierbei ergab sich das in Tabelle 9 dargestellte Bild.

| | | |
|------------------|----|------|
| < Nachweisgrenze | 71 | 87 % |
| 5-10 | 5 | 6 % |
| 10-30 | 4 | 5% |
| 30-50 | 1 | 1% |
| >50 | 1 | 1% |

Tabelle 9

IgM-anti-ECHO-Viren-AK in primären Liquorproben von Kindern mit positiver RT-nPCR für Enterovirus RNA. Die Nachweisgrenze der IgM-AK im Liquor (99% limit of detection) wurde mit 5 U/ml angenommen.

N = 81

Betrachtete man somit den Nachweis von IgM-AK in Liquorproben ohne Berücksichtigung eines cut-offs als Hinweis auf eine kürzliche Infektion mit Enteroviren, ergab sich eine Sensitivität dieses Testverfahrens von 13%, wobei bei 6 Kindern die Diagnostik aus dem Primärliquor möglich gewesen wäre. Aufgrund der Erfahrungen mit der Auswertung dieses Systems erscheint es demnach sinnvoll, alle Werte oberhalb der Nachweisgrenze als positiv anzusehen, wobei weitere Validierungen bezüglich der Spezifität dieses Verfahrens wünschenswert sind.

3.5 Serologische Befunde bei Kontrollkollektiven

Bei der Untersuchung von Blutspendern aus Krefeld und Essen wurde gefunden, dass bei 24 von 92 Blutspendern aus Krefeld (26%) IgG-AK gegen ECHO-Viren nachweisbar waren. Von den Blutspendern aus Essen, einer Stadt ohne aktuelle Meldungen über ECHO-Virus-Erkrankungen zu diesem Zeitpunkt, hatten 32 von 100 IgG-AK gegen ECHO-Viren. Der Unterschied zwischen beiden Populationen war nicht signifikant ($p > 0.2$).

In Bezug auf den Nachweis von IgM-AK gegen ECHO-Viren, ergab sich, dass in Krefeld eine Spenderin IgM-AK aufwies, und dass weitere neun Spender/Innen quantitative IgM-AK Werte im Graubereich zeigten. Bei den Spender/Innen aus Essen ergab sich, dass kein positiver Wert gefunden wurde, dass aber auch hier fünf Werte der IgM-AK im Graubereich lagen. Der Unterschied zwischen beiden Populationen war nicht signifikant ($p > 0.2$).

3.6 Virusnachweis bei Patienten

Bei allen 51 Patienten ließ sich durch eine RT-nPCR Enterovirusgenom nachweisen. (Abb. 16)

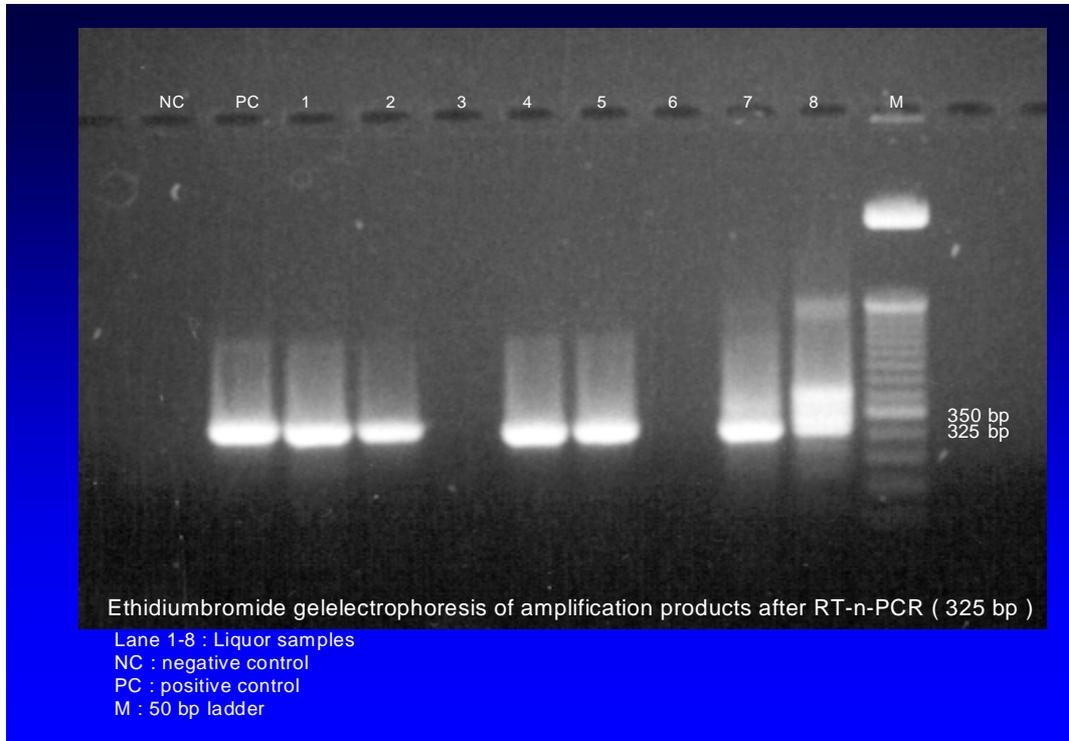


Abb.16

Ethidiumbromid - Gelelektrophorese des 325bp Amplifikates nach rT-n-PCR

Bahn 1-8: Liquorproben von Patienten: Bahn 1,2,4,5,7,8: positive Ergebnisse, Bahn 3,6,: negative Ergebnisse

NC: negative Kontrolle

PC: positive Kontrolle

M : 50 bp DNA-Leiter

Von den insgesamt 51 PCR-positiven Liquores wurden randomisiert 15 Proben ausgewählt, und dem Referenzlabor für Enteroviren im Robert-Koch-Institut in Berlin übersandt. Hier wurde aus allen Proben übereinstimmend ECHO-Virus Typ 30 in der Gewebekultur angezüchtet, so dass angenommen werden konnte, dass der gesamte Ausbruch durch dieses Virus verursacht worden war.

3.7 Krankheitsverlauf

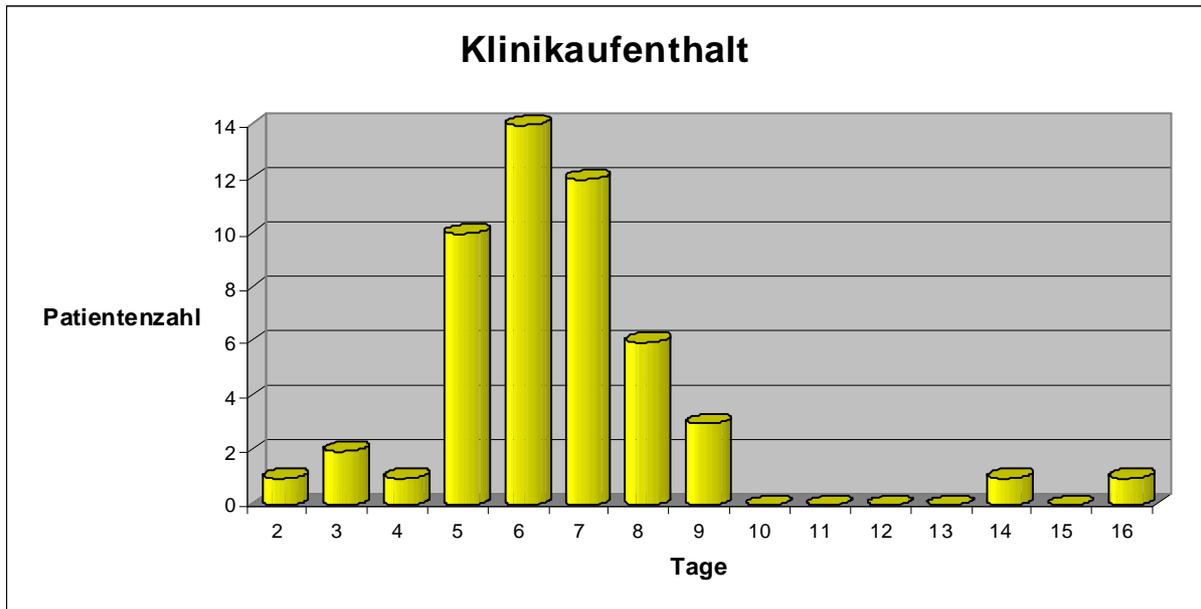


Abbildung 17
Dauer des Klinikaufenthaltes

Die Dauer des Krankenhausaufenthaltes betrug zwischen 2 Tagen und 16 Tagen. Der Mittelwert betrug 6,6 Tage. (Abb. 17)

Bei 8 Patienten wurde initial eine intravenöse antibiotische Therapie durchgeführt (15,7 %).

Bei der Entlassung zeigte keiner der 51 Patienten klinisch-neurologische Residuen.

3.8 Epidemiologie

Zeitlich spielte sich fast der gesamte Ausbruch mit ECHO-Virus Typ 30 Meningitiden zwischen dem 1. September 2000 und 31. Dezember 2000 ab. Einige wenige sporadische Fälle wurden auch noch im 1. Quartal 2001 beobachtet (n= 8). Im gleichen Zeitraum des Jahres 2001 wurden 15 sporadische Fälle stationär behandelt. Betrachtet man die Proportion der in der Kinderklinik behandelten Fälle in Relation zu der Gesamtzahl der stationären Fälle als Denominator, ergibt sich im z-Test eine signifikante Differenz zwischen beiden Zeitperioden von $p < 0,001$.

Abb.18 und Abb.19 zeigen die Verteilung der Fälle im Stadtbereich Krefeld sowie in einem Umfeld von ca. 30 x 30 km. Darüber hinaus wurden nach den Ergebnissen der Umgebungsuntersuchungen des jeweiligen Gesundheitsamtes keine Fälle beobachtet. Es zeigte sich innerhalb des Stadtgebietes kein „Clustering“ in bestimmten Bereichen, sowie keine erkennbare Abhängigkeit von Stadtgebieten mit unterschiedlicher sozio-ökonomischer Struktur.

Auch beim Auftragen der Fälle nach dem zeitlichen Auftreten in Relation zum Wohnort der Eltern ergab sich kein Hinweis auf eine gerichtete Ausbreitung der Infektionen im Stadtgebiet.

Bei der Analyse möglicher Infektionsketten zeigte sich, dass lediglich 10 von 51 Krankheitsfällen Haushaltskontakte innerhalb einer Familie (5 x 2 Geschwister) zugeordnet werden konnten (19.6 %).

