

**Aus der Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Neonatologie
und Kinderkardiologie der**

Heinrich- Heine- Universität Düsseldorf

Direktor: Univ.- Prof. Dr. Ertan Mayatepek

**Studie zu Infektionen mit der pandemischen Variante des Influenza A/H1N1-Virus und
Infektionen mit weiteren respiratorischen Viren bei Kindern und Jugendlichen, die
wegen akuter respiratorischer Infekte stationär behandelt wurden**

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin (Dr. med.)

an der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Subash Jung Pandey

aus Kathmandu, Nepal

Düsseldorf 2021

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Ertan Mayatepek

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Colin R. MacKenzie

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Vogel M, Grund S, Pandey S, Mayatepek E, Schrotten H, Tenenbaum T, Adams O (2016)
What We Have Learned from the Influenza A pH1N1 2009/10 Pandemic: High Clinical Impact
of Human Metapneumovirus and Respiratory Syncytial Virus in Hospitalized Pediatric
Patients. Jpn J Infect Dis.2016; 69 (1): 6-11

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	6
1.1	Letzte Influenza- A-Pandemie mit dem pH1N1-2009- Virus.....	6
1.2	Aufbau und Vermehrung der Influenza-A-Viren	8
1.3	Epidemiologie und Historie der Influenza-A-Viren	10
1.4	Koinfektionen mit anderen respiratorischen Viren	13
2	Infektionen der Atemwege	15
2.1	Einführung.....	15
2.1.1	Viren	15
2.1.2	Bakterien.....	17
2.1.3	Sonstige Erreger	18
2.2	Pathogenese viraler respiratorischer Infektionen.....	18
2.2.1	Die pulmonale Immunantwort.....	19
2.3	Erkrankungen der Atemwege verursacht durch respiratorische Viren.....	20
2.3.1	Infektionen des oberen Respirationstrakts.....	22
2.3.2	Infektionen des unteren Respirationstrakts.....	24
2.4	Diagnostik der Infektionen der Atemwege	29
2.4.1	Klinische Diagnostik	29
2.4.2	Labordiagnostik.....	29
3	Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit.....	32
4	Patienten, Material und Methoden	33
4.1	Rekrutierung und Patientenkollektiv	33
4.2	Virologische Diagnostik	38
4.3	Mikrobiologische Diagnostik	41
4.4	Statistik	41
5	Ergebnisse	42
5.1	Deskriptive Merkmale des Patientenkollektives	42
5.2	Klinische Daten	43
5.3	Altersverteilung	45
5.4	Influenza-Impfung	46

5.5	Dauer des stationären- Aufenthalt	46
5.6	Medikation	46
5.6.1	Antibiotische Therapie	46
5.6.2	Antiinflammatorische Therapie	46
5.7	Laborchemische Befunde	46
5.7.1	Leukozytose	46
5.7.2	CRP während des stationären Aufenthaltes	46
5.8	Virologische Befunde	46
5.9	Mikrobiologische Befunde	49
5.10	Radiologische Befunde	49
6	Diskussion	51
7	Zusammenfassung	58
8	Literaturverzeichnis	60
9	Abbildungsverzeichnis	68
10	Tabellenverzeichnis	69
11	Abkürzungsverzeichnis	70
12	Danksagung	72

1 Einleitung

1.1 Letzte Influenza- A-Pandemie mit dem pH1N1-2009- Virus

Influenza A-Pandemien sind seit dem 16. Jahrhundert mehrmals aufgetreten, mit inter-pandemischen Intervallen von durchschnittlich etwa 40 Jahren [1]. Die drei großen Pandemien des 20. Jahrhunderts waren die Spanische Grippe (1918 -1919), die Asiatische Grippe (1957) und die Hongkong Grippe (1968 -69), die zu einer großen Zahl von Todesopfern führten [2].

Im Frühjahr 2009 wurde durch den neuen Subtyp „pH1N1-2009“ des Influenza-A-Virus die erste und bisher letzte Pandemie des 21. Jahrhunderts verursacht. Die Ausbreitung dieses pandemischen Influenzavirus führte zu einer drastisch erhöhten Anzahl von Kindern und Jugendlichen, welche sich mit Influenza oder Influenza-ähnlicher Erkrankung (*influenza-like illness*, ILI) in der Notaufnahme vorstellten. Das pH1N1-2009-Virus infizierte schnell mehr als 40 % der suszeptiblen Bevölkerung und wurde, das zuvor zirkulierende saisonale humane H1N1-Virus ablösend, endemisch [3]. Dies geschah trotz extensiver Vorbereitungen der Pandemie weltweit und leicht verfügbarer Molekulardiagnostik [4]. Das Virus verbreitete sich weltweit und führte zu der ersten Influenza-Pandemie seit 1968 mit einer Zirkulation außerhalb der üblichen Grippesaison in der nördlichen Hemisphäre [5]. Obwohl Südchina als Ausgangspunkt von Influenzapandemien vorhergesagt wurde, wurden der erste menschliche Fall und die erste Epidemie in Nordamerika und dann in Mexiko entdeckt [6, 7]. Im August 2010 hatten mehr als 214 Länder laborbestätigte Krankheitsfälle gemeldet, welche wiederum zu einer Gesamtzahl von ca. 18.500 registrierten Todesfällen führten [8]. Sie berichteten jedoch, dass die tatsächliche Mortalitätsbelastung aufgrund der Pandemie wesentlich höher war und dass die Fallzahlen in Afrika und Asien lückenhaft dokumentiert wurde [9]. Früh veröffentlichte Daten während der Pandemie haben gezeigt, dass vor allem die bei Kindern und jungen Erwachsenen aufgetretenen Infektionen häufig mit einem schweren Krankheitsverlauf einhergingen, welches sich signifikant von der saisonalen Influenza unterschied [10, 11]. Die Anzahl der im Labor bestätigten Fälle unterschätzte die Auswirkungen der Pandemie deutlich [5]. Die Diagnose akuter Atemwegsinfektionen (*acute respiratory tract infection*, ARI) und die Unterscheidung zwischen bakterieller und viraler Infektion war nicht unmittelbar zu treffen. Durch die Anwendung der Multiplex-PCR (polymerase chain reaction) konnte die Prä- oder Absenz eines viralen respiratorischen Pathogens bestimmt werden. Dadurch konnten bei einem Kind, welches Symptome einer viralen Infektion aufwies, die Diagnosestellung, das klinische Management und das Verständnis der Pathogenese verbessert werden [12, 13].

Während der frühen Phase der Pandemie waren verfügbare Informationen über den klinischen Verlauf der pH1N1-Infektion bei Kindern nur sehr spärlich oder gar nicht vorhanden. Aus diesem Grund stellten Kinder, welche während der frühen Phase der Pandemie Anzeichen und

Symptome einer ARI zeigten, eine wichtige Quelle klinischer Information und von Prävalenzdaten für respiratorische Viren dar. Die Inzidenz von pH1N1-Infektionen in Deutschland wurde im Jahr 2009 (Kalenderwoche 43-51) auf 468/100.000 bei Kindern im Alter von 1 -4 Jahren sowie auf 1.110/100.000 bei Kindern im Alter von 5 -17 Jahren geschätzt [14].

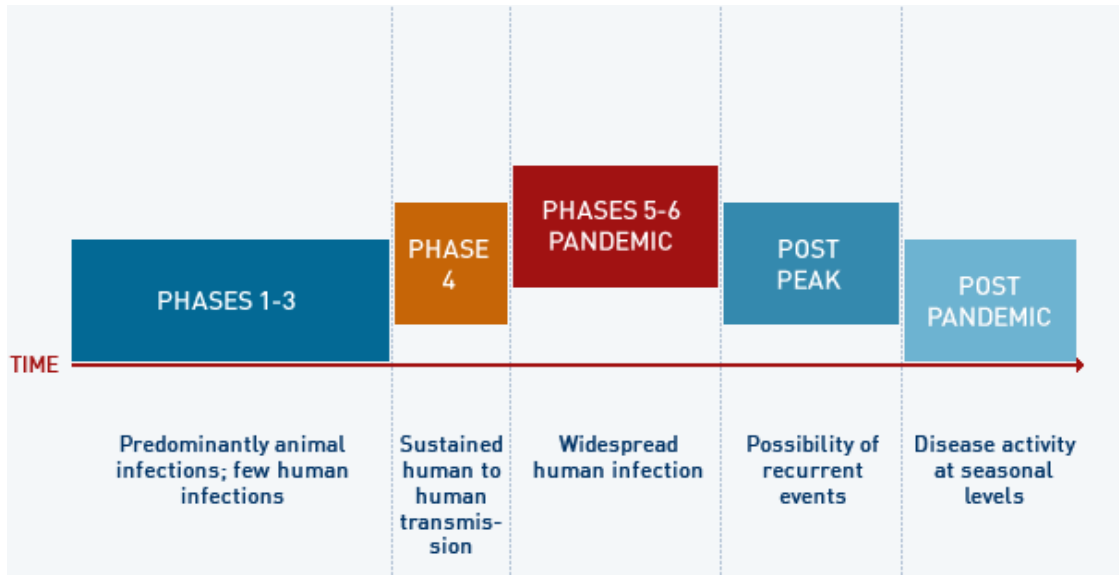


Abbildung 1: Die sechs Pandemie-Stufen der WHO.
Quelle: <https://www.who.int/csr/disease/swineflu/phase/en/>[15]

Die bei dem pH1N1-2009-Virus nachgewiesene Antigenverschiebung war eine Antigen-Veränderung von einem humanen H1N1-Subtyp zu einem porcinen (Schweine-) H1N1-Subtyp [3]. Durch die Dynamik der heutigen Globalisierung breitete sich das pH1N1-2009-Virus weltweit sehr schnell aus. Die Weltgesundheitsorganisation (*World Health Organisation*, WHO) erklärte den Eintritt in eine Pandemiephase im Juni 2009 und hob das neue Virus schrittweise bis auf die höchste Pandemiestufe 6 (WHO Definition: Das Virus hat sich in ein bis zwei Ländern einer WHO-Region und in mindestens einem Land einer anderen WHO-Region unter Menschen rasch und stark ausgebreitet [15]; s. Abbildung 1). Es bestand somit die Gefahr, dass sich das Virus unkontrolliert pandemisch ausbreitete [15]. Im Gegensatz zur schlechten Vorhersagbarkeit der porcinen Überwachung hat die humane Seroepidemiologie eine drohende Pandemie aufgrund fehlender Immunität in der Allgemeinbevölkerung (mit relativem Schutz bei älteren Menschen) korrekt vorhergesagt [16].

Seroepidemiologie und Laborstudien waren jedoch nicht in der Lage eine genaue Einschätzung der Schwere der Erkrankung vorzunehmen, um eine angemessene Pandemiewarnstufe zu empfehlen [3]. Während die Rate der Krankenhausaufenthalte bei Kindern höher war, zeigte die erwachsene Bevölkerung im Alter von 65 Jahren oder älter die niedrigste Rate [17].

Obwohl sich das pH1N1-2009-Virus antigenetisch von anderen humanen und Schweineinfluenza A(H1N1)-Viren unterscheidet [18], waren Stämme dieses Virus antigenetisch homogen. Der Stamm *A/California/7/2009*, welcher für pandemische Influenza-Impfstoffe weltweit ausgewählt wurde, war antigenetisch ähnlich zu fast allen Isolaten, die bis zu diesem Zeitpunkt untersucht wurden [19]. Mehrere genetische Gruppen, einschließlich einer vorherrschenden Abstammungslinie, wurden erkannt [20]. Eine mögliche klinische Bedeutung der verschiedenen Abstammungslinien blieb jedoch fraglich [5].

1.2 Aufbau und Vermehrung der Influenza-A-Viren

Influenzaviren gehören zur Familie der Orthomyxoviridae und sind die häufigste Ursache für schwere Atemwegserkrankungen. Es handelt sich um umhüllte Viren, die ein einzelsträngiges RNA-Genom mit negativer Polarität enthalten und sie verursachen jedes Jahr eine große Anzahl von Todesfällen [21]. Elektronenmikroskopisch betrachtet sehen Influenza A- und B-Viren ähnlich aus und sind praktisch nicht zu unterscheiden. Sie sind entweder sphärisch (100 nm Durchmesser) oder filamentös (oft mehr als 300 nm lang) in der Form [22]. Von den vier Influenzavirustypen (A, B, C und D) verursacht das Influenza A-Virus (IAV) die schwerste Erkrankung und infiziert eine Vielzahl von Tieren (u.a. Schweine, Pferde, Meeressäuger und verschiedene Vogelarten) sowie den Menschen [21]. Typ A mutiert schneller und zeigt eine höhere Variabilität in seiner Antigenität und Virulenz als die anderen Influenza-Typen [23, 24]. Neben seiner Fähigkeit zoonotische Infektionen zu verursachen kann es sich leicht an den Menschen anpassen. Die Übertragung von Mensch zu Mensch führt wiederum dazu, dass die Verbreitung neuer Stämme begünstigt wird [21].

Die umhüllten, einzelsträngigen RNA-Influenza-A-Viren enthalten acht Gensegmente, die für 16 Proteine kodieren (obwohl nicht alle Influenzaviren alle 16 Proteine exprimieren). Das pH1N1-2009-Virus enthält sechs Gene aus dreifach-reassortanten nordamerikanischen, porcinen Virus-Linien und zwei Gene aus eurasischen, porcinen Virus-Linien ([18]; s. Kapitel 1.3). Jedes Segment kodiert für eines der viralen Proteine, zu denen die Hauptoberflächenglykoproteine Hämagglutinin (HA) und Neuraminidase (NA), das Nukleokapsidprotein (NP), drei Untereinheiten der viralen RNA-abhängigen RNA-Polymerase (RdRP: PA, PB1, PB2), die Matrixproteine (M1, M2) und die nichtstrukturellen Proteine NS1 und NS2 zählen [25]. HA und NA sind die beiden wichtigsten viralen einhüllenden Glykoproteine, die Sialinsäure (SA) auf Wirtszellen erkennen. 16 HA- und neun NA-Subtypen von IAV wurden von Vögeln isoliert (H1 - H16 und N1 - N9) und RNA von zusätzlichen zwei HA- und NA-Subtypen wurde in Fledermäusen identifiziert (H17 und H18 und N10 und N11) [26].

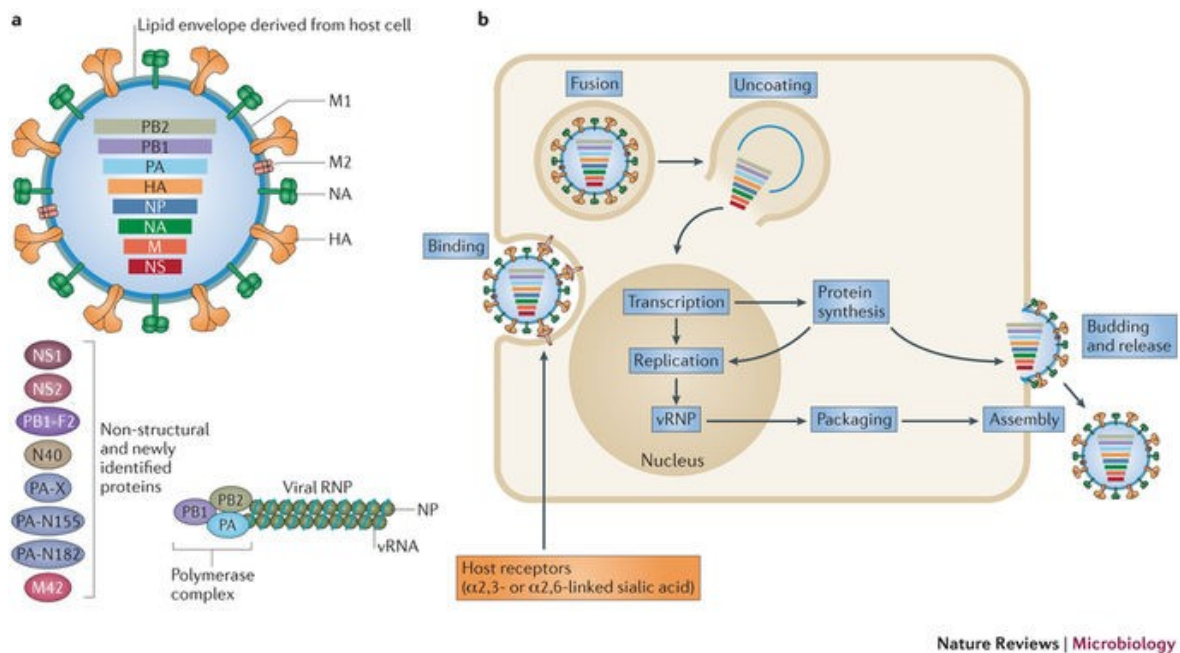


Abbildung 2: Struktur und Lebenszyklus von Influenza A-Viren;
 HA: Hämagglutinin; NA: Neuraminidase; M1, M2: Matrixproteine; NP: Nukleokapsidprotein
 NS: Nichtstrukturelleproteine; PA, PB1, PB2: Untereinheiten der viralen RdRP
 Quelle: Shi et al, 2014 [27]

Da Viren keinen eigenen Stoffwechsel haben, sind sie darauf angewiesen, Zellen zu infizieren um sich vermehren zu können. Die Virusinfektion wird durch Bindung von HA an sialysierte Wirtszelloberflächenrezeptoren (Adsorption) initiiert [28]. Anschließend kommt es durch Endozytose mittels Membranvesikeln zum Eintritt des Virus ins Zytoplasma der Wirtszelle [29]. Nach Aufnahme des Virus in das Zellinnere (Penetration) fusionieren Virusmembran und Vesikelhülle pH-abhängig und die viralen Nukleokapside werden freigesetzt. Vermittelt wird die Membranfusion außerdem durch eine fusionsaktive Sequenz des viralen HA [28]. Nach dem sog. *Uncoating* (Freisetzung der viralen Nukleinsäure aus dem Kapsid) wird das virale Genom in den Zellkern transloziert, wo es zuerst durch eine vom Virus mitgebrachten RNA-abhängigen RNA-Polymerase transkribiert und repliziert wird [27]. Die synthetisierte komplementäre mRNA kann nun zur Protein-Synthese im Zytoplasma genutzt werden. Anschließend werden die viralen Proteine im Kern zu viralen Ribonukleoproteinen (vRNP) zusammengesetzt. Der Export von vRNP in das Zytoplasma wird durch M1 und NS2 vermittelt [30]. Die synthetisierten Viruspartikel werden dann an der Zellmembran der Wirtszelle angeordnet, wobei NA Sialylreste von der Membran der infizierten Zellen und der viralen Membranen entfernt. Dies ermöglicht die Knospung (*Budding*) und das Freisetzen des neu gebildeten Nachkommenvirus in die extrazelluläre Flüssigkeit [28](s. Abbildung 2).

1.3 Epidemiologie und Historie der Influenza-A-Viren

Verantwortlich sowohl für regelmäßige Epidemien als auch gelegentliche Pandemien sind der segmentierte Aufbau des Genoms und die hohe Mutationsfrequenz während der Replikation in multiplen Wirten. Insbesondere die Fähigkeit, sich effizient von Mensch zu Mensch zu verbreiten trägt zum epidemiologischen Erfolg von Influenzaviren bei [21].

Wichtig für die epidemiologischen Phänomene der Influenza-A-Viren sind zwei Mechanismen: *Antigendrift* und *Antigenshift* [31].

Der *Antigendrift* kommt aufgrund von Punktmutationen im Influenzavirus-Genom zustande und ist für die saisonale Influenza-Epidemie verantwortlich. Da der viralen RNA-Polymerase (im Gegensatz zu DNA-Polymerase) eine Korrekturlese-Funktion fehlt, sind Kodierungsfehler und Mehrfachmutationen wahrscheinlicher [21]. Sind Gene, die für Virusoberflächenproteine kodieren, von einer Mutation betroffen so können das Immunsystem oder bei anderen Genmutationen auch eine antivirale Therapie einen Selektionsdruck ausüben [21].

Ein *Antigenshift* tritt auf, wenn zwei oder mehr verschiedene Influenzavirusstämme die gleiche Zelle in einem Wirt infizieren, was zur Rekombination von genetischem Material führt. Diesen Prozess der Vermischung und Neuverteilung genetischen Materials bezeichnet man als Reassortment, welches nur möglich ist, wenn ein segmentiertes Genom vorliegt. Ein solches Ereignis erzeugt gelegentlich einen neuen Stamm mit einer neuen Kombination von HA und NA. Dieser Prozess ist die Voraussetzung für eine Influenza-Pandemie. Die genetischen Verschiebungen führen dann zu Pandemien, wenn der neue Stamm die Fähigkeit zur anhaltend effizienten Mensch-zu-Mensch-Übertragung erlangt [21].

Drei Mechanismen der Influenza-Übertragung wurden identifiziert: Aerosol-, Tröpfchen- und Kontaktübertragung. Das Virus bleibt an den Händen nur für kurze Zeit infektiös, kann jedoch in der Umwelt auf nicht-porösen Oberflächen für bis zu 48 Stunden infektiös bleiben [32].

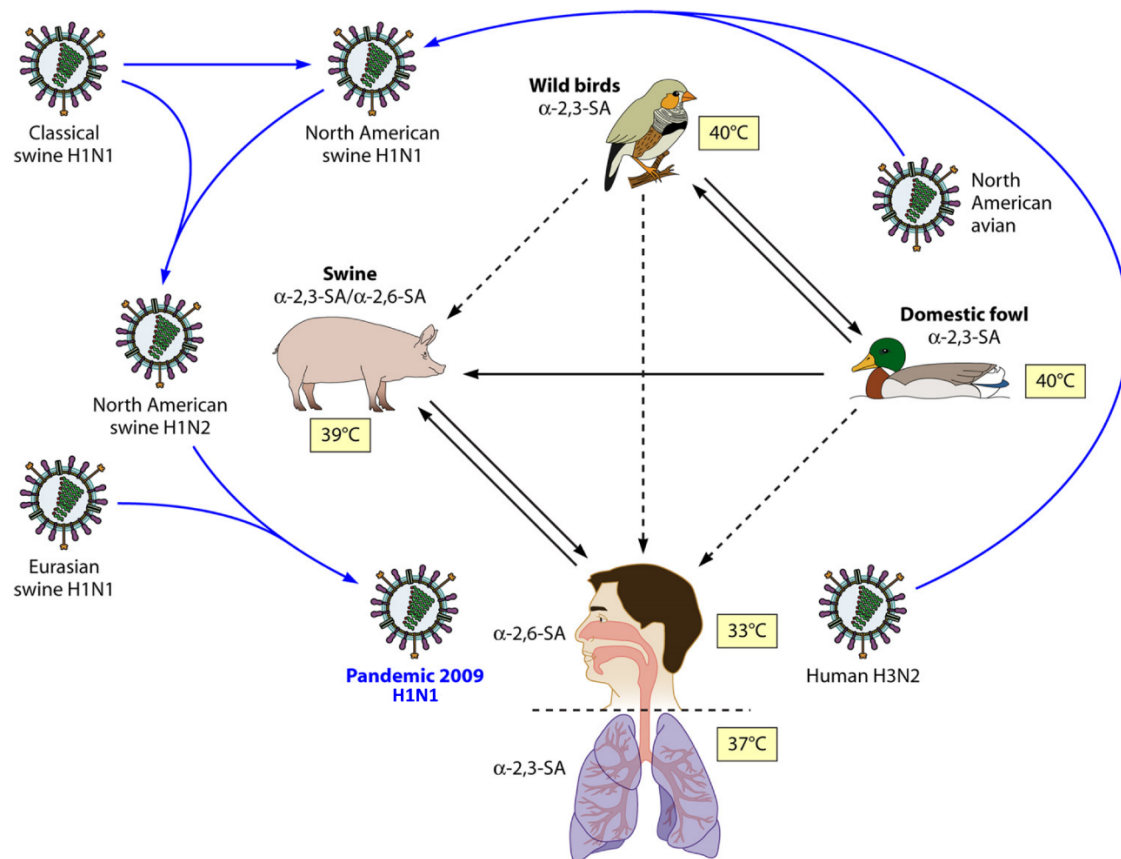


Abbildung 3: Mechanismen für die Entstehung von pandemischen Influenza-Virusstämmen
 Quelle: modifiziert nach: Cheng et al, 2012 und Garten et al, 2009 [3, 18]

IAV, die Vögel infizieren (aviäre IAV), haben eine HA-Rezeptorbindungsspezifität für α 2-3 SA, während HA von humanen IAV eine höhere Spezifität für α 2-6 SA aufweisen. Eine Ausnahme ist der hochpathogene aviäre Influenza (HPAI)-Virusstamm H5N1, welcher eine Präferenz für α 2-3 SA hat [21]. Die respiratorischen Epithelzellen von Schweinen exprimieren sowohl α 2-3- als auch α 2-6-verknüpfte SA und können daher Infektionen mit sowohl aviären als auch humanen Influenzavirusstämmen unterstützen. Dies macht Schweine zu einem Mischgefäß für die Entstehung neuer Stämme, welche fähig sind den Menschen zu infizieren. Einige dieser Stämme können tödliche Infektionen verursachen [33] (s. Abbildung 3). Die entstehenden reassortierten Viren können aufgrund fehlender Immunität in der Bevölkerung zu einer Pandemie-Situation führen, wie sie im Jahr 2009 zu beobachten war. Des Weiteren zeigte sich, dass in experimentell infizierten Tieren das Niveau der pulmonalen Replikation des pH1N1-2009-Virus höher war als das der saisonalen Influenza A(H1N1)-Viren [34-36], welches auf eine hohe Infektiosität des pH1N1-2009-Virus hinweist.

