

Aus der Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin

(Leiter: Prof. Dr. med. T. Löscher)

Medizinische Klinik und Poliklinik IV
der Ludwig-Maximilians-Universität München

(Direktor: Prof. Dr. med. M. Reincke)

**Klinik und Immundiagnostik importierter Denguefieber-
Erkrankungen und der Einfluss von Flavivirus-Impfungen**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Christophe Valentiny

aus Luxemburg

- 2012 -

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Hans Dieter Nothdurft

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Josef Eberle

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 03.05.2012

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung:	Seite 7
1.1. Geschichte der Dengue-Virus-Infektion	Seite 7
1.2. Andere Flaviviren	Seite 7
1.2.1. Gelbfieber	
1.2.2. FSME	
1.2.3. Japanische Enzephalitis	
1.2.4. West Nile Virus	
1.2.5. St. Louis Enzephalitis	
1.3. Epidemiologie, Klinische Manifestationen, Diagnose und Therapie der Dengue-Virus-Infektion	Seite 9
1.3.1. Der Vektor	
1.3.2. Der Zyklus	
1.3.3. Epidemiologie	
1.3.4. Klinische Manifestationen	
1.3.4.1. Klassisches Denguefieber	
1.3.4.2. Hämorrhagisches Denguefieber und Dengue-Schock Syndrom	
1.3.5. Diagnose	
1.3.6. Therapie und Prävention	
1.4. Pathogenese der Dengue-Virus-Infektion und Bedeutung der Antikörper	Seite 14
2. Problemstellung und Zielsetzung	Seite 16
3. Patienten und Methoden	Seite 18
3.1. Patienten	
3.2. Methoden	
3.2.1. Untersuchungsablauf	
3.2.2. ELISA	
3.2.3. Statistische Verfahren	

4. Ergebnisse	Seite 21
4.1. Patienten	Seite 21
4.2. Reiseland und Reisedauer	Seite 21
4.2.1. Weitere Reisen in Dengue-Virus endemische Länder	
4.2.2. Verteilung je nach travel group (tg.):	
4.2.3. Verteilung je nach Reisescore (Rsc.)	
4.3. Zeitspanne zwischen Symptombeginn und Vorstellung in der Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin	Seite 22
4.3.1. Zeitspanne zwischen Symptombeginn und Erstvorstellung	
4.3.2. Zeitspanne zwischen Symptombeginn und Zweitvorstellung	
4.4. Impfstatus	Seite 23
4.4.1. Impfscore	
4.4.2. Gelbfieber-Impfung	
4.4.3. Japanische Enzephalitis-Impfung	
4.4.4. FSME-Impfung	
4.4.5. Einfluss des Geschlechts auf das Impfverhalten	
4.4.6. Einfluss des Reisestatus auf das Impfverhalten	
4.5. Symptomatik	Seite 25
4.5.1. Dauer der Symptome	Seite 26
4.5.2. Einfluss von Flavivirus-Impfungen auf Art und Dauer diverser Beschwerden	Seite 27
4.5.3. Genauere Symptombeschreibung und -Analyse	Seite 30
4.5.3.1. Leistungsminderung	
4.5.3.2. Gastroenterologische Beschwerden	
4.5.3.3. Dermatologische Beschwerden	
4.5.3.4. Psychologische Beschwerden	
4.5.3.5. Neurologische Beschwerden	
4.5.3.6. Gelenkbeschwerden	
4.5.3.7. Sonstige Beschwerden	
4.5.4. Verlauf und Persistenz der chronischen Beschwerden	Seite 37
4.6. Verlauf der Dengue-Antikörper	Seite 38
4.6.1. Serologie bei Erstvorstellung (V1)	Seite 38
4.6.1.1. Überblick	Seite 38

4.6.1.2. Einflussfaktoren auf IgG-Antikörper-Status bei Erstvorstellung (V1)	Seite 38
4.6.1.2.1. Zeitpunkt der Vorstellung	
4.6.1.2.2. Einfluss vorhergehender Flavivirus-Impfungen	
4.6.1.2.3. Einfluss vorheriger Reisen	
4.6.1.2.4. Weitere mögliche Einflussfaktoren	
4.6.1.2.5. Multiple Logistische Regression	
4.6.1.3. Einflussfaktoren auf IgM-Antikörper-Status bei Erstvorstellung	Seite 42
4.6.1.3.1. Zeitspanne zwischen Symptombeginn und Probenentnahme	
4.6.1.3.2. Vorherige Flavivirus-Impfungen (Impfscore)	
4.6.1.3.3. Vorherige Reisen	
4.6.1.3.4. Multifaktorielle Analyse	
4.6.2. Serologie bei Zweitvorstellung (P1)	Seite 47
4.6.2.1. Einflussfaktoren auf IgG-Antikörper-Status bei Zweitvorstellung	
4.6.2.1.1. Zeitspanne zwischen Symptombeginn und Zweitvorstellung (S-P1)	
4.6.2.1.2. Einfluss anderer Flavivirus-Impfungen (Impfscore P1)	
4.6.2.1.3. Flavivirus-Impfungen zwischen V1 und P1	
4.6.2.1.4. Andere Tropenreisen und weitere Einflussfaktoren	
4.6.2.1.5. Multifaktorielle Analyse	
4.6.2.2. Einflussfaktoren auf IgM-Antikörper-Status bei Zweitvorstellung	Seite 49
4.6.2.2.1. Zeitspanne zwischen Symptombeginn und Zweitvorstellung (S-P1)	
4.6.2.2.2. Andere Flavivirus-Impfungen	
4.6.2.2.3. Multifaktorielle Analyse	

5. Diskussion Seite 53

5.1. Diskussion der Methodik

5.1.1. Diskussion: Einschlusskriterien

5.1.2. Diskussion: Dengue-ELISA Seite 55

5.2. Patienten / Inzidenz / Reiseland Seite 57

5.3. Verlauf der Dengue-Antikörper Seite 58

5.4. Kreuzreaktionen mit anderen Flavivirus-Antikörpern
Seite 61

5.5. Symptome des Denguefiebers	Seite 64
5.5.1. Überblick der Beschwerden	
5.5.2. Symptombdauer	Seite 67
5.5.3. Diskussion einzelner Symptome	Seite 67
5.5.4. Leistungsminderung	Seite 70
5.5.5. chronische Beschwerden	Seite 72
5.5.6. Einfluss von Flavivirus-Impfungen auf Symptome	Seite 73
6. Schlussfolgerung	Seite 76
7. Zusammenfassung	Seite 77
8. Abkürzungen und Begriffserklärungen	Seite 81
8.1. Abkürzungen	
8.2. Begriffserklärungen	Seite 82
9. Literatur	Seite 85
10. Lebenslauf	Seite 90
11. Anhang	Seite 91
11.1. Fragebogen	
11.2. Briefe	Seite 93
12. Danksagung	Seite 94

1. Einleitung

1.1. Geschichte der Dengue-Virus-Infektion

Vielen Menschen ist heutzutage das Denguefieber (DF) als eine in tropischen Ländern verbreitete Infektion bekannt. Die erste schriftliche Erwähnung des Denguefiebers in der westlichen Welt, eine Beschreibung auf Englisch als „break bone fever“, war die Beschreibung einer Epidemie in Philadelphia im Jahre 1780. Ausbrüche waren in den USA noch bis in den ersten Jahrzehnten des letzten Jahrhunderts häufig, der letzte große 1934 in Florida und New Orleans 1945. Beschreibungen von komplizierten Verläufen des Denguefiebers (Hämorrhagien, Schock, Todesfälle) kamen 1897 aus Australien, aber auch aus Europa (1928 aus Griechenland und 1931 aus Formosa). 1903 konnte nachgewiesen werden, dass Denguefieber durch Stechmücken der Gattung *Aedes aegypti* übertragen wird. 1906 wurde die virale Ätiologie bewiesen. Sabin konnte 1946 nachweisen, dass 2 virale Stämme keine anhaltende Kreuzprotektion beim Menschen hervorrufen, und konnte somit die Existenz von verschiedenen Serotypen beweisen. 1956 entdeckte Hammond zwei weitere Serotypen des Dengue-Virus.

Nach dem zweiten Weltkrieg begann in Südostasien eine Pandemie mit intensivierter Übertragung von multiplen Serotypen, was zu Ausbrüchen von Dengue Hämorrhagischem Fieber (DHF) und Dengue-Schock-Syndrom (DSS) führte. In den letzten 25 Jahren zeigte sich ein ähnliches Muster an intensivierter viraler Transmission und steigender DHF-Inzidenz in Südwestasien, Lateinamerika, der Karibik und Ozeanien, noch gesteigert durch hohe Urbanisationsraten, Bevölkerungswachstum und Zunahme der Mobilität [1].

1.2. Andere Flaviviren

Das Dengue-Virus gehört zu den Flaviviren. Die Flaviviridae sind behüllte Viren, mit einsträngiger RNA und einer Größe von 40–60nm. Der Name stammt, historisch gesehen, vom wichtigsten Vertreter dieser Gruppe, dem Gelbfieber-Virus (von lat. flavus = gelb). Zur Familie der Flaviviridae zählen die Gattungen Flavivirus, Pestivirus und Hepacivirus.

Alle Viren der Gattung Flavivirus sind serologisch miteinander verwandt. Die Lipidhülle ist dicht mit je 180 Kopien der M- (für Membran) und E-Glykoproteine (envelope) bedeckt. Die positive RNA (11 Kilobasen) beinhaltet einen 10-Kilobase Code für ein einziges „polyprotein precursor“-Protein.

Das E-Protein erfüllt wichtige biologische Funktionen, z.B. die Adhäsion des Virus an die Zellen, die endosomale Fusion sowie die Präsentation von Abschnitten, welche eine Rolle bei der Hämagglutination und der viralen Neutralisation spielen.

Neben dem M-Protein, dessen precursor preM- sowie dem E-Protein gibt es 7 Nichtsstruktur-Proteine, welche Funktionen im Replikationsprozess übernehmen: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5. Flaviviren können sich in einer Vielzahl von Insekten-, Zecken- und Vertebratenzellen vermehren. Durch Kreuzneutralisationstests kann man die Gattung Flavivirus in 8 Antigengruppen einteilen. Hierzu gehören die Japanische-Enzephalitis-Virus-Gruppe (JE, StLE, WNV, MVEV), die Dengue-

Virus-Gruppe (DENV1-DENV4), die Gelbfieber-Virus-Gruppe sowie die Gruppe der durch Zecken übertragenen Flaviviren (FSME, RSSE, louping ill, Powassan, Kyasanur Forest disease, Omsk HFV).

Es gibt mehrere Dutzend verschiedene vorwiegend über Insekten und Zecken übertragene Viren (Arboviren) des Genus Flavivirus (zoonotische Flaviviren), von denen 30 erwiesenermaßen humanpathogen sind [1]. Die wichtigsten davon sind: Gelbfieber, Frühsommer-Meningoenzephalitis, Japanische Enzephalitis, West Nile Virus und St. Louis Enzephalitis, die im Einzelnen kurz vorgestellt werden.

1.2.1. Gelbfieber

Obwohl afrikanischen Ursprungs wurde die Gelbfieber-Erkrankung zunächst in der so genannten neuen Welt, nach einem Ausbruch in New York 1648, beschrieben. 1878 führte eine Epidemie im Mississippi Valley zu circa 100.000 Fällen und verursachte Kosten in Höhe des gesamten Jahresbudgets der Vereinigten Staaten. 1793 starben circa 10% der Bevölkerung von Philadelphia während einer Epidemie. Aber auch 1905 gab es in St. Louis noch Hunderte Todesfälle. Die Übertragung durch Mücken wurde erst 1881 durch den kubanischen Arzt Finlay nachgewiesen, das Virus selbst 1928 isoliert. Die Entwicklung eines Impfstoffes in den 1930er Jahren brachte Theiler den Nobelpreis [1].

In Südamerika traten in den letzten 25 Jahren durchschnittlich 100 Meldetfälle jährlich auf. In Afrika werden einige Tausend Fälle jährlich gemeldet, obwohl einige Experten die wahre Anzahl der Betroffenen auf bis zu 50-mal höher einschätzen (WHO-Schätzungen: Jährlich circa 200.000 Fälle und 30.000 Todesfälle [86]).

Die „attack rate“, also die Anfallsrate während Epidemien, kann bis zu 30 von 1000 betragen, die Letalität 20-50%.

1.2.2. Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME)

Obwohl eine Virusisolierung erst 1948 gelang, gibt es seit den frühen 30er Jahren in Österreich die Beschreibungen einer Krankheit, welche mit FSME kompatibel ist. Ähnliche Fälle wurden zum gleichen Zeitpunkt im östlichen Russland beschrieben und Russian Spring-Summer Encephalitis (RSSE) genannt. Das für diese Erkrankung verantwortliche Virus konnte bereits 1937 aus Patientenblut und dem Vektor isoliert werden. Mittlerweile weiß man, dass drei eng verwandte Subtypen des FSME-Virus existieren. Die Inzidenz von FSME variiert je nach geographischer Lage, Jahreszeit und Impfstatus der Bevölkerung [1]. In Deutschland, wo sich das FSME-Risikogebiet stetig vergrößert, erkranken jährlich einige Hundert Menschen an FSME. Obwohl die Erkrankung in der Mehrzahl der Fälle milde verläuft, kann es zu komplizierten Verläufen mit Todesfällen oder bleibenden neurologischen Schädigungen kommen.

1.2.3. Japanische Enzephalitis

Dieses nur in Asien vorkommende Virus wurde erstmals 1934 in Japan isoliert und die Übertragung durch Mücken 4 Jahre später nachgewiesen. Das wichtigste Erregerreservoir bilden Schweine und wildlebende Vögel. Die seit den 60er Jahren in vielen Ländern durchgeführte Impfung führte dort zu

einem deutlichen Rückgang der Inzidenz. In Ländern ohne entsprechende Impfpraktiken allerdings kam es zu einem Anstieg der Inzidenz; derzeit geht man von 125.000 Fällen pro Jahr aus. Die Letalität beträgt circa 25%. Bei 45% der Überlebenden bleiben neurologische Ausfälle zurück [1].

1.2.4. West Nile Virus

Seit dem letzten Jahrzehnt des vergangenen Jahrtausends hat sich die Epidemiologie des 1937 erstmalig von einer Fieberpatientin aus der westlichen Nilregion in Uganda isolierten WNV geändert. So kommt es häufiger zu Ausbrüchen in Südeuropa, Russland und dem Mittleren Osten sowie seit kurzem zu einer Ausbreitung über den gesamten nordamerikanischen Kontinent. Diese Ausbrüche gehen mit einer gesteigerten Morbidität und Mortalität einher. Bei der Verbreitung spielen Zugvögel eine zentrale Rolle. Rezente Ausbrüche gab es z.B. in Rumänien im Jahr 1996 (393 Fälle mit 17 Todesfällen) und in Israel im Jahr 2000 (233 Fällen, davon 33 mit letalem Ausgang). In den USA hatten im Jahr 2002 4.156 Personen eine nachgewiesene Infektion, woran 264 verstarben. In einigen Gegenden kündigten sich Ausbrüche durch tot vom Himmel stürzende Vögel an [1]. Ähnliches passierte vor über 2000 Jahren, kurz nachdem Alexander der Große Babylon betrat: Eine Gruppe Raben zeigte ein ungewöhnliches Verhalten, um kurz darauf vor seinen Füßen zu versterben. Somit könnte der Tod von Alexander dem Großen, der wenig später nach 2-wöchiger fieberhafter Erkrankung verstarb, durchaus auf eine WNV-Infektion zurückzuführen sein [2].

Eine Untersuchung in Sevilla und Umland, in einer Gegend mit zahlreichen Feuchtgebieten und Zugvogelpopulationen, ergab eine Seroprävalenz von circa 1%. Bei nur 3 konnten jedoch neutralisierende Antikörper nachgewiesen werden (0,6%). Bernabeu-Witte et al. hatten zuvor Prävalenzen in Spanien von bis zu 8% gemeldet, allerdings verwendeten sie weniger spezifische Untersuchungen. In anderen endemischen Regionen wurden sogar Seroprävalenzen von 15% berichtet [3].

1.2.5. St. Louis Enzephalitis

1933 kam es in der Umgebung von St. Louis, Missouri, zu einer Enzephalitis-Epidemie unbekannter Ätiologie, mit über 1000 Fällen. Das im Rahmen dieser Epidemie erstmals isolierte Virus war bis zum Auftauchen des WNV die wichtigste epidemische virale Enzephalitis in den USA. Die meistens inapparent verlaufende Erkrankung kann bei wenigen Prozent der Infizierten zu einer Meningitis oder Enzephalitis führen, deren Letalität bis zu 20 % betragen kann [1].

1.3. Epidemiologie, klinische Manifestationen, Diagnose und Therapie der Dengue-Virus-Infektion

1.3.1. Der Vektor

Stegomyia aegypti (früher: *Aedes aegypti*) ist der Hauptvektor, auch wenn *Aedes albopictus*, *Aedes polynesiensis* und andere Spezies unter gewissen Umständen das Dengue-Virus übertragen können. *Stegomyia aegypti* ist sehr gut an das Leben in und um menschliche Behausungen angepasst. Die Mücke legt ihre Eier in unbedeckten Wasseransammlungen ab und ist hierbei nicht wählerisch: Vasen,

Autoreifen, Dosen, Kokosnussschalen oder andere weggeworfene Objekte, in denen sich ein wenig Wasser sammelt, erfüllen ihren Zweck ebenso wie originäre Trinkwasserbehälter, Pfützen oder Tümpel. Die Mücke sucht ihre Blutmahlzeit bevorzugt in den Behausungen und dies mehrmals pro Tag (v.a. in den Morgenstunden und Spätnachmittags).

In den 50- und 60er Jahren des letzten Jahrhunderts konnten viele lateinamerikanische Länder *Stegomyia aegypti*, als Folge der durch die Panamerican Health Organization koordinierten Gelbfieberbekämpfung, nahezu vollständig eradizieren. Nachdem dieses Programm in den 1970er Jahren beendet wurde, konnten die Mücken ein bemerkenswertes Comeback starten und mehr als nur verlorenes Terrain wiedererobern [4].

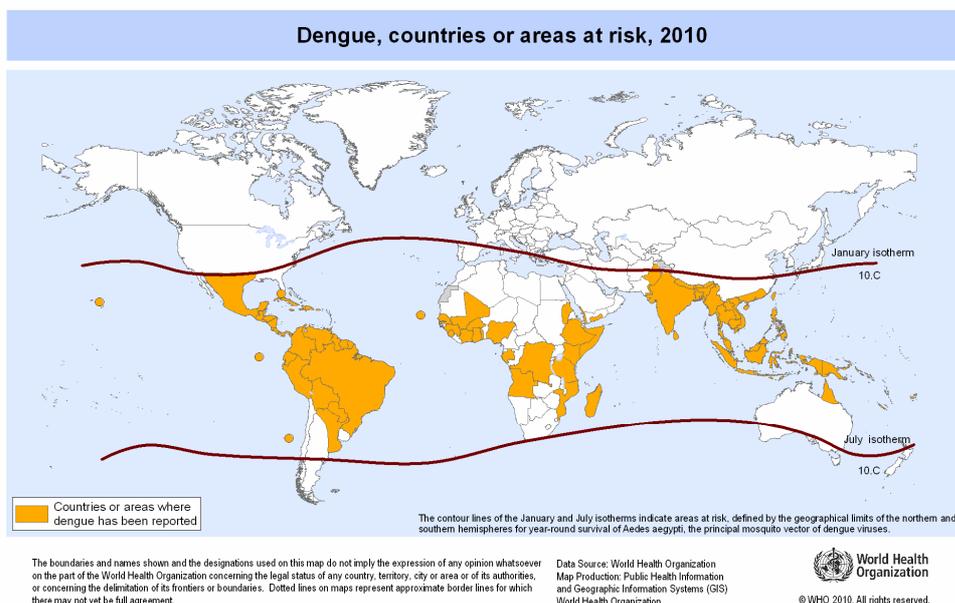
1.3.2. Der Zyklus

Die Übertragung erfolgt fast ausschließlich im Rahmen eines vorwiegend urbanen Zyklus zwischen *Stegomyia aegypti* und dem Menschen. Im Gegensatz zu anderen Flaviviren spielt beim Dengue-Virus der sylvatische Zyklus zwischen nichtmenschlichen Primaten und Mücken des Genus *Stegomyia (Aedes)* keine epidemiologisch relevante Rolle.

Nach Aufnahme von infiziertem Blut durch die weibliche Mücke vermehrt sich das Virus in der so genannten extrinsischen Inkubationsperiode binnen eines obligatorischen Zeitraumes von 10 bis 12 Tagen. Erst nach dieser Replikation kann das Virus während einer weiteren Blutmahlzeit übertragen werden. Danach vermehrt sich das Virus zunächst in lokalen Lymphknoten und disseminiert innerhalb 2-3 Tagen über das Blut- und Lymphsystem verschiedene Organe. Die Replikation findet auch in der Haut, der Milz und in Makrophagen statt. Im Blut bleiben die Viren in der Regel 5 Tage nachweisbar, vorwiegend in Monozyten, Makrophagen sowie B- und T-Zellen [1].

1.3.3. Epidemiologie

Graphik 1: Dengue-Virus-Endemiegebiete



(Quelle WHO)

Mehr als die Hälfte der Weltbevölkerung lebt in Gebieten, in denen das Dengue-Virus übertragen werden kann (siehe Karte). Jedes Jahr kommt es zu geschätzten 50-100 Millionen Erkrankungen mit circa 250.000 bis 500.000 komplizierten Verläufen (Dengue Hämorrhagisches Fieber (DHF) und Dengue Schock Syndrom (DSS)). Die Zahl der tödlichen Verläufe wird auf 25.000 bis 50.000 geschätzt. Nachdem die erste Epidemie mit DHF 1953 in Manila stattfand, war das Auftreten dieser Komplikation zunächst auf Südostasien beschränkt. In den 80. und 90er Jahren des letzten Jahrhunderts kam es dann jedoch zu einer Ausbreitung auf andere asiatische Länder. Seit 1997 traten kleine und größere Epidemien der komplizierten Verläufe jedoch auch auf dem amerikanischen Kontinent auf.

Inzidenz und Prävalenz unterliegen starken regionalen und saisonalen Schwankungen. Bei einer prospektiven Studie über Kindern im Alter von 4 bis 9 Jahren in Yogyakarta, Indonesien, lag die Prävalenz von Dengue-Antikörpern bei 56%. Bei den 4-Jährigen waren es bereits 37%. Die Infektionsrate lag in der Beobachtungszeit von 12 Monaten bei 29% (circa 2,5% pro Monat) und das in einer partiell immunen Population [5]. Das Ziel dieser Studie war, Mechanismen zu identifizieren, welche zu einem komplizierten Verlauf führen. Der Studienort Yogyakarta wurde nicht zuletzt gerade wegen seiner seit Jahrzehnten hohen Inzidenzen an DHF und DSS ausgewählt. Somit ist die Prävalenz und Inzidenz in anderen Teilen Indonesiens und Asiens sicherlich als geringer einzustufen.

In einer über 3 Jahre prospektiv untersuchten Kohorte von über 2119 Kindern in Thailand war die Inzidenz von inapparenten Dengue-Virus-Infektionen 4,3%, 3,2% und 1,2% pro Beobachtungsjahr. Apparente Infektionen traten bei 3,6%, 3,3% bzw. 0,8% der Kindern jährlich auf [6]. In Thailand stieg die Inzidenz von 9 von 100.000 gemeldeten Denguefieber-Fällen pro Jahr im Jahre 1958 auf 189 von 100.000 im Jahr 1998. Bei einer Epidemie 1987 waren es 325 von 100.000 [7].

