

Aus der Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Neonatologie und
Kinderkardiologie

der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor/Leiter: Univ.-Prof. Dr. med. Ertan Mayatepek

Epidemiologische Untersuchung von Infektionen des unteren
Respirationstraktes bei Kindern – Korrelation von quantitativem
Erregernachweis mittels Multiplex RT-PCR im nasopharyngealen
Aspirat mit klinischem Bild und therapeutischem Verlauf

Dissertation

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

vorgelegt von

Rhea Alena Willems

2015

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

gez.:

Univ.-Prof. Dr.med. Joachim Windolf

Dekan

Erstgutachter: Prof. Dr. Schroten

Zweitgutachter: Univ.-Prof. Dr. Drexler

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Franz A., Willems R., Bonzel L., Adams O., Schrotten H., Tenenbaum T., *Untersuchung einer Korrelation zwischen klinischen Charakteristika einer stationär behandelten obstruktiven Bronchitis oder Pneumonie bei Kindern und dem nachgewiesenen Virustyp und Viruslast.* Monatsschr Kinderheilkd. 2009 Mai; 157:493–514

Franz A., Adams O., Willems R., Bonzel L., Neuhausen N., Schweitzer-Krantz S., Rugeberg J., Willers R., Henrich B., Schrotten H., Tenenbaum T. *Correlation of viral load of respiratory pathogens and co-infections with disease severity in children hospitalized for lower respiratory tract infection.* J Clin Virol. 2010 Aug; 48(4): 239-245

Tenenbaum T., Franz A., Neuhausen N., Willems R., Brade .J, Schweitzer-Krantz S., Adams O., Schrotten H., Henrich B. *Clinical characteristics of children with lower respiratory tract infections are dependent on the carriage of specific pathogens in the nasopharynx.* Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012 Aug; 31(11): 3173-82.

Zusammenfassung

Aufgrund ihrer hohen Prävalenz haben Infektionen der unteren Atemwege [lower respiratory tract infections (LRIs)] im Kindesalter eine große klinische und ökonomische Relevanz. Die ätiologische mikrobielle Zuordnung ist jedoch häufig schwierig. Dies gilt vor allem für die Differenzierung zwischen bakterieller und viraler Genese, welche insbesondere in Zeiten zunehmender Antibiotikaresistenzen an Bedeutung gewinnt.

Die Technik der PCR birgt aufgrund der niedrigen Materialanforderungen und schnellen Ergebnisse ein großes Potential die ätiologische Zuordnung von Atemwegsinfektionen in Zukunft zu optimieren. Neben rein deskriptiven Daten zur Epidemiologie von LRI rückt dank der Etablierung quantitativer Multiplex- PCR-Verfahren auch die Frage nach einem Zusammenhang zwischen Viruslast und Krankheitsverlauf in den Fokus der klinischen Forschung.

In dieser großen prospektiven klinischen Querschnittstudie wurde über zwei Jahre mittels quantitativer multiplex PCR und konventioneller Kulturen die virale und bakterielle Flora des Nasopharynx bei über 400 Patienten mit LRIs untersucht.

Ein Virusnachweis gelang in 76% der Fälle, wobei RS- (52%) und Rhinoviren (28%) gefolgt von Boca- und Adenoviren (jeweils 9 %) am häufigsten detektiert wurden. Dabei bestand keine Korrelation zwischen Viruslast und Krankheitsschwere. Für RSV fand sich jedoch eine signifikant negative Korrelation zwischen Erregerlast und laborchemischen Entzündungsparametern (CrP, Leukozytenzahl), für Adenoviren dagegen eine positive zwischen Erregerlast und CrP. In den seriellen Untersuchungen der Erregerlast beobachteten wir - mit Ausnahme von Influenza - für alle Viren einen Erregerlastabfall parallel zur Besserung der klinischen Symptomatik.

In den Nasopharynxaspiraten mit positivem Virusnachweis fanden sich in 18,9% virale Koinfektionen, d.h. der Nachweis von mehr als einem Virus. Im Falle von RSV führten Koinfektionen zu einem gehäuften Auftreten von Pneumonien.

Ein bakterieller Erreger konnte in 57,6% der Nasopharynxaspirate nachgewiesen werden. Hierbei waren die am häufigsten nachgewiesenen Bakterien *H.influenzae* (35,8%), *M.catharralis* (27,4%), *S.pneumoniae* (19,6%) und *S.aureus* (19,6%). Hinsichtlich der bakteriellen Flora fanden sich Unterschiede bei Kindern mit Pneumonien und Bronchitiden. Des Weiteren spielte der gleichzeitige Nachweis spezifischer Viren eine Rolle. *H.influenzae* wurde beispielsweise häufiger bei RSV- als bei Rhinovirus-Infektionen nachgewiesen (37% vs. 20%), *M.catharralis* trat bei viralen Koinfektionen seltener auf als bei Monoinfektionen (57,9% vs. 28,6%). Auch führte eine virale/bakterielle Koinfektion zu einer Verlängerung des Krankenhausaufenthaltes im Vergleich zu einer viralen Monoinfektion.

Zusammenfassend scheint die Entwicklung der Erregerlast für den Krankheitsverlauf eine größere prognostische Bedeutung zu haben als die absolute Erregerlast. Letztere mag eventuell aber hilfreich sein zur Differenzierung zwischen Besiedelung und Infektion. Für die Festlegung entsprechender Grenzwerte bedarf es jedoch noch Studien mit entsprechenden gesunden Kontrollgruppen.

Insgesamt ist die PCR als alleiniges diagnostisches Mittel nicht ausreichend, um die therapeutische Entscheidung in Bezug auf eine antimikrobielle Therapie mit hinreichender Sicherheit zu treffen.

Eine genauere Kenntnis viro/viraler und bakterio/viraler Interaktionen scheint jedoch das Potential zu bergen, schwerwiegende invasive Infektionen zu vermeiden.

Abkürzungsverzeichnis

ARI- *acute respiratory infection*, akute Infektion der Atemwege

BAL- Bronchoalveoläre Lavage

BSG- Blutplättchensenkungsgeschwindigkeit

CoV- Coronavirus

CrP- C-reaktives Protein

ELISA- *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*

ESPED- Erhebungseinheit für seltene pädiatrische Erkrankungen in Deutschland

EV- Enterovirus

EVK- Evangelisches Krankenhaus Düsseldorf

HAdV- humanes Adenovirus

HboV- humanes Bocavirus

HiB- *H.influenzae* Typ B

HMPV- humanes Metapneumovirus

HRV- humanes Rhinovirus

IL 6- Interleukin 6

Flu A/B- Influenza A/B

LRI- *lower respiratory infection*, Infektion der unteren Atemwege

MERS-CoV- *middle East respiratory syndrome* coronavirus

MRSA- Methycillin resistenter *S.aureus*

NAD- Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid

NPA- Nasopharyngeal aspirat

NTHI- nicht typisierbarer/unbekapselter *H.influenzae*

PCR- Polymerase Kettenreaktion

PEEP- positiver endexpiratorischer Druck

PIV- Parainfluenza

PVL- Panton-Valentine-Leukozidine

RSV- Respiratory syncytial Virus

SARS-CoV- *severe acute respiratory syndrome* coronavirus

SCID- *severe combined immunodeficiency*

UKD- Universitätsklinikum Düsseldorf

URI- *upper respiratory infection*, Infektion der oberen Atemwege

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Humanmedizinisch relevante respiratorische Viren	5
Tabelle 2: Symptomatik von Enterovirus-Infektionen in Abhängigkeit vom Subtyp.	8
Tabelle 3: Zusammensetzung der Reaktionsansätze der Multiplex-PCR	26
Tabelle 4: Referenzwerte der Leukozytenzahl	29
Tabelle 5: Vergleich von RSV A- und RSV B-Infektionen	33
Tabelle 6: Häufigkeit der in Koinfektionen involvierten Viren	37
Tabelle 7: virale Koinfektionen	38
Tabelle 8: Korrelationsquotient (k) der Erregerlast zu Liegedauer, max. Leukozytenzahl und max. CrP	39
Tabelle 9: Vergleich der Erregerlast von Mono- und Koinfektionen	43
Tabelle 10: Es besteht kein Einfluss des bakteriellen Wachstums auf die Höhe des CrPs, Vorhandensein von Fieber, antibiotische Therapie oder Pneumonie ...	47
Tabelle 11: Gegenüberstellung von RS- und Rhinovirus-Monoinfektionen	48
Tabelle 12: Gegenüberstellung von Mono- und Koinfektionen der vier häufigsten Erreger.....	49
Tabelle 13: Gegenüberstellung des Krankheitsverlaufes von Monoinfektionen (viral oder bakteriell) und viraler/bakterieller Koinfektion.....	51

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Einteilung der Atemwege	2
Abbildung 2: RSV- schematische Strukturdarstellung	6
Abbildung 3 a-c: Radiologische Bilder einer Bronchopneumonie, Lobärpneumonie und interstitiellen Pneumonie	17
Abbildung 4: Gewinnung von Nasopharyngealinspirat	25
Abbildung 5: Altersverteilung des Patientenkollektives	31
Abbildung 6: Altersstratifizierung der einzelnen Krankheitsentitäten.....	312
Abbildung 7: Nachweishäufigkeit der einzelnen Viren in 1. und 2. NPA.....	35
Abbildung 8: Saisonale Verteilung der viralen Erreger.....	36
Abbildung 9 a und b: negative Korrelation der RSV-Erregerlast zu CrP und Leukozytenzahl	40
Abbildung 10 a und b: Korrelation der Adenovirus-Erregerlast zur Höhe des CrPs und der Verwendung inhalativer Bronchodilatoren.....	41
Abbildung 11: Entwicklung der Erregerlast vom 1. zum 2. NPA.....	42
Abbildung 12: 1.NPA; Erregerverteilung aller positiver bakterieller Kulturen und aller Kulturen mit „reichlich“ bakteriellem Wachstum	44
Abbildung 13: 2.NPA; Erregerverteilung aller positiver bakterieller Kulturen und aller Kulturen mit „reichlich“ bakteriellem Wachstum	45
Abbildung 14: Nachweishäufigkeit der häufigsten bakteriellen Erreger mit „reichlichem Wachstum“ im Vergleich von viralen Mono- und Koinfektionen	46

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Bedeutung und Epidemiologie akuter Atemwegsinfektionen.....	1
1.2 Nosologische Einteilung tiefer Atemwegserkrankungen.....	2
1.3 Erregerspektrum tiefer Atemwegserkrankungen	4
1.3.1 Virale Erreger	4
1.3.2 Bakterielle Erreger	11
1.4 Diagnostik tiefer Atemwegsinfektionen.....	14
1.4.1 Anamnese.....	14
1.4.2 Klinischer Untersuchungsbefund	15
1.4.3 Laborchemische Untersuchungen	16
1.4.4 Radiologische Bildgebung.....	17
1.4.5 Direkter und indirekter Erregernachweis	18
1.5 Zielsetzung der Studie	19
2. Studiendesign und Methodik.....	21
2.1 Ethik.....	21
2.2 Klinische Parameter	21
2.2.1 Ein/Ausschlusskriterien	21
2.2.2 Nosologische Klassifikation der Atemwegsinfektionen.....	22
2.2.3 Patientenevaluation und Methoden der Datenerhebung.....	23
2.2.4 Gewinnung der respiratorischen Proben.....	24
2.3 Mikrobiologische Diagnostik	25
2.3.1 Quantitative TaqMan RT-PCR auf respiratorische Viren.....	25
2.3.2 Mikrobiologische Kultur	27
2.4 Auswertung.....	28

2.4.1 Schweregradeinteilung der Erkrankung	28
2.4.2 Statistische Verfahren	29
3. Ergebnisse	31
3.1 Epidemiologische Charakteristika.....	31
3.2 PCR-Ergebnisse	32
3.2.1 Qualitative PCR-Ergebnisse	33
3.2.2 Quantitative PCR-Ergebnisse	39
3.3 Mikrobiologische Kulturen.....	43
3.3.1 1. NPA.....	43
3.3.2 2.NPA.....	44
3.3.3 Zusammenhang zwischen den mikrobiologischen Kulturergebnissen und dem viralen Infektionsmodus	45
3.3.4 Zusammengang zwischen den mikrobiologischen Kulturergebnisses und den klinischen Charakteristika	46
3.4 Gegenüberstellung der klinischen Charakteristika verschiedener Infektionsmodi	47
3.4.1 RSV- und Rhinovirus-Monoinfektionen	47
3.4.2 Virale Mono- und Koinfektionen	48
3.4.3 Virale/bakterielle Monoinfektionen und virale/bakterielle Koinfektionen	50
4. Diskussion.....	52
4.1 Charakteristika des Patientenkollektivs	52
4.2 Qualitative Ergebnisse der PCR	52
4.2.1 Prävalenz und Bedeutung der einzelnen viralen Erreger	53
4.2.2 Koinfektionen	58
4.3 Quantitative PCR-Ergebnisse.....	60
4.3.1 Korrelation der Erregerlast zu den Parametern der Krankheitsschwere.....	60
4.3.2 Viruslast im klinischen Verlauf	61
4.3.3 Viruslast bei viralen Koinfektionen	61

4.4 Nachweis bakterieller Erreger im Nasopharynx.....	62
4.4.2 Interaktion zwischen viralen und bakteriellen Erregern.....	62
4.5 Bedeutung und Auswirkung der virologischen Diagnostik auf den klinischen Alltag.....	64
4.6 Kritische Betrachtung des Studiendesigns	64
5. Schlussfolgerungen.....	66
6. Literaturverzeichnis	68
7. Anhang.....	81

1. Einleitung

1.1 Bedeutung und Epidemiologie akuter Atemwegsinfektionen

Akute Infektionen der Atemwege (ARI) gehören zu den häufigsten Erkrankungen weltweit und führen in Entwicklungsländern die Todesursachenstatistik an. Selbst in industrialisierten Ländern, in denen kardiovaskuläre und maligne Krankheitsentitäten immer mehr an Bedeutung gewinnen, gehören ARI zu den häufigsten infektiösen Erkrankungen, die zum Tode führen [1]. Im Jahre 2010 litten weltweit etwa 19 Millionen Kinder im Alter von bis zu 5 Jahren an einer Infektion der tiefen Atemwege, hiervon verliefen etwa 1,4 Millionen Fälle letal [2]. Im Bereich der Pädiatrie finden sich bedrohliche Atemwegsinfektionen vor allem bei sozioökonomisch benachteiligten Kindern [3, 4].

Obwohl in Deutschland Todesfälle durch akute Atemwegsinfektionen bei Kindern eine Seltenheit sind, stellen sie jedoch eine nicht unwesentliche Belastung des Gesundheitssystems dar. Jede vierte Konsultation eines niedergelassenen Kinderarztes erfolgt aufgrund einer akuten Atemwegsinfektion [5] und die Inzidenz der stationären Aufnahme wegen einer Infektion der unteren Atemwege (LRI) bei unter 16-Jährigen liegt derzeit bei 625/100000 pro Jahr [6]. In den letzten Jahrzehnten ist hier noch eine weitere Zunahme zu verzeichnen, so kam es in den Jahren 1997-2002 zu einer Verdoppelung allein der durch Respiratory Syncytial Viren (RSV) bedingten Hospitalisierungen [7]. Dementsprechend hoch ist das Forschungsinteresse vor allem an Infektionen der unteren Atemwege, sowohl in Industrienationen als auch in Entwicklungsländern [1].

Ein zentrales wissenschaftliches Problem ist dabei, dass die Diagnostik der akuten Atemwegsinfektionen in Form von klinischer Symptomatik, konventioneller Labordiagnostik und radiologischer Bildgebung häufig keinen eindeutigen Rückschluss auf den ursächlichen Erreger erlaubt, so dass auch virale Infektionen häufig antimikrobiell therapiert werden. Auf diese Weise entstehen neben den gesundheitsökonomischen Belastungen auch potentiell gravierende Probleme in Bezug auf die Prävalenz von Antibiotikaresistenzen.

Aus diesem Grund ist die Entwicklung neuer diagnostischer Methoden, die eine schnelle und klare ätiologische Zuordnung im Rahmen akuter Infektionen, insbesondere der unteren Atemwege erlauben, von großer Bedeutung.

1.2 Nosologische Einteilung tiefer Atemwegserkrankungen

Als Infektionen der unteren Atemwege [lower respiratory tract infections (LRTIs)] werden alle Infektionen unterhalb der Stimmritze definiert (Abb.1). Diese stellt beim spontan atmenden Patienten die Grenze dar, bis zu der kolonialisierende Erreger der oberen Atemwege zu finden sind, und bis zu der mittels non-invasiver Techniken respiratorische Proben gewonnen werden können.

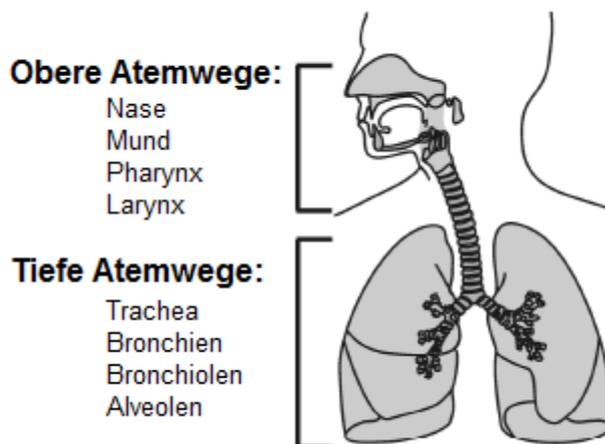


Abbildung 1: Einteilung der Atemwege. Modifiziert nach [8]

Im Wesentlichen unterscheidet man folgende LRTI: Bronchitis, obstruktive Bronchitis/Bronchiolitis, Bronchopneumonie, Interstitielle- und Lobärpneumonie, die wie folgt charakterisiert werden [6]:

Bronchitis:

Die Bronchitis ist eine Infektion der großen Atemwege, im Wesentlichen der Haupt- und Segmentbronchien. Auskultatorisch finden sich grobblasige Rasselgeräusche und es besteht in der Regel keine obstruktive Komponente. Radiologisch können peribronchiale Verdichtungen nachweisbar sein. Liegt zugleich eine Affektion der Trachea und des Larynx vor, spricht man von einer Laryngotracheobronchitis, die klassischerweise zusätzlich mit einer heiseren Stimme und inspiratorischem Stridor einhergeht.

Obstruktive Bronchitis/ Bronchiolitis:

Die obstruktive Bronchitis betrifft im Gegensatz zur einfachen Bronchitis auch die kleineren Atemwege und präsentiert sich mit klinischen Zeichen einer Obstruktion in Form eines expiratorischen Stridors. Bei einer Bronchiolitis sind auch die kleinsten Atemwege, die Bronchiolen, involviert.

Betroffen sind aufgrund der anatomischen Gegebenheiten vor allem Säuglinge und Kleinkindern unter zwei Jahren. Radiologisch finden sich häufig diffuse fleckige Verschattungen. Beiden Entitäten gemeinsam ist eine pulmonale Überblähung [9].

Da der Begriff der Bronchiolitis sehr uneinheitlich in verschiedenen Ländern bzw. Krankenhäusern verwendet wird und die Diagnose häufig eher vom Alter des Patienten oder vom Nachweis einer RSV-Infektion als von der klinischen Symptomatik abhängig gemacht wird, werden diese beiden Entitäten in der hier vorliegenden Arbeit zusammengefasst.

Bronchopneumonie/zentrale Pneumonie:

Die Bronchopneumonie ist eine akute Infektion des Lungengewebes, bei der die Entzündung herdförmig um die Bronchien lokalisiert ist.

Radiologisches Korrelat ist die perihiläre bzw. peribronchiale Zeichnungsvermehrung. Wegen der begrenzten Eindringtiefe des Stethoskops ist bei solchen zentralen pathologischen Prozessen häufig kein auffälliger Auskultationsbefund zu erheben [10].

Lobärpneumonie:

Die Lobärpneumonie ist ebenfalls eine Infektion des Lungengewebes, bei der sich das Infiltrat auf einen Lungenlappen oder ein Segment beschränkt. In der körperlichen Untersuchung lassen sich hierfür Hinweise in Form eines abgeschwächten Klopfalles, eines abgeschwächten Atemgeräusches oder feinblasiger Rasselgeräusche in dem entsprechenden Segment feststellen.

Interstitielle Pneumonie:

Hier sind nicht die Alveolen sondern die dazwischen liegenden Bindegewebsstrukturen entzündlich verändert. Die Diagnose lässt sich radiologisch stellen, das Röntgenbild zeichnet sich durch eine retikulonoduläres Verschattungsmuster aus [11].

Allen Entitäten gemein sind Husten (produktiv/unproduktiv), eine vermehrte Sekretproduktion, ein reduziertes Allgemeinbefinden und möglicherweise Fieber. Bei pädiatrischen Patienten wird zudem häufig eine reduzierte Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme beobachtet. Je nach Schweregrad der Erkrankung kann es in allen Fällen auch zu einer unzureichenden Oxygenierung, in der Regel in Verbindung mit einer Tachydyspnoe kommen.

Zwischen den beschriebenen Krankheitsbildern bestehen Überlappungsmöglichkeiten und somit das Risiko von Fehlklassifikationen, insbesondere bei jüngeren Patienten.

1.3 Erregerspektrum tiefer Atemwegserkrankungen

Als Verursacher tiefer Atemwegserkrankungen kommen diverse verschiedene Mikroorganismen in Frage. Die Mehrzahl der Erkrankungen ist mit einem prozentualen Anteil von 60-70% viral bedingt [12, 13]. Dies trifft insbesondere bei Kindern unter 2 Jahren zu, wohingegen bei älteren Kindern im Verhältnis häufiger bakterielle Infektionen zu finden sind. Die häufigsten bakteriellen Erreger tiefer Atemwegserkrankungen sind *Streptokokkus pneumoniae* (*S.pneumoniae*), *Haemophilus influenzae* (*H.influenzae*), *Staphylokokkus aureus* (*S.aureus*) und *Mykoplasma pneumoniae* (*M.pneumoniae*) [7]. Bei den drei zuerst genannten Erregern handelt es sich um Keime, die potentiell Teil der normalen Standortflora des Nasopharynx sein können, so dass deren Nachweis in den oberen Atemwegen schwer zu interpretieren ist [14]. Dahingegen gilt der Nachweis nicht kolonisierender Erreger, wie *Mykoplasma pneumoniae*, in Kombination mit der typischen respiratorischen Symptomatik als beweisend für eine akute Infektion [15]. Bei Detektion respiratorischer Viren in den oberen Atemwegen kann bei einigen (z.B. RSV, Influenza) von einem ätiologischen Zusammenhang zur vorliegenden Symptomatik ausgegangen werden, bei anderen (z.B. Rhinoviren, Bocavirus) ist dieser Rückschluss wegen einer hohen Nachweisquote auch bei asymptomatischen Patienten nicht unmittelbar möglich [16, 17]. Die bei Kindern in Deutschland am häufigsten nachgewiesenen respiratorischen Viren sind Influenza Virus Typ A und B, Parainfluenza Typ 1-3 (PIV), Respiratory Syncytial Virus (RSV), Humane Metapneumoviren (HMPV), Rhinoviren (HRV), Enteroviren (EV), Coronaviren (CoV), Adenoviren (HAdV) sowie Bocaviren (HBoV) [6, 18].

1.3.1 Virale Erreger

Allen respiratorischen Viren ist gemein, dass sie die Epithelien der Atemwege infizieren und abhängig vom zytopathogenen Effekt des einzelnen Virus und der resultierenden Immunantwort des Wirts unterschiedlich schwere Erkrankungen verursachen.

Die folgende Tabelle stellt die humanpathogen relevanten respiratorischen Viren dar.

Tabelle 1: Humanmedizinisch relevante respiratorische Viren [19]

Virusfamilie	Unterfamilie	Für respiratorische Infektionen relevante Subtypen/Serovare
Picornaviren	<u>Enteroviren</u>	A-D, <ul style="list-style-type: none"> • Serovare 68 und 69 (Enteroviren) • 103 Serovare (Rhinoviren)
Coronaviren	<u>Coronaviren</u>	229E OC 43 NL 63 HKU-1
Paramyxoviren	<u>Respirovirus:</u> Parainfluenzavirus	1, 3
	<u>Rubulavirus:</u> Parainfluenzavirus	2, 4
	<u>Pneumovirus:</u> Respiratory Syncytial Virus	A, B
	<u>Metapneumovirus:</u> Humanes Metapneumovirus	A, B
Orthomyxoviridae	<u>Influenzavirus</u>	A, B, C
Adenoviridae	<u>Adenovirus</u>	A-F, Serovare 1-51
Parvoviridae	<u>Humanes Bocavirus</u>	

1.3.1.1 Respiratory Syncytial Virus (RSV)

Das Respiratory Syncytial Virus (RSV) wurde Ende der 1950er Jahre erstmalig isoliert und durch Robert M. Chanock beschrieben [20]. Es ist ein weltweit verbreiteter Erreger und bedeutendster Verursacher respiratorischer Infekte im Kindheitsalter [21].

Das RS-Virus gehört zur Familie der Paramyxoviridae (Subfamilie Pneumovirinae, Genus Pneumovirus). Es ist ein umhülltes Virus mit einzelsträngiger RNA (ss(-) RNA), die 10 Gene kodiert, die 11 verschiedene Proteine exprimieren (s. Abb. 2). Mit RSV A und B existieren derzeit zwei verschiedene Virus Stämme, die anhand der differierenden Antigenstruktur des G –Proteins unterschieden werden können [23]. Beide Subtypen können phylogenetisch noch in 11 (RSV A) bzw. 17 (RSV B) Genotypen unterschieden werden, diese Differenzierung besitzt jedoch wahrscheinlich keine klinische Relevanz [24].

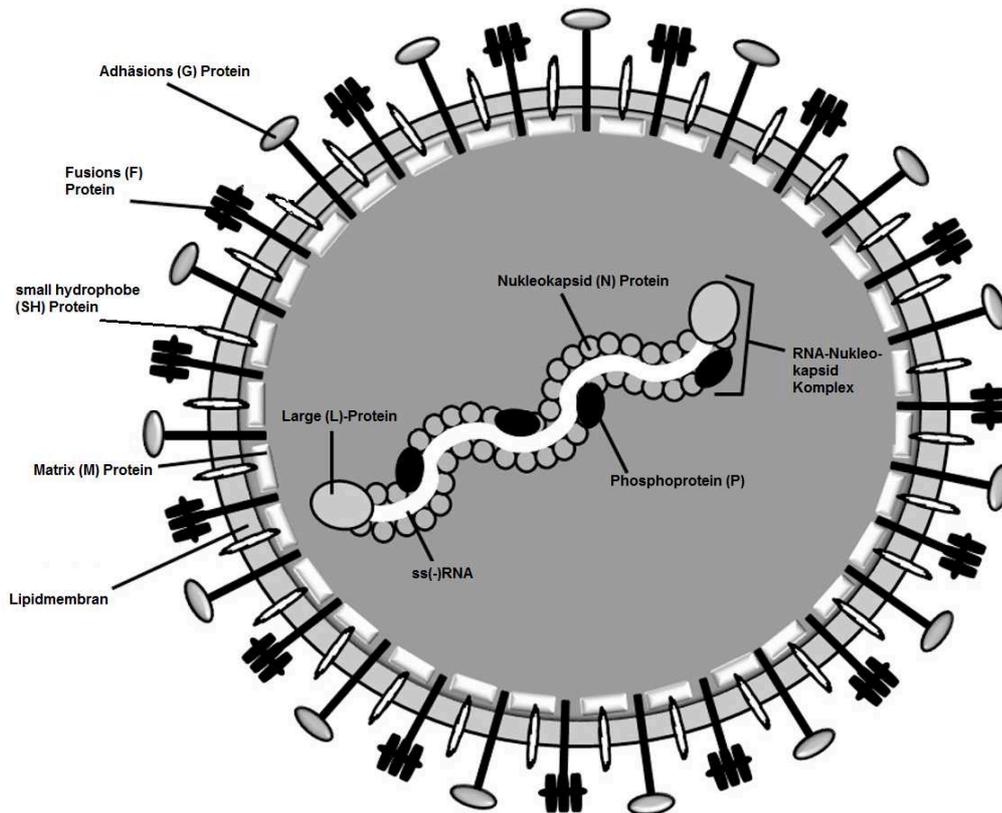


Abbildung 2: RSV- schematische Strukturdarstellung; modifiziert nach [22]

RSV ist als Tröpfcheninfektion hoch kontagiös und verursacht jährliche Epidemien in den Monaten November bis April. Dadurch bedingt kommt es in der Regel bei allen Kindern bis zum zweiten Lebensjahr zu einer Infektion und Serokonversion [25].

In 33% der Infektionen sind neben den oberen auch die unteren Atemwege betroffen [26], hierdurch kommt die Mehrzahl der RSV assoziierten Hospitalisierungen bei Kindern zustande [7].

1.3.1.2 Rhinovirus (HRV)

Rhinoviren gehören zur Familie der Picornaviridae und sind kleine, nicht umhüllte Viren mit einem einzelsträngigen RNA-Genom (ss(+))RNA). Es sind über 100 Serotypen mit genetischer Variabilität bekannt. Sie werden für 50-80% der Infektionen der oberen Atemwege und gewöhnliche grippale Infekte verantwortlich gemacht [27].

Die Rolle der Rhinoviren auch als Erreger tiefer Atemwegserkrankungen wird in den letzten Jahren zunehmend deutlich [13, 28]. Einer spanischen Studie von

Calvo et al. zufolge sind Rhinoviren nach RSV die zweithäufigste Ursache für die stationäre Behandlung von Kindern unter zwei Jahren [27]. Die Häufigkeit von Rhinovirus-Nachweisen auch in der gesunden Allgemeinbevölkerung macht jedoch die Beurteilung der Kausalität in Bezug auf LRI schwierig [29].