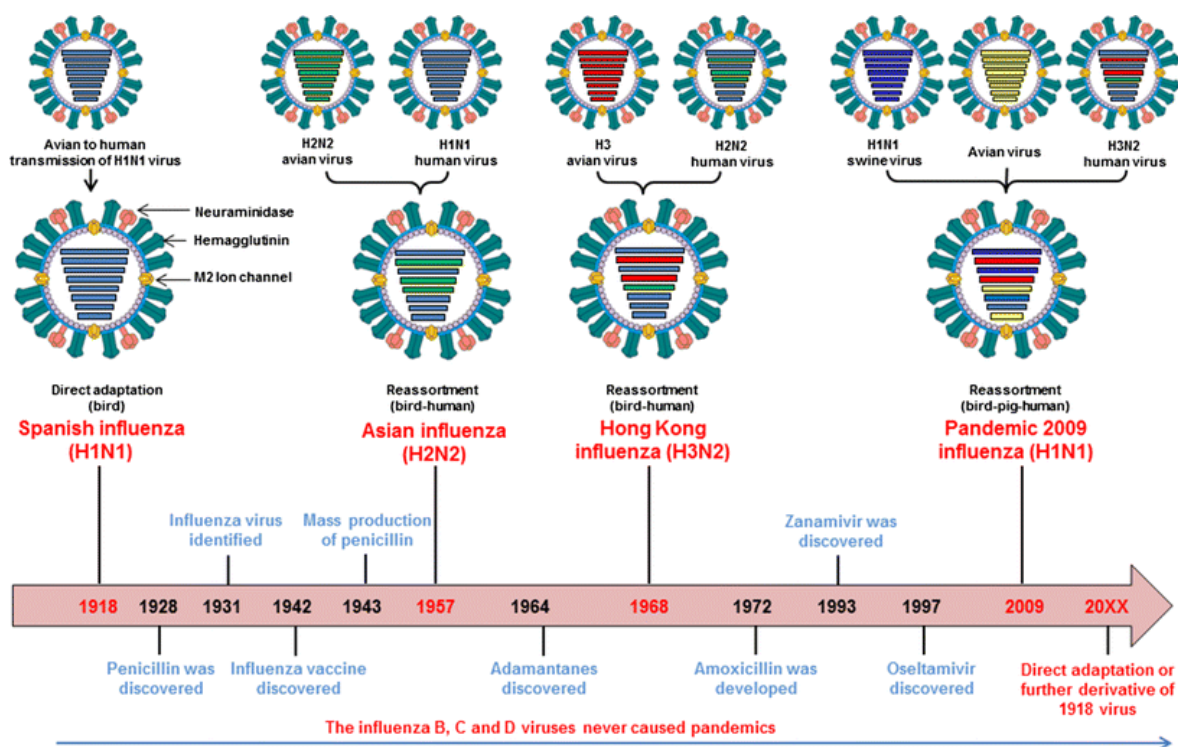


Abbildung 4: Influenza–Pandemien des 20. und 21. Jahrhunderts und die verantwortlichen Influenza–Stämme. Quelle: Kumar et al, 2018 [21].

Die menschliche Bevölkerung bleibt jedes Jahr aufgrund der hohen Mutationsrate des Virus dem Risiko einer Grippepandemie ausgesetzt. Während jeder Pandemie entstand ein neues Influenzavirus (s. Abbildung 4).

Die Spanische Grippe wurde als die bisher schlimmste Pandemie der Geschichte registriert. Das virale Genom aus den rekonstruierten Lungengewebe mehrerer Opfer zeigte, dass es sich um ein von der Vogelwelt abstammendes H1N1-Virus handelte [37], welches außerdem leicht auf Schweine übertragbar war, wie auch bei der H1N1-Pandemie 2009 beobachtet [38]. Das Virus breitete sich innerhalb von neun Monaten in drei schnellen Wellen aus. Es infizierte weltweit etwa 500 Millionen Menschen und tötete 50 -100 Millionen Menschen [39]. Die meisten Todesfälle resultierten aus respiratorischen Komplikationen wie Bronchopneumonien mit bakterieller Koinfektion [40].

Nach der pandemischen Periode entwickelte sich das Virus noch mehrere Jahre lang Mutationen und verschwand 1957 um 1977 wieder in Umlauf zu kommen, verursachte dann jedoch keine Pandemie [1, 32].

Nach der *Spanischen Grippe* 1918 kam es im Jahr 1957 erneut zu einer Influenzapandemie, der *Asiatischen Grippe*. Ursächlich war der H2N2-Stamm, welcher durch ein Reassortment zwischen einem aviären Virus und einem zirkulierenden humanadaptierten Stamm entstand [41]. Die *Asiatische Grippe* führte zu ca. 115.700 Todesfällen, also etwa ein Zehntel der Sterblichkeit im Vergleich zur *Spanischen Grippe* [42].

Im Jahr 1968 ersetzte ein neuer Influenzavirusstamm (H3N2), ebenfalls eine aviär-humane Reassortante, den seit 1957 zirkulierenden, asiatischen, pandemischen H2N2-Stamm. Der H3N2-Stamm unterschied sich von dem Stamm H2N2 durch sein HA-Glykoprotein, hatte aber das gleiche NA-Glykoprotein. Diese als *Hongkong Grippe* bezeichnete dritte Pandemie forderte erneut zahlreiche Todesopfer (ca. 98.100;[42, 43]).

Mit dem zuletzt im Jahr 2009 durch ein Reassortement bei Schweinen entstandene neue Virussubtyp pH1N1-2009-Virus befasst sich diese Arbeit. Das Virusbewies seine Fähigkeit, von Mensch zu Mensch übertragen zu werden und verbreitete sich weltweit mit beispielloser Geschwindigkeit. Dieser Subtyp war ein Nachkommen der vierten Generation des H1N1-Virus von 1918 [44]. Nachdem die Pandemie 2009 zu Ende gegangen war, wurde der pandemische H1N1-2009-Stamm seit Juli 2010 (genau wie jeder andere Pandemiestamm) als saisonale Belastung betrachtet [21]. Auch 2017 zirkulierte das pH1N1-2009-Virus noch gemeinsam mit H3N2- und Influenza-B-Viren [32].

1.4 Koinfektionen mit anderen respiratorischen Viren

Weltweit verursachen Atemwegserkrankungen etwa 4 Millionen Todesfälle jährlich und sind somit eine der Hauptursachen für Morbidität und Mortalität in der ganzen Welt [45]. Im Allgemeinen wird der klinische Verlauf von ARI durch Virustyp, Viruslast und virale oder bakterielle Koinfektionen beeinflusst [13, 46]. Zu den wichtigsten mit ARI assoziierten viralen Pathogenen gehören das Influenza Virus, *Respiratory Syncytial Virus* (RSV), humane Metapneumovirus (hMPV) und Rhinoviren [47]. Eine Koinfektion tritt auf, wenn Kinder gleichzeitig mit mehreren Pathogenen infiziert werden. Influenza wurde häufig mit koinfizierenden Viren identifiziert [48]. In den meisten Studien liegt bei 10 – 30% der pädiatrischen Patienten der Nachweis von zwei oder mehr respiratorischen Viren gleichzeitig vor [13, 49, 50]. Verschiedene Studien, in denen ARI durch Nukleinsäureamplifikationstechniken analysiert wurden, zeigen eine Prävalenz von Koinfektionen von über 40% [51-53]. Aufgrund der leichteren Verfügbarkeit dieser neuen, sensitiven Diagnosetechniken in klinischen Einrichtungen haben Studien eine viel höhere Prävalenz der respiratorischen Koinfektionen gezeigt [54]. Mit zunehmender Sensitivität diagnostischer Methoden wird die Anzahl viraler Koinfektionen weiter ansteigen [45]. Viele respiratorische Viren zirkulieren zu ähnlichen Zeiten, in Gegenden mit gemäßigttem Klima häufig im Winter. Vorherige Untersuchungen in unserem Studiengebiet zeigten eine Winter-Prävalenz von 40 % für das *respiratory syncytial virus* (RSV), 4 % für das humane Metapneumovirus (HMPV) und 3 % für eine Influenza-Infektion [12]. Sowohl HMPV als auch RSV sind wichtige Pathogene für Infektionen des Respirationstrakts bei Kindern und zirkulieren prädominant im späten Winter und Frühling. Die Aktivitätsgipfel beider Viren überschneiden sich mit einer Phase, in der die Krankheitslast der Influenza besonders hoch ist [55, 56]. Die klinische Relevanz von Kopathogenen respiratorischer Viren im Zusammenhang mit der

Schwere der Erkrankung ist jedoch noch unklar. In mehreren Studien wurde berichtet, dass virale Koinfektionen mit einer erhöhten Morbidität assoziiert sind [45]. Einige Studien zeigen einen Anstieg der Krankenhausaufenthaltsraten und der Aufnahme auf eine pädiatrische Intensivstation im Zusammenhang mit einer Koinfektion [57-59]. Diese Ergebnisse werden jedoch kontrovers diskutiert, da mehrere andere Studien berichten, dass Koinfektionen keinen Einfluss auf die Zunahme der Morbidität der Patienten haben [60-66]. Neuere systematische Reviews stellen keinen Unterschied in Bezug auf den Schweregrad der Erkrankung zwischen Patienten mit viraler Koinfektion im Vergleich zu Monoinfektionen fest [67, 68]. Aufgrund der relativ kurzen Dauer von viralen ARI wird eine virale Koinfektion als weniger bedenklich betrachtet [69].

2 Infektionen der Atemwege

2.1 Einführung

Weltweit sind akute Infektionen der Atemwege mit einer erheblichen Morbidität und Mortalität bei pädiatrischen Patienten assoziiert [70]. Rezidivierende ARI (Acute Respiratory Tract Infection) sind besonders häufig bei kleinen Kindern. In Industrieländern betreffen sie bis zu 25 % der Kinder unter einem Jahr und 18 % der Kinder zwischen 1-4 Jahren [71]. In Entwicklungsländern sind rezidivierende ARI eine der Hauptursachen für die Kindersterblichkeit und führen zu über 2 Millionen Todesfällen pro Jahr [72, 73]. Diese treten mit etwa 5-6 Infektionen pro Jahr im frühen Lebensalter häufiger auf als im Erwachsenenalter [74, 75]. Die unkomplizierte ARI wird zu 90-95 % durch etwa 200 verschiedene Viren und zu 5-10 % durch Bakterien verursacht [76]. Als respiratorischen Viren werden alle Viren bezeichnet, die einen ausgeprägten Tropismus für das Epithel der Atemwege aufweisen und sich in Abhängigkeit von der Wirtsimmunität unterschiedlich schwer manifestieren. Epidemiologische Nachweise haben eindeutig nahegelegt, dass eine Infektion mit respiratorischen Viren, insbesondere eine IAV-Infektion, die Häufigkeit und Schwere sekundärer bakterieller Infektionen im Respirationstrakt erhöht [77]. Eine IAV-Infektion beschädigt Epithelzellen und baut die Barrierefunktion des Epithels ab, wodurch die bakterielle Kolonisierung der Atemwege erleichtert wird [77]. Auch verändert sie die Funktion von angeborenen und adaptiven Immunzellen, welches wiederum dazu führt, dass diese die bakterielle Replikation nicht mehr wirksam kontrollieren können [78].

Im Folgenden werden die für den Menschen, insbesondere Kinder, relevanten respiratorischen Erreger kurz zusammenfassend vorgestellt und die charakteristische Pathogenese der häufigsten respiratorischen Infekte dargestellt. Dabei ist jedoch für diese Arbeit das Influenza-Virus von primärer Bedeutung.

2.1.1 Viren

Die Haupterreger, die ARI auslösen, sind Viren [79]. Virale Infektionen betreffen häufig die oberen oder unteren Atemwege und diese Infektionen werden im Allgemeinen nach klinischen Syndromen klassifiziert [80]. Bestimmte respiratorische Viren verursachen dabei häufig ein bestimmtes klinisches Syndrom, wie z.B. Bronchiolitis durch RSV, Rhinitis durch Rhino- und Coronaviren, Krupp-Syndrom durch Parainfluenzaviren oder Pneumonie durch Influenzaviren, RSV und Adenoviren [80]. Die klinische Symptomatik kann in unterschiedlichen Altersgruppen differieren, am ausgeprägtesten ist sie bei älteren Menschen und Säuglingen [80]. Die Morbidität kann direkt durch die Virusinfektion bedingt sein oder indirekt aufgrund einer Exazerbation der zugrundeliegenden kardiopulmonalen Vorerkrankungen, einer bakteriellen Superinfektion der Lunge oder auch einer Sinusitis oder Otitis media [80].

Tabelle 1: Relevante respiratorischen Viren des MenschenQuelle: Modrow, S., D. Falke, and U. Truyen, *Molekulare Virologie* 2010: Spektrum Verlag [81]

Virusfamilie	Unterfamilie	Subtypen	Genom
Picornaviren	Humane Enteroviren	A-D	RNA ss +
Coronaviren	Coronaviren	229E, C42, NL63, HKU-1	RNA ss +
Paramyxoviren	Respirovirus: Parainfluenza	1, 3	RNA ss -
	Rubulavirus: Parainfluenza	2, 4	RNA ss -
	Pneumovirus: RSV	A, B	RNA ss -
	Methapneumovirus: Humanes Metapneumovirus	A, B	RNA ss -
Orthomyxoviren	Influenzavirus	A, B, C	RNA ss -
Adenoviren	Adnovirus	A-F, Serovare 1-51	DNA ds
Parvoviren	Humanes Bocavirus		DNA ss

Auf einige für diese Arbeit besonders relevante respiratorische Viren (s. Tabelle 1) wird im Folgenden genauer eingegangen.

2.1.1.1 Respiratory Syncytial Virus (RSV)

Wenn eine RSV-Infektion auf die oberen Atemwege beschränkt ist, kommt es zu Rhinorrhoe, verstopfter Nase, Husten, Niesen und selten Fieber und Myalgie [82]. Bei einigen Patienten, meist Säuglingen oder Kindern <24 Monaten und besonders solchen mit Risikofaktoren für schwere Erkrankungen (wie für HMPV; s. Kapitel 2.1.1.2), kann RSV die unteren Atemwege infizieren und dadurch eine Bronchiolitis verursachen. Diese ist durch Rhinorrhoe gekennzeichnet, gefolgt von trockenem, pfeifendem Husten, Tachypnoe, Dyspnoe und oft subkostale, interkostale und supraklavikuläre Einziehungen [82, 83]. In schweren Fällen kann eine RSV-Infektion auch mit Befunden einer viralen Pneumonie, Hypoxie, Lethargie und akutem Lungenversagen einhergehen [82].

2.1.1.2 Humanes Metapneumovirus (HMPV)

HMPV ist ein wichtiges humanes Pathogen, das mit ARI bei kleinen Kindern, immungeschwächten Individuen und älteren Individuen assoziiert ist und während der Wintermonate bei Säuglingen und immungeschwächten Personen eine wichtige Ursache von ARI ist [84]. Die meisten Kinder, die jünger als 5 Jahre alt sind, sind bereits mit HMPV infiziert [85]. HMPV teilt die gleichen klinischen respiratorischen Symptome wie RSV, einschließlich respiratorischer Probleme wie Husten, Rhinitis, Dyspnoe, Giemen bis zur Bronchiolitis und Pneumonie, häufig begleitet von hohem Fieber, Myalgie und Erbrechen [84-88]. Frühgeburtlichkeit wird als wichtiger Risikofaktor für eine schwere HMPV-Infektion vermutet [89-91]. Immunsuppression, jüngerer Alter und das Vorhandensein von Komorbiditäten wie Asthma, kongenitale Herz-Erkrankungen, neuromuskuläre Erkrankungen und andere chronische Lungenerkrankungen sind weitere Risikofaktoren, die mit einer schweren HMPV-Infektion einhergehen [92-94].

2.1.1.3 Influenza Viren

Die klinischen Merkmale der unkomplizierten Influenza sind praktisch nicht von denen anderer respiratorischer Virusinfektionen zu unterscheiden [95]. Die Influenza-Infektion ist klassisch durch das plötzliche Auftreten von hohem Fieber, Schüttelfrost, Schnupfen, trockener Husten, Kopfschmerzen, Erschöpfung, Unwohlsein, Anorexie, Pharynxirritation und Entzündung der Luftröhre gekennzeichnet [95, 96]. In den meisten Fällen ist eine Lungenbeteiligung nicht klinisch führend [96]. Akute Symptome und Fieber bestehen oft für 7-10 Tage und die darauf folgende allgemeine Schwäche sowie Müdigkeit können wochenlang anhalten. Beim Vorliegen von Asthma oder strukturellen Lungenerkrankungen kann Giemen eine prominente Manifestation einer Influenza-Infektion sein [97]. Pneumonien und das ARDS (acute respiratory distress syndrom) machen den Großteil der hohen Morbidität und Mortalität aus, die mit einer pandemischen Influenzainfektion einhergehen [98].

2.1.1.4 Parainfluenza Viren (PIV)

PIV sind eine wichtige Ursache für ARI der oberen und unteren Atemwege, insbesondere bei Kindern <5 Jahren. PIV-1 und PIV-3 sind die vorherrschenden Typen [99]. Ähnlich wie bei der RSV-Infektion können PIV Typ 1-4 während des gesamten Lebens rezidivierende Infektionen verursachen. Sie können ein vollständiges Spektrum von ARI verursachen, einschließlich Rhinitis, Krupp-Syndrom und Erkrankungen der unteren Atemwege (wie z.B. Bronchitis, Bronchiolitis und Pneumonie) [100]. PIV ist der häufigste Erreger der akuten Laryngotracheobronchitis [101, 102]. PIV-Infektionen können insbesondere bei älteren Menschen und bei immunsupprimierten Patienten schwere Infektionen verursachen [103-105].

2.1.2 Bakterien

Obwohl Viren hauptsächlich insbesondere bei Kindern für Atemwegsinfektionen verantwortlich sind, treten häufig bakterielle Superinfektionen auf. Bakterielle Infektionen werden bei bis zu

60 % der Patienten beobachtet, deren klinische Symptome 10 Tage oder länger andauern [106]. Patienten mit bakteriellen ARI haben meist einen etwas schwereren Krankheitsverlauf als Patienten mit viralen ARI, der Unterschied ist jedoch gering [107]. Trotz umfangreicher Anamnese und körperlicher Untersuchung sind die klinischen Zeichen alleine nicht geeignet, um die virale oder bakterielle Ätiologie von ARI vorherzusagen [108]. Die 4 häufigsten bakteriellen Erreger (s. Tabelle 2) machen 85-95 % der bakteriellen Exazerbationen von Atemwegsinfektionen aus [109].

Tabelle 2: Relevante bakterielle Erreger von ARI

Quelle: Eigene Darstellung in Anlehnung an McCullers 2006, Fendrick 2001 [110, 111].*häufigste Erreger

Erreger
<i>Streptococcus pneumoniae</i>*
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>*
<i>Haemophilus influenzae</i>*
<i>Streptococcus pyogenes</i>*
<i>Moraxella catarrhalis</i>
<i>Bordetella pertussis</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Mycobakterium tuberculosis</i>
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>
<i>Chlamydomphila psittaci</i>
<i>Legionella pneumophila</i>

2.1.3 Sonstige Erreger

Auch Pilzgattungen können, insbesondere bei immunsupprimierten Patienten zu klinisch manifesten ARI führen. Zu ihnen zählen u.a. *Aspergillen*, *Pneumocystis jirovecii*, *Cryptococcus neoformans* und *Histoplasma capsulatum*.

2.2 Pathogenese viraler respiratorischer Infektionen

Für die Schwere der klinischen Manifestation einer ARI sind vor allem zwei Faktoren wichtig [112]: 1) die direkte Schädigung infizierter Zellen im Rahmen der Virusreplikation sowie 2) die Art und das Ausmaß der pulmonalen Immunantwort [113]. Die abgestorbenen Epithelzellen können ins Lumen der Atemwege abgestoßen werden und der resultierende Detritus führt mitunter zu einer direkten Verlegung [113]. Die Art und das Ausmaß der Wirtsimmunität und der daraus resultierende Beginn einer Antwort des unspezifischen und spezifischen Immunsystems sind abhängig von der jeweiligen, durch den Erreger induzierten, Zytokin-Ausschüttung [114]. Im Rahmen dieses Geschehens kommt es zur Schädigung des betroffenen Gewebes. Im Hinblick auf den Verlauf einer akuten Infektion mit respiratorischen Viren ist

demnach die rasche Viruselimination günstig [114]. Bei Patienten mit einer bestehenden genetischen Prädisposition im Sinne einer Atopie, kann eine akute Infektion mit respiratorischen Viren durch eine pathologisch gesteigerte Immunantwort im Rahmen der Virusabwehr zu einer Exazerbation der Grunderkrankung führen [115]. Die virale *Clearance* und Auflösung der Infektion erfordert eine komplexe, facettenreiche Reaktion, die durch residente Zellen des Respirationstraktes und angeborene Immunzellen ausgelöst und schließlich durch adaptive Immunzellen beseitigt wird [116]. Die angeborene Immunität bekämpft erfolgreich viele Infektionen und verhindert die Entstehung einer Erkrankung. Bei einer erfolglosen Beseitigung der Infektionen wird die adaptive Immunantwort ausgelöst. Nach einer Überwindung der Infektionen entsteht häufig ein dauerhaftes immunologisches Gedächtnis, das vor einer erneuten gleichen Infektion Schutz bietet [117]. Im Folgenden werden die Mechanismen der pulmonalen Immunantwort bei viralen Infektionen beschrieben.

2.2.1 Die pulmonale Immunantwort

2.2.1.1 Physikalisch-chemische Mechanismen der Pathogen-Abwehr

In den unteren Atemwegen sind physiko-chemische Mechanismen der Pathogen-Abwehr weniger entscheidend als im oberen Respirationstrakt. Die meisten Mikroorganismen, die in die Atemwege gelangen, sowie die kommensalen Bakterien, die die Atemwege besiedeln, lösen keine Infektion aus und werden eliminiert, ohne dass sie nachweisbare Anzeichen und Symptome der Krankheit verursachen. Daher bildet eine physikalische und chemische Barriere eine kritische erste Verteidigungslinie noch vor der Beteiligung von angeborenen und adaptiven Immunzellen [78].