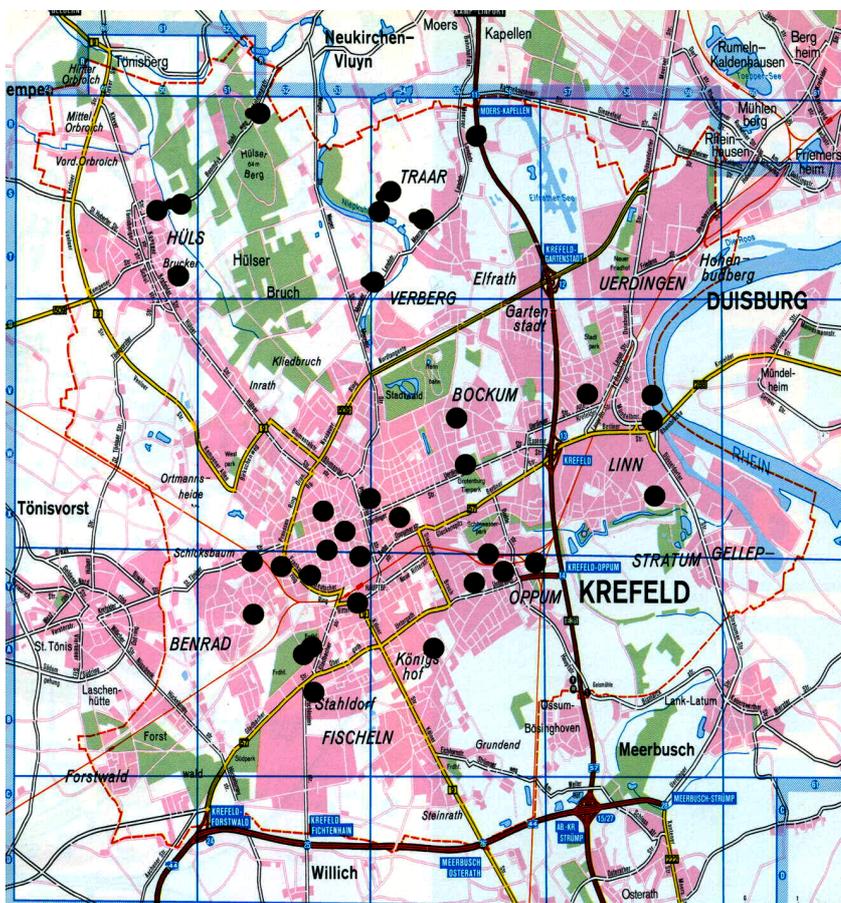


Abbildung 18
Verteilung der Fälle im Stadtbereich Krefeld

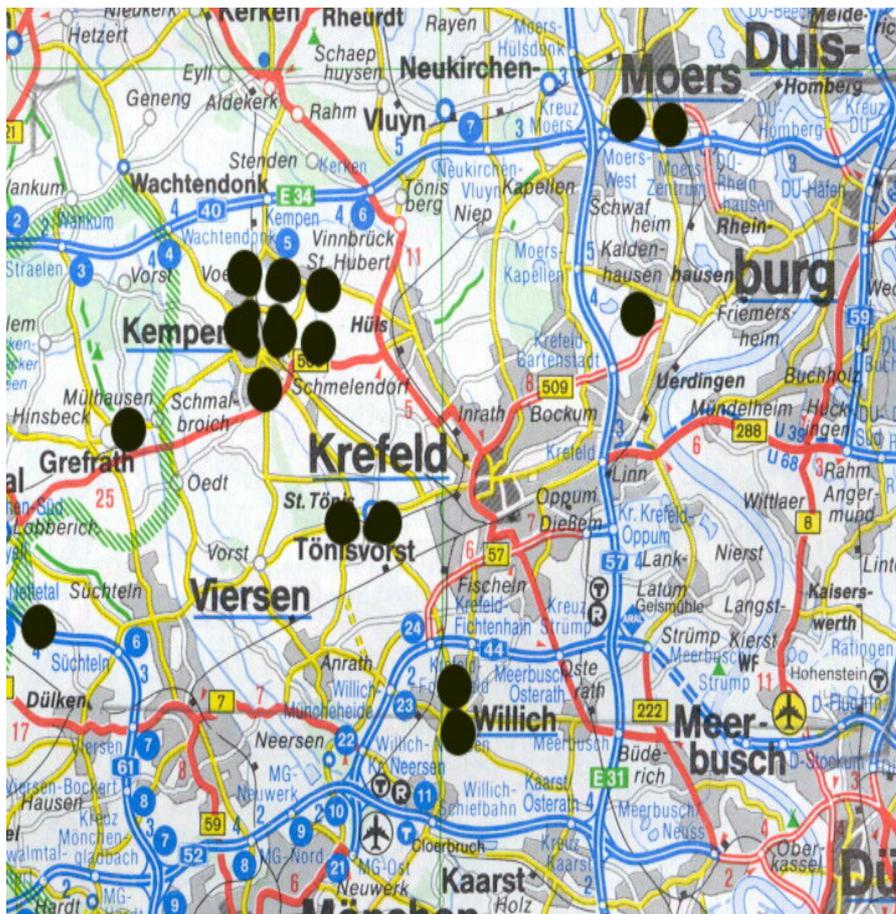


Abbildung 19
Verteilung der Fälle im Umfeld von Krefeld

Darüber hinaus traten vier Erkrankungsfälle in Zusammenhang mit Kontakten in Gemeinschaftseinrichtungen auf (2 x 2 Kindergartenkinder) auf (7.8 %).

Die ganz überwiegende Zahl der Fälle (72.5 %) trat sporadisch und ohne symptomatisch erkrankte Kontaktpersonen auf. Bei einer detaillierten Suche durch das Gesundheitsamt fanden sich auch keine Hinweise auf gemeinsame Infektionsherde wie öffentliche Schwimmbäder, Spielplätze, Veranstaltungen oder ähnliche Kontaktmöglichkeiten. Eine Abfrage aller Kontaktpersonen nach einer enteralen Symptomatik in zeitlichem Zusammenhang mit der Erkrankung des Kindes konnte nicht durchgeführt werden.

In dem betreffenden Zeitraum kam es zu keiner gehäuften Meldung von Virusmeningitiden in den Gesundheitsämtern der Umgebung Viersen, Mönchengladbach, Neuss, Düsseldorf, Duisburg. Nach dem im Jahre 2000 noch gültigen Bundesseuchengesetz waren Virusmeningitiden meldepflichtig, so dass zumindest eine Häufung von Fällen bei den Gesundheitsämtern hätte bekannt sein müssen.

4.Diskussion

4.1 Klinische Daten

Der **Zeitraum** des untersuchten Ausbruches von ECHO-Virus Typ 30-Meningitisfällen erstreckt sich auf die Herbstmonate des Jahres 2000. Dies entspricht einer charakteristischen saisonalen Häufung von Enterovirusinfektionen in den Sommer- und Herbstmonaten. Diese Häufung wird vor allem für geographische Regionen in gemäßigten Klimazonen beschrieben. Im Gegensatz hierzu zeigen Enterovirusmeningitiden in tropischen und subtropischen Regionen eine gleichmäßige Verteilung über das ganze Jahr. Auffällig ist bei diesem Ausbruch eine Verschiebung in die Herbstmonate mit einem Höhepunkt im Oktober. Dies entspricht Beobachtungen in anderen Regionen Deutschlands im Jahre 2000 (24). Eine mögliche Erklärung könnten die relativ milden Temperaturen in Deutschland im Herbst 2000 sein.

Die **Altersverteilung** der Meningitisfälle zeigt ein Maximum in der Altersgruppe zwischen drei und sieben Jahren. In diesem Alter kommen Kinder erstmals in Gemeinschaftseinrichtungen wie Kindergärten und Schulen in Kontakt zu zahlreichen anderen Kindern. Die relativ unhygienischen Verhaltensweisen im Kleinkindesalter und das Fehlen einer spezifischen Immunität gegen bestimmte Serotypen von Enteroviren begünstigen die Ausbreitung des Virus.

Der zweigipfelige Verlauf der Altersverteilung mit einer zweiten geringeren Häufung in der Altersklasse der Neun- bis Elfjährigen kann statistischer Zufall sein, aber auch Ausdruck eines höheren Immunsierungsgrades der dazwischenliegenden Jahrgänge infolge vergangener Ausbrüche des gleichen Enterovirus-Serotypes. Zwei Kinder erkrankten in der 2. Hälfte des ersten Lebensjahres. Ein acht Monate altes Kind zeigte hierbei eine schwere enzephalitische Verlaufsform. In einer Familie mit zwei betroffenen Kindern im Alter von neun und zehn Jahren erkrankten zusätzlich im gleichen Zeitraum drei Erwachsene an einer Enterovirusmeningitis. Diese wurden in der Studie statistisch nicht berücksichtigt.

In einer Studie von Irvine wird eine altersbezogene Besiedelungs- und Erkrankungsinzidenz mit ECHO-Virus Typ 30 zwischen 19,7 /1000 Personen in der Altersgruppe zwischen 0 und 9 Jahren, 7,1/1000 in der Altersgruppe zwischen 10 und 19 Jahren, 4,9/1000 zwischen 20 und 29 Jahren, 4,7/1000 zwischen 30 und 39 Jahren und 1,5/1000 zwischen 40 und 49 Jahren geschätzt. Für diese Unterschiede können Faktoren wie immunologische Empfänglichkeit, altersabhängige Rezeptordichte auf den Schleimhäuten des Gastrointestinaltraktes oder das Sozialverhalten von Kleinkindern, das eine fäkal-orale Übertragung begünstigt, verantwortlich gemacht werden.(36)

Somit sind Enterovirusinfektionen vor allem Erkrankungen des Kindes- und insbesondere Kleinkindesalters (15). Die Erkrankungswahrscheinlichkeit steigt etwa proportional mit dem Lebensalter. Dies gilt auch für die häufige asymptomatische Besiedelung des Darmes mit Enteroviren.

Wesentlich häufiger als zur Meningitis führen Enterovirusinfektionen bei Kleinkindern zu **unspezifischen fieberhaften Infekten**. In einer Arbeit von Byington 1999 ließen sich bei 345 untersuchten Säuglingen mit Fieber in 25,8% der Fälle Enteroviren in verschiedenen Materialien mit einer PCR-Methode nachweisen. Die Nachweisrate zeigte große saisonale Variabilität zwischen 3,2% in den Wintermonaten und 50% im Sommer und Herbst. In dieser Studie zeigten 75% der Enterovirus-positiven Kinder eine **ZNS-Beteiligung** d.h. Liquorpleozytose und/oder Enterovirusnachweis im Liquor. Viele dieser Kinder zeigten klinisch keine eindeutigen Hinweise auf das Vorliegen einer Meningitis und 62% hatten keine Liquorpleozytose. Bei den nachgewiesenen Enteroviren handelte es sich in dieser Studie vor allem um den Serotyp ECHO-Virus 6 und 30. (11) Diese Arbeit zeigt, dass Enteroviren und insbesondere ECHO-Virus Typ 30 im frühen Säuglingsalter häufig Ursache für unspezifische fieberhafte Infekte sein können und dass eine meningeale Beteiligung auch ohne klinisch eindeutige Hinweise und ohne Liquorpleozytose nicht selten ist.

Eine andere Arbeit fand in mindestens zwei Drittel der Liquorproben von Kleinkindern mit aseptischer Meningitis Enteroviren mittels PCR. (63)

Andere Arbeiten beschreiben schwere, z. t. tödlich verlaufende **Sepsisfälle** bei Neugeborenen infolge vertikaler Übertragung durch die Mutter. (2,15, 73)

Es waren deutlich **mehr Knaben als Mädchen** betroffen. Das Verhältnis betrug 1,8:1, d. h. 65% der Patienten waren Knaben, 35% waren Mädchen. In der Literatur findet sich in den meisten Arbeiten ein Verhältnis von 1,5:1 bis 2,5:1. Bisher fanden sich keine plausiblen Gründe für diese männliche Dominanz. Unterschiedliche Spiel- und Verhaltensweisen, d. h. unhygienischeres Verhalten der Jungen könnten die Wahrscheinlichkeit fäkal-oralen Übertragungen begünstigen. Jedoch scheint das männliche Übergewicht bei schweren Krankheitsverläufen wie Enterovirusmeningitis deutlicher ausgeprägt zu sein als bei milden Verläufen (z. B. fieberhafter Infekt) und der asymptomatischen Besiedelung (65). Folglich spielen vermutlich noch weitere Faktoren bei dieser Knabenwendigkeit eine Rolle.

Zahlreiche Studien belegen, dass die Prävalenz von Enteroviren bei Personen mit niedrigem **sozio-ökonomischen Status** höher ist. (47) Dieser Aspekt konnte in der vorliegenden Arbeit nicht systematisch erfasst und ausgewertet werden.

Die Mehrzahl der Kinder (60,8%) hatte eine **kurze Anamnesedauer** von ein bis zwei Tagen. Nur in wenigen Fällen gingen Prodromi von maximal sieben Tagen der Erkrankung voraus.

Bei zwei Drittel der Patienten bestand bei der stationären Aufnahme anamnestisch **Fieber**. Bemerkenswert ist, dass bei immerhin einem Drittel der Patienten bei der stationären Aufnahme, die zur Diagnose Virusmeningitis führte, kein Fieber vorlag.

Noch häufiger als Fieber wurden bei den Patienten anamnestisch **Erbrechen** (78,4%) und **Kopfschmerzen** (96%) angegeben. Bei zwei Drittel der Kinder mit Kopfschmerzen wurden diese als **besonders stark** empfunden. Die beiden einzigen Kinder, bei denen keine Kopfschmerzen in der Anamnese angegeben wurden, befanden sich im ersten Lebensjahr und waren somit für diese Symptomangabe noch zu jung.

Bei der stationären Aufnahme und während des stationären Aufenthaltes zeigten 82,3% der Kinder **Fieber** über 37,4° C, 17,7% der Kinder hatten zu keinem Zeitpunkt erhöhte Temperaturen. Bei den meisten Kindern lag die maximal gemessene Temperatur im Bereich unter 38,9°C. Kein Kind hatte höhere Temperaturen als 39,9°C.

Zeichen einer **meningealen Reizung** (Nackensteifigkeit, positives Lasègue- oder Brudzinski-Zeichen) bestanden erwartungsgemäß bei der Mehrzahl der erkrankten Kinder. Bei vielen waren die Symptome jedoch sehr diskret, und bei 7 Patienten fehlten jegliche Symptome einer meningealen Reizung. Dieses Symptom erwies sich somit als nicht sehr zuverlässig für die klinische Diagnostik. Die Entscheidung zur Durchführung einer Lumbalpunktion wurde bei mehreren Kindern getroffen, ohne dass Symptome einer meningealen Reizung und auch ohne dass erhöhte Temperaturen einen deutlicheren Hinweis auf das Vorliegen einer Meningitis gaben. Das Fehlen meningealer Reizzeichen bei Enterovirusmeningitiden findet sich auch in zahlreichen Arbeiten in der Literatur (46).

Die temporäre Häufung von Enterovirusmeningitiden hat mit dazu beigetragen, dass in dieser Zeit die Indikation zur Lumbalpunktion relativ großzügig gestellt wurde. Einige Kinder wären aufgrund ihrer diskreten Symptomatik außerhalb der beschriebenen Ausbruchsperiode vermutlich nicht lumbal punktiert worden und die vorliegende Enterovirusmeningitis somit nicht diagnostiziert worden. Für den Verlauf der Erkrankung und die noch zu beschreibende gute Prognose hätte dies freilich keine Auswirkung gehabt. In der Beschreibung der Epidemiologie dieses Ausbruches wird auch noch die Rede sein von der vermutlich größeren Zahl von Kindern, die in dieser Ausbruchsperiode nicht stationär aufgenommen wurden, an einem fieberhaften Infekt mit Kopfschmerzen und Erbrechen litten und möglicherweise eine ECHO-Virus-Meningitis unerkannt und ambulant überstanden.