1.3.1.3 Influenza

Influenzaviren gehören zur Familie der Orthomyxoviridae. An humanpathogen relevanten Organismen werden die Subtypen A und B entsprechend ihrer Nukleokapsid-Proteine differenziert. Influenzaviren sind umhüllte Viren und verfügen über ein segmentiertes ss(-)RNA-Genom. Durch das segmentierte Genom ist ein *Reassortment* einzelner RNA-Fragmente möglich, was zu einer Neukombination der Oberflächenglykoproteine Hämagglutinin(H) und der Neuraminidase(N) führt (*Antigenshift*). Insgesamt sind derzeit 16 verschiedene Hämagglutinine und 9 verschiedene Neuraminidasen bekannt. Auf diese Weise entstehen Subtypen, die sich erheblich von den zuvor zirkulierenden Varianten unterscheiden und so in regelmäßigen Abständen zu Pandemien führen.

Bekannte Beispiele hierfür sind die „Spanische Grippe“ 1918—1920 mit weltweit 25 Millionen Todesopfern oder die H1N1 Pandemie 2009/2010, die in etwa 20.000 Fällen letal verlief [30].

Die veränderte Antigenität durch eine hohe Punktmutationsrate innerhalb der Aminosäuresequenz des (H) und (N) Antigens wird als *Antigendrift* bezeichnet und führt zu jährlichen regionsgebundenen Epidemien mit einer Infektion von ungefähr 5-20% der Bevölkerung [31].

Etwa 4-8% der Influenza-Infektionen bei ansonsten gesunden Patienten im Alter von 5-50 Jahren manifestieren sich als Pneumonie [32].

1.3.1.4 Adenovirus (HAdV)

Adenoviren sind doppelsträngige, nicht behüllte DNA-Viren, die zur Familie der Adenoviridae gehören. Sie werden in die Subgenera A-F unterteilt, von denen B, C, E und F respiratorische und enterale Infektionen bei Kindern verursachen [32]. Insgesamt sind 51 Serotypen bekannt, welche variable Krankheitsbilder hervorrufen.

Adenoviren werden für etwa 5-10% der Atemwegserkrankungen bei Kindern verantwortlich gemacht [33]. Der Verlauf ist häufig milde und selbstlimitierend,

hinterlässt aber nur eine serotypische Immunität, so dass wegen der Typenvielfalt ähnlich den Rhinoviren wiederholte Infektionen möglich sind. Neben Atemwegsinfektionen gehören Adenoviren mit Rota- und Noroviren zu den häufigsten Erregern viraler Gastroenteritiden [34].

Laborchemisch verursachen Adenoviren im Gegensatz zu anderen Virusinfektionen häufig erhöhte Entzündungsparameter. So liegt etwa bei jeder fünften Adenovirus-Infektion das C-reaktive Protein (CrP) über 7 mg/dl [35]. Daher werden insbesondere Adenovirus-Infektionen häufig unnötig antimikrobiell behandelt, was durch eine frühzeitige und exakte Erregerdiagnostik vermieden werden könnte.

1.3.1.5. Enteroviren

Enteroviren sind kleine, unbehüllte Viren mit einem linearen RNA-Genom (ss(+)RNA). Wie die Rhinoviren gehören sie zur Familie der Picornaviridae, Gattung Enterovirus. Entsprechend der aktuellen Taxonomie werden Enteroviren derzeit in vier Spezies unterteilt (Enterovirus A-D), welche insgesamt 89 Serotypen umfassen. Die verschiedenen Serotypen sind für unterschiedliche klinische Krankheitsbilder verantwortlich (s. Tabelle 2) [36].

Tabelle 2: Symptomatik von Enterovirus-Infektionen in Abhängigkeit vom Subtyp [37]

Klinische Symptome	Enterovirustyp
Bronchiolitis und Pneumonie	68
Akute hämorrhagische Konjunktivitis	70
Aseptische Meningitis	71
Guillan-Barré-Syndrom	70,71, 85-89, 90, 91, 96, 97, 100
Meningoenzephalitis	70,71
Hand-, Fuß- und Mundkrankheit	71

Bei Kindern sind Atemwegsinfekte die zweithäufigste Manifestation einer Enterovirus-Infektion. Für 9-25% der wegen einer Bronchiolitis/obstruktiven Bronchitis stationär behandelten Kinder werden Enteroviren verantwortlich gemacht [38]. In erster Linie sind hierfür der Virustyp 68 (Pneumonien und

Bronchiolitiden) und der Virustyp 71 (influenzaähnliche Erkrankungen) ursächlich (s.Tabelle 2).

1.3.1.6 Parainfluenzaviren (PIV)

Parainfluenzaviren (PIV) gehören zur Familie der Paramyxoviridae. Es handelt sich um umhüllte Viren mit einzelsträngigen RNA-Genom(ss(-)RNA). Die Parainfluenzaviren Typ 1 und 3 gehören innerhalb der Familie der Paramyxoviridae der Gattung der Respiroviren an, während Parainfluenza Typ 2 und 4 zu den Rubulaviren gehören.

Parainfluenzaviren infizieren nahezu ausschließlich die Atemwege und können mit jeder Form von Atemwegsinfektionen assoziiert sein. Infektionen sind häufig, bis zum dritten Lebensjahr ist bei nahezu jedem Patienten die Primärinfektion erfolgt. Etwa jede fünfte Infektion verläuft jedoch asymptomatisch. Parainfluenza Typ 1 ist der klassische Erreger der Laryngotracheobronchitis. An tiefen Atemwegsinfektionen verursachen Parainfluenzaviren Bronchiolitiden, Bronchitiden und Pneumonien [39]. Bei Kindern unter 6 Monaten ist PIV Typ 3 nach RSV der zweithäufigste Erreger einer Bronchiolitis. In 9-30% der wegen eines Atemweginfektes hospitalisierten Kinder erfolgt der Nachweis von Parainfluenzaviren, meist von Subtyp 3 [40].

1.3.1.7 Bocaviren

Das Bocavirus ist ein erstmals im Jahre 2005 durch eine schwedische Arbeitsgruppe beschriebenes Virus [41]. Es gehört zur Familie der Parvoviridae und ist damit ein nacktes Virus mit linearer, einzelsträngiger DNA (ssDNA). Bocaviren wurden als vierthäufigster Erreger bei Kindern mit obstruktiver Atemwegserkrankung nachgewiesen, in 76% der Fälle jedoch als Koinfektion mit anderen Viren [41, 42]. Die Nachweisquote bei respiratorischen Infekten zeigt je nach Studie deutliche Variationen und liegt bei 2-19% [17].

Die Tatsache, dass auch in 43% der nasopharyngealen Aspirate (NPA) von asymptomatischen Patienten mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) Bocaviren nachgewiesen werden konnten, erschwert die Interpretation der Befunde [43]. Ein Grund für diese hohe Nachweisrate mag darin liegen, dass Parvoviren allgemein nach einer Infektion lange persistieren. Die Knüpfung eines pathogenetischen

Zusammenhangs zwischen Bocavirusnachweis und bestehender Symptomatik wird daher aktuell noch kritisch diskutiert [44, 45].

1.3.1.8. Humanes Metapneumovirus (HMPV)

Das Humane Metapneumovirus wurde 2001 erstmals in den Niederlanden identifiziert [46]. HMPV gehört wie das RS-Virus zur Familie der Paramyxoviridae, Gattung Pneumoviren und ist ein behülltes RNA Virus mit einzelsträngigen Genom (ss(-)RNA). HMPV gliedert sich in die Stämme HMPV A und B und kann noch jeweils in die beiden Subtypen A1 und A2 bzw. B1 und B2 unterteilt werden. Das Virus findet sich weltweit mit einer Inzidenz, die zwischen 1,5% und 25% variiert [47]. Das Auftreten der Infektionen unterliegt einem saisonalen Rhythmus, der sich mit dem der RSV-Infektionen überschneidet [48].

Die Symptomatik einer HMPV-Infektion ist klinisch von einer RSV Infektion nicht zu unterscheiden, der Verlauf ist in der Regel jedoch weniger schwerwiegend. Asymptomatische Infektionen sind jedoch untypisch [49]. Einigen Studien zufolge ist HMPV nach RSV der zweithäufigste Erreger von Bronchiolitiden [49]. Es wird geschätzt, dass HMPV bis zu 17% der LRI im Kindesalter verursacht [50].

1.3.1.9 Coronaviren (CoV)

Coronaviren gehören zur Familie der Coronaviridae, sind behüllt und verfügen über eine einzelsträngige RNA (ss(+))RNA). Es bestehen sechs verschiedene humanpathogene serologische Gruppen. Coronavirus OC 43 und 229 E sind seit den 60er Jahren des 20. Jahrhunderts bekannt und wurden vielfach als Verursacher harmloser respiratorischer Infekte beschrieben [51]. Das vor kurzem identifizierte *Severe Acute Respiratory Syndrome*-Coronavirus (SARS-CoV) verursachte 2000-2003 eine Pandemie und führte dabei zu Pneumonien mit einer Mortalität von bis zu 50%. Das SARS-CoV zirkuliert aktuell nicht mehr, die Pandemie führte allerdings zu neuerlichem Interesse an der Erforschung der Coronaviren, so dass die Subtypen Coronavirus NL 63 [52] und HKU 1 im weiteren Verlauf identifiziert wurden [53]. Ersterer fand sich in einer Studie bei 43% der Patienten mit Laryngotracheobronchitis [54].

Die HKU 1-Nachweisrate ist mit 0,3-1% bei respiratorischen Infekten gering, die Relevanz dieses Subtypen bleibt daher noch unklar [55].

10 Jahre nach der SARS-Pandemie wurde im Jahre 2012 mit dem *Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus* (MERS-CoV) erneut eine Subspezies beschrieben, deren Infektion häufig mit einem fatalen Verlauf assoziiert ist. Von den aktuell bestätigten 81 Infektionen (Stand Juli 2013) verliefen 45 letal [56, 57]. Unklar ist jedoch, ob es sich hier nur um die Spitze des Eisberges handelt und es bedeutend mehr Infektionen mit mildem oder asymptomatischem Verlauf gibt. Ebenso besteht aktuell keine genaue Kenntnis über den Übertragungsweg oder ein mögliches tierisches Reservoir [58]. Der weitere epidemiologische und klinische Verlauf der MERS-CoV-Infektionen bleibt abzuwarten.

1.3.2 Bakterielle Erreger

Bakterielle Erreger haben unter den Entitäten der tiefen Atemwegserkrankungen die größte Relevanz als Verursacher von Pneumonien. Hier erfolgt der Nachweis eines Bakteriums als auslösendes Agens in 40-50% der Fälle [13, 14, 59, 60]. Die häufigsten bakteriellen Erreger ambulant erworbener Pneumonien sind *Streptokokkus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* und *Moraxella catharralis* mit 50%, 38% bzw. 28%. Häufig werden zeitgleich virale Erreger nachgewiesen [13, 59]. Auch bei obstruktiven Bronchitiden/Bronchiolitiden, bei denen primär von einer viralen Genese ausgegangen wird, konnte in nahezu 20% der Fälle eine Serokonversion in Bezug auf ein Bakterium festgestellt werden. Die hier am häufigsten identifizierten Erreger sind *S.pneumoniae* (8%), *M.pneumoniae* (5%), *C.pneumoniae* (3%), *H.influenzae* (2%) und *M.catharralis* (1%) [61]. Die Ätiologie eines tiefen Atemwegsinfektes einem bakteriellen Erreger zuzuordnen ist auf der Grundlage eines kulturellen Nachweises aus nicht invasiv gewonnenen Proben insgesamt schwierig. Dies liegt daran, dass nahezu alle oben genannten Erreger zu einem bestimmten Prozentsatz den oberen Nasenrachenraum gesunder Menschen kolonialisieren [62]. Es bestehen keine signifikanten Unterschiede in ihrer kulturellen Nachweishäufigkeit aus den oberen Atemwegen zwischen Kindern mit LRI und gesunden Kindern [14].

1.3.2.1 *Streptokokkus pneumoniae* (Pneumokokken, *S.pneumoniae*)

Pneumokokken sind grampositive, bekapselte Diplokokken. Anhand der sie umgebenden Polysaccharidkapsel können über 90 verschiedene Serotypen

identifiziert werden. 3/4 der invasiven Pneumokokken-Infektionen können jedoch auf nur 10 verschiedene Serotypen zurückgeführt werden [63].

Neben Infektionen der oberen Atemwege (Sinusitiden, Otitiden) verursachen Pneumokokken schwerwiegende Pneumonien, Meningitiden und Bakteriämien mit unklarem Fokus. *S.pneumoniae* ist mit 13,8 Millionen Fällen jährlich weltweit der häufigste Verursacher bakterieller Pneumonien [64].

In Deutschland lag basierend auf einer Erfassung der „Erhebungseinheit für seltene pädiatrische Erkrankungen in Deutschland“ (ESPED) die Zahl invasiver Pneumokokken-Infektionen in den Jahren 1997 bis 1999 bei etwa 1000 Fällen pro Jahr. Nach Einführung der Pneumokokken-Indikationsimpfung mit dem 7-valenten Konjugatimpfstoff im Jahre 2001, welche 2006 zu einer generellen Impfpflichtung erweitert wurde, ist die Inzidenz invasiver Pneumokokken Erkrankungen um 50% zurückgegangen [65].

Problematisch ist die Zunahme penicillinresistenter Pneumokokkenstämme in Europa und die Entstehung von Makrolidresistenzen. Hierbei sind in Deutschland die Penicillinresistenzen mit 5,5 % und die Makrolidresistenzen mit 16,2 % im europaweiten Vergleich noch relativ niedrig [66, 67]. Diese Entwicklung unterstreicht jedoch die Notwendigkeit eines möglichst rationalen und gezielten Einsatzes antimikrobieller Wirkstoffe.

1.3.2.2 *Moraxella catharralis* (*M.catharralis*)

M.catharralis sind gramnegative, unbekapselte Diplokokken. Es werden die Serotypen A-C anhand des Lipooligosaccharids unterschieden. *M.catharralis* kann nahezu jede Art oberer und unterer Atemwegsinfektionen bedingen [68]. Als Verursacher von 10-20% der Otitiden im Kindesalter handelt es sich nach *H.influenzae* und *S.pneumoniae* um den dritthäufigsten Erreger dieses Krankheitsbildes. Gleichzeitig liegt bei Kindern in bis zu 75% der Fälle eine Kolonialisierung des Nasenrachenraums mit *M.catharralis* vor. Bis zum Erwachsenenalter nimmt diese auf 1-5% ab [69].

Auch hier finden sich vergleichbar zu den *Pneumokokken* zunehmend Resistenzentwicklungen. Die Rate an Betalactamase bildenden *Moraxellen* liegt aktuell bei 95% [70], wobei die Resistenzlage bezüglich anderer Antibiotika derzeit noch relativ stabil ist [68].

1.3.2.3 *Haemophilus influenzae* (*H.influenzae*)

Haemophilus influenzae ist ein kokkoides, gramnegatives, sporenlloses Stäbchen. Es existieren bekapselte und unbekapselte Stämme. Anhand des Aufbaus der Polysaccharidkapsel werden 6 Serotypen unterschieden (a-f), hiervon verursacht vor allem *H.influenzae Typ B (HiB)* schwerwiegende invasive Infektionen. Durch die Einführung der generellen *HiB*-Schutzimpfung ist deren Inzidenz dramatisch gesunken [71]. Unbekapselte und damit nicht typisierbare *H.influenzae* Stämme (*NTHI*) galten vor Einführung der *HiB*-Impfung gemeinhin als Bestandteil der Standortflora des Nasenrachenraums und als Verursacher lokaler Infektionen, vor allem von Otitiden und Sinusitiden. In Ländern mit *HiB*-Impfprogrammen gewinnen sie nun an Aufmerksamkeit wegen ihrer zunehmenden Bedeutung auch als Erreger invasiver Infektionen [72]. Ihre Rolle in der Pathogenese tiefer Atemwegsinfektionen ist nach aktuellem Kenntnisstand noch unklar [73]. Etwa 20-35% der *H.influenzae* Stämme sind Betalactamase-Bildner und damit Ampicillin resistent [74].

1.3.2.4 *Staphylokokkus aureus* (*S.aureus*)

Staphylokokken sind nicht bewegliche, grampositive Kokken und kolonialisieren in 25-30% die Haut und die Atemwege gesunder Menschen, in erster Linie das *Vestibulum nasi*. Sie verursachen klassischerweise Haut- und Weichteilinfektionen. Hiervon ausgehend kann es zu disseminierten Organabszessen, bakteriellen Arthritiden oder Osteomyelitiden kommen. Als Erreger von Infektionen der oberen Atemwege hat *S.aureus* nur eine untergeordnete Bedeutung [75-77]. Pneumonien durch *S.aureus* treten vornehmlich im Säuglingsalter auf, wobei in den letzten 5 Jahren zunehmend Fälle Panton-Valentine-Leukozidin (PVL) bildende Stämme als Auslöser schwerster hämorrhagisch-nekrotisierender Pneumonien aufgetreten sind [78].

Staphylokokken-Stämme sind mit zunehmender Tendenz Penicillinase-Bildner und daher zu 30-50% Penicillin resistent. Gerade als nosokomiale Erreger stellen mehrfach resistente Stämme, die gegen Methicillin (MRSA), aber auch gegen nahezu alle anderen Betalaktam-Antibiotika resistent sind, ein Problem dar. Diese finden sich in Südeuropa mit einer Häufigkeit von ca. 50%. In Deutschland liegt die Rate insgesamt bei 18-20% [79]. Nach ESPED-Erhebung aus dem Jahre 2010 lag

die MRSA-Rate bei Kindern mit invasiven *S.aureus* Erkrankungen mit 5% jedoch noch deutlich niedriger [80].

1.3.2.5 *Mykoplasma pneumoniae* (*M.pneumoniae*)

Mykoplasma pneumoniae ist ein Bakterium der Familie der Mycoplasmataceae. *Mykoplasmen* sind die kleinsten, sich selbstständig replizierenden Organismen. In etwa 50% der Fälle führt eine *M pneumoniae* Infektion zu einem LRI. Vor allem Kinder im Alter von fünf bis fünfzehn Jahren sind bei einer Infektion gefährdet, eine Bronchopneumonie zu entwickeln [81]. Es wird geschätzt, dass 15-20% der ambulant erworbenen Pneumonien durch *Mykoplasmen* verursacht werden [82].

1.3.2.6 *Chlamydia pneumoniae* (*C.pneumoniae*)

Chlamydia pneumoniae ist ein gramnegatives, obligat intrazelluläres Bakterium, welches zur Familie der Chlamydiaceae gehört. Eine Infektion mit *C.pneumoniae* tritt vermehrt zwischen dem fünften und vierzehnten Lebensjahr auf. Der Verlauf ist in der Regel mild [83]. Auf der Basis mehrerer Studien wird vermutet, dass etwa 10% der ambulant erworbenen Pneumonien und ca. 5% der Bronchitiden durch *Chlamydia pneumoniae* verursacht werden [84].

1.4 Diagnostik tiefer Atemwegsinfektionen

Wie viele andere Erkrankungen basiert die Diagnostik tiefer Atemwegsinfektionen auf Anamnese, klinischer Untersuchung, laborchemischer Diagnostik, radiologischer Bildgebung, Infektionsserologie und dem direkten Erregernachweis aus Körperflüssigkeiten [85].

1.4.1 Anamnese

Die Patienten klagen in der Regel über Husten in Verbindung mit einem allgemeinen Krankheitsgefühl, ggf. auch grippalen Beschwerden wie Myalgien, Arthralgien und Cephalgien. Häufig bestehen auch Fieber oder subfebrile Temperaturen, seltener eine Hypothermie. Da oft gleichzeitig ein Infekt der oberen Atemwege vorliegt, berichten die meisten Patienten zusätzlich über Schnupfen, Ohren- und Halsschmerzen. Bei pleuraler Beteiligung können auch

Thoraxschmerzen vorliegen. Krankheitsprozesse in den basalen Lungenanteilen führen zu Bauchschmerzen und Übelkeit. Bei schweren Verlaufsformen klagen die Patienten über Atemnot, im Säuglingsalter ist das Auftreten von Apnoen möglich [86].

1.4.2 Klinischer Untersuchungsbefund

Die klinische Untersuchung gliedert sich in Inspektion, Auskultation und Perkussion.

Inspektion:

Bei der Inspektion muss primär der Allgemeinzustand des Patienten beurteilt werden, da dieser für die weitere Therapiegestaltung von großer Bedeutung ist. Zu differenzieren ist ob der Patient rosig, mit guter peripherer Durchblutung ist oder blass, zentralisiert, bei schlechter Oxygenierung möglicherweise auch zyanotisch.

Klinische Zeichen der pulmonalen Symptomatik sind eine erhöhte Atemfrequenz, Dyspnoe mit Nasenflügeln, pulmonale Einziehungen (subcostal, intercostal, jugulär), unphysiologische Schaukelatmung (v.a. bei Säuglingen) und ggf. der Einsatz der Atemhilfsmuskulatur bei größeren Patienten. Bei obstruktiven Erkrankungen kann der Aufbau eines positiven endexpiratorischen Druckes (Auto-PEEP) durch Stöhnen oder den Einsatz der Lippenbremse den Patienten Erleichterung verschaffen.

Auskultation:

Auskultatorisch können bei einer Pneumonie im Falle eines kompakten pneumonischen Infiltrates ein abgeschwächtes Atemgeräusch oder klassischerweise lokalisierbare, feinblasige, ohrnahe Rasselgeräusche auffallen. Differentialdiagnostisch ist bei einem abgeschwächten Atemgeräusch auch an einen Pleuraerguss, eine Atelektase, einen Pneumothorax oder eine Verlegung der Atemwege durch einen Fremdkörper zu denken.

Fortgeleitete Rasselgeräusche aus dem oberen Nasenrachenraum sind trocken und grobblasig, ein inspiratorischer Stridor wird durch eine Schwellung im Bereich des Larynx hervorgerufen. Brummen entsteht durch flotierendes Sekret oder entzündliche Veränderungen der größeren Atemwege und Bronchien. Zu Giemen und Pfeifen kommt es, wenn durch Schleimhautschwellung oder Sekret der Übertritt der Luft von den kleinen

Atemwegen (Bronchiolen) in die größeren Atemwege behindert ist. Der Verschiebung des In- zu Expirationsverhältnisses zugunsten der Expiration liegt eine pulmonale Obstruktion zugrunde [87].

Perkussion

Perkutorisch lässt sich im Falle eines entzündlichen Infiltrates ein abgeschwächter Klopfeschall feststellen. Bei pulmonaler Überblähung ist dieser hypersonor. Weiteres Zeichen einer Überblähung, welches bei sorgfältiger klinischer Untersuchung perkutorisch feststellbar ist, ist ein tiefstehendes Zwerchfell.

1.4.3 Laborchemische Untersuchungen

Die Bestimmung laborchemischer Entzündungsparameter bei tiefen Atemwegsinfektionen erfolgt, um einen Anhalt für den Schweregrad der Erkrankung zu bekommen und dem behandelnden Arzt einen Hinweis bezüglich der Ätiologie (viral versus bakteriell) zu geben. Zu den am häufigsten verwendeten Parametern gehören die Anzahl der Leukozyten, das Differentialblutbild, das C-reaktive Protein (CrP), Interleukin 6 (IL6), Procalcitonin und die Blutplättchensenkungsgeschwindigkeit (BSG). Die Bedeutung der einzelnen Parameter im Rahmen der klinischen Diagnostik bleibt trotz zahlreicher Studien umstritten.

Beispielsweise werden bei nachgewiesenen viralen Infektionen Überschreitungen der Grenzwerte der laborchemischen Entzündungsparameter insgesamt zwar seltener beobachtet (CrP > 8 mg/dl, oder Leukozyten >17.000, oder Procalcitonin über 0,84 µg/L, oder BSG >63 mm/h), Sensitivität und Spezifität liegen jedoch nur knapp über 60% [88]. Die alleinige Bestimmung der laborchemischen Entzündungswerte erlaubt damit keine sichere Unterscheidung zwischen viraler und bakterieller Genese. Andere Studien fanden überhaupt keine [89] oder nur sehr geringe [90] Unterschiede der laborchemischen Entzündungsparameter bei Kindern mit viralen oder bakteriellen Infektionen. Dementsprechend unzureichend waren die positiven und negativen Vorhersagewerte der entsprechenden Laborbefunde.

Zusammenfassend ist daher aktuell selbst bei einer Kombination mehrerer laborchemischer Infektionsparameter keine sichere Differenzierung zwischen bakteriellen und viralen Infektionen möglich [91-93].

1.4.4 Radiologische Bildgebung

Die radiologische Bildgebung in Form einer Röntgen-Thorax-Aufnahme erleichtert in einigen Fällen die Klassifizierung tiefer Atemwegserkrankungen.

Folgende pathologischen Befunde können bei LRI erhoben werden [94]:

1. **Alveoläres Infiltrat:** mit Flüssigkeit gefüllte Alveolen
2. **Positives Bronchoaerogramm:** verzweigte transparente Linie, welche luftgefüllte Bronchien darstellt, die sich gegenüber den umgebenden entzündlich verdichteten Alveolen abheben
3. **Infiltrate** („*Consolidation*“): dichte, häufig homogen konfluierende alveoläre Infiltrate, welche ganze Segmente oder Lungenlappen betreffen können
4. **Atelektase:** Volumenverlust einen Lungenabschnittes durch Resorption der intraluminalen Luft distal einer Obstruktion der Luftwege. Das kollabierte Lungengewebe stellt sich verdichtet dar.
5. **Interstitielles Infiltrat:** beinhaltet peribronchiale Verdichtungen und Areale kleinster Atelektasen.

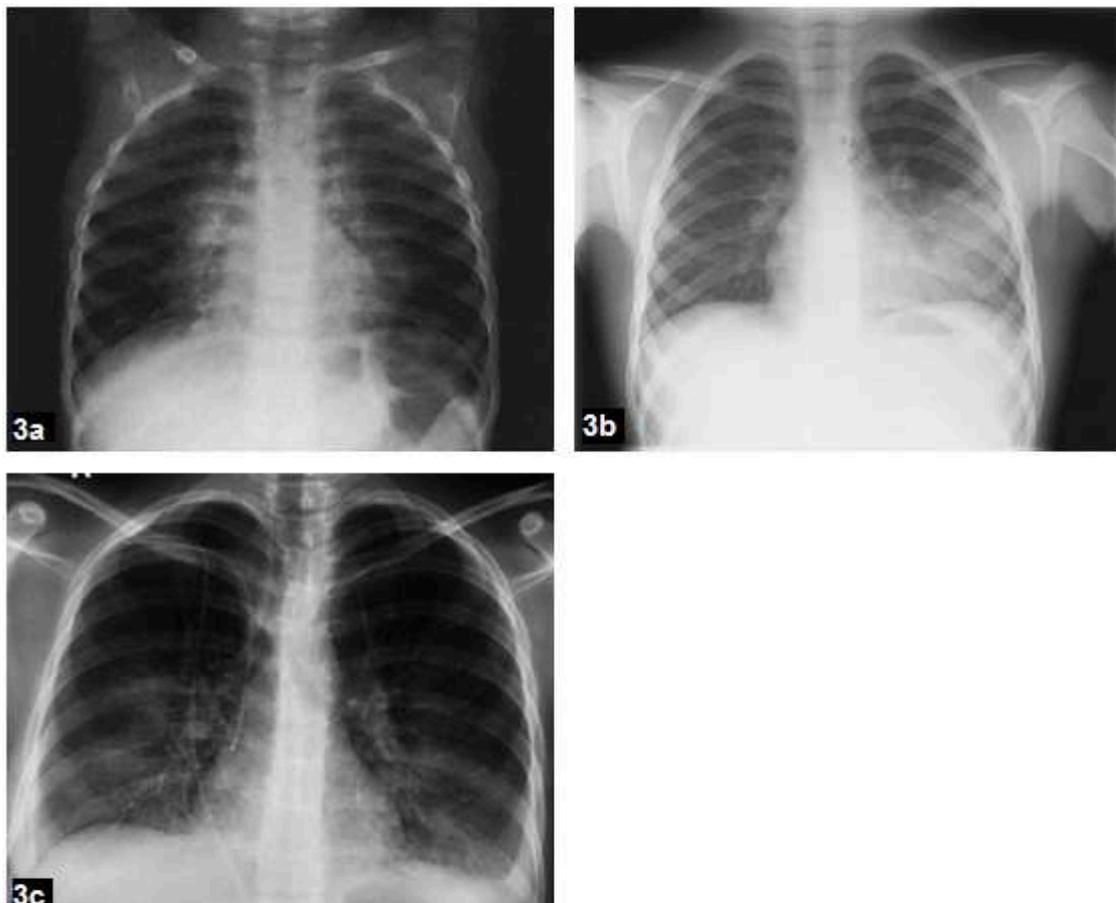


Abbildung 3 a-c: Radiologische Bilder einer Bronchopneumonie, Lobärpneumonie und interstitiellen Pneumonie [11, 95]

Klinisch wird in der Regel bei einem alveolären oder lobären Infiltrat (Abb. 3) von einer bakteriellen Genese ausgegangen, während bei einer diffusen bilateralen Zeichnungsvermehrung eher eine virale oder atypische Ätiologie vermutet wird. Die Zulässigkeit dieser Annahme ist bereits Gegenstand zahlreicher Studien gewesen, mit dem Ergebnis, dass die Wahrscheinlichkeit einer bakteriellen Infektion bei alveolären Infiltrationen zwar erhöht ist, Sensitivität und Spezifität der Befunde aber alleine nicht ausreichen, um anhand dessen eine Entscheidung über die Notwendigkeit einer antibiotischen Therapie zu treffen [96, 97].

Ein weiterer Nachteil der Röntgen-Thorax-Aufnahme ist die niedrige *Intra-* und *Interobserver*-Reliabilität. Während noch relativ gute Übereinstimmungen in der Diagnose alveolärer Infiltrate mit Kappa-Werten von 0,7 bis 0,8, und dem radiologischen Ausschluss einer Pneumonie bestehen, kommt es bei Diagnosen wie der interstitiellen Pneumonie oder peribronchialer Zeichnungsvermehrung zu erheblichen Abweichungen [98-101].