Die Feuchte der Schleimhaut des Nasen-Rachen-Bereichs begünstigt die Anheftung von Partikeln. Die Bewegung der Kinozilien, teilweise in Verbindung mit dem Hustenreflex, bewirken dann eine effiziente Elimination einer Vielzahl von Partikeln: 90 % der auf der Mukosa abgelagerten Materialien werden auf diesem Wege in weniger als einer Stunde aus der oberen Atemwege abtransportiert [97]. Nicht pathogene Mikroorganismen, wie kommensale Bakterien, die in den oberen Atemwegen verbleiben, sezernieren verschiedene Proteine, die ihr eigenes Überleben verbessern und gleichzeitig das Wachstum eindringender pathogener Mikroorganismen inhibieren [78].

2.2.1.2 Unspezifische Immunantwort

Die unspezifische Immunantwort ist die angeborene, nicht erregerspezifische zelluläre Immunantwort des Körpers auf körperfremde Zellen [118]. Makrophagen, Granulozyten, Mastzellen, DC und natürliche Killerzellen (NK-Zellen) sind Zellen des unspezifischen Immunsystems [117]. Die nicht zellulären Anteile des unspezifischen Immunsystems sind u.a. die Komplementfaktoren, Interferon und Lysozym [117].

2.2.1.3 Die adaptive pulmonale Immunantwort

Das adaptive Immunsystem hat die besondere Eigenschaft bestimmte Krankheitserreger zu erkennen und den Schutz vor einer erneuten Infektion zu verbessern [117]. Die adaptive Immunantwort ist die erworbene, Erreger-spezifische Immunantwort, die ein Mensch während seines Lebens als Anpassung an eine Infektion mit einem spezifischen Krankheitserreger entwickelt hat [117]. Nach ihrem Kontakt mit dem Antigen differenzieren die beiden Lymphozyten-Gruppen (B- und T-Lymphozyten) zu Effektor-Lymphozyten aus. Antigene aus der extrazellulären Umgebung werden von B-Zell-Rezeptoren erkannt, welches in einer Differenzierung der entsprechenden B-Zellen zu Plasmaeffektorzellen resultiert. Diese sezernieren dann Antikörper in ihre Umgebung [117]. Die 3 Funktionen der spezifischen Antikörper sind: 1) Neutralisation (Verhinderung der Infizierung durch die Bindung der Antigene), 2) Opsonisierung (Einhüllung von Krankheitserregern und Fremdpartikeln mit Antikörper) und 3) Komplementaktivierung [116].

Die angeborene Immunantwort spielt eine signifikante Rolle bei der Initiierung sowohl antiviraler Antworten als auch adaptiver Immunantworten. Die adaptive Immunantwort ist jedoch letztendlich für die vollständige Eliminierung von Viren verantwortlich, indem die virale Replikation angehalten wird, um die Erzeugung neuer Virionen zu verhindern und infektiöse Virionen zu eliminieren [116].

2.3 Erkrankungen der Atemwege verursacht durch respiratorische Viren

Der Respirationstrakt ist ein wichtiges Portal, durch das Viren eindringen, um eine Infektion auszulösen. Während einige Viren eine Infektion im Respirationstrakt initiieren und sich dann auf andere Stellen im Körper ausbreiten können, bleiben andere Viren typischerweise in den Atemwegen lokalisiert, wo sie sich replizieren und Gewebeschädigungen induzieren [78]. Der Respirationstrakt kann anatomisch in die oberen Atemwege (einschließlich Nase, Mund und Rachen) und die unteren Atemwege (bestehend aus Trachea, Bronchien und Lunge) eingeteilt werden.

Tabelle 3: Ätiologie der ARI in allen Altersgruppen

Quelle: Eigene Darstellung in Anlehnung an Heikkinen 2003, Mandell 2005 [97, 119]

Klinisches Symptom	Verursachende respiratorische Viren
Rhinitis	<ul style="list-style-type: none"> • Rhinoviren (30-50 %) • Coronaviren (10-15 %) • PIV (5 %) • RSV (5 %) • Influenza (5-15 %) • Adenoviren (5 %)
Pharyngitis	<ul style="list-style-type: none"> • Rhinoviren (20 %) • Coronaviren (>5 %) • Herpes Simplex Viren (5 %) • Adenoviren (5 %) • PIV (5 %) • Influenzaviren (2 %) • Coxsackieviren (<1 %) • Streptococcus pyogenes (β-hämolisierenden A-Streptokokken) * (15-30 %)
Laryngotracheobronchitis (Krupp)	<ul style="list-style-type: none"> • PIV Subtyp 1 (18 %) • PIV Subtyp 2 (3 %) • PIV Subtyp 3 (6,6 %) • IAV (1,4 %) • IBV (1,2 %) • RSV (3,8 %) • Anderen Viren (2 %)
Bronchiolitis	<ul style="list-style-type: none"> • RSV (43-90 %) • PIV Subtyp 1 (5-12 %) • PIV Subtyp 2 (1-6 %) • PIV Subtyp 3 (8-15 %) • Rhinoviren (3,8 %) • Adenoviren (3,10 %) • Influenzaviren (5,8 %)
* Streptococcus pyogenes eingeschlossen weil Differenzierung von Streptokokken- und viraler Pharyngitis klinisch nicht möglich ist [120].	

2.3.1 Infektionen des oberen Respirationstrakts

Häufig ist der obere Respirationstrakt (URT, upper respiratory tract) der initiale Ort der viralen Replikation, da viele respiratorische Viren durch Inhalieren oder durch Kontakt mit der Nasenschleimhaut übertragen werden. Bei gesunden Patienten ohne Vorerkrankungen sind Infektionen mit üblichen respiratorischen Viren typischerweise auf die oberen Atemwege beschränkt [116]. Eine symptomatische Virusinfektion des URT (Schnupfen, Rhinorrhoe, Husten und Halsschmerzen) spiegelt den Verlust von zellulären *tight junctions*, Gefäßleckagen und Ödemen, eine erhöhte Schleimproduktion sowie Apoptose, Nekrose und Ablösung von Epithelzellen wider [96, 121, 122]. Die Rekrutierung von Neutrophilen und mononukleären Zellen in den URT fördert weiterhin Ödeme und Hypersekretion von Schleim, was zu einer verstopften Nase, Niesen und Husten bei Patienten führt [96, 121, 122]. Die Häufigkeit von Infektionen des URT ist umgekehrt proportional zum Alter. Im Durchschnitt haben Kleinkinder 6-8 und Erwachsene 2-4 Erkältungen pro Jahr [74]. Die meisten respiratorischen Infektionen in der frühen Kindheit sind auf die oberen Atemwege beschränkt, was zu Erkältungssymptomen mit Schnupfen, Husten, Heiserkeit, Lethargie und eingeschränkter Nahrungsaufnahme führen kann und bei Säuglingen oft von Fieber begleitet wird [46]. Im Folgenden werden die klinischen Varianten der URT zusammenfassend vorgestellt.

2.3.1.1 Rhinitis

Eine Vielzahl von respiratorischen Viren ist mit einer akuten Rhinitis im Rahmen des „*common cold*“ assoziiert (Tabelle 3). Rhinoviren, die in bis zu 50 % der Fälle für eine akute Erkältung verantwortlich sind, spielen hierbei eine signifikante Rolle [123].

Die akute virale Rhinitis ist in der Regel eine kurze, selbstlimitierende Erkrankung [119]. Vermehrte Abschilferung infizierter Epithelzellen in Verbindung mit der durch die lokale Immunantwort bedingten submukosalen Schleimhautschwellung und eine vermehrte Schleimsekretion durch die cholinerge Stimulation führen zu einer Verstopfung von Nase/Nasennebenhöhlen, Schnupfen und Niesen [119]. Für Rhinoviren wurde gezeigt, dass deren Replikation in den Epithelzellen des Nasenrachenraums zu einer Veränderung der residenten bakteriellen Flora mit der Gefahr einer bakteriellen Superinfektion führt [97].

Etwa 12 bis 72 Stunden beträgt die Inkubationszeit einer akuten Rhinitis [97]. Die Symptomatik dauert ca. 1 Woche an und erreicht um den 3. Tag ihren Höhepunkt [119]. Hauptsymptome der akuten Rhinitis sind Schnupfen, Nasenkatarrh, Halsschmerzen und meist nur geringgradig erhöhte Körpertemperaturen, eine Temperaturerhöhung bei Erwachsenen ist jedoch selten [97].

Die Ausbreitung von respiratorischen Viren findet besonders in Kindergärten und Schulen statt [124]. Kinder infizieren sich bei ihren Klassenkameraden und bringen Infektionen ins häusliche Umfeld, wo sie ihre Familienangehörigen infizieren [119]. Respiratorischen Viren werden über

respiratorische Sekrete übertragen, wobei verschiedene Übertragungswege möglich sind: 1) direkter Kontakt mit infektiösen Sekreten, z.B. über kontaminierte Hände oder Objektoberflächen 2) aerogene Übertragung von Viruspartikeln über sehr kurze Strecken 3) virushaltige Aerosole 4) eine Kombination aus diesen Mechanismen [119]. Bei akut an Rhinovirus erkrankten Patienten wurden größere Virusmengen an ihren Händen nachgewiesen, sodass aus diesem Grunde die hygienische Händedesinfektion wesentlich ist für die Unterbrechung der Infektionskette [97].

Mit Ausnahme der Influenza gibt es bislang kaum kausale Therapieansätze gegen ARI. Vielmehr erfolgt die Therapie symptomatisch mit abschwellenden Nasentropfen, Analgetika und/oder Antipyretika [119].

Die Inzidenz von ARI in allen Altersgruppen ist in den Wintermonaten sowie im Frühjahr und während der Regenzeit in den Tropen am höchsten, um während der wärmeren Monate des Sommers auf ein Minimum abzusinken [119].

2.3.1.2 Pharyngitis

Eine Pharyngitis ist eine akute Entzündung des Rachens ausgelöst durch eine Vielzahl möglicher Erreger. Die meisten Fälle sind viraler Ätiologie und treten im Rahmen von Erkältungs- und Influenzasyndromen auf [97]. Die milden Fälle von Streptokokken-Pharyngitis (*S.pyogenes*) sind klinisch nicht von einer viralen Pharyngitis zu unterscheiden und können falsch als Erkältungen klassifiziert werden [119]. Aufgrund der Effektivität der Penicillin-Therapie hinsichtlich Streptokokken-Infektionen und der Unwirksamkeit einer Antibiotika-Therapie bei den Virusinfektionen ist es wichtig, die Streptokokken- von der viral bedingten Pharyngitis zu unterscheiden [125]. Auch ist die Erkennung und adäquate antibiotische Therapie eines Streptokokken-Infekts von großer klinischer Bedeutung, da andernfalls ca. 1-3 Wochen nach der Pharynx-Infektion ein akutes rheumatisches Fieber sowie eine post-Streptokokken-Glomerulonephritis auftreten können [120].

Bis zu 70 % der Fälle von Pharyngitis sind durch Viren verursacht [125]. Ein großer Anteil leichter Fälle von Pharyngitis ist mit Rhinoviren und Coronaviren assoziiert [97]. Etwa 15 % aller Fälle von Pharyngitis sind auf *S.pyogenes* zurückzuführen [97]. Die akute virale Pharyngitis tritt am häufigsten im Rahmen einer akuten Erkältung auf [97]. So sind bis zu 20 % der akuten Pharyngitiden mit Rhinoviren assoziiert (s. Tabelle 3).

Die Pathogenese resultiert ähnlich wie bei einer akuten Infektion des Nasenepithels aus einer Schädigung der virusinfizierten Epithelzellen des Rachenraums in Verbindung mit einer submukosalen Schwellung und Ödembildung der betroffenen Gewebeabschnitte [97, 126]. Häufige Symptome einer akuten Pharyngitis sind Halskratzen mit oder ohne Tonsillenerthem,

Schwellung, Exsudat oder Ulzerationen, Fieber und Halskratzen, welche auch bei einer Erkältung in leichter Ausprägung vorhanden sein können [125]. Eine Temperaturerhöhung bei Erwachsenen und älteren Kindern ist bei einer viralen Pharyngitis eher ungewöhnlich [97]. Die Symptomatik bei viraler Pharyngitis dauert ca. 1 Woche und erreicht ca. am 3. Tag ihren Höhepunkt [97]. Bei Streptokokken-Infektionen ist der Beginn der Symptome meist abrupt und umfasst starke Halsschmerzen, Fieber, Schüttelfrost, Unwohlsein, Kopfschmerzen, vergrößerte vordere zervikale Lymphknoten und pharyngeales/ tonsilläres Exsudat [120]. Infektionen mit *S.pyrogenes*, die erythrogenes Toxin produzieren, resultieren in dem charakteristischen erythematösen Ausschlag von Scharlach [97]. Die Zunge ist rot und die Papillen sind vergrößert (sog. Erdbeerzunge).

Eine akute *S.pyrogenes*-Pharyngitis kann selbstlimitierend verlaufend: Das Fieber ist in der Regel innerhalb von 3-5 Tagen rückläufig, und die begleitenden Halsschmerzen verschwinden innerhalb einer Woche [120]. Antibiotika können helfen, die Schwere und Dauer der Symptome zu reduzieren, die Ausbreitung der Krankheit zu begrenzen sowie die infektiösen (z.B. Peritonsillar- oder Retropharyngeal-Abszess, zervikale Lymphadenitis, Otitis media und Mastoiditis) und die nicht-infektiösen (akutes rheumatisches Fieber) Komplikationen zu verhindern [120, 127]. Die Infektionswege und Saisonalität sind gleich der bei akuter Rhinitis (s. Kapitel 3.3.1.1).

2.3.2 Infektionen des unteren Respirationstrakts

Etwa ein Drittel aller Säuglinge mit respiratorischen Virusinfektionen entwickeln Symptome der unteren Atemwege wie Tachypnoe, Giemen, schweren Husten und Dyspnoe. Diese Symptome können von folgenden klinischen Zeichen begleitet werden: Nasenflügeln, Jugular-, Interkostal- und Thorax-Einziehungen, Zyanose, Knistern, inspiratorischen Rasselgeräuschen oder allgemein reduzierten Atemgeräuschen bei Auskultation des Thorax [46]. Im Folgenden werden die Infekte der unteren Atemwege (LRTI) kurz zusammenfassend dargestellt.

2.3.2.1 Akute Laryngotracheobronchitis (Krupp-Syndrom)

Die akute Laryngotracheobronchitis ist eine altersspezifische Virusinfektion der unteren und oberen Atemwege, die im subglottischen Bereich eine Entzündung hervorruft [128]. Die akute Schwellung führt zu einer Verengung der Atemwege, was sich in Form eines auffälligen inspiratorischen Stridors (in Ruhe oder bei Erregung), sowie einer heiseren Stimme, bellendem Husten und in schweren Fällen verstärkten Atembewegungen bemerkbar macht [97, 129]. Diese Symptomatik wird auch zusammenfassend als Krupp-Syndrom (Syn. Pseudokrapp) bezeichnet. Die Krankheit betrifft vorwiegend Kinder zwischen 6 Monaten und 6 Jahren und häufige Prodromalsymptome sind Schnupfen, Fieber und Pharyngitis [128]. Alter, Geschlecht und eine bisher unbekanntes Veranlagung des Kindes beeinflussen die Anfälligkeit und

Schwere der Infektion. Viele Kinder entwickeln das Krupp-Syndrom nur einmal im Laufe ihrer Kindheit trotz mehrfacher Infektion mit den Viren [97].

Das PIV ist der häufigste Erreger (75 % der Fälle) der akuten Laryngotracheobronchitis, gefolgt vom RSV und dem Influenzavirus [101, 102]. Eine Laryngotracheobronchitis betrifft etwa 3 % aller Kinder pro Jahr [130].

Die Erkrankung beginnt als Infektion des Epithels des URT und greift dann auf weiter distal liegende Strukturen im Bereich des Kehlkopfes (Glottis und v.a. subglottischer Raum) sowie im Bereich der Trachea über [97].

In der Regel entwickelt sich die Prodromalphase (12-48 Stunden Dauer), mit Rhinitis, Pharyngitis, leichtem Fieber, mit oder ohne Husten einhergehend, zur Krupp-Symptomatik. Diese setzt meist abrupt nachts mit Heiserkeit, bellendem Husten, inspiratorischem Stridor und Atemnot ein [131]. Der Übergang in ein lebensbedrohliches Krankheitsbild mit progressiver Hypoxie, Zyanose, Tachypnoe und Tachykardie ist möglich und nicht voraussehbar, jedoch selten [131].

Wichtig ist vor allem zunächst die Beruhigung des Kindes. Darüber hinaus sind die Exposition gegenüber kalter Luft oder Verabreichung von kühlem Nebel, Steroidgabe und die Zugabe von vernebeltem Adrenalin mögliche Behandlungsmaßnahmen für die virale Laryngotracheobronchitis [128].

Das jahreszeitlich gehäufte Auftreten der akuten Laryngotracheobronchitis hängt mit der Saisonalität der auslösenden Viren, besonders mit der Aktivität der PIV, zusammen [97].

2.3.2.2 Bronchitis

Die akute Bronchitis ist eine klinische Diagnose, die durch akuten Husten mit oder ohne Sputumproduktion und Anzeichen einer LRTI in Abwesenheit von chronischen Lungenerkrankungen (wie chronisch-obstruktiver Lungenerkrankung) oder einer identifizierbaren Ursache (wie Pneumonie oder Sinusitis) gekennzeichnet ist [132]. Die akute Bronchitis kommt am häufigsten bei Säuglingen vor und wird zumeist viral verursacht, etwa 10 % der akuten Bronchitiden sind bakteriell bedingt [133]. Die am häufigsten identifizierten Viren sind Rhinovirus, Enterovirus, IAV, IBV, PIV, Coronavirus, HMPV und RSV [134].

Die akute Bronchitis entsteht oft im Rahmen einer Infektion der oberen Atemwege, welche dann auf die Schleimhäute der Trachea und der Bronchien übergreift [135]. Die Virusreplikation in den respiratorischen Epithelzellen führt zu einer lokalen Schädigung sowie zu einer Beeinträchtigung der Kinozilienfunktion und in Folge zu einer Verminderung der mukoziliären Clearance [97].

Die Infektion beginnt in der Regel mit einem trockenen, zuerst nicht-produktiven Husten und einem retrosternalen Schmerz [97]. Die Erkrankung ist selbstlimitierend und heilt in der Regel nach 10-20 Tagen aus, wobei eine komplizierte Bronchitis meist einen protrahierten Verlauf zeigt (>28 Tage) [135, 136]. Säuglinge und Kleinkinder sind häufig von einer Sonderform der akuten Bronchitis betroffen. Diese wird als obstruktive Bronchitis bezeichnet. Eine respiratorische Insuffizienz mit Blässe, Unruhe und Zyanose kann sich aus einer obstruktiven Bronchitis entwickeln. Als chronische Bronchitis wird eine länger als drei Monate anhaltende Bronchitis mit Husten und Auswurf in zwei aufeinander folgenden Jahren bezeichnet, welche häufig rezidiert [137, 138].

Husten ist das vorherrschende und prägende Symptom der akuten Bronchitis. Andere Anzeichen und Symptome einer akuten Bronchitis sind neben Husten auch Sputumproduktion, Dyspnoe, verstopfte Nase, Kopfschmerzen und Fieber.

Da die Bronchitis in der Regel eine selbstlimitierende, viral bedingte Erkrankung ist, ist die Therapie symptomatisch und erfordert keine antibiotische Behandlung [133]. Eine sekundäre bakterielle Infektion wird durch Verschlechterung der Symptome, produktiven Husten und hohes Fieber angezeigt [135].

2.3.2.3 Bronchiolitis

Die Bronchiolitis ist eine hochgradig obstruktive Ventilationsstörung und Entzündung der peripheren Bronchien und Bronchiolen und betrifft besonders Kinder in den ersten beiden Lebensjahren [139, 140]. Es handelt sich ebenfalls um eine saisonale Infektion, wobei die Saison typischerweise Ende Oktober in der gemäßigten nördlichen Hemisphäre beginnt, im Januar/Februar ihren Höhepunkt erreicht und im April endet [139]. Die Tropengebiete bilden eine Ausnahme, hier gibt es keine spezifische Saisonalität, obwohl einige Epidemien mit der Regenzeit in Verbindung gebracht werden [141].

Das RSV ist mit 43-90 % der Fälle der häufigste Auslöser einer Bronchiolitis [139, 142]. Eine RSV-Bronchiolitis ist die häufigste Ursache von Erkrankungen der unteren Atemwege (LRTI) und Krankenhausaufenthalten bei jungen Säuglingen weltweit [143]. An zweiter Stelle folgen die PIV mit den Subtypen 3, 1 und 2 mit absteigender Häufigkeit [97].

Die Virusreplikation in den Bronchiolen führt hier zur Abschilferung infizierter Zellen in die Hohlräume der Bronchiolen und dies in Verbindung mit einer vermehrten Schleimproduktion, mitunter mit der Bildung von Schleimpropfen („*mucus plugs*“), führt zur Verlegung der kleinlumigen Bronchiolen [139, 144]. Diese Verlegung führt zur Bronchialobstruktion, Lufteinschlüssen und unterschiedlich ausgeprägter Atelektasenbildung [139].

Einer Bronchiolitis geht meist eine Infektion des URT voraus [145]. Der klinische Verlauf der Bronchiolitis beginnt mit einer oberen ARI mit Fieber, Husten und Rhinorrhoe und breitet sich schnell bei den jungen Säuglingen in die unteren Atemwege aus [97, 140]. Bei zunehmender Beteiligung des unteren Respirationstrakts verschlechtert sich der Allgemeinzustand des Kindes und es kommt zu Lethargie, Anorexie, protrahiertem Husten mit in- und expiratorischem Stridor und Tachydyspnoe [97, 143]. Die erschwerte Atemarbeit wird sichtbar durch ein Nasenflügelatmen des Kindes sowie durch thorakale Einziehungen und ggf. Zyanose [139]. Auskultatorisch fallen die Kinder in der Regel durch ein leises Atemgeräusch und inspiratorisches Knistern auf [97]. Der akute Verlauf dauert typischerweise 3-7 Tage, wobei die meisten Säuglinge eine Besserung innerhalb von 3-4 Tagen zeigen, mit einer anschließenden Erholungsphase von 1-2 Wochen [97].

Kinder, bei denen eine Bronchiolitis diagnostiziert wurde, sollten auf Schweregrad der Atemnot, ausreichende Hydratation und Hypoxie untersucht werden [140]. Die Therapie der akuten Bronchiolitis besteht in einer supportiven, symptomatischen Therapie (suffiziente Flüssigkeits- und Nahrungszufuhr, Vermeidung der Exposition des Säuglings oder Kindes gegenüber Tabakrauch, ermutigen zum Stillen um die Morbidität von Atemwegsinfektionen zu verringern, Sauerstoffgabe bei einer Sauerstoffsättigung < 90 %) [143]. Da die Bronchiolitis in der Regel eine viral bedingte Erkrankung ist und eine bakterielle Koinfektion selten auftritt, wird eine antibiotische Therapie nicht empfohlen [146].

2.3.2.4 Pneumonie

Eine Pneumonie gehört weiterhin weltweit mit zu den häufigsten tödlichen Infektionskrankheiten bei Kindern (<5 Jahre) in Entwicklungsländern und bei älteren Menschen (>75 Jahre) in Industrieländern [147, 148]. Nach Schätzungen der WHO werden jedes Jahr 450 Millionen Pneumonien registriert und etwa 4 Millionen Menschen sterben daran [72]. Im Jahr 2008 starben 1,6 Millionen Kinder jünger als 5 Jahre an Pneumonie [149]. In Industrieländern werden jährlich 5 Millionen Fälle von ambulant erworbener Pneumonie in der Kindheit gemeldet, aber die Sterblichkeit ist derzeit stark zurückgegangen [147]. Global betrachtet stehen bakterielle Erreger als Ursache der Pneumonie an erster Stelle, in industrialisierten Ländern jedoch sind die meisten Pneumonien bei Kindern viralen Ursprungs [150]. Dies ist u.a. auch auf die weit verbreitete Einführung von *Haemophilus influenzae* Typ-B- und Pneumokokken-Impfstoffen in Immunisierungsprogrammen zurückzuführen, welche zu einer relativen Zunahme viraler Pneumonien im Kindesalter in dieser Population geführt haben [147]. Hier könnte die vorherrschende Ursache einer Pneumonie inzwischen eine Infektion mit dem RSV sein [151].