Kopfschmerzen bestanden während des stationären Aufenthaltes wie in der Anamnese bei 49 Kindern (96%). Sie wurden von etwas weniger Kindern als besonders stark empfunden (23 von 49 entsprechend 47%). Eine Besserung der Kopfschmerzen wurde häufig unmittelbar im Anschluss an die Lumbalpunktion registriert, was auf die mit der Punktion zusammenhängende Druckentlastung zurückgeführt werden kann.

Wenn man die beiden Kinder im ersten Lebensjahr außer Betracht lässt, bestand somit bei 100% der betroffenen Kinder die Symptomangabe Kopfschmerzen mit überwiegend starkem Charakter. Diese Besonderheit der klinischen Symptomatik von Enterovirusmeningitiden findet sich in zahlreichen Arbeiten (65). Allein das Vorliegen von starken Kopfschmerzen bei subfebrilen Temperaturen ohne Meningismus und ohne Erbrechen führte bei zwei Kindern zur Indikation einer Lumbalpunktion und der Diagnose einer Virusmeningitis.

Warum gerade Enterovirusmeningitiden in so besonderer Weise Kopfschmerzen verursachen, ist nicht bekannt. Das Ausmaß der Kopfschmerzen korreliert nicht mit der Schwere des Krankheitsverlaufes, mit Fieber oder mit dem Grad der Liquorpleozytose.

Die Mittelwert der Liquorzellzahl bei Patienten mit starken Kopfschmerzen lag mit 171 Zellen (n=31) nicht höher, sondern eher niedriger als bei den Patienten mit

Kopfschmerzen, die als leicht empfunden wurden (Mittelwert 282 Zellen/ μ l) (n=18), ohne dass diese Unterschiede statistische Signifikanz erreichten ($p > 0,1$, chi-Quadrat-Test).

Bei 2 Kindern zeigten sich **enzephalitische Symptome** wie Bewusstseinsstrübung und Allgemeinveränderungen im EEG. Ein 8 Monate altes Kind zeigte kurzzeitig fokale Krampfanfälle im Rahmen von leicht erhöhten Temperaturen. Dieses Kind kam 4 Monate nach seiner ECHO-Viruserkrankung wegen fokaler Krampfanfälle erneut zur stationären Aufnahme. Ein Schädel-MRT zeigte fokale Resonanzauffälligkeiten im Temporal- und Parietalbereich (Abb.20 und 21)

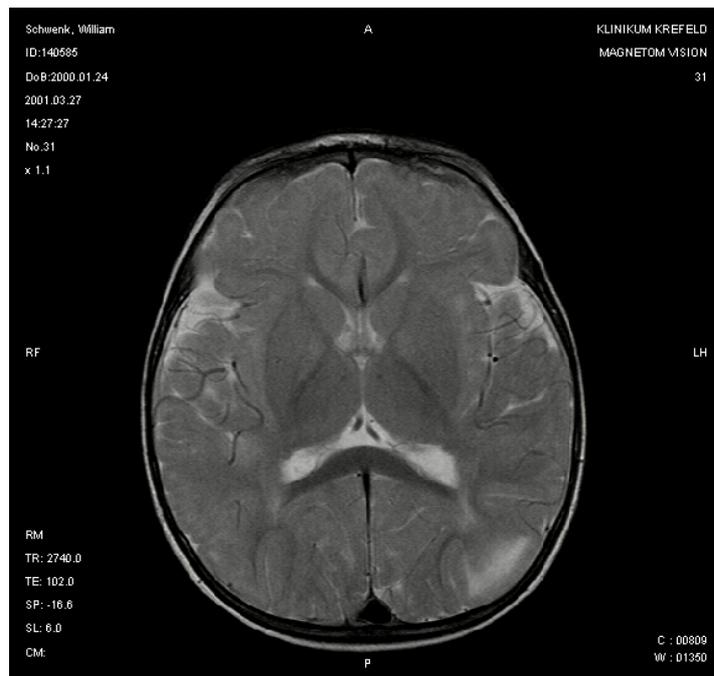


Abbildung 20
Schädel-MRT: fokale Läsion im Parietalbereich links

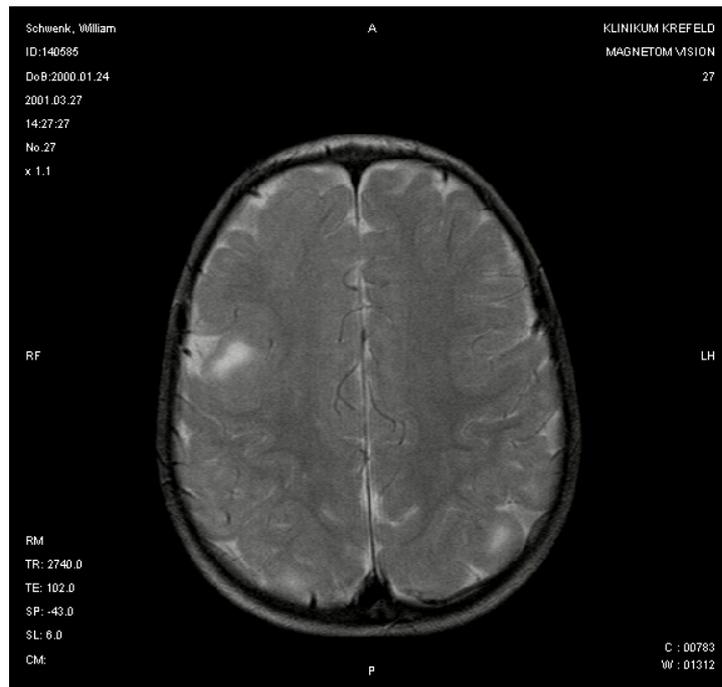


Abbildung 21

Schädel-MRT: fokale Läsion im Temporalbereich rechts

Die fokale Enzephalitis ist eine seltene Verlaufsform der ZNS-Infektion durch Enteroviren (38,43). In einer japanischen Untersuchung wurde bei einem vier Jahre alten Jungen mit Coxsackie A3-Enzephalitis eine fokale Minderperfusion des rechten Frontalbereiches durch eine SPECT-Tomographie nachgewiesen. Nach Ausheilung der akuten Erkrankung war die Kontrolle der SPECT-Tomographie unauffällig. Der pathologische Befund in der ersten Untersuchung wurde als Ausdruck einer transienten lokalen zerebralen Vaskulitis gedeutet (51,79).

Die fokale EV-Enzephalitis ist sicherlich eine seltene Erkrankung, wird in ihrer Häufigkeit aber möglicherweise unterschätzt. So fanden sich in 13% der Hirnbiopsien von Patienten, bei denen der Verdacht auf eine Herpes simplex-Enzephalitis vorlag, Enteroviren (66).

Bei einem Ausbruch von Enterovirus Typ 71-Infektionen in Taiwan im Jahre 1998 waren unter den 41 Kindern mit akuten neurologischen Symptomen 37 Kinder mit klinischen Zeichen einer Hirnstammenzephalitis. Diese konnte bei 24 Kindern durch eine MRT bildgebend belegt werden. Fünf dieser Kinder zeigten bleibende neurologische Defizite wie Hirnnervenausfälle, Myoklonien und zentrale beatmungspflichtige Apnoen.(34) Auch diese Publikation zeigt, dass verschiedene Serotypen von Enteroviren zum Teil schwerwiegende Verläufe mit Residualschäden verursachen können.

Die Ursachen für den unterschiedlichen **Neurotropismus und die Neurovirulenz** von Enteroviren sind nicht sicher geklärt. Neue molekulargenetische Methoden können möglicherweise durch Vergleiche mit Polioviren in Frage kommende molekulare Determinanten der Neurovirulenz der Non-Polioenteroviren aufklären. So konnte in Untersuchungen an ECHO-Viren gezeigt werden, dass bestimmte Basensequenzen in der 5-nichttranslatierenden Region, welche auch an gleicher Stelle bei Polioviren vorkommen, die Neurovirulenz des jeweiligen ECHO-Virus erhöhen (60). In zahlreichen Übersichtsarbeiten zur Enterovirusmeningitis ist der ECHO-Virus Typ 30 einer der am häufigsten genannten Virustypen. ECHO-Virus Typ 7, 9, 11, Coxsackievirus Typ B und Enterovirus Typ 70 und 71 sind weitere häufig genannte neurotrophe Enteroviren.(4,5,18,20,24,52,75)

Bei etwa einem Drittel der Patienten bestanden Symptome von Seiten des **Gastrointestinaltraktes** wie Durchfall und Bauchschmerzen. Dass Enteroviren wie das ECHO-Virus Typ 30 einen Tropismus zu den Schleimhäuten des Organsystemes haben, dessen Namen sie tragen, ist naheliegend. Die Symptome bei den Patienten in dieser Studie waren jedoch sehr diskret. Auch in der Literatur gibt es nur selten Hinweise darauf, dass Enteroviren schwere gastrointestinale Symptome erzeugen. Die Enteroviren scheinen entwicklungs geschichtlich sich an den Magen-Darm-Trakt des Menschen als den einzigen Ort ihrer Replikation adaptiert zu haben. Sie besiedeln ihn, er ist ihr einziges natürliches Reservoir, sie vermehren sich in ihm, um sich dann auf fäkal-oralem Wege weiter zu verbreiten. Phylogenetisch leben Enteroviren überwiegend in einer Symbiose mit dem Menschen. Unter diesem Blickwinkel scheint es nicht ihr Ziel zu sein, dem menschlichen Organismus und insbesondere seinem Magen-Darm-Trakt regelhaft Schaden zuzufügen. Darauf deuten auch die globale Verbreitung und zumeist asymptomatische Besiedelung durch die zahlreichen Serotypen im Magen-Darm-Trakt des Menschen hin. Erkrankungen, die den Wirt schädigen oder gar töten, sind in diesem Szenario somit sehr seltene Ausnahmen (65). Organsysteme, deren Infektion nicht in erster Linie der Virusreplikation und Ausscheidung dient, z.B. das zentrale Nervensystem, sind selten involviert. Ihre Besiedelung trägt nicht wesentlich zum Überleben der Viruspopulation bei.

Die hohe Zahl verschiedener Serotypen mit unterschiedlicher Antigenität, die den menschlichen Gastrointestinaltrakt besiedeln, erleichtert es der Viruspezies, dem Selektionsdruck durch das menschliche Immunsystem zu entgehen.

Die meisten Patienten hatten eine **Liquorzellzahl** zwischen 0 und 90 bei einem Mittelwert von 211 Zellen/Mikroliter. Zwei Kinder hatten <1 Zellen pro Mikroliter, ein weiteres Kind zeigte mit 2 Zellen pro Mikroliter einen normalen Liquorzellbefund. **Enterovirusmeningitiden ohne Liquorpleozytose** wurden in mehreren Arbeiten beschrieben. Da virologische Diagnostik aus dem Liquor und insbesondere die PCR im klinischen Alltag bislang nicht routinemäßig durchgeführt werden, würde gerade bei normaler Liquorzytologie die Diagnose einer Virusmeningitis nicht gestellt bzw. übersehen werden. In der Literatur werden jedoch auch **zum Teil hohe Liquorzellzahlen** bei Enterovirusmeningitis als durchaus charakteristisch beschrieben. In der vorliegenden Studie traf dies nur bei einem Patienten mit 1700 Zellen pro Mikroliter zu. Ein weiterer Patient hatte mit 810 Zellen pro Mikroliter (entsprechend 2730/3 Zellen) ebenfalls eine Liquorzellzahl, die man üblicherweise eher einer bakteriellen Meningitis zuordnen würde. Dies gilt eingeschränkt auch für

zehn weitere Patienten, deren Liquorzellzahl zwischen 345 bis 530 Zellen pro Mikroliter betrug und somit über der Grenze von 1000/3 Zellen lag, ab der üblicherweise eine bakterielle Meningitis in Erwägung gezogen und ggf. auch eine antibiotische Therapie begonnen wird. Bei insgesamt acht Patienten wurde aus diesem Grunde auch eine initiale antibiotische Therapie durchgeführt.

Bei der Auswertung der Liquorzytologie wurde dieser Untersuchung die exakte prozentuale Verteilung von Lymphozyten und Granulozyten nicht dokumentiert. Es herrschte jedoch der Eindruck einer deutlichen **Dominanz neutrophiler Zellen** vor. Das Überwiegen neutrophiler Zellen führt häufig zum Verdacht des Vorliegens einer bakteriellen Meningitis. Virusmeningitiden und insbesondere Enterovirusmeningitiden können jedoch neben einer deutlichen Liquorpleozytose ein dezidiertes Überwiegen neutrophiler Zellen zeigen. In einer Studie mit 158 Meningitisfällen zeigten 57% der nachgewiesenen Virusmeningitisfälle eine Dominanz neutrophiler Zellen im Liquor; dies war unabhängig vom Zeitpunkt der Lumbalpunktion und bestand auch jenseits der ersten 24 Stunden nach Beginn der Symptome fort. Somit ist eine Neutrophilie der Liquorpunktat entgegen weit verbreiteter Meinung kein spezifischer Hinweis auf das Vorliegen einer bakteriellen Meningitis (48,83).