Die genaue Einschätzung der Inzidenz der Dengue-Erkrankung bei Reisenden ist schwierig. Laut Daten vom GeoSentinel Network liegt die Serokonversionsrate bei Reisenden in Südostasien bei 200 von 100.000. Denguefieber ist mittlerweile in allen tropischen Regionen, Schwarzafrika ausgenommen, häufiger Ursache von fieberhaften Erkrankungen als Malaria [8].

Von insgesamt 20.000 in Haiti im Jahr 1994 stationierten amerikanischen Soldaten litten 101 in den ersten 6 Wochen an Fieber: Bei 30 wurde eine Dengue-Virus-Infektion festgestellt. Die Autoren schätzten die Inzidenz auf 1 von 1000 Tropenreisenden pro Monat [9].

Bei einer in Frankfurt durchgeführten Studie wurden 149 Tropenrückkehrer mit unterschiedlichen Antikörpersuchtests (antibody assays) untersucht. Bei 8,7 bis 19,5% konnte Dengue-IgG-Antikörper nachgewiesen werden. Die Autoren gehen davon aus dass Dengue-Virus-Infektionen bei Reisenden häufig übersehen werden [10].

In einer englischen Studie hingegen wurde eine Dengue-Virus-Infektion nur bei 16 von 250 hospitalisierten Tropenrückkehrern nachgewiesen (6,4%). 10 von diesen 16 waren in Asien gereist

[11]. Da von den 16 Patienten 2 DHF und 1 DSS hatten, wurde von einer hohen Zweitinfektionsrate der untersuchten Patienten ausgegangen (a.e. sogenannte „visiting friends and families“).

Wenn das Virus in eine empfängliche Population eingeführt wird, dann kann die Anfallsrate 50-70% erreichen [1].

Zusammenfassend hängt das Risiko einer Dengue-Virus-Infektion neben individuellen Schutzmaßnahmen stark von Reiseziel und der Reisesaison bzw. -dauer ab.

1.3.4. Klinische Manifestationen

1.3.4.1. Klassisches Denguefieber

Das Denguefieber verläuft häufig asymptomatisch. Die Symptome einer klassischen Dengue-Virus-Infektion treten nach einer Inkubationszeit von 4 bis 7 Tagen (3 bis 14 Tage) auf. Die häufigsten Beschwerden sind Fieber, Kopfschmerzen, muskuloskelettale Schmerzen und Hautausschlag. Appetitlosigkeit, Übelkeit, Erbrechen, Hyperästhesie und Dysgeusie sind weitere häufige Beschwerden. Jedoch sind auch völlig unspezifische Verläufe mit Fieber, Unwohlsein, Halsschmerzen oder Durchfall möglich. Dabei sind die Schwere der Symptome und die klinischen Manifestationen auch altersabhängig. Kinder und ältere Menschen zeigen die schwereren Verläufe. Nach den akuten Beschwerden können leichte Ermüdbarkeit, Antriebslosigkeit, und depressive Episoden während Monaten persistieren.

Leichte Schleimhautblutungen treten häufig auf, verlaufen in aller Regel jedoch unproblematisch und müssen von den komplizierten Formen DHF/DSS unterschieden werden.

Eine Begleithepatitis tritt bei circa 10% auf. Weitere atypische und zum Teil fulminant verlaufende Symptome, wie Myokarditis oder Enzephalitis, sind deutlich seltener [1].

1.3.4.2. Hämorrhagisches Dengue und Dengue-Schock Syndrom

Die bei einer Dengue-Virus-Infektion entstehende Immunreaktion führt zu einer wenige Monate andauernden Kreuzimmunität gegen alle 4 Serotypen. Im weiteren Verlauf besteht jedoch ein lebenslanger Schutz nur gegen den für die Infektion verantwortlichen Serotyp. Kreuzreagierende, aber nicht neutralisierende Antikörper, können bei einer späteren Infektion mit einem anderen Serotypen über einen noch nicht geklärten Mechanismus zu einer erhöhten Anzahl von infizierten Zellen und somit einer überschießenden Immunantwort führen [12]. Diese kann 2 bis 7 Tage nach Entfieberung durch eine erhöhte vaskuläre Permeabilität zu Blutungen und zum hypovolämischen Schock führen [12]. Hierbei sind die Initialen klinischen Symptome nicht von denen bei unkomplizierten Verläufen zu unterscheiden. Die Letalität liegt in Gegenden mit mangelnder medizinischer Versorgung bei bis zu 50%, bei guter medizinischen Versorgung sterben jedoch weniger als 1% der Infizierten [1].

Das DHF wird definiert als akuter fieberhafter Infekt mit kleinen oder großen Blutungen, einer Thrombozytopenie ($<100.000/\mu\text{l}$) und dem Nachweis einer erhöhten Durchlässigkeit der Blutgefäßwände, dem so genannten „plasma leakage“, dokumentiert durch Hämokonzentration,

Pleura- oder anderen Ergüssen, Hypoalbuminämie oder Hypoproteinämie. Dieser intravasale Flüssigkeitsverlust entsteht durch Lücken im Endothelium ohne mikroskopisch nachweisbare Nekrosen oder Entzündung. Über 50% der Patienten zeigen Petechien, leichte Verletzlichkeit der Haut, subkutane Blutungen an Venenpunktionsstellen sowie einen positiven Tourniquet-Test. Dieser gilt als positiv wenn mehr als 10 Petechien am Oberarm nachweisbar sind, nachdem eine Blutdruckmanschette während 5 Minuten auf einen Druck zwischen diastolischem und systolischem Blutdruck aufgeblasen wurde.

Ein DHF ist ein Warnzeichen für ein möglicherweise bevorstehendes DSS, welches meistens 3 bis 7 Tage nach akutem Beginn der Dengue-Virus-Infektion, also mit Entfieberung, eintritt. Fallende Thrombozytenzahl sowie steigender Hämatokrit sind ernstzunehmende Warnsignale. Klinisch kündigt sich der Schock oftmals durch starke Bauchschmerzen, Erbrechen, Nervosität oder Lethargie sowie plötzliches Absinken der Körpertemperatur bei gleichzeitig vermehrter Transpiration an.

Die Mortalität eines DHF bei Behandlung in einem Krankenhaus, welches in der Betreuung von DHF-Patienten Erfahrung hat, beträgt 0,2%. Sie steigt bei schon eingetretenem DSS auf 12 bis 44%.

Die wichtigsten Risikofaktoren für einen schweren Verlauf sind Einfuhr eines neuen Serotypens in eine Population bei bereits vorbestehender Immunität gegen andere Serotypen. Mangelernährung und afrikanische Herkunft scheinen hingegen protektiv zu wirken [4].

1.3.5. Diagnose

Ein direkter Virusnachweis kann in den ersten 5 Tagen nach Beginn der Beschwerden gelingen. Dafür gibt es fünf verschiedene Möglichkeiten:

1. Die intrazerebrale Inokulation bei Mäusen sollte wegen niedriger Sensitivität, hohen Kosten und langem Zeitraum bis zur Isolierung nicht mehr angewendet werden.
2. Die Kultivierung auf Säugetierzellen (mammalian cell culture) hat die gleichen Nachteile wie die intrazerebrale Inokulation.
3. Die am seltensten angewandte, aber sensitivste Methode ist die Inokulation in Mücken. Hierbei vermehrt sich das Dengue-Virus innerhalb 4 bis 5 Tage stark (10⁶ bis 10⁷ MID₅₀). In der Regel wird das Virus dann mit IFA-Technik (indirekter Immunfluoreszenz Assay) in Mückengewebe, meistens in der Speicheldrüse oder im Gehirn, nachgewiesen. Allerdings ist diese Technik sehr aufwendig.
4. Die neueste Methode ist die Zellkultur auf Mückenzellen. Am häufigsten wird hierbei die C6/C3 Zelllinie von *Aedes albopictus* verwendet. Obwohl nicht ganz so sensitiv wie die kompliziert durchzuführende Mückeninokulation, ist diese Methode mittlerweile zur Standardmethode des direkten Virusnachweises geworden [13].
5. Immer häufiger angewandt wird auch die Polymerase-Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction = PCR), die einen schnelleren Virusnachweis ermöglicht. Allerdings ist auch diese Methode teuer und nicht flächendeckend und routinemäßig anwendbar.

Die serologische Diagnose ist kostengünstiger und einfacher durchführbar. Sie wird allerdings dadurch erschwert, dass alle Flaviviren über Antigene verfügen, welche bei serologischen Tests zu Kreuzreaktionen führen können. Des Weiteren sind Antikörper in den ersten Tagen normalerweise nicht nachweisbar. Die Standardmethode zum Nachweis von IgM (in der Regel circa 3 Monate lang nachweisbar) und IgG (viele Jahre nachweisbar) ist mittlerweile der ELISA. Vor allem bei Personen

welche längere Zeit in Dengue-Virus-Endemiegebieten gelebt haben oder aber solchen, welche andere Flavivirus-Infektionen durchgemacht bzw. Flavivirus-Impfungen erhalten haben, sollten 2 Serumproben im Abstand von 2 Wochen gewonnen werden, um die Diagnose zu bestätigen. Üblicherweise spricht man bei einer einmaligen Untersuchung in der Rekonvaleszenzphase im Falle eines positiven IgM-ELISA von einer „wahrscheinlichen“ Infektion. Eine gesicherte Infektion liegt vor, wenn das Virus isoliert in Autopsiematerial nachgewiesen oder ein vierfacher Titeranstieg mit einem Typ-spezifischen PRNT (Neutralisationstest) nachgewiesen wurde [4]. Bei europäischen Reiserückkehrern gelingt diese Diagnosesicherung selten, da sich genesene Patienten oftmals nur einmal vorstellen sowie der Neutralisationstest recht aufwändig ist und nicht standardmäßig durchgeführt wird.

1.3.6. Therapie und Prävention

Die Behandlung einer Dengue-Virus-Infektion ist im Wesentlichen rein symptomatisch. Bei unkomplizierten Verläufen besteht sie aus Bettruhe, ausreichender Flüssigkeitszufuhr und gegebenenfalls fiebersenkenden Maßnahmen. Hierbei sollte Paracetamol dem Aspirin aufgrund dessen Thrombozytenfunktionsbeeinträchtigung, vorgezogen werden. Steroide helfen nicht. Das Wichtigste bei der Behandlung eines Denguefieber-Patienten ist, die Zeichen eines sich anbahnenden DHF oder DSS früh zu erkennen und dem intravasalen Flüssigkeitsverlust entgegenzuwirken, gegebenenfalls mit intravenösen Flüssigkeitsgaben [4].

Zur Prävention stehen derzeit nur Maßnahmen zum Mückenschutz und zur Vektorbekämpfung zur Verfügung. Seit 30 Jahren werden verschiedene Impfstoffkandidaten entwickelt. Obwohl einige bereits in klinischer Erprobung sind, ist derzeit noch keine allgemein zugängliche Impfung verfügbar. Die Tatsache, dass es „enhancing antibodies“, also die Krankheit verstärkende Antikörper nach durchgemachter Infektion gibt, sowie eine hohe T-Zell-Aktivierung während einer sekundären Infektion, was zu den komplizierten Verläufen DHF und DSS führen kann, erschwert die Entwicklung eines Impfstoffes. Ein spezielles Problem ist hierbei das potenzielle Risiko, dass ein Impfstoff das Immunsystem zur Produktion der falschen, nicht-neutralisierenden, sondern die Krankheit verstärkenden Antikörpern führen könnte, und so die Inzidenz von DHF/DSS erhöht anstatt gesenkt werden könnte.

1.4. Pathogenese von DHF/DSS und Bedeutung der Antikörper

Alle 4 Dengue-Serotypen können bei Infektion zu komplizierten Denguefieber-Verläufen führen, je nach Immunstatus und Alter. Die meisten DHF-Fälle treten bei Kindern und Jugendlichen unter 16 Jahren auf. Epidemiologische Beobachtungen, in vitro Studien sowie Studien an Affen führten Halstead zu der Annahme dass, bei einer Dengue-Virus-Reinfektion mit einem zweiten Serotypen präexistierende Antikörper nicht zur Neutralisation des Virus führen, sondern zu einer vermehrten Aufnahme und Replikation des Virus in den mononukleären Phagozyten („Immune enhancement“-Hypothese). Diese können dann Ziele von Immuneliminationsmechanismen werden, welche die Produktion von Mediatoren triggern mit Aktivierung der Komplement- und Gerinnungskaskade, was

schlussendlich zu DHF führt [14]. Spätere Untersuchungen zeigten, dass auch die Sequenz der involvierten Serotypen sowie die Zeitspanne zwischen beiden Infektionen eine wichtige Rolle spielen [15] [16].

Seit Kurzem ist jedoch bekannt, dass neben den Antikörpern auch die T-Zellen zur Pathogenese des komplizierten Denguefiebers beitragen. So zeigten diese bei einer Dengue-Virus-Zweitinfektion eine paradoxe Reaktion mit niedriger Affinität zu dem aktuellen Virus, aber höherer Affinität zu einem anderen Dengueserotypen. Dies führte zu einer verspäteten Elimination des zur aktuellen Infektion führenden Serotypen und somit zu einer höheren Viruslast [17].

DHF wird selten bei Personen afrikanischer Abstammung beobachtet [18]. Eine genetische Komponente und die Virulenz des Serotypen spielen bei der im Detail noch immer nicht geklärten Pathogenese der komplizierten und lebensbedrohlichen Denguefieber-Manifestationen eine Rolle [19].

2. Problemstellung und Zielsetzung

Denguefieber ist eine global zunehmende Infektionskrankheit (emerging infectious disease). Die Ursachen hierfür sind vielfältig. Neben Bevölkerungswachstum, Urbanisierung und Globalisierung spielt auch die Vektorökologie eine Rolle. Wichtige Gründe für die Zunahme der Vektoren sind neben der Klimaveränderung die Unterbrechung der früher im Rahmen der Gelbfieber- und Malariabekämpfung durchgeführten Moskitokontrollprogramme, die Zunahme von Brutplätzen durch menschlichen Einfluss (men-made breeding sites) sowie die Ausbreitung und Anpassung neuer Vektoren wie *Aedes albopictus*.

Auch bei Reisenden wird eine Zunahme von Denguefieber-Fällen beobachtet, was neben der Ausdehnung des Endemiegebietes vor allem auf vermehrte Tropenreisen durch veränderte Urlaubsgewohnheiten und die Globalisierung (Geschäftsreisen) zurückzuführen ist. Zudem birgt die Zunahme von Importinfektionen in Denguefieber-freien Gebieten die Gefahr der autochthonen Verbreitung in Regionen mit geeigneten Vektoren (z.B. Südeuropa).

Schon jetzt ist Denguefieber häufiger Ursache von fieberhaften Infektionen bei Reiserückkehrern aus tropischen Ländern als Malaria, das tropische Afrika ausgenommen. In Zukunft werden vermutlich auch die bislang bei Reiserückkehrern seltenen komplizierten Verläufe häufiger auftreten. Eine korrekte und schnelle Diagnosestellung ist somit wichtig und gewinnt an Bedeutung. Direkte Nachweismethoden, wie Kultur oder PCR, stehen oft nicht zur Verfügung und funktionieren nur während der ersten Krankheitsstage. Die Diagnosestellung beruht somit in der Regel auf einer Serodiagnostik. Durch vorhergehende Flavivirus-Infektionen (Dengue, Gelbfieber, Frühsommer-Meningoenzephalitis, Japanische Enzephalitis) sowie Impfungen gegen diese kann es jedoch zu Kreuzreaktionen kommen [26, 41, 42, 43]. Die Beeinträchtigung der Serodiagnostik kann zu falsch positiven und falsch negativen Testergebnissen führen: Bei einigen Reiserückkehrern wird fälschlicherweise Denguefieber diagnostiziert und eventuell eine andere behandlungsbedürftige Infektion übersehen. Bei anderen hingegen wird das Denguefieber nicht diagnostiziert und somit nicht adäquat behandelt.

Es gibt nur wenige Daten über die Häufigkeit, den Verlauf (incl. Komplikationen) sowie die Diagnostik von Denguefieber-Fällen bei Reiserückkehrern. Noch weniger untersucht ist der Einfluss von Flavivirus-Impfungen auf die Symptomatik und serologische Diagnosestellung des Denguefiebers. Die Zielsetzung der vorliegenden Dissertation war daher

- Die Untersuchung der Epidemiologie und des klinischen Verlaufs von importierten Denguefieber-Erkrankungen unter besonderer Berücksichtigung möglicher persistierender Symptome und des Einflusses vorausgegangener Flavivirus-Impfungen.
- Die Untersuchung der Dynamik der Bildung und Persistenz spezifischer Antikörper der IgG und IgM-Klassen sowie des Einflusses vorausgegangener Flavivirus-Impfungen.

Da Deutschland kein Dengue-Virus-Endemiegebiet ist, eignen sich nach Deutschland zurückkehrende Tropenreisende besonders gut für diese Untersuchung, da man bei Ihnen, sofern keine weiteren Tropenaufenthalte vorliegen, von einer Dengue-Primärinfektion ausgehen kann. Dies ist besonders im Hinblick auf die Dynamik der Antikörperbildung wichtig, da sich diese bei Zweitinfektionen ganz anders darstellt. Auch im Hinblick auf die Untersuchungen des klinischen Verlaufes ist ein sicheres Unterscheiden zwischen Erstinfektion und Folgeinfektionen ein großer Vorteil.

3. Patienten und Methoden

3.1. Patienten

In der Datenbank der Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin wurden die Patienten vorselektioniert, bei denen in den Jahren von 1998 bis 2007 die Diagnose Denguefieber gestellt wurde. Die Arztberichte wurden eingesehen und ausschließlich diejenigen Patienten berücksichtigt, bei denen sowohl das Krankheitsbild, das Reiseland als auch die Inkubationszeit tatsächlich mit der Diagnose eines Denguefiebers vereinbar waren. Die Ärzte stützten sich bei der Diagnosestellung neben der Anamnese und des klinischen Erscheinungsbildes auf laborchemische Untersuchungen (v.a. Blutbild) sowie auf die Dengueserologie. In einigen Fällen konnte die Diagnose aufgrund wiederholter Blutentnahmen mit dokumentiertem Antikörperanstieg, positiver Viruskultur bzw. Dengue-PCR gestellt und gesichert werden. In den Arztbriefen konnte die Diagnose mit den Zusätzen „Zustand nach“, „Verdacht auf“ bzw. „Ausschluss von“ präzisiert werden. In diese Arbeit wurden nur Patienten eingeschlossen, deren Diagnose ohne Zusatz versehen war, d.h. aus der Sicht des behandelnden Arztes eine gesicherte Dengue-Virus-Infektion vorlag.

Diese Patienten erhielten dann ein Schreiben mit der Bitte um eine Wiedervorstellung zu einer Kontrolluntersuchung der Dengue-Antikörper-Spiegel sowie einen Fragebogen, der im Anhang aufgeführt ist. Bei Rückantwort wurde telefonisch oder per E-Mail ein Termin vereinbart. Bei ausbleibender Rückantwort wurde nach circa 2 Monaten ein erneutes Schreiben zugesandt und um Kontaktaufnahme gebeten. Denjenigen Patienten, die prinzipiell Interesse bekundeten, aber aus zeitlichen oder geographischen Gründen nicht in unsere Ambulanz kommen konnten, wurde ein frankiertes Kuvert mitsamt Serumröhrchen zugeschickt; die Blutentnahme wurde dann vom Hausarzt durchgeführt und die Proben gelangten auf postalischem Wege zu uns. Hierbei durften die Proben maximal 24 Stunden unterwegs sein; andernfalls wurden sie verworfen und der Patient von der Auswertung ausgeschlossen. Bei den aus Gründen von Wohnortwechsel nicht erreichbaren Patienten wurde eine Kontaktaufnahme per Telefon oder E-Mail versucht.

3.2. Methoden

3.2.1. Untersuchungsablauf

Die Patienten stellten sich mit schon unterschriebener Einverständniserklärung und dem ausgefüllten Fragebogen in der AITM vor, oder schickten diese Dokumente mitsamt der vom Hausarzt abgenommenen Serumprobe. Der Fragebogen wurde dann durchgelesen und Unklarheiten geklärt, wie zum Beispiel unlesbare Passagen. Danach wurde ein 7,5ml Serumröhrchen Blut abgenommen. Nach Zentrifugation (2.500 g über 5 Minuten, Rotina 35 R Firma Hettich Zentrifugen) wurde das Serum dann in zwei kleine Monovetten von je 2ml Fassungsvermögen umgefüllt und bei -25°C eingefroren.

Des Weiteren wurde die Serumbank dahingehend überprüft, ob noch von der zur Denguefieber-Diagnose führenden Vorstellung Serum vorhanden war. In der Serumbank der Abteilung werden bei Vorliegen einer schriftlichen Einverständniserklärung Rückstellproben bis zu 10 Jahre bei -20°C

aufbewahrt (genehmigt durch Votum der Ethikkommission des Klinikums der Ludwig-Maximilians-Universität).

Nachdem alle Seren gewonnen waren, wurden die ELISA-Untersuchungen sowohl der im Rahmen der vorliegenden Untersuchung abgenommenen Proben (P-Proben) als auch, sofern vorhanden, der bereits bei Erstvorstellung eingefrorenen Proben (V-Proben) durchgeführt.

3.2.2. ELISA

Die serologischen Untersuchungen wurden mit den Novagnost TM Dengue IgM bzw. -IgG Testkits durchgeführt. Diese wurden uns freundlicherweise kostenlos von der Firma NovaTec Immundiagnostica GmbH zur Verfügung gestellt. Es handelt sich dabei um Enzymimmunoassays zur qualitativen bzw. semi-quantitativen immunenzymatischen Bestimmung von spezifischen IgM- bzw. IgG-Antikörpern gegen Dengue-Virus in Humanserum.

Die Proben wurden im Verhältnis 1 zu 100 verdünnt (10µl Probe plus 1.000µl IgM- bzw. IgG-Verdünnungspuffer) und je 100µl in die entsprechenden, mit gereinigtem Dengue-Virus-Antigen beschichteten, Mikrotiterplatten (Wells) pipettiert. Des Weiteren wurden je drei Kontrollseren (positiv, negativ und Cut-off Kontrollseren) hinzugegeben. Die Mikrotiterplatten inkubierten dann 60 Minuten bei 37°C, um eventuell vorhandenen, spezifischen Antikörpern in der Probe Zeit zu geben, an die immobilisierten Antigene binden zu können. Danach wurde mit verdünnter Waschlösung dreimalig gewaschen, gut ausgeklopft und 100µl Konjugat dazugegeben. Um eine Bindung der gegen humane IgM bzw IgG gerichtete Antikörper (vom Kaninchen) an die Antigen-Antikörperkomplexe auf der Festphase zu ermöglichen, erfolgte eine weitere Inkubation von 30 Minuten bei 25°C. Darauf folgte ein erneutes dreimaliges Waschen mit verdünnter Waschlösung, Ausklopfen sowie Zugabe von je 100µl TMB Substrat (Tetramethylbenzidin plus Wasserstoffperoxid). Es folgte eine lichtgeschützte, 15-minütige Inkubation bei 25°C, während der die TMB-Substratlösung unter Bildung einer blauen Farbe vom Enzymanteil der entstandenen Immunkomplexe umgesetzt wird. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 100µl Stopplösung beendet. Die Intensität der gebildeten gelben Farbe, welche mit der in der Probe enthaltenen Konzentration an anti-Dengue-Virus IgM- bzw. IgG-Antikörpern proportional ist, wurde mit einem ELISA-Reader bei 450nm gemessen. Wir verwendeten hierfür den TECAN Spectra Reader der Firma Tecan, ein vollautomatisches, mikroprozessorgesteuertes Photometer.