Die Einführung von PCR-Diagnostik hat die Fähigkeit zum Nachweis von respiratorischen Viren signifikant erhöht. Mindestens 26 Viren wurden nun mit ambulant erworbenen Pneumonien in Verbindung gebracht [147].

Die klinischen Symptome einer viralen (atypischen) Pneumonie können in Abhängigkeit vom Alter des Kindes variieren: bei Neugeborenen und Säuglingen kann die Pneumonie blande oder auch fulminant verlaufen [76]. Kinder können Zeichen einer Dyspnoe zusammen mit Blässe, Zyanose, interkostalen und jugulären Einziehungen aufweisen [76]. Darüber hinaus kommt es gehäuft zu subfebrilen Temperaturen, Trinkschwäche und Husten. Bei älteren Kindern sind hohes Fieber, mäßiges bis schweres Krankheitsgefühl, Hypoxie, Zeichen der Lungenkonsolidierung, verminderte Atemgeräusche, Bronchialatemgeräusche und Knistern Hinweise für eine Pneumonie [133]. Nach Angaben der *British Thoracic Society* (BTS) deuten Fieber über 38,5 °C, eine Atemfrequenz von > 50 pro Minute und Brustkorbeinziehungen auf eine bakterielle Pneumonie hin. Hinweise zur Unterscheidung zwischen viraler und bakterieller Pneumonie zeigt Tabelle 4. Die klinischen Anzeichen und Symptome einer viralen und bakteriellen Pneumonie können sich jedoch überlappen [147].

Tabelle 4: Hinweise zur Unterscheidung zwischen viraler und bakterieller Pneumonie
Quelle: Ruuskannen et al, 2011 [147]

	Hinweis auf virale Ursache	Hinweis auf bakterielle Ursache
Alter	<5 Jahre	Erwachsene
Epidemische Situation	Anhaltende Virusepidemie	-
Krankheitsverlauf	Langsamer Beginn	Schneller Beginn
Klinisches Bild	Rhinitis, Giemen	Hohes Fieber, Tachypnoe
Biomarker		
<ul style="list-style-type: none"> • Gesamtzahl der weißen Blutkörperchen • CRP im Serum • PCT-Konzentration im Serum 	<ul style="list-style-type: none"> <10×10 Zellen/l <20 mg/l <0,11 µg/l 	<ul style="list-style-type: none"> >15×10 Zellen/l >60 mg/l >0,5 ug/l
Röntgenaufnahmen des Thorax	Nur interstitielle Infiltrate, bilateral	Lobär alveoläre Infiltrate
Reaktion auf Antibiotika-Behandlung	Langsam oder nicht reagierend	Schnell

Die virale Pneumonie kann in den meisten Fällen nur symptomatisch behandelt werden (Flüssigkeitszufuhr, Antipyretika, ggf. Sauerstoffgabe bei Hypoxie) [76]. Die British Thoracic Society (BTS) empfiehlt keine antibiotische Behandlung bei kleinen Kindern mit milder Symptomatik durchzuführen, bei denen eine Virusinfektion wahrscheinlich ist [152].

2.4 Diagnostik der Infektionen der Atemwege

2.4.1 Klinische Diagnostik

Die klinische Diagnostik basiert auf einer gezielten Anamneseerhebung und körperlichen Untersuchung. Zu den wichtigsten klinischen Untersuchungsergebnissen gehören die Atemfrequenz, die durch den akzessorischen Muskeleinsatz oder -retraktion nachgewiesene Atemarbeit, der Auskultationsbefund (wie Giemen, Rasselgeräusche, Knistern) sowie Hypoxämie, Fieber, geröteter Rachenring bzw. Pharynx [153, 154]. Zusätzlich zu den körperlichen Untersuchungen kann radiologische Diagnostik durchgeführt werden.

2.4.2 Labordiagnostik

Herkömmliche diagnostisch eingesetzte Tests wie Antigen-basierte (*rapid antigen direct test* [RADT]), Antikörper-basierte Tests (DFA, *Direct Fluorescent Antibody Testing*) sowie Zellkulturen, können geeignete diagnostische Werkzeuge sein. Sie sind jedoch häufig hinsichtlich Test-Sensitivität und -Spezifität, Zeitintervall bis zum Erhalt des Ergebnisses und Breite des

Erregerspektrums im Vergleich zur Nukleinsäureamplifikationstechnologie (NAAT) wie der PCR unterlegen [155]. Zu Beginn der H1N1-Pandemie 2009 zeigten mehrere Studien, dass die Wirksamkeit der RADT, DFA und Zellkulturen suboptimal waren [156-159]. Die Verwendung eines hochsensitiven und spezifischen Tests, welcher in relativ kurzer Zeit ein genaues Ergebnis liefert, kann helfen mögliche Nebenwirkungen und Komplikationen zu verhindern bzw. zu reduzieren. Dadurch können rechtzeitig die geeigneten Medikamenten und antivirale Therapie angewendet werden [160].

2.4.2.1 Antigenbasierte Tests

Antigenbasierte Verfahren wie RADT (Rapid Antigen Direct Test) sind einfach durchzuführen und liefern Ergebnisse innerhalb von 15-30 Minuten, beschränken sich aber auf den Nachweis von IAV, IBV und RSV [155, 161, 162] und sind im Vergleich zum NAAT weniger sensitiv [163]. Antigenbasierte Verfahren werden benutzt um im Patientenmaterial vorhandene virale Antigene zu binden und damit nachzuweisen.

In diesen Verfahren wird eine mit spezifischen Antikörpern beschichtete Festphase mit Patientenmaterial inkubiert. Bei Vorliegen von Virusantigenen in der Untersuchungsprobe bilden sich Antigen-Antikörperkomplexe und die ungebundenen Komponenten werden durch einen Waschschriff mit einer Detergenz-haltigen Waschlösung entfernt [163]. In einem anschließenden Detektionsschritt können die Antigen-Antikörperkomplexe nachgewiesen werden. Man detektiert diese, indem man entweder Fluoreszenz- oder Enzym-gekoppelte Antikörper dem gebundenen Antigen zusetzt [163].

2.4.2.2 Antikörperbasierte Tests

Antikörperbasierte Verfahren wie DFA können in ca. 30-60 Minuten durchgeführt werden und 8 der üblichen respiratorischen Viren (Adenovirus, IAV, IBV, HMPV, PIV-1, PIV-2 und PIV-3 und RSV) nachweisen [164]. DFA hat eine Spezifität von 99,6 %, aber eine Sensitivität von nur 65,0 % [165]. Antikörperbasierte Verfahren werden benutzt um im Patientenserum vorhandene spezifische Antikörper gegen spezifische Antigengruppen zu binden und damit nachzuweisen.

In diesen Verfahren wird das Patientenserum auf Mikrotiterplatten, die mit Virusantigenen beschichtet wurden, aufgebracht und diese Platten anschließend inkubiert. Liegen im Patientenserum spezifische Antikörper vor, werden diese an das Antigen gebunden. In einem nachfolgenden Waschschriff entfernt man die ungebundenen Serumbestandteile. Anschließend können die an das Antigen gebundenen spezifischen Patientenantikörper mittels einer zugefügten enzymmarkierten (Meerrettich-) Peroxidase, gegen humanes IgG bzw. IgM gerichteten Sekundärantikörper nachgewiesen werden [81, 163]. Es wird erneut gewaschen und

schließlich ein lösliches Substrat (Orthophenyldiamin) hinzugefügt, welches das an den Zweitantikörper gekoppelte Enzym umsetzt und eine optisch messbare Farbänderung hervorruft [81, 163].

2.4.2.3 Virusanzucht mittels Zellkultur

Mittels Zellkulturen (*shell vial* oder *cluster trays*) können Adenovirus, IAV, IBV, PIV-1, PIV-2, PIV-3, HMPV und RSV nachgewiesen werden [166]. Es können >90 % dieser Viren innerhalb 48 Stunden detektiert werden [167]. Virushaltiges Material wird mit empfänglichen Zelllinien in Kontakt gebracht und infiziert. Die Folge ist eine Schädigung der infizierten Zelle welches lichtmikroskopisch sichtbar wird. Dies wird als sogenannter „zytopathischer Effekt“ bezeichnet [81]. Lange Zeit wurde zum Nachweis von respiratorischen Viren die Virusisolierung mittels Zellkultur als „Goldstandard“ eingesetzt, weil es an besseren Verfahren mangelte [168]. Insbesondere durch die PCR, ein inzwischen seit >25 Jahren gut etabliertes molekularbiologisches Verfahren, hat sich dies geändert. Diese hat einerseits eine bessere Sensitivität und generiert andererseits wesentlich schneller ein Ergebnis [169]. Für die Impfstoffproduktion und zum Anzüchten von neuen Influenzavirusisolaten verwendet man aktuell Viruszüchtung mittels Zellkulturen [81].

2.4.2.4 Molekularer Virusgenomnachweis mittels PCR

Die PCR ist eine NAAT, welche die Amplifizierung geringster Mengen von Virusgenom oder –transkripten direkt aus dem Patientenmaterial ermöglicht [81]. Bei der PCR gibt es mehrere Verfahren, die sich in den Funktionsprinzipien unterscheiden. Die mittels *Real-Time* PCR erzeugten Amplifikate weist man nach, indem man über den Einbau und die Zerstörung markierter Sonden eine Fluoreszenz definierter Wellenlänge erzeugt, die kameragestützt gemessen wird [163]. Dieser Prozess wird in Kapitel 4.2 ausführlicher erläutert.

3 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit

Ziel dieser retrospektiven Studie war es die Prävalenz und Morbidität endemischer respiratorischer Viren während einer Influenza-Pandemie zu untersuchen. Besonders betrachtet wurden dabei HMPV, RSV und pH1N1 und die Schwere der Erkrankung von Kindern, welche klinische Symptome einer Infektion der Atemwege zeigten.

Dabei wurden folgende Fragen abgeklärt und diskutiert:

1. Wie hoch war die Prävalenz bei Kindern und Jugendlichen von Mono- und Koinfektionen mit pH1N1-Virus sowie anderen viralen Erregern respiratorischer Erkrankungen im Untersuchungszeitraum (November 2009-April 2010)?
2. Wie war die Altersverteilung der Kinder und Jugendlichen bei den aufgetretenen Infektionen?
3. Gab es einen Verteilungsunterschied bzgl. Prävalenz, Erregerspektrum und Schwere der Erkrankung zum identischen Vergleichszeitraum der Saison 2008/2009?
4. Gab es eine Korrelation zwischen Schwere der Erkrankung der Kinder sowie der Jugendlichen und den gefundenen Mono- und Koinfektionen der respiratorischen Erreger?

4 Patienten, Material und Methoden

4.1 Rekrutierung und Patientenkollektiv

In dieser Studie wurden Kinder und Jugendliche im Alter von 0-18 Jahren, welche im Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin des Universitätsklinikums Düsseldorf mit Anzeichen und Symptomen von akuten oberen oder unteren Atemwegsinfektionen und/oder ILI-Symptomen während eines Zeitraumes von 6 aufeinander folgenden Monaten (von November 2009 -April 2010) vorstellig wurden, eingeschlossen. Die Einschlusskriterien sind Abbildung 5 zu entnehmen. Die Patienten, die die Einschlusskriterien erfüllten, zeigten ≥ 1 der folgenden Symptome: Husten, Halsschmerzen, Myalgie, Schüttelfrost, Müdigkeit, Giemen, Dyspnoe, Tachypnoe, Nasenflügeln, Einziehungen, Fieber oder Rhinitis. Bei der Einstufung von Husten oder Atemschwierigkeiten wurden Klassifikationstabellen für das integrierte Management von Kinderkrankheiten berücksichtigt [170]. Patienten mit Erbrechen, Durchfall oder Bauchschmerzen in Abwesenheit einer abdominellen Erkrankung wurden nur in die Studie aufgenommen, wenn (basierend auf der klinischen Beurteilung des untersuchenden Kinder- und Jugendarztes) eine Infektion der Atemwege vorlag. Patienten, die nach Beurteilung in der Notaufnahme nicht stationär aufgenommen wurden, wurden nicht in diese Studie mit einbezogen. Ausgeschlossen wurden außerdem Patienten mit primärer oder sekundärer Immunsuppression sowie Patienten (oder deren Eltern), die nicht ihr schriftliches Einverständnis gegeben hatten. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf genehmigt (Studiennummer 3402).

Den Eltern bzw. Erziehungsberechtigten, die ihr schriftliches Einverständnis gegeben hatten, wurde ein standardisierter Fragebogen zur Impfanamnese ausgehändigt (s. Abbildung 6). Die Eltern wurden gebeten, diesen vollständig auszufüllen. Probenentnahmen und diagnostische Verfahren wurden entsprechend den Leitlinien der guten klinischen Praxis (*good clinical practise* [GCP]) durchgeführt. Innerhalb eines Zeitraumes von bis max. 48 h nach Aufnahme wurden tiefe Nasenabstriche oder Rachenabstriche entnommen, in flüssigem Universal-Transportmedium für Viren platziert und innerhalb von 12 h zur weiteren Untersuchung dem Institut für Virologie des Universitätsklinikums Düsseldorf zur Verfügung gestellt.

Die Krankenakten der stationär aufgenommenen Patienten wurden nach oder unmittelbar vor der Entlassung überprüft und die für diese Studie notwendigen Daten extrahiert. Diese beinhalteten u.a. demographische Daten, klinische Anzeichen und Symptome, vorbestehende Erkrankungen, Anamnese der Impfungen mit saisonalem Grippeimpfstoff einschließlich Pandemie-Impfstoff, Laborergebnisse und Ergebnisse bildgebender Verfahren sowie medizinisches Management (einschließlich Behandlungen, Bedarf an zusätzlichem Sauerstoff, Steroiden, Inhalatoren und ggfs. Aufenthalt auf der pädiatrischen Intensivstation (PICU).

Die komplette Liste der erhobenen Daten zeigt Tabelle 5. Eine pulsoxymetrische Sauerstoffsättigung (SpO_2) $<92\%$ bei Aufnahme wurde als Hypoxie definiert. Die Krankenhausaufnahme war definiert als eine stationäre Aufnahme von > 24 Stunden im Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin.

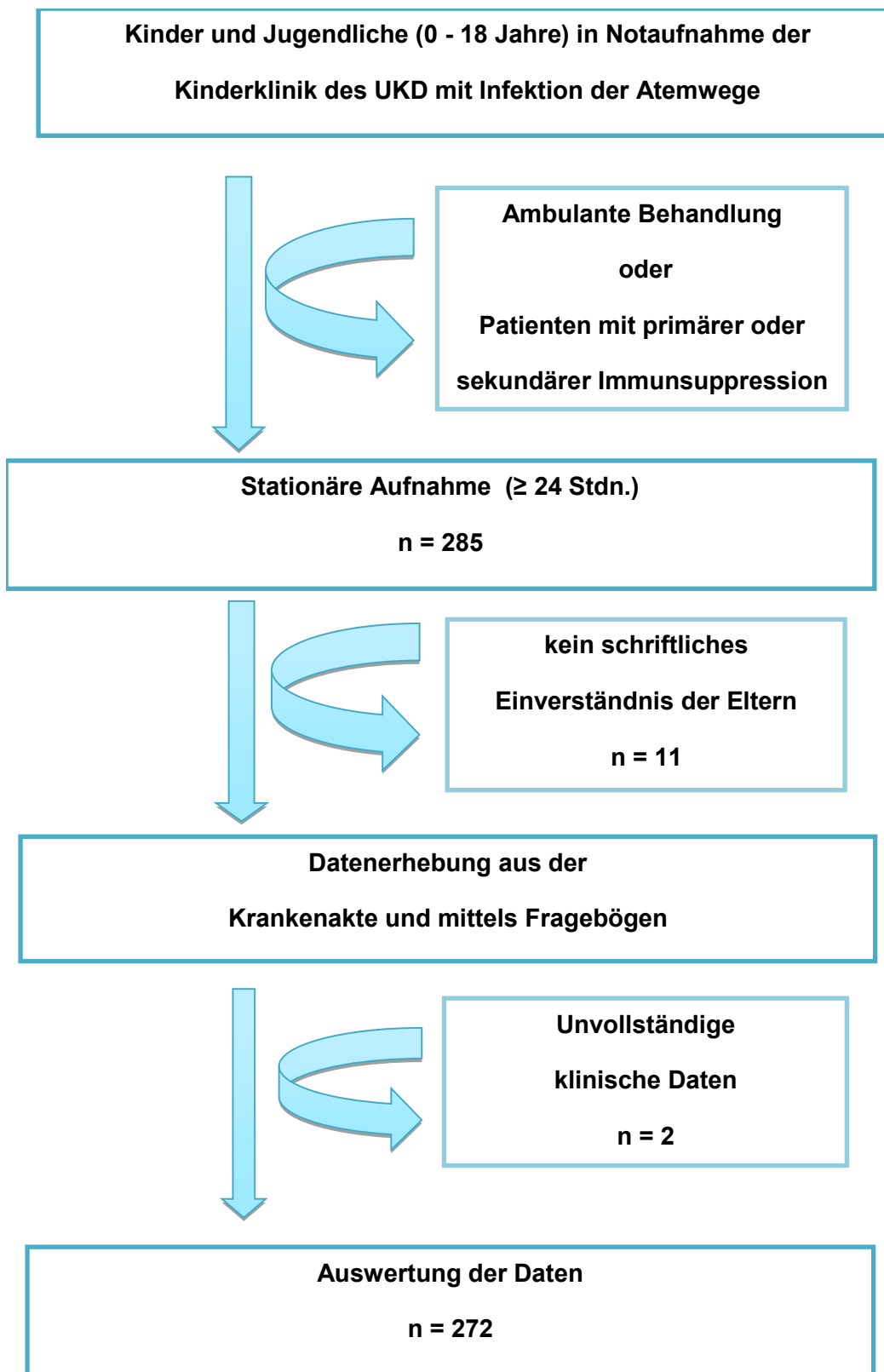


Abbildung 5: Zusammensetzung der Einschlusskriterien.

Fallerfassung von Infektionen mit der neuen Variante des Influenzavirus A / H1N1 („Schweinegrippe“) bei Kindern und Jugendlichen < 18 Jahre

Klebi

Name des Patienten:

Geburtsdatum:

Aufnahmedatum.

Fragebogen zur Impfanamnese

Bei welchem Familienmitglied ist in der aktuellen Saison 2009/2010 eine Grippeimpfung erfolgt?

	Welcher saisonale Impfstoff wurde geimpft?	Welcher Pandemie-Impfstoff wurde geimpft?	Wie oft wurde der Pandemieimpfstoff geimpft?
Patient			
Mutter			
Vater			
Geschwister			
Familienmitglieder			

Wir danken für Ihre Teilnahme an der Fallerfassung.

Kontakt: Dr. med. Markus Vogel
markus.vogel@med.uni-duesseldorf.de

Abbildung 6: Fragebogen zur Impfanamnese.

Tabelle 5: Liste der erhobenen Daten.

Erhobene Daten		
Geschlecht	Röntgen-Thorax (ja/ nein)	
Kennung	Pneumonie	
Aufnahmedatum	Bronchitis	
Alter	Röntgen-Thorax (Befund)	
Station	Blutkultur (ja/ nein)	
Respiratorische Diagnose	Blutkultur (Befund)	
Nebendiagnose	Tachydyspnoe	
Relevante Grunderkrankung	Wenn ja Tachydyspnoe: Dauer (Tage)	
Frühgeburtlichkeit	Atemfrequenz (max.)	
Vitium	Obstruktion (ja/ nein)	
Pulmonale Erkrankung	Wenn ja Obstruktion: Dauer (Tage)	
Immundefekt	Rasselgeräusche	
Atopie	Wenn ja Rasselgeräusche: Dauer (Tage)	
Grunderkrankung(en)	Fieber (max.)	
Dauer der Symptomatik bei Aufnahme (Tage)	Fieber: Dauer (Tage)	
Zuvor Antibiotikum	Neubeginn Antibiotikumtherapie	
Zuvor Antibiotikum: Dauer (Tage)	- Antibiotikumtyp	
Zuvor Therapie: Art	- Antibiotikumtherapie: Dauer (Tage)	
Zuvor Therapie: Dauer (Tage)	Antibiotikum Poststationär	
Montelukast	- Antibiotikum Poststationär: Dauer (Tage)	
Saisonaler Impfstoff	Abbruch Antibiotikum nach Virologischem-Befund	
Pandemieimpfstoff	Antibiotikum erneut angesetzt	
Anzahl Pandemieimpfstoff	Salbutamol inhalativ	
1. Abstrich (Datum)	Salbutamol Inhalationsdauer (Tage)	
1. Abstrich - 1. Erregertyp	NaCl inhalativ	
Respiratorische Viren	NaCl Inhalationsdauer (Tage)	
H1N1	Ipratropiumbromid inhalativ	
HMPV	Ipratropiumbromid Inhalationsdauer (Tage)	
Rhinoviren	Infusionstherapie	
RSV	Infusionstherapie: Dauer (Tage)	
Weitere Abstriche	Prednisolon i.v.	
Entlassungsdatum	Prednisolon i.v.: Dauer (Tage)	
Entlassung gegen ärztlichen Rat	Prednison (supp./ p.o.)	
Liegedauer (Tage)	Prednison supp.: Anzahl der Gaben	
Intubation/ CPAP	Theophyllin i.v.	
Atemhilfe: Dauer (Tage)	Theophyllin i.v.: Dauer (Tage)	
tcSO ₂ min. (%)	Adrenalin inhalativ	
Dauer O ₂ -Bedarf (h)	Adrenalin Inhalationsdauer (Tage)	
CRP bei Aufnahme (mg/dl)	Glukokortikoide inhalativ	
CRP max. (mg/dl)	Glukokortikoide: Dauer (Tage)	
Leukozyten bei Aufnahme (/µl)	ICD-Entlassung- Hauptdiagnose	
Leukozyten max. (/µl)	ICD-Entlassung- Nebendiagnose	

4.2 Virologische Diagnostik

Alle Proben wurden im Institut für Virologie des UKD von den dortigen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern untersucht. Die Proben wurden innerhalb von 24 Stunden analysiert oder bei -80 °C bis zur Testdurchführung gelagert. Nukleinsäuren von klinischen Proben wurden mit dem EZ 1 Virus Mini Kit (No. 955338, Qiagen, Hilden, Deutschland) extrahiert. Eine quantitative *Real-time* PCR wurde verwendet um HMPV Genotyp A (HMPV-A), HMPV Genotyp B (HMPV-B), RSV Genotyp A (RSV-A), RSV Genotyp B (RSV-B), pH1N1 Influenza Virus, saisonales Influenza Virus und andere respiratorische Viren einschließlich Adenoviren, Coronaviren 229E, OC43 und NL63, Enteroviren, Rhinoviren, IVA/B, Humanes Bocavirus, und PIV 1,2 und 3 zu detektieren [12].

Es wurde der Quantitect Multiplex PCR Kit (Qiagen) eingesetzt, um die oben genannten respiratorischen Viren in klinischem Material simultan untersuchen zu können. Der Testsatz enthält sowohl eine reverse Transkriptase als auch eine Polymerase. Daher können die reverse Transkription des viralen RNA-Genoms als auch die darauffolgende Amplifikation in einem Reaktionsansatz („one step“) durchgeführt werden (s. Abbildung 7).

Der PCR-Mastermix ist außerdem in seiner Zusammensetzung so gestaltet, dass er sich für Multiplexanwendungen eignet. In einem Reaktionswell konnten dabei Primerpaare und Sonden für die Detektion unterschiedlicher Viren zusammengefasst werden. Ein solches Reagenz besitzt im Vergleich zu Reagenzien anderer Hersteller die höchste Sensitivität in Duplex/Triplex-PCR-Ansätzen. Dies konnte bereits im Rahmen von Vorversuchen gezeigt werden [12, 171].