Die Laborwerte für Eiweiß, Glukose und Laktat im Liquor lagen in einem bei einer Virusmeningitis zu erwartenden Bereich und waren diagnostisch nicht richtungweisend.

Der Mittelwert des **Serum-CRP** war mit 12,7 mg/l leicht erhöht und lag somit auch in einem bei einer Virusinfektion zu erwartenden Bereich, wobei etwa die Hälfte der Kinder normale CRP-Werte zeigte. Die Leukozytenwerte im Blut lagen mit einem Mittelwert von 11500 pro Mikrolitern im oberen Normalbereich für die beschriebene Alterspopulation, wobei auch hier etwa die Hälfte der Werte innerhalb der altersentsprechenden Referenzwerte lag. Das Differentialblutbild zeigte eine relative Lymphozytopenie von durchschnittlich 19,8%. Insgesamt könnte diese Befundkonstellation mit den grenzwertig hohen Leukozytenzahlen und einer Lymphozytopenie in der klinischen Bewertung eher das Vorliegen einer bakteriellen Infektion nahelegen.

Zu Beginn der Erkrankung war nur bei einem Drittel der Patienten im Serum **IgG AK gegen Enteroviren** mittels ELISA-Technik nachweisbar. Bei nur zwei Patienten war das spezifische **IgM** positiv. IgM-AK gegen Enteroviren im Liquor waren nur bei einem Patienten nachweisbar. Änderte man die Bewertungskriterien für die Bestimmung der IgM-AK im Liquor zugunsten einer sensitiveren Definition ab, konnten auch hier lediglich 6 Kinder mit IgM-AK gegen Enteroviren gefunden werden (Sensitivität 12%). Dies zeigt, dass weder im Serum noch im Liquor serologische Untersuchungen zu Beginn der Erkrankung nützlich waren. Die Bestimmung von Serum-IgG-AK gegen Enteroviren kann ohnehin nur bei Verwendung von Serum-Paaren, d. h. Untersuchung von Serum aus der Akutphase und aus der Rekonvaleszenz, nachträglich diagnostische Hinweise bieten.

Sero-epidemiologische Untersuchungen bei Blutspendern in Krefeld und in Essen, einer Stadt welche nicht von dem beschriebenen ECHO-Virus-Ausbruch betroffen war, zeigten keine signifikanten Unterschiede bei der Positivitätsrate sowie der Konzentration der IgG-Antikörper wie auch der IgM-Antikörper in den verglichenen Populationen.

Bei allen 51 Patienten gelang durch eine **reverse Transkriptase-nPCR** der Nachweis von Enterovirus RNA. Durch den Einsatz dieser molekularbiologischen Methode konnte somit innerhalb weniger Stunden die Diagnose einer Enterovirusmeningitis gesichert werden.

Seit der Entwicklung dieser molekularbiologischen Technik Mitte der 80er Jahre hat sie in der klinischen Routinediagnostik zahlreicher Infektionskrankheiten an Bedeutung gewonnen. So wurde erstmals durch Hyypia im Jahre 1989 die PCR-Methode auf Picorna- und Enteroviren angewandt.(35) H.A. Rotbarth hat 1990 die Enterovirusdiagnostik durch PCR erstmals routinemäßig in der klinischen Diagnostik eingesetzt.(62) Im Laufe des letzten Jahrzehntes wurde sie von zahlreichen Untersuchern in verschieden abgewandelter Form in vielen Arbeiten publiziert.(1,10,12,13,26,31,61,70) Die Enterovirus-PCR macht sich den Umstand zunutze, dass alle Enteroviren große gemeinsame Gensequenzen beinhalten.(17) Ihre **Sensitivität** liegt im Bereich von 97% und ist somit deutlich höher als die Sensitivität von Viruskulturen. Die **Spezifität** der Enterovirus-PCR wird mit 99 bis 100% angegeben. (42)

Ein wesentlicher Vorteil gegenüber der Kultur ist die kurze Zeit, die sie beansprucht, um eindeutige Ergebnisse zu liefern. Während eine Enteroviruskultur im Durchschnitt vier bis acht Tage benötigt, kann eine PCR nach vier bis sechs Stunden abgeschlossen sein. Dieser Zeitgewinn spielt bei der Enterovirusmeningitis, deren klinische Charakteristika das Vorliegen einer bakteriellen Meningitis vortäuschen können, eine erhebliche Rolle. Eine unter dem Verdacht einer bakteriellen Meningitis begonnene antibiotische Therapie kann frühzeitig beendet werden, der **Antibiotikaverbrauch** kann reduziert, Nebenwirkungen vermindert und mögliche bakterielle Resistenzentwicklungen vermieden werden.

Bislang spielte vor allem in US-amerikanischen Arbeiten die Verkürzung der stationären Liegedauer und der hiermit verbundenen Kostenreduktion eine große Rolle. (29,39,50,55,56,58,76) Dies wird bei zukünftigen Abrechnungsformen auch im deutschen Gesundheitswesen einen höheren Stellenwert erhalten.

Die Enterovirus-PCR ist somit imstande, mit hoher Sensitivität und Spezifität sämtliche Enteroviren zu detektieren. Im Gegensatz zur Kultur benötigt sie nur sehr geringe Mengen an Virusmaterial. Da in Liquorproben bei Enterovirusmeningitiden im Vergleich zu anderen Materialien nur sehr geringe Virusmengen vorhanden sind, ist die PCR auch aus diesem Grunde der Viruskultur deutlich überlegen.

Der **Krankheitsverlauf** war bei den meisten Kindern unkompliziert und entsprach den klinischen Erwartungen bei Vorliegen einer Virusmeningitis. Dass die als besonders stark empfundenen Kopfschmerzen sich meist kurz nach der Lumbalpunktion besserten, ist an anderer Stelle bereits vermerkt worden.

Bei acht Kindern wurde initial vom aufnehmenden Arzt eine intravenöse **antibiotische Therapie** mit Cefotaxim begonnen. Gründe hierfür waren die hohen Liquorzellzahlen und der verdächtige klinische Befund, der das mögliche Vorliegen einer eitrigen Meningitis nahe legte. Die antibiotische Therapie wurde in allen Fällen nach Eingang des Enterovirus-Befundes aus der PCR und der negativen Liquorkultur frühzeitig beendet.

Die Patienten wurden nach **durchschnittlich sechs Tagen** aus der stationären Behandlung entlassen. Die längere Verweildauer von je einem Patienten über 14 bzw. 16 Tage gründete lediglich darauf, dass es sich hierbei um Kinder aus einem Kinderheim handelte und sie aus Sorge über eine anhaltende Virusausscheidung nicht in die Heimbetreuung zurück gegeben werden konnten.

Bei Entlassung waren alle Kinder in klinisch-neurologisch unauffälligem Zustand und **keines zeigte neurologische Residuen**. Wie bereits an anderer Stelle vermerkt, wurde jedoch ein zum Zeitpunkt der Erkrankung acht Monate altes Kind vier Monate nach Entlassung mit fokalen Krampfanfällen erneut stationär aufgenommen. Dieser Säugling hatte initial eine enzephalitische Verlaufform mit fokalen Anfällen geboten. Das Schädel-MRT zeigte die in Abbildung 20 und 21 erkennbaren Läsionen im Temporal- und Parietalbereich.

In der Literatur finden sich nur wenige **systematische Nachuntersuchungen** von Kindern mit Enterovirus-Meningitiden.

In einer kontrollierten Studie mit 33 Patienten, die im 1.Lebensjahr an einer EV-Meningitis erkrankten, zeigte keines der Kinder im Schulalter neurologische oder psychomotorische Defizite (9)

In einer anderen Arbeit, in der neun Kinder mit einer EV-Meningitis in den ersten drei Lebensmonaten im Alter von vier Jahren nachuntersucht wurden, zeigte sich lediglich ein signifikantes Defizit im Bereich der rezeptiven Sprachfunktionen. (81)

Auch in einer neueren Arbeit, die 16 Kinder mit EV-Meningitis in den ersten drei Lebensmonaten umfasste, fanden sich geringe, aber signifikante Defizite einzelner Sprachfunktionen , insbesondere der rezeptiven Sprache. (6)

Eine ECHO-Virus-Meningoenzephalitis, die bei einem immunkompetenten Kind zu einem Krampfleiden mit morphologischen Residuen im ZNS führt, wie es bei unserem Patienten der Fall ist, wird in der Literatur nicht beschrieben.

4.2 Epidemiologie

Der hier beschriebene Ausbruch von ECHO-Virus-Meningitisfällen bei Kindern ist charakterisiert durch eine deutlich höhere Inzidenz als regional in einem Vergleichszeitraum zu erwarten wäre. Eine solche Häufung nachgewiesener Virusmeningitisfälle hat es in den davor liegenden Jahren in der Region Krefeld nicht gegeben. Im gleichen Zeitraum des Folgejahres 2001 wurden lediglich 15 Enterovirus-Meningitisfälle stationär behandelt.

Bemerkenswert ist die relativ gleichmäßige Verteilung der Fälle über das Stadtgebiet und die Umgebung von Krefeld. Eine Häufung im Zusammenhang von Kindertagesstätten, Schulen, Spielplätzen, Stadtteilen oder bestimmten sozio-ökonomischen Strukturen der Stadt ließ sich nicht erkennen.

Mit 10 von insgesamt 51 Fällen (19,6%) war lediglich der Familienkontakt ein deutlich erhöhter Risikofaktor (5x2 Geschwister).

Vier Erkrankungsfälle (7,8%) traten im Zusammenhang von Kontakten in Gemeinschaftseinrichtungen auf (2x2 Kindergarten-Kinder).

Bei den verbliebenen 37 erkrankten Kindern ließen sich keine Infektionsketten und keine in Frage kommenden Infektionsherde nachweisen.

Somit erkrankten hier überwiegend einzelne Kinder inmitten von zahlreichen Kontaktpersonen und einem vergleichbaren Infektionsrisiko der nicht erkrankten Kinder. Das Auftreten einzelner Meningitisfälle in Gemeinschaftseinrichtungen führt bei Eltern und Betreuern natürlich zu großer Sorge, dass weitere Kinder erkranken könnten.

Warum ist dies in dem beschriebenen Ausbruch in Krefeld nicht geschehen ?

Es ist ein grundlegendes Konzept zum Verständnis der Epidemiologie von Enteroviren, dass im Rahmen eines Ausbruches von manifesten Erkrankungen eine sehr große Zahl von Personen asymptomatisch infiziert ist und diese den Erreger beherbergen, vermehren und verbreiten. Von den Erkrankten selbst zeigen viele lediglich Symptome eines unspezifischen Infektes mit Fieber sowie Symptome von Seiten des Gastrointestinaltraktes oder der Atemwege. Nur bei einem kleinen Teil der Erkrankten manifestiert sich eine Meningitis.

Dieses Prinzip der Epidemiologie von Enteroviren - das Vorhandensein einer großen Zahl asymptomatischer Infektionen im Rahmen von Endemien, wie auch Epidemien wird vor allem durch die Erfahrungen der Polioepidemiologie des letzten Jahrhunderts verdeutlicht.

Dieses epidemiologische Prinzip hat sich auch beim Ausbruch in Krefeld und Umgebung gezeigt. Die Kenntnis dieses Prinzips erleichtert es, die epidemiologischen Zusammenhänge zu erkennen und ermöglicht es die Betroffenen, d.h. Eltern und Betreuer zu beraten. Deren Sorge, es könnte zu einem unkontrolliertem Ausbruch von Meningitisfällen in Gemeinschaftseinrichtungen kommen, ist unter diesem Aspekt unberechtigt.

Im Rahmen eines vergleichbaren Ausbruches von ECHO-Virus Typ 30-Meningitisfällen in einer deutschen Kleinstadt haben Reintjes und Mitarbeiter im Jahr 1997 umfassende epidemiologische Untersuchungen angestellt. Damals waren 21

Kinder mit einer aseptischen Meningitis in der Kinderklinik der Stadt stationär behandelt worden.(57) In einer Querschnitts-Studie wurden von den 2240 Kindern der Stadt unter 16 Jahren jedes 10. Kind (224 Kinder) erfasst. Die Daten von 197 Kindern (88%) konnten ausgewertet werden. Bei 31 weiteren Kindern (16%) bestanden im Zeitraum des Meningitis-Ausbruchs mindestens drei Symptome, welche die Falldefinition einer aseptischen Meningitis erfüllten: Fieber über 38,5° Celsius, Kopfschmerzen, Nackensteifigkeit, Übelkeit, Erbrechen. Bei weiteren 52 Patienten (26%) bestanden immerhin ein oder zwei der genannten Symptome. Zwar wurden diese Daten nur retrospektiv durch eine Fragebogen-Erhebung gewonnen. Sie unterstreichen jedoch die Hypothese, dass im Rahmen eines Ausbruches von Virusmeningitiden nur ein Teil der tatsächlich Infizierten und Erkrankten erfasst und stationär behandelt wird. Zahlreiche andere Patienten sind möglicherweise an einer Virusmeningitis erkrankt ohne diagnostiziert zu werden, bzw. leiden an unspezifischen Infektsymptomen. Rechnet man die asymptomatisch infizierten hinzu, zeigt sich, dass die Infektionsrate im zeitlichen und räumlichen Kontext eines Meningitisausbruches sehr hoch sein kann. Aus den von Reintjes erfassten Daten lies sich für den Zeitraum des Meningitis-Ausbruches eine Gesamtinfektionsrate (overall attack rate) von immerhin 16 % der Kinder und Jugendlichen unter 16 Jahren errechnen.