Antikörper-Einheiten (antibody units = AU) wurden mithilfe von Kontrollseren berechnet. Sowohl für IgM als auch IgG wurde der Trennwert bei 12 AU festgelegt. Werte von 12 oder höher galten als positives, Werte von 8 oder niedriger als negatives und die Werte 9, 10 und 11 als grenzwertiges Testergebnis. Bei einigen Berechnungen werden positive ($AU \geq 12$) Ergebnisse mit den anderen Ergebnissen verglichen ($AU < 12$), also nicht mehr zwischen grenzwertig und negativ differenziert.

3.2.3. Statistische Verfahren

Die Daten wurden mit Microsoft Excel verwaltet. Ein Teil der deskriptiven Statistik wurde mit dem gleichen Programm durchgeführt. Die analytische Statistik (CHI²-Tests, T-Tests, lineare und logistische Regressionen) wurde mit SPSS 17.0 erstellt. Signifikante Unterschiede wurden definiert als p-Werte unter 0,05 oder als nicht-überlappende 95%-Konfidenzintervalle (95%KI).

Patienten mit fehlenden Werten (missing values) wurden bei allen Analysen berücksichtigt, bei denen diese Werte irrelevant waren, und von allen anderen Analysen ausgeschlossen.

4. Ergebnisse

4.1. Patienten

Von insgesamt 251 kontaktierten Patienten waren 73 (29%) nicht mehr erreichbar. Von 80 Patienten, die antworteten (Response Rate 32%), erfüllten 66 Patienten alle Einschlusskriterien (inklusive Vorstellung zur Blutabnahme oder Übersendung einer adäquaten Blutprobe). Ihr Durchschnittsalter bei Erstvorstellung war 37 Jahre (16 bis 69 Jahre, Median 34 Jahre). 59,1% waren Frauen.

4.2. Reiseland und Reisedauer

69,7% der 66 Patienten erwarben die Dengue-Virus-Infektion in Asien, 27,3% in Lateinamerika und 3,0% in Afrika. Der Medianwert der Reisedauer betrug 4 Wochen. Der Mittelwert lag bei 5,95 Wochen (1 bis 36).

Asien:

21 Patienten (43,8%) waren in Südostasien (Thailand, Kambodscha, Laos, Myanmar oder Vietnam), 16 Patienten (33,3%) auf dem indischen Subkontinent (11 in Indien, 5 in Sri Lanka) und 11 (22,9%) in anderen asiatischen Ländern unterwegs. 2 bereisten mehrere dieser Zonen. Von den 21 Patienten, welche in Südostasien reisten, waren 20 zumeist ausschließlich in Thailand unterwegs. Die restlichen Reiseländer waren Indonesien (7), Philippinen (3) und Malaysia (1).

Amerika:

Von den 18 Patienten, welche auf dem amerikanischen Kontinent unterwegs waren, reisten 9 in Südamerika (2 Brasilien, 2 Venezuela, 2 sowohl in Panama als auch in Kolumbien, sowie jeweils einer in Bolivien, Ecuador und französisch Guyana), 5 in der Karibik (2 in Kuba bzw. der Dominikanischen Republik, einer auf Martinique) sowie 4 in Mittelamerika (je 1 in El Salvador, Nicaragua, Mexiko, Costa Rica). 2 waren in 2 dieser Regionen unterwegs.

Afrika:

2 Patienten waren in Tansania (1 Festland, 1 Sansibar).

4.2.1. Weitere Reisen in Dengue-Virus endemische Länder

Vor der zur Infektion führenden Reise, waren 42 der 66 Probanden (62,1%) in Dengue-Virus endemischen Ländern unterwegs. Insgesamt dauerten diese Reisen (sofern es mehrere waren, wurde ihre Dauer addiert) im Median 10 Wochen. Zwischen der Erstvorstellung (V1) in der Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin (AITM) und der Kontrolluntersuchung (P1) waren 32 Reisende erneut in Dengue-Virus endemischen Ländern unterwegs (48,5%). Insgesamt dauerten diese Reisen im Median 8 Wochen.

4.2.2. Verteilung je nach travel group (tg.) (siehe Begriffserklärung Seite 81)

- tg. 1: 19,7% (n = 13)
- tg. 2: 18,2% (n = 12)
- tg. 3: 31,8% (n = 21)
- tg. 4: 30,3% (n = 20)

tg. 1-2 sind diejenigen Patienten ohne Tropenreisen vor der zur Infektion führenden Reise: 37,9% gehörten dieser Gruppe an.

4.2.3. Verteilung je nach Reisescore (Rsc.) (siehe Begriffserklärung Seite 81)

- Rsc. 0: 34,9% (n = 23)
- Rsc. 1: 28,8% (n = 19)
- Rsc. 2: 36,4% (n = 24)

4.3. Zeitspanne zwischen Symptombeginn und Vorstellung im AITM

4.3.1. Zeitspanne zwischen Symptombeginn und Erstvorstellung (V1)

Der Medianwert der Zeitspanne zwischen den ersten Beschwerden und der Erstvorstellung in der Ambulanz der AITM liegt bei 10 Tagen (1 bis 240 Tage). 30 Patienten (45,5%) stellten sich innerhalb der ersten Woche (<8Tage) nach Symptombeginn vor, 9 weitere (13,6%) innerhalb der zweiten Woche (>7<15Tage) und 14 (21,2%) innerhalb der dritten Woche (<22Tage). Die restlichen 13 (19,7%) kamen nach 28 oder mehr Tagen (>27 Tage) zur Vorstellung.

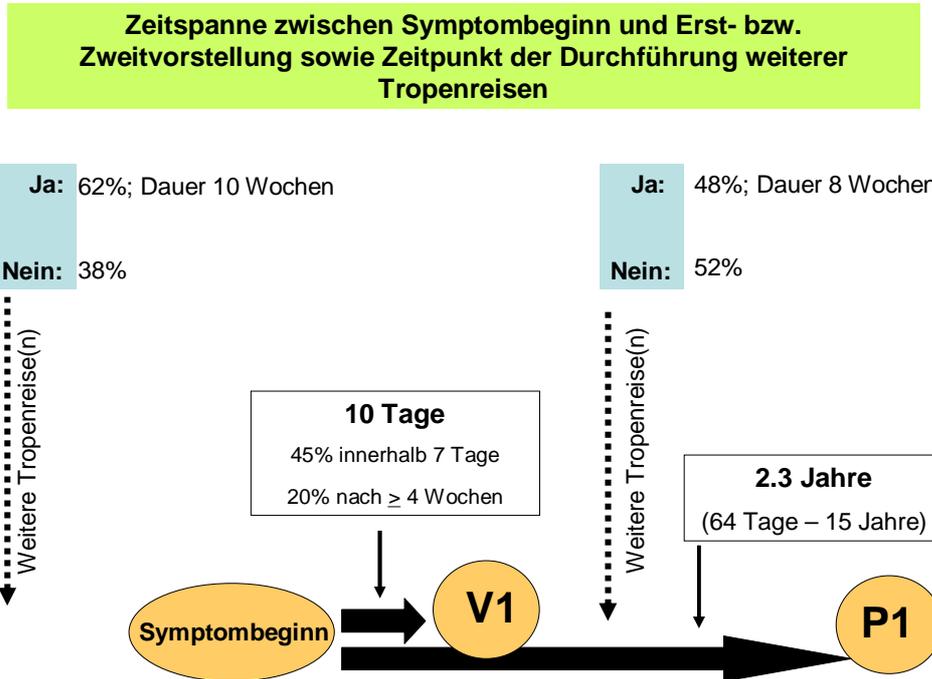
Tabelle 1: Anzahl der Patienten welche sich zu bestimmten Zeitpunkten vorstellten

Vorstellung in Ambulanz nach Beschwerdebeginn	innerhalb 1.Woche	innerhalb 2.Woche	innerhalb 3.Woche	Nach 28 oder mehr Tagen
Anzahl Patienten	30	8	14	14

4.3.2. Zeitspanne zwischen Symptombeginn und Zweitvorstellung (P1)

Median 2,3 Jahre; Mittelwert 3,8 Jahre (64 Tage bis 15 Jahre).

Graphik 2: Darstellung der Zeitspannen zwischen Symptombeginn, Erstvorstellung in unserem Institut, Wiedervorstellung sowie eventuell weiterer durchgeführter Tropenreisen (Medianwerte)



V1 = Erstvorstellung, P1 = Wiedervorstellung

Definition „weitere Tropenreisen“: Reisen in Dengue-Virus endemische Länder außer der Reise, während der die Dengue-Virus-Infektion erfolgte

4.4. Impfstatus

4.4.1. Impfscore (siehe Begriffserklärung Seite 81)

Tabelle 2: Häufigkeitsverteilung der Impfscore-Gruppen (bei V1 beziehungsweise P1)

Impfscore	0	1	2	3	4	5	6
Anzahl Patienten (V1)	29	12	18	4	1	1	1
Anzahl Patienten (P1)	29	13	17	4	7	1	0

Der Impfscore kann Werte von 0 bis 6 annehmen. Je mehr Flavivirus-Impfungen erfolgten und je kürzer diese zurückliegen, desto höher der Wert (siehe Begriffserklärung).

Somit haben 29 der 66 Patienten (43,9%) bei Erstvorstellung keinerlei Flavivirus-Impfung erhalten und waren auch nie wissentlich an einer Flavivirus-Infektion erkrankt.

4.4.2. Gelbfieber-Impfung

Insgesamt haben 26 der 66 Probanden (39,4%) mindestens eine Gelbfieber-Impfung in ihrem Leben erhalten.

4.4.3. Japanische Enzephalitis-Impfung

Insgesamt waren 7 der 66 Probanden (10,6%) gegen die Japanische Enzephalitis grundimmunisiert.

4.4.4. FSME-Impfung

Insgesamt waren 24 der 66 Probanden (36,4%) gegen die FSME grundimmunisiert.

4.4.5. Einfluss des Geschlechtes auf das Impfverhalten

Tabelle 3: Einfluss des Geschlechtes auf Verteilung der Impfscore-Gruppierung bei Erstvorstellung (Anzahl der Patienten)

Impfscore	0	1 - 6
Männlich	13	14
Weiblich	16	23

- CHI²-Test; p = 0,57
- Der Impfscore kann Werte von 0 bis 6 annehmen. Je mehr Flavivirus-Impfungen erfolgten und je kürzer diese zurückliegen, desto höher der Wert (siehe Begriffserklärung).

Tabelle 4: Einfluss des Geschlechtes auf Verteilung der Impfscore-Gruppierung bei Wiedervorstellung (Anzahl der Patienten)

Impfscore	0	1 - 6
Männlich	12	15
Weiblich	14	25

- CHI²-Test; p = 0,48
- Der Impfscore kann Werte von 0 bis 6 annehmen. Je mehr Flavivirus-Impfungen erfolgten und je kürzer diese zurückliegen, desto höher der Wert (siehe Begriffserklärung).

4.4.6. Einfluss des Reisestatus auf das Impfverhalten

Tabelle 5: Untersuchung der Korrelation zwischen Impfscore und Reisescore

Impfscore	0 - 1	2 - 6
Reisescore 0	15	8
Reisescore 1	12	7
Reisescore 2	14	10
Reisescore 0-1	27	15

- CHI²-Test; p (0/1/2) = 0,88
- CHI²-Test; p (0-1/2) = 0,63
- Der Impfscore kann Werte von 0 bis 6 annehmen. Je mehr Flavivirus-Impfungen erfolgten und je kürzer diese zurückliegen, desto höher der Wert (siehe Begriffserklärung).
- Der Reisescore kann die Werte 0, 1 und 2 annehmen, je nach Risiko vorheriger, unbemerkter Dengue-Virus-Infektionen (null/vernachlässigbar, gering, gegeben) (Siehe Begriffserklärung Seite 81).

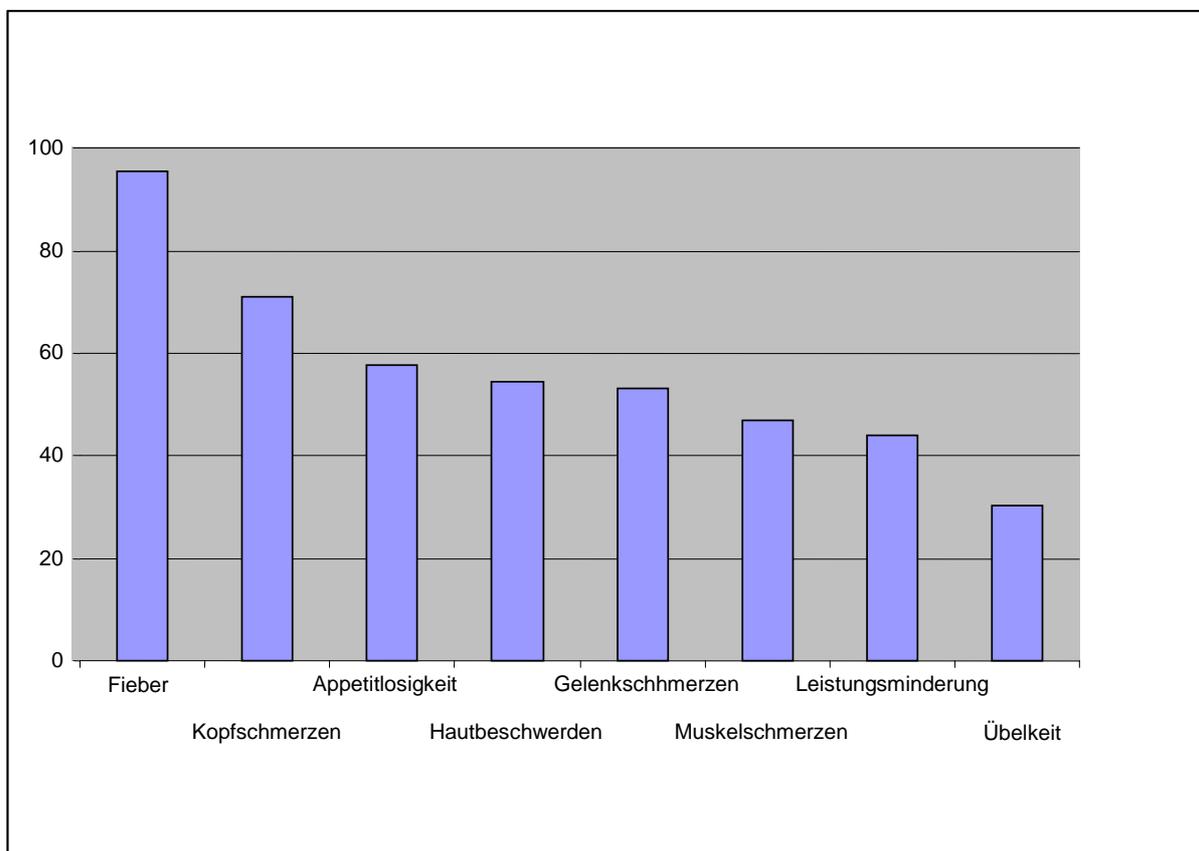
Auch beim Vergleich zwischen Nichtgeimpften und Geimpften (also Impfscore = 0 gegen Impfscore 1-6 und nicht Impfscore = 1 gegen Impfscore 2-6 wie hier gezeigt) konnte kein Einfluss des Reisestatus gefunden werden.

4.5. Symptomatik

95,4% der Patienten litten unter Fieber. Lediglich drei Patienten gaben dieses Symptom nicht an. Kopfschmerzen traten bei 71,2% (47 von 66) der Patienten auf.

Danach folgten Appetitlosigkeit (57,3%), Hautbeschwerden (54,6%), Gelenkschmerzen (53,0%), Muskelschmerzen (47,0%) sowie Übelkeit (30,3%).

Graphik 3: Häufigkeit der akuten Beschwerden (in %)



An anderen Symptomen, die sich nicht auf der Liste der im Fragebogen ankreuzbaren Beschwerden befanden, wurden angegeben:

- Leistungsminderung: n = 29 (43,9%)
- Weitere gastroenterologische Beschwerden (außer Übelkeit): n = 12 (18,2%)
- Neurologische Beschwerden: n = 11 (16,7%)
- Dermatologischen Beschwerden: n = 9 (13,6%)
- Psychologische Beschwerden: n = 6 (9,1%)
- Sonstige Beschwerden: n = 11 (16,7%)

4.5.1. Dauer der Symptome

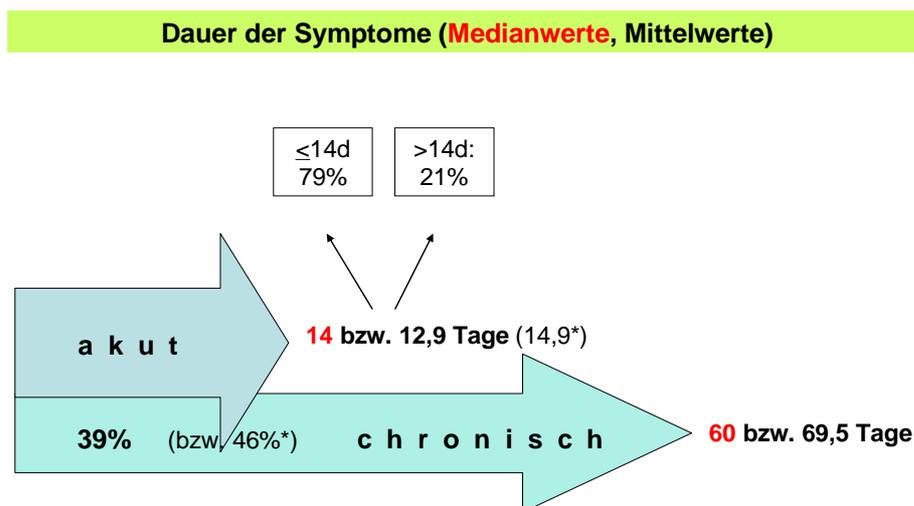
Die Dauer der Beschwerden (akut oder chronisch) betrug im Durchschnitt 38,8 Tage, bei einem Medianwert von 18,5 Tagen (4 bis 270 Tage).

Die Dauer der akuten Beschwerden betrug im Durchschnitt 14,9 Tage (2 bis 90); ohne die beiden Extremwerte (70 bzw. 90 Tage akute Beschwerden) sank dieser Wert auf 12,9 Tage. Die mediane Dauer betrug 14 Tage.

26 Patienten (39,4%) hatten noch nach 30 oder mehr Tagen Beschwerden. 9 Patienten hatten nach einer Zeitspanne von über 60 Tagen noch Beschwerden (13,6%).

Die Dauer der länger andauernden Beschwerden betrug im Durchschnitt 69,5 Tage (14 bis 270). Wurden die beiden Extremwerte nicht mit berücksichtigt (1 Patientin mit 9-monatiger Depression sowie ein Proband mit 6-monatiger Infektanfälligkeit), dann fiel dieser Wert auf 60,3 Tage. Der Medianwert aller „länger andauernden“ Beschwerden betrug 60 Tage.

Graphik 4: Dauer der Symptome



* Ohne Herausrechnen der beiden Extremwerte (Dauer akute Beschwerden 70 bzw. 90 Tage)

Dass bei einigen Patienten die akuten Beschwerden länger bestanden als bei anderen die chronischen Beschwerden, erklärt sich folgendermaßen: Die Patienten wurden in dem Fragebogen zunächst zur Dauer und Natur der akuten Beschwerden befragt. Dann wurde gefragt ob es Beschwerden gab, welche noch über einen längeren Zeitraum anhielten. Somit entschieden die Probanden selbst, wie lange die akuten und, sofern vorhanden, die länger andauernden Beschwerden bestanden. Wenn initial mehrere Beschwerden gleichzeitig bestanden, wie z.B. Fieber, Kopfschmerzen und Gelenkschmerzen, und diese nach wenigen Tagen abklangen, allerdings eine Leistungsminderung noch einige Tage länger bestand, dann wurde diese von den Patienten als „länger andauernde Beschwerden“ angesehen. So gaben die drei Patienten, welche die Dauer der länger andauernden Beschwerden mit 14 Tagen notierten, nur eine sehr kurze Dauer der akuten Beschwerden an (2, 7, bzw. 10 Tage). Anschließend bestanden noch einige Tage lang eine Appetitlosigkeit, Petechien bzw. Müdigkeit; diese wurden dann als länger andauernde Beschwerden bezeichnet.

Hiervon zu unterscheiden sind die als „chronische Beschwerden“ bezeichneten Symptome, welche per definitionem 30 Tage oder länger anhielten.

Umgekehrt wurden einige Beschwerden von den Probanden als „akut“ eingestuft, welche auch unsere Definition von chronischen Beschwerden erfüllen. So gaben 2 Probanden an unter 70 bzw. 90 Tage andauernden, akuten Beschwerden zu leiden. Ein Proband konnte ab Erkrankungsbeginn drei Monate lang aufgrund von Erschöpfung und Depression nicht arbeiten und gab dies verständlicherweise als Dauer der akuten Beschwerden an. Die psychischen Probleme, ob nun wirklich durch Dengue ausgelöst oder nicht, bestanden dann noch 6 weitere Monate (d.h. Dauer der chronischen Beschwerden 270 Tage). Ein weiterer Proband litt 70 Tage lang unter Halluzinationen, Atemwegsbeschwerden und Leistungsminderung, weswegen sogar ein 2-monatiger Krankenhausaufenthalt notwendig war. Anschließend bestand eine abgeschwächte Leistungsminderung noch für weitere 30 Tage (d.h. Dauer der chronische Beschwerden = 100 Tage)

4.5.2. Einfluss von Flavivirus-Impfungen auf Art und Dauer diverser Beschwerden

Die Wahrscheinlichkeit des Auftretens der diversen Symptome wurde mit einfachen logistischen Regressionen untersucht: Das Outcome war die Wahrscheinlichkeit des Auftretens des jeweils untersuchten Symptoms, die Einflussgröße war jeweils der Impfscore oder die dichotomisierte Variable Impfscore 0 gegen Impfscore 1-6, der Gelbfieber-Impfscore oder das Durchführen der Gelbfieber-Impfung (idem bezüglich FSME). Aufgrund der geringen Anzahl an Patienten mit einer Impfung gegen die Japanische Enzephalitis konnte der Einfluss der JE-Impfung nicht gesondert untersucht werden. Im Folgenden eine Übersichtstabelle:

Tabelle 6: Untersuchung des Einflusses diverser Variablen (Impfscore, Impfscore-Gruppierung, jeweilige Flavivirus-Impfungen) auf die Wahrscheinlichkeit des Auftretens verschiedener Symptome: p-Wert (falls < 0,05) und OR der verschiedenen Variablen (in **bold** wenn OR>3) ermittelt mit einfachen logistischen Regressionen

Einflussvariable	Impf-score	Isc. 0/1-6	YF-Sc.	YF-Impf. Ja/nein	FSME-Sc.	FSME-Impf. Ja/nein
Outcomevariable						
Fieber	-	-	-	-	p = 0,06	-
Kopfschmerzen	-	-	-	-	-	-
Muskelschmerzen	-	-	-	-	-	-
Gelenkschmerzen	-	-	-	-	-	-
Gelenkschmerzen ≥ 30 Tage	-	-	-	-	-	-
Hautbeschwerden	p = 0,01 OR = 2,0	-	p = 0,01 OR = 3,4	p = 0,01 OR = 5,0	-	p = 0,050 OR = 2,9
Exanthem	p = 0,053 OR = 1,5	-	p = 0,01 OR = 2,4	p = 0,01 OR = 4,5	-	-
Juckreiz	p = 0,02 OR = 1,8	-	p = 0,04 OR = 2,2	-	-	-
Überempfindlichkeit	-	-	-	-	-	-
Appetitlosigkeit	-	-	-	-	-	-
Übelkeit	-	-	-	-	-	-
Leistungsminderung	-	p = 0,02 OR = 3,5	p = 0,050 OR = 1,8	-	-	-
Leistungsminderung ≥ 30 Tage	p = 0,06 OR = 1,5	-	p = 0,04 OR = 2,0	-	-	-
Beschwerdedauer ≥ 30 Tage	-	-	-	-	p = 0,02 OR = 2,3	-

- Impfsc. = Impfscore, stetige Variable mit Werten von 0 (gar keine Flavivirus-Impfung erhalten) bis 6 (gegen alle drei Flaviviren (YF, JE, FSME) regelhaft geimpft).
- Isc. 0/1-6: Dichotomisierte Variable, welche den Flavivirus-Impfstatus beschreibt: gegen zumindest eine Flavivirus-Erkrankung geimpft oder nicht geimpft (siehe Begriffserklärungen).
- YF-Sc./FSME-Sc.: Mögliche Werte sind 0 = wenn keine Impfung vorliegt; 1 = wenn eine Impfung vorliegt, aber diese länger als die maximal empfohlene Zeitspanne bis zu einer empfohlenen Auffrischimpfung zurückliegt; 2 = Impfung erfolgte im empfohlenen Zeitrahmen.
- YF/FSME ja/nein: Dichotomisierte Variable, die Geimpfte (gegen YF oder FSME) mit den Nicht-Geimpften vergleicht.