Die respiratorische Virus PCR kann in 2 Arbeitsschritte aufgeteilt werden: Das Eluat wurde im ersten PCR-Lauf über ein Duplex-/Triplex-Assay auf das Vorliegen eines oder mehrerer respiratorischer Viren untersucht. War das Ergebnis positiv, so wurde ein Monoplex-Assay mit demselben Eluat durchgeführt, um die Viruslast zu bestimmen. Zur Vorbereitung des PCR-Nachweises wurden sämtliche dafür relevanten Komponenten (Primer und Sonden, Quantitect Master Mix) auf PCR-Reaktionsstreifen vorpipettiert. Diese wurden dann bis zur Weiterverarbeitung bei -20 °C gelagert („frozen strips“).

Das EZ-1-Virus Minikit (Qiagen) wurde eingesetzt, da sowohl respiratorische RNA- als auch DNA-Viren nachgewiesen werden sollten. In diesem Testkit wurden Reaktionskassetten verwendet, die die für die Extraktion von viraler RNA und DNA notwendigen Chemikalien enthalten (Proteinase K, Isopropanol u.a.) Der EZ-1-BioRobot (Qiagen) wurde eingesetzt, um die Extraktion automatisch durchzuführen. Dazu wurde die virale Nukleinsäure an silicabeschichtete Magnetpartikel gebunden. Von 60 µl Eluat aus 200 µl aufgearbeiteter Untersuchungsprobe wurden jeweils 2,5 µl pro Well des PCR-Reaktionsstreifens eingesetzt.

Anschließend wurde das Reaktionsgemisch (Quantitect PCR Master Mix, Reverse Transkriptase Mix sowie die für den PCR-Nachweis erforderlichen Primer- und Sonden) gezielt auf den 8-Well PCR-Reaktionsstreifen positioniert. Schließlich wurde mit dem Thermocycler 7500 (Applied Biosystems) nach einem Temperaturprotokoll amplifiziert (s. Tabelle 6).

Tabelle 6: Thermalprotokoll der RT-PCR

Quelle: Bonzel, L., Nachweis Viraler Respiratorischer Infektionen Mittels Polymerasekettenreaktion, 2009 [171]

	Reverse Transkription	Initiale Denaturierung	Ein-Schritt Annealing/Extension	
Temperatur	50 °C	95 °C	94 °C	60 °C
Zeit	20 min	15 min	45 s	1,15 min
Zyklenzahl	1	1	45	
Gesamtdauer	2 h 40 min			

Um eine Standardkurve zu berechnen, wurde ein zuvor als PCR-positiv getestetes Material quantifiziert. Dazu wurden drei Virusplasmidstandards mit einer Gesamtkopienzahl von 25.000 K/2,5 µl (Standard 1), 2.500 K/2,5 µl (Standard 2) sowie 250 K/2,5 µl (Standard 3) bei gleichem Thermalprotokoll mitgeführt. Man erhielt über lineare Regression die Standardkurve, die dann der Quantifizierung der Untersuchungsproben zugrunde gelegt wurde.

Um Kreuzreaktionen bei der PCR-Diagnostik auszuschließen, dosierte man zu jedem Reaktionsansatz der *One-Step* Real-Time PCR extrahierte Zellkulturüberstände bzw. Plasmide der im Assay vorkommenden Respirationstraktviren in hohen Konzentrationen, um dann zu amplifizieren. Außerdem wurde die PCR (ebenfalls zum Ausschluss von Kreuzreaktionen) mit folgenden im Respirationstrakt potentiell auftretenden Viren und Bakterien getestet: Herpes simplex Virus (HSV) Typ 1 und 2, Humanes Cytomegalievirus, Humanes Herpesvirus 6, Epstein-Barr Virus, Parvovirus B-19, *Bordetella pertussis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* und *Streptococcus pneumoniae*.

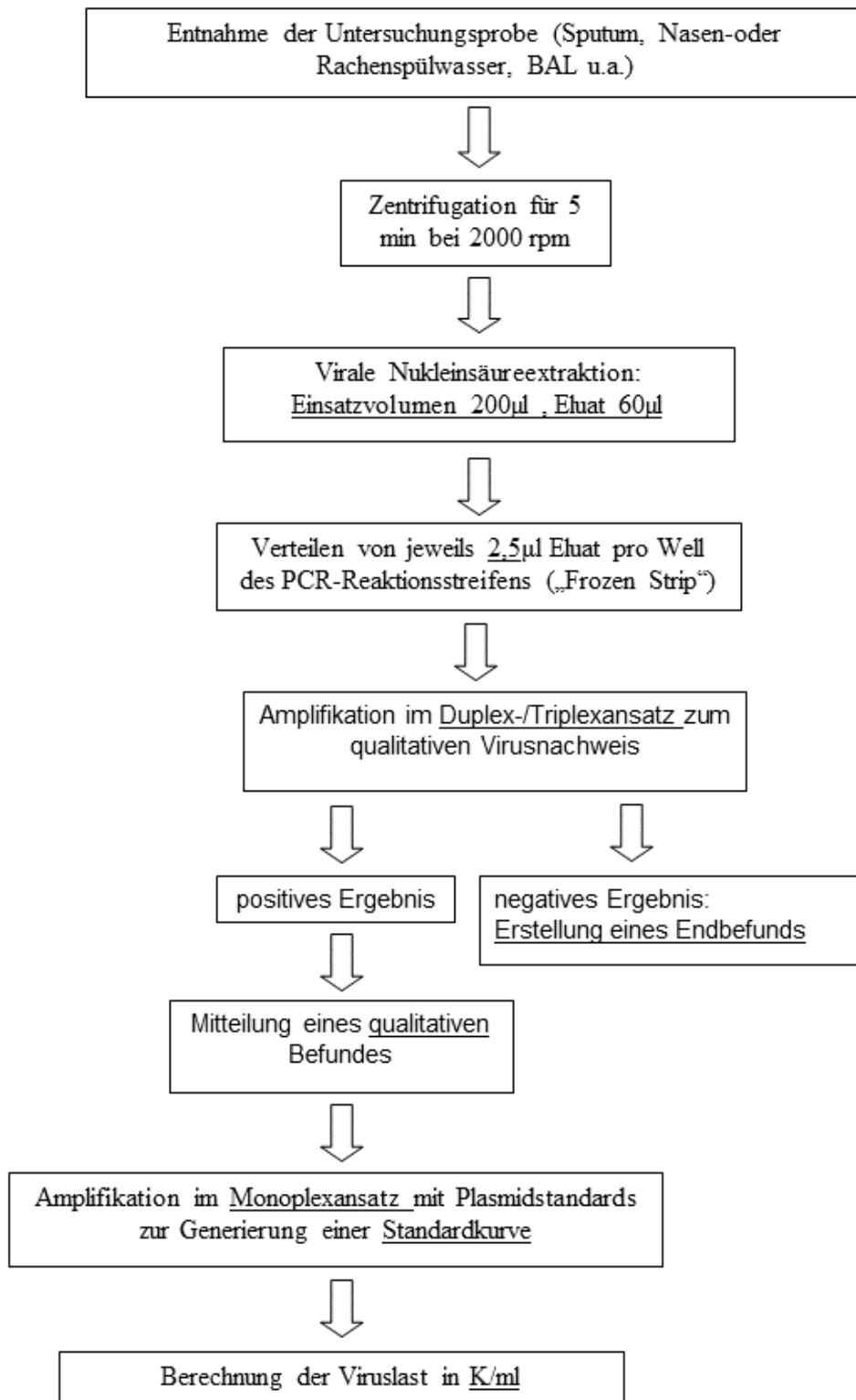


Abbildung 7: Nachweis respiratorischer Viren mittels qualitativer *one-step duplex-/triplex-* und quantitativer *one-step monoplex-*PCR
 Quelle: Bonzel, L., Nachweis viraler respiratorischer Infektionen mittels Polymerasekettenreaktion, 2009 [171]

4.3 Mikrobiologische Diagnostik

Blutkulturen wurden in Abhängigkeit von der klinischen Beurteilung des behandelnden Kinder- und Jugendarztes gewonnen. Vor Einleitung einer Antibiotika-Therapie wurde jeweils ein zweiter Rachenabstrich und eine Blutkultur durchgeführt. Weitere Blutproben wurden nach klinischer Indikation genommen. Falls Bakterienkulturen benötigt wurden, wurde ein zweiter Rachenabstrich genommen und die Proben auf Columbia-, Schokoladen- und *MacConkey*-Agars für aerobe beziehungsweise anaerobe Kulturen aufgetragen.

4.4 Statistik

Die Ergebnisse wurden in Prozent für diskrete Variablen oder als Mittelwert und Standardabweichung für kontinuierliche Variablen wiedergegeben. Das Alter der Kinder bzw. der Jugendlichen sowie die Tage des stationären Aufenthalts wurden durch ihren Median beschrieben. Klinische Charakteristika bzw. klinische Merkmale und Laborvariablen wurden mit dem *Pearson-Chi2-Test*, Relativen Risiko (RR) und *Mann-Whitney-U-Test* (falls angemessen) verglichen. Alle Testungen wurden unter Verwendung von *SigmaPlot* für Windows Version 12.0 (Systat Software, San Jose, CA, USA) durchgeführt. Ein P-Wert (*P*) von $<0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen.

5 Ergebnisse

5.1 Deskriptive Merkmale des Patientenkollektives

Insgesamt erfüllten 285 Patienten während des Studienzeitraums die Aufnahme-Kriterien um an der Studie teilzunehmen. 4 Eltern traten von ihrem Einverständnis zurück, 7 stimmten nur verbal zu, unterzeichneten jedoch später nicht das Einverständnis-Formular und bei 2 geeigneten Patienten konnten die Daten nicht in die Studie aufgenommen werden, da die klinischen Daten unvollständig waren (die Eltern hatten die Klinik mit ihren Kindern verlassen bevor sie von einem Arzt zur Entlassung abschließend beurteilt worden waren). Daher wurden schließlich zwischen November 2009 und April 2010 (Woche 43 in 2009 bis Woche 17 in 2010) insgesamt 272 Kinder und Jugendliche im Alter von 0-18 Jahren in die Studie aufgenommen (männlich 57 %, weiblich 43 %).

Eine bereits bestehende Grunderkrankung lag bei 25 % (69/272) der Patienten vor, einschließlich Frühgeburtlichkeit (7 %), Herzfehler (2 %) und schweren Lungenerkrankungen (Mukoviszidose, 1 %) (s. Tabelle 7).

Tabelle 7: Klinische Merkmale des Studien-Patientenkollektivs

	n (%)
Alle Patienten	272 (100)
männlich	155 (57)
weiblich	117 (43)
Alter (in Monaten)	17 (0-218) *
< 48 Monate	212 (78)
Virusnachweis im Nasen- bzw. Rachenabstrich	218 (80)
Tage mit klinischen Symptomen vor stationären Aufnahme	3 (0-49) *
Röntgen-Thorax	169 (62)
radiologisch bestätigte Pneumonie	117 (43)
röntgenmorphologische Zeichen einer Bronchitis	37 (14)
Bestehende Grunderkrankung	69 (25)
Frühgeburtlichkeit	19 (7)
Herzfehler	6 (2)
Mukoviszidose	3 (1)
Mukopolysaccharidose	1 (<1)
Angeborene Stoffwechselstörung	10 (4)
Sphärozytose	1 (<1)
Diabetes insipidus	1 (<1)
Krampfanfall (akut oder in der Anamnese)	8 (3)
Durchfall	10 (4)
Syndromale Erkrankung	10 (4)
Z.n. Krupp-Syndrom	8 (3)
Z.n. Asthma bronchiale	5 (2)
*Median (Range)	

5.2 Klinische Daten

Patienten, bei denen pH1N1 nachgewiesen wurde, hatten eine signifikant kürzere Periode von Symptomen vor der Aufnahme als Patienten mit HMPV-, RSV- oder einer anderen viralen Monoinfektion (Median 1 vs. 3 Tage, $P < 0,001$). Patienten, die mit pH1N1 infiziert waren, zeigten häufiger Fieber $> 38,49$ °C (pH1N1 85 %; andere virale Pathogene 59 %; $P = 0,02$). Es gab jedoch keine signifikanten Unterschiede in der absoluten Spitzentemperatur oder der Fieberdauer. Der klinische Verlauf nach der Aufnahme variierte und stand im Zusammenhang mit dem Patientenalter und dem Krankheitserreger. Bei 46 Patienten fand sich eine Hypoxie ($SpO_2 < 92$ %) mit notwendiger Sauerstoffgabe. Patienten mit HMPV- oder RSV-Monoinfektion erhielten im Vergleich zu Kindern mit einer pH1N1-Infektion eine signifikant längere Sauerstofftherapie (12,4 h vs. 2,8 h; $P < 0,05$). Die HMPV-infizierten Patienten erhielten zusätzlichen Sauerstoff für eine mittlere Dauer von 16,1 Stunden (s. Tabelle 8). Die mediane Dauer von klinischen Symptomen vor der stationären Aufnahme betrug 3 Tage (Range 0-49 Tage; (s. Tabelle 7). Zwei Kinder benötigten mechanische Beatmung, wovon bei einem davon eine Infektion mit pH1N1-Virus vorlag, bei dem anderen Patienten lag eine RSV-A Infektion vor. Insgesamt 5 Kinder litten an akuter Mittelohrentzündung.

Tabelle 8: Klinische Daten von Kindern mit HMPV-, RSV- und pH1N1-Monoinfektion oder Monoinfektion mit anderen viralen Pathogenen, Koinfektionen, oder auch ohne Virusnachweis.

	Teilnehmende Kinder	Influenza P H1N1	RSV	HMPV	Andere virale Monoinfektionen	Andere virale Koinfektionen	Kein Virusnachweis	Patienten ≤5 Jahre	Patienten ≥5 Jahre
Nummer (%)	272	26	68	28	48	48	54	236(87)	36(13)
Alter (Monate,Medianwert)	17	55*	7*	14*	18	15	42	12	115
Männlich (%)	156 (57)	15(58)	38(64)	18(64)	24(50)	30(63)	31(57)	138(58)	18(50)
Verweildauer (Tage, Medianwert)	4	4	4	4	3	4	4	4	4
Fieber > 38°C (%)	174(64)	22(85)	3(56)	18 (64)	18(64)	35(73)	32 (59)	150 (64)	24(67)
Tachypnoe (%)	90 (33)	2(8) [†]	28 (41) [†]	12 (43)	17(35)	15(31)	16 (30)	84(36)	6(17)
Giemen (%)	17 (6)	2 (8)	4 (6)	2 (7)	6 (13)	2 (4)	1 (2)	15 (6)	2 (6)
CRP> 4,9 mg/dl (%)	54 (20)	3 (12)	9 (13)	7 (25)	11 (23)	5 (10)	17 (31)	43 (18)	11 (31)
Leukozytose (%)	52 (19)	1 (4)	5 (7)	1 (4)	12 (25)	12 (25)	21 (39)	47 (20)	5 (14)
SpO₂ min (% , mittleren Wert)	91,1	92	90,6	90,5	91,3	90,7	92,2	91,2	92
Röntgen-Thorax (%)	169 (62)	10 (39)	43 (63)	19 (68)	31 (65)	31 (65)	35 (65)	146 (62)	23 (64)
Pneumonie (%)	117 (43)	6 (23) [†]	36(53) [†]	14 (50)	21 (44)	16 (33)	25 (46)	101 (43)	16 (44)
Sauerstoffzufuhr (Stunden, Median)	7,5	2,8*	10,9*	16,1*	12	4	0,7	8	3
Salbuterol (%)	180 (66)	9 (35)	56 (82)	21 (75)	31 (65)	34 (71)	29 (54)	164 (70)	16 (44)
Systemische Steroidgabe (%)	69 (25)	4 (15)	20 (29)	12 (43)	14 (29)	13 (27)	6 (13)	63 (27)	6 (17)
Saisonale influenza-Impfung (%)	44 (16)	6 (23)	6 (9)	4 (14)	8 (17)	8 (17)	12 (22)	32 (14)	12 (33)
Pandemrix (%)	22 (8)	1 (4)	3 (4)	3 (11)	5 (10)	4 (8)	6 (11)	16 (7)	6 (17)

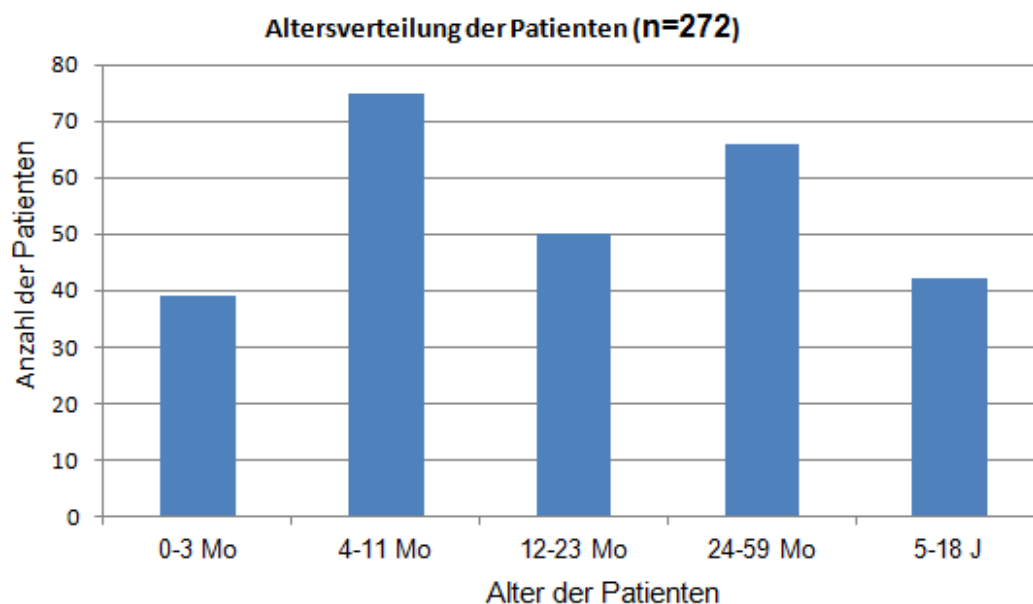
*: $p < 0,05$, Influenza Monoinfektionen vs. RSV- und HMPV-Monoinfektionen

†: $p < 0,05$, Influenza Monoinfektionen vs. RSV-Monoinfektionen, LOS (length of stay).

Leukozytose, Leukozytenzahl > altersangepasster Normalwert. 2 Kinder benötigten keine mechanische Beatmung.

5.3 Altersverteilung

Das Medianalter aller eingeschlossenen Kinder betrug 17 Monate (Range 0 – 218 Monate; 1. und 3. Interquartilsabstand, bzw. 6 und 41,8 Monate). Insgesamt waren 78 % (212/272) Patienten jünger als 48 Monate. Der älteste Patient nach Studienkriterien war 18 Jahre alt und der jüngste war ein Neugeborenes im Alter von 11 Tagen. Beide gehörten zur pH1N1-Gruppe. Die Gruppen mit den jüngsten Kindern waren mit HMPV (Medianalter 14 Monate; Range 5,3 - 38,8 Monate) und RSV (Medianalter 7 Monate; Range 3,0 - 22,0 Monate) infiziert (s. Abbildung 8). Im Gegensatz dazu war die älteste Gruppe von Kindern mit Influenza infiziert oder ohne jeglichen Virusnachweis. Patienten, die mit pH1N1 infiziert waren, waren signifikant älter (Medianalter 55 Monate; Range 12,5 - 143,3 Monate) im Vergleich zu HMPV- oder RSV-monoinfizierten Patienten (Medianalter 8 Monate; $P < 0,05$). Bei Kindern >24 Monate wurde pH1N1 häufiger nachgewiesen als bei Kindern, die <24 Monate alt waren (6,6 % [18/272] vs. 2,9 % [8/272]).



Medianalter für Patienten, die positiv auf HMPV und RSV getestet wurden = 14 und 7 Mo
Medianalter für Patienten ohne nachgewiesenen viralen Erreger = 42 Mo
Medianalter für Patienten, die positiv auf pH1N1 getestet wurden = 55 Mo

Abbildung 8: Altersverteilung der Patienten

5.4 Influenza-Impfung

Innerhalb der Studiengruppe waren 8 % (22/272) der Patienten mit mindestens einer Dosis des Pandemie-Grippeimpfstoffs (*Pandemrix*®) gegen pH1N1 geimpft worden, während 16 % (44/272) der Patienten den saisonalen Grippeimpfstoff erhalten hatten und 4 % (11/272) beide Impfungen.

5.5 Dauer des stationären- Aufenthalte

Die Mediandauer des stationären Aufenthalte betrug 4 Tage. Es gab keine Unterschiede in der Verweildauer zwischen Kindern mit verschiedenen Virusinfektionen und ohne Virusnachweis in allen Altersgruppen. Ein Kind mit Down-Syndrom blieb 47 Tage stationär im Rahmen einer RSV-Infektion.

5.6 Medikation

5.6.1 Antibiotische Therapie

Kein Patient erhielt eine antivirale medizinische Behandlung, aber 19 % (52/272) der Patienten der Studiengruppe erhielten eine Antibiotika-Therapie vor ihrer Aufnahme, welche vor der Aufnahme vom Hausarzt/Kinder- und Jugendarzt initiiert wurde.

5.6.2 Antiinflammatorische Therapie

Systemische Steroide wurden bei 25 % (69/272) der Patienten basierend auf klinischen Kriterien eingesetzt. Steroide wurden häufiger bei HMPV- oder RSV-infizierten Patienten im Vergleich zu Patienten ohne Virusinfektion verabreicht (33 % [32/96] vs. 13 % [6/54]).

5.7 Laborchemische Befunde

5.7.1 Leukozytose

Es gab keine signifikanten Unterschiede in der Leukozytenzahl zwischen Kindern mit verschiedenen Virusinfektionen (pH1N1, HMPV oder RSV).

5.7.2 CRP während des stationären Aufenthalte

Ein CRP-Wert >4,9 mg/dl fand sich bei 25 % (7/28) aller HMPV-infizierten Patienten. CRP-Spiegel >4,9 mg/dl wurden häufiger bei Patienten ohne Virusnachweis beobachtet (31 % [17/54]).

5.8 Virologische Befunde

Respiratorische Viren wurden bei 80 % (218/272) aller untersuchten Patienten nachgewiesen. Die Mehrzahl davon (62 % [170/272]) hatte eine Monoinfektion mit einem respiratorischen Virus und bei 18 % (48/272) wurden mindestens 2 respiratorische Viren (Koinfektion) nachgewiesen. Bei 20 % (54/272) der Patienten wurden keine Viren nachgewiesen. Bei 11 % (30/272) der Patienten wurde das pH1N1-Virus detektiert. Von diesen Patienten waren 4 mit anderen respiratorischen Viren koinfiziert (Coronavirus 229E [n=2]; Rhinovirus [n=2]). Bei

47 % (128/272) der Patienten lag eine Infektion mit HMPV (15 % [41/272]) oder RSV (32 % [87/272]) vor, bei 4 Patienten wurden beide Viren nachgewiesen. Das RSV A/B Virus war das am häufigsten nachgewiesene Virus bei 32 % (87/272) der Patienten (RSV-A=56 Fälle, RSV-B=31 Fälle), gefolgt vom Rhinovirus (18 % [49/272]), HMPV-A/B (15 % [41/272]), humanes Bocavirus (7 % [20/272]) und Adenovirus (7 % [19/272]) (s. Tabelle 9 sowie Abbildung 9).