1.4.5 Direkter und indirekter Erregernachweis

Ein Erregernachweis kann sowohl direkt, mittels Kultur, ELISA oder Antigen-Immunoassay, als auch indirekt mittels Bestimmung von Antikörpertitern erfolgen, wobei bei Letzteren nur der Nachweis eines Anstiegs der Antikörpertiter beweisend für eine Infektion ist. Da hierzu zwei Seren in einem gewissen zeitlichen Abstand untersucht werden müssen, erlaubt dieses Verfahren keine zeitnahe Diagnosestellung. Antikörperrnachweise sind daher eher zur retrospektiven Sicherung einer Diagnose und zu Forschungszwecken geeignet [102].

Bezüglich der direkten Diagnostik hat sich das Verfahren des Antigen-Immunoassays wegen mangelnder Sensitivität nicht etabliert. Antigen-Elispots werden dagegen in einer ganzen Reihe von Zentren zur Durchführung von Schnelltests verwendet. Anwendung finden sie z.B. bei RSV und Influenza A und B. Die Sensitivität ist im Falle von RSV zufriedenstellend mit 71-95%, im Falle der Influenzaviren variiert sie jedoch stark zwischen 10 und 96% [102].

Die Kultur als direkter Erregernachweis gilt für viele respiratorische Viren als Goldstandard, weist aber ebenfalls verschiedene limitierende Faktoren auf. So ist ein Wachstum nur mit vitalen, vermehrungsfähigen Mikroorganismen möglich, was hohe Ansprüche an Probengewinnung, Bearbeitung und Logistik stellt. Darüber

hinaus sind Erreger, die keinen zytopathogenen Effekt haben, nicht nachweisbar (z.B. HMPV) und virale Koinfektionen sind nicht zuverlässig zu diagnostizieren. Der Nachweis einiger Viren bedarf langer Kultivierungszeiten. Eine kulturelle Diagnostik ist daher nur von eingeschränktem Wert in der Akutphase der Erkrankung [103].

Die Methodik mit dem höchsten diagnostischen Potential ist derzeit die Polymerasekettenreaktion (PCR), mit der durch den Einsatz der reversen Transkriptase neben dem Nachweis viraler DNA auch der Nachweis von RNA innerhalb weniger Stunden möglich ist. Die Vorteile einer PCR gegenüber konventionellen Techniken sind bereits gut untersucht [104]. Da im Falle tiefer Atemwegsinfektionen ein breites Spektrum an Erregern ätiologisch infrage kommt, ist die PCR Untersuchung auf ein einzelnes Virus jedoch ineffizient.

Trotz der Vielzahl der Methoden ist der Nachweis eines kausalen Agens nur in 40-85% der LRI erfolgreich. Das beste Ergebnis konnte in einer finnischen Studie durch Kombination von PCR, Kultur, Immunfluoreszenz und Nachweis spezifischer Antikörper mittels ELISA erreicht werden. Die Nachweisrate bei ambulant erworbenen Pneumonien lag hier bei 85% [13]. Mit der Entwicklung der Multiplex-PCR, in der viele verschiedene Pathogene parallel analysiert werden können, existiert seit einigen Jahren nun eine alternative diagnostische Methodik mit dem Potential, die Nachweisquote in respiratorischen Sekreten und gleichzeitig die Effektivität ebenso wie die Kosten/Nutzen-Balance deutlich zu verbessern [105]. Im Bereich respiratorischer Viren wurde der Einsatz der Multiplex RT-PCR auch bereits vielfach validiert [103, 106-108].

1.5 Zielsetzung der Studie

Das Ziel dieser Dissertation war es, die Häufigkeit sowie die klinischen Charakteristika viraler und bakterieller Erreger tiefer Atemwegserkrankungen bei Kindern zu analysieren. Es sollten deskriptive epidemiologische Daten zum Spektrum und der saisonalen Verteilung sowie der Assoziation bestimmter Viren zu den einzelnen Krankheitsentitäten erhoben werden. Über jüngst identifizierte Viren (z.B. Bocaviren), deren Stellenwert als Erreger tiefer Atemwegserkrankungen noch unklar ist, sollten weitere Erkenntnisse gewonnen werden.

Die neueren Arbeiten bezüglich der Ätiologie tiefer Atemwegsinfektionen fokussieren nicht mehr allein auf die deskriptive Epidemiologie der viralen und

bakteriellen Erreger, sondern untersuchen insbesondere deren Interaktion bei Auftreten einer Koinfektion (viral/bakteriell oder viral/viral). So bestehen z.B. im Falle der *Pneumokokken* Hinweise dafür, dass eine virale Koinfektion für eine hohe *Pneumokokken*-Erregerlast prädisponiert bzw. das Risiko für die Entstehung einer Pneumonie erhöht [109-111]. Die Frage, ob eine virale und bakterielle Koinfektion für einen besonders schweren Krankheitsverlauf prädisponiert, konnte bis dato ebenso wenig eindeutig beantwortet werden wie die Frage nach einer Aggravierung der Symptome durch multiple virale Infektionen [112-114].

Um in diesen Punkten weitere Klärung zu verschaffen, erfolgte in dieser Arbeit die Analyse der Art und Anzahl der nachgewiesenen Erreger und es wurde die Korrelation des Infektionsmodus zu den einzelnen Krankheitserregern sowie der Schwere des Verlaufes untersucht. Der Einfluss der bakteriellen Besiedelung des Nasopharynx auf die Art und Schwere der tiefen Atemwegsinfektionen sollte ebenfalls beleuchtet werden.

Mit der Multiplex RT-PCR besteht nunmehr nicht nur die Möglichkeit Viren qualitativ nachzuweisen, sondern es kann auch eine quantitative Aussage über die Höhe der Viruslast getroffen werden. Im Falle der respiratorischen Viren ist jedoch trotz der in Zwischenzeit vielfach durchgeführten Untersuchungen weiterhin nicht klar, ob und wie die Erregerlast den Krankheitsverlauf beeinflusst [115].

In dieser Studie sollte nun untersucht werden, ob eine Korrelation zwischen der Viruslast und den Parametern der Krankheitsschwere zu beobachten ist. Die hier durchgeführte serielle Untersuchung des Nasopharyngealsekretes (1. und 3./4. stationärer Tag) erlaubt zudem eine Aussage über die Viruslastdynamik im klinischen Verlauf.

Wie bereits zuvor erläutert, ist es klinisch, radiologisch und laborchemisch kaum möglich, die Ätiologie einer Infektion der tiefen Atemwege zu bestimmen. Mit der hier eingesetzten umfangreichen virologischen Diagnostik und durch zeitnahe und unmittelbare Kommunikation der Ergebnisse an die behandelnden Ärzte, sollte der mögliche Einfluss auf therapeutische Entscheidungen, insbesondere auf den Einsatz von Antibiotika evaluiert werden.

2. Studiendesign und Methodik

Bei der dieser Arbeit zugrunde liegenden Untersuchung handelt sich um eine prospektive epidemiologische Querschnittstudie, die im Zeitraum von November 2006 bis Oktober 2008 an der Klinik für Kinder und Jugendliche der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf und der Kinderklinik des Evangelischen Krankenhauses Düsseldorf (EVK) durchgeführt wurde. Eingeschlossen wurden alle Patienten im Alter von 0 bis 16 Jahren, die wegen einer tiefen Atemwegserkrankung während des Studienzeitraums hospitalisiert wurden. Bei allen Patienten erfolgte die serielle Analyse nasopharyngealer Aspirate bei Aufnahme und im weiteren Verlauf. Gleichzeitig wurden klinische und epidemiologische Parameter dokumentiert.

2.1 Ethik

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität genehmigt und nach den Richtlinien der Deklaration von Helsinki durchgeführt (Studennummer der Ethikkommission Düsseldorf: 2837).

Die schriftliche Einverständniserklärung eines Sorgeberechtigten (s. Anhang I) sowie die mündliche Zustimmung des Patienten bei Kindern über 10 Jahren waren Voraussetzung für die Aufnahme in die Studie.

Die Teilnahme des Kindes an der Studie war freiwillig und konnte jederzeit ohne Angabe von Gründen beendet werden. Die Eltern wurden über die Ziele, den zu erwartenden Nutzen und die Risiken informiert.

Ein ausführlicher Informationsbogen wurde den Eltern zum Verbleib ausgehändigt (s. Anhang I). Alle Patientendaten wurden anonymisiert.

2.2 Klinische Parameter

2.2.1 Ein/Ausschlusskriterien

Es wurden alle Patienten im Alter von 0-16 Jahren eingeschlossen, die im Zeitraum von November 2006 bis Oktober 2008 wegen einer ambulant erworbenen Infektion des unteren Respirationstraktes stationär an der Klinik für Kinder und Jugendliche der Heinrich-Heine-Universität-Düsseldorf oder der Kinderklinik des Evangelischen Krankenhauses Düsseldorf behandelt wurden. Ausschlusskriterien waren primäre oder sekundäre Immunsuppression (z.B. SCID,

Hyper-IgE-Syndrom, schwere onkologische Erkrankung, Chemo- oder Strahlentherapie etc.), da Atemwegsinfekte bei immunsupprimierten Patienten mit einer besonders hohen Morbidität und Mortalität assoziiert sind und sich sowohl im Krankheitsverlauf als auch im Erregerspektrum zum Teil erheblich von nicht immunsupprimierten Patienten unterscheiden [116].

Die Diagnose wurde durch den behandelnden Facharzt für Kinder- und Jugendmedizin anhand von klinischer Untersuchung, laborchemischen Analysen und unter eventueller Einbeziehung einer Röntgen-Thorax-Aufnahme gestellt. Die Anfertigung einer Röntgen-Thorax-Aufnahme erfolgte nach Ermessen des behandelnden Arztes.

Bestätigte sich im klinischen Verlauf der Verdacht auf eine tiefe Atemwegsinfektion durch weitere Beobachtung oder Untersuchung nicht, so wurde der Patient aus der Studie ausgeschlossen. Ausschlaggebend war die endgültige Diagnose zum Entlassungszeitpunkt.

In einigen Fällen erfolgte keine Entnahme des zweiten respiratorischen Sekrets aufgrund von frühzeitiger Entlassung oder Verweigerung durch die Eltern oder Patienten.

Notwendige Voraussetzung für die Analyse der Studiendaten war die regelrechte Abnahme der ersten Probe. Das Fehlen der Verlaufskontrolle stellte kein Abbruchkriterium dar.

2.2.2 Nosologische Klassifikation der Atemwegsinfektionen

Die in dieser Arbeit einbezogenen Krankheitsbilder umfassen die obstruktive Bronchitis, Bronchiolitis und Pneumonie. Wie bereits zuvor erläutert (s. Einleitung), ist die Abgrenzung zwischen den Diagnosen obstruktive Bronchitis und Bronchiolitis fließend, daher wurden diese Entitäten unter dem Begriff „obstruktive Bronchitis“ zusammengefasst.

Diagnostische Kriterien waren wie folgt [117]:

Die Diagnose Pneumonie wurde bei Vorhandensein der folgenden typischen klinischen Symptomatik gestellt:

- trockener oder produktiver Husten
- Zeichen von Dyspnoe (Einziehungen oder Nasenflügeln)
- eventuell Zyanose
- eventuell Fieber

Darüber hinaus war der Nachweis von entzündlichen Infiltraten durch eine der folgenden diagnostischen Maßnahmen notwendig:

- auskultatorisch feinblasige Rasselgeräusche
- perkutorisch abgeschwächter Klopfeschall
- radiologisch reticulonoduläre Infiltrate bzw. segmentale, lobäre oder bilaterale Verdichtungen

Eine obstruktive Bronchitis wurde bei Erfüllung der folgenden Kriterien diagnostiziert:

- Dyspnoe
- Verlängertes Expirium
- Fortgeleitetes grobblasige Rasselgeräusche (Giemen oder Brummen)
- Überblähung mit abgeschwächtem Atemgeräusch oder hypersonorem Klopfeschall
- Im Röntgen-Thorax eventuell peribronchiale Verdichtungen oder Transparenzerhöhung im Sinne einer Überblähung

2.2.3 Patientenevaluation und Methoden der Datenerhebung

Alle studienrelevanten Daten wurden mittels Fremd- und Eigenanamnese, körperlicher Untersuchung und Routinelabor Diagnostik erhoben. Einzige studienbezogene diagnostische Maßnahme war die Gewinnung des nasopharyngealen Aspirates. Die körperliche Untersuchung sowie die Einholung der Einverständniserklärung erfolgte durch den behandelnden Arzt, die Probenentnahme durch das Pflegepersonal.

Bei Aufnahme und während des stationären Aufenthaltes wurden die studienrelevanten Daten in standardisierten Erfassungsbögen dokumentiert (s. Anhang II).

Zum Zeitpunkt der Aufnahme wurde die Dauer der Symptomatik und eventuelle Vorbehandlung, Alter, Geschlecht und Vor- bzw. Grunderkrankungen erfragt.

An Befunden der körperlichen Untersuchung wurden erhoben:

- Husten (ja/nein)
- Tachypnoe (ja/nein, Atemfrequenz)
- Sauerstoffsättigung
- Zeichen von Obstruktion (Giemen, Brummen, verlängertes Expirium)

- Zeichen von Dyspnoe (subcostale, juguläre oder clavikuläre Einziehungen, Nasenflügeln)
- Rasselgeräusche (Qualität und Lokalisation)
- Körpertemperatur

Während des stationären Aufenthaltes wurde das Vorhandensein sowie die Dauer in Tagen der genannten Befunde auf einem zweiten Bogen dokumentiert (s. Anhang II). Ferner wurde jegliche Therapie, die die Patienten erhalten haben, und deren Dauer erfasst. Dazu gehörten:

- Sauerstoffvorlage und Dauer in Stunden
- Antimikrobielle Therapie
- Inhalative Bronchodilatoren
- Systemische Kortikosteroide
- Infusionstherapie
- Sonstige medikamentöse Therapie (z.B. Montelukast, Theophyllin)

An laborchemischen Parametern wurden soweit vorhanden dokumentiert:

- Leukozytenzahl bei Aufnahme und Maximalwert
- CrP bei Aufnahme und Maximalwert

Laborchemische Untersuchungen wurden am dafür zuständigen Institut für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Universitätsklinikums Düsseldorf (im Folgenden UKD) nach gängigen Standardverfahren durchgeführt.

Wurde wegen eines hoch fieberhaften Infektes eine Blutkultur angelegt, so erfolgte deren Bebrütung und Auswertung am zuständigen Institut für Mikrobiologie des UKD.

Die Beurteilung der Röntgen-Thorax-Aufnahmen fand durch die Kinderradiologie des UKD statt, die Diagnose einer Pneumonie wurde entsprechend der WHO-Kriterien gestellt [94].

2.2.4 Gewinnung der respiratorischen Proben

Um eine Verfälschung des Erregerspektrums durch nosokomial erworbene Infektionen zu vermeiden, war die Gewinnung des ersten nasopharyngealen Aspirates innerhalb von 24 Stunden nach Hospitalisierung zwingende Studienbedingung.

Ein zweites Sekret wurde am 3. oder 4. stationären Tag gewonnen, um Aussagen über die Entwicklung der Erregerlast im Zusammenhang mit dem klinischen Verlauf treffen zu können.

Die Gewinnung des respiratorischen Sekrets erfolgte als diagnostische Maßnahme durch das Pflegepersonal, das hierfür nochmals separat geschult wurde. Die Abnahme erfolgte standardisiert auf folgende Weise (s. Anhang III, Merktzettel zur Abnahme):

Zur Entnahme wurde ein auf die Größe des Kindes angepasster Katheter verwendet. Es wurden 2 ml sterile Kochsalzlösung über ein Nasenloch instilliert. Bei Vorliegen einer starken Sekretproduktion konnte hierauf verzichtet werden. Der Absaugkatheter wurde mit einer sogenannten „Mucofalle“ („Trachea Sekretprobenset“, Firma Braun ®) konnektiert und in den Nasopharynx eingeführt. Die Einführtiefe entsprach der Distanz zwischen Naseneingang und Ohrmuschel des Patienten (s. Abb.4).

Wochentags erfolgte die sofortige Verschickung der Probe an das Institut für Virologie. War eine umgehende Übermittlung nicht möglich, so erfolgte die kurzfristige Lagerung im Kühlschrank bei + 4 C° auf Station.

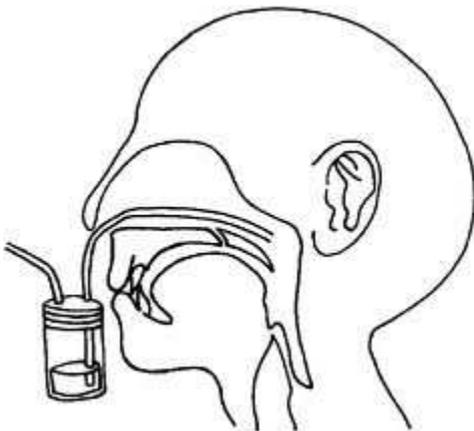


Abbildung 4: Gewinnung von Nasopharyngeal-aspirat [118]

2.3 Mikrobiologische Diagnostik

2.3.1 Quantitative TaqMan RT-PCR auf respiratorische Viren

Am Institut für Virologie der Universität Düsseldorf wurde in den vergangenen Jahren eine TaqMan RT-PCR für eine breite Palette von respiratorischen Viren etabliert [107].

Das Spektrum der nachgewiesenen Viren umfasste:

- RNA Viren
 - RSV A und B
 - Rhinoviren
 - Enteroviren
 - HMPV A und B
 - Influenza A und B
 - Parainfluenza Typ 1, 2, und 3
 - Coronavirus 229 E, OC 43 und NL 63
- DNA Viren
 - Adenovirus
 - Bocavirus

Die Durchführung erfolgte im Multiplexverfahren, bei dem durch die Zugabe von zwei (Duplex) oder drei (Triplex) Sonden mit den entsprechenden Primern die Detektion mehrerer Viren in einem Reaktionsansatz möglich ist (s. Tabelle 3). Die Kopplung der Sonden an verschiedene Farbstoffe mit jeweils spezifischem Emissionsspektrum ermöglicht die Differenzierung der einzelnen Viren.

Tabelle 3: Zusammensetzung der Reaktionsansätze der Multiplex-PCR

Duplex-Ansatz	Influenza A Influenza B
	RSV A HMPV B
	HMPV A Adenoviren
	Rhinoviren Bocavirus
	RSV B Enteroviren
Triplex-Ansatz	Corona 229 E Corona NL63 Corona OC43
	Parainfluenza 1 Parainfluenza 2 Parainfluenza 3

Die Analyse wurde in zwei Schritten durchgeführt. Zunächst erfolgte die Untersuchung auf das Vorhandensein eines respiratorischen Virus im Multiplexverfahren. War das Ergebnis positiv, so erfolgte im zweiten Schritt die Quantifizierung im Monoplex-Ansatz. Hierfür wurden virusspezifische Plasmide in definierten Kopienzahlen im PCR-Lauf mitgeführt. Anhand dieser Standardkurve

konnte dann die exakte Viruslast der einzelnen Proben in Kopien/ml berechnet werden.

Das qualitative Ergebnis war in der Regel innerhalb von 24 Stunden nach Eintreffen der Probe im Labor ermittelt und wurde der betreffenden Station zeitnah telefonisch mitgeteilt.

2.3.2 Mikrobiologische Kultur

Neben den quantitativen viralen Analysen wurde zur Erfassung des bakteriellen Spektrums im Nasopharynx der Patienten zusätzlich eine Kultur angelegt. Für die kulturelle Anzucht der Erreger wurden mit Hilfe einer Platinöse jeweils 10 µl des nasopharyngeal Aspirates im 3-Ösen-Ausstrich auf die folgenden Nährmedien ausgeimpft:

- Kochblutagar: aerob bebrütet bei 36°C und 5% CO₂
- MacKonkey Agar: aerob bebrütet bei 36°C Raumluft
- Blutagar (Columbia Agar): aerob bebrütet bei 36°C und 5% CO₂, sowie anaerob bebrütet bei 36°C

Nach 18-24 Stunden Bebrütung wurden die Kulturen nach folgenden Kriterien beurteilt:

1. Vorhandensein von Mund- und Rachenflora/Nasenflora
2. Wachstum fakultativ pathogener Keime (*Pneumokokken*, *Haemophilus*, *Moraxella*, *Enterobacteriaceae*, *Staphylokokkus aureus*)

Die Semiquantifizierung fakultativ pathogener Keime erfolgte anhand des Wachstums der Bakterien in Relation zum Impfstrich:

- Wachstum auf dem ersten Viertel der Platte = ganz vereinzelt
- Wachstum auf der Hälfte der Platte = vereinzelt
- Wachstum auf drei Vierteln der Platte = mäßig
- Wachstum auf allen vier Sektoren = reichlich.

Die Identifizierung der Bakterien wurde anhand der folgenden Kriterien durchgeführt:

- *Staphylokokken* wurden mittels Katalase-Reaktion, DNase und/oder Koagulase-Reaktion identifiziert.
- Eine goldgelbe Kolonie mit positiver Koagulase oder DNase wurde als *S.aureus* bezeichnet.

- *H.influenzae* wurde mit Hilfe seines isolierten Wachstums auf der Kochblutplatte und mit Hilfe der Faktorenplatte (NAD, Hämin) identifiziert.
- *M.catharralis* wurde durch die schwach positive DNase Reaktion identifiziert.
- *Enterobacteriaceae* wurden biochemisch mithilfe des Automaten VITEK 2 der Firma Biomerieux identifiziert.
- *Pneumokokken* wurden mithilfe Ihrer Optochinempfindlichkeit identifiziert.

2.4 Auswertung

Es erfolgte eine deskriptive Auswertung der Daten in Bezug auf die Charakteristika der Studienpopulation und die Nachweishäufigkeit der viralen und bakteriellen Erreger. Im Falle der viralen Infektionen wurde die Saisonalität, das Auftreten und die Konstellation viraler Koinfektionen analysiert. Der Verlauf der verschiedenen viralen Infektionen wurde untereinander verglichen. Darüber hinaus wurde der Zusammenhang von Erregerlast zum klinischen Krankheitsverlauf untersucht.

2.4.1 Schweregradeinteilung der Erkrankung

Als Parameter der Krankheitsschwere wurde die Notwendigkeit für supportive Therapien in Form von Sauerstoffvorlage, Bronchodilatoren, oder systemischen Kortikosteroiden gewertet. Fieber über $>38,5\text{C}^{\circ}$ war ein weiterer Indikator der Krankheitsschwere [119].

Da Patienten, die klinisch einen schwerwiegend kranken Eindruck machen, in der täglichen Routine mit einer größeren Wahrscheinlichkeit weitere Diagnostik oder Therapie erhalten, wurde die Verschreibung von Antibiotika sowie die Durchführung einer Röntgen-Thorax-Aufnahme ebenfalls als Parameter der Krankheitsschwere angesehen.

Diese Parameter wurden dichotomisiert zu Analyse Zwecken verwendet.

Die laborchemischen Entzündungsparameter CrP und Leukozytenzahl wurden in gleicher Weise in Vorhandensein einer Leukozytose ja/nein und Erhöhung des CrP-Wertes ja/nein unterteilt. Als Grenzwert des CrP waren 5 mg/dl festgelegt, die Referenzwerte für die Leukozytenzahl sind in Tabelle 4 angegeben [120].

Tabelle 4: Referenzwerte der Leukozytenzahl

Alter	Leukozytenzahl in $10^9/l$
1. Lebensjahr bis < 2 Jahre	6,5 - 15,0
2 Jahre bis < 6 Jahre	5,0 - 12,0
6 Jahre bis < 12 Jahre	4,5 - 11,0
12 Jahre bis < 18 Jahre	4,5 - 10,5

Die Berechnung des I/T-Quotienten lag nur in 2,7% der Fälle vor und wurde daher nicht zu weiteren Untersuchungen herangezogen.

Neben der Auswertung der dichotomisierten Parameter erfolgte die Analyse der Korrelation von skalierten Parametern (Liegedauer, maximale Leukozytenzahl, maximales CrP) zur absoluten Erregerlast sowie zur Erregerlastdifferenz zwischen erstem und zweitem NPA.

Die Dauer der Sauerstoffvorlage konnte wegen der zum Teil für Studienzwecke zu ungenauen Dokumentation in den Patientenakten nicht in die Analysen mit einbezogen werden.

2.4.2 Statistische Verfahren

Die Daten wurden mittels des Programms Microsoft Excel erfasst und zur statistischen Analyse in SPSS transformiert und zusammen mit Herrn Dr. Willers aus dem Zentralbereich Bioinformatik und Biostatistik der Heinrich–Heine Universität Düsseldorf erstellt.

Der Zusammenhang zwischen Erregerlast und Liegedauer sowie den Laborparametern CrP und Leukozytenzahl wurde mit dem Rangkorrelationsquotient nach Spearman analysiert. Hierfür wurden jeweils die logarithmischen Werte der Erregerlast verwendet.

Die Analyse der Zusammenhänge von nominal skalierten Variablen erfolgte über den χ^2 -Test. Lag eine sehr kleine Stichprobe vor, wurde entsprechend der Fishers-Exact-Test durchgeführt.

Zur Überprüfung der zentralen Tendenz ordinal skalierten Variablen abhängiger Stichproben wurde der Wilcoxon-Rangtest, bei unabhängigen Stichproben der Man-Whitney-U-Test verwendet. Sollten mehr als zwei Stichproben analysiert werden, fand entsprechend der H-Test von Kruskal-Wallis Anwendung.

Für alle stetigen Variablen wurden Mittelwert und Standardabweichung ermittelt. Ausnahmen bildeten das Alter der Patienten und die Dauer des Krankenhausaufenthaltes für die der Median angegeben wurde.

Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt.

3. Ergebnisse

3.1 Epidemiologische Charakteristika

Im Studienzeitraum von Oktober 2006 bis November 2008 wurden insgesamt 404 Patienten in die Studie eingeschlossen – davon 63% am Zentrum für Kinder Jugendmedizin des UKD und 37% an der Kinderklinik des EVK.

Das Patientenkollektiv setzte sich zu 60% (n= 244) aus männlichen und zu 40 % (n=160) aus weiblichen Patienten zusammen.

Der Altersmedian lag bei 0,8 Jahren (min. 0,03 Jahre; max. 15,9 Jahre).

Insgesamt waren 72% (n=291) der Patienten jünger als zwei Jahre (s. Abb.5).

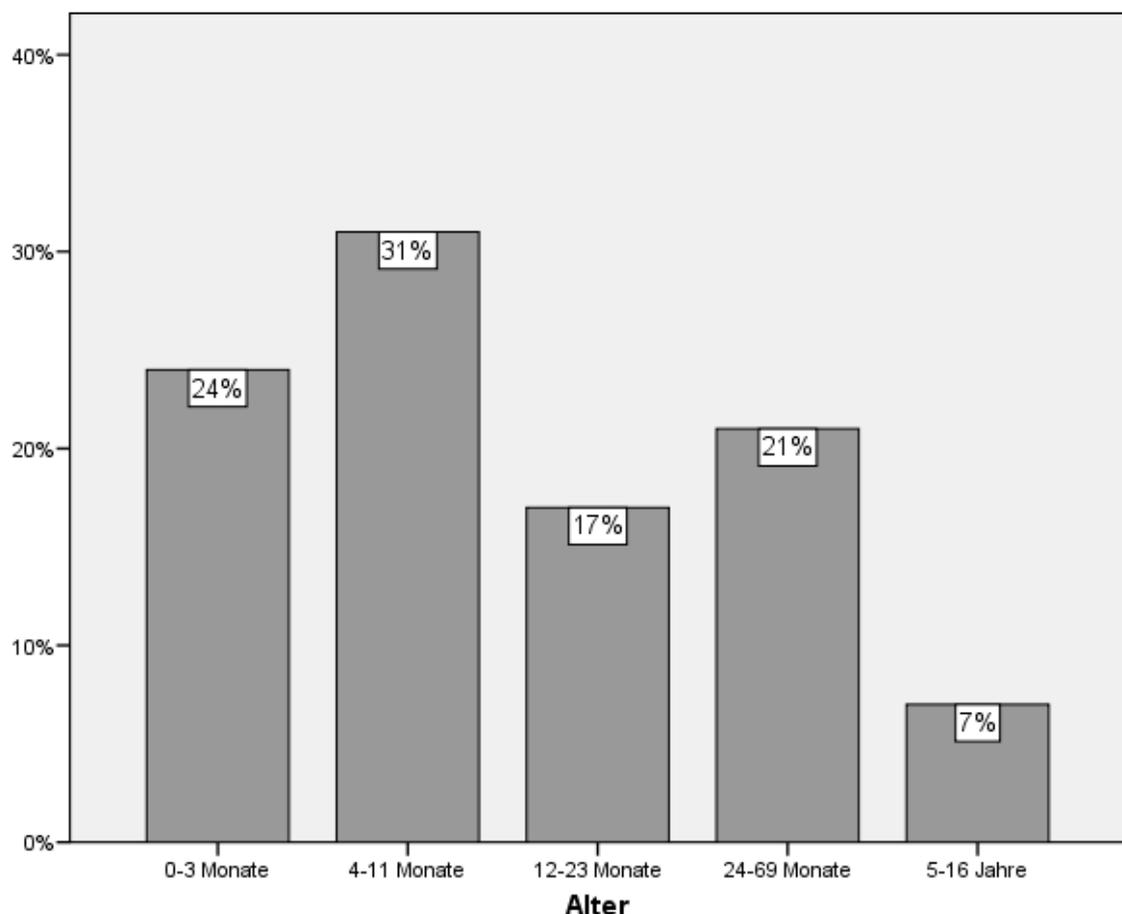


Abbildung 5: Altersverteilung des Patientenkollektives

Grund für die stationäre Aufnahme war in 60% (n=244) eine obstruktive Bronchitis und in 40% (n=160) eine Pneumonie. Der Altersmedian der Patienten mit Pneumonie betrug 1,63 Jahre und lag damit signifikant über dem Altersmedian der Kinder die an einer obstruktiven Bronchitis litten (0,63 Jahre, $p < 0,001$) (s. Abb 6).