Tabelle 7: Mittelwerte der Dauer der verschiedenen länger andauernden Beschwerden in Tagen

Dauer der...	Isc. 0	Isc. 1 - 6	YF nein	YF ja	FSME nein	FSME ja
Beschwerden	34,0	42,7	43,9	29,3	33,6	48,7
Beschwerden falls länger als akute Beschwerdedauer	68,6	70,0	85,0	44,9	66,1	73,6
Leistungsminderung	13,4	18,6	15,6	17,6	14,6	19,5
Leistungsminderung ≥ 30 Tage	84,0	51,2	75,9	46,0	69,4	51,6

- Isc. 0: Personen welche nie gegen eine der drei (YF, JE, FSME) Flavivirus-Infektionen geimpft wurde.
- Isc. 1-6: Personen welche zumindest gegen eine der drei (YF, JE, FSME) Flavivirus-Infektionen zu einem beliebigen Zeitpunkt wirksam geimpft waren.
- YF/FSME ja: Zumindest eine Impfung gegen die besagte Flavivirus-Infektion wurde durchgeführt.
- YF/FSME nein: Die Person wurde niemals gegen die besagte Flavivirus-Infektion geimpft.

Per T-Test für Mittelwertvergleich wurden die Beschwerdedauern der verschiedenen Gruppen verglichen (Geimpfte gegen Nichtgeimpfte): Es ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Mittelwerten. Bei der länger andauernden Leistungsminderung fiel jedoch die Tendenz auf, dass die Geimpften weniger lang an Beschwerden litten als die Nicht-Geimpften.

Tabelle 8: Untersuchung des Einflusses von Gelbfieber-Impfungen auf die Beschwerdedauer

Gelbfieber-Impfscore	0	1	2
Anzahl mit Beschwerden ≥ 30 Tage	27	6	7
Anzahl mit Beschwerden < 30 Tage	16	1	9

- Gelbfieber-Impfscore: Mögliche Werte sind 0 = wenn keine Impfung vorliegt; 1 = wenn eine Impfung vorliegt, diese aber länger als 10 Jahre zurückliegt; 2 = Impfung erfolgte innerhalb der letzten 10 Jahre.
- CHI²-Test: $p(0/1/2) = 0,15$
 $p(0/1-2) = 0,62$
 $p(0-1/2) = 0,11$

Tabelle 9: Untersuchung des Einflusses von Gelbfieber-Impfungen auf die Beschwerdedauer (Tage)

Gelbfieber-Impfscore	0	1	2	1 - 2
Anzahl Patienten	43	7	16	23
Summe Beschwerdedauer	1889	142	532	674
Mittelwert (Tage)	43,93	20,29	33,25	29,30
Konfidenzintervall	61,56	34,04	44,87	38,58
	26,30	6,53	21,63	20,03

- Gelbfieber-Impfscore: Mögliche Werte sind 0 = wenn keine Impfung vorliegt; 1 = wenn eine Impfung vorliegt, diese aber länger als 10 Jahre zurückliegt; 2 = Impfung erfolgte innerhalb der letzten 10 Jahre.
- Überlappende Konfidenzintervalle, also sich nicht statistisch signifikant voneinander unterscheidende Mittelwerte. Tendenz: Je höher der Impfscore, desto kürzer die Beschwerden.

Die gleichen Untersuchungen mit dem FSME-Impfscore anstelle des Gelbfieber-Impfscores bringen ein ähnliches Resultat: Tendenziell kürzere Beschwerden bei höherem Impfscore, jedoch ohne statistische Signifikanz.

Tabelle 10: Vierfeldertafel zum Untersuchen des Einflusses des Alters auf die Beschwerdedauer (Anzahl Patienten)

Beschwerdedauer \geq 30 Tage	ja	nein
Alter < 35 Jahre	14	21
Alter \geq 35 Jahre	12	19

- CHI²-Test; p = 0,91
- Kein Einfluss des Alters auf Beschwerdedauer.

Tabelle 11: Vierfeldertafel zum Untersuchen des Einflusses des Geschlechtes auf das Auftreten von länger andauernden Beschwerden, wenn diese \geq 30 Tage andauern (Anzahl Patienten)

Beschwerden \geq 30 Tage	Ja	nein
Männlich	8	19
Weiblich	18	21

- CHI²-Test; p = 0,18
- Kein Einfluss des Geschlechtes auf Beschwerdedauer.

Logistische Regression: Outcome = Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Beschwerdedauer \geq 30 Tage. Variablen = Impfscore bei V1/ Alter / Geschlecht

- Backward elimination (bedingt), keine Variable verblieb im Modell.

4.5.3. Genauere Symptombeschreibung und - Analyse

4.5.3.1. Leistungsminderung

Tabelle 12: Vierfeldertafel zum Untersuchen des Einflusses des Alters auf das Auftreten von Leistungsminderung (Anzahl Patienten)

Leistungsminderung	Ja	nein
Alter < 35 Jahre	16	19
Alter \geq 35 Jahre	13	18

CHI²-Test; p = 0,76

Tabelle 13: Tabelle: Vierfeldertafel zum Untersuchen des Einflusses des Alters auf das Auftreten einer länger andauernden Leistungsminderung (d.h. ≥ 30 Tage) (Anzahl Patienten)

Leistungsminderung ≥ 30 Tage	Ja	Nein
Alter < 35 Jahre	9	26
Alter ≥ 35 Jahre	6	25

CHI²-Test; p = 0,54

Wie die nachfolgenden Tabellen zeigen, hat das Geschlecht, analog zum Alter, keinen Einfluss auf das Auftreten oder die Dauer von Leistungsminderung.

Tabelle 14: Vierfeldertafel zur Untersuchung des Einflusses des Geschlechtes auf das Auftreten von Leistungsminderung (Anzahl Patienten)

Leistungsminderung	Ja	Nein
Männlich	11	16
Weiblich	18	21

CHI²-Test; p = 0,66

Tabelle 15: Vierfeldertafel zur Untersuchung des Einflusses des Geschlechtes auf das Auftreten von länger andauernder Leistungsminderung (≥ 30 Tage) (Anzahl Patienten)

Leistungsminderung ≥ 30 Tage	Ja	nein
Männlich	5	22
Weiblich	10	29

CHI²-Test; p = 0,36 (Fisher)

Tabelle 16: Einfluss der Impfscore-Gruppierungen auf das Auftreten von Leistungsminderung (Anzahl Patienten)

Impfscore	0	1 - 6
Leistungsminderung: ja	8	21
Leistungsminderung: nein	21	16

- Der Impfscore kann Werte von 0 bis 6 annehmen. Je mehr Flavivirus-Impfungen erfolgten und je kürzer diese zurückliegen, desto höher der Wert (siehe Begriffserklärung).
- Vergleich Impfscore-Gruppe 0/1-6: p = 0,02; RR = 0,49 (KI 0,25 - 0,93).
- Geimpft sein erhöht die Wahrscheinlichkeit an Leistungsminderung zu leiden!

Tabelle 17: Einfache Logistische Regressionen mit dem Outcome „Auftreten von Leistungsminderung“: Präsentation der p-Werte und OR verschiedener Einflussvariablen

Einflussvariablen	Impfscore	Isc 0 bzw. 1-6	YF-Score	YF +/-	FSME-Score	FSME +/-
p-Wert	0,14	0,02	0,050	0,07	0,51	0,45
OR (falls p signif.)	-	3,4	1,8	1,8	-	-

- Impfsc. = Impfscore, stetige Variable mit Werten von 0 (gar keine Flavivirus-Impfung erhalten) bis 6 (gegen alle drei Flaviviren (YF, JE, FSME) regelhaft geimpft).
- Isc. 0/1-6: Dichotomisierte Variable welche den Flavivirus-Impfstatus beschreibt: Flavivirus geimpft bzw. nicht geimpft (siehe Begriffserklärungen).
- YF-Sc./FSME-Sc.: Mögliche Werte sind 0 = wenn keine Impfung vorliegt; 1 = wenn eine Impfung vorliegt, aber länger als die maximal empfohlene Zeitspanne bis zu einer empfohlenen Auffrischimpfung zurückliegt; 2 = Impfung erfolgte im empfohlenen Zeitrahmen.
- YF/FSME +/-: Dichotomisierte Variable, die Geimpfte (gegen YF oder FSME) mit den Nicht-Geimpften vergleicht.

Die Wahrscheinlichkeit einer Leistungsminderung steigt bei Flavivirus-Geimpften im Vergleich zu Nichtgeimpften: Den stärksten Einfluss haben hierbei die Gelbfieber-Impfungen.

Tabelle 18: Einfluss der Impfscore-Gruppierungen auf die Leistungsminderungsdauer (Anzahl Patienten)

Impfscore	0	1 - 6
Leistungsminderung \geq 30 Tage	4	11
Leistungsminderung < 30 Tage	4	10

- Der Impfscore kann Werte von 0 bis 6 annehmen. Je mehr Flavivirus-Impfungen erfolgten und je kürzer diese zurückliegen, desto höher der Wert (siehe Begriffserklärung).
- Vergleich der Impfscore-Gruppen 0/1-6: $p = 0,64$ (Fischer exakt).
- D.h. kein signifikanter Unterschied der Häufigkeitsverteilung auf dem 5%-Niveau.

Tabelle 19: Durchschnittliche Dauer (in Tagen) der Leistungsminderung (falls vorhanden) in Abhängigkeit vom Impfscore

Impfscore	0	1	2	3	4	5	6	1 - 6	2 - 6
Anzahl Patienten	8	6	13	0	1	1	0	21	15
Konfidenzintervall	84,52	36,65	52,19					43,80	51,2
	12,73	4,68	21,5					21,82	24,2

- Der Impfscore kann Werte von 0 bis 6 annehmen. Je mehr Flavivirus-Impfungen erfolgten und je kürzer diese zurückliegen, desto höher der Wert (siehe Begriffserklärung).
- überlappende Konfidenzintervalle

Multiple logistische Regression: Outcome = Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Leistungsminderung. Variablen = Impfscore bei V1 / Alter / Geschlecht.

- Backward elimination (bedingt); keine Variable blieb im Modell.
- Der Impfscore hatte bei Mitberücksichtigung anderer Faktoren keinen Einfluss auf das Auftreten der Leistungsminderung, im Gegensatz zu den weiter oben berichteten Ergebnissen.
- Nahm man den Gelbfieber-Impfscore anstelle des Impfscores, so blieb dieser im Modell ($p = 0,05$; $OR = 1,8$). Gelbfiebergeimpfte hatten auch in diesem multiplen Regressionsmodell ein erhöhtes Risiko an Leistungsminderung zu leiden.
- Bei der gleichen Untersuchung mit der Variablen FSME-Impfscore verblieb keine Variable im Modell.

Multiple logistische Regression: Outcome = Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Leistungsminderung ≥ 30 Tage. Variablen = Impfscore bei V1 / Alter / Geschlecht.

- Backward elimination (bedingt): Lediglich der Impfscore blieb im Modell ($p = 0,051$; $OR = 1,5$)
- Durchführung des gleichen Modells mit dem YF-Impfscore bei V1 anstelle des Impfscores: Lediglich der YF-Impfscore blieb im Modell, allerdings mit einem besseren p-Wert ($0,04$) und einer OR von $2,0$. Gelbfiebergeimpfte hatten somit ein höheres Risiko an einer Leistungsminderung von einer Dauer ≥ 30 Tage zu leiden.
- Bei der gleichen Untersuchung mit der Variablen FSME-Impfscore verblieb keine Variable im Modell.

Multiple logistische Regression: Outcome = Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Leistungsminderung. Variablen = Fieber / Kopfschmerzen / Muskel- / Gelenkschmerzen / Hautbeschwerden / Appetitlosigkeit / Übelkeit.

- Backward elimination; keine Variable verblieb. LM nicht anhand der akuten Beschwerden vorhersagbar.

Multiple logistische Regression: Outcome = Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Leistungsminderung ≥ 30 Tage. Variablen = Fieber / Kopfschmerzen / Muskel- / Gelenkschmerzen / Hautbeschwerden / Appetitlosigkeit / Übelkeit.

- Backward elimination; drei Variablen verblieben im Modell, konnten also helfen, eine länger andauernde Leistungsminderung vorherzusagen:
 - Muskelschmerzen: $p = 0,06$; $OR = 4,5$
 - Gelenkschmerzen: $p = 0,02$; $OR = 0,15$ (d.h. „protektiver“ Effekt)
 - Hautbeschwerden: $p = 0,03$; $OR = 5,3$
- Nach Ersetzen der Hautbeschwerden durch Exanthem, Juckreiz oder Überempfindlichkeit verblieben nur zwei Variablen: Exanthem mit $p = 0,04$; $OR = 3,9$ sowie Gelenkschmerzen, allerdings mit $p = 0,09$ und $OR = 0,32$.

4.5.3.2. Gastroenterologische Beschwerden

Appetitlosigkeit und Übelkeit traten bei 57,3% bzw. 30,3% auf. Des Weiteren wurden insgesamt 12 weitere gastrointestinale Beschwerden berichtet: Erbrechen (5 Patienten), Bauchkrämpfe und Durchfall (je 2), und je einmal extreme Appetitlosigkeit mit absoluter Nahrungskarenz, Ikterus sowie Unwohlsein.

Insgesamt berichteten 41 von 66 Patienten (62,1%) von mindestens einem gastrointestinalen Symptom. Von diesen 41 gaben je 18 Probanden an, an einem bzw. 2 GI-Symptomen zu leiden. Bei 4 Probanden bestanden 3 Symptome, bei einem sogar 4. Keine dieser Beschwerden bestand länger als 14 Tage.

Logistische Regression: Outcome = Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Appetitlosigkeit.

Variablen = Impfscore bei V1 / Alter / Geschlecht.

- Nur die Variable Geschlecht blieb im Modell ($p = 0,02$; OR = 3,3). Weibliches Geschlecht erhöhte das Risiko, an Appetitlosigkeit zu leiden.

Logistische Regression: Outcome = Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Übelkeit.

Variablen = Impfscore bei V1 / Alter / Geschlecht.

- Keine Variable blieb im Modell.

4.5.3.3. Dermatologische Beschwerden

Von den 36 Patienten, welche Hautbeschwerden ankreuzten, hatten 27 (75,0%) eine Hautrötung, 11 (30,6%) Juckreiz und 9 (25,0%) eine Überempfindlichkeit. Bei 22 Probanden (61,1%) bestand eine, bei 8 (22,2%) bestanden 2, bei 3 (8,3%) sogar alle drei der ankreuzbaren Hautbeschwerden. Bei 2 Probanden trat Juckreiz alleine auf, ohne sichtbare Veränderungen. Des Weiteren gab ein Proband petechiale Blutungen an den Unterschenkeln an, bei zwei weiteren wurde nicht genauer erklärt, was unter Hautbeschwerden verstanden wurde.

Ein Exanthem trat bei 17 von 27 Patienten ohne weitere Hautbeschwerden auf, bei weiteren 8 mit begleitendem Juckreiz. Von diesen 8 Patienten litten 3 zusätzlich an Überempfindlichkeit. Die Überempfindlichkeit trat hingegen nur bei 3 der 9 (33,3%) Patienten, die sie erwähnten, alleine auf.

Des Weiteren wurden von 9 Patienten dermatologische Beschwerden bei der offenen Symptomfrage angegeben. Dies waren: Haarausfall 2 bis 3 Monate nach Symptombeginn (3 Patienten), Allergieanfälligkeit (2), lang sichtbare Hautverfärbungen (insgesamt 3: Petechien (2), nicht genauer definiert (1)), sowie Gesichtsschwellung.

Diese dermatologischen Beschwerden wurden meistens den akuten Beschwerden zugeordnet. Lediglich die nicht genau definierte Hautverfärbung an der Innenseite der Oberschenkel und die Allergieanfälligkeit bestanden 3 beziehungsweise 6 Monate lang.

Logistische Regression: Outcome = Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Hautbeschwerden.

Variablen = Impfscore bei V1 / Alter / Geschlecht.

- Die Variable Impfscore bleibt im Modell ($p = 0,01$; OR = 2,0).

- Nach Ersetzen des Impfscores durch den Gelbfieber-Impfscore bei V1 blieb der Gelbfieber-Impfscore im Modell ($p = 0,01$; OR = 3,7).
- Ersetzte man im gleichen Modell den Gelbfieber-Impfscores durch die FSME-Impfung (binär), dann verblieb diese als einzige Variable im Modell ($p = 0,048$; OR 2,9)

4.5.3.4. Psychologische Beschwerden

Insgesamt wurden von 6 Probanden psychologische Beschwerden berichtet. Die 8 berichteten Beschwerden waren: Depressive Veränderungen (3), Antriebslosigkeit (2) und je einmal Stimmungsschwankungen, Albträume, Schlafstörung sowie Halluzinationen.

Diese Beschwerden wurden, von einer Ausnahme abgesehen, als akut eingestuft; lediglich ein Proband litt 9 Monate lang an der medikamentös behandelten Depression.

Das Verhältnis Frauen zu Männern betrug 2 zu 4, was in etwa das umgekehrte Geschlechterverhältnis aller Studienteilnehmer darstellte.

4.5.3.5. Neurologische Beschwerden

Neben den häufigen Kopfschmerzen, unter denen 71,2% der Patienten litten, wurden 11 weitere neurologische Beschwerden berichtet. Dies waren: Augenschmerzen (5), Lichtempfindlichkeit (2), Gleichgewichtsstörung, Gesichtslähmung, Geschmackverlust und metallener Geschmack (je 1). Bis auf eine Ausnahme litten all diese Patienten auch an Kopfschmerzen.

Diese neurologischen Beschwerden, an denen somit, Kopfschmerzen inklusive, 72,7% litten, wurden meistens den akuten Beschwerden zugeordnet. Lediglich bei 3 Probanden bestanden sie über einen längeren Zeitraum: 2 Probanden hatten 30 bzw. 60 Tage lang Kopfschmerzen. Die Gleichgewichtsstörung hielt 42 Tage lang an.

4.5.3.6. Gelenksbeschwerden

Insgesamt gaben 51,5% der Patienten an, unter Gelenkschmerzen zu leiden. Die mediane Dauer der Gelenkschmerzen betrug 14 Tage (2 bis 180 Tage, Durchschnitt 25 Tage).

Bei 6 Patienten dauerten diese Beschwerden länger als die akute Phase an, im Schnitt 79,2 Tage (25 bis 180, Median 75 Tage). Das Durchschnittsalter dieser Patienten betrug 39,9 Jahre, wobei das Durchschnittsalter aller an Gelenkschmerzen Leidenden 35,2 Jahre betrug (Konfidenzintervalle überlappend).

Tabelle 20: Einfluss des Alters auf das Auftreten von Gelenkschmerzen: Vierfeldertafel (Anzahl der Patienten)

Gelenkschmerzen	ja	nein
Alter < 35 Jahre	22	13
Alter \geq 35 Jahre	13	18

- CHI²-Test; $p = 0,09$
- Tendenziell haben Jüngere häufiger Gelenkschmerzen

Tabelle 21: Einfluss des Alters auf das Auftreten von länger andauernden Gelenkschmerzen (≥ 30 Tage): Vierfeldertafel (Anzahl der Patienten)

Gelenkschmerzen ≥ 30 Tage	ja	Nein
Alter < 35 Jahre	2	33
Alter ≥ 35 Jahre	4	27

- χ^2 -Test; $p = 0,28$ (Fisher's exakter Test)
- Keine Tendenz erkennbar.

Tabelle 22: Durchschnittsalter je nach Gelenkschmerz-Gruppe

Gelenkschmerzen ≥ 30 Tage	ja	nein
Anzahl Patienten	6	60
Mittelwert	39,83	36,70
Konfidenzintervall	47,97	40,12
	31,70	33,28

Nahezu identische und somit überlappende Konfidenzintervalle.

Tabelle 23: Einfluss des Geschlechtes auf das Auftreten von Gelenkschmerzen: Vierfeldertafel (Anzahl der Patienten)

Gelenkschmerzen	ja	Nein
Männlich	11	16
Weiblich	24	15

- χ^2 -Test; $p = 0,10$
- Tendenziell leiden Frauen häufiger an Gelenkschmerzen (nicht statistisch signifikant).

Tabelle 24: Einfluss des Geschlechtes auf das Auftreten von länger andauernden Gelenkschmerzen, d.h. ≥ 30 Tage: Vierfeldertafel (Anzahl der Patienten)

Gelenkschmerzen ≥ 30 Tage	ja	nein
Männlich	1	26
Weiblich	5	34

$p = 0,39$ (Fisher exakter Test, two-tail)

Logistische Regression: Outcome = Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Gelenkschmerzen ≥ 30 Tage. Variablen = Impfscore bei V1 / Alter / Geschlecht.

- Backward elimination (Wald): Keine Variable verblieb im Modell.

Logistische Regression: Outcome = Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Gelenkschmerzen. Variablen = Impfscore bei V1 / Alter / Geschlecht.

- Backward elimination (Wald): Keine Variable blieb im Modell.