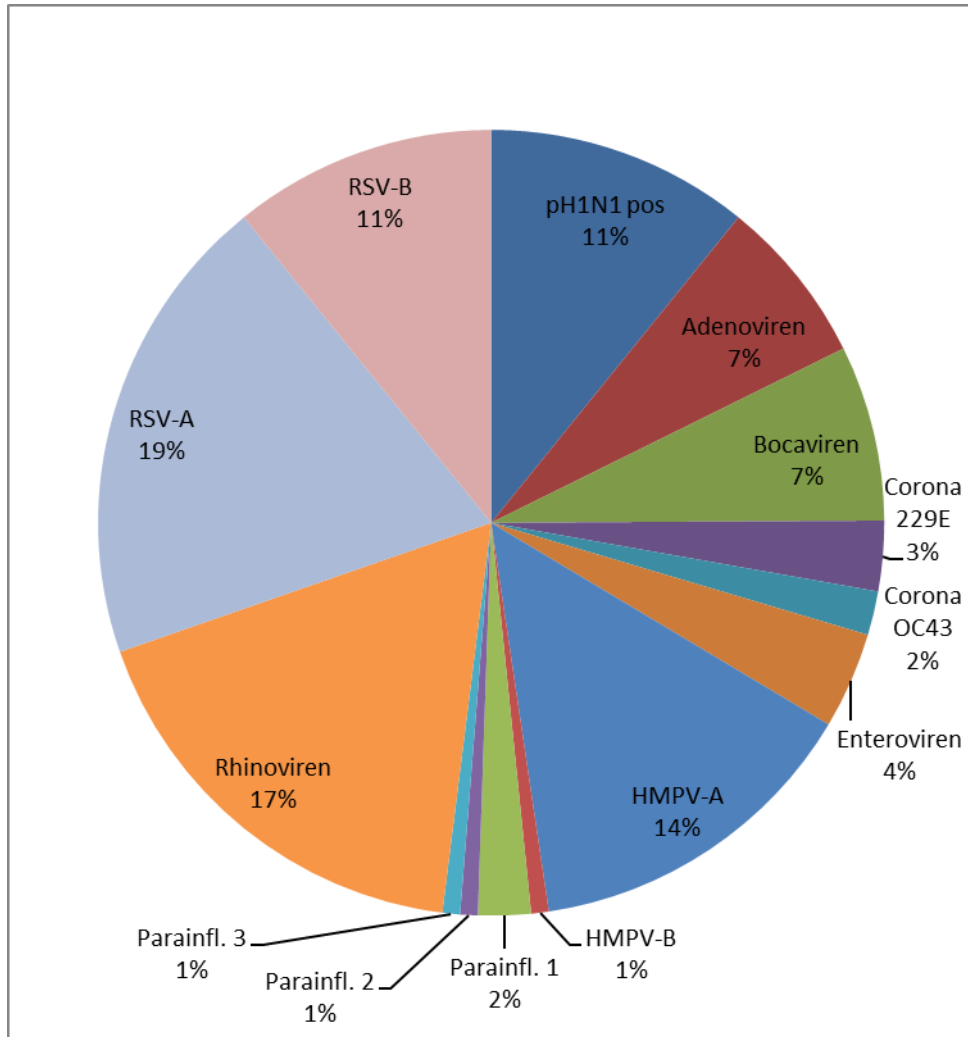


Abbildung 9: Häufigkeit der nachgewiesenen Viren (n=272)

Tabelle 9: Verteilung von viralen Erregern, die bei Kindern mit Anzeichen und Symptomen einer akuten respiratorischen Infektion im Zeitraum von November 2009 - April 2010 nachgewiesen wurden

	Influenza A pH1N1	RSV A/B	HMPV	Parainfluenza 1/2/3	Coronaviren	Rhinoviren	Enteroviren	Adenoviren	Bocaviren
Gesamtzahl: 272 n (% Gesamt)	30 (11,0)	87 (32,0)	41 (15,1)	10 (3,7)	13 (4,8)	49 (18,0)	11 (4,0)	19 (7,0)	20 (7,4)
Monoinfektion n (% Viren)	26 (86,7)	68 (78,2)	28 (68,3)	4 (40,0)	3 (23,1)	25 (51,0)	4 (36,4)	4 (21,1)	8 (40,0)
Koinfektion* n (% Viren)	4 (13,3)	19 (21,8)	13 (31,7)	6 (60,0)	10 (76,9)	24 (49,0)	7 (63,6)	12 (60,0)	12 (60,0)
Influenza A pH1N1		–	–	–	–	–	–	–	–
RSV A/B	0		–	–	–	–	–	–	–
HMPV	0	4		–	–	–	–	–	–
Parainfluenza 1/2/3	0	1	1		–	–	–	–	–
Corona	2	2	2	0		–	–	–	–
Rhinoviren	2	6	4	3	2		–	–	–
Enteroviren	1	2	0	0	1	6		–	–
Adenoviren	0	5	2	2	1	7	3		–
Bocaviren	0	5	1	1	1	2	1	4	

*: Bei 11 Patienten wurden Koinfektionen mit ≥ 3 Viren entdeckt. 1 davon in der pH1N1-Gruppe, bzw. 2 in der HMPV-Gruppe, und 4 in der RSV-Gruppe. HMPV- und RSV-Koinfektionen wurden in 4 Fällen beobachtet.

5.9 Mikrobiologische Befunde

Blutkulturen wurden von 14 % (38/272) der Patienten entnommen, jedoch war nur bei 3 Kindern das Ergebnis positiv hinsichtlich eines bakteriellen Erregernachweises. Bei einem Patienten wurde *Staphylococcus aureus* und bei 2 Patienten wurden Koagulase-negative Staphylokokken nachgewiesen. Man erhielt mit der PCR-Diagnostik keine Hinweise auf Kreuzreaktionen mit den im Respirationstrakt potentiell auftretenden anderen Viren und Bakterien (s. Kapitel 4.2).

5.10 Radiologische Befunde

Bei 62 % (169) der Patienten wurde basierend auf der klinischen Beurteilung ein Röntgenbild des Thorax angefertigt. Bei 69 % dieser Kinder wurde radiologisch eine Pneumonie festgestellt. Insgesamt zeigten 43 % (117/272) aller Patienten eine radiologisch bestätigte Pneumonie. 14 % (37/272) der Patienten zeigten Anzeichen einer Bronchitis und bei 6 %

(15/272) der Patienten wurde keine radiologische Pathologie festgestellt. Bei den Patienten mit radiologisch bestätigter Pneumonie (117) waren 6 Fälle (5 %) positiv für eine pH1N1-Monoinfektion und 1 Fall positiv für eine pH1N1-Koinfektion. In der Untergruppe der HMPV-positiven Kinder wurden die meisten Röntgen-Thorax-Untersuchungen angeordnet (68 % [19/28]). Patienten mit RSV- oder HMPV-Infektion hatten ein höheres Risiko eine Pneumonie zu entwickeln verglichen mit Patienten mit einer pH1N1-Infektion (RR=2,3, 95 % Konfidenzintervall [KI] 1,1-4.7) (s. Tabelle 9 und 10).

Tabelle 10: Radiologische Befunde und nachgewiesene Viren

	Gesamtzahl der Patienten	pH1N1 Monoinfektion		pH1N1 Koinfektion		Andere virale Monoinfektionen		Andere virale Koinfektionen	
		N	%	n	%	n	%	n	%
Pneumonie	117	6	5	1	1	72	62	15	13
Bronchitis	37	2	5	1	1	16	41	14	36

6 Diskussion

Die vorliegende Studie wurde durchgeführt, um während der Influenzapandemie 2009/2010 und der frühen Postpandemie die Verteilung respiratorischer Viren und die klinischen Charakteristika bei stationär aufgenommenen pädiatrischen Patienten zu untersuchen. Insgesamt wurden 272 Kinder und Jugendliche mit klinischen Symptomen einer Atemwegsinfektion und/oder ILI (Influenza-Like Illness)-Symptomen in diese Studie aufgenommen. Diese hohe Anzahl an Patienten spiegelt die lokale Krankheitslast in diesem Zeitraum wider und belegt die Notwendigkeit die Pathogene von Atemwegserkrankungen inmitten einer Pandemie zu prüfen. Das pH1N1-2009-Virus infizierte mehr als 40 % der suszeptiblen Bevölkerung im Jahr 2009 [3]. Die stationären Aufnahmen und die Häufigkeiten der durchgeführten Untersuchungen waren während der pH1N1-Pandemie deutlich höher als während der üblichen ARI-Saison in den Jahren zuvor (in der gleichen Region) [12, 13].

Obwohl während des Studienzeitraums häufig Influenza-Testungen angefordert wurden, zeigten die Testergebnisse bei Kindern mit ARI häufiger andere respiratorische Viren als Influenza. HMPV- und RSV-Infektionen hatten eine höhere klinische Bedeutung verglichen mit pH1N1. Auch waren bei anderen respiratorischen Viren Koinfektionen mit einer hohen Rate zu beobachten. Die Gesamtzahl der stationären Aufnahmen in der Pädiatrie während der Hochphase der Pandemie aufgrund von Nicht-Influenza-Erregern war deutlich höher als die der stationären Aufnahmen aufgrund von Influenzavirus-Infektionen. Diese Beobachtung stimmt überein mit den Ergebnissen von Chang et al. [172], welcher ebenfalls pädiatrische Patienten, die sich während der Influenza-Pandemie in der Notaufnahme mit ILI vorstellten, untersuchte. Eine Studie zur Virusverteilung bei ambulanten Patienten (einschließlich Erwachsenen) in Belgien zeigte, dass pH1N1 während der Pandemie das am häufigsten nachweisbare Virus bei Kindern <5 Jahren war, welches wahrscheinlich eine Korrelation zwischen der ILI-Falldefinition und der tatsächlichen Influenza-Diagnose widerspiegelte [173]. Diese Gruppe von Patienten wurde jedoch häufig auch von anderen respiratorischen Viren koinfiziert. Der Anteil an negativen Ergebnissen der hiesigen Studie in Bezug auf eine virale Ätiologie betrug nur 20 %. Dies ist besonders gering im Vergleich zu den von Chang et al. gewonnenen Daten [172]. Die Studie von Chang et al. umfasste alle Patienten mit einer Temperatur von $\geq 38,2$ °C entweder zum Zeitpunkt der Vorstellung oder dokumentiert durch die Eltern und ≥ 2 ILI-Symptomen. Eine brasilianische Studie, die ebenfalls nur stationär aufgenommene Kinder untersuchte, fand 27 % der Patienten mit Virus-negativem Befund, wobei sie auf fünf respiratorischen-Viren getestet hatten [174]. Diese Ergebnisse sind mit den eigenen gewonnenen hier dargestellten Ergebnissen vergleichbar.

Die in der vorliegenden Studie gewonnenen Ergebnisse hinsichtlich der Altersverteilung (s. Kap. 5.8) zeigten, dass sich das Muster der respiratorischen Virusaktivität innerhalb der verschiedenen Altersgruppen zu verändern schien. So waren die Kinder, die mit pH1N1 infiziert waren, deutlich älter im Vergleich zu denen, die mit HMPV und RSV infiziert waren.

In der hiesigen Studie ließ sich eine hohe Prävalenz von HMPV-Monoinfektionen nachweisen (15 % der viruspositiven Patienten). Diese Rate war höher als zuvor für Kinder in der Region berichtet (4 % 2005/2006 und 5 % 2006/2007 und 2007/2008). Frühere Untersuchungen im regionalen Untersuchungsgebiet zeigten eine Prävalenz von 40 % für RSV, 4 % für HMPV und 3 % für Influenza-Infektionen [12, 13]. Die höchste Prävalenz von respiratorischen Viren neben RSV und Influenza wurde jedoch für das Rhinovirus gefunden. Während hohe saisonale Infektionsfrequenzen für Rhinovirus- und RSV-Infektionen (32 %; z.B. bis zu 4 % und 51 % in früheren Berichten) erwartet wurden, war die Anzahl von HMPV-positiven Kindern unerwartet hoch. Hombrouck et al. fanden auch eine bemerkenswert hohe HMPV-Infektionsrate (14 % der Positiven) während der Pandemie. Im Gegensatz zur hiesigen Studie wurden stationäre Patienten dort jedoch nicht eingeschlossen [173]. Die in der hiesigen Studie gefundene höhere Häufigkeit von HMPV-Infektionen könnte das klinische Phänomen widerspiegeln, dass eine HMPV-Infektion bei den Kindern schwerere klinische Symptome verursacht, und diese Kinder deshalb vermehrt stationär aufgenommen werden. Die vergleichsweise niedrige Häufigkeit von pH1N1-Infektionen bei den stationär aufgenommenen Kindern könnte durch einen milderen klinischen Verlauf der Erkrankung erklärt werden. Dieser könnte auch durch eine vergleichsweise spätere Datenerhebung (ab Kalenderwoche 45/2009) erklärt werden, da der Höhepunkt der pandemischen Influenzawelle zu diesem Zeitpunkt in Deutschland bereits überschritten worden war [175]. Die Koinzidenz der pH1N1-Pandemie und die Häufigkeit von HMPV-Infektionen wirft die Frage nach einem mutmaßlichen kumulativen pathogenen Effekt und folglich einer größeren Verbreitung der HMPV-Infektion in der Bevölkerung auf. Es wird berichtet, dass Ausbrüche der HMPV-Infektion ein lokales Phänomen sind, während sich 2 oder 3 Grippevirusstämme jedes Jahr auf der ganzen Welt verbreiten [56]. HMPV zirkuliert vorwiegend im späten Winter und Frühjahr, und der Aktivitätsgipfel an einem gegebenen Ort überschneidet sich oft mit dem Höhepunkt der RSV-Aktivität oder folgt diesem [56]. Der Höhepunkt der HMPV-Detektion wurde früher im Februar und März oder von März bis Mai berichtet. In der hiesigen Studie erreichte HMPV im Februar seinen Höhepunkt, gefolgt von RSV im März (s. Abbildung 10).

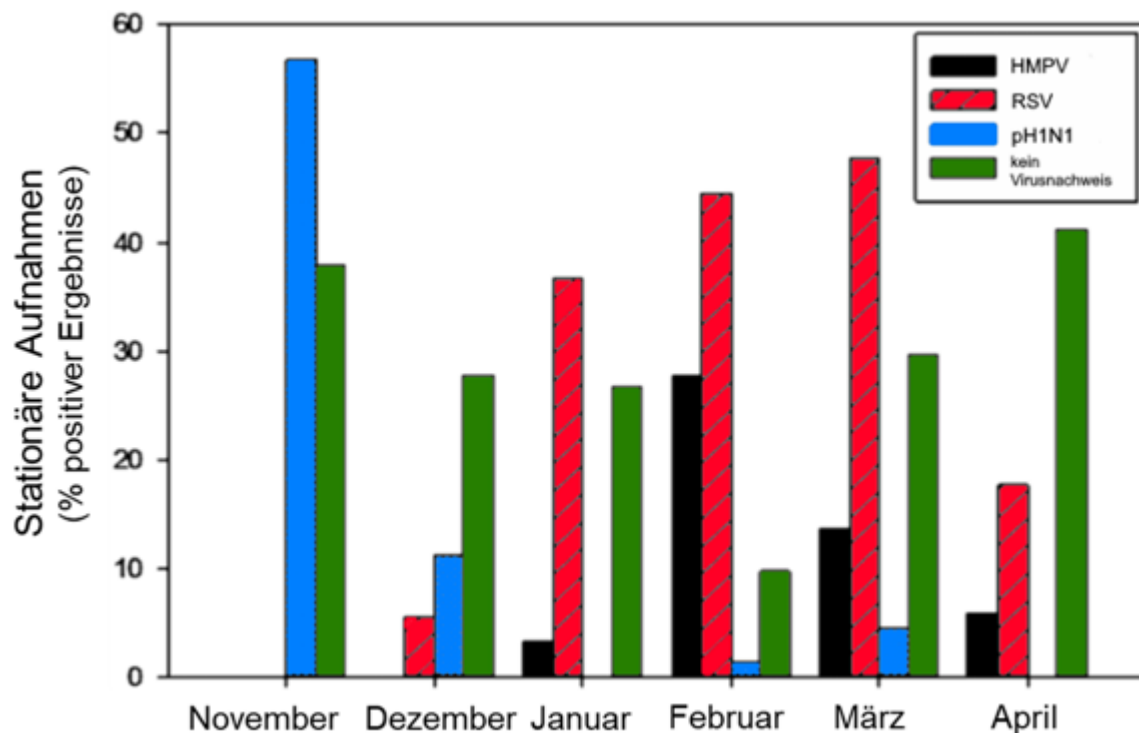


Abbildung 10: Monatliche Verteilung der prozentualen Anteile der stationären Aufnahmen von Kindern mit HMPV, RSV und Influenza-pH1N1-Viren Infizierte und mit keinem Virus Infizierte von Woche 45/2009 bis Woche 17/2010 (November. - April; n=218). Insgesamt sind 41 HMPV-Positive, 87 RSV-Positive, 30 pH1N1-Positive und 54 Fälle ohne Virusnachweis dargestellt. Der Prozentsatz der positiven (oder negativen) Proben/insgesamt positiven Fälle während jeder Periode und für jedes Virus ist angegeben.

Große Ausbrüche von HMPV wurden berichtet, die sich in aufeinanderfolgenden epidemischen Saisons mit kleinen Ausbrüchen in einem regelmäßigen, halbjährlichen Muster abwechselten, während HMPV-Epidemien antizyklisch zu RSV-Epidemien verliefen [56, 102, 176, 177]. Bisher konnte keine eindeutige Beziehung zwischen Influenza und einer HMPV-Infektion festgestellt werden. Allerdings könnte der ungewöhnliche Anstieg der HMPV-Infektion, der in der Wintersaison 2009 in der hier beschriebenen Studiengruppe beobachtet wurde, mit viralen Interferenzen durch pandemische Influenza oder andere zirkulierende Viren sowie die Entstehung neuer Genotypen zusammenhängen [178-182].

Die Gründe für eine stationäre Aufnahme von Kindern und Jugendlichen in der vorliegenden Studie waren die Schwere der Erkrankung, welche von dem diensthabenden Kinder- und Jugendarzt beurteilt wurde. Im Jahr 2009 hatte die WHO den Pandemie-Alarm auf die (höchste) Stufe 6 heraufgesetzt. Diese Hochstufung und die Berichtserstattungen durch die Medien verbreitete große Unruhe und Unsicherheit in der Bevölkerung [183-185]. Ein wichtiger Grund für die Vorstellung in der Notaufnahme war daher auch die Angst vor einer pH1N1-Infektion und nicht nur die Schwere der klinischen Präsentation, vorwiegend bei älteren Kindern, die von besorgten Eltern vorgestellt wurden. Diese Beobachtung änderte sich während

der zweiten Hälfte des Studienzeitraums, als ein Wechsel zu einer Vorstellung von jüngeren Kindern in der Notaufnahme erfolgte. Diese Kinder zeigten schwere klinische Symptome, die nicht den Einfluss der pH1N1-Infektion widerspiegeln, sondern eine Infektion mit anderen respiratorischen Viren wie HMPV, RSV und Rhinovirus. In der vorliegenden Studie wurde zwischen Woche 51/2009 und Woche 8/2010 kein Kind aufgrund einer Grippeinfektion stationär aufgenommen. Dies entspricht auch den Meldungen der deutschen Krankheitsaktivität, die bereits in der Woche 51/2009 unter 15 % der gemeldeten Höchstzahl gefallen war [186].

Die übermäßige Verwendung von Antibiotika bei Viruserkrankungen bleibt ein signifikantes Problem [187]. In der hiesigen Studie erhielten 19 % (52/272) aller Patienten eine antibiotische Behandlung. Bei diesen Patienten war zuvor keine Diagnostik hinsichtlich respiratorischer Viren durchgeführt worden. Die Erkennung von respiratorischen Virusinfektionen steigt mit der Entwicklung des sensitiven Screeningverfahrens für die Atemwegsproben [45]. Die Verwendung von schnellen und sensitiven diagnostischen Tests wie der PCR für respiratorische Viren steigert das Potenzial, zusätzliche Labordiagnostik begrenzen und den Einsatz von Antibiotika bei Kindern reduzieren zu können [188].

Von Kries et al. verwendeten ein anderes Studiendesign indem sie die Inzidenz einer pH1N1-Infektion bei Kindern serologisch nachwies. Hierbei zeigten sich Hämagglutinations-Inhibitionstiter von >1:10 bei 53,5 % (95 % KI, 50,9-56,2) der deutschen Kinder [14]. Die deutlich niedrigere Häufigkeit von pH1N1 in der hiesigen Studiengruppe kann wahrscheinlich dadurch erklärt werden, dass nur stationäre Patienten untersucht wurden. Dies könnte auch das niedrigere Medianalter von 17 Monaten gegenüber der höheren Altersgruppe einer belgischen ambulanten Kohorte (82 % >6 Jahre) und entsprechenden deutschen epidemiologischen Daten erklären [3, 14, 55].

Obwohl keiner der hier untersuchten mit pH1N1-infizierten Patienten eine positive Blutkultur aufwies, fand eine Analyse von Lungenproben aus 77 tödlichen Fällen einer pH1N1-2009-Infektion eine Prävalenz von gleichzeitiger bakterieller Pneumonie bei 29 % dieser Patienten [189]. Die bakterielle Koinfektion, die in den frühen Stadien der H1N1-Pandemie 2009 für ungewöhnlich angesehen wurden, ist wohl häufiger als ursprünglich angenommen [95]. Die häufigsten koinfizierenden bakteriellen Erreger waren *Pneumokokken*, *Staphylococcus aureus* und *Streptococcus pyogenes* bei einer mittleren Krankheitsdauer von 6 Tagen [189]. Dies unterstreicht die Notwendigkeit einer mikrobiologischen Diagnostik der mit pH1N1 infizierten Patienten.

In der hiesigen Studie wurden 22 (8 %) Kinder mit dem empfohlenen Influenza-Impfstoff (*Pandemrix*®) geimpft. Dies liegt nahe an den publizierten Impfprävalenzschätzungen für Jugendliche

und Erwachsene in Deutschland von 6,8 % (95 % KI: 5,0 -9,2)[186]. In einer Gruppe von Hochrisiko-Kindern (mit primärer oder sekundärer Immunsuppression und ILI-Symptomen) wurden deutlich höhere Impfraten von bis zu 62 % berichtet [190]. Diese Patientengruppe war jedoch nicht Gegenstand der vorliegenden Studie.

RSV und HMPV waren in hiesiger Studie die am häufigsten nachweisbaren Erreger (87 Fälle [32%] und 41 Fälle [15%]). Der häufige Nachweis von RSV (53 % [36/68]) und HMPV (50 % [14/28]) als ein einzelnes Pathogen bei einer Pneumonie weist auf die Fähigkeit hin, allein schwere klinische Symptome hervorrufen zu können. Der häufige Nachweis von RSV (47 % [24/51]) als einzelner Erreger bei einer Pneumonie wurde auch von Bonzel et al. berichtet. Edwards et al. demonstrierten, dass bei stationär aufgenommenen Kindern mit HMPV-Infektion häufiger eine Röntgenaufnahme des Thorax (in bis zu 86 % der Fälle) als bei anderen respiratorischen Vireninfektionen durchgeführt wurde. In der hiesigen Studie wurde eine Röntgenaufnahme des Thorax bei 68 % der HMPV-infizierten Kinder durchgeführt [176, 191].

Manohaet al. berichteten, dass das Geschlechterverhältnis der HMPV-Infektion die männlichen Patienten favorisiere (männlich/weiblich=2,2) [192], welches mit dem in der hiesigen Studie gefundenen Verhältnis von 1,8 übereinstimmt. Tachypnoe wurde bei fast der Hälfte der HMPV-infizierten Kinder beobachtet (43 %), was auf eine Infektion der unteren Atemwege (LRTI) hinweist. HMPV wurde in 18 % der LRTI-Fälle (klinisch gekennzeichnet durch Giemen, Rasselgeräusche, Tachypnoe, Dyspnoe und Zeichen einer Beteiligung der Atemwege am Röntgenbild des Thorax) nachgewiesen. Dies liegt nahe der von Kahn berichteten Häufigkeit von 20 % für HMPV-Erkrankungen der unteren Atemwege [56]. Die Schwere der Krankheit wird auch dadurch unterstrichen, dass HMPV infizierte Kinder länger als alle anderen Patienten-Untergruppen Sauerstoffbehandlung erhielten und zudem zum Zeitpunkt der Aufnahme die niedrigste Sauerstoffsättigung (Mittelwert 90,5 %) aufwiesen. Es wurde berichtet, dass das Vorhandensein von HMPV das Risiko einer $SaO_2 < 92\%$ bei Aufnahme fast 6-fach erhöht [193].