Durch eine Fall-Kontroll-Studie wurden in der Arbeit von Reintjes mögliche Risikofaktoren erfasst und ausgewertet, welche die Wahrscheinlichkeit, an einer Virusmeningitis zu erkranken, beeinflussten. Hierbei zeigte sich, dass das relative Risiko bzw. die odds ratio bei folgenden Faktoren erhöht war:
Haushaltskontakte mit Erkrankten (OR 3,2; 95%-Konfidenzintervall 1,3-7,9)
Kindergartenbesuch (OR 2,5; 95%-Konfidenzintervall 1,2-5,3)
Spielplatzbesuch 2-3 Mal pro Woche (OR 3,7; 95%-Konfidenzintervall 1,3-10,2)

Eine Querschnitts-Studie bzw. eine Fall-Kontroll-Studie wurden bei dem beschriebenen Ausbruch in Krefeld nicht durchgeführt. Die 37 isolierten Meningitisfälle, 10 Fälle im Rahmen von Familienkontakten und vier Fälle mit Kindergartenkontakten spiegeln aber zumindest qualitativ das hier angesprochene epidemiologische Prinzip wieder, nämlich dass überwiegend isolierte Erkrankungsfälle ohne erkennbare Infektionsketten auftreten, dass jedoch ein erhöhtes Risiko bei engen Familienkontakten und in geringerem Maße auch bei Kindergartenkontakten besteht.

Ein gemeinsamer, sozusagen übergeordneter Infektionsherd lies sich nicht ermitteln. Die relativ lange Dauer des beschriebenen Ausbruches bei kurzer Inkubationszeit von Enterovirusinfektionen macht einen hypothetischen gemeinsamen Infektionsherd eher unwahrscheinlich. Vielmehr handelt es sich mit großer Wahrscheinlichkeit um eine kontinuierliche Abfolge von Mensch-zu-Mensch Infektionen. Es bleibt jedoch unklar, welches die Vektoren des Virus sind, die dazu führen, dass in dem beschriebenen Areal von 30x30 km Ausdehnung Kinder, die keinen direkten Kontakt miteinander hatten, infiziert wurden und erkrankten.

Die Prävalenz und Inzidenz verschiedener Enterovirustypen verläuft häufig nach zyklischen Gesetzmäßigkeiten. Eine Periode hoher Prävalenz führt zu einem höheren Immunisierungsgrad der empfänglichen Population - insbesondere der Klein- und Schulkinder. Dieser höhere Immunisierungsgrad führt zu einem Rückgang der Prävalenz dieses Serotyps über einige Jahre. Durch das Nachwachsen einer

nichtimmunen Population von Kleinkindern kommt es infolge eines niedrigen Immunisierungsgrades zu erneuten Ausbrüchen des jeweiligen Serotyps. Diese epidemiologischen Abläufe gelten vermutlich für regionale Ausbrüche ebenso wie für größere geographische Einheiten (Länder und Kontinente).

Ein Ausbruch wie der hier beschriebene kann somit nicht nur Folge einer erhöhten Prävalenz des Virus in der Umwelt bzw. bei asymptomatisch besiedelten Kontaktpersonen sein, sondern auch Folge des Unterschreitens eines kritischen Immunitätsgrades in der empfänglichen Population, vor allem der Kleinkinder.

Die regionale Begrenzung des Ausbruches auf die hier beschriebene Region, trotz hoher Mobilität der Bevölkerung in umgebende Nachbar-Regionen hinein, wie zum Beispiel nach Neuss, Düsseldorf, Duisburg oder Essen, könnte Folge eines dort regional höheren Immunitätsgrades der in Frage kommenden kindlichen Population sein.

Möglicherweise werden Ausbrüche aber auch durch den höheren Aufmerksamkeitsgrad der bei einer gewissen Häufung entsteht, sozusagen iatrogen akzentuiert, z.B. durch die höhere Zahl durchgeführter Lumbalpunktionen bei verdächtigen Symptomen.

Die Wahrscheinlichkeit, dass sich ein behandelnder Arzt bei einem Kind mit Fieber und Kopfschmerzen zu einer Lumbalpunktion entschließt, ist im Sommer in einer Phase gehäuftem Auftretens viraler Meningitiden höher als in Zeiten sporadischer Fälle von Virusmeningitis. Regionale Ausbrüche von Enteroviruserkrankungen führen in der Regel zu einem höheren Aufmerksamkeitsgrad der behandelnden Ärzte und somit zu einer höheren Erfassungsrate als in Zeiten sporadischer Erkrankungen. (65)

In einer großen finnischen Studie haben Rantakallio und Mitarbeiter die jährliche Inzidenz von Enterovirusmeningitis bei Kindern unter einem Jahr bei 219 auf 100 000 Kinder beziffert. In der Altersgruppe zwischen ein Jahr und vier Jahren betrug die Inzidenz nur noch 19 auf 100 000 Kinder (66). Andere Studien zeigen ein Erkrankungsmaximum im Kleinkindesalter (8) oder im frühen Schulalter (61). Diese variablen Häufigkeitsangaben in den verschiedenen Altersgruppen werden vermutlich durch unterschiedliche Immunitätslagen infolge zurückliegender regionaler Enterovirusausbrüche erzeugt. Endemisch vorkommende Enterovirusserotypen, die kontinuierlich jedes Jahr mit einer gewissen Häufigkeit auftreten, führen in erster Linie zur Erkrankung sehr junger Kinder ohne spezifische Immunität. Ältere Kinder scheinen vor allem durch Enterovirusserotypen zu erkranken, welche bereits mehrere Jahre nicht mehr regional aufgetreten sind.

Vieth und Mitarbeiter berichten von einem Meningitisausbruch mit ECHO-Virus Typ 30 in vier Kindergärten. 39 von 92 Kindern (42%) waren erkrankt. Bei 12 Kindern (13%) wurde eine Meningitis nachgewiesen. (78) Auch diese Arbeit zeigt eine hohe Infektionsrate bei ECHO-Virus-Typ-30-Ausbrüchen, in diesem Fall mit einer noch höheren Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer Meningitis.

In einer amerikanischen Arbeit (45) wurde ein Meningitisausbruch mit ECHO-Virus Typ 30 in Gemeinschaftseinrichtungen in Kalifornien untersucht, bei der fünf Erwachsene (Eltern bzw. Betreuer) an einer Virusmeningitis erkrankten. Es wurden hygienerelevante Verhaltensweisen im Umgang mit den Kindern standardisiert

erfasst und ausgewertet. Dabei zeigte sich, dass der Kontakt zu windeltragenden Kindern, das häufigere Windelwechseln sowie das seltenere Händewaschen das Infektionsrisiko statistisch signifikant erhöhten.

Es gibt zahlreiche andere Berichte in der Literatur über Ausbrüche von ECHO-Virus Typ 30 bedingten Meningitisfällen (5, 7, 14, 18, 19, 21, 22, 26, 28, 30, 32, 53, 68, 73, 75,84). Das nationale Referenzzentrum für Poliomyelitis und Enteroviren am Robert-Koch-Institut veröffentlicht jährlich die häufigsten Enterovirusserotypen, welche im Untersuchungsmaterial von Einsendungen aus dem ganzen Bundesgebiet nachgewiesen wurden.(24) Der ECHO-Virus Typ 30 liegt in den Jahren seit 1997 mit einem Anteil zwischen 8,5% und 28,7% der untersuchten Materialien immer unter den ersten vier nachgewiesenen Serotypen. Die vom Robert-Koch-Institut in den letzten Jahren berichteten Ausbrüche ereigneten sich überwiegend in den späten Sommer- und Herbstmonaten. Bei einem Ausbruch im Juli im Raum Leipzig wurden in 28 Fällen ECHO-Virus Typ 13 in sieben Fällen ECHO-Virus Typ 30 und in vier Fällen Coxsackie B5 nachgewiesen. 80% der Erkrankten waren zwischen 1 und 15 Jahre alt. Es handelte sich überwiegend um Einzelfälle ohne erkennbaren Zusammenhang. Lediglich in drei Kindereinrichtungen traten mehrere Erkrankungen auf. In sieben Familien kam es zu einer Kontaktinfektion (23). Bei einem Ausbruch im Sommer 2000 wurden in einem Landkreis im südlichen Sachsen-Anhalt 44 Erkrankungen erfasst und ECHO-Virus Typ 13 als Erreger nachgewiesen. Bei den Angaben zum klinischen Verlauf wurden vor allem die besonders heftigen Kopfschmerzen der Patienten hervorgehoben. Trotz intensiver Recherchen seien hier keine belegbaren Infektketten oder epidemiologischen Zusammenhänge zwischen den Erkrankten weder in den Kindereinrichtungen noch in den Familien gefunden worden (25).

Auch bei einem Ausbruch von aseptischen Meningitiden durch Enteroviren in Nordhessen im Sommer 2001 wurde ECHO-Virus Typ 30 als Erreger nachgewiesen. Berichtet wurde über 15 Kinder und 10 Erwachsene, die mit heftigen Kopfschmerzen, Fieber und teilweise Nackensteifigkeit und Erbrechen zur stationären Behandlung eingewiesen wurden. Auch bei diesem Ausbruch ließen sich keine Infektketten und epidemiologischen Zusammenhänge ermitteln (22).

Durch eine genauere epidemiologische Untersuchung dieses Ausbruches mit Hilfe einer Fall-Kontroll-Studie sowie Umweltuntersuchungen mit Proben aus Badegewässern konnte ein Badeteich als hauptsächliche Infektionsquelle identifiziert werden (21). In diesem Teich ließ sich durch eine PCR-Untersuchung ein Enterovirus nachweisen, der bei der Gen-Sequenzierung eine 99% Homologie zu dem Isolat eines Patienten aufwies. Das Baden in besagtem Badegewässer zeigte in der Fall-Kontroll-Studie ein hohes Erkrankungsrisiko.

In einer Übersicht der von den staatlichen Gesundheitslaboratorien der USA dem Center for Disease Control gemeldeten Enterovirusnachweise, war ECHO-Virus Typ 30 mit Nachweisraten zwischen 4,4% (6. Position) bis maximal 25,9% (1. Position) in den Jahren 1993 bis 1996 immer bei den am häufigsten genannten Enterovirusserotypen. In den Jahren 1997 bis 1999 lag die Rate des ECHO-Virus-Typ-30-Nachweises durchschnittlich bei 27,5% aller Enteroviren.(20,52) Bemerkenswert waren Schwankungen der jährlichen Nachweisrate zwischen 1,1% und maximal 45,9% .

Oberste und Mitarbeiter analysierten auf der Grundlage der amerikanischen Surveillance-Daten aus den Jahren 1961 bis 1997 Gesetzmäßigkeiten im Auftreten

von ECHO-Virus-30-Epidemien.(53) Sie führten die zyklische Zunahme und Abnahme der Nachweisrate dieses Serotyps im regionalen wie auch in landesweiten Untersuchungen auf ein Wechselspiel zwischen Bevölkerungsimmunität und Geburtenrate zurück. Ein landesweiter großer Ausbruch eines Enterovirusserotyps reduziert demnach die Population nicht-immuner und somit empfänglicher Individuen. Dies führt zur Unterbrechung von Infektionsketten und somit zu einem zyklischen Rückgang der Nachweisrate des entsprechenden Serotyps. Die Autoren vergleichen die epidemiologischen Abläufe mit dem Poliovirus, bei dem die Reduktion der empfänglichen Population infolge der Polioimpfung sogar zu einer Eradikation des Virus geführt hat.

Diese vom Center for Disease Control(CDC) veröffentlichten Zahlen erfassen die von den US-Bundesgesundheitsbehörden gemeldeten Virusisolate. Gemessen an der geschätzten Zahl von 10 bis 15 Mill. symptomatischer Enterovirusinfektionen pro Jahr in den USA handelt es sich hierbei jedoch um sehr geringe Zahlen. Zum Beispiel wurden für das Jahr 1997 524 Virusisolate, im Jahre 1998 795 Virusisolate und im Jahre 1999 lediglich 353 Virusisolate erfaßt. Somit ist nicht sicher, ob diese Zahlen die tatsächliche epidemiologische Situation in den USA widerspiegeln. Offenbar erfassen solche Surveillance-Meldesysteme für Virusnachweis und Erkrankung aber nur einen Bruchteil der tatsächlichen epidemiologischen Situation. Es kommt hierbei auch zu einer deutlichen Überrepräsentation von erfassten schweren Verläufen, insbesondere des zentralen Nervensystems.

4.3 Zukünftige Therapieoptionen

Durch die PCR-Diagnostik ist eine schnelle und sichere Identifizierung von Enteroviren als Krankheitserreger möglich geworden. Mit dieser Information kann unnötiger Antibiotikaeinsatz vermieden, bakterielle Resistenzentwicklung und potentielle Antibiotika-Nebenwirkungen verhindert und elterliche Sorge hinsichtlich schwerer bakterieller Infektionen abgefangen werden.