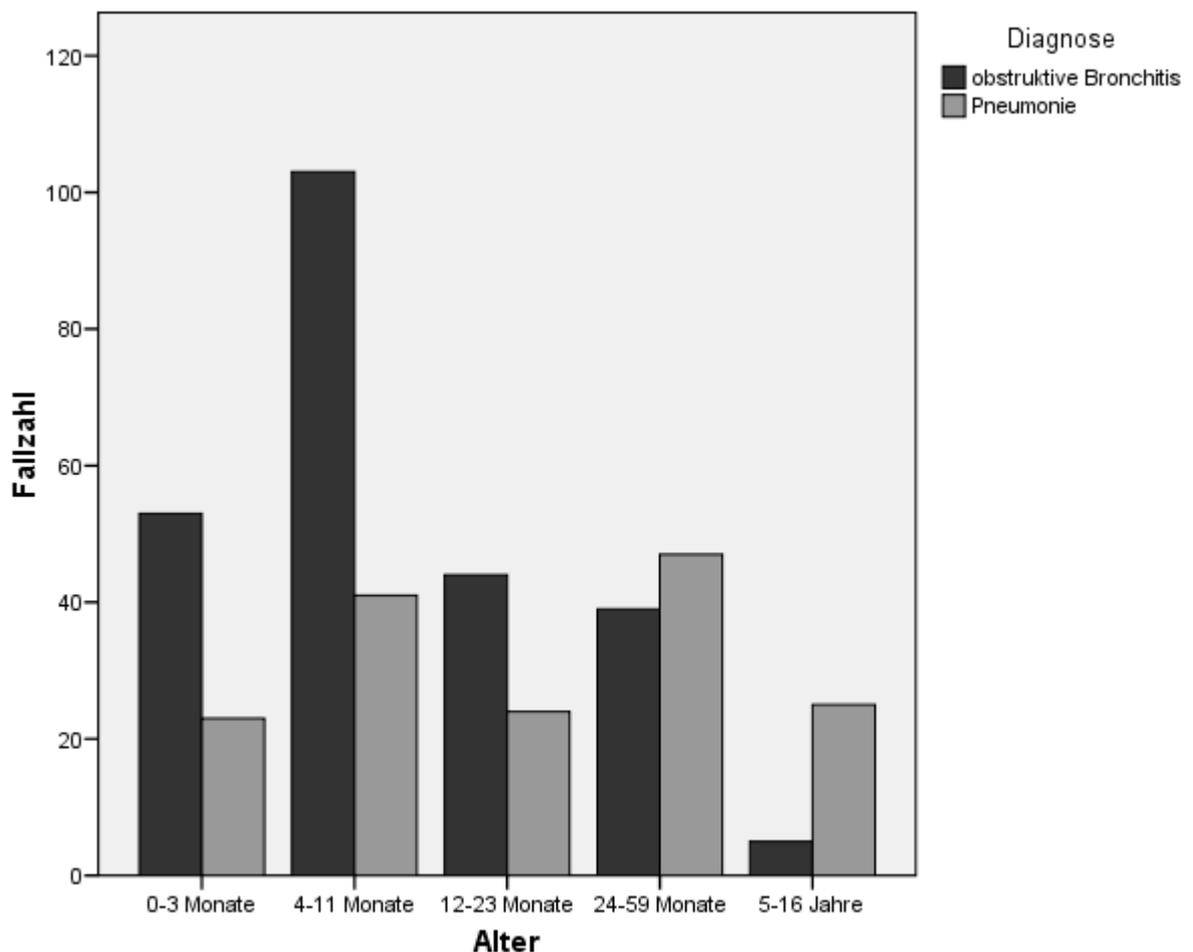


Abbildung 6: Altersstratifizierung der einzelnen Krankheitsentitäten

Bei 48% (N=196) der Studienpopulation fanden sich Vorerkrankungen oder chronische Grunderkrankungen wie eine ehemalige Frühgeburtlichkeit (35%, n=69), pulmonale (37%, n=72) oder kardiale Grunderkrankungen (14%, n=28). Bei den pulmonalen Erkrankungen bestanden im Wesentlichen rezidivierende obstruktive Bronchitiden (79%, n=57). Der Anteil von Patienten mit einem bekannten Asthma Bronchiale machte mit 7% (n=5) der pulmonalen Grunderkrankungen einen geringen Anteil aus.

Die Dauer des Krankenhausaufenthaltes betrug im Median fünf Tage (min. 1 d; max. 39 d) Die Dauer der Symptomatik zum Zeitpunkt der Hospitalisierung lag im Median bei drei Tagen (min. 0,2 ; max. 120 d). Vorerkrankungen hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Dauer des Krankenhausaufenthaltes ($p=0,088$).

3.2 PCR-Ergebnisse

Ein erstes nasopharyngeales Aspirat lag bei allen 404 Patienten vor. In 76% (n=307) der Fälle konnte mittels Multiplex-PCR mindestens ein respiratorisches

Virus nachgewiesen werden. Ein zweites NPA am dritten oder vierten stationären Tag wurde in 70,5% (n=285) der Fälle gewonnen. Die 30% (n=119) der Patienten, bei denen keine zweite Probe gewonnen wurde, kamen durch Verweigerung seitens der Eltern bzw. des Patienten oder durch eine frühzeitige Entlassung aus dem stationären Umfeld zustande.

3.2.1 Qualitative PCR-Ergebnisse

3.2.1.1 1. NPA

In 81,1% (n=249) der positiven Sekrete wurde nur ein Virus nachgewiesen. In 18,9% (n=58) der Fälle handelte es sich um Koinfektionen mit zwei oder mehr Viren.

Das am häufigsten detektierte Virus war RSV mit 160 Fällen (52%). Die Subtypen RSV A und RSV B wurden identisch häufig mit jeweils 80 Fällen nachgewiesen. Die Patienten mit RSV B Infektion waren dabei signifikant häufiger männlich (46,3%, n=37 vs. 63,8%, n=51; $p=0,04$) und hatten signifikant häufiger Temperaturen über $38,5^{\circ}\text{C}$ (35%, n=28 vs. 53,8%, n=43; $p=0,03$). Darüber hinaus fanden sich keine weiteren relevanten Unterschiede (s. Tabelle 5).

Tabelle 5: Vergleich von RSV A- und RSV B-Infektionen

	RSV A	RSV B	P-Wert
N	80	80	
Alter (Median)	0,5	0,48	0,34
Männlich (%)	37 (46,3)	51 (63,8)	0,04
Pneumonie (%)	24 (30)	29 (36,3)	0,5
Relevante Grunderkrankung (%)	29 (36,3)	29 (36,3)	1,0
Antibiotische Therapie (%)	35 (43,8)	38 (47,5)	0,75
Koinfektionen (%)	15 (18,8)	14 (17,5)	1,0
Bronchodilatoren (%)	68 (85)	70 (87,5)	0,82
Systemische Kortikosteroide (%)	16 (20)	15 (18,8)	1,0

	RSV A	RSV B	P-Wert
Röntgen Thorax (%)	34 (42,5)	35 (43,8)	1,0
Fieber $\geq 38.5^{\circ}\text{C}$ (%)	28 (35,0)	43 (53,8)	0,03
CRP ≥ 5 mg/dl (%)	9 (11,3)	8 (10)	1,0
O2-Bedarf (%)	30 (37,5)	37 (46,3)	0,34
Leukozytose (%)	21 (26,3)	21 (26,3)	1,0
Liegedauer (Tage, Median)	5	5	0,37

Zweithäufigster Erreger waren mit 28,3% (n=87) Rhinoviren. Boca- und Adenoviren wurden jeweils in 9,1% (n=28) detektiert. Parainflanzaviren, Enteroviren und HMPV wurden mit 6,5 % (n=20), 5,9% (n=18) und 5,5% (n=17) in vergleichbaren Häufigkeiten nachgewiesen. Die Diagnose einer Influenzainfektion konnte in 3,6% (n=11) gestellt werden. Hiervon entfielen zwei Fälle auf Influenza B. Coronaviren waren mit 2,3% (n=7) der positiven NPAs die am seltensten nachgewiesenen Erreger (s. Abb. 7).

Aufgrund der geringen Fallzahlen der Subtypen von Parainflanzaviren, HMPV und Coronaviren werden diese in den folgenden Analysen nicht mehr weiter aufgeschlüsselt.

3.2.1.2 2. NPA

Die Quote der positiven Nachweise in der zweiten respiratorischen Probe lag mit 73% (n=208) knapp unterhalb derer in der ersten PCR (76%, n=307). RSV und Rhinoviren zusammen machten mit 75% (n=156) weiterhin den größten Anteil der nachgewiesenen Viren aus. Der Anteil der RSV-Nachweise war mit den Ergebnissen des 1. NPA vergleichbar (1. NPA: 52%, n=160; 2.NPA:56% n=117). Rhinovirus positive NPAs lagen mit 18,8% (n=39) um 10 % seltener vor als im ersten NPA (s. Abb. 7). Der anteilige Nachweis der restlichen Viren zeigt im Vergleich zum ersten NPA keine wesentlichen Verschiebungen. Bocaviren wurden nur noch als sechsthäufigstes Virus nachgewiesen, die anteilige Detektion von Adenoviren stieg von 9% (n=28) auf 12% (n=25). Influenza A und B sowie Coronaviren wurden weiterhin nur vereinzelt gefunden (s. Abb. 7).

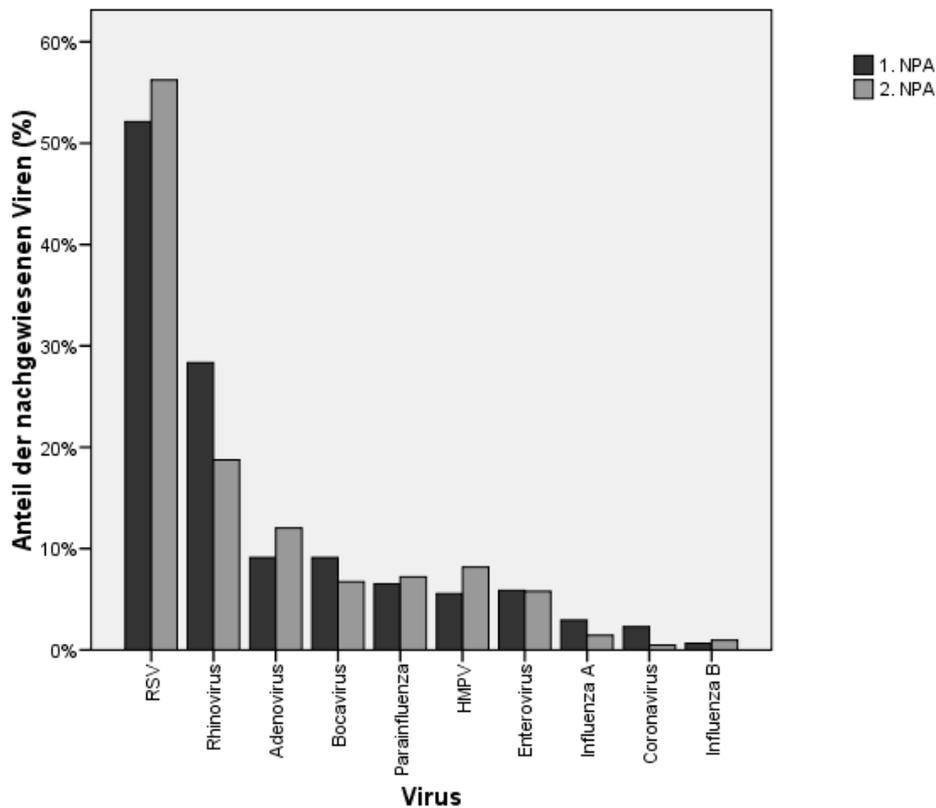


Abbildung 7: Nachweishäufigkeit der einzelnen Viren in 1. und 2. NPA

3.2.1.3 Saisonalität

Bezüglich des Erregernachweises im nasopharyngealem Aspirat fand sich eine klare saisonale Abhängigkeit mit der höchsten Nachweisrate in den Winter- und der niedrigsten in den Sommermonaten (s. Abb. 8). Die Ausprägung der saisonalen Varianz war dabei nicht für alle Viren gleich. Während sich für Parainfluenza- und Adenoviren kaum saisonale Schwankungen zeigten, waren diese für Rhino-, RS- und Bocaviren besonders ausgeprägt (s. Abb. 8). Hierbei verliefen die Nachweisraten von Boca- und RS-Viren parallel, während die höchsten Nachweisraten von Rhinoviren jeweils etwas vor bzw. nach den *Peaks* für Boca-/RS-Viren lagen (s. Abb. 8).

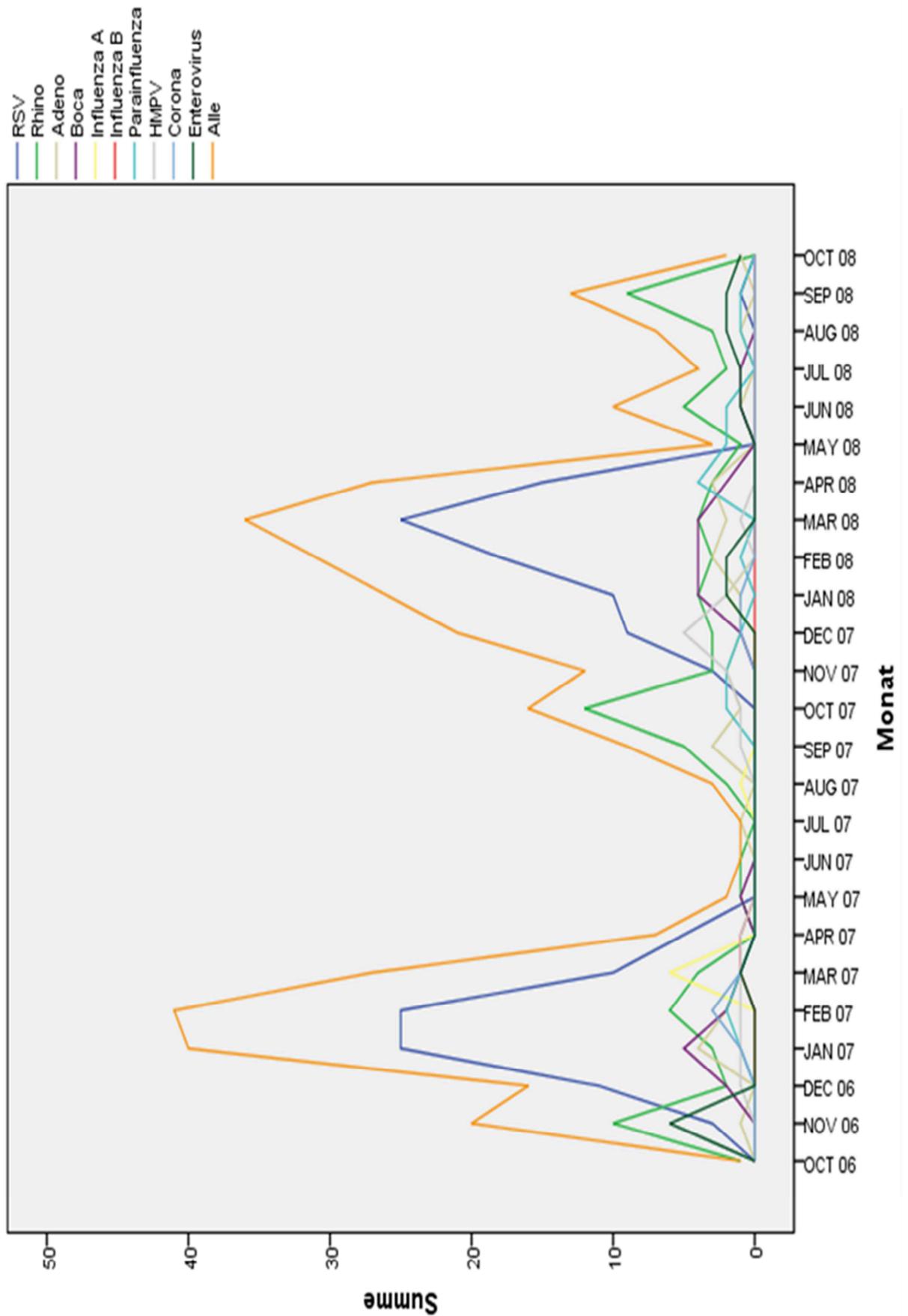


Abbildung 8: Saisonale Verteilung der viralen Erreger

3.2.1.4 Koinfektionen

Der Anteil an Nasopharyngeal aspiraten, in denen mehr als ein Virus nachgewiesen wurde, machte 18,9% (n=58) der viruspositiven NPAs aus. Hiervon lag in 12,1% (n=7) eine Infektion mit drei verschiedenen Viren und in 3,5% (n=2) eine Infektion mit vier distinkten Viren vor (s. Tabelle 6).

Tabelle 6: Häufigkeit der in Koinfektionen involvierten Viren

Virus	Infektionen ges.	Monoinf.	ges. Koinf.(%)	>2 Erreger (% der Koinf.)
RSV	160	131	29 (18%)	6 (21%)
Rhinovirus	87	57	30 (35%)	6 (20%)
Adenovirus	28	9	19 (68%)	4 (21%)
Bocavirus	28	9	19 (68%)	7 (37%)
Enterovirus	18	2	16 (89%)	5 (31%)
HMPV	16	14	2 (11,1%)	0
Influenza A	9	8	1 (11%)	0
Influenza B	2	2	0 (0%)	0
Parainfluenza	20	15	5 (25%)	0
Corona OC 43	4	0	4 (100%)	0
Corona NL 63	2	1	1 (50%)	0
Corona 229 E	1	0	1 (100%)	1 (100%)

Mit jeweils etwa 50% waren RS- und Rhinoviren am häufigsten an Mehrfachinfektionen beteiligt (n=29 bzw., n=30). Anteilig machten die Koinfektionen bei RSV 18,1% und bei Rhinoviren 34,5% der gesamten Infektionen aus. Adeno- und Bocaviren waren absolut und relativ gleich häufig mit 67,9% bzw. 19 Fällen in Mehrfachinfektionen involviert. Am größten war der Anteil an Koinfektionen bei den Enteroviren mit 88,9% (n=16) der Infektionen und den Coronaviren mit 85,7% (n=6). Influenza A und B Infektionen traten mit 91% (n=10) überwiegend eigenständig auf (s. Tabelle 6).

In absoluten Zahlen wurde am häufigsten die Kombinationen von RS- und Bocaviren und Entero- und Rhinoviren mit jeweils 14 Fällen nachgewiesen. Bei den Bocaviren machte die Kombination mit RSV 73,7% (n=14) der Mehrfachinfektionen aus, im Falle der Enteroviren lag eine Koinfektion zu 87,5% (n=14) mit Rhinoviren vor (Tab. 7).

Zwischen Mitgliedern der Orthomyxoviridae und Paramyxoviridae (RSV, Parainfluenza, Influenza, HMPV) ließen sich keine Mehrfachinfektionen nachweisen (s. Tabelle. 7).

Tabelle 7: virale Koinfektionen

Virus	Flu A	Flu B	PIV	RSV	HMPV	CoV 229E	CoV OC43	CoV NL63	HRV	EV	HAdV	HBoV
RSV	-	-	-	-	-	1	1	1	8	2	8	14
HMPV	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-
Flu A	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
Flu B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PIV	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	3	-
CoV 229E	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
CoV OC43	1	-	-	1	1	-	-	-	1	-	-	-
CoV NL63	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
HRV	-	-	2	8	1	-	1	-	-	14	7	5
HAdV	-	-	3	8	-	-	-	-	7	2	-	4
HBoV	-	-	-	14	-	-	-	-	5	3	4	-
EV	-	-	-	2	-	-	-	-	14	-	2	3

3.2.2 Quantitative PCR-Ergebnisse

3.2.2.1 Korrelation der Viruslast zu den Parametern der Krankheitsschwere

Bei der Untersuchung des Zusammenhangs von Erregerlast zu den Parametern der Krankheitsschwere fand sich keine positive Korrelation zur Höhe der Entzündungsparameter oder der Liegedauer (s. Tabelle 8)

Tabelle 8: Korrelationsquotient (k) der Erregerlast zu Liegedauer, max. Leukozytenzahl und max. CrP

	Liegedauer		Max. Leukozyten		Max. CrP	
	k	p-Wert	k	p-Wert	k	p-Wert
RSV	0,01	0,95	-0,25	0,004	-0,25	0,004
Rhinovirus	-0,18	0,18	-0,11	0,42	0,09	0,52
Adenovirus	0,08	0,85	0,03	0,93	0,65	0,06
Bocavirus	0,12	0,76	0,13	0,73	0,37	0,33
HMPV	0,35	0,20	0,01	0,96	0,15	0,6
Influenza A	0,61	0,11	0,05	0,91	0,12	0,78
Parainfluenza	-0,06	0,85	0,47	0,08	0,80	0,78

Allerdings bestand für RSV eine negative Korrelation ($p=0,004$) zwischen Erregerlast und maximalen Werten für CrP und Leukozytenzahl mit einem für beide Parameter identischen Korrelationsquotienten von 0,25 (s. Tabelle 8 und Abb. 9a und 9b).

Dieser Zusammenhang wurde auch bei dem Vergleich der Viruslasten in den dichotomisierten Gruppen (Leukozytose ja/nein, CrP > 5mg/dl ja/nein) der laborchemischen Entzündungsparameter bestätigt ($p=0,005$ bzw. $p=0,001$).

Bei Adenovirus-Infektionen fand sich in der Analyse der dichotomisierten Faktoren eine signifikant höhere Erregerlast bei Patienten mit einem CrP über 5 mg/dl im Vergleich zu Patienten ohne relevante CrP Erhöhung ($p=0,01$). Darüber hinaus war die Erregerlast bei Therapie mit inhalativen Bronchodilatoren bei Adenovirus-Infektionen signifikant niedriger (s. Abb. 10a und 10b).

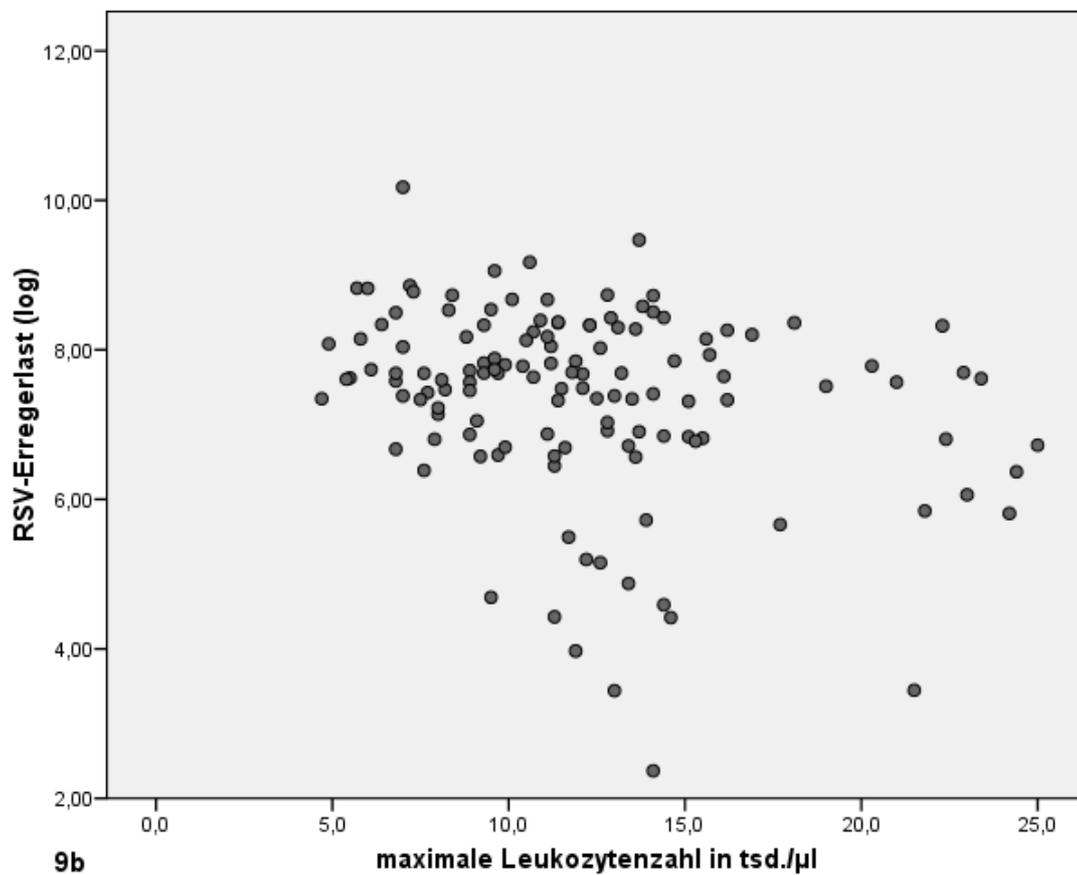
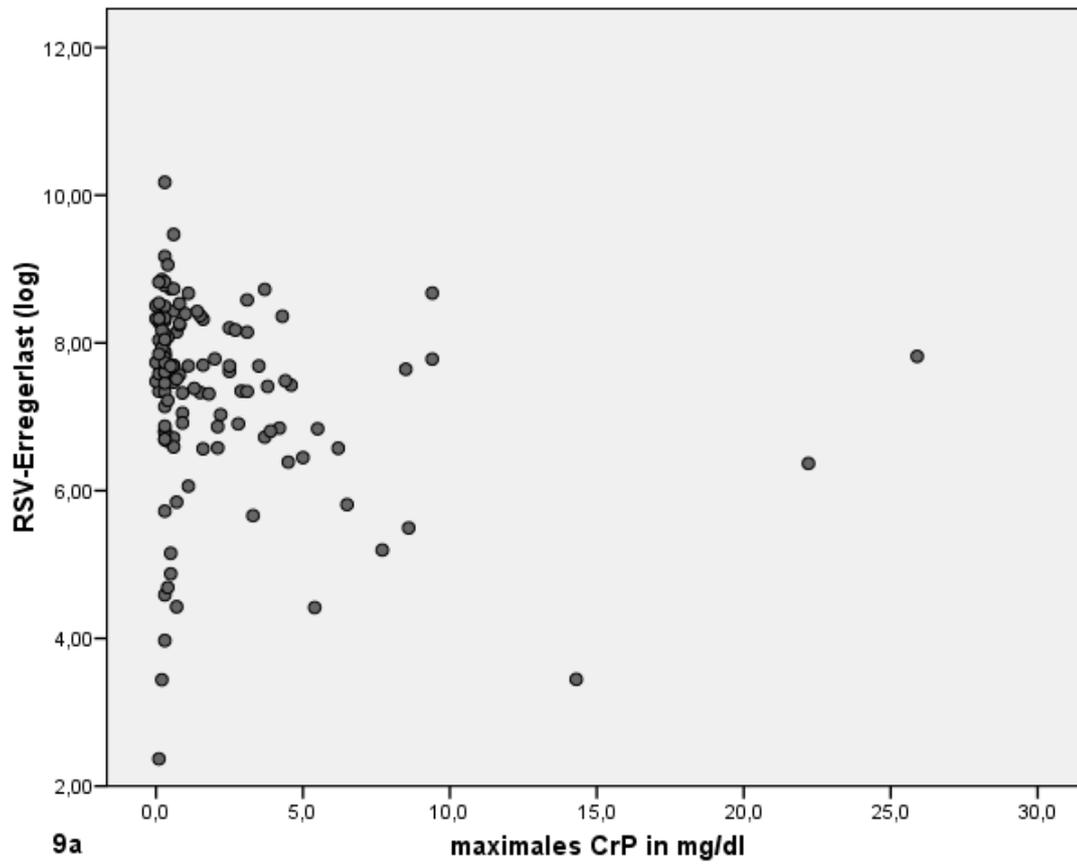
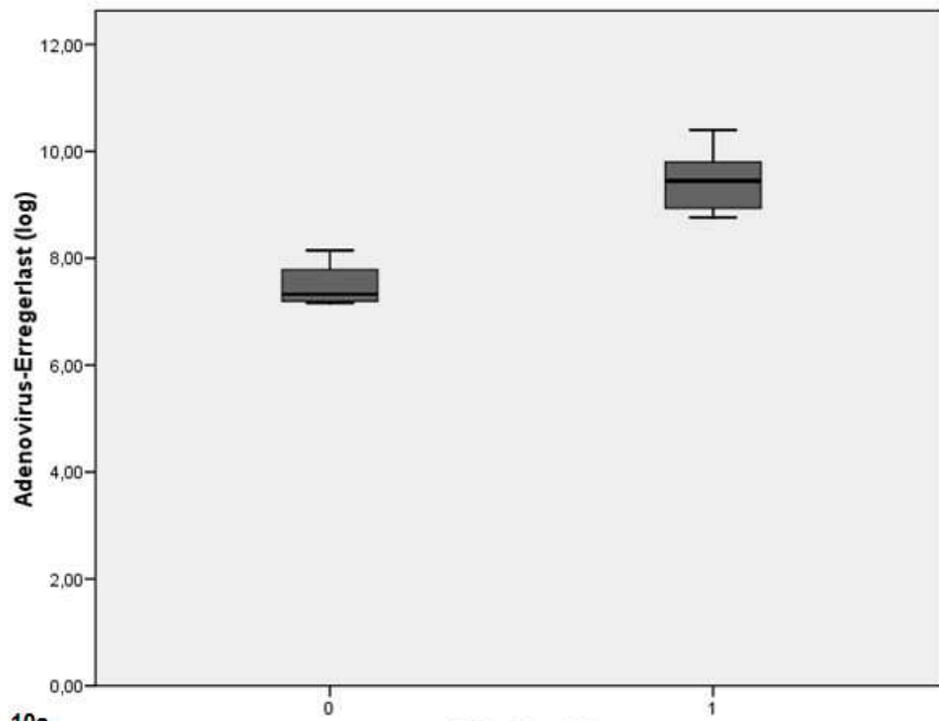
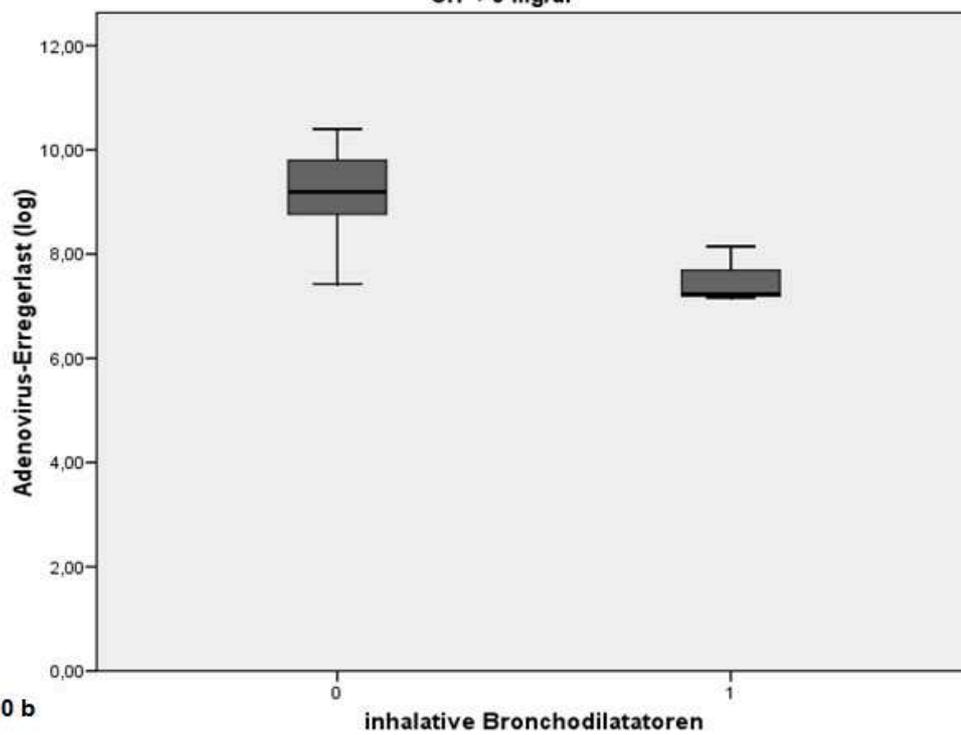


Abbildung 9 a und b: negative Korrelation der RSV-Erregerlast zu CrP und Leukozytenzahl



10a

CrP > 5 mg/dl



10 b

inhalative Bronchodilatoren

Abbildung 10 a und b: Korrelation der Adenovirus-Erregerlast zur Höhe des CrPs und der Verwendung inhalativer Bronchodilatoren

3.2.2.2 Entwicklung der Viruslast im klinischen Verlauf

Im Vergleich von erstem und zweitem NPA zeigte sich eine deutliche Abnahme der medianen Erregerlast bei allen Monoinfektionen während des stationären Aufenthaltes. Diese war im Falle von RSV ($p < 0,001$), Rhinoviren ($p=0,031$), Parainfluenza ($p=0,004$) und HMPV ($p=0,002$) statistisch signifikant. Einzige Ausnahme stellte Influenza A dar, bei der ein Anstieg der medianen Erregerlast von 5,03 auf 5,92 zu verzeichnen war (s. Abb. 11).