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass es wichtig ist, sich während einer Pandemie zunächst auf das Pandemievirus zu konzentrieren aber dabei ausreichend zu berücksichtigen, dass andere Viren während dieser Phase auch entsprechende Krankheitssymptome verursachen können. Die hohe Prävalenz von HMPV- und RSV-Infektionen bei aufgenommenen Kindern führte zu einer höheren Krankheitslast und zur Präsenz einer kranken Patientengruppe, die nicht durch Influenza-Infektionen verursacht wurde. Es war nicht möglich, Influenza-Infektionen nur rein klinisch zu differenzieren. Dies unterstreicht die Notwendigkeit virologischer Testungen mit einem breiten Spektrum ohne ausschließliche Fokussierung auf das Pandemievirus.

Die Pathogenität der neu entstehenden reassortierten Viren ist sehr schwierig im Voraus zu prognostizieren. Nach der Pandemie 2009, obwohl diese im Vergleich zu anderen Influenzapandemien zu keiner großen Anzahl von Todesopfern führte, bestand die Notwendigkeit strenge Maßnahmen zur Schaffung eines starken und umfassenden Überwachungssystems zu ergreifen [3]. Dies sollte nicht nur in *high-income countries* der Fall sein, sondern auch in *low-income countries*, wo Tiere und Menschen häufiger auf engerem Raum zusammenleben und somit Reassortements wahrscheinlicher werden. Da die Reassortements bei Säugetieren oft Jahre bis zur Entstehung von pandemischen Influenza-Stämmen brauchen, ist es notwendig, eine geeignete Überwachungsstrategie für den Nachweis von Vorläuferviren zu entwickeln, um beim Ausbruch zukünftiger Pandemien frühzeitig intervenieren zu können.

Bereits frühere Studien hatten gezeigt, dass klinische Symptome nicht gut geeignet sind, um zwischen Influenza und anderen viralen Pathogenen zu unterscheiden [194, 195]. In der hiesigen Studie hatten die Patienten mit pH1N1-Infektion vor der Aufnahme eine kürzere Periode von klinischen Symptomen und häufiger Fieber $>38,4$ °C als Patienten, die mit anderen viralen Pathogenen infiziert waren. Es gab jedoch keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der absoluten Spitzentemperatur oder der Fieberdauer. Eine ähnliche Beobachtung wurde auch von Puto et al. beschrieben [196]. Der klinische Verlauf variierte Alters- und Erreger-abhängig, wie auch von Bryant et al. berichtet wurde [197]. Die klinischen Symptome haben einen niedrigen prädiktiven Wert zur Differenzierung von Influenza- und Nicht-Influenza-Infektionen u.a. aufgrund der hohen Rate von identischen Symptomen.

Bonzel et al. berichteten über einen Anteil viraler Koinfektionen von 16,1 %, was mit dem in der hiesigen Studie gefundenen Anteil von 18 % in etwa übereinstimmte [12]. Diese Studie wurde während eines 10-monatigen Zeitraums von Dezember 2005 bis Oktober 2006 in derselben Region durchgeführt, um die Häufigkeit der viralen Koinfektion bei stationär aufgenommenen Kindern mit ARI und der Assoziation einer viralen Koinfektion mit der Schwere der Erkrankung zu erfassen. In der vorliegenden Studie war auffällig, dass die Infektionen mit klinisch schwererem Verlauf zum überwiegenden Teil auf einer Virus-Monoinfektion beruhten (Pneumonie: 83 % Monoinfektionen vs. 17 % virale Koinfektionen). Dies schien jedoch keinen Einfluss auf die Dauer des stationären Aufenthalts zu haben. Die hier dargestellten Ergebnisse stimmen mit denen von Bonzel et al. überein (Pneumonie: 66 % virale Monoinfektion vs. 33 % virale Koinfektion) [12]. In Übereinstimmung mit den Studien von Brand et al. sowie Lim et al. konnte eine Assoziation der viralen Koinfektion mit der Schwere der Erkrankungen nicht nachgewiesen werden [47, 198].

Um die Auswirkungen einer Koinfektion auf den Schweregrad der Erkrankung basierend auf Fieber, (Intensiv-)Behandlung, zusätzlichem Sauerstoffbedarf, Notwendigkeit einer mechanischen Beatmung, pathologische Röntgenbefunden sowie der Dauer des

Krankenhausaufenthalts besser zu verstehen, sind weitere Untersuchungen über mehrere Saisonperioden erforderlich.

7 Zusammenfassung

Während der Influenza A pH1N1-Pandemie von November 2009 bis April 2010 wurde im Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin des Universitätsklinikums Düsseldorf eine Studie durchgeführt, um die Erreger und klinischen Symptome bei allen Kindern und Jugendlichen, die mit Symptomen einer Infektion der Atemwege in diesem Zeitraum stationär aufgenommen wurden, zu untersuchen. Insgesamt wurden die Daten von 272 Kindern und Jugendlichen mit Symptomen einer ARI (Acute Respiratory Tract Infection) oder einer ILI (Influenza-Like Illness) ausgewertet. Virale Pathogene wurden in 80 % (218/272) nachgewiesen. Eine Influenza A pH1N1-Infektion wurde jedoch nur bei 11 % (30/272) der Kinder und Jugendlichen nachgewiesen. Die pH1N1 positiven Patienten waren älter und die Schwere der Erkrankung, definiert durch die Höhe der Temperatur und die Dauer des Fiebers, unterschied sich nicht von anderen Patienten, die aufgrund ARI oder ILI-Symptomatik aufgenommen wurden. HMPV und RSV waren die vorherrschenden identifizierten viralen Pathogene, die zur Aufnahme von tachypnoeischen Kindern mit Pneumonie in der postpandemischen Phase und zur Notwendigkeit einer intensiveren Behandlung führten. Während der pandemischen und frühen postpandemischen Phase führten andere respiratorische Viren wie HMPV und RSV zu einer schwereren klinischen Symptomatik als bei pH1N1. Daher sollten bei Patienten, die wegen ARI hospitalisiert werden, Testungen auf HMPV ebenso routinemäßig durchgeführt werden wie Testungen auf RSV. Auch in Phasen von Pandemien muss das Bewusstsein für andere respiratorische Viren gewahrt bleiben. Eine Differenzierung von respiratorischen Viren alleine aufgrund der klinischen Symptomatik ist nicht möglich, da keine erregerspezifischen Symptome auftreten. Ein entsprechender Erregernachweis durch die RT-PCR ist anzustreben, um eine spezifische Diagnose stellen zu können und insbesondere um eine unangemessene antibiotische Behandlung zu verhindern.

Summary

During the Influenza A pH1N1 pandemic from November 2009 to April 2010, a study was conducted in the University Children's Hospital Duesseldorf, Germany, to determine the causing pathogens and clinical symptoms in all children and adolescents admitted as inpatients for symptoms of respiratory tract infections during this period. A total number of 272 children and adolescents with symptoms of ARI (Acute Respiratory Tract Infection) or ILI (Influenza-Like Illness) were evaluated. Viral pathogens were detected in 80% (218/272). However, influenza A pH1N1 infection was detected only in 11% (30/272) of the children and adolescents. The pH1N1 positive patients were older and the severity of the disease, as defined by the temperature and the duration of the fever, did not differ from other patients who were admitted due to ARI or ILI symptoms. HMPV and RSV were the predominant identified viral pathogens that led to hospitalization of tachypnoeic children with pneumonia in the post-pandemic phase demanding for more intensive treatment. During the pandemic and early post-pandemic phase, the clinical impact of other respiratory viruses such as HMPV and RSV led to a more severe clinical symptoms than pH1N1. Therefore, HMPV testing should be performed on a regularly basis as it is done for RSV in patients hospitalized for ARI. Awareness of other respiratory viruses must also be maintained even in phases of pandemics. It is not possible to differentiate respiratory viruses solely based on clinical symptoms, since there are no pathogen-specific symptoms. Appropriate pathogen detection by RT-PCR should be performed to achieve a specific diagnosis and particularly to prevent inappropriate antibiotic treatment.

8 Literaturverzeichnis

1. Taubenberger J.K., Morens D.M., *Influenza: the once and future pandemic*. Public Health Rep, 2010, 125 Suppl 3:16-26.
2. Reid A.H., Taubenberger J.K., *The origin of the 1918 pandemic influenza virus: a continuing enigma*. J Gen Virol, 2003, 84(Pt 9):2285-2292.
3. Cheng V.C. et al., *Two years after pandemic influenza A/2009/H1N1: what have we learned?* Clin Microbiol Rev, 2012, 25(2):223-263.
4. Kumar S., Henrickson K.J., *Update on influenza diagnostics: lessons from the novel H1N1 influenza A pandemic*. Clin Microbiol Rev, 2012, 25(2):344-361.
5. Bautista, E. et al., *Clinical aspects of pandemic 2009 influenza A (H1N1) virus infection*. N Engl J Med, 2010, 362(18):1708-1719.
6. Dawood, F.S. et al., *Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans*. N Engl J Med, 2009, 360(25):2605-2615.
7. Fraser C. et al., *Pandemic potential of a strain of influenza A (H1N1): early findings*. Science, 2009, 324(5934):1557-1561.
8. WHO. *Global Alert and Response (GAR). Pandemic (H1N1) 2009 - Update 112*. Geneva: WHO 2010, http://www.who.int/csr/don/2010_08_06/en/index.html.
9. Simonsen L. et al., *Global mortality estimates for the 2009 Influenza Pandemic from the GLaMOR project: a modeling study*. PLoS Med, 2013, 10(11):e1001558.
10. Falagas M.E. et al., *Pandemic A(H1N1) 2009 influenza: review of the Southern Hemisphere experience*. Epidemiol Infect, 2011, 139(1):27-40.
11. Sullivan S.J. et al., *2009 H1N1 influenza*. Mayo Clin Proc, 2010, 85(1):64-76.
12. 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):589-594.
13. Franz A. et al., *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, 48(4):239-245.
14. von Kries R. et al., *Post-pandemic seroprevalence of pandemic influenza A (H1N1) 2009 infection (swine flu) among children <18 years in Germany*. PLoS One, 2011, 6(9):e23955.
15. *Current WHO phase of pandemic alert for Pandemic (H1N1) 2009*. [cited 2018 13.06.], <http://www.who.int/csr/disease/swineflu/phase/en/>.
16. Miller E. et al., *Incidence of 2009 pandemic influenza A H1N1 infection in England: a cross-sectional serological study*. Lancet, 2010, 375(9720):1100-1108.
17. Louie J.K. et al., *Factors associated with death or hospitalization due to pandemic 2009 influenza A(H1N1) infection in California*. JAMA, 2009, 302(17):1896-1902.
18. Garten R.J. et al., *Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A(H1N1) influenza viruses circulating in humans*. Science, 2009. 325(5937):197-201.
19. WHO, *Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2010 influenza season, 2009*, http://www.who.int/influenza/vaccines/200909_Recommendation.pdf
20. Valli M.B. et al., *Evolutionary pattern of pandemic influenza (H1N1) 2009 virus in the late phases of the 2009 pandemic*. PLoS Curr, 2010., 2:RRN1149.
21. Kumar B. et al., *The emerging influenza virus threat: status and new prospects for its therapy and control*. Arch Virol, 2018, 163(4):831-844.
22. Chu C.M., Dawson I.M., Elford W.J., *Filamentous forms associated with newly isolated influenza virus*. Lancet, 1949. 1(6554):602.
23. Fields B.N., Knipe D.M., Howley P.M., Griffin D.E., *Fields virology, 4th edn. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia*. 2001, 4th edn., Lippincott Williams & Wilkins
24. Hause B.M. et al., *Characterization of a novel influenza virus in cattle and Swine: proposal for a new genus in the Orthomyxoviridae family*. MBio, 2014, 5(2):e00031-14.
25. Bouvier N.M., Palese P., *The biology of influenza viruses*. Vaccine, 2008, 26 Suppl 4:D49-53.

26. Tong S. et al., *New world bats harbor diverse influenza A viruses*. PLoS Pathog, 2013, 9(10):e1003657.
27. Shi Y. et al., *Enabling the 'host jump': structural determinants of receptor-binding specificity in influenza A viruses*. Nat Rev Microbiol, 2014, 12(12):822-831.
28. Gamblin S.J., Skehel J.J., *Influenza hemagglutinin and neuraminidase membrane glycoproteins*. J Biol Chem, 2010, 285(37):28403-28409.
29. Wiley D.C., Skehel J.J., *The structure and function of the hemagglutinin membrane glycoprotein of influenza virus*. Annu Rev Biochem, 1987, 56:365-394.
30. Leser G.P., Lamb R.A., *Influenza virus assembly and budding in raft-derived microdomains: a quantitative analysis of the surface distribution of HA, NA and M2 proteins*. Virology, 2005, 342(2):215-227.
31. Treanor J., *Influenza vaccine--outmaneuvering antigenic shift and drift*. N Engl J Med, 2004, 350(3):218-220.
32. Paules C., Subbarao K., *Influenza*. Lancet, 2017, 390(10095):697-708.
33. Scholtissek C. et al., *The nucleoprotein as a possible major factor in determining host specificity of influenza H3N2 viruses*. Virology, 1985, 147(2):287-294.
34. Maines T.R. et al., *Transmission and pathogenesis of swine-origin 2009 A(H1N1) influenza viruses in ferrets and mice*. Science, 2009, 325(5939):484-487.
35. Itoh Y. et al., *In vitro and in vivo characterization of new swine-origin H1N1 influenza viruses*. Nature, 2009, 460(7258):1021-1025.
36. Munster V.J. et al., *Pathogenesis and transmission of swine-origin 2009 A(H1N1) influenza virus in ferrets*. Science, 2009, 325(5939):481-483.
37. Taubenberger J.K. et al., *Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes*. Nature, 2005, 437(7060):889-893.
38. Meseko C.A., Odaibo G.N., Olaleye D.O., *Detection and isolation of 2009 pandemic influenza A/H1N1 virus in commercial piggery, Lagos Nigeria*. Vet Microbiol, 2014, 168(1):197-201.
39. Johnson N.P., Mueller J., *Updating the accounts: global mortality of the 1918-1920 "Spanish" influenza pandemic*. Bull Hist Med, 2002, 76(1):105-115.
40. McCullers J.A., Bartmess K.C., *Role of neuraminidase in lethal synergism between influenza virus and Streptococcus pneumoniae*. J Infect Dis, 2003, 187(6):1000-1009.
41. Scholtissek C. et al., *On the origin of the human influenza virus subtypes H2N2 and H3N2*. Virology, 1978, 87(1):13-20.
42. Glezen W.P., *Emerging infections: pandemic influenza*. Epidemiol Rev, 1996, 18(1):64-76.
43. Schulman J.L., Kilbourne ED, *Independent variation in nature of hemagglutinin and neuraminidase antigens of influenza virus: distinctiveness of hemagglutinin antigen of Hong Kong-68 virus*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1969, 63(2):326-333.
44. Morens D.M., J.K. Taubenberger Fauci A.S., *The persistent legacy of the 1918 influenza virus*. N Engl J Med, 2009, 361(3):225-229.
45. Esper F.P., Spahlinger T., Zhou L., *Rate and influence of respiratory virus co-infection on pandemic (H1N1) influenza disease*. J Infect, 2011, 63(4):260-266.
46. Tregoning J.S., Schwarze J., *Respiratory viral infections in infants: causes, clinical symptoms, virology, and immunology*. Clin Microbiol Rev, 2010, 23(1):74-98.
47. Lim F.J. et al., *Systematic review and meta-analysis of respiratory viral coinfections in children*. Respirology, 2016, 21(4):648-655.
48. Peng D. et al., *Multipathogen infections in hospitalized children with acute respiratory infections*. Virol J, 2009, 6:155.
49. Macao P. et al., *Acute bronchiolitis: a prospective study*. Acta Med Port, 2011, 24 Suppl 2:407-412.
50. Jain S. et al., *Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among U.S. children*. N Engl J Med, 2015, 372(9):835-845.
51. Nascimento M.S. et al., *High rate of viral identification and coinfections in infants with acute bronchiolitis*. Clinics (Sao Paulo), 2010, 65(11):1133-1137.

52. da Silva E.R. et al., *Severe lower respiratory tract infection in infants and toddlers from a non-affluent population: viral etiology and co-detection as risk factors*. BMC Infect Dis, 2013, 13:41.
53. Garcia-Garcia M.L. et al., [*Human bocavirus infections in Spanish 0-14 year-old: clinical and epidemiological characteristics of an emerging respiratory virus*]. An Pediatr (Barc), 2007, 67(3):212-219.
54. De Paulis M. et al., *Severity of viral coinfection in hospitalized infants with respiratory syncytial virus infection*. J Pediatr (Rio J), 2011, 87(4):307-313.
55. Feuillet F. et al., *Ten years of human metapneumovirus research*. J Clin Virol, 2012, 53(2):97-105.
56. Kahn J.S., *Epidemiology of human metapneumovirus*. Clin Microbiol Rev, 2006, 19(3):546-557.
57. Drews A.L. et al., *Dual respiratory virus infections*. Clin Infect Dis, 1997, 25(6):1421-1429.
58. Semple M.G. et al., *Dual infection of infants by human metapneumovirus and human respiratory syncytial virus is strongly associated with severe bronchiolitis*. J Infect Dis, 2005, 191(3):382-386.
59. Greensill J. et al., *Human metapneumovirus in severe respiratory syncytial virus bronchiolitis*. Emerg Infect Dis, 2003, 9(3):372-375.
60. Papadopoulos N.G. et al., *Association of rhinovirus infection with increased disease severity in acute bronchiolitis*. Am J Respir Crit Care Med, 2002, 165(9):1285-1289.
61. Subbarao E.K., Griffis J., Waner J.L., *Detection of multiple viral agents in nasopharyngeal specimens yielding respiratory syncytial virus (RSV). An assessment of diagnostic strategy and clinical significance*. Diagn Microbiol Infect Dis, 1989, 12(4):327-332.
62. Huang J.J. et al., *Simultaneous multiple viral infections in childhood acute lower respiratory tract infections in southern Taiwan*. J Trop Pediatr, 1998, 44(5):308-311.
63. Lazar I. et al., *Human metapneumovirus and severity of respiratory syncytial virus disease*. Emerg Infect Dis, 2004, 10(7):1318-1320.
64. Legg J.P. et al., *Frequency of detection of picornaviruses and seven other respiratory pathogens in infants*. Pediatr Infect Dis J, 2005, 24(7):611-616.
65. Richard N. et al., *The impact of dual viral infection in infants admitted to a pediatric intensive care unit associated with severe bronchiolitis*. Pediatr Infect Dis J, 2008, 27(3):213-217.
66. Palacios G. et al., *Streptococcus pneumoniae coinfection is correlated with the severity of H1N1 pandemic influenza*. PLoS One, 2009, 4(12):e8540.
67. Goka E.A. et al., *Single and multiple respiratory virus infections and severity of respiratory disease: a systematic review*. Paediatr Respir Rev, 2014, 15(4):363-370.
68. Asner S.A. et al., *Clinical disease severity of respiratory viral co-infection versus single viral infection: a systematic review and meta-analysis*. PLoS One, 2014, 9(6):e99392.
69. DaPalma T. et al., *A systematic approach to virus-virus interactions*. Virus Res, 2010, 149(1):1-9.
70. Ferkol T., Schraufnagel D., *The global burden of respiratory disease*. Ann Am Thorac Soc, 2014, 11(3):404-406.
71. Bellanti J.A., *Recurrent respiratory tract infections in paediatric patients*. Drugs, 1997, 54 Suppl 1:1-4.
72. Rudan I. et al., *Epidemiology and etiology of childhood pneumonia*. Bull World Health Organ, 2008, 86(5):408-416.
73. Wardlaw T. et al., *Pneumonia: the leading killer of children*. Lancet, 2006, 368(9541):1048-1050.
74. Monto A.S., Ullman B.M., *Acute respiratory illness in an American community. The Tecumseh study*. JAMA, 1974, 227(2):164-169.
75. Chonmaitree T. et al., *Viral upper respiratory tract infection and otitis media complication in young children*. Clin Infect Dis, 2008, 46(6):815-823.
76. Scholz H., Roos R., *Handbuch Infektionen bei Kindern und Jugendlichen*. Deutsche Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie, 5. Auflage, 2010, Thieme, Stuttgart

77. McCullers J.A. et al., *Increased influenza vaccination of healthcare workers at a pediatric cancer hospital: results of a comprehensive influenza vaccination campaign*. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2006, 27(1):77-79.
78. Braciale T.J., Sun J., Kim T.S., *Regulating the adaptive immune response to respiratory virus infection*. *Nat Rev Immunol*, 2012, 12(4):295-305.
79. Khattab A. et al., *Burden of pediatric influenza A virus infection post swine-flu H1N1 pandemic in Egypt*. *Asian Pac J Trop Med*, 2013, 6(9):693-698.
80. Craig R., Pringle, B., *Overview of Viral Respiratory Infections*. 2014, <https://www.msmanuals.com/professional/infectious-diseases/respiratory-viruses/overview-of-viral-respiratory-infections>.
81. Modrow, S., Falke D., Truyen U., Schätzl, M., *Molekulare Virologie*. 2010, Springer, Heidelberg.
82. Schweitzer J.W., Justice N.A., *Respiratory Syncytial Virus Infection (RSV)*, in *StatPearls*, 2018, Treasure Island (FL).
83. Borchers A.T. et al., *Respiratory syncytial virus--a comprehensive review*. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2013, 45(3):331-379.
84. van den Hoogen B.G. et al., *Prevalence and clinical symptoms of human metapneumovirus infection in hospitalized patients*. *J Infect Dis*, 2003, 188(10):1571-1577.
85. Pancham K. et al., *Human Metapneumovirus Infection is Associated with Severe Respiratory Disease in Preschool Children with History of Prematurity*. *Pediatr Neonatol*, 2016, 57(1):27-34.
86. Williams J.V. et al., *Human metapneumovirus and lower respiratory tract disease in otherwise healthy infants and children*. *N Engl J Med*, 2004,350(5):443-450.
87. Jartti, T. et al., *Metapneumovirus and acute wheezing in children*. *Lancet*, 2002, 360(9343):1393-1394.
88. Williams J.V. et al., *Human metapneumovirus infection in children hospitalized for wheezing*. *J Allergy Clin Immunol*, 2005, 115(6):1311-1312.
89. Schuster J.E., Williams JV, *Human metapneumovirus*. *Pediatr Rev*, 2013, 34(12):558-565.
90. Papenburg J. et al., *Comparison of risk factors for human metapneumovirus and respiratory syncytial virus disease severity in young children*. *J Infect Dis*, 2012, 206(2):178-189.
91. Schildgen V. et al., *Human Metapneumovirus: lessons learned over the first decade*. *Clin Microbiol Rev*, 2011, 24(4):734-754.
92. Spaeder M.C. et al., *A multicenter outcomes analysis of children with severe viral respiratory infection due to human metapneumovirus*. *Pediatr Crit Care Med*, 2013, 14(3):268-272.
93. Englund J.A. et al., *Fatal human metapneumovirus infection in stem-cell transplant recipients*. *Ann Intern Med*, 2006, 144(5):344-349.
94. Pelletier G. et al., *Respiratory tract reinfections by the new human Metapneumovirus in an immunocompromised child*. *Emerg Infect Dis*, 2002, 8(9):976-978.
95. Rello J. Pop-Vicas A., *Clinical review: primary influenza viral pneumonia*. *Crit Care*, 2009, 13(6):235.
96. Taubenberger J.K., Morens D.M., *The pathology of influenza virus infections*. *Annu Rev Pathol*, 2008, 3:499-522.
97. Mandell G., Bennet J., Dolin R., *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 2005, Elsevier.
98. Rello J. et al., *Intensive care adult patients with severe respiratory failure caused by Influenza A (H1N1)v in Spain*. *Crit Care*, 2009, 13(5):R148.
99. Liu W.K. et al., *Epidemiology and clinical presentation of the four human parainfluenza virus types*. *BMC Infect Dis*, 2013, 13:28.
100. England P.H., *Information on the diagnosis, prevention and treatment of human parainfluenza viruses (HPIVs)*. 2008, <https://www.gov.uk/guidance/human-parainfluenza-viruses-clinical-and-public-health-management#clinical-features>.
101. Rihkanen H. et al., *Respiratory viruses in laryngeal croup of young children*. *J Pediatr*, 2008. 152(5):661-665.
102. Miller E.K. et al., *Viral etiologies of infant bronchiolitis, croup and upper respiratory illness during 4 consecutive years*. *Pediatr Infect Dis J*, 2013, 32(9):950-955.