Die zügige Erregerdiagnostik eröffnet in Zukunft auch Therapieansätzen mit antiviralen Substanzen neue Möglichkeiten.

Die Substanz **Pleconaril** befindet sich derzeit in der Phase klinischer Studien.

Pleconaril bindet sich an an das Virusprotein VP1 im sog. Canyon des Viruskapsids aller Picornaviren und führt zu einer Blockierung der Rezeptorbindung des Virus.

Darüber hinaus wird das virale „uncoating“ inhibiert. Die Substanz hat eine gute orale Bioverfügbarkeit und erlangt im ZNS eine höhere Konzentration als im Serum.

Somit stellt diese Substanz eine zukünftige Option für die antivirale Therapie bei schweren Enterovirusinfektionen dar. Insbesondere septische Verläufe, wie sie bei Neugeborenen beobachtet werden, die Enterovirus-Myokarditis und die chronische Meningoenzephalitis bei immundefizienten Patienten wären hierdurch einer Therapie zugänglich. Inwiefern die „normale“ Enterovirusmeningitis oder gar der banale Enterovirusinfekt zukünftige Therapieindikationen darstellen werden, bleibt abzuwarten. (49,59,67,69,71,72,82)

5. Zusammenfassung

ECHO-Viren gehören zur Gruppe der Enteroviren. Sie führen häufig zu unspezifischen fieberhaften Infekten im Kindesalter. Sie sind aber auch eine der häufigsten Erreger aseptischer Meningitiden.

In Krefeld und seiner Umgebung am linken Niederrhein kam es in den Herbstmonaten des Jahres 2000 zu einem regionalen Ausbruch von ECHO-Virus-Meningitisfällen bei Kindern.

Die vorliegende Arbeit erfasst 51 Kinder, die in im Rahmen dieses Ausbruchs im Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin des Klinikum Krefeld behandelt wurden. Es handelt sich im wesentlichen um eine klinisch-retrospektive Untersuchung. Die klinischen Daten aller Patienten wurden parametrisiert aus den jeweiligen Krankengeschichten übernommen und zur Auswertung in einer Datenbank (Access) zusammengefasst.

Die Untersuchung umfasst drei Schwerpunkte: die klinischen Aspekte der ECHO-Virus-Meningitis im Kindesalter, die virologische Diagnostik und hierbei insbesondere die Möglichkeiten der PCR-Technik, sowie die epidemiologischen Daten und Prinzipien eines regionalen Ausbruchs von ECHO-Virus-Meningitiden.

Die Laboruntersuchungen erfolgten im Institut für Hygiene und Laboratoriumsmedizin sowie im Labor der Kinderklinik des Klinikum Krefeld.

Für den Nachweis von Enterovirusgenom in den Liquorproben wurde eine Polymerase Kettenreaktion (PCR) verwendet. Die Virusisolierung in der Zellkultur und die Serotypisierung im Neutralisationstest wurden im Referenzlabor für Poliomyelitis und Enteroviren am Robert-Koch-Institut in Berlin durchgeführt.

Alle Meldungen von Virusmeningitisfällen im Zeitraum zwischen 1. September 2000 und 31. Dezember 2000 nach den Bestimmungen des zum damaligen Zeitpunkt gültigen Bundesseuchengesetzes an das Gesundheitsamt der Stadt Krefeld sowie der Gesundheitsämter aller Nachbarregionen wurden erfasst

Die Altersverteilung der Meningitisfälle zeigte ein Maximum in den Altersgruppen zwischen drei und sieben Jahren, einem Alter, in dem Kinder oft erstmals in Kontakt zu zahlreichen anderen Kindern in Gemeinschaftseinrichtungen kommen. Jungen waren häufiger betroffen als Mädchen.

Nach kurzer Anamnesedauer stellten sich bei den meisten Kindern Fieber, Kopfschmerzen, Erbrechen und Meningismus als charakteristische Symptome einer Virusmeningitis ein. Bemerkenswert war die Häufigkeit von überwiegend als sehr stark bezeichneten Kopfschmerzen. Auch Meningitisfälle ohne Fieber und ohne Nackensteifigkeit wurden beobachtet. Die zeitlich umschriebene Häufung der Meningitisfälle führte möglicherweise zu einer relativ weiten Indikationsstellung der Lumbalpunktion und erhöhte dadurch die Erfassungsrate.

Die meisten Patienten hatten eine Liquorzellzahl im Bereich unter 200/ μ l. Bemerkenswert waren Liquorproben ganz ohne Pleozytose, sowie auch hohe Zellzahlen bis 1700/ μ l.

Die relativ hohe Leukozytenzahl und die Dominanz neutrophiler Zellen im peripheren Blutbild sowie im Liquor konnten in der klinischen Beurteilung den Verdacht auf eine bakterielle Meningitis erwecken.

Die Untersuchungen von spezifischen IgG-AK in Serum und Liquor sowie IgM-AK im Serum zeigten eine sehr geringe Sensitivität und waren nicht hilfreich.

Durch den Einsatz einer rt-nPCR konnte in allen Liquorproben innerhalb weniger Stunden Enterovirusgenom nachgewiesen und die Diagnose einer Enterovirusmeningitis gestellt werden. Im Vergleich zur Viruskultur erlaubt es diese neue Technik, in wesentlich kürzerer Zeit, mit höherer Sensitivität und Spezifität die Diagnose einer Enterovirusmeningitis zu sichern. Dies führt zu einer deutlichen Reduzierung des Antibiotikaeinsatzes, und kann zu einer Verkürzung der stationären Liegedauer und zu Kostenreduktion führen.

Der Krankheitsverlauf war in den meisten Fällen unkompliziert, lediglich zwei Kinder zeigten enzephalitische Symptome. Bei Entlassung hatte keines der Kinder neurologische Residuen. Ein Säugling mit enzephalitischem Verlauf der ECHO-Virus-Meningitis entwickelte im weiteren Verlauf ein Krampfleiden mit multifokalen Läsionen im ZNS. Ein so schwerwiegender Verlauf wurde in der Literatur bislang nicht beschrieben.

Durch die Entwicklung neuer antiviraler Substanzen könnte in Zukunft eine Therapieoption für schwerwiegende Verläufe von Enterovirusinfektionen entstehen. Die Substanz Pleconaril befindet sich derzeit bereits in der Phase klinischer Studien und wurde auch bei Kindern erfolgreich eingesetzt.

Der hier beschriebene Ausbruch einer ECHO-Virus-Meningitis war zeitlich auf die Herbstmonate des Jahres 2000 und regional auf die Stadt Krefeld und ihre linksrheinische Umgebung begrenzt. Es kam überwiegend zu isolierten Krankheitsfällen, ohne Clusterbildung und ohne erkennbare Infektionsketten.

Die isolierten Meningitisfälle entstehen offenbar auf der Basis einer größeren Infektionswelle von ECHO-Virusinfektionen, welche auf Grund ihres asymptomatischen oder unspezifischen Verlaufs nicht diagnostiziert werden. Dieses grundlegende Prinzip der Epidemiologie von Enteroviren, welches im letzten Jahrhundert die Polioausbrüche charakterisierte, lag vermutlich auch dem hier beschriebenen Ausbruch zu Grunde.

Die regionale Begrenzung eines ECHO-Virus-Ausbruches trotz hoher überregionaler Mobilität, vor allem der berufstätigen Bevölkerung ist bemerkenswert. Eine Erklärung hierfür könnte in unterschiedlichen Immunisierungsgraden in der besonders empfänglichen Population der Klein- und Schulkinder liegen. Wird in Folge eines Ausbruchs ein bestimmter Immunisierungsgrad in einer Population aufgebaut, kommt es in der entsprechenden Region zu einem Rückgang der Infektionsraten und einer Unterbrechung der Infektionsketten. Erst wenn durch folgende Jahrgänge eine nichtimmune Kinderpopulation nachgewachsen ist, kann sich der gleiche Enterovirus-Serotyp in Form eines Ausbruches erneut verbreiten.

Zahlreiche epidemiologische Surveillance-Daten weisen auf eine zyklische Verbreitung einzelner Enterovirus-Serotypen hin. Diese epidemiologischen Abläufe gelten also vermutlich für regionale Ausbrüche ebenso wie für größere geographische Einheiten. Mit Hilfe der großen Zahl ihrer Serotypen können die Enteroviren offenbar dem Druck des menschlichen Immunsystems ausweichen und zugleich ihre Gattung durch eine zyklische Kontinuität erhalten.

Durch die systematische Untersuchung eines regionalen Ausbruchs von ECHO-Virus-Meningitiden können, wie hier gezeigt, klinisch relevante Erkenntnisse gewonnen sowie virologische und epidemiologische Prinzipien für das Verständnis der Gesetzmäßigkeiten eines solchen Ausbruchs genutzt werden.

6. Literaturverzeichnis

1. Ahmed A, Brito F, Goto C, Hickey SM, Olsen KD, Trujillo M, McCracken GH Jr.
Clinical utility of the polymerase chain reaction for diagnosis of enteroviral meningitis in infancy.
J Pediatr. 1997 Sep;131(3):393-7.
2. Abzug MJ, Loeffelholz M, Rotbart HA.
Diagnosis of neonatal enterovirus infection by polymerase chain reaction.
J Pediatr. 1995 Mar;126(3):447-50.
3. Asano Y, Yoshikawa T.
Enterovirus infections in children.
Curr Opin Pediatr. 1995 Feb;7(1):24-31. Review.
4. Aseptic meningitis due to ECHO-Virus 30, Japan, 1997-1998
Canada Communicable Disease Report - Volume 24-23, December 1, 1998.
5. Atkinson PJ, Sharland M, Maguire H.
Predominant enteroviral serotypes causing meningitis.
Arch Dis Child. 1998 Apr;78(4):373-4.
6. Baker RC, Kummer AW, Schultz JR, Ho M, Gonzalez del Rey J.
Neurodevelopmental outcome of infants with viral meningitis in the first three months of life.
Clin Pediatr (Phila). 1996 Jun;35(6):295-301.
7. Bailly JL, Bequet A, Chambon M, Henquell C, Peigue-Lafeuille H.
Nosocomial transmission of ECHO-Virus 30: molecular evidence by phylogenetic analysis of the VP1 encoding sequence.
J Clin Microbiol. 2000 Aug;38(8):2889-92.
8. Berlin LE, Rorabaugh ML, Heldrich F, Roberts K, Doran T, Modlin JF.
Aseptic meningitis in infants < 2 years of age: diagnosis and etiology.
J Infect Dis. 1993 Oct;168(4):888-92.
9. Bergman I, Painter MJ, Wald ER, Chiponis D, Holland AL, Taylor HG.
Outcome in children with enteroviral meningitis during the first year of life.
J Pediatr. 1987 May;110(5):705-9.
10. Buxbaum S, Berger A, Preiser W, Rabenau HF, Doerr HW.
Enterovirus infections in Germany: comparative evaluation of different laboratory diagnostic methods.
Infection. 2001 May-Jun;29(3):138-42.
11. Byington CL, Taggart EW, Carroll KC, Hillyard DR.
A polymerase chain reaction-based epidemiologic investigation of the incidence of nonpolio enteroviral infections in febrile and afebrile infants 90 days and younger.
Pediatrics. 1999 Mar;103(3):E27.
12. Carroll KC, Taggart B, Robison J, Byington C, Hillyard D.
Evaluation of the roche AMPLICOR enterovirus PCR assay in the diagnosis of enteroviral central nervous system infections.
J Clin Virol. 2000 Dec;19(3):149-56.

13. Casas I, Klapper PE, Cleator GM, Echevarria JE, Tenorio A, Echevarria JM.
Two different PCR assays to detect enteroviral RNA in CSF samples from patients with acute aseptic meningitis.
J Med Virol. 1995 Dec;47(4):378-85.
14. Chambon M, Bailly JL, Beguet A, Henquell C, Archimbaud C, Gaulme J, Labbe A, Malpuech G, Peigue-Lafeuille H.
An outbreak due to ECHO-Virus type 30 in a neonatal unit in France in 1997: usefulness of PCR diagnosis.
J Hosp Infect. 1999 Sep;43(1):63-8.
15. Cherry JD 1992
Enteroviruses: Polioviruses (Poliomyelitis), Coxsackieviruses, and Enteroviruses
In: Cherry, James D; Feigin, Ralph D; Cherry, [Ed.]
Textbook of pediatric infectious diseases 3rd. ed; W B Saunders Co, Philadelphia, London, Toronto, 1705-1753.
16. Dagan R.
Nonpolio enteroviruses and the febrile young infant: epidemiologic, clinical and diagnostic aspects.
Pediatr Infect Dis J. 1996 Jan;15(1):67-71. Review.
17. Diedrich S, Driesel G, Schreier E.
Sequence comparison of ECHO-Virus type 30 isolates to other enteroviruses in the 5'noncoding region.
J Med Virol. 1995 Jun;46(2):148-52.
18. Drebot MA, Nguan CY, Campbell JJ, Lee SH, Forward KR.
Molecular epidemiology of enterovirus outbreaks in Canada during 1991-1992: identification of ECHO-Virus 30 and coxsackievirus B1 strains by amplicon sequencing.
J Med Virol. 1994 Dec;44(4):340-7.
19. Druyts-Voets E.
Epidemiological features of entero non-poliovirus isolations in Belgium 1980-94.
Epidemiol Infect. 1997 Aug;119(1):71-7.
20. Enterovirus Surveillance --- United States, 1997-1999
MMWR Weekly October 13, 2000/49(40);913-6.
21. Epidemiologisches Bulletin
Ein Meningitis-Ausbruch durch ECHO-Virus 30 in Nordhessen
Ausbruchsuntersuchung ergab Zusammenhang mit Besuch eines Kleinbadeteiches
17.Mai.2002/Nr.22 163-167.
22. Epidemiologisches Bulletin
Aktueller Ausbruch von aseptischen Meningitiden durch Enteroviren in Nordhessen
Untersuchung eingeleitet – ECHO-Virus Typ 30 als Erreger nachgewiesen
31.August 2001/Nr.35 268-269.