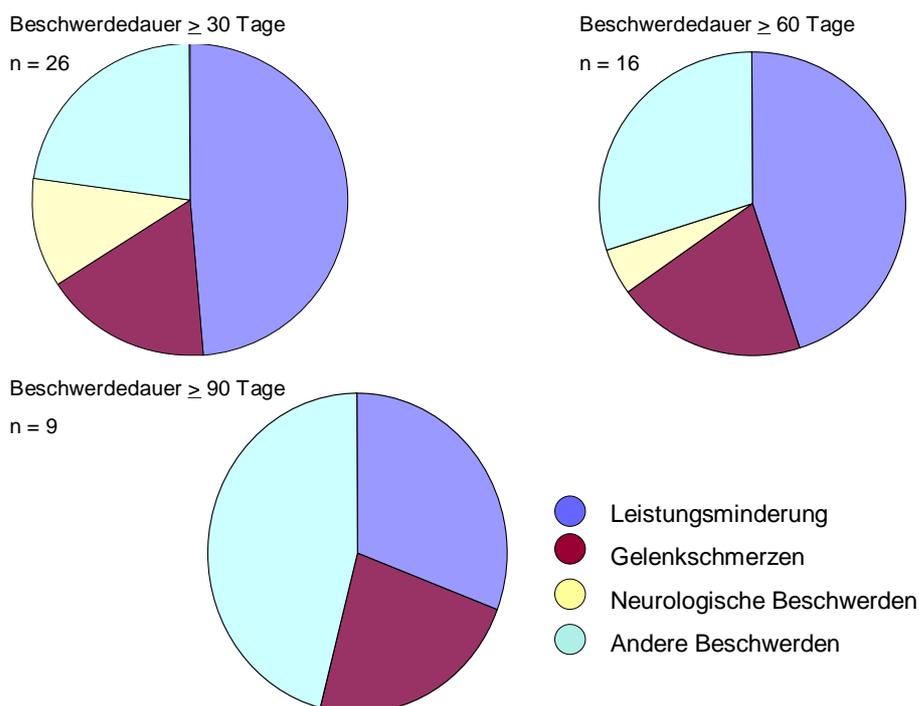
4.5.3.7. Sonstige Beschwerden

Gewichtverlust (4), Schweißausbrüche, Hitzewallungen, Schüttelfrost, Atemwegsbeschwerden, Nasenbluten, Kreislaufschwäche, Infektanfälligkeit (je 1 Patient)

4.5.4. Verlauf und Persistenz der chronischen Beschwerden

26 Patienten litten an chronischen Beschwerden, d.h. Beschwerden, welche mindestens 30 Tage lang bestanden (siehe Begriffserklärung). Am häufigsten war die Leistungsminderung, unter der 17 von 26 der „chronischen“ Patienten litten (65,4%), gefolgt von Gelenkschmerzen (23,1%) und neurologischen Beschwerden (15,4%: Kopfschmerzen, Schwindel). Bei 30,8% bestanden andere chronische Beschwerden. Es sei angemerkt, dass einige der Patienten mit länger andauernden Beschwerden an mehr als einem Symptom litten, weswegen die Summe nicht 100 ergibt. Unter den anderen Beschwerden waren Muskelschmerzen (bei 3 Patienten) und allergische Beschwerden (2) am häufigsten. Von jeweils einem Patienten wurden Infektanfälligkeit, Depression sowie Hautverfärbung genannt.

Graphik 5: Verteilung der länger andauernden Beschwerden



- Unter sonstige Beschwerden fallen Muskelschmerzen, Allergien, Infektanfälligkeit, Depression und Hautverfärbung. Nicht hier genannt sind die 2 Personen, welche 2 Monate nach Infektionsbeginn einen Haarausfall erlitten.

4.6. Verlauf der Dengue-Antikörper

4.6.1. Serologie bei Erstvorstellung (V1)

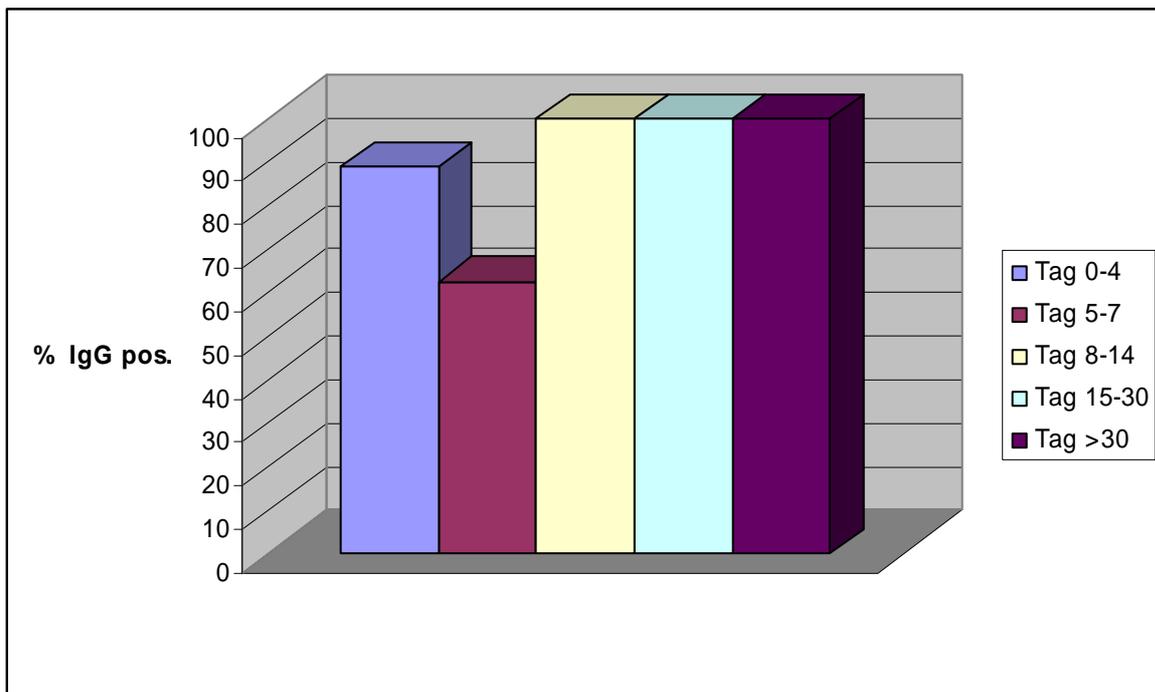
4.6.1.1. Überblick

Von 59 der 66 Patienten konnte in unserer Serumbank Serum von der Erstvorstellung, d.h. der Vorstellung, welche zur Diagnosestellung „Denguefieber“ geführt hatte (Serum V1), gefunden werden. Bei Erstvorstellung waren Dengue-Virus-IgM-Antikörper bei 42,4% nachweisbar, Dengue-Virus-IgG-Antikörper bei 88,1%. Grenzwertige Ergebnisse lagen bei 6,8 bzw. 1,7% vor, negative bei 50,9 bzw. 10,2%.

4.6.1.2. Einflussfaktoren auf den IgG-Antikörper-Status bei Erstvorstellung

4.6.1.2.1. Zeitpunkt der Vorstellung

Graphik 6: Prozentsatz der Patienten mit positivem IgG-ELISA in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Vorstellung nach Symptombeginn



Obwohl sich insgesamt 38 Patienten innerhalb von 14 oder weniger Tagen nach Symptombeginn vorgestellt hatten, zeigt diese Graphik die hohe Anzahl der positiven IgG-ELISA-Ergebnisse bei V1. Bei 34 von diesen Patienten gab es Serum zu V1. 25 stellten sich innerhalb der ersten Woche vor (<8 Tage), 9 weitere innerhalb der zweiten Woche (>8<15 Tage). Dabei war der IgG-ELISA bei 27 Probanden, welche sich innerhalb der ersten 2 Wochen (<15 Tage) nach Symptombeginn vorstellten, positiv (79,4%). Bei 18 von 25 (72,0%) Probanden, welche sich innerhalb der ersten Woche vorstellten, war dies der Fall sowie bei 9 von 9 (100%) innerhalb der zweiten Woche.

Tabelle 25: Ergebnis des IgG-ELISA in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Blutentnahme nach Beginn der Symptome (S-V1): Anzahl der Patienten mit positivem ($AU \geq 12$) bzw. negativem ($AU < 12$) Ergebnis

S-V1	IgG positiv	IgG negativ
≤ 7 Tage	18	7
≥ 8 Tage	34	0

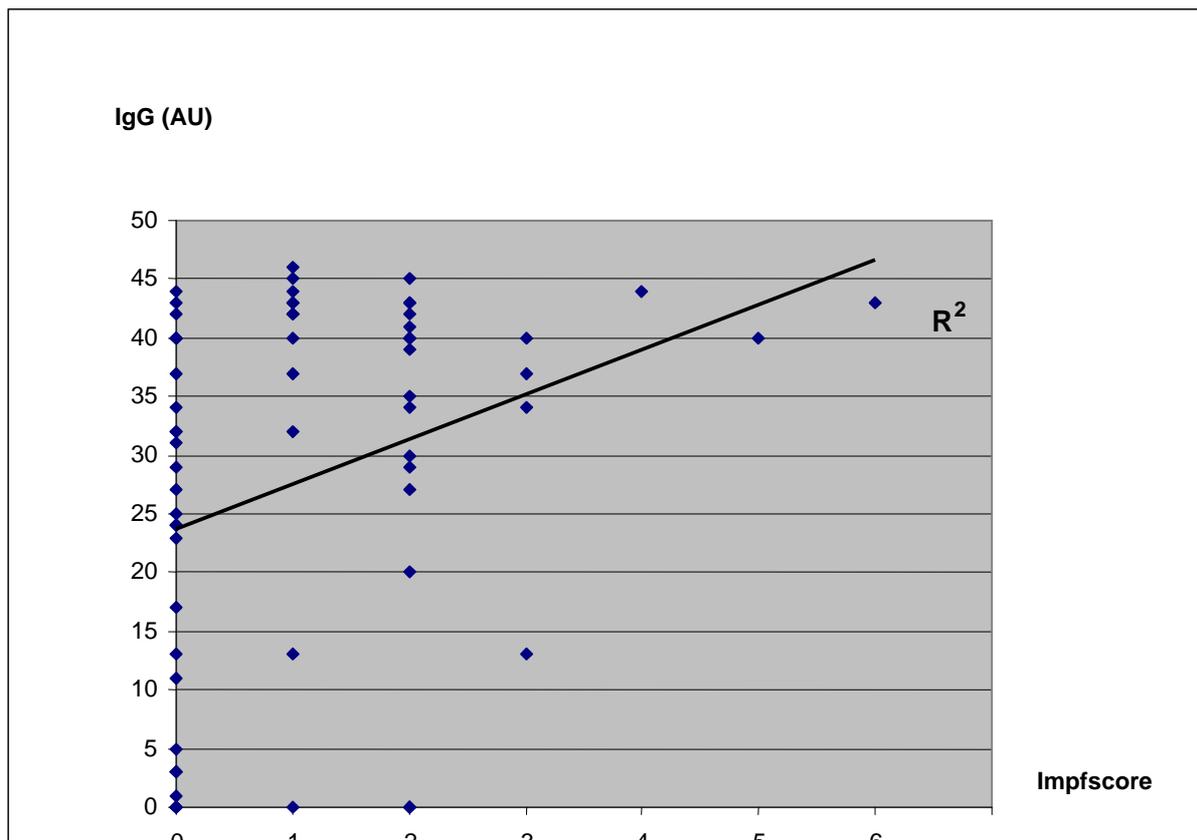
Fishers exakter Test (da eine Zelle 0): $p = 0,01$; $RR = 0,72$ (0,56-0,92)

IgG-AU bei V1, je nach Zeitspanne S-V1 (Trennwert 8 Tage)

- $S-V1 \geq 8$ Tage IgG = 35,6; $S-V1 < 8$ Tage IgG = 25,5
- Mittelwertvergleich mit T-Test (unverb. Stichproben)
- $p = 0,01$, d.h. Mittelwerte unterschiedlich: je größer S-V1, desto höher die IgG-AU

4.6.1.2.2. Einfluss vorheriger Flavivirus-Impfungen auf den IgG-Antikörper-Status

Graphik 7: Einfluss des Flavivirus-Impfstatus (hier: Impfscore) auf das Ergebnis des IgG-Dengue-ELISA (AU)



Probability (two-tailed) $p = 0,02$; $R^2 = 0,10$ (lin.). Ein Zusammenhang zwischen dem Impfscore und den IgG-AU scheint zu bestehen.

Tabelle 26: Einfluss des Impfscores auf das Dengue-IgG-ELISA-Ergebnis (Anzahl der Patienten)

Impfscore	IgG positiv	IgG negativ
0	19	6
1 - 6	33	1

- $p = 0,02$; $RR = 1,28$ (1,02 - 1,60). Ein Zusammenhang zwischen Positivität des IgG-ELISA und der Impfscore-Gruppierung kann gezeigt werden (auf 5%-Niveau).
- Der Impfscore kann Werte von 0 bis 6 annehmen. Je mehr Flavivirus-Impfungen erfolgten und je kürzer diese zurückliegen, desto höher der Wert (siehe Begriffserklärung).

Gleiches zeigte sich bei einer logistischen Regression. Die Wahrscheinlichkeit eines positiven IgG-ELISA-Ergebnisses bei V1 stieg bei Vorliegen von zumindest einer Flavivirus-Impfung (Impfscore 0 gegen Isc. 1-6: $p = 0,04$; OR 10,4).

Allerdings konnten die Untersuchungen der einzelnen Flavivirus-Impfungen (YF und FSME) hier keinen statistisch relevanten Zusammenhang zwischen der Wahrscheinlichkeit eines positiven IgG-Testergebnisses und der jeweiligen Impfung zeigen.

Tabelle 27: Höhe der Dengue-IgG-Antikörper Units (AU) bei V1, in Abhängigkeit vom Flavivirus-Impfstatus (hier Impfscore-Gruppierung)

Impfscore	0	1 - 6	0 - 1	2 - 6
N total	29	37	41	25
N ohne IgG-Bestimmung	4	3	5	2
N mit IgG- Bestimmung	25	34	36	23
Mittelwert IgG-AU	24,92	36,06	29,17	34,74
Konfidenzintervall	30,50	39,61	33,86	39,24
	19,34	32,51	24,47	30,24
Zeitpunkt (S-V1) <15 Tage	18	16	25	9
Zeitpunkt (S-V1) >14 Tage	7	18	11	14

- Der Impfscore kann Werte von 0 bis 6 annehmen. Je mehr Flavivirus-Impfungen erfolgten und je kürzer diese zurückliegen, desto höher der Wert (siehe Begriffserklärung).
- Vergleich der Impfscore-Gruppierung 0 mit Isc-Gruppe 1-6: Nicht-überlappende Konfidenzintervalle und somit Nachweis eines Unterschiedes der Mittelwerte der IgG-Antibody-Units in beiden Gruppen (24,9 bzw. 36,1).

Die gleiche Untersuchung wurde mit den Gruppen: Gelbfiebergeimpfte bzw. Nichtgeimpfte (bzw. FSME-Impfung ja/nein) durchgeführt. Die Mittelwertvergleiche mit T-Tests für unverbundene Stichproben zeigten:

- Gelbfiebergeimpfte hatten höhere IgG-AU bei V1 (36,4 bzw. 27,9); $p = 0,01$
- FSME-Geimpfte hatten höhere IgG-AU bei V1 (36,2 bzw. 28,7); $p = 0,02$

Da die Zeitspanne S-V1 den IgG-Wert beeinflusst, könnte hier ein confounding vorliegen. Deswegen ist das Durchführen einer multiplen logistischen Regression sinnvoll:

Outcome: Resultat des IgG-ELISA (pos. oder neg.) bei V1. Die Einflussvariablen sind: Impfscore (0 gegen 1-6) und S-V1.

- P-Werte für S-V1 bzw. Isc. 0/1-6: 0,76 bzw. 0,09. Das heißt der für S-V1 adjustierte Parameter der Variablen Impfscore hatte einen p-Wert $>0,05$ und verlor somit auf dem 5%-Niveau seine Signifikanz.
- Die Zeit S-V1 muss also durchaus als Confounder betrachtet werden.
- Die gleichen Untersuchungen zur Untersuchung des Einflusses der Gelbfieber bzw. FSME-Impfungen (ja/nein) auf die Positivität des IgG-ELISAs zeigten allesamt p-Werte $>0,05$.

4.6.1.2.3. Einfluss vorheriger Reisen

Tabelle 28: Ergebnis des Dengue-IgG-ELISA bei V1, je nach Reisescore (Anzahl Patienten)

Reisescore	IgG-ELISA positiv	IgG-ELISA negativ*
0	20	1
1	14	3
2	18	3

- * AU <12
- CHI² aufgrund Zellen mit <5 nicht korrekt anwendbar.
- $p = 0,21$ (Rsc. 0 gegen Rsc 1-2 mit Fischer exaktem Test)
- Der Reisescore kann die Werte 0, 1 und 2 annehmen, je nach Risiko vorheriger, unbemerkter Dengue-Virus-Infektionen (null/vernachlässigbar, gering, gegeben). Siehe Begriffserklärung.

Die IgG-AU korrelierten nicht mit der insgesamt in den Tropen verbrachten Zeit. Dies ist ein Indiz dafür, dass die meisten Leute, trotz mehrerer Tropenreisen, nur eine Flavivirus-Infektion durchlitten, nämlich die zur Vorstellung in unserem Institut führende.

Tabelle 29: IgG-ELISA bei V1 je nach travel group-Gruppierung (Anzahl Patienten)

Travel group	IgG-ELISA positiv	IgG-ELISA negativ*
1 - 2	22	2
3 - 4	30	5

- Fischer-Test (da Zellen <5): $p = 0,34$
- * AU <12
- Patienten der travel groups 1 und 2 haben keinerlei andere Tropenreisen vor der zur Dengue-Virus-Infektion führenden Tropenreise unternommen. Die Patienten in travel groups 3 oder 4 schon (siehe Begriffserklärung).

Tabelle 30: Höhe der IgG-Units (AU) bei V1 in Abhängigkeit von travel group-Gruppierung

Travel group	1 - 2	3 - 4	1	2 - 4
Anzahl der Patienten mit IgG-Messung	24	35	13	46
Konfidenzintervall	36,70	35,81	40,19	34,75
	25,88	26,92	25,96	26,94
S-V1 < 15 Tage (Anzahl Patienten)	15	19	11	23
S-V1 ≥ 15 Tage (Anzahl Patienten)	9	16	2	23

- Patienten der travel groups 1 und 2 haben keinerlei andere Tropenreisen vor der zur Dengue-Virus-Infektion führenden Tropenreise unternommen. Die Patienten in travel groups 3 oder 4 schon (siehe Begriffserklärung).
- Sämtliche Konfidenzintervalle überlappen sich; kein signifikanter Unterschied der Mittelwerte.
- Es gab keinen Unterschied in der Höhe der IgG-AU zwischen denjenigen, die nicht vor der zur Infektion führenden Reise in den Tropen waren und denjenigen, die zuvor schon die theoretische Möglichkeit einer Dengue-Virus-Infektion hatten.

4.6.1.2.4. Weitere mögliche Einflussfaktoren

Vergleich der IgG-AU-Mittelwerte je nach Geschlecht per T-Test für unverbundene Stichproben:

Die Mittelwerte der IgG-Units waren gleich (31,8 Männer; 31,0 Frauen; $p = 0,66$).

4.6.1.2.5. Untersuchung des Einflusses diverser Variablen auf die Dengueserologie anhand multipler logistischer Regression

Outcome: IgG ELISA-Ergebnis (positiv oder negativ). Einflussvariablen: Zeitpunkt der Vorstellung (S-V1), Impfstatus (Isc. bei V1: 0 bzw. 1-6) sowie Reisestatus (tg 1-2 bzw. 3-4 oder Rsc.).

- Backward elimination (Wald).
- Zwei Variablen verblieben im Modell, waren aber beide knapp nicht statistisch signifikant: S-V1 ($p = 0,08$; OR 1,23); Impfscore ($p = 0,09$; OR 7,4).
- Hier zeigte sich der confounding-Effekt von S-V1 (denn das gleiche Modell ohne S-V1 ergab für die dichotomisierte Variable Flavivirus-Impfungen einen p-Wert von 0,04 bei einer OR von 10).

4.6.1.3. Einflussfaktoren auf IgM-Antikörper-Status bei Erstvorstellung

4.6.1.3.1. Zeitspanne zwischen Symptombeginn und Probenentnahme

IgM konnte bei 15 Patienten, die sich innerhalb weniger als 15 Tagen nach Symptombeginn vorstellten, nachgewiesen werden (44,1%). Bei 9 von 25 (36,0%) Patienten, welche sich innerhalb der ersten Woche (<8 Tage) vorstellten, war dies der Fall, sowie bei 6 von 9 (66,7%) innerhalb der zweiten Woche.

Graphik 8: Prozentsatz der Patienten mit positivem IgM-ELISA-Ergebnis in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Vorstellung nach Symptombeginn

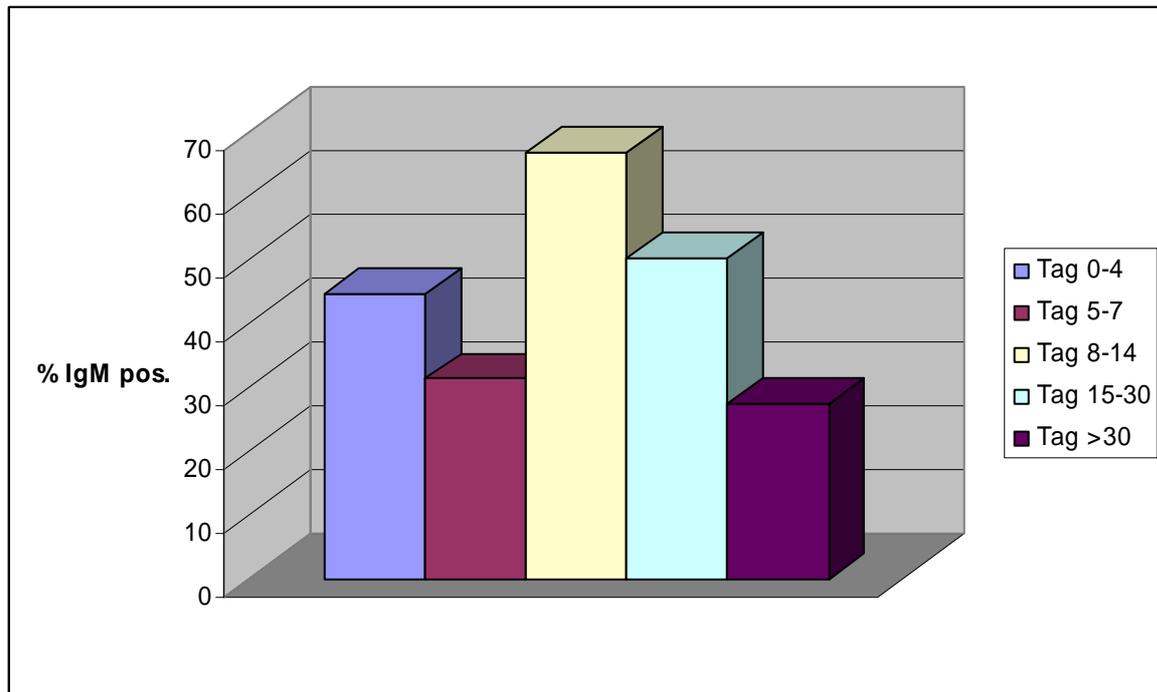


Tabelle 31: Höhe der Dengue-IgM-Antikörper Units (AU), in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Probenentnahme (d.h. Zeitspanne S-V1)

S-V1	≤ 7 Tage	> 7 < 15 Tage	>14 Tage	<15 Tage
Anzahl Patienten (N)	29	9	28	38
IgM nicht bestimmt	4	0	3	4
Anzahl Patienten mit IgM-Messung	25	9	25	34
Mittelwert (AU)	14,96	20,33	15,16	16,38
Konfidenzintervall	20,75	29,73	21,12	21,30
	9,17	10,94	9,20	11,46
Impfscore 0 (Anzahl Patienten)	16	4	9	20
Impfscore > 0 (Anzahl Patienten)	13	5	19	18

- Der Impfscore kann Werte von 0 bis 6 annehmen. Je mehr Flavivirus-Impfungen erfolgten und je kürzer diese zurückliegen, desto höher der Wert (siehe Begriffserklärung).
- Nahezu identische Mittelwerte und Konfidenzintervalle.