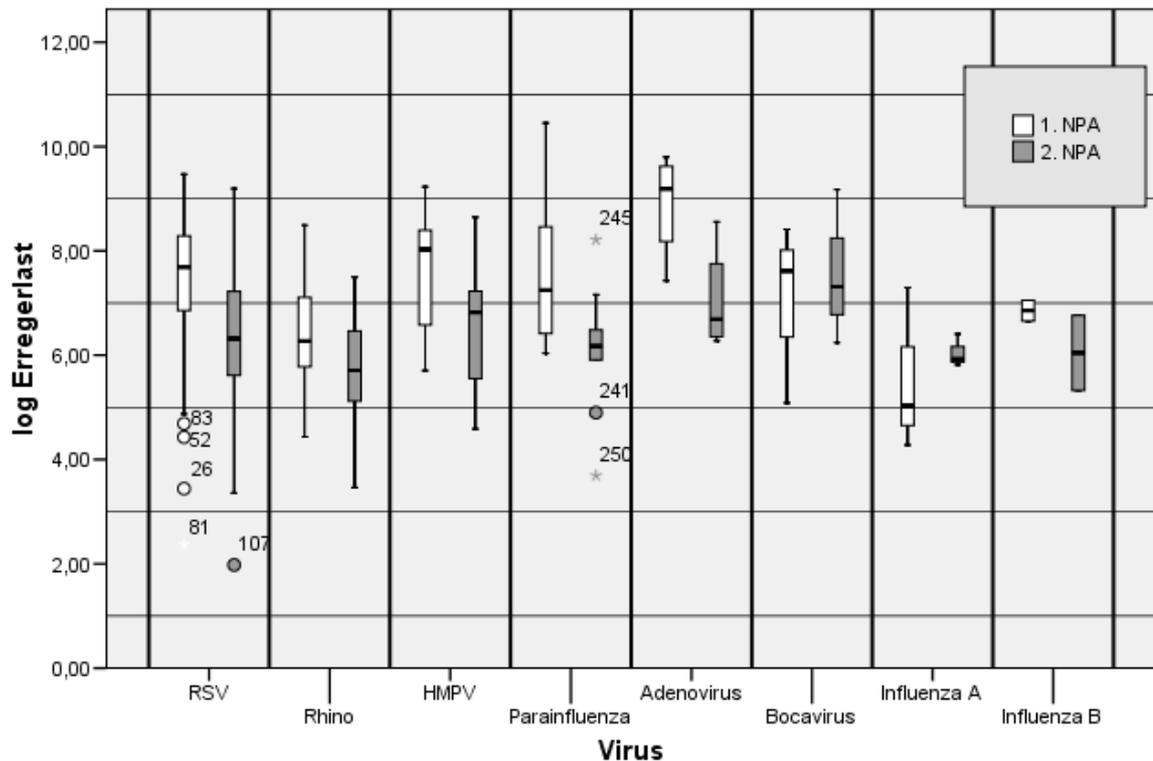


Abbildung 11: Entwicklung der Erregerlast vom 1. zum 2. NPA

3.2.2.3 Vergleich der Viruslast bei Mono- und Koinfektionen

Die mediane Erregerlast lag bei allen Mono- im Vergleich zu Koinfektionen höher (s. Tabelle 9). Statistisch signifikant war dieser Unterschied im Falle von RSV, Adenoviren und dem humanen Bocavirus. Bei den 29 RSV-Koinfektionen zeigte sich, dass die Viruslast in 22 Fällen (75,9%) höher lag als die höchste Viruslast des konkurrierenden Virus ($p=0,03$).

Tabelle 9: Vergleich der Erregerlast von Mono- und Koinfektionen

Virus	Monoinfektionen			Koinfektionen			p-Wert
	N	Mittelwert	Median	N	Mittelwert	Median	
RSV	131	7,4 _{+1,3}	7,6	29	6,7 _{+1,6}	6,9	0,034
Rhinovirus	57	6,0 _{+1,2}	6,0	30	5,7 _{+0,9}	5,6	0,105
Adenovirus	9	8,6 _{+1,2}	8,8	19	5,9 _{+2,3}	5,7	0,006
Bocavirus	9	6,8 _{+1,8}	7,6	19	5,2 _{+1,8}	4,7	0,048
Parainfluenza	15	7,2 _{+1,8}	7,4	5	6,2 _{+2,8}	7,2	0,570
HMPV	14	7,6 _{+1,1}	8,0	2	7,9 _{+0,2}	7,9	0,753
Enterovirus	2	5,0 _{+0,8}	5,0	16	4,9 _{+1,7}	4,6	0,673
Influenza A	8	5,3 _{+1,2}	5,1	1	4,5 ₊₀	4,5	0,439
Influenza B	2	6,9 _{+0,3}	6,9	-	-	-	-
Coronavirus	1	5,9 ₊₁	-	7	5,7 _{+0,75}	5,8	1,0

3.3 Mikrobiologische Kulturen

3.3.1 1. NPA

Eine mikrobiologische Kultur des ersten NPAs lag in 311 Fällen (77%) der gewonnenen Sekrete vor. Die fehlenden 23 % sind durch einen um 6 Wochen verzögerten Beginn der Durchführung von bakteriellen Kulturen bedingt.

Von den 311 angelegten Kulturen lag in 57,6% (n=179) ein bakterielles Wachstum vor und es ist eine Semiquantifizierung des bakteriellen Wachstums erfolgt. In 19 weiteren Fällen bestand zwar ein bakterielles Wachstum, es fehlte jedoch die Angabe zur Semiquantifizierung. Diese Proben wurden nicht zu weiteren Analysezwecken herangezogen. Abb. 12 zeigt alle nachgewiesenen Bakterien unabhängig von der Semiquantifizierung sowie alle bakterielle Kulturen mit „reichlich“ bakteriellem Wachstum (zur Definition der semiquantitativen Mengenbegriffe s. Kapitel 2, Patienten und Methoden).

In beiden Gruppen stellten *H.influenzae*, *M.catharralis*, *S.pneumoniae* und *S.aureus* die am häufigsten nachgewiesenen Bakterien dar. Die Häufigkeit von *S.pneumoniae* (20%, n=35 bzw. 16%, n=16) und *H.influenzae* (36%, n=64 bzw. 33%, n=32) waren in beiden Gruppen vergleichbar. *M.catharralis* hingegen wurde in der Gruppe mit „reichlich“ bakteriellem Wachstum anteilig häufiger nachgewiesen (27%, n=49 bzw. 37%, n=36), während *S.aureus* mit „reichlich“ bakteriellem Wachstum deutlich seltener nachgewiesen wurde als insgesamt.

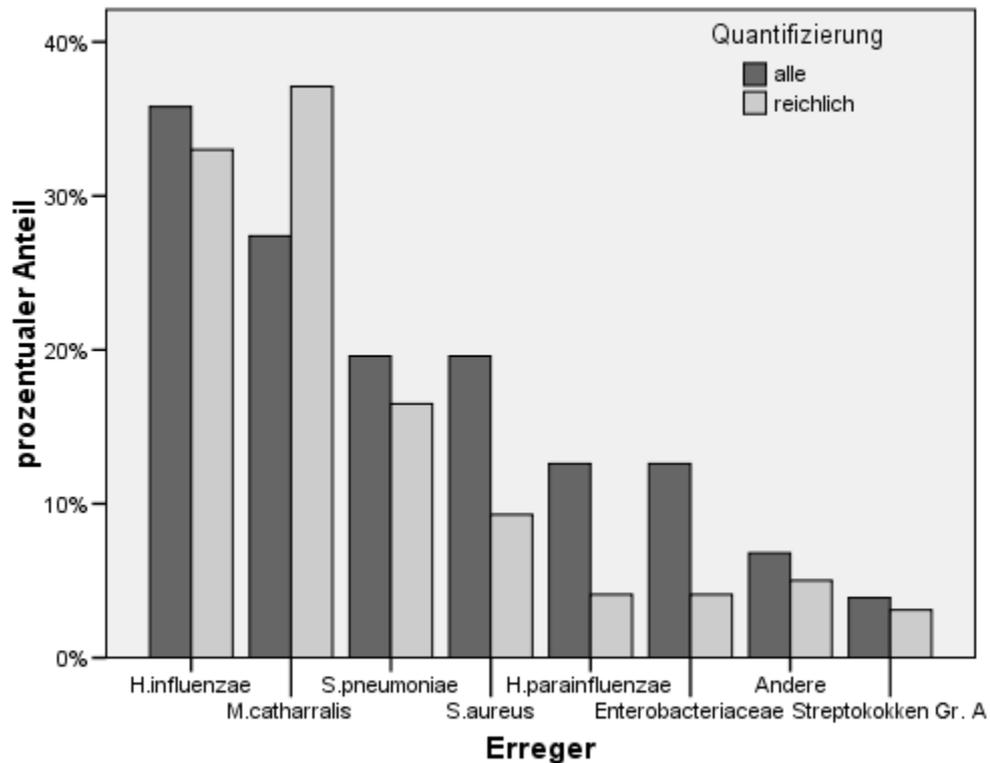


Abbildung 12: 1.NPA; Erregerverteilung aller positiver bakterieller Kulturen (n=179) und aller Kulturen mit „reichlich“ bakteriellem Wachstum (n=97)

Von den insgesamt 97 Virus-PCR negativen NPAs ist in 67 Fällen eine Kultur angelegt worden. Ein bakterielles Wachstum lag in 37 Fällen (55%) vor. Diese Nachweisquote entsprach im Wesentlichen dem Nachweis im Gesamtkollektiv (57,6%).

Reichlich bakterielles Wachstum bei negativer PCR lag in 15 Fällen vor. Hier waren *H.influenzae* und *M. catharralis* mit 40% (n=6) bzw. 46,7% (n=7) dominierend, wohingegen *S.pneumoniae* und *S.aureus* nur in 13,3% (n=2) und 6,7% (n=1) nachgewiesen wurden. Diese Verteilung unterschied sich nicht wesentlich von der Gesamtverteilung der Nachweise mit „reichlich“ bakteriellem Wachstum (s. Abb. 12).

Im Weiteren werden die Analysen auf die Kulturen mit „reichlich“ bakteriellem Wachstum beschränkt.

3.3.2 2.NPA

Eine zweite bakteriologische Kultur wurde bei 58,7% (n=237) der Patienten durchgeführt, ein positiver bakteriologischer Nachweis erfolgte hiervon in 54% (n=128), wobei in 43,8% (n=56) ein „reichliches“ bakterielles Wachstum vorlag.

Die prozentuale Verteilung der häufigsten Erreger (*H.influenzae*, *M.catharralis*, *S.aureus* und *S.pneumoniae*) ähnelte der Verteilung des ersten NPAs (s. Abb. 13). Auch hier war ein geringerer Anteil der *S.aureus* Nachweise in den Kulturen mit „reichlich“ bakteriellem Wachstum im Vergleich zu allen positiven Kulturen insgesamt zu beobachten (18,8%, n=24 bzw. 5,36%, n=3).

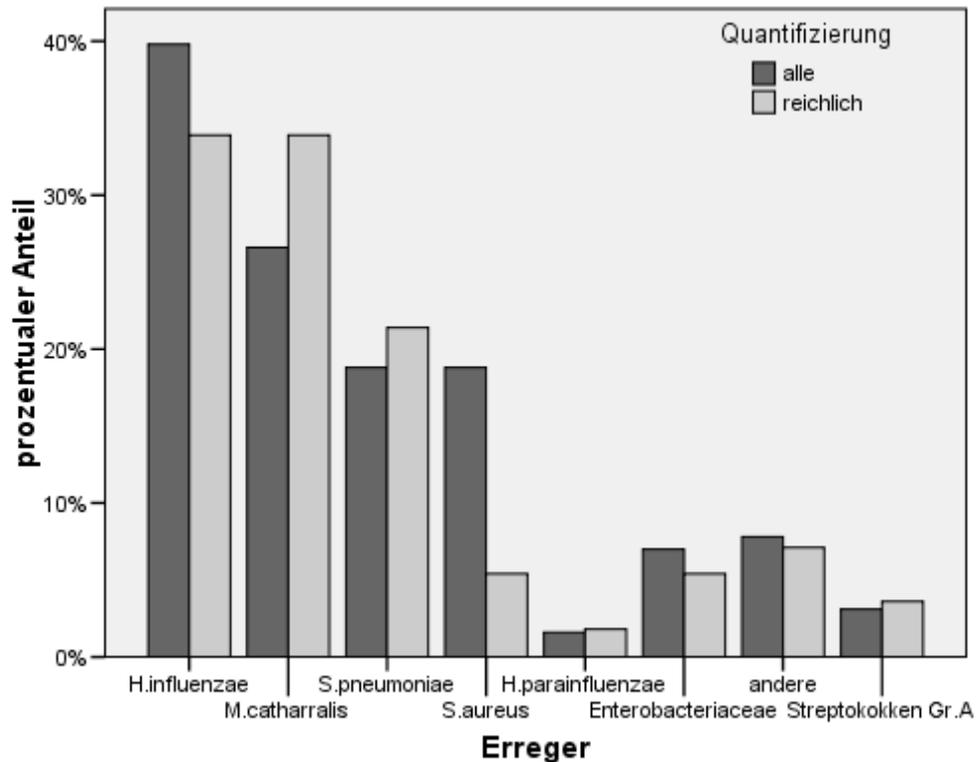


Abbildung 13: 2.NPA; Erregerverteilung aller positiver bakterieller Kulturen (n=128) und aller Kulturen mit „reichlich“ bakteriellem Wachstum (n=56)

3.3.3 Zusammenhang zwischen den mikrobiologischen Kulturergebnissen und dem viralen Infektionsmodus

3.3.3.1 RSV- und Rhinovirusinfektionen

Betrachtet man die Nachweishäufigkeit von „reichlich“ bakteriellem Wachstum bei Rhinovirus im Vergleich zu RSV-Infektionen, fällt auf, dass *S.pneumoniae* bei RSV Infektionen insgesamt seltener als bei Rhinovirus-Infektionen (10% vs. 28%) detektiert wurde, wobei hier die Fallzahlen mit n=7 bzw. n=4 zu gering waren für eine klare statistische Analyse. Im Gegenzug erfolgte bei RSV-Infektionen häufiger der Nachweis von *H.influenzae* als bei Rhinovirus-Infektionen (37%, n=15 bzw. 20% n=5) (s. Abb. 14).

3.3.3.2 Virale Mono- und Koinfektionen

Bei den drei dominierenden bakteriellen Erregern *M.catharralis*, *S.pneumoniae* und *H.influenzae* bestand eine Verschiebung der Nachweishäufigkeiten in Abhängigkeit vom viralen Infektionsmodus.

Fasst man alle viralen Infektionen zusammen, so dominierten in den Monoinfektionen (n=63) *H.influenzae* mit 33% (n=21), gefolgt von *M.catharralis* mit 28,6% (n=18) und *S.pneumoniae* mit 15,9% (n=10). Bei Koinfektionen (n=19) kam es zu einer Verschiebung der Häufigkeiten zugunsten von *M.catharralis* mit einer Nachweishäufigkeit von 57,9% (n=11), die Nachweishäufigkeit von *S.pneumoniae* stieg auf 21% (n=4) und damit weniger deutlich an. Für diese beobachtete Verlagerung bestand aufgrund der niedrigen Fallzahlen jedoch keine statistische Signifikanz.

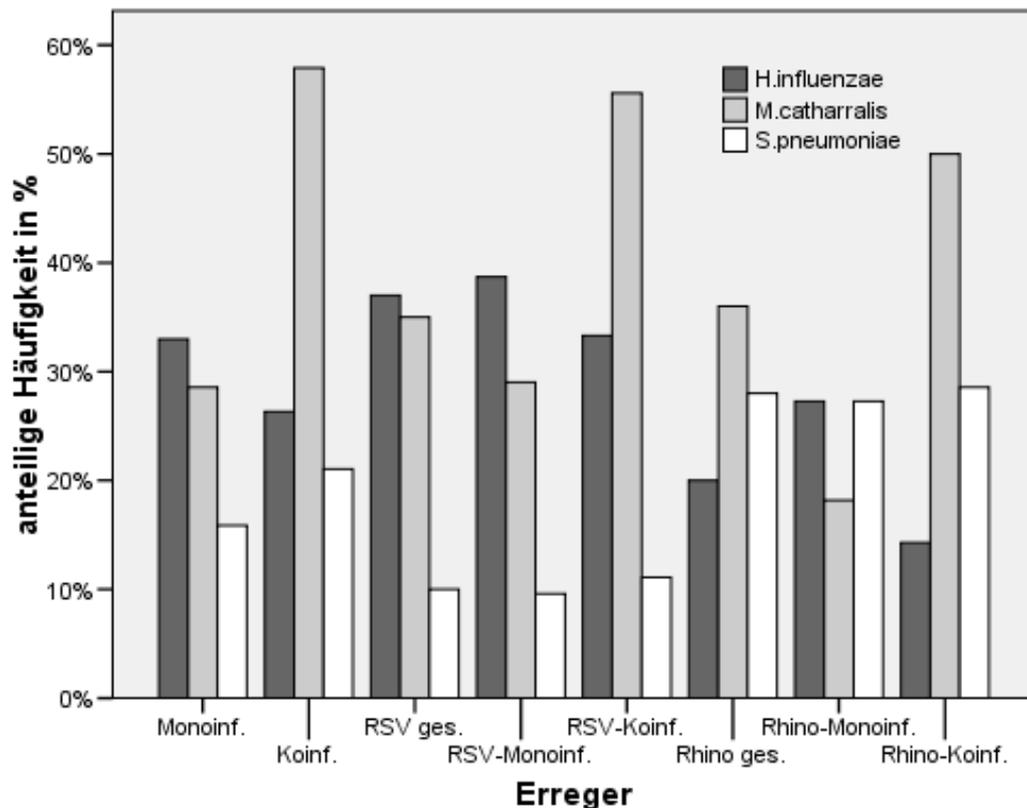


Abbildung 14: Nachweishäufigkeit der häufigsten bakteriellen Erreger mit „reichlichem Wachstum“ im Vergleich von viralen Mono- und Koinfektionen

3.3.4. Zusammenhang zwischen den mikrobiologischen Kulturergebnissen und den klinischen Charakteristika

Untersucht wurde, ob bei Patienten mit Nachweis von „reichlich“ bakteriellem Wachstum im NPA gehäuft ein erhöhtes CrP, Fieber über 38,5°C oder eine

antibiotische Behandlung bestand. Das Vorliegen eines CrPs von über 5 mg/dl und von Fieber war in der Gruppe ohne Nachweis eines Bakteriums in der Kultur und in der Gruppe mit „reichlich“ bakteriellem Wachstum ähnlich häufig (s. Tabelle 10). Eine antibiotische Therapie wurde in der Gruppe mit negativer bakteriologischer Kultur mit 55% (n=73) um 10% häufiger als in der Gruppe mit „reichlich“ bakteriellem Wachstum durchgeführt. Die Diagnose einer Pneumonie wurde ebenfalls gehäuft in der Gruppe ohne bakterielles Wachstum gestellt (45%, n=59 vs. 35%, n=34). Alle Ergebnisse sind jedoch nicht statistisch signifikant.

Tabelle 10: Es besteht kein Einfluss des bakteriellen Wachstums auf die Höhe des CrPs, Vorhandensein von Fieber, antibiotische Therapie oder Pneumonie

	bakterielles Wachstum ges.	reichlich bakterielles Wachstum	kein bakterielles Wachstum
	n=179	n=97	n=133
CrP > 5 mg/dl	13,4%	16,5%	18,2%
Fieber >38,5C°	39,6%	45,4%	46,2%
Antibiotische Therapie	45,4%	46,4%	55,0%
Pneumonie	36,4%	35,0%	44,7%

3.4 Gegenüberstellung der klinischen Charakteristika verschiedener Infektionsmodi

3.4.1 RSV- und Rhinovirus-Monoinfektionen

Wegen geringerer Fallzahlen der Monoinfektionen anderer Viren erfolgte nur die Gegenüberstellung der RSV- und Rhinovirus-Infektionen.

Patienten mit RSV-Monoinfektionen waren signifikant jünger und – wenn auch statistisch nicht signifikant – häufiger weiblich als Patienten mit Rhinovirus-Monoinfektion (0,5 vs. 1,4 Jahre, $p < 0,001$; 48% (n=62) vs. 32% (n=18), $p = 0,054$). Relevante Grunderkrankungen bestanden signifikant häufiger bei Patienten mit Rhinovirus-Infektionen (64,9%; n=37 vs. 36%, n=48 $p < 0,001$) (s. Tabelle 11). In der Gruppe der RSV-Infektionen dominierte die Frühgeburtlichkeit mit 66,6% (n=32) als zugrunde liegender Risikofaktor, in der Gruppe der Rhinovirusinfektionen lagen rezidivierende obstruktive Bronchitiden mit 59% (n=22) gehäuft vor.

In der klinischen Symptomatik zeigten sich keine relevanten Unterschiede zwischen den beiden Erregern (s. Tabelle 11). Die Diagnose Pneumonie wurde in 29% (n=38) der RSV- und in 31,6% (n=18) der Rhinovirus- Monoinfektionen

gestellt. Während sich laborchemisch keine Unterschiede im CrP fand, zeigten Patienten mit einer Rhinovirus-Infektion häufiger eine Leukozytose (21,4%, n=28 vs. 45,6%, n=26, p<0,001). Beim Therapieregime wurden bei Rhinovirus-Infektionen signifikant häufiger systemische Kortikosteroide eingesetzt (19,1%, n=25 vs 36,8% n=,21 p=0,016). Die Dauer des Krankenhausaufenthaltes betrug bei RSV-Infektionen im Median einen Tag länger als bei Rhinovirus-Infektionen (5 vs. 4 Tage, p=0,001).

Tabelle 11: Gegenüberstellung von RS- und Rhinovirus-Monoinfektionen

	RSV	RV	p-Wert
N	131	57	
Alter (Median)	0,5	1,4	<0,001
Männlich (%)	69 (52,7)	39 (68,4)	0,054
Pneumonie (%)	38 (29,0)	18 (31,6)	0,731
Rel. Grunderkrankung (%)	48 (36)	37 (64,9)	<0,001
antibiotische Therapie (%)	53 (40,5)	21 (36,6)	0,746
Bronchodilatoren (%)	112 (85,4)	52 (91,2)	0,470
Kortikosteroide (%)	25 (19,1)	21 (36,8)	0,016
Röntgen Thorax (%)	53 (40,5)	28 (49,1)	0,336
Fieber >38.5°C (%)	50 (38,1)	21 (36,8)	0,871
CrP >5 mg/dl	12 (9,2)	9 (15,8)	0,323
O ₂ -Bedarf	56 (42,7)	18 (31,6)	0,254
Leukozytose (%)	28 (21,4)	26 (45,6)	<0,001
Liegedauer (Tage, Median)	5	4	0,001

3.4.2 Virale Mono- und Koinfektionen

Aufgrund der Fallzahlen beschränken sich alle folgenden Analysen auf RS-, Boca-, Adeno- und Rhinoviren.

Patienten mit RSV-Koinfektionen waren relativ gesehen fast doppelt so alt wie an RSV-Monoinfektionen erkrankte Patienten (medianes Alter 0,5 vs. 0,8 Jahre, p=0,015) (s. Tabelle 12). Auch fanden sich bei RSV-Koinfektionen im Vergleich zu Monoinfektionen häufiger Pneumonien (29%, n=38 vs. 51,7%, n=15, p=0,05), die auch öfter mit Fieber >38,5 C° (38,2%, n=50 vs. 69%, n=20, p=0,004) und einer

Leukozytose (21,4 %, n=28 vs. 48,3%, n=14, p=0,004) einhergingen (s. Tabelle 12).

Tabelle 12: Gegenüberstellung von Mono- und Koinfektionen der vier häufigsten Erreger

	RSV Mono	RSV Ko.	p-Wert	RV Mono	RV Ko.	p-Wert	HBoV Mono	HBoV Ko.	p-Wert	HAdV Mono	HAdV Ko	p-Wert
N	131	29		57	30		9	19		9	19	
Alter (Median)	0,5	0,8	0,015	1,4	1,0	0,324	1,2	1,1	0,9	1,1	1,1	0,7
Männlich (%)	68 (51,9)	19 (65,5)	0,22	39 (68,4)	16 (53,3)	0,24	5 (55,5)	12 (63,1)	1	8 (88,9)	13 (68,2)	0,37
Pneumonie (%)	38 (29,0)	15 (51,7)	0,05	18 (31,6)	10 (33,3)	1	7 (77,8)	10 (52,6)	0,25	7 (77,8)	10 (52,6)	0,25
Grunderkr. (%)	48 (34)	9 (31)	0,24	37 (64)	13 (43)	0,07	2 (22,2)	7 (36,8)	0,67	5 (55)	7 (36,8)	0,43
Antibiotische Therapie (%)	53 (40,5)	20 (69)	0,007	21 (36,6)	12 (40)	0,82	7 (77,8)	6 (31,6)	0,67	8 (88,9)	9 (47,4)	0,049
Bronchodilatoren (%)	112 (85,4)	26 (89,6)	0,56	52 (91,2)	27 (90)	0,18	8 (88,9)	18 (94,7)	1	3 (33,3)	16 (84,2)	0,013
Kortikosteroide (%)	25 (19,1)	6 (20,7)	0,8	21 (36,8)	11 (36,7)	1	1 (11,1)	12 (63,2)	0,37	2 (22,2)	9 (47,4)	0,25
Röntgen-Tx (%)	53(40,5)	16 (55,2)	0,15	28 (49,1)	15 (50)	1	7 (77,8)	12 (63,2)	0,67	8 (88,9)	13 (68,4)	0,37
Fieber ≥38.5°C (%)	50 (38,2)	20 (69)	0,004	21 (36,8)	11 (36,6)	0,64	6 (66,7)	12 (63,2)	1	7 (77,8)	10 (52,6)	0,22
CRP ≥5 mg/dl (%)	13 (9,9)	4 (13,8)	0,49	9 (15,8)	1 (3,3)	0,15	4 (44,4)	2 (10,5)	0,06	4 (44,4)	2 (10,5)	0,07
O₂-Bedarf (%)	56 (42,7)	12 (41,4)	1	18 (31,6)	15 (50)	0,11	2 (22,2)	7 (36,8)	0,42	2 (22,2)	5 (26,3)	1
Leukozytose (%)	28 (21,4)	14 (48,3)	0,004	26 (45,6)	20 (66,6)	0,26	5 (55,6)	8 (42,1)	0,69	4 (44)	10 (52,6)	0,68
Liegedauer (Tage, Median)	5	5	0,55	4	4	0,11	5	5	0,212	5	5	0,92

Adenovirus-Monoinfektionen wurden eher antibiotisch therapiert als Koinfektionen (88,9%, n= 8 vs. 47,4%, n=9; $p=0,049$) und das CrP lag um 30% häufiger über 5 mg/dl, wobei dieses Ergebnis das Signifikanzniveau nicht erreichte ($p=0,07$).