103. Zambon M. et al., *Molecular epidemiology of two consecutive outbreaks of parainfluenza 3 in a bone marrow transplant unit*. J Clin Microbiol, 1998, 36(8):2289-2293.
104. Couch R.B., Englund J.A., Whimbey E., *Respiratory viral infections in immunocompetent and immunocompromised persons*. Am J Med, 1997, 102(3A):2-9; discussion 25-26.
105. Englund J.A., *Diagnosis and epidemiology of community-acquired respiratory virus infections in the immunocompromised host*. Biol Blood Marrow Transplant, 2001, 7 Suppl:2S-4S.
106. Salami A. et al., *Sulphurous water inhalations in the prophylaxis of recurrent upper respiratory tract infections*. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2008, 72(11):1717-1722.
107. Teepe J. et al., *Disease course of lower respiratory tract infection with a bacterial cause*. Ann Fam Med, 2016, 14(6):534-539.
108. Hopstaken R.M. et al., *Clinical items not helpful in differentiating viral from bacterial lower respiratory tract infections in general practice*. J Clin Epidemiol, 2005, 58(2):175-183.
109. Ball P., *Epidemiology and treatment of chronic bronchitis and its exacerbations*. Chest, 1995, 108(2 Suppl):43S-52S.
110. McCullers J.A., *Insights into the interaction between influenza virus and pneumococcus*. Clin Microbiol Rev, 2006, 19(3):571-582.
111. Fendrick A.M. et al., *Diagnosis and treatment of upper respiratory tract infections in the primary care setting*. Clin Ther, 2001, 23(10):1683-1706.
112. Collins P.L., Graham BS, *Viral and host factors in human respiratory syncytial virus pathogenesis*. J Virol, 2008, 82(5):2040-2055.
113. Black C.P., *Systematic review of the biology and medical management of respiratory syncytial virus infection*. Respir Care, 2003, 48(3):209-231.
114. Boyton R.J., Openshaw P.J., *Pulmonary defences to acute respiratory infection*. Br Med Bull, 2002, 61:1-12.
115. Johnston S.L., *Experimental models of rhinovirus-induced exacerbations of asthma: where to now?* Am J Respir Crit Care Med, 2003, 168(10):1145-1146.
116. Newton, A.H., Cardani A., Braciale T.J., *The host immune response in respiratory virus infection: balancing virus clearance and immunopathology*. Semin Immunopathol, 2016, 38(4):471-482.
117. Janeway C.A., Travers P, Walport M, et al., *Immunobiology, the immune system in health and disease*. 2009, Garland Science Publishing, New York City
118. Tomar, N., De R.K., *A brief outline of the immune system*. Methods Mol Biol, 2014, 1184:3-12.
119. Heikkinen T., Jarvinen A., *The common cold*. Lancet, 2003, 361(9351):51-59.
120. Wessels M.R., *Clinical practice. Streptococcal pharyngitis*. N Engl J Med, 2011, 364(7):648-655.
121. Kennedy J.L. et al., *Pathogenesis of rhinovirus infection*. Curr Opin Virol, 2012, 2(3):287-293.
122. Hwang D.M. et al., *Pulmonary pathology of severe acute respiratory syndrome in Toronto*. Mod Pathol, 2005, 18(1):1-10.
123. Arruda E. et al., *Frequency and natural history of rhinovirus infections in adults during autumn*. J Clin Microbiol, 1997, 35(11):2864-2868.
124. Beem M.O., *Acute respiratory illness in nursery school children: a longitudinal study of the occurrence of illness and respiratory viruses*. Am J Epidemiol, 1969, 90(1):30-44.
125. Anjos L.M. et al., *Streptococcal acute pharyngitis*. Rev Soc Bras Med Trop, 2014, 47(4):409-413.
126. Kehl S.C., et al., *Evaluation of the Hexaplex assay for detection of respiratory viruses in children*. J Clin Microbiol, 2001, 39(5):1696-1701.
127. Chiappini E. et al., *Analysis of different recommendations from international guidelines for the management of acute pharyngitis in adults and children*. Clin Ther, 2011, 33(1):48-58.
128. Petrocheilou A. et al., *Viral croup: diagnosis and a treatment algorithm*. Pediatr Pulmonol, 2014, 49(5):421-429.
129. Cherry J.D., *Clinical practice. Croup*. N Engl J Med, 2008, 358(4):384-391.
130. Johnson D.W., *Croup*. BMJ Clin Evid, 2014. 2014.
131. Sharma, B.S. et al., *Acute Respiratory Distress in Children: Croup and Acute Asthma*. Indian J Pediatr, 2015, 82(7):629-636.

132. Woodhead M. et al., *Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections-full version*. Clin Microbiol Infect, 2011, 17 Suppl 6:E1-59.
133. Kinkade, S., Long N.A., *Acute Bronchitis*. Am Fam Physician, 2016, 94(7):560-565.
134. Clark T.W. et al., *Adults hospitalised with acute respiratory illness rarely have detectable bacteria in the absence of COPD or pneumonia; viral infection predominates in a large prospective UK sample*. J Infect, 2014, 69(5):507-515.
135. Singh, A., Zahn E., *Bronchitis, Acute*, in *StatPearls*. 2018: Treasure Island (FL).
136. Ebell, M.H., Lundgren J., Youngpairoj S., *How long does a cough last? Comparing patients' expectations with data from a systematic review of the literature*. Ann Fam Med, 2013, 11(1):5-13.
137. Brunton S. et al., *Acute exacerbation of chronic bronchitis: a primary care consensus guideline*. Am J Manag Care, 2004, 10(10):689-696.
138. Barnes P.J., *Chronic obstructive pulmonary disease*. N Engl J Med, 2000, 343(4):269-280.
139. Florin T.A., Plint A.C., Zorc J.L., *Viral bronchiolitis*. Lancet, 2017, 389(10065):211-224.
140. Justice N.A. and Le J.K., *Bronchiolitis*, in *StatPearls*. 2018, Treasure Island (FL).
141. Geoghegan S. et al., *Mortality due to Respiratory Syncytial Virus. Burden and Risk Factors*. Am J Respir Crit Care Med, 2017, 195(1):96-103.
142. Bennett B.L. et al., *Immunopathogenesis of respiratory syncytial virus bronchiolitis*. J Infect Dis, 2007, 195(10):1532-1540.
143. Caballero M.T., Polack F.P., Stein R.T., *Viral bronchiolitis in young infants: new perspectives for management and treatment*. J Pediatr (Rio J), 2017, 93 Suppl 1:75-83.
144. Aherne W. et al., *Pathological changes in virus infections of the lower respiratory tract in children*. J Clin Pathol, 1970, 23(1):7-18.
145. McNamara P.S., Smyth R.L., *The pathogenesis of respiratory syncytial virus disease in childhood*. Br Med Bull, 2002, 61:13-28.
146. Farley R. et al., *Antibiotics for bronchiolitis in children under two years of age*. Cochrane Database Syst Rev, 2014, (10):CD005189.
147. Ruuskanen O. et al., *Viral pneumonia*. Lancet, 2011, 377(9773):1264-1275.
148. Jokinen C. et al., *Incidence of Community-Acquired Pneumonia in the Population of 4 Municipalities in Eastern Finland*. Am J Epidemiol, 1993, 137(9):977-988.
149. Black R.E. et al., *Global, regional, and national causes of child mortality in 2008: a systematic analysis*. Lancet, 2010, 375(9730):1969-1987.
150. Smyth A., *Pneumonia due to viral and atypical organisms and their sequelae*. Br Med Bull, 2002, 61:247-262.
151. Berkley J.A. et al., *Viral etiology of severe pneumonia among Kenyan infants and children*. JAMA, 2010, 303(20):2051-2057.
152. *British Thoracic Society Guidelines for the Management of Community Acquired Pneumonia in Childhood*. Thorax, 2002, 57 Suppl 1:i1-24.
153. Ralston S.L. et al., *Clinical practice guideline: the diagnosis, management, and prevention of bronchiolitis*. Pediatrics, 2014, 134(5):e1474-1502.
154. Mayatepek E., *Pädiatrie*. 2007, Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH.
155. Leland, D.S., Ginocchio C.C., *Role of cell culture for virus detection in the age of technology*. Clin Microbiol Rev, 2007, 20(1):49-78.
156. Blyth, C.C., Iredell J.R., Dwyer D.E., *Rapid-test sensitivity for novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans*. N Engl J Med, 2009, 361(25):2493.
157. Ginocchio C.C. et al., *Evaluation of multiple test methods for the detection of the novel 2009 influenza A (H1N1) during the New York City outbreak*. J Clin Virol, 2009, 45(3):191-195.
158. Kawachi S. et al., *Multicenter prospective evaluation of a novel rapid immunochromatographic diagnostic kit specifically detecting influenza A H1N1 2009 virus*. J Clin Virol, 2011, 51(1):68-72.
159. Sandora T.J. et al., *Test characteristics of commercial influenza assays for detecting pandemic influenza A (H1N1) in children*. Pediatr Infect Dis J, 2010, 29(3):261-262.
160. Kim D.K., Poudel B., *Tools to detect influenza virus*. Yonsei Med J, 2013, 54(3):560-566.

161. Selvarangan R., Abel D., Hamilton M., *Comparison of BD Directigen EZ RSV and Binax NOW RSV tests for rapid detection of respiratory syncytial virus from nasopharyngeal aspirates in a pediatric population.* *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2008, 62(2):157-161.
162. Welch D.F., Ginocchio C.C., *Role of rapid immunochromatographic antigen testing in diagnosis of influenza A virus 2009 H1N1 infection.* *J Clin Microbiol*, 2010, 48(1):22-25.
163. H.W. Doerr, Gerlich W.H., *Medizinische Virologie.* Vol. 2. Auflage, 2009, Thieme.
164. Landry M.L., *Developments in immunologic assays for respiratory viruses.* *Clin Lab Med*, 2009, 29(4):635-647.
165. Bakerman P. et al., *Direct fluorescent-antibody testing followed by culture for diagnosis of 2009 H1N1 influenza A.* *J Clin Microbiol*, 2011, 49(10):3673-3674.
166. McAdam A.J., Riley A.M., *Developments in tissue culture detection of respiratory viruses.* *Clin Lab Med*, 2009, 29(4):623-634.
167. Bourgeois F.T. et al., *Relative impact of influenza and respiratory syncytial virus in young children.* *Pediatrics*, 2009, 124(6):e1072-1080.
168. Henrickson K.J. et al., *National disease burden of respiratory viruses detected in children by polymerase chain reaction.* *Pediatr Infect Dis J*, 2004, 23(1 Suppl):S11-18.
169. Henrickson K.J., *Advances in the laboratory diagnosis of viral respiratory disease.* *Pediatr Infect Dis J*, 2004, 23(1 Suppl):S6-10.
170. Gove S., *Integrated management of childhood illness by outpatient health workers: technical basis and overview. The WHO Working Group on Guidelines for Integrated Management of the Sick Child.* *Bull World Health Organ*, 1997, 75 Suppl 1:7-24.
171. Bonzel L., *Nachweis viraler respiratorischer Infektionen mittels Polymerasekettenreaktion. 2009: Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.* <https://docserv.uni-duesseldorf.de/servlets/DocumentServlet?id=10530>.
172. Chang M.L. et al., *Respiratory viruses identified in an urban children's hospital emergency department during the 2009 influenza A(H1N1) pandemic.* *Pediatr Emerg Care*, 2012, 28(10):990-997.
173. Hombrouck A. et al., *Viral aetiology of influenza-like illness in Belgium during the influenza A(H1N1)2009 pandemic.* *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2012, 31(6):999-1007.
174. Watanabe A.S. et al., *Respiratory virus infections among hospitalized patients with suspected influenza A H1N1 2009 virus during the first pandemic wave in Brazil.* *Braz J Infect Dis*, 2011, 15(3):220-224.
175. Buda S., Schweiger B., Buchholz U., Köpke K., Haas W. und die AGI-Studiengruppe, *Influenza-Wochenbericht 2010 – Kalenderwoche 2 (09.01. bis 15.01.2010)*, R. Koch-Institut, Editor. 2010, 176.
176. Edwards K.M. et al., *Burden of human metapneumovirus infection in young children.* *N Engl J Med*, 2013, 368(7):633-643.
177. Williams J.V. et al., *Population-based incidence of human metapneumovirus infection among hospitalized children.* *J Infect Dis*, 2010, 201(12):1890-1898.
178. Yoshida A. et al., *Molecular epidemiology of the attachment glycoprotein (G) gene in respiratory syncytial virus in children with acute respiratory infection in Japan in 2009/2010.* *J Med Microbiol*, 2012, 61(Pt 6):820-829.
179. Zlateva K.T. et al., *Subgroup prevalence and genotype circulation patterns of human respiratory syncytial virus in Belgium during ten successive epidemic seasons.* *J Clin Microbiol*, 2007, 45(9):3022-3030.
180. Aberle J.H. et al., *Human metapneumovirus subgroup changes and seasonality during epidemics.* *Pediatr Infect Dis J*, 2010, 29(11):1016-1018.
181. Rafiefard F., Yun Z., Orvell C., *Epidemiologic characteristics and seasonal distribution of human metapneumovirus infections in five epidemic seasons in Stockholm, Sweden, 2002-2006.* *J Med Virol*, 2008, 80(9):1631-1638.

182. Regev L. et al., *Increase human metapneumovirus mediated morbidity following pandemic influenza infection*. PLoS One, 2012, 7(4):e34750.
183. Low, D.E., McGeer A., *Pandemic (H1N1) 2009: assessing the response*. CMAJ, 2010, 182(17):1874-1878.
184. Purohit V. et al., *Public health policy and experience of the 2009 H1N1 influenza pandemic in Pune, India*. Int J Health Policy Manag, 2017, 7(2):154-166.
185. Repräsentative telefonische Erhebung zur Impfung gegen die pandemische Influenza (H1N1) 2009 *Epid Bull 2010; 13: 114 – 115*, R. Koch-Institut, Editor. 2010.
186. Wichmann O. et al., *Pandemic influenza A(H1N1) 2009 breakthrough infections and estimates of vaccine effectiveness in Germany 2009-2010*. Euro Surveill, 2010, 15(18).
187. Hersh A.L., et al., *Principles of Judicious Antibiotic Prescribing for Upper Respiratory Tract Infections in Pediatrics*. Pediatrics, 2013, 132(6):1146-1154.
188. Frost H.M., Robinson C.C., Dominguez S.R., *Epidemiology and clinical presentation of parainfluenza type 4 in children: a 3-year comparative study to parainfluenza types 1-3*. J Infect Dis, 2014, 209(5):695-702.
189. Prevention, C.f.D.C.a., *Bacterial coinfections in lung tissue specimens from fatal cases of 2009 pandemic influenza A (H1N1) - United States, May-August 2009*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2009, 58(38):1071-1074.
190. Printza N. et al., *Pandemic influenza A 2009 (H1N1) vaccination in high risk children with chronic renal diseases: Acceptance and perceptions*. Hum Vaccin, 2010, 6(10).
191. Qaisy L.M. et al., *Human metapneumovirus in Jordan: prevalence and clinical symptoms in hospitalized pediatric patients and molecular virus characterization*. Diagn Microbiol Infect Dis, 2012, 74(3):288-291.
192. Manoha C. et al., *Epidemiological and clinical features of hMPV, RSV and RVs infections in young children*. J Clin Virol, 2007, 38(3):221-226.
193. Marguet C. et al., *In very young infants severity of acute bronchiolitis depends on carried viruses*. PLoS One, 2009, 4(2):e4596.
194. Friedman, M.J., Attia M.W., *Clinical predictors of influenza in children*. Arch Pediatr Adolesc Med, 2004, 158(4):391-394.
195. Monto A.S. et al., *Clinical signs and symptoms predicting influenza infection*. Arch Intern Med, 2000, 160(21):3243-3247.
196. Putto A., O. Ruuskanen, Meurman O., *Fever in respiratory virus infections*. Am J Dis Child, 1986, 140(11):1159-1163.
197. Bryant P.A. et al., *Clinical and microbiologic features associated with novel swine-origin influenza A pandemic 2009 (H1N1) virus in children: a prospective cohort study*. Pediatr Infect Dis J, 2010, 29(8):694-698.
198. Brand H.K. et al., *Infection with multiple viruses is not associated with increased disease severity in children with bronchiolitis*. Pediatr Pulmonol, 2012, 47(4):393-400.

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Die sechs Pandemie-Stufen der WHO. Quelle: https://www.who.int/csr/disease/swineflu/phase/en/ [15].....	7
Abbildung 2: Struktur und Lebenszyklus von Influenza A-Viren; HA: Hämagglutinin; NA: Neuraminidase; M1, M2: Matrixproteine; NP: Nukleokapsidprotein..... NS: Nichtstrukturelleproteine; PA, PB1, PB2: Untereinheiten der viralen RdRP Quelle: Shi et al, 2014 [27].....	9
Abbildung 3: Mechanismen für die Entstehung von pandemischen Influenza-Virusstämmen Quelle: modifiziert nach: Cheng et al, 2012 und Garten et al, 2009 [3, 18]	11
Abbildung 4: Influenza–Pandemien des 20. und 21. Jahrhunderts und die verantwortlichen Influenza-Stämme. Quelle: Kumar et al, 2018 [21].	12
Abbildung 5: Zusammensetzung der Einschlusskriterien.	35
Abbildung 6: Fragebogen zur Impfanamnese.	36
Abbildung 7: Nachweis respiratorischer Viren mittels qualitativer <i>one-step duplex-/triplex-</i> und quantitativer <i>one-step monoplex-PCR</i> Quelle:Bonzel, L., Nachweis viraler respiratorischer Infektionen mittels Polymerasekettenreaktion, 2009 [171]	40
Abbildung 8: Altersverteilung der Patienten	45
Abbildung 9: Häufigkeit der nachgewiesenen Viren (n=272).....	48
Abbildung 10: Monatliche Verteilung der prozentualen Anteile der stationären Aufnahmen von Kindern mit HMPV, RSV und Influenza-pH1N1-Viren Infizierte und mit keinem Virus Infizierte von Woche 45/2009 bis Woche17/2010 (November. - April; n=218). Insgesamt sind 41 HMPV-Positive, 87 RSV-Positive, 30 pH1N1-Positive und 54 Fälle ohne Virusnachweis dargestellt. Der Prozentsatz der positiven (oder negativen) Proben/insgesamt positiven Fälle während jeder Periode und für jedes Virus ist angegeben.	53

10 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Relevante respiratorischen Viren des Menschen Quelle: Modrow, S., D. Falke, and U. Truyen, <i>Molekulare Virologie</i> 2010: Spektrum Verlag [81].....	16
Tabelle 2: Relevante bakterielle Erreger von ARI Quelle: Eigene Darstellung in Anlehnung an McCullers 2006, Fendrick 2001 [110, 111].*häufigste Erreger	18
Tabelle 3: Ätiologie der ARI in allen Altersgruppen Quelle: Eigene Darstellung in Anlehnung an Heikkinen 2003, Mandell 2005 [97, 119].....	21
Tabelle 4: Hinweise zur Unterscheidung zwischen viraler und bakterieller Pneumonie Quelle: Ruuskannen et al, 2011 [147].....	29
Tabelle 5: Liste der erhobenen Daten.	37
Tabelle 6: Thermalprotokoll der RT-PCR Quelle: Bonzel, L., Nachweis Viraler Respiratorischer Infektionen Mittels Polymerasekettenreaktion, 2009 [171]	39
Tabelle 7: Klinische Merkmale des Studien-Patientenkollektivs	42
Tabelle 8: Klinische Daten von Kindern mit HMPV-, RSV- und pH1N1-Monoinfektion oder Monoinfektion mit anderen viralen Pathogenen, Koinfektionen, oder auch ohne Virusnachweis.	44
Tabelle 9: Verteilung von viralen Erregern, die bei Kindern mit Anzeichen und Symptomen einer akuten respiratorischen Infektion im Zeitraum von November 2009 - April 2010 nachgewiesen wurden.....	49
Tabelle 10: Radiologische Befunde und nachgewiesene Viren	50

11 Abkürzungsverzeichnis

AAP	<i>American Academy of Pediatrics</i>
Ag	Antigen
Ak	Antikörper
APCs	Antigen-präsentierende Zellen (<i>Antigen-Presenting Cell</i>)
ARI	<i>Acute Respiratory Tract Infection</i>
CD	<i>Cluster of Differentiation</i>
CRP	C-reaktive Protein
DCs	Dendritische Zellen
DFA	<i>Direct Fluorescent Antibody Testing</i>
GCP	<i>Good Clinical Practice</i>
HA	Hämagglutinin
HMPV	Humane Metapneumovirus
HPAI	Hochpathogene Aviäre Influenza (<i>Highly pathogenic avian influenza</i>)
IAV	Influenza A Viren
IBV	Influenza B Viren
IFNs	Interferonen
IL	Interleukin
ILI	<i>Influenza-Like Illness</i>
ISGs	Interferon-stimulierten Genen
KI	Konfidenzintervall
LOS	Dauer des stationären Aufenthaltes, <i>length of Stay</i>
LRT	Untere Atemwege (<i>Lower Respiratory Tract</i>)
LRTI	Infektionender unteren Atemwege (<i>Lower Respiratory Tract Infection</i>)
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
NA	Neuraminidase
NAAT	Nukleinsäureamplifikationstechnologie (<i>Nucleic Acid Amplification Test</i>)
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
NO	Stickstoffmonoxid
NP	Nukleokapsidprotein
NS	Nichtstrukturelleproteine

URT	Obere Respirationstrakt (Upper Respiratory Tract)
URTI	Infektionen der oberen Atemwege (<i>Upper Respiratory Tract Infection</i>)
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
PCT	Procalcitonin
pH1N1	Pandemisches Influenzavirus
PICU	Pädiatrische Intensivstation (<i>Pediatric Intensive Care Unit</i>)
PIV	Parainfluenza Viren
PRRs	Mustererkennungsrezeptoren (<i>Pattern Recognition Receptors</i>)
RADT	<i>Rapid Antigen Direct Test</i>
RSV	<i>Respiratory Syncytial Virus</i>
SA	Sialinsäure (<i>Sialic Acid</i>)
SLPI	Sekretorische Leukozytenproteinaseinhibitor
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
vRNPs	Viralen Ribonukleoproteinen
vs.	gegen, <i>versus</i>
WHO	Weltgesundheitsorganisation (<i>World Health Organization</i>)

12 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mir mein Studium und die Erstellung dieser Dissertation ermöglicht haben.

Mein Dank gilt Herrn Univ.-Prof. Dr. med. E. Mayatepek als Direktor der Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Neonatologie und Kinderkardiologie für die Möglichkeit zur Durchführung meiner Dissertation, für die Gespräche und die hilfreichen Anregungen während dieser Zeit.

Herrn Dr. med. M. Vogel möchte ich für die ausgezeichnete Betreuung, Anleitung und freundliche Unterstützung während der Erstellung der Arbeit danken.

Herrn Prof. Dr. med. O. Adams danke ich für die hervorragende Unterstützung und für die gute Zusammenarbeit bei der Datenerhebung.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, meinen Schwiegereltern und meinen Kindern, die mich immer unterstützt haben.

Ein großer Dank auch an meinen engsten Freunden für Ihre Unterstützung.

Ich danke meiner Frau aus tiefstem Herzen, für Ihre Ermutigung, für die wertvollen Hinweise und Ratschläge, für Ihr Verständnis, Geduld und Ihre Liebe.

Schließlich möchte ich den Familien danken, die sich bereit erklärt haben an der Studie teilzunehmen und diese Arbeit ermöglicht haben.