Tabelle 32: Ergebnis des Dengue-IgM-ELISA bei V1, in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Probenentnahme nach Symptombeginn (Anzahl Patienten)

S-V1	IgM-ELISA positiv	IgM-ELISA negativ*
≤ 7 Tage	9	16
> 7 Tage	16	18

- CHI²-Test; p = 0,40
- * AU<12

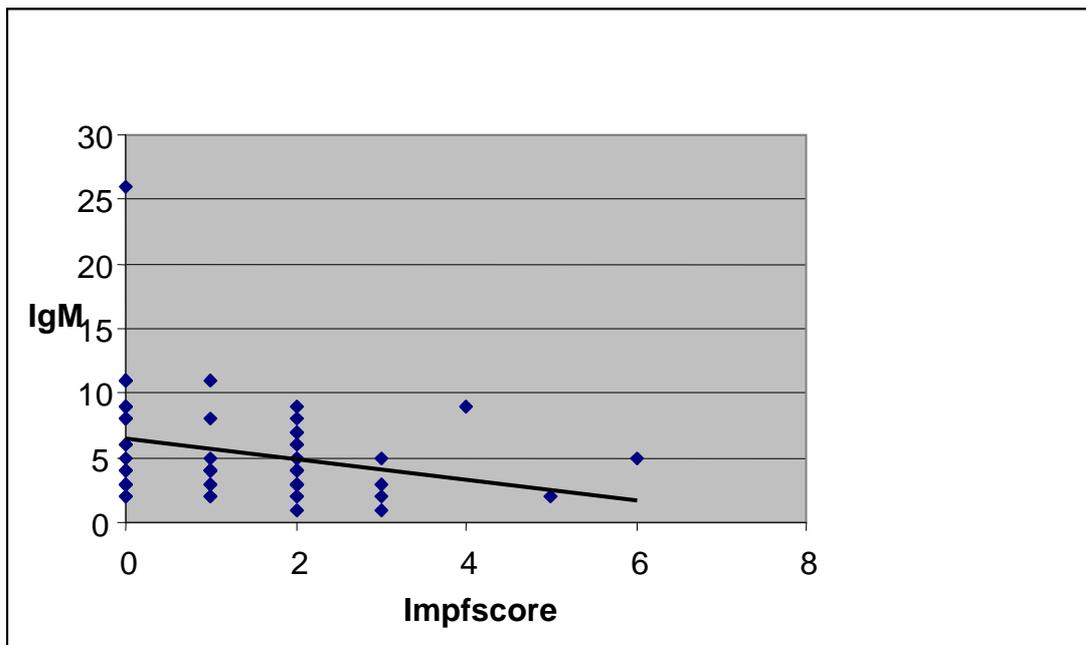
Tabelle 33: Ergebnis des Dengue-IgM-ELISA bei V1, in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Probenentnahme nach Symptombeginn (Anzahl Patienten)

S-V1	IgM-ELISA positiv	IgM-ELISA negativ *
≤ 14 Tage	15	19
> 14 Tage	10	15

- CHI²-Test; p = 0,75
- * AU<12

4.6.1.3.2. Einfluss vorheriger Flavivirus-Impfungen

Graphik 9: Graphik: Einfluss des Flavivirus-Impfstatus (hier: Impfscore) auf das Ergebnis des IgM-Dengue-ELISA (AU)



- p = 0,04 (two-tailed); R² (linear) = 0,07
- Der Impfscore kann Werte von 0 bis 6 annehmen. Je mehr Flavivirus-Impfungen erfolgten und je kürzer diese zurückliegen, desto höher der Wert (siehe Begriffserklärung).

Tabelle 34: Ergebnis Dengue-IgM-ELISA in Abhängigkeit vom Flavivirus-Impfstatus (Anzahl der Patienten)

Impfscore-Gruppierung	IgM positiv	IgM negativ
0	15	10
1 – 6	11	24

- p = 0,03 ; RR = 1,91 (1,06-3,43)

- Der Impfscore kann Werte von 0 bis 6 annehmen. Je mehr Flavivirus-Impfungen erfolgten und je kürzer diese zurückliegen, desto höher der Wert (siehe Begriffserklärung).
- Ein Zusammenhang zwischen Positivität des IgM-ELISA und der Impfscore-Gruppierung konnte gezeigt werden (auf dem 5%-Niveau). Hierbei zeigten die Nicht-Geimpften eine höhere Wahrscheinlichkeit eines positiven IgM-Ergebnisses.

Tabelle 35: Einfluss des Flavivirus-Impfstatus auf die Höhe der IgM-Antikörper-Einheiten (AU) bei Erstvorstellung

Impfscore	0	1 - 6	0 - 1	2 - 6
N total	29	37	41	25
IgM nicht bestimmt	4	3	5	2
N mit IgM-Messung	25	34	36	23
Mittelwert	22,96	10,65	18,61	11,57
Konfidenzintervall	29,63	14,11	23,82	16,38
	16,29	7,19	13,41	6,75
Zeitpunkt (S-V1) \leq 14 Tage	18	15	25	9
Zeitpunkt (S-V1) $>$ 14 Tage	7	18	11	14

- Der Impfscore kann Werte von 0 bis 6 annehmen. Je mehr Flavivirus-Impfungen erfolgten und je kürzer diese zurückliegen, desto höher der Wert (siehe Begriffserklärung).
- Die Konfidenzintervalle zwischen den Nichtgeimpften (Isc. 0) und geimpften Personen überlappen sich nicht, d.h. die Mittelwerte der IgM-Units sind unterschiedlich (auf dem 5%-Niveau); hierbei haben die Nicht-Geimpften höhere IgM-AU als die Geimpften (23,0 bzw. 10,7). In letztgenannter Gruppe waren auch etwas mehr Patienten mit Probenentnahme nach 14 Tagen ($p = 0,04$; $RR = 1,58$; $KI = 1,01-2,48$). Somit könnte die Zeitspanne S-V1 einen confounder darstellen.

4.6.1.3.3. Einfluss vorheriger Reisen

Tabelle 36: Einfluss von Tropenreisen (Reisescore) auf das Ergebnis des Dengue-IgM-ELISA bei Erstvorstellung V1 (Anzahl der Patienten)

Reisescore	IgM-ELISA positiv	IgM-ELISA negativ
0	9	12
1	7	10
2	9	12

- χ^2 -Test; $p = 0,99$
- Der Reisescore kann die Werte 0, 1 und 2 annehmen, je nach Risiko vorheriger, unbemerkter Dengue-Virus-Infektionen (null/vernachlässigbar, gering, gegeben). Siehe Begriffserklärung.

Tabelle 37: Einfluss von Tropenreisen (travel group) auf das Ergebnis des Dengue-IgM-ELISA bei Erstvorstellung V1 (Anzahl der Patienten)

Travel group	IgM-ELISA positiv	IgM-ELISA negativ*
1-2	12	12
2-3	13	22

- CHI²-Test; p = 0,33
- * AU < 12
- Patienten der travel groups 1 und 2 haben keinerlei andere Tropenreisen vor der zur Dengue-Virus-Infektion führenden Tropenreise unternommen. Die Patienten in travel groups 3 oder 4 schon (siehe Begriffserklärung).

Tabelle 38: Höhe der Dengue-IgM-Antikörper-Units (AU) bei V1 in Abhängigkeit von Tropenreisen (travel group-Gruppierung)

Travel group	1 - 2	3 - 4	1	2 - 4
Anzahl Patienten (N)	25	41	13	53
Patienten ohne IgM_Bestimmung	1	6	0	7
Patienten mit IgM-Messung	24	35	13	46
Mittelwert (AU)	18,04	14,37	16,08	15,8
Konfidenzintervall	23,82	19,34	24,17	20,11
	12,27	9,40	7,99	11,5
Zeitpunkt (S-V1) ≤ 14 Tage (Anzahl Patienten)	15	19	11	23
Zeitpunkt (S-V1) >14 Tage (Anzahl Patienten)	9	16	2	23

- Patienten der travel groups 1 und 2 haben keinerlei andere Tropenreisen vor der zur Dengue-Virus-Infektion führenden Tropenreise unternommen. Die Patienten in travel groups 3 oder 4 schon (siehe Begriffserklärung).
- Alle Konfidenzintervalle überlappen sich; somit keine signifikanten Mittelwertunterschiede.

4.6.1.3.4. Multifaktorielle Analysen

Outcome: IgM ELISA-Ergebnis (positiv bzw. negativ). Einflussvariablen: Zeitpunkt der Vorstellung (S-V1), Impfstatus (Isc. bei V1) sowie Reisestatus (tg 1-2 bzw. 3-4) oder Rsc..

- Nur der Impfscore blieb im Modell (p = 0,07; OR = 0,64). Das gleiche Modell mit Impfscore 0 bzw. Isc. 1-6 (d.h. binär anstatt ordinal) beließ ebenfalls den Isc. im Modell (p = 0,02; OR = 0,28). Der Impfstatus, adjustiert für die Zeit S-V1, hat einen signifikanten Einfluss auf das Ergebnis des IgM-ELISA.
- Bei der Durchführung des gleichen Modells mit YF bzw. FSME-Impfscore (ordinal oder binär) waren alle p-Werte > 0,05 (leeres Modell).

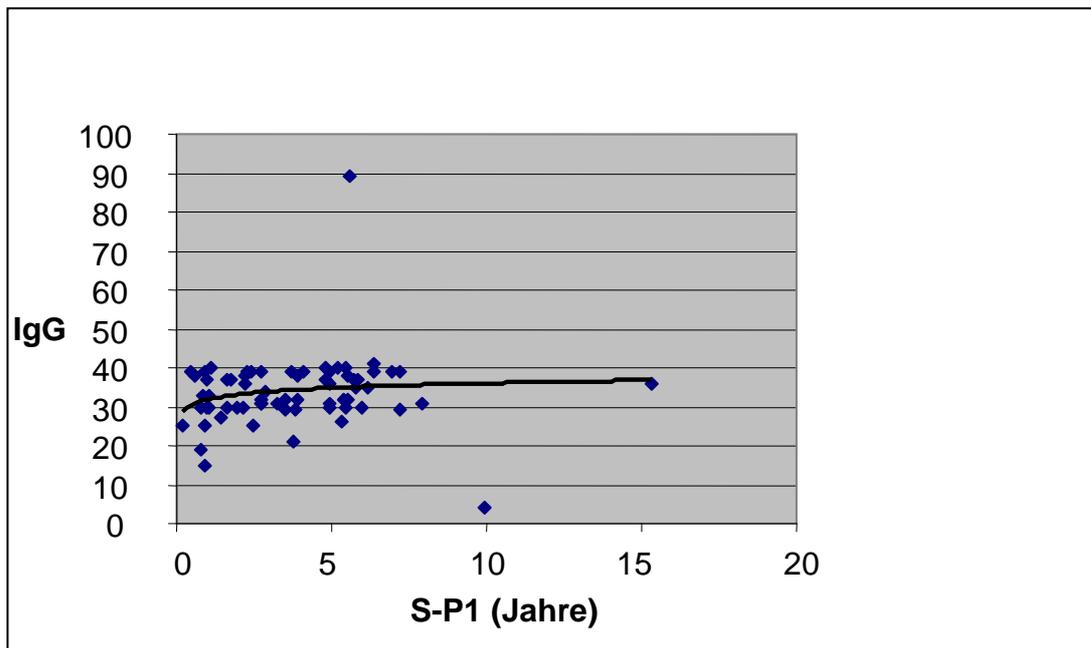
4.6.2 Serologie bei Zweitvorstellung (P1)

4.6.2.1. Einflussfaktoren auf den IgG-Antikörper-Status bei Zweitvorstellung

Bei Wiedervorstellung (P1) war das IgG nur bei einem Probanden negativ (d.h. in 98,4% der Fälle positiv).

4.6.2.1.1. Zeitspanne zwischen Symptombeginn und Zweitvorstellung (S-P1)

Graphik 10: Einfluss der Zeitspanne zwischen DF-Infektion und Untersuchung (S-P1) auf die Höhe der Dengue-IgG-AU



Dieses Punktwolkendiagramm zeigt, dass die Höhe der IgG-AU nicht relevant im Laufe der Jahre variierte. Bis auf eine Ausnahme war der IgG-ELISA bei allen Patienten positiv. Die Höhe der AU schwankte kaum (der Patient mit negativem IgG-ELISA hatte auch bei V1 schon negative IgG- bzw. IgM-Testergebnisse gehabt – möglicherweise war dieser Patient nie an einer Dengue-Virus-Infektion erkrankt).

Logistische Regression: Outcome = IgG-ELISA-Ergebnis; Variable = S-P1:

- $p = 0,07$; OR = 0,66

Lineare Regression: Outcome = IgG-AU; Variable = S-P1:

- $p \gg 0,05$

IgG-AU bei P1, in Abhängigkeit von der Dauer S-P1 (Trennwert 5 Jahre):

- Mittelwertvergleich mit T-Test (unverbundene Stichproben)

- $p = 0,17$ (<5 Jahre IgG = 32,7; ≥ 5 Jahre IgG = 36,1)

IgG-AU bei P1 in Abhängigkeit von der Dauer S-P1 (Trennwert 4 Jahre):

- Mittelwertvergleich mit T-Test (unverb. Stichproben)
- $p = 0,09$ (<5 Jahre IgG = 32,1; ≥ 5 Jahre IgG = 36,1)

IgG- AU bei P1 in Abhängigkeit von der Dauer S- P1 (Trennwert 3 Jahre):

- Mittelwertvergleich mit T-Test (unverb. Stichproben)
- $p = 0,24$ (<5 Jahre IgG = 32,3; ≥ 5 Jahre IgG = 35,1)

4.6.2.1.2. Einfluss anderer Flavivirus-Impfungen (Impfscore 2)

Graphik 11: Höhe der IgG-AU bei P1 in Abhängigkeit vom Flavivirus-Impfstatus (Impfscore)

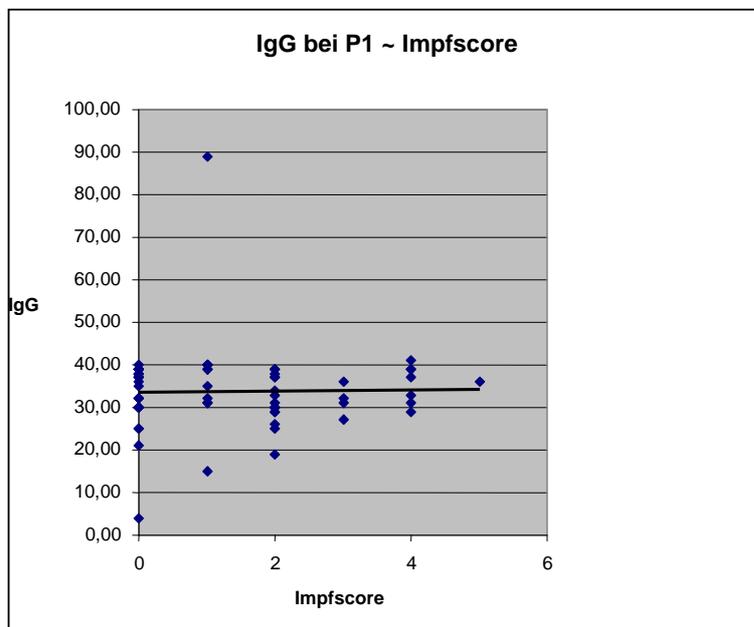


Tabelle 39: Höhe der IgG-AU bei P1 in Abhängigkeit vom Flavivirus-Impfstatus (hier: Impfscore-Gruppierung)

Impfscore	0	1-5	0-1	2-5	0-2	3-5
Anzahl	26	40	37	29	54	12
Mittelwert	32,77	34,45	34,68	32,66	33,69	34,25
Konfidenzintervall	35,77	37,75	38,52	34,54	36,45	36,73
	29,77	31,15	30,83	30,77	30,92	31,77

- Der Impfscore kann Werte von 0 bis 6 annehmen. Je mehr Flavivirus-Impfungen erfolgten und je kürzer diese zurückliegen, desto höher der Wert (siehe Begriffserklärung). Der Impfscore 2 beschreibt den Impfscore zum Zeitpunkt der Wiedervorstellung.
- Konfidenzintervalle überlappen sich allesamt, bei nahezu identischen Mittelwerten.

4.6.2.1.3 Flavivirus-Impfungen zwischen V1 und P1

Insgesamt wurden 11 Patienten zwischen der Erstvorstellung (V1) und der Wiedereinbestellung (P1) gegen eine Flavivirus-Erkrankung geimpft. Dies hatte jedoch keinen messbaren Einfluss auf die Höhe der Antibody-Units (IgG oder IgM). Die Höhe der Mittelwerte war nahezu identisch.

Tabelle 40: Einfluss von Flavivirus-Impfungen, welche zwischen der DF-Infektion und der Probeentnahme bei Wiedereinbestellung (P1) erfolgten, auf die Höhe der Antikörper-Einheiten (AU) von IgG und IgM

Patienten ...	Mittelwert IgG-AU	Mittelwert IgM-AU
mit mindestens 1 Flavivirus-Impfung zwischen V1 und P1 (n = 11)	34,7	5,6
ohne Flavivirus-Impfung zwischen V1 und P1 (n=55)	33,6	5,0

4.6.2.1.4. Andere Tropenreisen und weitere mögliche Einflussfaktoren

Die Suche nach weiteren Einflussfaktoren erübrigt sich aufgrund der uniformen Verteilung der IgG-Antibody-Units.

4.6.2.1.5. Multifaktorielle Analyse

Logistische Regression: Outcome = IgG-ELISA-Ergebnis (positiv oder negativ), Einflussvariablen: Alter, Geschlecht, S-P1, Reisestatus (Reisescore oder travel group) und Impfscore.

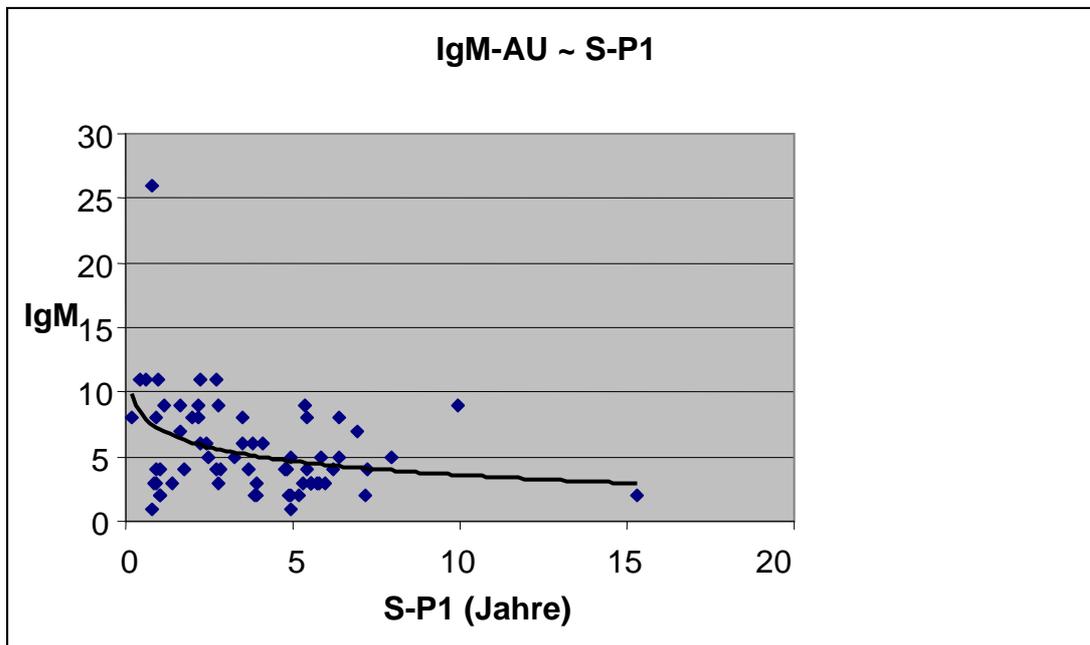
- Backward elimination (Wald). Nur eine Variable verblieb im Modell, allerdings ohne Signifikanz auf dem 5%-Niveau: S-P1 mit $p = 0,07$ und $OR = 1,5$.
- Ein Identisches Resultat (d.h. keine statistische Signifikanz) zeigte sich bezüglich des YFV- bzw FSME-Impfscores.

4.6.2.2. Einflussfaktoren auf IgM-Antikörper-Status bei Zweitvorstellung

Der IgM-ELISA war nur bei 1 von 66 Probanden positiv, bei 11 grenzwertig, bei den restlichen 54 Probanden negativ. Somit war eine weitere Untersuchung möglicher Einflussfaktoren analog zum IgG-Verlauf, nicht sehr Erfolg versprechend.

4.6.2.2.1. Zeitspanne zwischen Symptombeginn und Zweitvorstellung (S-P1)

Graphik 12: Einfluss der Zeit zwischen Dengue-Virus-Infektion und Untersuchung (S-P1) auf die Höhe der Dengue-IgM- AU



$R^2 = 0,12$. Somit konnte die Tendenz zu fallenden IgM-AU mit zunehmender Dauer zwischen Symptombeginn und Abnahme (64 Tage bis 15 Jahre) gezeigt werden. Zu beachten ist dabei jedoch, dass nur ein Wert als positives Testergebnis einzustufen ist!

IgM-AU bei P1 in Abhängigkeit von der Dauer S-P1 (Trennwert 4 Jahre).

- Mittelwertvergleich mit T-Test (unverb. Stichproben)
- $p = 0,01$ (<4 Jahre IgM = 4,3; ≥ 4 Jahre \rightarrow IgM = 6,5)

Logistische Regression: Outcome = IgM-ELISA-Ergebnis; Variable = S-P1.

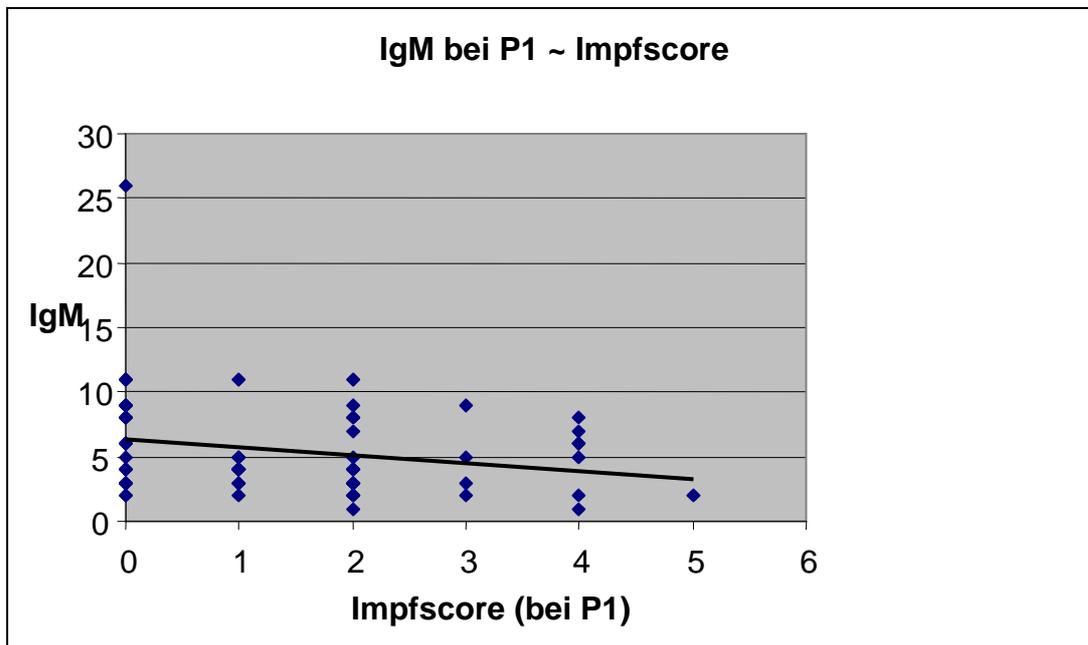
- $p \gg 0,05$

Lineare Regression: Outcome = IgM-AU; Variable = S-P1.