Im Falle der Bocavirus-Infektionen bestand ebenfalls beim Auftreten von Monoinfektionen tendenziell ein erhöhtes CrP von über 5 mg/dl (44,4%, n=4 vs. 10,5%, n=2), wegen der geringen Fallzahlen ergab sich hierfür jedoch ebenfalls keine statistische Signifikanz ($p=0,06$). Darüber hinaus fanden sich weder bei Adeno- noch bei Bocaviren wesentliche Unterschiede (s. Tabelle 12).

Rhinovirus-Monoinfektionen unterschieden sich hinsichtlich der untersuchten Parameter nicht von Koinfektionen.

3.4.3 Virale/bakterielle Monoinfektionen und virale/bakterielle Koinfektionen

Es erfolgte die Analyse der NPAs mit einem alleinigen viralen Nachweis (n=103), einem alleinigen bakteriellen Nachweis (n=37) und dem gleichzeitigen Nachweis eines bakteriellen und viralen Erregers (n=142). Als bakterieller Nachweis wurde hier jegliches kulturelles Wachstum unabhängig von der Semiquantifizierung gewertet.

Es fanden sich hauptsächlich relevante Unterschiede im Vergleich von bakterieller/viraler Koinfektion zur alleinigen Detektion eines der beiden Mikroorganismen (s. Tabelle 13). So war die Liegedauer bei Koinfektionen signifikant um einen Tag länger als bei alleiniger viraler Detektion ($p=0,036$), darüber hinaus bestand bei Koinfektion tendenziell häufiger Fieber (43% vs. 31% bzw. 27%), wobei dieser Unterschied nicht das Signifikanzniveau erreichte ($p=0,06$ bzw. 0,091). Patienten bei denen kein Virus im NPA nachgewiesen wurde waren älter als solche mit viraler Monoinfektion oder bakteriell/viraler Koinfektion, Signifikanz bestand hierbei im Vergleich von Koinfektionen und bakterieller Monoinfektion (0,72 vs. 1,24 Jahre, $p=0,042$).

Tabelle 13: Gegenüberstellung des Krankheitsverlaufes von Monoinfektionen (viral oder bakteriell) und viraler/bakterieller Koinfektion

	Koinf.	Nur Viren	Nur Bakterien	p-Wert
n	142	103	37	
Liegedauer (Median)	5	4	5	0,036 (Koinf./Viren)
Alter(Median)	0,72	0,88	1,24	0,042 (Koinf./Bak.)
Pneumonie (%)	49 (34,5)	37 (35,9)	15 (40,5)	n.s.
rel. Grunderkrankung (%)	49 (34,5)	25 (24,3)	13 (35,1)	n.s.
O₂-Bedarf (%)	46 (32,4)	33(32,03)	9 (24,3)	n.s.
CrP >5mg/dl (%)	16 (11,2)	16(15,5)	8 (21,6)	n.s.
Leukozytose (%)	47 (33,1)	34(33)	17 (45,9)	n.s.
Röntgen-Tx (%)	69 (48,6)	57(55)	21 (56,8)	n.s.
Fieber >38,5C (%)°	61 (43)	32(31)	10 (27)	0,06 (Koinf./Viren)
antib. Therapie (%)	61 (43)	43(41,7)	20 (54,1)	n.s.

4. Diskussion

Im Rahmen dieser Dissertation wurden epidemiologische Daten zur Ätiologie von tiefen Atemwegserkrankungen bei Kindern über einen Zeitraum von zwei Jahren erfasst. Neben den klinischen Charakteristika wurden sowohl bakterielle Erreger kulturell als auch virale Erreger mittels Multiplex-PCR simultan erfasst. Auf diese Weise wird das Bild zur Ätiologie tiefer Atemwegserkrankungen bei Kindern erweitert.

4.1 Charakteristika des Patientenkollektivs

Die epidemiologischen Charakteristika des Patientenkollektivs bezüglich der Geschlechterverteilung und dem Vorliegen einer Grunderkrankung entsprachen im Wesentlichen zuvor veröffentlichten Daten [7, 13, 18, 121].

Der Altersmedian lag mit 0,8 Jahren im Vergleich zu anderen Publikationen etwas niedriger [59, 122, 123]. Ursächlich für diese Diskrepanz ist vermutlich, dass es in dieser Studie im Vergleich zu anderen Arbeiten bei den Einschlusskriterien keine Altersbeschränkung nach unten gab und auch keine adulten Patienten aufgenommen wurden.

Pneumonien machten mit 40% einen vergleichsweise geringen Anteil an LRI aus [6, 124]. Da die Durchführung eines Röntgen-Thorax-Bildes im Studienprotokoll optional war, wurde in einem Großteil (n=185, 76%) der Fälle in denen klinisch eine obstruktive Bronchitis diagnostiziert wurde, kein Röntgen-Thorax -Bild durchgeführt. Es besteht daher die Möglichkeit, dass radiologisch, aber nicht auskultatorisch nachweisbare Infiltrate, unterdiagnostiziert wurden. Der hohe Anteil an Bronchitiden basiert vermutlich auf dem wie bereits erwähnt niedrigem Altersmedian der Studie, da diese Krankheitsentität im ersten Lebensjahr bekanntermaßen häufiger auftritt als Pneumonien [6].

4.2 Qualitative Ergebnisse der PCR

In insgesamt 76% der gewonnenen Proben konnte in dieser Studie wenigstens ein respiratorisches Virus nachgewiesen werden. Dies ist vergleichbar mit der mittleren Detektionsrate von 66 bis 89% aus vorhergehenden Studien [42, 125]. In 19% der viruspositiven PCRs lag eine virale Koinfektion vor. Voruntersuchungen

beschreiben ähnliche Häufigkeiten von 5-20% [121, 126, 127]. In zwei Studien mit einer deutlich höheren Koinfektionsrate von bis zu 47% schloss die Probenentnahme auch ambulante Patienten ein, so dass das Patientenkollektive nicht direkt mit dieser Studie vergleichbar sind [122, 128].

Bezüglich der Saisonalität fanden wir erwartungsgemäß eine erhöhte Inzidenz in den Winter- und Frühjahrsmonaten [129, 130].

4.2.1 Prävalenz und Bedeutung der einzelnen viralen Erreger

4.2.1.1 RSV

Der häufigste Grund für eine Hospitalisierung in dieser Studie war eine RSV-Infektion (52%). Dies übertrifft noch die in der Literatur bekannten Häufigkeit von 31-42% und unterstreicht erneut den Stellenwert von RSV als häufigsten Erreger in der Pathogenese tiefer Atemwegserkrankungen [42, 129]. Ein Grund für die etwas höhere Nachweisquote in dieser Studie mag an dem im Vergleich zu den anderen Arbeiten niedrigerem Altersmedian von 0,8 Jahren liegen.

Der stärkste der hier beobachteten epidemiologischen Risikofaktoren für eine RSV-Infektion war die Prämaturität, was bereits in vorhergehenden Studien berichtet wurde [131, 132]. Beide RSV-Serovare konnten parallel und insgesamt gleich häufig nachgewiesen werden, wobei in der Saison 2006/07 das Serovar B dominierte und in der Saison 2007/08 Serovar A. Dies ist in Übereinstimmung mit vorhergehenden Arbeiten [132]. Interessanterweise konnte das RSV-Serovar B häufiger bei männlichen Patienten nachgewiesen werden und war auch häufiger mit Fieber assoziiert. Im Vergleich zu vorhergehenden Studien konnten wir allerdings keine Unterschiede im Schweregrad des Krankheitsverlaufes nachweisen [131]. In der Studie von Walsh et al. wurden allerdings nur Kinder bis zu einem Alter von 24 Monaten eingeschlossen, dadurch bedingt lag der Altersmedian etwa 13 Wochen unter dem unseres Kollektivs. Das macht die beiden Patientengruppen nicht direkt miteinander vergleichbar. Bei Walsh et al. lagen die im Wesentlichen beschriebenen Unterschiede zwischen den beiden Serovaren in der Höhe des pCO₂, der Häufigkeit einer invasiven Beatmung und in einem sich aus verschiedenen Faktoren zusammensetzenden Schweregrad-Index. Keiner dieser Parameter war Bestandteil unserer Untersuchung. Schlussendlich sind die Analysen somit nicht gegenüberzustellen und es kann

keine Aussage darüber getroffen werden, ob die Ergebnisse tatsächlich diskrepant sind.

4.2.2.2 Rhinoviren

Rhinoviren waren mit 28% der am zweithäufigsten nachgewiesene Erreger. Dies entspricht den Erfahrungen aus anderen Studien [133, 134]. Das mittlere Erkrankungsalter lag deutlich höher als bei Patienten mit RSV-Infektion. Dies liegt darin begründet, dass Primärinfektionen mit RSV zu 60-80% im ersten Lebensjahr erfolgen und zu diesem Zeitpunkt zu schwerwiegenderen und eher hospitalisationspflichtigen Infektionen führen als Reinfektionen im weiteren Verlauf [25, 133]. Der Krankheitswert von Rhinoviren ist jedoch aktuell umstritten, da auch bei 12 bis 20% aller asymptomatischen Kinder Rhinoviren nachweisbar sind [16, 29, 135]. In unserem Patientenkollektiv fand sich jedoch bei 32% der Rhinovirus-Infektionen eine radiologisch nachgewiesene Pneumonie. Auch fanden sich keine Unterschiede in der Krankheitsschwere zwischen RSV- und Rhinovirus-Monoinfektionen, so dass unseren Daten zufolge Rhinoviren ein wichtiger ätiologischer Faktor für Infektionen der unteren Luftwege sind. Diese Annahme wird von einigen weiteren Studien unterstützt. So konnten Tsolia et al. in 34% der wegen einer Pneumonie hospitalisierten Patienten Rhinoviren nachweisen [60]. Calvo et al. detektierten Rhinoviren mit 25% ebenfalls häufig bei hospitalisierten Kindern in Spanien, wobei der Anteil an Pneumonien mit 3,5% hier deutlich niedriger lag [27]. Ursache für diese Diskrepanz ist jedoch mit großer Wahrscheinlichkeit die abweichende diagnostische Definition einer Pneumonie. Bei Calvo et al. fielen nur radiologisch gesicherte Pneumonien ohne obstruktive Komponente unter die Krankheitsentität Pneumonie. Radiologische Bilder im Sinne einer Pneumonie, aber mit klinisch obstruktiver Komponente wurden den obstruktiven Bronchitiden zugerechnet. Um die Frage der pathogenen Relevanz von Rhinoviren endgültig klären zu können, müssten jedoch Studien mit gesunden Kontrollgruppen durchgeführt werden.

Bezüglich chronisch obstruktiver Lungenerkrankungen gilt eine Assoziation von Rhinovirus-Infektionen zu akuten Exazerbationen als erwiesen [28]. Dies konnten wir auch in unserem Studienkollektiv bestätigen, in dem bei 38% der Patienten rezidivierende obstruktive Bronchitiden beschrieben wurden. Hierdurch mag auch der signifikant häufigere Einsatz systemischer Kortikosteroide bei diesen Patienten

bedingt sein. Obwohl die therapeutische Verwendung bei LRI, insbesondere bei RSV-Infektionen, wiederholt kritisch diskutiert wurde [136, 137], konnte im Falle von Picornavirus-Infektionen (Entero- und Rhinoviren) ein Nutzen nachgewiesen werden [138]. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre die Assoziation von Rhinoviren zu rezidivierenden obstruktiven Bronchitiden.

4.2.2.3 Bocaviren

In unserer Studie lag die Nachweishäufigkeit von Bocaviren mit 9% im Rahmen bereits bekannter Daten [129]. Seit seiner Erstbeschreibung im Jahr 2005 [139] wird der ätiologische Zusammenhang von Bocavirus-Nachweisen und klinischer Symptomatik diskutiert. Insbesondere wegen des wiederholt beschriebenen hohen Anteils an Koinfektionen - nach unseren Daten in fast 70% - ist eine klare Zuordnung der pathogenen Rolle des Virus im Rahmen von LRI derzeit schwierig [42]. Interessanterweise waren 78% der Patienten mit Bocavirus-Monoinfektion wegen einer Pneumonie in Behandlung. Allerdings muss hier einschränkend hinzugefügt werden, dass die Gesamtzahl an Patienten mit Bocavirus-Monoinfektionen mit 9 Fällen sehr niedrig war, so dass aus dieser Beobachtung keine unmittelbaren Schlussfolgerungen gezogen werden sollten. Allerdings berichten Ursic et al. ähnliche Erfahrungen [140] und Deng et al. konnten in 24,6% bei Patienten mit schwerwiegenden LRI Bocaviren in den tiefen Atemwegen nachweisen [141], so dass die Rolle von Bocaviren bei der Entstehung schwerwiegender LRI im klinischen Alltag zumindest in Erwägung gezogen werden sollte.

Dem entgegen fanden sich in einer weiteren Studie bei Patienten mit Atemwegsinfektionen (URI und LRI) nur in 10% Bocaviren im Vergleich zu 17% in der gesunden Kontrollgruppe [130]. Allerdings bestanden Monoinfektionen mit Bocaviren deutlich häufiger bei symptomatischen Patienten als in der Kontrollgruppe (29% vs. 7%). Die Autoren schlussfolgern aus diesem Ergebnis, dass nur bei Monoinfektionen ein Zusammenhang zwischen Bocavirus-Nachweis und respiratorischer Symptomatik gesehen werden kann [130]. Eine Erklärung für dieses Phänomen könnte die nach Infektion lange, teilweise bis zu mehrere Monate dauernde Virusausscheidung sein [142].

4.2.2.4 Adenoviren

Die Adenovirus-Nachweisquote lag bei 9,1% und entspricht damit bereits publizierten Daten [18, 60]. Interessanterweise fanden sich auch hier in 68% der Fälle virale Koinfektionen. Eine mögliche Ursache hierfür kann, ähnlich den Bocaviren, die Persistenz im lymphoiden Gewebe (z.B. Tonsillen) und eine dadurch bedingte prolongierte Ausscheidung sein [143]. Der Anteil an Pneumonien bei Adenovirus-Monoinfektionen lag mit 78% (n=7) hoch, aber noch im Rahmen bereits bekannter Ergebnisse [144]. Auch wenn – ähnlich den Bocaviren – die Patientenzahl niedrig war, so spricht doch der hohe Anteil an Pneumonien für eine nicht unwesentliche Rolle von Adenoviren in der Genese schwerwiegender LRI.

4.2.2.5 Influenza A und B

Influenza Viren (A und B) konnten in unserer Studie nur in 3,6% der Fälle nachgewiesen werden. Während mehrere Studien ähnlich niedrige Fallzahlen berichten [133, 145], fand sich in einer weiteren deutschen Studie mit 13,4% ein deutlich höherer Anteil [6]. Die Ursache für diese Diskrepanz liegt vermutlich einerseits darin, dass Schulkinder, bei denen Influenzainfektionen besonders häufig auftreten, in unserem Patientenkollektiv wegen des jüngeren Altersmedians unterrepräsentiert waren. Andererseits ist für Influenza B-Infektionen eine ausgeprägte Rhythmizität mit einer Zyklusdauer von 3-4 Jahren beschrieben, so dass es denkbar wäre, dass unsere über zwei Jahre angelegte Studie in einer interendemischen Phase lag [146].

4.2.2.6 Enteroviren

Bei ca. 6% der Patienten konnten Enteroviren nachgewiesen werden. Während die Nachweisrate bei Piralla et al. mit 2% von 935 Patienten mit respiratorischen Symptomen insgesamt und 1% bei Patienten mit Infektionen der tiefen Atemwege deutlich niedriger lag [123], konnten in einer weiteren Studie in 11,6% Enteroviren im Nasopharyngealsekret nachgewiesen werden [38]. Da in dieser Studie etwa 44% der Fälle viralen Meningitiden zuzuordnen waren, liegt der Anteil an Enterovirus-Nachweisen bei Patienten mit respiratorischen Symptomen in ähnlichen Dimensionen wie in unserer Studie. In der gleichen Arbeit werden

darüber hinaus erhebliche saisonale Unterschiede der Enterovirus-Infektionsraten von 3-31% beschrieben [38]. Insgesamt scheinen Enteroviren für Infektionen der tiefen Atemwege damit eher von untergeordneter Bedeutung zu sein.

4.2.2.7 HMPV

Die HMPV-Nachweisquote bewegte sich mit 5,6% ebenfalls in zuvor beschriebenen Dimensionen [115, 147, 148]. Andere Arbeiten, in denen HMPV als zweithäufigster Erreger obstruktiver Bronchitiden beschrieben wird, weisen methodische Schwachpunkte auf. In der Arbeit von Laham et al. wurden beispielsweise viele Viren, die sich in anderen Arbeiten als relevant erwiesen haben (z.B. Rhinovirus, Adenovirus), nicht erfasst [149]. In einer anderen Publikation erfolgte der HMPV-Nachweis mittels PCR und die Testung auf RSV mittels Immunfluoreszenz. Da im Vergleich beider Verfahren die PCR eine deutlich höhere Sensitivität besitzt, entsteht hier ein Bias mit einer Verschiebung zugunsten von HMPV [150]. Der Verwandtschaft zu RSV entsprechend, ähnelten sich auch hier die Charakteristika von HMPV- und RSV-Infektionen [115, 151]. Dass es sich bei den HMPV-Nachweisen größtenteils (88%) um Monoinfektionen handelt, spricht für einen kausalen Zusammenhang zum vorliegenden LRI.

4.2.2.8 Coronaviren

Die Coronavirus-Subtypen OC 43, NL 63 und 229 E konnten insgesamt nur in 2,3% nachgewiesen werden. Leicht höhere Nachweisquoten von 3-4% sind durch andere Autoren beschrieben [13, 104]. Arbeiten, welche auch die jüngst beschriebene Spezies HCoV-HKU 1 erfassten, konnten in 6% der Proben Coronaviren nachweisen [152]. Sollte sich bestätigen, dass diese Spezies tatsächlich für etwa 50% der Coronavirus-Infektionen verantwortlich ist, wäre eine Erweiterung des diagnostischen Spektrums für zukünftige Untersuchungen sicherlich sinnvoll.

Bei 85% der Coronavirus-Infektionen handelte es sich um Koinfektionen. Einschränkend ist auch hier die geringe Fallzahl (n=7) zu erwähnen. Eine hohe Koinfektionsrate von ca. 70% in einem Kollektiv mit deutlich größeren Coronavirus-Fallzahlen konnten jedoch auch Jevsnik et al. bestätigen [152].

4.2.2.9 Parainfluenza

Bei den insgesamt 20 Parainfluenzavirus-Nachweisen dominierten Parainfluenza Typ 3 Infektionen. Dies überrascht nicht, denn bekanntermaßen verursacht PIV Typ 3, vor allem bei Säuglingen, RSV-ähnliche Krankheitsbilder, während Parainfluenza Typ 1 und 2 zu Laryngotracheobronchitiden führen, die in der Regel nicht im stationären Rahmen therapiert werden müssen [39]. Hiermit im Einklang steht der niedrige Altersmedian der Patienten mit PIV-Infektion. Parainfluenzaviren machen bei hospitalisierten Studienpopulationen generell eher einen geringen Anteil aus, nichtsdestotrotz liegt der Anteil an PIV-Infektionen bei hospitalisierten Patienten mit knapp 7% ebenso hoch wie der Anteil an Influenzainfektionen [153].

4.2.2 Koinfektionen

Bei den Koinfektionen handelt es sich in der überwiegenden Mehrzahl um Mischinfektionen zweier Erreger (87,9%). Am häufigsten waren RSV, Bocaviren, Rhinoviren, Entero- und Adenoviren an Koinfektionen beteiligt. Interessanterweise fanden sich keine viralen Koinfektionen zwischen Mitgliedern der Ortho- (Influenza) und Paramyxoviren (RSV, HMPV, Parainfluenza).

Bezogen auf die einzelnen Erreger waren RS- und Rhinoviren absolut gesehen mit 29 bzw. 30 Fällen am häufigsten in Koinfektionen involviert. Gleichzeitig waren die Gesamtnachweisraten bei diesen Erregern auch am höchsten, so dass bezogen auf die Gesamthäufigkeit andere Viren deutlich öfter an Koinfektionen beteiligt waren. Dies galt insbesondere für Adeno- und-Bocaviren, bei denen der Anteil an Infektionen mit mehr als einem Virusnachweis etwa zwei Drittel der Fälle ausmachte, bei Enterovirus-Infektionen sogar 89%. Etwas überraschend lag der Anteil an Enterovirus-Mischinfektionen - in 14 von 16 Fällen in Kombination mit Rhinoviren - in unserer Studie sehr hoch und deutlich höher als in anderen Studien [123]. Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass der Anteil in unserer Studie aufgrund einer Kreuzreaktivität in der PCR, basierend auf der engen Verwandtschaft zwischen Rhino- und Enteroviren, überschätzt wurde. Trotzdem scheinen Enteroviren relativ häufig an Koinfektionen beteiligt zu sein, wie auch eine Arbeit von Jartti et al., die einen hohen Anteil an Enteroviren an Mischinfektionen zeigte, nahelegt [133].

Da die Frage, ob eine Misch- bzw. Mehrfachinfektion einen Einfluss auf den Krankheitsverlauf hat, von besonderer klinischer Bedeutung ist, korrelierten wir

dies mit dem Krankheitsverlauf. Hierbei konnten wir im Falle der Rhinoviren keinerlei Unterschiede zwischen Mono- und Mischinfektion feststellen. Dies deckt sich mit bereits bekannten Daten [28, 125]. Demgegenüber war der Krankheitsverlauf im Falle von RSV-Koinfektionen jedoch mit einer fast zweifach erhöhten Pneumonie-Rate deutlich schwerwiegender als bei RSV-Monoinfektionen. Dies steht im Einklang mit einer vorhergehenden Studie von Calvo et al., in der ebenfalls ein deutlich schwerer Krankheitsgrad bei Ko- versus Monoinfektionen mit RSV beobachtet wurde [154]. Widersprüchlich dagegen sind von Martin et al. präsentierte Daten, die ein erhöhtes Risiko für eine Sauerstofftherapie und einen längeren Krankenhausaufenthalt bei Patienten mit RSV-Monoinfektionen beobachteten. Einschränkend muss hier allerdings erwähnt werden, dass die Autoren dieser Studie Monoinfektionen mit Koinfektionen unabhängig von den beteiligten Viren verglichen und auch deutlich weniger virale Erreger in ihre Studie einbezogen, so dass die beobachteten Unterschiede allein auf den Unterschieden im Studiendesign beruhen könnten [121].

Eine weitere in der Vergangenheit häufig diskutierte Frage ist, inwieweit RSV und HMPV als Koinfektionen auftreten und welchen Einfluss eine solche Koinfektion auf den Krankheitsverlauf hat. Die Studienlage ist hier sehr widersprüchlich. Während Greensill et al. bei 70% besonders schwerwiegend verlaufenden RSV-Bronchiolitiden auch HMPV mittels BAL nachweisen konnten [155], fanden Woensel et. al bei keinem von 30 wegen einer RSV-Infektion mechanisch beatmeten Patienten HMPV im Trachealsekret [156]. Letzteres deckt sich mit unseren Erfahrungen, da auch wir in unserem Kollektiv keine Koinfektionen zwischen RSV und HMPV gefunden haben.

Andere Autoren befassten sich mit dem Vergleich von Mono- und Koinfektionen bei stationär und ambulant behandelten Kindern bzw. bei Infektionen der tiefen und oberen Atemwege und konnten ein erhöhtes Risiko für eine stationäre Behandlung oder die Beteiligung der tiefen Atemwege bei Koinfektionen feststellen [122, 134, 157].

4.3 Quantitative PCR-Ergebnisse

4.3.1 Korrelation der Erregerlast zu den Parametern der Krankheitsschwere

Während die Bestimmung der Viruslast für einige, vor allem chronische, virale Erkrankungen (z.B. HIV, Hepatitis) oder bei immunsupprimierten Patienten mit disseminierter Adenovirus-Infektion [158] bereits zum Standardmonitoring der Krankheitsaktivität sowie des Therapieerfolges gehört, ist ihr Stellenwert bei akuten Virusinfektionen, insbesondere der Atemwege, derzeit noch unklar [157, 159]. In dieser Studie konnten wir keine positive Korrelation zwischen Höhe der Erregerlast und der Krankheitsschwere feststellen. Ähnliche Beobachtungen machten Martin et al. sowie Kristoffersen et al. in Bezug auf RSV-, HMPV- und Coronavirus-Infektionen [115, 134]. Der Vergleich des Risikos, an Infektionen der tiefen oder oberen Atemwege zu erkranken, stellt eine andere Herangehensweise an diese Fragestellung dar. Hier konnte in mehreren Arbeiten einiger Autoren übereinstimmend gezeigt werden, dass das Risiko für LRI mit Höhe der Erregerlast zunimmt [123, 148].

Interessanterweise fand sich in unserer Studie jedoch eine negative Korrelation zwischen RSV-Erregerlast und CrP bzw. Leukozytenzahl. Dieses Ergebnis ist jedoch insofern nicht überraschend, da RS-Viren mittels ihrer NS1- und NS2-Proteine die Induktion von Interferonen supprimieren [160, 161] und so die Immunantwort modifizieren. Dieses Ergebnis unterstreicht, dass im Falle von RSV-Infektionen die laborchemischen Entzündungswerte keine sicheren Parameter zur Diskriminierung zwischen bakteriellen und viralen Infektionen darstellen. Diese Tatsache besitzt umso größere klinische Bedeutung, da etwa 10-30% der RSV-Infektionen mit einer bakteriellen Koinfektion einhergehen [162]. Im Gegensatz zu den Ergebnissen in Bezug auf RSV fanden wir bei Adenoviren eine eindeutig positive Korrelation zwischen der Erregerlast und der Höhe des C-reaktiven Proteins (CrP). Während dieser Zusammenhang bereits in früheren Studien diskutiert wurde [35], konnten wir hier erstmals eine eindeutige Dosis-Wirkungsbeziehung nachweisen. Gleichzeitig fand sich ähnlich der von Dominguez et al. publizierten Daten in unserem Studienkollektiv bei 51% der Patienten eine ausgeprägte Leukozytose mit Zahlen von über 15.000/nl. Ein Zusammenhang zwischen Erregerlast und Vorhandensein einer Leukozytose

konnte jedoch nicht festgestellt werden. Dies erklärt, warum gerade bei Adenovirus-Infektionen häufig unnötigerweise antibiotisch behandelt wird – in unserem Studienkollektiv 61% der Patienten.

4.3.2 Viruslast im klinischen Verlauf

Während sich die punktuelle Bestimmung der Erregerlast also nicht als sicherer Faktor zur Einschätzung der Krankheitsschwere eignet, erlauben serielle Untersuchungen der Nasopharyngealaspirate bei einem individuellen Patienten eine Aussage über die Krankheitsdynamik. Bei allen viralen Monoinfektionen, mit Ausnahme von Influenza A, kam es im Verlauf parallel zur Besserung der klinischen Symptomatik zu einem Abfall der Erregerlast. Diese Beobachtung wird auch durch andere Studien unterstützt, die ebenfalls einen Abfall der Erregerlast bei seriellen Analysen im klinischen Verlauf feststellen konnten [159, 163, 164].

4.3.3 Viruslast bei viralen Koinfektionen

Letztlich muss natürlich beim Nachweis mehrerer viraler Erreger erwogen werden, ob es sich tatsächlich um eine Koinfektion handelt oder nicht vielmehr eine Kodetektion vorliegt. Um diese Frage zu klären, kann wiederum die Quantifizierung der Viruslast herangezogen werden. Diese zeigte, dass im Falle von RSV-Koinfektionen das RS-Virus stets mit einer höheren Viruslast vertreten war. Dies entspricht Ergebnissen einer Arbeit von Utokaparch et al., nach denen bei Koinfektionen ebenfalls immer ein Virus dominierte [157].

Unbeantwortet bleibt trotzdem die Frage, ob das zweite, in niedrigerer Viruslast nachgewiesene Virus, für die Infektion mit dem anderen Virus prädisponiert, den Krankheitsverlauf beeinflusst oder ob es sich lediglich um einen „*innocent bystander*“ handelt. Theoretisch wäre aber auch ein umgekehrter Effekt denkbar, nämlich dass sich eine Koinfektion positiv auf den klinischen Verlauf auswirkt über eine Stimulation der antiviralen Wirtsantwort durch Triggerung interferonstimulierter Gene [165, 166]. Die Erregerlast der einzelnen Viren in dieser Arbeit lag im Falle einer Monoinfektion stets höher als im Falle einer Koinfektion. Dies ist zumindest ein Argument für die gegenseitige Beeinflussung der Replikation der einzelnen Viren.

In der Zukunft könnten in Bezug auf die Frage nach Koinfektion oder Kodetektion vielleicht Studien eine Antwort geben, bei denen neben der Quantifizierung der

Erregerlast gleichzeitig virusspezifische Antikörper bestimmt werden. Für Bocaviren konnte tatsächlich eine direkte Korrelation zwischen Antikörpertiter und Höhe der Viruslast nachgewiesen werden. Die Detektion einer geringen Erregerlast an Bocaviren könnte somit Ausdruck einer persistierenden Ausscheidung sein und Bocaviren sind eventuell erst ab einer bestimmten Erregerlast für eine klinische Symptomatik kausal verantwortlich [167].

4.4 Nachweis bakterieller Erreger im Nasopharynx

Insgesamt konnten in unserer Studie in 58% der nasopharyngealen Kulturen bakterielle Erreger nachgewiesen werden. Mit 36% war *H.influenzae* am häufigsten, gefolgt von *M.catharralis* mit 27,4%. *S.aureus* und *S.pneumoniae* wurden mit jeweils 19,5% gleich häufig nachgewiesen. Dies entspricht den regelmäßig auftretenden bakteriellen Pathogenen der oberen Atemwege [168, 169]. Die Bedeutung eines bakteriellen Nachweises in den oberen Atemwegen ist ebenso wie bei den Viren nicht immer klar, da der Nasopharynx regelhaft von Bakterien besiedelt wird und die oben genannten Erreger bei 27-35% asymptomatischer Menschen nachgewiesen werden können [170, 171]. Vor allem *S.aureus* kolonisiert häufig das Vestibulum Nasi nicht erkrankter Individuen [172]. Dementsprechend wurde *S.aureus* nach unseren Daten mit insgesamt 20% relativ häufig im Nasopharyngealaspirat nachgewiesen, allerdings nur zu 9,3% mit „reichlich“ bakteriellem Wachstum.