23. Epidemiologisches Bulletin
Virusmeningoenzephalitis im Freistaat Sachsen
1.Juni 2001/Nr.22 153-156.
24. Epidemiologisches Bulletin
Zum Vorkommen von Entervirusinfektionen im Jahr 2000
Virusmeningitis besonders durch ECHO-Viren der Serotypen 13, 30 und 6
12. Januar 2001/Nr.2 7-8.
25. Epidemiologisches Bulletin
Eine Häufung viraler Meningitis durch ECHO-Virus Typ 13 in Sachsen-Anhalt
22.September 2000/Nr.38 305-306.
26. Gorgievski-Hrisoho M, Schumacher JD, Vilimonovic N, Germann D, Matter L.
Detection by PCR of enteroviruses in cerebrospinal fluid during a summer outbreak of aseptic meningitis in Switzerland.
J Clin Microbiol. 1998 Sep;36(9):2408-12.
27. Gordis L
Epidemiologie
Verlag im Kilian, Marburg (2001).
28. Gosbell I, Robinson D, Chant K, Crone S.
Outbreak of ECHO-Virus 30 meningitis in Wingecarribee Shire, New South Wales.
Commun Dis Intell. 2000 May;24(5):121-4.
29. Hamilton MS, Jackson MA, Abel D.
Clinical utility of polymerase chain reaction testing for enteroviral meningitis.
Pediatr Infect Dis J. 1999 Jun;18(6):533-7.
30. Helfand RF, Khan AS, Pallansch MA, Alexander JP, Meyers HB, DeSantis RA, Schonberger LB, Anderson LJ.
ECHO-Virus 30 infection and aseptic meningitis in parents of children attending a child care center.
J Infect Dis. 1994 May;169(5):1133-7.
31. Henquell C, Chambon M, Bailly JL, Alcaraz S, De Champs C, Archimbaud C, Labbe A, Charbonne F, Peigue-Lafeuille H.
Prospective analysis of 61 cases of enteroviral meningitis: interest of systematic genome detection in cerebrospinal fluid irrespective of cytologic examination results.
J Clin Virol. 2001 Apr;21(1):29-35.
32. Heudorf U.
[Summer 1997 viral meningitis in children Frankfurt/Main--a discussion of the revised communicable disease control regulation]
Gesundheitswesen. 1998 May;60(5):307-10.
33. Hosoya M, Sato M, Honzumi K, Katayose M, Kawasaki Y, Sakuma H, Kato K, Shimada Y, Ishiko H, Suzuki H.
Association of nonpolio enteroviral infection in the central nervous system of children with febrile seizures.
Pediatrics. 2001 Jan;107(1):E12.
34. Huang CC, Liu CC, Chang YC, Chen CY, Wang ST, Yeh TF.
Neurologic complications in children with enterovirus 71 infection.
N Engl J Med. 1999 Sep 23;341(13):936-42.

35. Hyypia T, Auvinen P, Maaronen M.
Polymerase chain reaction for human picornaviruses.
J Gen Virol. 1989 Dec;70 (Pt 12):3261-8.
36. Irvine DH, Irvine AB, Gardner PS.
Outbreak of E.C.H.O. virus type 30 in a general practice.
Br Med J. 1967 Dec 30;4(582):774-6.
37. Kreth HW. (Koordinator)
Enterovirusinfektionen
In: DGPI- Handbuch 1997 255-258.
38. Liow K, Spanaki MV, Boyer RS, Greenlee JE, Bale JF Jr.
Bilateral hippocampal encephalitis caused by enteroviral infection.
Pediatr Neurol. 1999 Nov;21(5):836-8. Review.
39. Marshall GS, Hauck MA, Buck G, Rabalais GP.
Potential cost savings through rapid diagnosis of enteroviral meningitis.
Pediatr Infect Dis J. 1997 Nov;16(11):1086-7.
40. McCarthy PL, Klig JE, Kennedy WP, Kahn JS.
Fever without apparent source on clinical examination, lower respiratory infections in children, and enterovirus infections.
Curr Opin Pediatr. 2000 Feb;12(1):77-95. Review.
41. McKinney RE Jr, Katz SL, Wilfert CM.
Chronic enteroviral meningoencephalitis in agammaglobulinemic patients.
Rev Infect Dis. 1987 Mar-Apr;9(2):334-56. Review.
42. Metzger C, Terletskaia-Ladwig E, Hess RD, Enders G.
Rationale und rationelle Enterovirus-Diagnostik
Dtsch Med Wochenschr. 2001 März 16;126(11):289-93.
43. Modlin JF, Dagan R, Berlin LE, Virshup DM, Yolken RH, Menegus M.
Focal encephalitis with enterovirus infections.
Pediatrics. 1991 Oct;88(4):841-5.
44. Modrow S, Falke D
Molekulare Virologie.
Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford(1997).
45. Mohle-Boetani JC, Matkin C, Pallansch M, Helfand R, Fenstersheib M, Blanding JA, Solomon SL.
Viral meningitis in child care center staff and parents: an outbreak of ECHO-Virus 30 infections.
Public Health Rep. 1999 May-Jun;114(3):249-56.
46. Morag A, Ogra PL (1999)
Enteroviruses
In : Behrman, R.E., Kliegman, R.M., Arvin, A.M.: Nelson's Textbook of Pediatrics 16 th ed. Saunders 956-964.
47. Morens DM, Pallansch MA
Epidemiology
In: Rotbart HA(Editor): Human Enterovirus Infections ASM Press Washington D.C 3-23.
48. Negrini B, Kelleher KJ, Wald ER.
Cerebrospinal fluid findings in aseptic versus bacterial meningitis.
Pediatrics. 2000 Feb;105(2):316-9.
49. Nigrovic LE.
What's new with enteroviral infections?
Curr Opin Pediatr. 2001 Feb;13(1):89-94. Review.

50. Nigrovic LE, Chiang VW.
Cost analysis of enteroviral polymerase chain reaction in infants with fever and cerebrospinal fluid pleocytosis.
Arch Pediatr Adolesc Med. 2000 Aug;154(8):817-21.
51. Nishikawa M, Matsubara T, Yoshitomi T, Ichiyama T, Hayashi T, Furukawa S.
Abnormalities of brain perfusion in ECHO-Virus type 30 meningitis.
J Neurol Sci. 2000 Oct 1;179(S 1-2):122-6.
52. Nonpolio Enterovirus Surveillance --- United States, 1993-1996
MMWR Weekly August 15, 1997/46(32);748-750
53. Oberste MS, Maher K, Kennett ML, Campbell JJ, Carpenter MS, Schnurr D, Pallansch MA.
Molecular epidemiology and genetic diversity of ECHO-Virus type 30 (E30): genotypes correlate with temporal dynamics of E30 isolation.
J Clin Microbiol. 1999 Dec;37(12):3928-33.
54. Outbreak of ECHO-Virus 30 meningitis in southern Saskatchewan
Canada Communicable Disease Report - Volume 24-23, December 1, 1998.
55. Pichichero ME, McLinn S, Rotbart HA, Menegus MA, Cascino M, Reidenberg BE.
Clinical and economic impact of enterovirus illness in private pediatric practice.
Pediatrics. 1998 Nov;102(5):1126-34.
56. Ramers C, Billman G, Hartin M, Ho S, Sawyer MH.
Impact of a diagnostic cerebrospinal fluid enterovirus polymerase chain reaction test on patient management.
JAMA. 2000 May 24-31;283(20):2680-5
57. Reintjes R, Pohle M, Vieth U, Lyytikainen O, Timm H, Schreier E, Petersen L.
Community-wide outbreak of enteroviral illness caused by ECHO-Virus 30: a cross-sectional survey and a case-control study.
Pediatr Infect Dis J. 1999 Feb;18(2):104-8.
58. Rice SK, Heinl RE, Thornton LL, Opal SM.
Clinical characteristics, management strategies, and cost implications of a statewide outbreak of enterovirus meningitis.
Clin Infect Dis. 1995 Apr;20(4):931-7.
59. Romero JR.
Pleconaril: a novel antipicornaviral drug.
Expert Opin Investig Drugs. 2001 Feb;10(2):369-79.
60. Romero JR, Rotbart HA.
Sequence analysis of the downstream 5' nontranslated region of seven ECHO-Viruses with different neurovirulence phenotypes.
J Virol. 1995 Feb;69(2):1370-5.
61. Rorabaugh ML, Berlin LE, Heldrich F, Roberts K, Rosenberg LA, Doran T, Modlin JF.
Aseptic meningitis in infants younger than 2 years of age: acute illness and neurologic complications.
Pediatrics. 1993 Aug;92(2):206-11.
62. Rotbart HA.
Enzymatic RNA amplification of the enteroviruses.
J Clin Microbiol. 1990 Mar;28(3):438-42.
63. Rotbart HA.

- Diagnosis of enteroviral meningitis with the polymerase chain reaction.
J Pediatr. 1990 Jul;117(1 Pt 1):85-9.
64. Rotbart HA.
Nucleic acid detection systems for enteroviruses.
Clin Microbiol Rev. 1991 Apr;4(2):156-68.
Review.
65. Rotbart HA.
Enteroviral infections of the central nervous system.
Clin Infect Dis. 1995 Apr;20(4):971-81.
Review.
66. Rotbart HA
Meningitis and Encephalitis
In: Rotbart HA(Editor)1995: Human Enterovirus Infections ASM Press Washington
D.C 271-289.
67. Rotbart HA.
Antiviral therapy for enteroviral infections.
Pediatr Infect Dis J. 1999 Jul;18(7):632-3. Review.
68. Rotbart HA, McCracken GH Jr, Whitley RJ, Modlin JF, Cascino M, Shah S, Blum D.
Clinical significance of enteroviruses in serious summer febrile illnesses of children.
Pediatr Infect Dis J. 1999 Oct;18(10):869-74.
69. Rotbart HA, Webster AD.
Treatment of potentially life-threatening enterovirus infections with pleconaril.
Clin Infect Dis. 2001 Jan 15;32(2):228-35.
70. Rotbart HA, Romero JR
Laboratory Diagnosis of Enteroviral Infections
In: Rotbart HA(Editor): Human Enterovirus Infections ASM Press Washington D.C
401-418.
71. Sawyer MH.
Enterovirus infections: diagnosis and treatment.
Pediatr Infect Dis J. 1999 Dec;18(12):1033-9; quiz 1040.
Review.
72. Sawyer MH.
Enterovirus infections: diagnosis and treatment.
Curr Opin Pediatr. 2001 Feb;13(1):65-9. Review.
73. Sawyer MH, Holland D, Aintablian N, Connor JD, Keyser EF, Waecker NJ Jr.
Diagnosis of enteroviral central nervous system infection by polymerase chain reaction during a large community outbreak.
Pediatr Infect Dis J. 1994 Mar;13(3):177-82.
74. Schlesinger Y, Sawyer MH, Storch GA.
Enteroviral meningitis in infancy: potential role for polymerase chain reaction in patient management.
Pediatrics. 1994 Aug;94(2 Pt 1):157-62.
75. Schumacher JD, Chuard C, Renevey F, Matter L, Regamey C.
Outbreak of ECHO-Virus 30 meningitis in Switzerland.
Scand J Infect Dis. 1999;31(6):539-42.
76. Spicher VM, Berclaz PY, Cheseaux JJ, Morandi PA, Suter S, Wunderli W, Siegrist CA.
Detection of enteroviruses in the cerebrospinal fluid by polymerase chain reaction: prospective study of impact on the management of hospitalized children.
Clin Pediatr (Phila). 2000 Apr;39(4):203-8.
77. Takao S, Komazawa Y, Fukuda S, Shimazu Y, Noda M, Tokumoto S.