- $p = 0,02$; $\beta = -0,425$, Konstante = 7,142
- Je länger die Erstvorstellung zurücklag, desto niedriger waren die IgM-Units.

4.6.2.2.2. Andere Flavivirus-Impfungen

Graphik 13: Graphik: Höhe der IgG-AU bei P1 in Abhängigkeit vom Flavivirus-Impfstatus (Impfscore)



R^2 (linear) = 0,06; R^2 (expon) = 0,07. Diskrete Tendenz zu kleineren IgM-Units bei zunehmenden Flavivirus-Impfungen.

IgM- AU bei P1 in Abhängigkeit vom Impfscore (0 bzw. 1-6).

- Mittelwertvergleich mit T-Test (unverb. Stichproben)
- $p = 0,01$ (Isc. 0 IgM = 7,0; Isc. 1 - 6 IgM = 4,4)
- Es besteht ein signifikanter Unterschied der Mittelwerte

Lineare Regression: IgM-AU ~ Impfscore P1.

- $p = 0,053$; $\beta = -0,648$, d.h. Tendenz: Je höher der Impfscore, desto niedriger die IgM-Units.

Lineare Regression: IgM-AU ~ Impfscore V1

- $p = 0,03$; $\beta = -0,785$
- Je mehr Impfungen, desto niedriger waren die IgM-AU. Hierbei war der Impfscore bei Infektion wichtiger als der bei Blutentnahme.

Tabelle 41: IgM bei P1 ~ Impfscore V1

	IgM positiv oder grenzwertig	IgM negativ
Impfscore 0	9	20
Impfscore 1 - 6	3	34

Der Impfscore kann Werte von 0 bis 6 annehmen. Je mehr Flavivirus-Impfungen erfolgten und je kürzer diese zurückliegen, desto höher der Wert (siehe Begriffserklärung).

In der Gruppe der positiven bzw. grenzwertigen IgM-AU sind statistisch signifikant mehr Nicht-Geimpfte als in der Gruppe mit negativem IgM (Fisher exakter Test, $p = 0,024$).

4.6.2.2.3. Multifaktorielle Analyse

Logistische Regression: Outcome = IgM-Dengue-ELISA-Ergebnisses bei P1 (positiv oder negativ).

Einflussvariablen: Alter, Geschlecht, S-P1, Reisestatus (Reisescore oder travel group) und Impfscore.

- Backward elimination (Wald). Keine Variable verbleibt im Modell.
- Identisches Resultat mit YF- bzw. FSME-Impfung.

5. Diskussion

5.1. Diskussion der Methodik

5.1.1. Diskussion: Einschlusskriterien

Die relativ niedrige Rate an Rückmeldungen von 32% aller kontaktierter Patienten kann zumindest teilweise durch die lange Zeit zwischen Vorstellung in der Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin und Kontaktierung bezüglich Studienteilnahme erklärt werden. Diese betrug bis zu 10 Jahre. Bei circa einem Drittel der Kontaktierten war die Adresse nicht mehr aktuell und der Fragebogen postalisch nicht zustellbar. Eine Verfälschung der Studienergebnisse hierdurch ist nicht zu erwarten.

Von einer gesicherten Denguefieber-Diagnose spricht man in der medizinischen Literatur entweder bei vorliegender Virusisolierung aus Patientenmaterial, bei Virusnachweis mittels PCR, bei immunohistochemischem Nachweis in Autopsiematerial oder bei einem Titeranstieg von neutralisierenden Antikörpern (2 Serumabnahmen in akuter Phase mit Abstand von 2 Wochen). Von einer wahrscheinlichen Infektion spricht man dann, wenn ein positiver IgM-Antikörper-Nachweis vorliegt. Mögliche Diagnosen beruhen auf Anamnese, körperlicher Untersuchung und eventuell einigen hinweisenden aber unspezifischen Laborparametern (Leukopenie, Thrombopenie, Transaminasenerhöhung).

In der vorliegenden Arbeit galt jedoch als „gesicherter“ und somit in die Studie aufnehmbarer Denguefieber-Patient derjenige, der im Arztbrief die Diagnose Denguefieber erhalten hatte, ohne weitere laborchemischen Bedingungen. Es stellt sich somit die Frage, ob viele Patienten ohne Denguefieber fälschlicherweise eingeschlossen wurden („falsch positive“).

Die Diagnosestellung erfolgt in der AITM, je nach Zeitpunkt der Vorstellung, aus einer Kombination von entsprechender Reiseanamnese, hinweisender klinischer Symptomatik, Thrombo- bzw. Leukopenie sowie einer positiven Serologie (ELISA) und selten auch basierend auf PCR-Resultaten. Die Arztbriefe werden in der AITM per Computer erstellt; hierbei sucht sich der Arzt die passende Diagnose aus einer Liste raus und kann per Tastenklick den Zusatz „Verdacht auf“ bzw. „Ausschluss von“ vor die Diagnose setzen. Bei einer nur vermuteten Dengue-Virus-Infektion geben die Ärzte als Diagnose nicht Dengue-Virus-Infektion, sondern „Verdacht auf Dengue-Virus-Infektion“ an. Auf diese Weise kodierte Patienten wurden jedoch bei der initialen Auswahl nicht mit berücksichtigt, aus Angst vor einer zu großen Zahl falsch positiver Probanden. Der sich daraus ergebende Nachteil war eine geringere Anzahl an Studienteilnehmern, was sich wiederum ungünstig auf die statistische Aussagekraft auswirkt. Die Diagnose „Zustand nach Dengue-Virus-Infektion“ wird bei Patienten gestellt, welche sich nicht mit einer akuten Dengue-Virus-Infektion in der AITM vorstellten (z.B. Tropentauglichkeitsuntersuchung, „Check-Up“ nach längerem Tropenaufenthalt, andere akute Infektion). Sie wurden nicht in die Studie aufgenommen, da sich bei ihnen kein genauer Infektionszeitpunkt bestimmen ließ.

Ein einzelnes positives Dengue-ELISA-Ergebnis hat einen geringen positiven prädiktiven Wert und nach Wichmann et al. eine falsch positive Rate von 42,5%. In Zusammenschau mit anderen

Laborwerten (Thrombo- und Leukopenie) wird jedoch ein positiver prädiktiver Wert von über 90% erreicht [20]. Die Einschlusskriterien der vorliegenden Studie, welche nicht die zu einer sicheren Denguediagnose führenden Kriterien enthalten, können als weich bezeichnet werden. Sie ermöglichen den Einschluss einer gewissen Anzahl von falsch positiv Diagnostizierten. Die Gründe für die Festlegung auf solch „weiche“ Einschlusskriterien waren vielfältig. Im klinischen Alltag stellen sich nur wenige Patienten innerhalb der ersten 4-5 Tage vor. Somit sind Virusisolierung und PCR-Nachweise, selbst wenn diese routinemäßig bei jedem Verdächtigen praktiziert würden, ein seltener Befund. Diese Nachweismethoden als Einschlusskriterium zu wählen, hieße eine so niedrige Fallzahl in Kauf zu nehmen, dass statistisch verwertbare Aussagen nicht mehr möglich wären.

Auf das Kriterium eines nachgewiesenen Titeranstieges wurde aus zwei Gründen verzichtet. Zum einen ist der klinische Verlauf bei vielen Patienten sehr günstig, so dass diese nach Genesung den oftmals weiten Weg zur Wiedervorstellung nicht antreten. Somit wäre auch hier die Fallzahl deutlich geringer ausgefallen und eine statistische Signifikanz nicht erreicht worden. Der zweite und mit Abstand wichtigste Grund ist jedoch der, dass in der vorliegenden Arbeit der Einfluss von Flavivirus-Impfungen auf die Dengue-Virus-Antikörperproduktion untersucht werden sollte. Falls per definitionem nur Patienten mit einem gewissen Antikörperverhalten eingeschlossen würden, dann wäre eine solche Untersuchung nicht mehr sinnvoll möglich gewesen.

Aus oben genannten Gründen wurden die Einschlusskriterien wie beschrieben gewählt und der mögliche Einschluss einzelner, falsch positiv diagnostizierter Patienten toleriert. Nur so war eine sinnvolle Untersuchung des Einflusses von Flavivirus-Impfungen auf die Bildung von Dengue-Antikörper möglich.

Die ideale Studienpopulation wären Reisende gewesen, die sich bei ihrer ersten und einzigen Tropenreise mit dem Dengue-Virus infizierten und somit, aufgrund ihrer Reiseanamnese, gesichert eine Dengue-Virus-Erstinfektion hatten. Dies war jedoch nicht möglich, da sich ein großer Teil der Patienten mehrfach in den Tropen aufgehalten hatte. Sofern die Patienten anamnestisch über ungeklärte, mit Denguefieber vereinbare Symptome während einer anderen Reise berichteten, wurden sie ausgeschlossen. Da die meisten Zweitinfektionen symptomatisch verlaufen, konnte so mit ausreichender Sicherheit vermieden werden, Patienten in die Studie einzuschließen, welche zwischen V1 und P1 eine Zweitinfektion erlitten hatten.

Diejenigen, welche sich vor V1 und der zur Vorstellung in unserem Institut führenden Reise bereits in den Tropen aufgehalten hatten, sind problematischer, da eine Erstinfektion in der Regel nicht symptomatisch verläuft. Dies waren immerhin 62,1% der Patienten. Allerdings betrug die durchschnittliche mediane Reisedauer 10 Wochen; somit ist es statistisch gesehen nicht sehr wahrscheinlich, dass eine relevante Anzahl der Reisenden in dieser Zeitperiode eine asymptomatische Dengue-Virus-Infektion erlitt.

Des Weiteren wurden Tropenreisen bei der statistischen Auswertung als mögliche Einflussvariable berücksichtigt (travel group, Reisescore). Diese Variable erwies sich bei keiner Untersuchung als signifikant. Somit ist es sehr unwahrscheinlich, dass sich im untersuchten Kollektiv eine relevante Anzahl an Zweitinfizierten befindet.

5.1.2. Diskussion: Dengue-ELISA

Wichmann et al. zeigten, dass ein einzelnes positives Dengue-ELISA-Ergebnis nur einen geringen positiven prädiktiven Wert hat [20]. So gelten z.B. die Neutralisationstests als spezifischere serologische Nachweismethode. Die folgende Tabelle liefert eine kurze Übersicht über die verschiedenen serologischen Nachweismethoden.

Tabelle 42: Übersicht der verschiedenen serologischen Nachweismethoden

<p>Hämagglutination-Inhibitions-Test (HI)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Standardmethode während vieler Jahre • hohe Sensitivität • Antikörper bis 48 Jahre oder mehr nachweisbar (gut für seroepidemiologische Studien und um 1. von 2.-Infektionen zu unterscheiden) • Erstinfektion: Antikörper ab Tag 5 oder 6 nachweisbar, niedrige Titer • Zweit-Infektion deutlich höhere Titer (somit sind hohe Antikörper-Titer in akuter Phase Hinweis auf eine Zweitinfektion) <p><u>Nachteile:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • wenig spezifisch (stark kreuzreagierend) • Notwendigkeit von gepaarten Proben • kann Serotypen nicht unterscheiden • kompliziert in der Durchführung 	<p>Komplementfixationstest (CF)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Antikörper erscheinen etwas später als HI-Antikörper • Antikörper weniger lang nachweisbar als HI-Antikörper • somit: weniger sinnvoll für seroepidemiologische Studien • hohe Spezifität bei Primärinfektionen • Serotyp bestimmbar <p><u>Nachteile:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • schwierig in Durchführung, benötigt hochqualifiziertes Personal um präzise Ergebnisse zu erzielen • selten angewandt
<p>Neutralisationstest (NT)</p> <ul style="list-style-type: none"> • höchste Sensitivität und Spezifität • lange Nachweisbarkeit • Serotyp bei Primärinfektion zuverlässig bestimmbar • bei Zweit- oder Drittinfektionen Serotypbestimmung nicht zuverlässig möglich <p><u>Nachteil:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • hohe Kosten • komplizierte und zeitaufwendige Durchführung 	<p>ELISAs</p> <p>Der beste Test in Bezug auf:</p> <ul style="list-style-type: none"> • hohe Sensitivität • einfache Durchführbarkeit • IgM-ELISA: IgM meist innerhalb von 5 Tagen nachweisbar, keine zweite Serumprobe zur Diagnosestellung notwendig • IgM deutlich höher bei Erst-Infektion gegenüber Zweit-Infektion • Spezifität vergleichbar mit der von HI bei Erst- und Zweit-Infektionen <p><u>Nachteile:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • ELISA weniger sensitiv als HI-Test bei gepaarter Serumanalyse bei akuter Erkrankung. • Serotypisierung nicht möglich. • IgG-ELISA: kann helfen Erst- von Zweit-Infektionen zu unterscheiden; Geringe Spezifität, Kreuzreaktion mit Flaviviren

Wie die Untersuchung von Donoso Mantke et al zeigen ist die serologische Diagnosestellung nicht banal. Sie führten eine Qualitätskontrolluntersuchung bezüglich der Dengueserologie in Deutschland durch. 71% der teilnehmenden Labors meldeten korrekte Resultate bei IgG positiven Proben, 89% bei IgG negativen Proben. Bei IgM positiven Proben waren es nur 58%, bei IgM negativen 97% [22]. Dies unterstreicht die Wichtigkeit des Einsetzens eines Testes, der im klinischen Alltag der AITM verwendet wird.

Wie gut sind ELISAs in der Lage Dengue-Antikörper nachzuweisen? Hierzu gibt es einige Untersuchungen.

Hunsperger et al. untersuchten 9 verschiedene Dengue-IgM nachweisende Tests (5 ELISAs, 4 Schnelltests). Die Untersuchungen von 350 gut definierten, unterschiedlichen Seren (Dengue IgM positiv und negativ, von Primär- und Sekundärinfektionen, Seren von Patienten mit durchgemachten Flavivirus-Infektionen, fieberhaften Infekten, Malaria, Rheumafaktor, SLE etc.) erfolgten in 7 verschiedenen Labors in Asien und auf dem amerikanischen Kontinent. Als Referenz galt ein Standard-ELISA, welcher vom CDC in Atlanta sowie dem Armed Forces Research Institute of Medical Science in Bangkok benutzt wurde. Insgesamt gab es wenig Unterschiede zwischen den verschiedenen teilnehmenden Labors. Die Durchschnittsensitivitäten der ELISA waren 61,5 bis 99%, die Spezifitäten 79,9 bis 97,8%, wobei der am wenigsten sensitive Test gleichzeitig der spezifischste war. Die RDTs (Schnelltests) zeigten durchschnittliche Sensitivitäten von 20,5 bis 97,7% und Spezifitäten von 76,6 bis 90,6%. Keine dieser 9 Tests hatte einen ausreichenden Kappa Wert im Vergleich zu den Referenzmethoden [26].

Neuere RDT-Methoden machen vom lateral flow Prinzip Gebrauch mit dem Vorteil, dass die Probe direkt mit einer Pufferlösung auf den Teststreifen gebracht werden kann. Tran Thi Thanh Nga et al. verglichen zwei solcher Tests (PanBio Duo cassette und SD Bioline strip test) bei 200 febrilen, vietnamesischen Patienten. Hierbei schnitt PanBio besser ab, mit einer Sensitivität von 54,3% bei einer Spezifität von 69,7% (IgM-Nachweis) bzw. 70,0% und 88,3% (IgG-Nachweis) [27].

In einer anderen Studie schnitt der kommerzielle capture ELISA (Pan Bio Dengue Duo) für spezifische IgM und IgG deutlich besser ab: Hier war die Sensitivität 99% (n=78) bei Seren welche bei Entlassung aus dem Krankenhaus abgenommen wurden. Der ELISA konnte 79,5% der Denguefieber-Diagnosen bei Aufnahme stellen [28].

In einer in Nicaragua von Balmaseda et al. durchgeführten Studie an 147 Patienten mit Denguefieber verdächtiger Symptomatik konnten bei 67 von 72 Fällen mit nachgewiesenen IgM-Antikörpern im Serum auch IgM-Antikörper in der Speichelflüssigkeit nachgewiesen werden. Des Weiteren war die Speichelprobe bei 6 der 75 Serum-negativen Proben positiv auf IgM-Antikörper getestet worden. In der Kontrollgruppe gab es keine positiven Speichelproben. Insgesamt zeigte der IgM-Antikörper-Nachweis im Speichel einen positiven prädiktiven Wert (PPW) von 91,5% und einen negativen prädiktiven Wert (NPW) von 90,8% und war in 91,2% konkordant mit der Serumprobe [29].

Wie die soeben erwähnten Studien bereits andeuten spielt der Zeitpunkt der Untersuchung eine große Rolle.

Eine Studie an 57 schwedischen Reiserückkehrern, bei denen per Anamnese, körperlicher Untersuchung sowie serologisch (gepaarte Seren) eine Dengue-Virus-Infektion diagnostiziert wurde, zeigte, dass bei 75,4% der Patienten IgM-Antikörper nach 5 oder mehr Tagen nachweisbar waren, jedoch nur bei 14,0% innerhalb der ersten 4 Tage [23]. Eine Studie an 23 vietnamesischen und 20 deutschen Patienten, allesamt rekrutiert nach den Kriterien Dengue-PCR Positivität und Vorhandensein von konsekutiven Serumproben, zeigte, dass bei keinem Patienten mit Erstinfektion innerhalb der ersten 3 Tage IgM-Antikörper nachgewiesen werden konnten. Während der Tage 4 bis 7 und nach dem 7. Tag wurden bei 55% bzw. 94% IgM Antikörper nachgewiesen [24].

Wie sehr der Zeitpunkt der Untersuchung die Sensitivität der Meßmethode beeinflusst, demonstriert zusätzlich eine kolumbianische Studie zur Evaluierung der Denguefieber-Diagnose per IgM-Antikörper-Nachweis mittels ELISA. In die Studie eingeschlossen waren 167 Patienten mit akutem Denguefieber und 225 mit akutem febrilem Syndrom. Die Sensitivität betrug hier lediglich 29,9%, die Spezifität lag bei 99,1%, der PPW bei 96,2%, der NPW bei 65,6%. Die geringe Sensitivität erklärt sich durch den frühen Zeitpunkt der Blutentnahme: Die Seren wurden bereits innerhalb der ersten 96 Stunden nach Symptombeginn abgenommen. Die serologische Diagnosestellung benötigte somit in den allermeisten Fällen eine zweite Blutentnahme zu einem späteren Zeitpunkt [25].

Der ELISA hat sich international als Standardmethode zum Nachweis von Dengue-Antikörpern etabliert. Des Weiteren wird er in der AITM routinemäßig angewendet. Somit wurde die vorliegende Arbeit selbstverständlich mit diesem Testverfahren durchgeführt, da die Ergebnisse einen Bezug zum klinischen Alltag haben sollten. Die Spezifität und Sensitivität des ELISAs variiert je nach Hersteller, Studie, Vorinfektionen des Patienten und natürlich dem Zeitpunkt der Untersuchung nach Symptombeginn. In absehbarer Zukunft werden sicherlich noch bessere Verfahren zur Verfügung stehen.

Da sich die Mitarbeiter der AITM bei der Diagnosestellung nicht nur auf ein positives ELISA-Ergebnis stützen, sondern die Anamnese und weitere Laboruntersuchungen mit einbeziehen, ist bei dem hier untersuchten Patientenkollektiv von keiner großen Anzahl falsch positiver Befunde auszugehen.

5.2. Patienten / Inzidenz / Reiseland

Insgesamt erfüllten 66 Patienten die Einschlusskriterien. Das Durchschnittsalter bei Erstvorstellung war 37 Jahre, 59,1% waren Frauen. Zwischen Symptombeginn und Erstvorstellung in unserem Institut vergingen im Median 10 Tage. Circa 60% der Patienten wurden innerhalb der ersten 2 Wochen nach Symptombeginn vorstellig. Die Zweitvorstellung zwecks Studie erfolgt im Median nach 2,3 Jahren (64 Tage bis 15 Jahre, Mittelwert 4 Jahre).

43,9% der 66 Probanden hatten bei Erstvorstellung noch nie eine Flavivirus-Impfung im Laufe ihres Lebens erhalten und waren auch nie wissentlich an einer Flavivirus-Infektion erkrankt. 39,4% hatten

mindestens eine Gelbfieber-Impfung in ihrem Leben bekommen, 36,4% waren gegen FSME und 10,6% gegen die Japanische Enzephalitis geimpft.

Alle Patienten der AITM werden bei Ihrer Aufnahme zu bestimmten Themen befragt (z.B. Reiseziel, Reisedauer, vorherige Reisen, Allergien und Impfungen). Anhand dieses Selbstauskunft-Fragebogens können Impfdaten ermittelt werden. In der vorliegenden Studie wurde jedoch der Impfstatus sehr gründlich evaluiert, und sich nicht nur auf die Impfanamnese verlassen. Die Durchsicht des Impfpasses ermöglichte ein genaues Erfassen der tatsächlich erhaltenen Impfungen. Die reale Impfrate lag deutlich über der aus den Selbstauskünften errechneten.

Frauen waren etwas öfters geimpft als Männer; dieser Trend war jedoch statistisch nicht signifikant.

37,9% der Patienten hatten sich vor der zur Dengue-Virus-Infektion führenden Reise nie in den Tropen aufgehalten, während 30,3% sowohl vor als auch nach Erstvorstellung, in den Tropen unterwegs gewesen waren.

70% der Patienten bekamen ihre Dengue-Virus-Infektion während einer im Median 4 Wochen dauernden Reise in Asien, 27,3% in Lateinamerika, 3,0% in Afrika. In Asien waren die drei am meisten bereisten Länder Thailand (30,3% aller Reisenden), Indischer Subkontinent (24,2%) und Indonesien (10,6%).

Daten von TropNetEurope aus den Jahren 1999 bis 2001 zeigten eine vergleichbare geographische Verteilung. So erwarben circa 23,3% ihre Denguefieber-Infektion in Südostasien, 22,9% auf dem indischen Subkontinent, 6,5% in Indonesien. 38,5% infizierten sich in Lateinamerika oder der Karibik [47]. Es ist dennoch schwierig, das in den einzelnen Ländern vorherrschende Risiko einer Dengue-Virus-Infektion aus diesen Daten abzuschätzen, da keine genauen Angaben bestehen, wie viele Leute in Dengue-Endemiegebiete reisten. Berichte von der World Tourism Organisation zeigen, dass in etwa 2-3mal mehr Menschen in Südostasien als auf dem indischen Subkontinent ihren Urlaub verbringen, obwohl die Anzahl an Denguepatienten aus letztgenannter Region nur geringfügig kleiner ist, so dass das Risiko hier als höher eingestuft werden muss, zumindest in der Zeitspanne von 1999 bis 2001 [48]. Das Risiko einer Infektion kann jedoch saisonal und von einem Jahr aufs andere sehr stark schwanken.