Nach unseren Erfahrungen weisen Patienten mit bakteriellem Wachstum im Vergleich zu Patienten ohne bakteriellen Nachweis im NPA nicht häufiger „klassische“ Merkmale einer bakteriellen Infektion (CrP>5mg/dl, Fieber, Vorhandensein einer Pneumonie oder Durchführung einer antibiotischen Therapie) auf, was dafür spricht, dass diese Nachweise nicht mit einer Infektion gleichzusetzen sind.

4.4.2 Interaktion zwischen viralen und bakteriellen Erregern

In 80% der Fälle mit Nachweis eines Bakteriums im NPA konnte zeitgleich ein Virus mittels PCR detektiert werden. Der Anteil, bei denen es sich tatsächlich um Koinfektionen handelt, dürfte deutlich niedriger liegen, so sind 24 - 40% an bakteriellen und viralen Koinfektionen bei Bronchiolitiden und Pneumonien beschrieben [168].

4.4.2.1 Vergleich viraler und bakterieller Monoinfektionen mit viralen/bakteriellen Koinfektionen

Wie bei den viralen Koinfektionen interessiert bei der Kodetelektion von Viren und Bakterien, inwiefern diese für besonders schwerwiegende Verläufe prädisponieren. Nach unseren Daten scheint eine Kodetelektion die Liegedauer sowie das Auftreten von Fieber zu beeinflussen. Insgesamt ist die Studienlage zur dieser Fragestellung ebenso kontrovers wie im Bereich der viro-viralen Koinfektionen. Honkinen et al. untersuchten beispielsweise Sputum bei Patienten mit radiologisch bestätigter Pneumonie und konnten keinen Unterschied im klinischen Verlauf bei bakterieller, viraler oder gemischter Infektion feststellen. Dennoch lag bei allen Patienten mit Therapieversagen eine virale/bakterielle Koinfektion vor [59]. Andere Arbeiten beschreiben im Falle gleichzeitiger bakterieller Infektion eine erhöhte Letalität oder eine längere intensivmedizinische Behandlung [113].

4.4.2.2 Assoziation bakterieller Nachweise zum viralen Infektionsmodus

Ein weiterer relevanter Punkt ist, ob bestimmte Viren für bakterielle Infektionen prädisponieren oder *vice versa* und so bestimmte Muster an bakteriellen und viralen Koinfektionen entstehen. In unserem Studienkollektiv fiel auf, dass bei Rhinovirusinfektionen häufiger simultan Pneumokokken detektiert wurden als dies bei RSV der Fall war. Im Falle von RSV-Infektionen hingegen war ein *H. influenzae* Nachweis häufiger. Andere Arbeiten haben ebenfalls eine positive Assoziation zwischen Rhinovirus- und Pneumokokken-Detelektion nachweisen können [59, 169]. Eine weitere interessante Beobachtung in unserer Arbeit ist die Verschiebung der Häufigkeiten der bakteriellen Nachweise in Abhängigkeit vom viralen Infektionsmodus. So war bei viralen Koinfektionen deutlich häufiger *M. catharralis* nachweisbar als bei Monoinfektionen (57,9% vs. 28,6%). Vergleichbare Studien, die diesen Aspekt viraler und bakterieller Koinfektionen untersucht haben, existieren bis dato nicht. Die Beobachtung unterstützt jedoch die Hypothese, dass virale und bakterielle Infektionen sich gegenseitig beeinflussen. Daher sind klinische Studien notwendig, welche bei der Erforschung der Ätiologie von Atemwegsinfekten sowohl Bakterien als auch Viren mit einer geeigneten Nachweismethode erfassen. Eventuell besteht hier großes Potential zur Prävention schwerwiegender invasiver Infektionen.

4.5 Bedeutung und Auswirkung der virologischen Diagnostik auf den klinischen Alltag

Ein weiteres Ziel im Rahmen dieser Studie war es, durch den zeitnahen Befund der qualitativen PCR, unmittelbar auf das antimikrobielle Behandlungsregime einzuwirken. Interessanterweise erfolgte nach Erhalt des PCR-Ergebnisses nur in einem Fall eine Anpassung der Therapie – in Form von Beendigung einer Antibiose. Diese Beobachtung deckt sich mit den Daten aus anderen Studien, die ebenfalls keine Beeinflussung der Antibiotika-Verordnung durch die Durchführung einer ausführlichen virologischen Diagnostik feststellen konnten [173]. Andere Autoren hingegen konnten eine relevante Reduktion der antibiotischen Behandlung beobachten [174, 175].

Ein Grund dafür trotz Nachweises eines viralen Erregers die antibiotische Therapie weiterzuführen mag sein, dass eine bakterielle Koinfektion mittels alleiniger viraler Diagnostik nicht ausgeschlossen werden kann. Hinzu kommt, dass auch weder klinisch noch laborchemisch sicher zwischen viraler, bakterieller oder gemischt viral/bakterieller Infektion zu differenzieren ist [59], so dass sich der klinisch tätige Arzt oft für die antibiotischen Therapie entscheidet und die langfristigen negativen Folgen einer nicht indizierten Antibiotikatherapie diesem Vorgehen unterordnet.

4.6 Kritische Betrachtung des Studiendesigns

Die Studie zeichnet sich durch das große Patientenkollektiv sowie die Erfassung von zwei kompletten epidemiologischen Jahren aus. Mit der Multiplex-PCR wurde für den Nachweis viraler Erreger eine gut etablierte, hoch sensitive und spezifische Methode verwendet [103, 104, 107].

Ein Schwachpunkt dieser Studie liegt allerdings darin, dass durch die Verwendung von respiratorischem Sekret aus den oberen Atemwegen, die Knüpfung eines kausalen Zusammenhangs zur klinischen Symptomatik aus bereits zuvor beschriebenen Gründen nicht bei allen Erregern zulässig ist. So können die Daten bezüglich der bakteriellen Erreger nur eingeschränkt bewertet werden. Allerdings ist eine invasivere Probenentnahme (BAL, Lungenbiopsie) zu Studienzwecken bei den insgesamt doch recht benignen Krankheitsbildern ethisch und praktisch gesehen nicht unproblematisch. Eine noninvasive Gewinnung von Sputum gestaltet sich bei Kindern teilweise sehr schwierig und weist deutlich schwankende

Materialqualität auf [168]. Aussagekräftigere Daten über bakterielle Infektionen hätten allenfalls indirekt über zusätzliche serielle Analysen von Antikörpertitern gewonnen werden können [14]. In Anbetracht dessen wurde die Studie daher unter den aktuell im klinischen Alltag einzig praktikablen Bedingungen durchgeführt, auch wenn es zweifelsohne Optimierungsmöglichkeiten gibt. Ein weiteres Problem der Studie bestand darin, dass das Studiendesign nicht vorsah, die Dauer der Symptomatik vor Entnahme des ersten NPAs oder eine eventuell bereits prästationär durchgeführte Therapie in der Analyse zu berücksichtigen. Eine systemische Steroidtherapie zum Beispiel hätte direkte Auswirkungen auf die Virusreplikation, die Befunde der bakteriellen Kulturen würden durch eine antibiotische Anbehandlung verfälscht. Da das Patientenkollektiv jedoch auf stationär aufgenommene Patienten beschränkt war, kann davon ausgegangen werden, dass sich der überwiegende Anteil in einer Phase der Verschlechterung der Symptomatik befunden haben muss, so dass die prästationäre Therapie offensichtlich ineffektiv war und spekuliert werden kann, dass deren Effekt auf die Ergebnisse vermutlich nur gering war. Dadurch, dass wir nicht auf spezielles Personal zur Gewinnung des Nasopharyngealaspirates zurückgreifen konnten (z.B. „*Study Nurse*“), war dessen Gewinnung stark von der Compliance des Pflegepersonals abhängig. Vermutlich sind hierdurch gerade Kinder unter zwei Jahren überrepräsentiert, da die Probenentnahme sich in der Regel unkomplizierter gestaltete, je jünger der Patient war.

5. Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse dieser Arbeit unterstreichen den Stellenwert viraler Erreger in der Ätiologie tiefer Atemwegsinfektionen. RS-, Rhino, Boca- und Adenoviren waren die hier am häufigsten nachgewiesenen Viren. Gerade in Bezug auf Rhino- und Bocavirus-Infektionen bleibt der ätiologische Zusammenhang zur vorliegenden Symptomatik jedoch unklar, da beide Erreger häufig auch bei gesunden Individuen nachweisbar sind. Zur weiteren Klärung in dieser Fragestellung wären klinische Studien mit gesunden Kontrollgruppen notwendig.

Das Multiplex-PCR-Verfahren eröffnet im Forschungsfeld der viral bedingten ARI zahlreiche neue Fragestellungen, insbesondere nach der Rolle der Viruslast in Bezug auf den Krankheitsverlauf und nach möglichen Interaktionen bei viralen Koinfektionen. Unseren Daten zu Folge besitzt die punktuelle Bestimmung der Viruslast keine Aussagekraft über die Krankheitsaktivität, der Abfall der Viruslast im Verlauf erfolgt jedoch parallel zur Besserung der klinischen Symptomatik. Virale Koinfektionen treten in nahezu 20% der viralen Infektionen auf. Bei Boca-, Adeno- und Enteroviren machen diese einen Großteil der Nachweise überhaupt aus. Hier ist zu spekulieren, dass es sich zumindest teilweise nicht um echte Koinfektionen sondern vielmehr um Kodetektionen handelt. Um echte Infektion und reine Besiedlung oder persistierende Ausscheidung zu differenzieren, wären serielle Analysen virusspezifischer Antikörper notwendig. Die Anzahl der Viruskopien kann eventuell auch zur Differenzierung von Infektion und Besiedlung dienen, wo hier jedoch die entsprechenden *cut-off* Werte festzulegen sind ist noch vollkommen unklar.

Die unterschiedlichen Viruslasten bei Ko- und Monoinfektionen deuten des Weiteren daraufhin, dass es zu viro/viralen und viral-/bakteriellen Interaktionen kommt. Das Feld der möglichen gegenseitigen Wechselwirkung reicht von einem protektiven Effekt bis hin zu einer Aggravierung der klinischen Symptomatik. Im Falle von RSV ergeben sich hier Hinweise dafür, dass eine virale Koinfektion für einen schwerwiegenderen Krankheitsverlauf mit einem gehäuftem Auftreten von Pneumonien disponiert.

Ziel, einer erweiterten Diagnostik zur Klärung der Ätiologie einer bestehenden Infektion, muss immer sein, die Therapie zu optimieren und zu spezifizieren. Eine alleinige virologische Diagnostik hat in dieser Arbeit nicht zur Beendigung der antibiotischen Therapie geführt. Hierfür verantwortlich sind mögliche bakterielle Koinfektionen, welche leider weder klinisch, laborchemisch noch radiologisch

sicher ausgeschlossen werden können. Die Anfertigungen bakterieller Kulturen aus dem oberen Nasenrachenraum stellt hierfür ebenfalls keine Lösung dar, da fakultativ pathogene Keime regelhaft den Nasopharynx klinisch unauffälliger Menschen besiedeln. Für dieses diagnostische Dilemma steht im klinischen Alltag aktuell leider keine praktikable und ethisch vertretbare Lösung zur Verfügung. Kenntnisse über die bakterielle Besiedlung des Nasenrachenraums sind neben den epidemiologischen Erkenntnisgewinn wertvoll, da Hinweise auf viral/bakterielle Interaktionen bestehen. Dieser Arbeit zu Folge waren RSV-Infektionen gehäuft mit einem Nachweis von *H.influenzae* assoziiert, bei viralen Koinfektionen konnte wesentlich häufiger *M.catharralis* nachgewiesen werden als dies bei Monoinfektionen der Fall war.

Viro/virale und bakterio/virale Interaktionen in der Pathogenese tiefer Atemwegsinfektionen sind insgesamt noch unzureichend verstanden. Hier besteht großes Potential in der weiteren Optimierung von Diagnostik und Therapie sowie in der Ausarbeitung von Impfstrategien.

6. Literaturverzeichnis

1. Michaud, C.M., C.J. Murray, and B.R. Bloom, *Burden of disease--implications for future research*. *Jama*, **2001**. 285(5): p. 535-9.
2. Nair, H., et al., *Global and regional burden of hospital admissions for severe acute lower respiratory infections in young children in 2010: a systematic analysis*. *Lancet*, **2013**. 381(9875): p. 1380-90.
3. Lopez, A.D. and C.D. Mathers, *Measuring the global burden of disease and epidemiological transitions: 2002-2030*. *Ann Trop Med Parasitol*, **2006**. 100(5-6): p. 481-99.
4. McConnochie, K.M., K.J. Roghmann, and G.S. Liptak, *Hospitalization for lower respiratory tract illness in infants: variation in rates among counties in New York State and areas within Monroe County*. *J Pediatr*, **1995**. 126(2): p. 220-9.
5. Weigl, J.A., et al., *Virale Atemwegsinfektionen mit saisonaler Häufung bei Kindern*. *Bundesgesundheitsblatt*, **2003**. 46(1): p. 9-19.
6. Weigl, J.A., et al., *The descriptive epidemiology of severe lower respiratory tract infections in children in Kiel, Germany*. *Klin Padiatr*, **2005**. 217(5): p. 259-67.
7. Weigl, J.A., *Die Epidemiologie akuter viraler Atemwegsinfektionen bei Kindern unter besonderer Berücksichtigung von Respiratory Syncytial Virus und Influenza Viren* [Habilitationsschrift]. Mainz: Fachbereich Medizin der Johannes-Gutenberg Universität, **2003**.
8. Geiser, M. and W.G. Kreyling, *Deposition and biokinetics of inhaled nanoparticles*. *Part Fibre Toxicol*, **2010**. 7: p. 2.
9. Jartti, T., et al., *Bronchiolitis: age and previous wheezing episodes are linked to viral etiology and atopic characteristics*. *Pediatr Infect Dis J*, **2009**. 28(4): p. 311-7.
10. Speer, C.P. (Hrsg.), Gahr, M. (Hrsg.), *Pädiatrie*. 4. Auflage. Berlin Heidelberg: Springer Verlag, **2013**
11. Koletzko, B. (Hrsg.), *Kinder- und Jugendmedizin*. 14. Auflage. Berlin Heidelberg: Springer Verlag, **2013**.
12. Makela, M.J., et al., *Viruses and bacteria in the etiology of the common cold*. *J Clin Microbiol*, **1998**. 36(2): p. 539-42.
13. Juven, T., et al., *Etiology of community-acquired pneumonia in 254 hospitalized children*. *Pediatr Infect Dis J*, **2000**. 19(4): p. 293-8.
14. Nohynek, H., et al., *Bacterial antibody assays in the diagnosis of acute lower respiratory tract infection in children*. *Pediatr Infect Dis J*, **1995**. 14(6): p. 478-84.

15. Thomas, C., E. Jacobs, and R. Dumke, *Characterization of pyruvate dehydrogenase subunit B and enolase as plasminogen-binding proteins in Mycoplasma pneumoniae*. Microbiology, **2012**. 159(Pt 2): p. 352-65.
16. van der Zalm, M.M., et al., *Respiratory pathogens in children with and without respiratory symptoms*. J Pediatr, **2009**. 154(3): p. 396-400, 400 e1.
17. Schildgen, O., et al., *Human bocavirus: passenger or pathogen in acute respiratory tract infections?* Clin Microbiol Rev, **2008**. 21(2): p. 291-304, table of contents.
18. Weigl, J.A., et al., *Epidemiological investigation of nine respiratory pathogens in hospitalized children in Germany using multiplex reverse-transcriptase polymerase chain reaction*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, **2000**. 19(5): p. 336-43.
19. Bonzel, L., *Nachweis viraler respiratorischer Infektionen mittels Polymerasekettenreaktion [Dissertation]*. Düsseldorf: Medizinische Fakultät der Heinrich-Heine-Universität, **2009**.
20. Chanock, R.M., et al., *New viruses observed in children with respiratory diseases*. Public Health Rep, **1958**. 73(3): p. 193-5.
21. Pavia, A.T., *Viral infections of the lower respiratory tract: old viruses, new viruses, and the role of diagnosis*. Clin Infect Dis, **2011**. 52 Suppl 4: p. S284-9.
22. Empey, K.M., R.S. Peebles, Jr., and J.K. Kolls, *Pharmacologic advances in the treatment and prevention of respiratory syncytial virus*. Clin Infect Dis, **2010**. 50(9): p. 1258-67.
23. Jafri, H.S., et al., *Distribution of respiratory syncytial virus subtypes A and B among infants presenting to the emergency department with lower respiratory tract infection or apnea*. Pediatr Infect Dis J, **2013**. 32(4): p. 335-40.
24. Valley-Omar, Z., et al., *Novel respiratory syncytial virus subtype ON1 among children, Cape Town, South Africa, 2012*. Emerg Infect Dis., **2013** 19(4): p. 668-70.
25. Weigl, J.A., W. Puppe, and H.J. Schmitt, *Incidence of respiratory syncytial virus-positive hospitalizations in Germany*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, **2001**. 20(7): p. 452-9.
26. Nokes, D.J., et al., *Respiratory syncytial virus infection and disease in infants and young children observed from birth in Kilifi District, Kenya*. Clin Infect Dis, **2008**. 46(1): p. 50-7.
27. Calvo, C., et al., *Role of rhinovirus in hospitalized infants with respiratory tract infections in Spain*. Pediatr Infect Dis J, **2007**. 26(10): p. 904-8.
28. Miller, E.K., et al., *Rhinovirus-associated hospitalizations in young children*. J Infect Dis, **2007**. 195(6): p. 773-81.

29. Brownlee, J.W. and R.B. Turner, *New developments in the epidemiology and clinical spectrum of rhinovirus infections*. *Curr Opin Pediatr*, **2008**. 20(1): p. 67-71.
30. World Health Organization 2013, *Evolution of a pandemic A(H1N1) 2009, April 2009 – August 2010*. 2.Ausgabe, **2013** [Abrufdatum 12.07.2013]. URL: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/78414/1/9789241503051_eng.pdf;
31. Robert Koch Institut, *RKI-Ratgeber Infektionskrankheiten–Merkblätter für Ärzte: Influenza*. *Epidemiologisches Bulletin*, **2013** [Abrufdatum 25.06.2013]. URL: http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Influenza.html
32. Smyth, A., *Pneumonia due to viral and atypical organisms and their sequelae*. *Br Med Bull*, **2002**. 61: p. 247-62.
33. Shike, H., et al., *Quantitation of adenovirus genome during acute infection in normal children*. *Pediatr Infect Dis J*, **2005**. 24(1): p. 29-33.
34. Chhabra, P., et al., *Etiology of Viral Gastroenteritis in Children <5 Years of Age in the United States, 2008-2009*. *J Infect Dis*, **2013**.
35. Dominguez, O., et al., *Clinical presentation and characteristics of pharyngeal adenovirus infections*. *Pediatr Infect Dis J*, **2005**. 24(8): p. 733-4.
36. International Committee on Taxonomy of Viruses, *Virus Taxonomy: 2009 Release (9th Report)*. **2009** [Abrufdatum 20.10.2012] URL: <http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?version=2009&bhcp=1>;
37. Darai, G.(Hrsg.), et al., *Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen: Erreger, Symptome, Diagnose, Therapie und Prophylaxe*. 3. Auflage. Berlin/Heidelberg: Springer Verlag, **2008**.
38. Jacques, J., et al., *Epidemiological, molecular, and clinical features of enterovirus respiratory infections in French children between 1999 and 2005*. *J Clin Microbiol*, **2008**. 46(1): p. 206-13.
39. Schmidt, A.C., et al., *Progress in the development of human parainfluenza virus vaccines*. *Expert Rev Respir Med*, **2011**. 5(4): p. 515-26.
40. Henrickson, K.J., *Parainfluenza viruses*. *Clin Microbiol Rev*, **2003**. 16(2): p. 242-64.
41. Allander, T., et al., *Human bocavirus and acute wheezing in children*. *Clin Infect Dis*, **2007**. 44(7): p. 904-10.
42. Calvo, C., et al., *Clinical characteristics of human bocavirus infections compared with other respiratory viruses in Spanish children*. *Pediatr Infect Dis J*, **2008**. 27(8): p. 677-80.
43. Longtin, J., et al., *Human bocavirus infections in hospitalized children and adults*. *Emerg Infect Dis*, **2008**. 14(2): p. 217-21.

44. Kahn, J., *Human bocavirus: clinical significance and implications*. *Curr Opin Pediatr*, **2008**. 20(1): p. 62-6.
45. Longtin, J., et al., *High prevalence of asymptomatic bocavirus in daycare: is otitis media a confounder?* *J Infect Dis*, **2010**. 202(10): p. 1617; author reply 1618.
46. van den Hoogen, B.G., et al., *A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease*. *Nat Med*, **2001**. 7(6): p. 719-24.
47. Principi, N., S. Bosis, and S. Esposito, *Human metapneumovirus in paediatric patients*. *Clin Microbiol Infect*, **2006**. 12(4): p. 301-8.
48. Al-Sonboli, N., et al., *Respiratory syncytial virus and human metapneumovirus in children with acute respiratory infections in Yemen*. *Pediatr Infect Dis J*, **2005**. 24(8): p. 734-6.
49. Kahn, J.S., *Epidemiology of human metapneumovirus*. *Clin Microbiol Rev*, **2006**. 19(3): p. 546-57.
50. Don, M., et al., *Human metapneumovirus pneumonia in children: results of an Italian study and mini-review*. *Scand J Infect Dis*, **2008**. 40(10): p. 821-6.
51. Pyrc, K., B. Berkhout, and L. van der Hoek, *The novel human coronaviruses NL63 and HKU1*. *J Virol*, **2007**. 81(7): p. 3051-7.
52. van der Hoek, L., et al., *Identification of a new human coronavirus*. *Nat Med*, **2004**. 10(4): p. 368-73.
53. Woo, P.C., et al., *Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia*. *J Virol*, **2005**. 79(2): p. 884-95.
54. van der Hoek, L., et al., *Croup is associated with the novel coronavirus NL63*. *PLoS Med*, **2005**. 2(8): p. e240.
55. Kahn, J.S., *Newly identified respiratory viruses*. *Pediatr Infect Dis J*, **2007**. 26(8): p. 745-6.
56. Zaki, A.M., et al., *Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia*. *N Engl J Med*, **2012**. 367(19): p. 1814-20.
57. World Health Organization. *Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) - update*. **2013** [Abrufdatum: 13.07.2013]. URL: http://www.who.int/csr/don/2013_07_11/en/index.html.
58. Perlman, S. and J. Zhao, *Human coronavirus EMC is not the same as severe acute respiratory syndrome coronavirus*. *MBio*, **2013**. 4(1).
59. Honkinen, M., et al., *Viruses and bacteria in sputum samples of children with community-acquired pneumonia*. *Clin Microbiol Infect*, **2011**. 18(3): p. 300-7.

60. Tsolia, M.N., et al., *Etiology of community-acquired pneumonia in hospitalized school-age children: evidence for high prevalence of viral infections*. Clin Infect Dis, **2004**. 39(5): p. 681-6.
61. Lehtinen, P., et al., *Bacterial coinfections in children with viral wheezing*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, **2006**. 25(7): p. 463-9.
62. Cohen, R., et al., *Nasopharyngeal carriage of children 6 to 60 months during the implementation of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine*. Arch Pediatr, **2012**. 19(10): p. 1132-9.
63. Deutsche Akademie für Kinder- und Jugendmedizin, Kommission für Infektionskrankheiten und Impfungen, *Stellungnahme zur Verwendung von Pneumokokken-Konjugatimpfstoff aus medizinischer Sicht. 2002* [Zugriffsdatum: 10.07.2013]. URL: <http://dakj.de/media/stellungnahmen/infektionskrankheiten-impffragen/2002-pneumokokken-konjugatimpfstoff.pdf>
64. Fitzwater, S.P., et al., *The worldwide impact of the seven-valent pneumococcal conjugate vaccine*. Pediatr Infect Dis J, **2012**. 31(5): p. 501-8.
65. Ruckinger, S., et al., *Reduction in the incidence of invasive pneumococcal disease after general vaccination with 7-valent pneumococcal conjugate vaccine in Germany*. Vaccine, **2009**. 27(31): p. 4136-41.
66. Imohl, M., et al., *Macrolide susceptibility and serotype specific macrolide resistance of invasive isolates of Streptococcus pneumoniae in Germany from 1992 to 2008*. BMC Microbiol, **2010**. 10: p. 299.
67. Imohl, M., R.R. Reinert, and M. van der Linden, *New penicillin susceptibility breakpoints for Streptococcus pneumoniae and their effects on susceptibility categorisation in Germany (1992-2008)*. Int J Antimicrob Agents, **2009**. 34(3): p. 271-3.
68. Murphy, T.F. and G.I. Parameswaran, *Moraxella catarrhalis, a human respiratory tract pathogen*. Clin Infect Dis, **2009**. 49(1): p. 124-31.
69. Gupta, N., S. Arora, and S. Kundra, *Moraxella catarrhalis as a respiratory pathogen*. Indian J Pathol Microbiol, **2011**. 54(4): p. 769-71.
70. de Vries, S.P., et al., *Molecular aspects of Moraxella catarrhalis pathogenesis*. Microbiol Mol Biol Rev, **2009**. 73(3): p. 389-406, Table of Contents.
71. Kalies, H., et al., *Invasive Haemophilus influenzae infections in Germany: impact of non-type b serotypes in the post-vaccine era*. BMC Infect Dis, **2009**. 9: p. 45.
72. Agrawal, A. and T.F. Murphy, *Haemophilus influenzae infections in the H. influenzae type b conjugate vaccine era*. J Clin Microbiol, **2011**. 49(11): p. 3728-32.

73. Hausdorff, W.P. and R. Dagan, *Serotypes and pathogens in paediatric pneumonia*. Vaccine, **2008**. 26 Suppl 2: p. B19-23.
74. Murphy, T.F., et al., *Nontypeable Haemophilus influenzae as a pathogen in children*. Pediatr Infect Dis J, **2009**. 28(1): p. 43-8.
75. Xu, Q., et al., *Nasopharyngeal bacterial interactions in children*. Emerg Infect Dis, **2012**. 18(11): p. 1738-45.
76. Wald, E.R., *Staphylococcus aureus: is it a pathogen of acute bacterial sinusitis in children and adults?* Clin Infect Dis, **2011**. 54(6): p. 826-31.
77. Brook, I., *Aerobic and anaerobic bacteriology of purulent nasopharyngitis in children*. J Clin Microbiol, **1988**. 26(3): p. 592-4.
78. Schwartz, K.L. and C. Nourse, *Panton-Valentine leukocidin-associated Staphylococcus aureus necrotizing pneumonia in infants: a report of four cases and review of the literature*. Eur J Pediatr, **2011**. 171(4): p. 711-7.
79. Kock, R., et al., *The epidemiology of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in Germany*. Dtsch Arztebl Int, **2011**. 108(45): p. 761-7.
80. van Baalen, A., et al., *Erhebungseinheit für seltene pädiatrische Erkrankungen in Deutschland- Jahresbericht 2011*. **2012** [Abrufdatum: 10.03.2013]. URL: <http://www.esped.uni-duesseldorf.de>.
81. Waites, K.B. and D.F. Talkington, *Mycoplasma pneumoniae and its role as a human pathogen*. Clin Microbiol Rev, **2004**. 17(4): p. 697-728, table of contents.
82. Liu, F.C., et al., *Rapid diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection in children by polymerase chain reaction*. J Microbiol Immunol Infect, **2007**. 40(6): p. 507-12.
83. Hammerschlag, M.R., *Chlamydia pneumoniae and the lung*. Eur Respir J, **2000**. 16(5): p. 1001-7.
84. Kuo, C.C., et al., *Chlamydia pneumoniae (TWAR)*. Clin Microbiol Rev, **1995**. 8(4): p. 451-61.
85. Mayatepek, E. (Hrsg.), *Pädiatrie*. 1.Auflage, München: Urban & Fischer Verlag, **2007**.
86. Harris, M., et al., *British Thoracic Society guidelines for the management of community acquired pneumonia in children: update 2011*. Thorax, **2011** 66 Suppl 2: p. ii1-23.
87. Nicolai, T. (Hrsg.), Griese, M. (Hrsg.), *Praktische Pneumologie in der Pädiatrie - Diagnostik*. 1. Auflage, Stuttgart: Thieme Verlag, **2010**.
88. Korppi, M., *Non-specific host response markers in the differentiation between pneumococcal and viral pneumonia: what is the most accurate combination?* Pediatr Int, **2004**. 46(5): p. 545-50.