- Duration of ECHO-Virus 30 excretion in stools from patients with aseptic meningitis.
Jpn J Infect Dis. 2000 Jun;53(3):132-3.
78. Vieth UC, Kunzelmann M, Diedrich S, Timm H, Ammon A, Lyytikainen O, Petersen LR.
An ECHO-Virus 30 outbreak with a high meningitis attack rate among children and household members at four day-care centers.
Eur J Epidemiol. 1999 Aug;15(7):655-8.
79. Wakamoto H, Ohta M, Nakano N, Kunisue K.
SPECT in focal enterovirus encephalitis: evidence for local cerebral vasculitis.
Pediatr Neurol. 2000 Nov;23(5):429-31.
80. Walter R (2000)
Allgemeine Grundlagen der Umweltvirologie.
In: Walter R (Hrsg) Umweltvirologie – Viren in Wasser und Boden
Springer Wien, New York.
81. Wilfert CM, Thompson RJ Jr, Sunder TR, O'Quinn A, Zeller J, Blacharsh J.
Longitudinal assessment of children with enteroviral meningitis during the first three months of life.
Pediatrics. 1981 Jun;67(6):811-5.
82. Yarush LI, Steele RW.
Diagnosis and prospective treatment of enteroviral infections in children.
Clin Pediatr (Phila). 2000 Apr;39(4):209-11.
83. Yokoyama T, Oda M, Ogura S, Horiuchi T, Seino Y.
Relationship of interleukin-8 and colony-stimulating factors to neutrophil migration in aseptic meningitis.
Acta Paediatr. 1996 Mar;85(3):303-7.
84. Yamashita K, Miyamura K, Yamadera S, Kato N, Akatsuka M, Hashido M, Inouye S, Yamazaki S.
Epidemics of aseptic meningitis due to ECHO-Virus 30 in Japan. A report of the National Epidemiological Surveillance of Infectious Agents in Japan.
Jpn J Med Sci Biol. 1994 Aug;47(4):221-39.
85. Zeichardt H, Grunert HP
Enteroviruses: Polioviruses, Coxsackieviruses, ECHO-Viruses and Enteroviruses 68-71
In: Armstrong D, Cohen J: Infectious Diseases. Mosby, London, Philadelphia, St. Louis, 8/3.1 - 8/3.12 (1999).

7. Anhang

Patientenübersicht

| <u>Alter Jahr e</u> | <u>Alter Monat e</u> | <u>Aufnahme- datum</u> | <u>Fieber</u> | <u>Kopf- schmerzen</u> | <u>Meningismus</u> | <u>Liquorzellzahl /μl</u> | <u>Leukocyten im Blut/μl</u> |
|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|---------------|----------------------------|--------------------|-------------------------------|----------------------------------|
| 9 | 10 | 07.12.2000 | Ja | stark | Ja | 470 | 15500 |
| 4 | 10 | 30.10.2000 | Ja | stark | Ja | 65 | 7900 |
| 3 | 2 | 17.10.2000 | Ja | leicht | Ja | 910 | 16700 |
| 6 | 3 | 19.09.2000 | Ja | leicht | Ja | 65 | 16900 |
| 8 | 8 | 05.10.2000 | Ja | stark | Ja | 80 | 14600 |
| 6 | 7 | 08.12.2000 | Nein | stark | Ja | 135 | 12200 |
| 9 | 7 | 25.09.2000 | Nein | stark | Ja | 224 | 7000 |
| 10 | 1 | 22.10.2000 | Ja | stark | Ja | 70 | 10000 |
| 4 | 3 | 15.11.2000 | Nein | leicht | Ja | 2 | 8900 |
| 5 | 3 | 16.10.2000 | Ja | stark | Ja | 66 | 11800 |
| 6 | 6 | 17.10.2000 | Nein | leicht | Ja | 90 | 11000 |
| 4 | 3 | 29.12.2000 | Nein | leicht | Ja | 260 | 11700 |
| 4 | 0 | 15.10.2000 | Ja | stark | Ja | 80 | 5000 |
| 3 | 3 | 24.10.2000 | Ja | leicht | Ja | 0 | 12600 |
| 4 | 6 | 07.11.2000 | Nein | stark | Ja | 170 | 13800 |
| 5 | 7 | 15.12.2000 | Nein | leicht | Ja | 430 | 12800 |
| 5 | 11 | 21.09.2000 | Nein | stark | Ja | 76 | 9300 |
| 5 | 4 | 10.11.2000 | Nein | stark | Ja | 530 | 14000 |
| 0 | 10 | 12.11.2000 | Ja | keine | Ja | 30 | 17100 |
| 3 | 3 | 16.11.2000 | Nein | stark | Ja | 300 | 15700 |
| 6 | 5 | 21.10.2000 | Ja | leicht | Ja | 0 | 9200 |
| 6 | 9 | 08.10.2000 | Ja | stark | Ja | 390 | 7500 |
| 13 | 1 | 05.10.2000 | Nein | stark | Ja | 105 | 5100 |
| 7 | 0 | 02.10.2000 | Ja | leicht | Ja | 430 | 13000 |
| 11 | 5 | 08.12.2000 | Ja | stark | Nein | 180 | 10300 |
| 5 | 6 | 18.11.2000 | Ja | stark | Ja | 45 | 9500 |
| 7 | 7 | 09.10.2000 | Ja | stark | Nein | 530 | 6300 |
| 9 | 9 | 10.10.2000 | Nein | stark | Ja | 400 | 6000 |
| 4 | 0 | 16.11.2000 | Ja | leicht | Ja | 190 | 13400 |
| 9 | 8 | 19.11.2000 | Ja | leicht | Ja | 25 | 8700 |
| 11 | 4 | 03.12.2000 | Nein | stark | Ja | 8 | 15500 |
| 5 | 8 | 24.10.2000 | Ja | stark | Ja | 27 | 8400 |
| 4 | 2 | 06.11.2000 | Ja | stark | Ja | 41 | 12200 |
| 9 | 7 | 11.11.2000 | Ja | stark | Ja | 45 | 14200 |
| 5 | 5 | 18.10.2000 | Ja | leicht | Ja | 100 | 12200 |
| 14 | 7 | 06.10.2000 | Ja | stark | Ja | 362 | 11200 |
| 6 | 5 | 30.09.2000 | Ja | leicht | Ja | 50 | 11800 |
| 10 | 5 | 04.10.2000 | Ja | leicht | Ja | 80 | 6400 |
| 10 | 11 | 30.09.2000 | Ja | stark | Ja | 120 | 13500 |
| 5 | 2 | 08.10.2000 | Nein | stark | Nein | 120 | 13800 |
| 9 | 11 | 12.10.2000 | Nein | leicht | Nein | 180 | 11700 |
| 4 | 10 | 01.12.2000 | Ja | stark | Ja | 220 | 21300 |
| 10 | 2 | 19.11.2000 | Ja | leicht | Ja | 180 | 8400 |
| 0 | 8 | 02.10.2000 | Ja | keine | Nein | 345 | 11000 |
| 5 | 4 | 13.10.2000 | Nein | leicht | Nein | 390 | 7100 |
| 7 | 9 | 30.09.2000 | Ja | leicht | Ja | 1700 | 20800 |
| 3 | 9 | 30.10.2000 | Ja | stark | Ja | 70 | 12700 |
| 3 | 5 | 10.10.2000 | Ja | stark | Nein | 230 | 11700 |
| 10 | 7 | 28.09.2000 | Nein | stark | Ja | 32 | 7800 |
| 5 | 6 | 18.10.2000 | Ja | stark | Ja | 66 | 12000 |
| 4 | 10 | 16.11.2000 | Ja | stark | Ja | 50 | 9100 |

8. Lebenslauf

Geboren am 27.3.1954 in Bad Tölz

| | |
|------------------|---|
| 1961-1965 | Grundschule am Bayernplatz in München |
| 1965-1972 | Gisela-Gymnasium in München |
| 1973-1974 | Heinrich-Hertz-Gymnasium in Bonn-Bad-Godesberg |
| April 1974 | Abitur am Heinrich-Hertz-Gymnasium in Bonn-Bad-Godesberg |
| 1974 - 1981 | Medizinstudium an der Universität Düsseldorf |
| August 1976 | Ärztliche Vorprüfung |
| März 1978 | Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung |
| März 1980 | Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung |
| April 1981 | Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung |
| 1981 - 1982 | Assistenzarzt am Institut für Anästhesiologie der Universität Düsseldorf |
| 1983 - 1986 | Assistenzarzt an der Kinderklinik des St.Johannes Hospital Duisburg |
| 1986 - 1988 | Assistenzarzt am Zentrum für Kinder-und Jugendmedizin des Klinikum Krefeld |
| Februar 1988 | Anerkennung als Arzt für Kinderheilkunde |
| Seit August 1988 | Oberarzt am Zentrum für Kinder-und Jugendmedizin des Klinikum Krefeld |
| Januar 1997 | Anerkennung des Schwerpunktes Neonatologie |

9. Danksagung

Sehr herzlich bedanken möchte ich mich bei Herrn Professor Dr.med. C.H.Wirsing von König für seine präzise Hilfe und aufmunternde Unterstützung bei meiner Arbeit. Frau Dr.med. M.Riffelmann danke ich besonders für ihren Rat und ihre Hilfe in allen virologisch-diagnostischen Aspekten meiner Untersuchung. Und schließlich möchte ich mich bei Herrn Professor Dr.med. H.Schulte-Wissermann bedanken, der mir an seiner Klinik seit vielen Jahren sein Vertrauen schenkt und mich bei meinen Bemühungen zu dieser späten Promotion mit zahlreichen Anregungen unterstützt hat.

Ausbruch von ECHO-Virus-Meningitis bei Kindern

Eine klinische, virologische und epidemiologische Untersuchung
Daruk Marsan

Hintergrund:

ECHO-Viren führen meist zu unspezifischen fieberhaften Infekten im Kindesalter. Sie sind aber auch einer der häufigsten Erreger aseptischer Meningitiden. In Krefeld und seiner Umgebung am linken Niederrhein kam es in den Herbstmonaten des Jahres 2000 zu einem regionalen Ausbruch von ECHO-Virus-Meningitisfällen bei Kindern. Die vorliegende Arbeit erfasst 51 Kinder, die in im Rahmen dieses Ausbruchs im Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin des Klinikum Krefeld behandelt wurden.

Methoden:

Die klinisch-retrospektive Untersuchung umfasst drei Schwerpunkte: die klinischen Aspekte der ECHO-Virus-Meningitis im Kindesalter, die virologische Diagnostik und hierbei insbesondere die Möglichkeiten der PCR-Technik, sowie die epidemiologischen Daten und Gesetzmäßigkeiten eines regionalen Ausbruchs von Echovirus-Meningitiden.

Die Laboruntersuchungen erfolgten im Institut für Hygiene und Laboratoriumsmedizin sowie im Labor des Zentrums für Kinder- und Jugendmedizin des Klinikum Krefeld. Für den Nachweis von Enterovirusgenom in den Liquorproben wurde eine reverse transcriptase-nested Polymerase Kettenreaktion (rt-nPCR) verwendet. Die Virusisolierung in der Zellkultur und die Serotypisierung im Neutralisationstest wurde im Referenzlabor für Poliomyelitis und Enteroviren am Robert-Koch-Institut in Berlin durchgeführt. Alle Meldungen von Virusmeningitisfällen im Zeitraum zwischen 1. September 2000 und 31. Dezember 2000 an das Gesundheitsamt der Stadt Krefeld sowie der Gesundheitsämter aller Nachbarregionen wurden erfasst.

Ergebnisse:

Die Altersverteilung der Meningitisfälle zeigt ein Maximum in den Altersgruppen zwischen drei und sieben Jahren. Fieber, starke Kopfschmerzen, Erbrechen und Meningismus waren die häufigsten Symptome. Es wurden Meningitisfälle ohne Fieber und ohne Nackensteifigkeit, Liquorproben ohne Pleozytose, aber auch hohe Zellzahlen bis 1700/µl beobachtet. Durch eine rt-nPCR konnte in allen Liquorproben Enterovirusgenom nachgewiesen und im Anschluß ECHO-Virus Typ 30 isoliert werden. Bei Entlassung zeigte kein Kind neurologische Residuen. Ein Säugling entwickelte Monate nach der akuten Erkrankung ein Krampfleiden mit fokalen Läsionen im Gehirn.

Der Ausbruch von ECHO-Virus-Meningitiden war zeitlich und regional begrenzt. Es kam überwiegend zu isolierten Krankheitsfällen, ohne Clusterbildung und ohne erkennbare Infektionsketten.

Schlussfolgerung:

Bei der systematischen Untersuchung einer Häufung von ECHO-Virus-Meningitiden können, wie hier gezeigt, virologische und epidemiologische Prinzipien für das Verständnis der Gesetzmäßigkeiten eines regionalen Ausbruchs genutzt und klinisch relevante Erkenntnisse gewonnen werden.

Die isolierten Meningitisfälle entstehen offenbar auf der Basis einer größeren Infektionswelle von ECHO-Virusinfektionen, welche auf Grund ihres asymptomatischen oder unspezifischen Verlaufs nicht diagnostiziert werden. Die hier aufgezeigte regionale Begrenzung eines ECHO-Virus-Ausbruchs ist bemerkenswert. Vermutlich ist sie in regional unterschiedlichen Immunisierungsgraden der besonders empfänglichen Population der Klein- und Schulkinder begründet.

Die beschriebene PCR-Technik ermöglichte die schnelle Diagnosesicherung einer Virusmeningitis, führte zu einer Reduzierung des Antibiotikaeinsatzes, und kann zu einer Verkürzung der stationären Liegedauer und zu Kostenreduktion führen.