89. Nohynek, H., et al., *Erythrocyte sedimentation rate, white blood cell count and serum C-reactive protein in assessing etiologic diagnosis of acute lower respiratory infections in children*. *Pediatr Infect Dis J*, **1995**. 14(6): p. 484-90.
90. Toikka, P., et al., *Serum procalcitonin, C-reactive protein and interleukin-6 for distinguishing bacterial and viral pneumonia in children*. *Pediatr Infect Dis J*, **2000**. 19(7): p. 598-602.
91. Korppi, M., S. Remes, and T. Heiskanen-Kosma, *Serum procalcitonin concentrations in bacterial pneumonia in children: a negative result in primary healthcare settings*. *Pediatr Pulmonol*, **2003**. 35(1): p. 56-61.
92. Moulin, F., et al., *Procalcitonin in children admitted to hospital with community acquired pneumonia*. *Arch Dis Child*, **2001**. 84(4): p. 332-6.
93. Simon, L., et al., *Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis*. *Clin Infect Dis*, **2004**. 39(2): p. 206-17.
94. Cherian, T., et al., *Standardized interpretation of paediatric chest radiographs for the diagnosis of pneumonia in epidemiological studies*. *Bull World Health Organ*, **2005**. 83(5): p. 353-9.
95. Speer, C.P. (Hrsg.), Gahr, M. (Hrsg.), *Pädiatrie*. 3. Auflage. Berlin Heidelberg: Springer Verlag, **2009**
96. Virkki, R., et al., *Differentiation of bacterial and viral pneumonia in children*. *Thorax*, **2002**. 57(5): p. 438-41.
97. Korppi, M., et al., *Comparison of radiological findings and microbial aetiology of childhood pneumonia*. *Acta Paediatr*, **1993**. 82(4): p. 360-3.
98. Ben Shimol, S., et al., *Evaluation of the World Health Organization criteria for chest radiographs for pneumonia diagnosis in children*. *Eur J Pediatr*, **2011**. 171(2): p. 369-74.
99. Johnson, J. and J.A. Kline, *Intraobserver and interobserver agreement of the interpretation of pediatric chest radiographs*. *Emerg Radiol*, **2010**. 17(4): p. 285-90.
100. Xavier-Souza, G., et al., *The inter-observer variation of chest radiograph reading in acute lower respiratory tract infection among children*. *Pediatr Pulmonol*, **2012**.
101. Davies, H.D., et al., *Reliability of the chest radiograph in the diagnosis of lower respiratory infections in young children*. *Pediatr Infect Dis J*, **1996**. 15(7): p. 600-4.
102. Murdoch, D.R., et al., *Laboratory methods for determining pneumonia etiology in children*. *Clin Infect Dis*, **2012**. 54 Suppl 2: p. S146-52.
103. Templeton, K.E., et al., *Rapid and sensitive method using multiplex real-time PCR for diagnosis of infections by influenza A and influenza B viruses*,

- respiratory syncytial virus, and parainfluenza viruses 1, 2, 3, and 4.* J Clin Microbiol, **2004**. 42(4): p. 1564-9.
104. Freymuth, F., et al., *Comparison of multiplex PCR assays and conventional techniques for the diagnostic of respiratory virus infections in children admitted to hospital with an acute respiratory illness.* J Med Virol, **2006**. 78(11): p. 1498-504.
105. Oosterheert, J.J., et al., *Impact of rapid detection of viral and atypical bacterial pathogens by real-time polymerase chain reaction for patients with lower respiratory tract infection.* Clin Infect Dis, **2005**. 41(10): p. 1438-44.
106. Bellau-Pujol, S., et al., *Development of three multiplex RT-PCR assays for the detection of 12 respiratory RNA viruses.* J Virol Methods, **2005**. 126(1-2): p. 53-63.
107. Bonzel, L., et al., *Frequent detection of viral coinfection in children hospitalized with acute respiratory tract infection using a real-time polymerase chain reaction.* Pediatr Infect Dis J, **2008**. 27(7): p. 589-94.
108. Puppe, W., et al., *Evaluation of a multiplex reverse transcriptase PCR ELISA for the detection of nine respiratory tract pathogens.* J Clin Virol, **2004**. 30(2): p. 165-74.
109. Vu, H.T., et al., *Association between nasopharyngeal load of Streptococcus pneumoniae, viral coinfection, and radiologically confirmed pneumonia in Vietnamese children.* Pediatr Infect Dis J, **2010**. 30(1): p. 11-8.
110. Peltola, V., et al., *Temporal association between rhinovirus circulation in the community and invasive pneumococcal disease in children.* Pediatr Infect Dis J, **2011**. 30(6): p. 456-61.
111. Watson, M., et al., *The association of respiratory viruses, temperature, and other climatic parameters with the incidence of invasive pneumococcal disease in Sydney, Australia.* Clin Infect Dis, **2006**. 42(2): p. 211-5.
112. Launes, C., et al., *Viral coinfection in children less than five years old with invasive pneumococcal disease.* Pediatr Infect Dis J, **2012**. 31(6): p. 650-3.
113. Chorazy, M.L., et al., *Polymicrobial Acute Respiratory Infections in a Hospital-Based Pediatric Population.* Pediatr Infect Dis J, **2013**.
114. Streng, A., V. Grote, and J.G. Liese, *Severe influenza cases in paediatric intensive care units in Germany during the pre-pandemic seasons 2005 to 2008.* BMC Infect Dis, **2011**. 11: p. 233.
115. Martin, E.T., et al., *Clinical disease and viral load in children infected with respiratory syncytial virus or human metapneumovirus.* Diagn Microbiol Infect Dis, **2008**. 62(4): p. 382-8.
116. Whimbey, E., J.A. Englund, and R.B. Couch, *Community respiratory virus infections in immunocompromised patients with cancer.* Am J Med, **1997**. 102(3A): p. 10-8; discussion 25-6.

117. Deutsche Gesellschaft für Kinder und Jugendmedizin, *Leitlinie Kinderheilkunde und Jugendmedizin*. München, Jena: Urban und Fischer, **2000**: S. 29-48.
118. Wai, A.K., et al., *Patients' perceptions of nasopharyngeal aspiration in the emergency department of a teaching hospital in Hong Kong*. Emerg Med J, **2007**. 24(1): p. 35-6.
119. Jansen, R.R., et al., *Quantitation of respiratory viruses in relation to clinical course in children with acute respiratory tract infections*. Pediatr Infect Dis J, **2010**. 29(1): p. 82-4.
120. Thomas, L. (Hrsg.), *Labor und Diagnose*. 7. Auflage. Frankfurt/Main: Thieme Verlag, **2008**.
121. Martin, E.T., et al., *Multiple versus single virus respiratory infections: viral load and clinical disease severity in hospitalized children*. Influenza Other Respi Viruses, **2012**. 6(1): p. 71-7.
122. Kouni, S., et al., *Evaluation of viral co-infections in hospitalized and non-hospitalized children with respiratory infections using microarrays*. Clin Microbiol Infect, **2012**.
123. Piralla, A., et al., *Human rhinovirus and human respiratory enterovirus (EV68 and EV104) infections in hospitalized patients in Italy, 2008-2009*. Diagn Microbiol Infect Dis, **2012**. 73(2): p. 162-7.
124. Takeyama, A., et al., *Rhinovirus load and disease severity in children with lower respiratory tract infections*. J Med Virol, **2012**. 84(7): p. 1135-42.
125. Louie, J.K., et al., *Rhinovirus associated with severe lower respiratory tract infections in children*. Pediatr Infect Dis J, **2009**. 28(4): p. 337-9.
126. Legg, J.P., et al., *Frequency of detection of picornaviruses and seven other respiratory pathogens in infants*. Pediatr Infect Dis J, **2005**. 24(7): p. 611-6.
127. Aberle, J.H., et al., *Single versus dual respiratory virus infections in hospitalized infants: impact on clinical course of disease and interferon-gamma response*. Pediatr Infect Dis J, **2005**. 24(7): p. 605-10.
128. Martin, E.T., et al., *Epidemiology of multiple respiratory viruses in childcare attendees*. J Infect Dis, **2013**. 207(6): p. 982-9.
129. Jacques, J., et al., *Human Bocavirus quantitative DNA detection in French children hospitalized for acute bronchiolitis*. J Clin Virol, **2008**. 43(2): p. 142-7.
130. Christensen, A., et al., *Human bocavirus in children: mono-detection, high viral load and viraemia are associated with respiratory tract infection*. J Clin Virol, **2010**. 49(3): p. 158-62.
131. Walsh, E.E., et al., *Severity of respiratory syncytial virus infection is related to virus strain*. J Infect Dis, **1997**. 175(4): p. 814-20.

132. Black, C.P., *Systematic review of the biology and medical management of respiratory syncytial virus infection*. *Respir Care*, **2003**. 48(3): p. 209-31; discussion 231-3.
133. Jartti, T., et al., *Respiratory picornaviruses and respiratory syncytial virus as causative agents of acute expiratory wheezing in children*. *Emerg Infect Dis*, **2004**. 10(6): p. 1095-101.
134. Kristoffersen, A.W., et al., *Coronavirus causes lower respiratory tract infections less frequently than RSV in hospitalized Norwegian children*. *Pediatr Infect Dis J*, **2011**. 30(4): p. 279-83.
135. van Benten, I., et al., *Predominance of rhinovirus in the nose of symptomatic and asymptomatic infants*. *Pediatr Allergy Immunol*, **2003**. 14(5): p. 363-70.
136. Weiss, A.K., et al., *Adjunct corticosteroids in children hospitalized with community-acquired pneumonia*. *Pediatrics*, **2011**. 127(2): p. e255-63.
137. Patel, H., R. Platt, and J.M. Lozano, *WITHDRAWN: Glucocorticoids for acute viral bronchiolitis in infants and young children*. *Cochrane Database Syst Rev*, **2008**(1): p. CD004878.
138. Jartti, T., et al., *Efficacy of prednisolone in children hospitalized for recurrent wheezing*. *Pediatr Allergy Immunol*, **2007**. 18(4): p. 326-34.
139. Allander, T., et al., *Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2005**. 102(36): p. 12891-6.
140. Ursic, T., et al., *Human bocavirus and other respiratory viral infections in a 2-year cohort of hospitalized children*, **2012**. *J Med Virol*. 84(1): p. 99-108.
141. Deng, Y., et al., *High viral load of human bocavirus correlates with duration of wheezing in children with severe lower respiratory tract infection*. *PLoS One*, **2012**. 7(3): p. e34353.
142. Debiaggi, M., et al., *The role of infections and coinfections with newly identified and emerging respiratory viruses in children*. *Virol J*, **2012**. 9: p. 247.
143. Echavarria, M., *Adenoviruses in immunocompromised hosts*. *Clin Microbiol Rev*, **2008**. 21(4): p. 704-15.
144. Carballal, G., et al., *Adenovirus type 7 associated with severe and fatal acute lower respiratory infections in Argentine children*. *BMC Pediatr*, **2002**. 2: p. 6.
145. Stempel, H.E., et al., *Multiple viral respiratory pathogens in children with bronchiolitis*. *Acta Paediatr*, **2009**. 98(1): p. 123-6.
146. Weigl, J.A., W. Puppe, and H.J. Schmitt, *The incidence of influenza-associated hospitalizations in children in Germany*. *Epidemiol Infect*, **2002**. 129(3): p. 525-33.

147. Freymouth, F., et al., *Presence of the new human metapneumovirus in French children with bronchiolitis*. *Pediatr Infect Dis J*, **2003**. 22(1): p. 92-4.
148. Bosis, S., et al., *Association between high nasopharyngeal viral load and disease severity in children with human metapneumovirus infection*. *J Clin Virol*, **2008**. 42(3): p. 286-90.
149. Laham, F.R., et al., *Differential production of inflammatory cytokines in primary infection with human metapneumovirus and with other common respiratory viruses of infancy*. *J Infect Dis*, **2004**. 189(11): p. 2047-56.
150. Viazov, S., et al., *High prevalence of human metapneumovirus infection in young children and genetic heterogeneity of the viral isolates*. *J Clin Microbiol*, **2003**. 41(7): p. 3043-5.
151. van den Hoogen, B.G., et al., *Prevalence and clinical symptoms of human metapneumovirus infection in hospitalized patients*. *J Infect Dis*, **2003**. 188(10): p. 1571-7.
152. Jevsnik, M., et al., *Coronavirus infections in hospitalized pediatric patients with acute respiratory tract disease*. *BMC Infect Dis*, **2012**. 12: p. 365.
153. Weinberg, G.A., et al., *Parainfluenza virus infection of young children: estimates of the population-based burden of hospitalization*. *J Pediatr*, **2009**. 154(5): p. 694-9.
154. Calvo, C., et al., *Multiple simultaneous viral infections in infants with acute respiratory tract infections in Spain*. *J Clin Virol*, **2008**. 42(3): p. 268-72.
155. Greensill, J., et al., *Human metapneumovirus in severe respiratory syncytial virus bronchiolitis*. *Emerg Infect Dis*, **2003**. 9(3): p. 372-5.
156. van Woensel, J.B., et al., *Absence of human metapneumovirus co-infection in cases of severe respiratory syncytial virus infection*. *Pediatr Pulmonol*, **2006**. 41(9): p. 872-4.
157. Utokaparch, S., et al., *The relationship between respiratory viral loads and diagnosis in children presenting to a pediatric hospital emergency department*. *Pediatr Infect Dis J*, **2010**. 30(2): p. e18-23.
158. Schilham, M.W., et al., *High levels of adenovirus DNA in serum correlate with fatal outcome of adenovirus infection in children after allogeneic stem-cell transplantation*. *Clin Infect Dis*, **2002**. 35(5): p. 526-32.
159. Gerna, G., et al., *Correlation of viral load as determined by real-time RT-PCR and clinical characteristics of respiratory syncytial virus lower respiratory tract infections in early infancy*. *J Clin Virol*, **2008**. 41(1): p. 45-8.
160. Spann, K.M., et al., *Suppression of the induction of alpha, beta, and lambda interferons by the NS1 and NS2 proteins of human respiratory syncytial virus in human epithelial cells and macrophages [corrected]*. *J Virol*, **2004**. 78(8): p. 4363-9.

161. Schauer, U., et al., *Severe respiratory syncytial virus infections and reduced interferon-gamma generation in vitro*. Clin Exp Immunol, **2004**. 138(1): p. 102-9.
162. Weigl, J.A., et al., *Burden of disease in hospitalized RSV-positive children in Germany*. Klin Padiatr, **2002**. 214(6): p. 334-42.
163. Jansen, R.R., et al., *Quantitation of respiratory viruses in relation to clinical course in children with acute respiratory tract infections*. Pediatr Infect Dis J, **2009**. 29(1): p. 82-4.
164. Campanini, G., et al., *Human respiratory syncytial virus (hRSV) RNA quantification in nasopharyngeal secretions identifies the hRSV etiologic role in acute respiratory tract infections of hospitalized infants*. J Clin Virol, **2007**. 39(2): p. 119-24.
165. Huijskens, E.G., et al., *Diagnostic value of respiratory virus detection in symptomatic children using real-time PCR*. Virol J, **2012**. 9: p. 276.
166. Greer, R.M., et al., *Do rhinoviruses reduce the probability of viral co-detection during acute respiratory tract infections?* J Clin Virol, **2009**. 45(1): p. 10-5.
167. Allander, T., *Human bocavirus*. J Clin Virol, **2008**. 41(1): p. 29-33.
168. Thorburn, K. and A. Riordan, *Pulmonary bacterial coinfection in infants and children with viral respiratory infection*. Expert Rev Anti Infect Ther, **2012**. 10(8): p. 909-16.
169. van den Bergh, M.R., et al., *Associations between pathogens in the upper respiratory tract of young children: interplay between viruses and bacteria*. PLoS One, **2012**. 7(10): p. e47711.
170. Garcia-Rodriguez, J.A. and M.J. Fresnadillo Martinez, *Dynamics of nasopharyngeal colonization by potential respiratory pathogens*. J Antimicrob Chemother, **2002**. 50 Suppl S2: p. 59-73.
171. Tenenbaum, T., et al., *Clinical characteristics of children with lower respiratory tract infections are dependent on the carriage of specific pathogens in the nasopharynx*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, **2012**. 31(11): p. 3173-82.
172. Wertheim, H.F., et al., *Key role for clumping factor B in Staphylococcus aureus nasal colonization of humans*. PLoS Med, **2008**. 5(1): p. e17.
173. Wishaupt, J.O., et al., *Clinical impact of RT-PCR for pediatric acute respiratory infections: a controlled clinical trial*. Pediatrics, **2011**. 128(5): p. e1113-20.
174. Woo, P.C., et al., *Cost-effectiveness of rapid diagnosis of viral respiratory tract infections in pediatric patients*. J Clin Microbiol, **1997**. 35(6): p. 1579-81.

175. Barenfanger, J., et al., *Clinical and financial benefits of rapid detection of respiratory viruses: an outcomes study*. J Clin Microbiol, **2000**. 38(8): p. 2824-8.

7. Anhang

Anhang I: Elterninformation und Einverständniserklärung

Elterninformation

Sie sind als Eltern/ Sorgeberechtigter von _____ gebeten worden, Ihr Kind an der Studie zur Untersuchung eines Zusammenhanges zwischen Erregertyp und –zahl im Nasen-Rachen-Sekret und dem Verlauf der tiefen Atemwegsinfektion teilnehmen zu lassen.

Die Studie wird unter der Aufsicht von Herrn Prof. Dr. Schrotten am Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin des Universitätsklinikums Düsseldorf sowie am Evangelischen Krankenhaus Düsseldorf durchgeführt.

Warum wird diese Studie durchgeführt?

Akute Infektionen der Atemwege machen den Großteil der Erkrankungen im Kindesalter aus und sind weltweit eine der häufigsten Ursachen für eine stationäre Behandlung im Kindesalter. Ihre Erforschung besitzt daher einen hohen Stellenwert für die Verbesserung der weltweiten Kontrolle von Infektionskrankheiten.

Es existieren bereits zahlreiche Untersuchungen über Infektionen der Lunge und Bronchien, darunter auch einige über den Zusammenhang zwischen Erreger und Krankheitsschwere. Die meisten dieser Studien zielten jedoch lediglich auf den Nachweis des Erregertyps. Mit der Weiterentwicklung der Nachweismethoden existiert nun auch die Möglichkeit einer Bestimmung der Anzahl an Krankheitserregern (Viren oder Bakterien). Diese Methode (sogenannte quantitative PCR) ermöglicht damit eine noch genauere Diagnostik von Atemwegsinfektionen bei Kindern.

Das Ziel dieser Studie ist es, einen Zusammenhang zwischen Erregertyp und -zahl im Nasen-Rachen-Sekret und dem Verlauf einer tiefen Atemwegsinfektion bei stationär behandelten Kindern zu untersuchen. Die Ergebnisse dieser Studie sollen dabei helfen, die Behandlung tiefer Atemwegsinfektionen bei Kindern zu verbessern.

Wer kann an der Studie teilnehmen?

An der Studie können alle Kinder zwischen 0 und 16 Jahren teilnehmen, die aufgrund einer tiefen Atemwegsinfektion, d.h. Bronchitis oder Lungenentzündung, stationär aufgenommen werden müssen. Ausgeschlossen werden lediglich diejenigen Patienten, die eine angeborene oder erworbene Immunschwäche haben, da sich der Verlauf von Infektionskrankheiten in dieser Patientengruppe erwartungsgemäß deutlich unterscheidet.

Wo wird die Studie durchgeführt?

An der Studie nehmen das Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin des Universitätsklinikums Düsseldorf sowie das Evangelische Krankenhaus in Düsseldorf teil. Die Studie wird somit auf den Stationen und Ambulanzen dieser

Krankenhäuser durchgeführt. Die spezielle Erregerdiagnostik (quantitative PCR) erfolgt im Virologischen Institut des Universitätsklinikums Düsseldorf.

Wie wird die Studie durchgeführt?

Der aufnehmende bzw. der zuständige und behandelnde Arzt überprüft, ob Ihr Kind die Kriterien zur Aufnahme in die Studie erfüllt.

Bevor studienbezogene Maßnahmen an ihrem Kind durchgeführt werden, werden Sie mündlich und schriftlich aufgeklärt. Sollten Sie der Teilnahme Ihres Kindes an der Studie zustimmen, unterschreiben Sie bitte die Einverständniserklärung. Sie erhalten dann eine Kopie der Elterninformation und der unterschriebenen Einverständniserklärung.

Bis auf die zusätzliche Gewinnung von Nasen-Rachen-Sekret zur Bestimmung des Erregertyps und der Erregerzahl ist die Teilnahme an der Studie mit keinen von der üblichen Diagnostik abweichenden Maßnahmen verbunden. Es werden keine zusätzlichen Blut- oder Röntgenuntersuchungen durchgeführt. Der Befund des Nasen-Rachen-Sekretes kann bei teilnehmenden Patienten im Fall eines erfolgreichen Nachweises des die Erkrankung hervorrufenden Erregers zur Anpassung der Behandlung, zum Beispiel zum Absetzen einer nicht notwendigen antibiotischen Therapie führen.

Bei Ihrem Kind wird insgesamt zweimal Nasen-Rachen-Sekret entnommen. Das erste Nasen-Rachen-Sekret wird möglichst bald, spätestens 24 Stunden nach Aufnahme, entnommen. Die Entnahme ist eine wenig belastende Maßnahme, bei der eine kleine Menge Kochsalzlösung (2 ml) über ein Nasenloch eingegeben wird und dann aus dem Rachenraum mittels eines flexiblen Saugers abgesaugt wird. Das zweite Nasen-Rachen-Sekret wird am 3. oder 4. Tag des stationären Aufenthaltes entnommen. Die zweite Entnahme ist wichtig um den Zusammenhang zwischen weiterem Krankheitsverlauf und Entwicklung der Erregerzahl im Sekret untersuchen zu können.

Das Nasen-Rachen-Sekret wird mittels quantitativer PCR auf folgende Erreger untersucht: Influenza A und B, Parainfluenza 1-3, RSV, Metapneumovirus (A, B und C), Rhinovirus, Enteroviren, Coronaviren, Adenovirus, Bocaviren, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* und *Bordetella pertussis*. Diese entsprechen bei Kindern mit tiefer Atemwegsinfektion in Deutschland häufig nachgewiesenen Erregern. Da sie üblicherweise nicht im Nasen-Rachen-Raum vorkommen, können sie bei Nachweis als ursächlich für eine akute Infektion betrachtet werden. Ein Teil der Probe wird zusätzlich routinemäßig in der zuständigen Mikrobiologie auf andere mögliche bakterielle Erreger untersucht. Die Proben werden nach der Untersuchung ordnungsgemäß entsorgt und zu keinem anderen Zweck verwendet.

Neben der Untersuchung des Nasen-Rachen-Sekretes werden die Art und Dauer der Beschwerden sowie der eingesetzten therapeutischen Maßnahmen dokumentiert. Die Ergebnisse und Befunde der zusätzlich vorgenommenen Labordiagnostik und ggf. der Röntgen-Diagnostik werden miteinbezogen. Des Weiteren werden relevante Daten aus der Vorgeschichte, wie Vorerkrankungen oder vorausgegangene Medikamenteneinnahme, erfasst und dokumentiert.

Was sind die möglichen Risiken?

Die Studie ist mit keinen spezifischen Risiken für Ihr Kind verbunden.

Was ist der mögliche Nutzen einer Studienteilnahme?

Das Ziel der Studie ist es, den Zusammenhang zwischen Erregertyp und -zahl im Nasen-Rachen-Sekret und dem Verlauf eines tiefen Atemwegsinfektes bei stationär behandelten Kindern zu untersuchen. Bei Nachweis eines entsprechenden Zusammenhangs werden Möglichkeiten zur Entwicklung einer verbesserten medizinischen Versorgung eröffnet. Der direkte Nutzen für Ihr Kind kann im Fall des Nachweises eines viralen Erregers in einer Vermeidung oder Verkürzung einer nicht notwendigen antibiotischen Therapie bestehen.

Kann mein Kind die Studie abbrechen?

Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig. Sollten Sie sich dagegen entscheiden, entsteht Ihnen daraus kein Schaden oder Verlust an Zuwendungen, die Ihrem Kind ansonsten zustehen. Sollte Ihr Kind an der Studie teilnehmen, können Sie jederzeit ohne Angabe von Gründen entscheiden, die Teilnahme Ihres Kindes an der Studie zu beenden. Auch daraus entsteht Ihnen kein Schaden oder Verlust von Zuwendungen. Wenn Ihr Kind vorzeitig aus der Studie ausscheidet, können Daten, die vor dem Zeitpunkt des Abbruchs gesammelt wurden, nach wie vor verarbeitet werden.

Vertraulichkeit

Diese klinische Studie kann nur durchgeführt werden, indem die medizinischen Daten Ihres Kindes gesammelt und ausgewertet werden. Die Weitergabe, Speicherung und Auswertung dieser anonymisierten Daten erfolgt vertraulich nach gesetzlichen Bestimmungen. Eine anderweitige Verwendung der Daten setzt eine zuvor stattgefundene Begutachtung durch die zuständige Ethikkommission voraus. Die entnommenen Nasen-Rachen-Sekrete werden ausschließlich für den genannten Zweck verwendet und danach ordnungsgemäß entsorgt. Die Ergebnisse der Studie können zu seriösen wissenschaftlichen Zwecken veröffentlicht und vorgestellt werden.

Einverständniserklärung

Ich habe die Elterninformation gelesen und bin mit der Teilnahme meines Kindes

an der beschriebenen Pulmo-PCR Studie einverstanden.

Ich habe die mir ausgehändigte Elterninformation verstanden, hatte Gelegenheit die Studie zu besprechen und habe keine offenen Fragen mehr. Ich weiß, dass die Teilnahme an dieser Studie freiwillig ist und dass mein Kind jederzeit die Studie abbrechen kann, ohne dass ich die Gründe dafür nennen muss oder dass die medizinische Versorgung meines Kindes dadurch beeinträchtigt wird.

Unterschrift (Ort, Datum) _____

Anhang II: Merkblatt zur Sekretgewinnung

Sekretabnahme Pulmo-PCR Studie:



- durch ein Nasenloch mit 2 ml NaCl mittels Spritze

Anspülen (es sei denn das Kind produziert selber extrem viel Sekret)

- Abgesaugt werden soll aus dem Nasopharynx. D.h. der Schlauch muss über die Nase in etwa so weit eingeführt werden, wie der Abstand Nase/Ohr des Kindes.



Danke für Eure tolle Unterstützung!

Anhang III: Dokumentationsbögen des klinischen Verlaufes**Tag der Aufnahme**

Station: _____

Datum der Aufnahme: _____

2. Buchstabe Vorname _____

2. Buchstabe Nachname _____

Geburtsdatum: _____

Geschlecht: m / w

Respiratorische Diagnose: _____**Nebendiagnosen:** _____**Husten:**ja / nein**Tachypnoe:**ja / nein (AF:/min)**Dyspnoe** (Einziehungen/ Nasenflügeln):ja / nein**Obstruktion** (verlängertes Expirium/ Giemen/ Brummen):ja / nein**Rasselgeräusche:** ja / nein

feinblasig/ mittelblasig/ grobblasig

Lokalisation: _____

SO₂: _____ (unter l/min O₂-Vorlage per Maske / Nasenbrille / andere:)**Temp max** (letzte 6 Stunden): _____**Leukozyt:** _____ (tsd./ μ l) **I/T-Quotient:** _____ **CRP-Wert:** _____ (mg/dl)**Röntgen-Thorax:** ja / nein Befund: _____

Datum: _____

Blutkultur: ja / nein Befund: _____**Dauer der Symptomatik bei Aufnahme:** _____ (Tage)**Vorbehandlung:** 1. _____ Dauer: _____ (Tage)

2. _____ Dauer: _____ (Tage)

Grunderkrankungen: _____**Impfstatus:** _____

Stationär (ab 2. Tag)

Station: _____

Diagnose: _____

2. Buchstabe Vorname: _____

Datum der Aufnahme: _____

2. Buchstabe Nachname: _____

Geburtsdatum: _____

Geschlecht: m / w

Husten: ja / neinTachypnoe: ja / nein AF max.: ____/min Dauer: _____(Tage)Dyspnoe (Einziehungen/ Nasenflügeln): ja / nein Dauer: _____(Tage)Obstruktion (verläng. Exp./ Giemen/ Brummen): ja / nein Dauer: _____(Tage)Rasselgeräusche: ja / nein
feinblasig/ mittelblasig/ grobblasig Lokalisation: _____
Dauer: _____(Tage)Minimale SO₂: _____ %Maximale Temp.: _____ Anzahl Fiebertage: _____O₂-Zufuhr: ja / nein Art: _____ Dauer: _____(h)Leukoz. max.: _____ (tsd./ μ l) Datum: _____I/T-Quotient max. _____ Datum: _____CRP-Wert max.: _____ (mg/dl) Datum: _____**Befund 1. NPA:** _____ Datum: _____**Befund 2. NPA:** _____ Datum: _____Antibiotische Therapie: ja / nein

1.Art: _____ Dauer(Tage): _____

2.Art: _____ Dauer(Tage): _____

Beendigung der antibiotischen Therapie nach Erhalt des NPA-Befundes: ja / nein

Poststationäre Antibiotika:

_____ Dauer(Tage): _____

Supportive Therapie (Steroide/ Bronchodilatoren/ Infusion): ja / nein

Art				
Dauer				

Datum der Entlassung: _____

Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Horst Schrotten für die vertrauensvolle Vergabe dieses interessanten Promotionsthemas bedanken. Die Arbeit an der Studie hat mich stets in dem Wunsch bestärkt meine Facharztausbildung im Bereich der Kinderheilkunde zu beginnen.

Frau Dr. Anna Franz bin ich sehr dankbar für die hervorragende Betreuung und den, auch im privaten, immer sehr netten Kontakt.

Herrn Prof. Tobias Tenenbaum danke ich ebenfalls für die kontinuierliche und fachlich überaus hilfreiche Unterstützung.

An den Instituten für medizinische Mikrobiologie und Virologie danke ich Frau Dr. Linda Bonzel, Herrn Prof. Ortwin Adams, Frau Prof. Birgit Henrichs und Frau Dr. Nicole Neuhausen für die hervorragende Kooperation. Herrn Dr. Willers danke ich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Besonders hervorzuheben ist die großartige Bereitschaft seitens des pflegerischen und ärztlichen Personals der Stationen, mich in der Rekrutierung der Patienten zu unterstützen

Mein besonderer Dank gilt Herrn Andreas Jenke, der mich maßgeblich bei der Fertigstellung dieser Arbeit unterstützt hat.

Meiner Familie und Freunden danke ich für jegliche Unterstützung, nicht nur hinsichtlich dieser Dissertation, sondern auch bezüglich des lernintensiven Studiums und der jetzt - doch etwas arbeitsintensiveren- Facharztausbildung.

Meinem Freund Björn danke ich für seine ungeheure Geduld und für seinen entspannten und immer positiven Gegenpol in den vielen "verzweifelten" Momenten, die dieses Promotionsvorhaben über die Jahre mit sich gebracht hat.

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt worden ist und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen Medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.