Generell gilt jedoch Südostasien als die am stärksten betroffene Region weltweit. So ist in Vietnam die Inzidenz von Primärinfektionen höher als 10% [49]. Einige Autoren schreiben, dass Reisende in Südostasien ein höheres Risiko haben an Denguefieber zu erkranken als in anderen Gegenden. Bei Tropenrückkehrern mit Fieber liegen bei 7 bis 45% serologische Hinweise auf eine akute Dengue-Virus-Infektion vor [50] [51] [47] [52].

5.3. Verlauf der Dengue-Antikörper

Von 59 der 66 Patienten konnte asserviertes Serum der Erstvorstellung (Serum V1) gefunden werden und somit nach Einflussfaktoren auf das ELISA-Ergebnis und die Höhe der IgM- und IgG-AU gesucht werden.

Bei Erstvorstellung war der IgM-ELISA bei 42% positiv, der IgG-ELISA bei 88%.

Zunächst überrascht der hohe Prozentsatz positiver IgG-Ergebnisse bei V1, vor allem in Anbetracht der Tatsache, dass sich insgesamt 58% dieser Patienten innerhalb von 14 oder weniger Tagen nach Symptombeginn, 42% sogar innerhalb der ersten 7 Tage vorgestellt hatten.

Dabei war der IgG-ELISA bei 79% der Patienten mit Vorstellung innerhalb der ersten 14 Tage nach Symptombeginn positiv und bei 72% derjenigen, welche sich innerhalb der ersten Woche vorstellten.

Der IgM-ELISA hingegen war nur bei 44% der Patienten, die sich innerhalb der ersten zwei Wochen nach Symptombeginn vorgestellt hatten, positiv. Bei Vorstellung innerhalb der ersten Woche sank diese Zahl auf 36%.

Die Zeitspanne zwischen Symptombeginn und Probenentnahme war, neben dem Impfscore, wie im folgenden Kapitel dargestellt, der wichtigste Einflussfaktor auf den IgG-Antikörper-Status bei Erstvorstellung (V1). IgG war statistisch signifikant häufiger positiv, wenn der Erkrankungsbeginn mehr als eine Woche zurückliegt ($p = 0,01$; $RR = 1,4$). Des Weiteren waren die IgG-AU signifikant höher, wenn der Erkrankungsbeginn mehr als 7 Tage zurücklag, als wenn dies nicht der Fall war (36 bzw. 26 AU).

Die IgG-ELISA-Ergebnisse oder die Höhe der IgG-AU korrelierten nicht mit dem Reisescore oder der travel group. Die Höhe der IgG-AU korrelierte also nicht mit der insgesamt in den Tropen verbrachten Zeit. Dies deutet darauf hin, dass die meisten Leute trotz mehrerer Tropenreisen nur eine Dengue-Virus-Infektion bekommen hatten, nämlich die, welche zur Vorstellung in unserem Institut führte. Alter und Geschlecht hatten ebenfalls keinen Einfluss auf das Ergebnis.

Die IgM-Antikörper-Bildung korrelierte lediglich mit dem Impfscore, wie im folgenden Kapitel genauer dargestellt, wobei stattgefundenen Flavivirus-Impfungen zu einer signifikant geringer ausgeprägten Dengue-Virus-IgM-Produktion führten. Dass die Zeitspanne S-V1 keinen signifikanten Einfluss auf den IgM-Antikörper-Status hatte, liegt zum einen an den vielen Patienten mit Flavivirus-Impfungen und zum anderen wahrscheinlich daran, dass sich 13 Patienten entweder sehr früh (≤ 3 Tage) bzw. sehr spät (≥ 120 Tage) nach Symptombeginn vorstellten und somit eine IgM-Immunantwort noch nicht bzw. nicht mehr stattfand. Mehrfache Tropenreisen, Alter und Geschlecht hatten auch hier keinen Einfluss auf das Ergebnis.

Bei Wiedervorstellung (P1) nach im Median 2,3 Jahren (Mittelwert 3,8 Jahre) war der IgG-ELISA nur bei einem Probanden negativ, d.h. in 98% der Fälle positiv. Möglicherweise handelte es sich bei diesem Probanden um eine falsch positiv diagnostizierte Dengue-Virus-Infektion, da bei ihm auch bei

Erstvorstellung keinerlei Antikörper nachweisbar waren. Des Weiteren schwankte die Höhe der AU kaum: Somit waren Einflussfaktoren auf den Verlauf des IgG im von der vorliegenden Studie überblickten Zeitrahmen, nicht auszumachen. Weder die Zeitspanne S-P1 noch der Flavivirus-Impfstatus (Impfscore oder die einzelnen Impfungen), das Alter, das Geschlecht, die Höhe der AU bei V1 noch andere Tropenreisen beeinflussten die Höhe der IgG-AU bei P1.

Somit kann lediglich die Aussage getroffen werden, dass die IgG-AU, abgesehen von einer Ausnahme, bei allen untersuchten Personen positiv waren und dass die Höhe der AU unabhängig von anderen Einflussfaktoren war. Die untersuchte Zeitspanne reichte hierbei von 64 Tagen bis 15 Jahre nach Erstinfektion.

Dass Dengue-Antikörper nach einer einmaligen Exposition eine lange Zeit persistieren können, wurde bei einer Untersuchung von 7 Probanden nachgewiesen, welche Symptome während einer Dengue-Virus-Epidemie auf Hawaii im Jahre 1943 präsentierten, welche mit Denguefieber zu vereinbaren waren. Bei 4 von ihnen konnten im Jahre 2007, also mehr als 60 Jahre später, Dengue-1 spezifische IgG-Antikörper nachgewiesen werden (Neutralisationstest) [46]. Wie Guzman et al. zeigten, verändert sich die Zusammensetzung der produzierten Antikörper im Laufe der Zeit. So nimmt der Titer von heterologen neutralisierenden Antikörpern (d.h. mit anderen DENV-Serotypen kreuzreagierend) ab, wohingegen der Titer der homologen neutralisierenden Antikörper zunimmt [45]. Aufgrund fehlender labortechnischer Möglichkeiten konnten bei vorliegender Arbeit keine neutralisierenden Antikörper bestimmt werden und somit konnte nicht zwischen homolog und heterolog neutralisierenden Antikörpern differenziert werden.

Das IgM war nur bei 1 von 66 Probanden bei Wiedervorstellung (P1) positiv, bei 11 grenzwertig, bei den restlichen 54 Probanden negativ. Eine lineare Regression zeigte einen statistisch signifikanten, inversen Zusammenhang zwischen Zeitspanne S-P1 und Höhe der IgM-AU. Die Mittelwerte der IgM-AU waren in der Gruppe der weniger als 4 Jahre nach Symptombeginn Untersuchten höher als bei denen, die mehr als 4 Jahre nach Erkrankung untersucht wurden (6,5 bzw. 4,3; $p = 0,01$). Hierbei muss allerdings beachtet werden, dass dieser Unterschied zwar statistisch signifikant ist, aber ohne klinische Relevanz, da beide Werte, bei einem Trennwert von 12, als negativ einzustufen sind.

Ebenso waren die IgM-Mittelwerte bei den Nicht-Geimpften höher als bei denen mit mindestens einer Flavivirus-Impfung (7,0 bzw. 4,4; $p = 0,01$). Auch dieser Unterschied ist zwar statistisch signifikant, aber nicht relevant, da beide Werte erneut als negatives Testergebnis zu interpretieren sind. Hierbei war der Impfstatus bei Erstvorstellung (V1) ausschlaggebend und nicht derjenige bei Zweitvorstellung (P1). Je höher der Impfscore bei V1, desto niedriger waren die IgM-AU. Die gleichen Untersuchungen mit dem Impfscore bei P1 ergaben zwar den gleichen Trend, waren aber nicht mehr signifikant. Des Weiteren konnte kein Einfluss der Impfungen, welche zwischen V1 und P1 gegeben wurden, auf die Höhe der IgM-AU gezeigt werden. Allerdings hatten nur 11 Patienten zwischen V1 und P1 weitere Flavivirus-Impfungen erhalten. Zusammenfassend konnte also gezeigt werden, dass die Höhe der IgM-AU im Laufe der Zeit kontinuierlich abnahm und dass dies, anders als bei IgG, vom Flavivirus-Impfstatus des Infektionszeitpunktes beeinflusst wird, wobei Geimpfte weniger IgM bildeten als Ungeimpfte.

5.4. Kreuzreaktionen mit anderen Flavivirus-Antikörpern

Es ist aus einigen Untersuchungen bekannt, dass Antikörper, welche nach einer Flavivirus-Infektion gebildet wurden, mit verwandten Flaviviren kreuzreagieren können.

Bei einer Untersuchung beispielsweise hatten 45% der Patienten mit Japanischer Enzephalitis ein positives Dengue-IgG-ELISA-Ergebnis. IgM war jedoch nicht erhöht [28]. Houghton et al zeigten, dass bei 10 von 13 (76%) Patienten mit Gelbfieber-Infektion auch Dengue-IgG Antikörper im ELISA nachweisbar waren und bei 6 IgM-AK (42%). Umgekehrt wiesen 85% der Patienten mit durchgemachter Dengue-Virus-Infektion neutralisierende Gelbfieberantikörper auf [21].

Untersuchungen von Dobler et al. zeigten bei 20 Patienten mit akuter Dengue-Virus-Infektion im Immunfluoreszenztest (nicht jedoch im Neutralisationstest) eine erhebliche Kreuzreaktivität mit dem FSME-Virus [40]. Auch wurde deutlich, dass Flavivirus-Geimpfte eine Immunantwort zeigen, welche deckungsgleich mit der Immunreaktion bei einer Dengue-Zweitinfektion ist (secondary immune response).

Die Gelbfieber-Impfung führte bei einer Untersuchung von Houghton et al bei 8 von 19 Patienten zu einer Serokonversion des Dengue-IgM ELISA (gemessen 21 Tage nach Impfung) [21].

Ein vergleichbares Resultat zeigte Holzmann et al.. Seine Forschungsgruppe untersuchte Seren von Patienten mit Dengue-Virus-Infektion oder Gelbfieber-Impfung und stellte signifikante Spiegel von Antikörpern im FSME-ELISA und HI-Test fest. Neutralisierende Antikörper gegen FSME konnten jedoch nicht nachgewiesen werden [41].

Allwinn et al. untersuchten den Einfluss von FSME bzw. Gelbfieber-Impfung auf Dengue-Antikörper-Tests (n=80). Diese zeigten eine Kreuzreaktion bei 15,1% der Gelbfiebergeimpften sowie bei 9,5% der FSME-Geimpften. Die Proben von an FSME-Erkrankten zeigten nicht nur die höchsten FSME-Antikörper-Titer, sondern waren auch hoch kreuzreagierend gegen Dengue-Virus-Antigen [42].

Kayser et al. untersuchten die Antikörper-Antwort gegen diverse Flaviviren nach Applikation einer FSME-Impfung mit verschiedenen serologischen Methoden (HI, ELISA, PRNT). Hierbei wurden zwei Gruppen unterschieden: Solche mit vorangegangener Gelbfieber-Impfung und solche ohne. In der Gelbfieber-Gruppe erschienen die Antikörper, welche vorwiegend gegen FSME reagierten (FSME-IgG), früher und in höheren Titern als bei der Kontrollgruppe. Heterologe, mit der WNV-Gruppe der Flaviviren kreuzreagierende HI-Antikörper konnten vor homologen HI-Antikörper nachgewiesen werden. Eine gegen viele Flaviviren kreuzreagierende, breite HI-Antwort wurde nachgewiesen und in circa der Hälfte der Fälle zeigten sich niedrigtitrige heterotype DENV-2 neutralisierende Antikörper [43].

Eine Untersuchung in Sevilla und im Umland bezüglich der WNV-Prävalenzuntersuchung zeigte bei 5 von 504 Personen IgG Antikörper gegen West Nile Virus (ELISA). 3 davon zeigten eine Kreuzreaktion

mit Dengue-ELISA, obwohl keinerlei Reisen in Dengue-Virus-endemische Gebiete stattgefunden hatten. Eine IgG Antwort gegen FSME-Virus konnte jedoch bei keinem nachgewiesen werden [3].

Bei 82 gegen JE oder Gelbfieber geimpften israelischen Reisenden war der IgM-ELISA in jedem Fall negativ und somit sehr spezifisch. Der IgG-ELISA allerdings war bei 11-17%, bzw. 15-44% der JE bzw. Gelbfiebergeimpften positiv [44].

Tabelle 43: Nachweisbarkeit von Dengue-Antikörpern bei Flavivirus-Infizierten oder -Geimpften ([3], [21], [28], [40], [42], [87])

Antikörper	Dengue-IgM	Dengue-IgG
Probanden mit...		
YF-Impfung	0 - 42,1%	15.1 - 44%
YF-Infektion	42%	76%
JE-Impfung	0%	11 - 17%
JE-Infektion	0 - 13%	45%
FSME-Impfung	-	9,5%
WNV-Infektion	-	60%

Zusammenfassend zeigen diese Studien, dass Infektionen mit bzw. Impfungen gegen YF, FSME und JE sowie auch die WNV-Infektion die Bildung von Antikörpern anregen, welche mit Dengue-Antigen kreuzreagieren können. Des Weiteren zeigen die Studien, dass auch eine Dengue-Virus-Infektion zur Bildung kreuzreagierender Antikörpern führt (z.B. mit FSME-, YF- und JE-Antigen).

Die Auswirkung dieser Kreuzreaktionen auf den klinischen Alltag ist jedoch wenig untersucht. In vorliegender Arbeit wurde jedoch deutlich, dass die Diagnosestellung einer Dengue-Virus-Infektion durchaus beeinflusst werden kann durch vorherige Flavivirus-Impfungen.

Bei der Untersuchung von möglichen Einflussfaktoren auf die Ergebnisse des IgG-ELISA bei Erstvorstellung zeigte sich, dass bei Patienten, die gegen mindestens eine Flavivirus-Art geimpft waren (Isc. 1-6), der IgG-ELISA signifikant häufiger positiv war, als bei solchen ohne Flavivirus-Impfung (Isc. 0) ($p = 0,02$; $RR = 1,3$). Gleiches zeigte sich bei einer logistischen Regression. Die Wahrscheinlichkeit eines positiven IgG-ELISA-Ergebnisses bei V1 stieg bei Vorliegen von zumindest einer Flavivirus-Impfung ($p = 0,04$; $OR = 10,4$). Diese hohe OR reduzierte sich bei einer multifaktoriellen Analyse auf 7,4 (allerdings war der p Wert leicht größer als 0,05).

Die gleichen Untersuchungen bezüglich der einzelnen Flavivirus-Impfungen (YF und FSME) konnten zwar den gleichen Trend, aber keinen statistisch relevanten Zusammenhang zwischen Wahrscheinlichkeit eines positiven IgG-ELISA und jeweiliger Impfung nachweisen.

Des Weiteren zeigten Mittelwertvergleiche der Flavivirus-Geimpften mit den Nichtgeimpften (Isc. 1-6 bzw. Isc. 0), dass Ungeimpfte signifikant niedrige IgG-AU hatten (25 bzw. 36; $p = 0,01$). Gleiches gilt für Gelbfieber- und FSME-Impfungen; auch hier zeigten die Nicht-Geimpften niedrigere IgG-AU (YF: 28 bzw. 36, $p = 0,01$; FSME: 29 bzw. 36; $p = 0,02$).

Dieser Zusammenhang beruhte teilweise auf einem Confounding-Effekt durch die Zeitspanne zwischen Symptombeginn und Erstvorstellung (S-V1); so waren in der Gruppe der Flavivirus-Geimpften mehr Patienten, die sich 14 Tage oder später nach Symptombeginn vorstellten.

Bezüglich der Ergebnisse des IgM-ELISA bei Erstvorstellung zeigte sich ein umgekehrter Zusammenhang zwischen Positivität des IgM-ELISA und der Impfscore-Gruppierung. Die Nicht-Geimpften hatten eine höhere Wahrscheinlichkeit eines positiven IgM-Ergebnisses ($p = 0,03$; OR = 3,3). Auch hier war ein gewisser, wenngleich geringer ausgeprägter Confounding-Effekt von S-V1 auszumachen. Die Untersuchungen des Einflusses der Gelbfieber bzw. FSME-Impfungen auf die Positivität des IgG-ELISAs zeigten den gleichen Trend jedoch keine statistische Signifikanz ($p > 0,05$).

Die Mittelwerte der IgM-AU waren bei den Nicht-Geimpften höher als bei den Geimpften (23 bzw. 11; $p = 0,01$). Die Nicht-Geimpften Denguefieber Patienten zeigten also einen IgM Mittelwert, der eindeutig positiv war. Die Geimpften hingegen hatten einen als grenzwertig einzustufenden IgM-AU-Mittelwert.

Betrachtete man nur die Gelbfieber-Impfung bzw. die FSME-Impfung, dann sah man zwar den gleichen Trend, aber keinen statistisch relevanten Unterschied der IgM-AU-Mittelwerte (Gelbfieber, $p = 0,30$; FSME $p = 0,13$).

Die multiple logistische Regression zeigte, dass dieser Zusammenhang zwischen Impfung und IgM-ELISA-Ergebnis auch nach Adjustierung für Zeitpunkt der Vorstellung, frühere Tropenreisen, Alter und Geschlecht signifikant blieb.

Tabelle 44: Durchschnittliche ELISA-Ergebnisse bei V1 je nach Flavivirus-Impfstatus

	Ohne Flavivirus-Impfung	Mit Flavivirus-Impfung
IgM-AU	23 = positiv	11 = grenzwertig
IgG-AU	25 = positiv	36 = positiv

Im klinischen Alltag kann, bei Verdacht auf eine Dengue-Virus-Infektion aus verschiedenen Gründen (Symptombeginn liegt länger als 5 bis 7 Tage zurück, logistische oder finanzielle Erwägungen etc.) nicht immer eine Viruskultur oder PCR-Untersuchung erfolgen. Somit stützt sich die Diagnose neben Anamnese, Klinik und Laborparametern (v.a. Blutbild) vor allem auf die Serologie. Wie die Tabelle 44 zeigt, muss der Flavivirus-Impfstatus bei der Interpretation der Dengue-ELISA-Ergebnisse berücksichtigt werden. Dies kann man zum Beispiel anhand eines Patienten illustrieren, der sich 5 Tage nach Symptombeginn untersuchen lässt und ein negatives IgM- und ein schwach positives IgG-ELISA-Ergebnis aufweist. Wenn bekannt ist, dass dieser Patient noch keine Flavivirus-Impfung erhalten hatte und auch noch nie an einer Flavivirus-Erkrankung erkrankte, würde man aufgrund des fehlenden IgM das serologische Ergebnis wohl eher als Dengue-Virus-Zweitinfektion oder als unspezifisches serologisches Ergebnis ansehen. Man würde sicherlich eine Wiederholung der serologischen Untersuchung 1 bis 2 Wochen später anstreben. Wenn dieser Patient jedoch bereits gegen Flaviviren geimpft wurde, dann ist auch ohne weitere Untersuchungen sehr wahrscheinlich, dass es sich um eine Dengue-Virus-Erstinfection handelt.

Bei vorliegender Studie hatten 18 Patienten ein positives IgG, obwohl sie sich zu einem frühen Zeitpunkt vorstellten (weniger als 8 Tage nach Symptombeginn). Von diesen 18 Patienten hatten jedoch über die Hälfte (10) einen positiven Flavivirus-Impfstatus. Von den 7 Patienten, die sich ebenfalls weniger als 8 Tage nach Symptombeginn mit jedoch negativem IgG-ELISA vorstellten, hatte nur einer zuvor eine Flavivirus-Impfung erhalten. Aufgrund der kleinen Fallzahl ist der Unterschied zwar statistisch nicht signifikant (Fisher exakter Test, $p = 0,08$), aber der Trend ist eindeutig.

Somit untermauern die vorliegenden Ergebnisse die Resultate eben zitierter Studien: Bei vorherigen Flavivirus-Impfungen ist mit einem früheren und höheren Anstieg von Dengue-IgG zu rechnen. Die IgM-Ergebnisse sind hingegen bei den Flavivirus-Geimpften seltener positiv und die IgM-AU niedriger.

Zwar führte bei einer Untersuchung von Houghton-Trivino et al. die Gelbfieber-Impfung bei 8 von 19 Patienten zu einer Serokonversion des Dengue-IgM-ELISA: Allerdings wurden die Antikörper hierbei bereits 21 Tage nach der Impfung bestimmt [21]. Vor allem Reiserückkehrern aus Südamerika wurden nicht selten vor Reiseantritt gegen Gelbfieber geimpft. Es ist ohne Zweifel wichtig, dass der Flavivirus-Impfstatus eruiert und bei der Interpretation der ELISA-Ergebnisse mit berücksichtigt wird. Dies betrifft nicht nur die Gelbfieber-Impfung. Zu bedenken ist, dass in den letzten Jahren, aufgrund der zunehmenden geographischen Verteilung und Inzidenz der FSME, vermehrt gegen das FSME-Virus geimpft wird.

Somit wird die Impfanamnese nicht selten positiv ausfallen. Mit der Kenntnis der eben besprochenen Kreuzreaktionen können falsch negative Diagnosen verhindert werden und somit die Sensitivität der ELISA-Untersuchung erhöht werden.

Inwieweit die Symptome der Dengue-Virus-Infektionen durch vorherige Flavivirus-Impfung beeinflusst werden, wird im nachfolgenden Abschnitt besprochen.

5.5. Symptome des Denguefiebers

5.5.1. Überblick der Beschwerden

Einige Studien aus Dengue-Virus-Endemiegebieten belegen, dass 14 bis 87% aller Dengue-Virus-Infektionen mit wenigen oder atypischen Symptomen einhergehen [53] [54] [55]. Untersuchungen in Kuba zeigten gar, dass nur 3% von DENV2 Primärfizierten klinische Beschwerden aufwiesen, wohingegen 4% der DENV2 Sekundärfizierten ein DHF oder DSS erlitten [16].

In einer über 3 Jahre prospektiv beobachteten Kohorte von circa 2.000 Schulkindern in Thailand war die Inzidenz von inapparenten Dengue-Virus-Infektionen (4,3%; 3,2% bzw. 1,2% für die Jahre 1, 2 bzw. 3 der Beobachtungszeit) höher als die Inzidenz apparter Verläufe (3,6%; 3,3% bzw. 0,8% für oben genannten Zeitraum), wobei nicht angegeben wurde, wie häufig Erst- bzw. Zweitinfektionen waren. Des Weiteren kam in der Gegend zu dem gegebenen Zeitraum vorwiegend DENV3 vor [6].

Neben vorhergehenden Dengue-Virus-Infektionen beeinflusst auch das Alter den klinischen Verlauf.

Es kommt bei Personen über 65 Jahren, unabhängig vom Serotypen, häufiger zu Hospitalisation und letalem Ausgang als bei jüngeren Erwachsenen und Kindern [61]. Außerdem hängt der Schweregrad einer Erkrankung bzw. die Wahrscheinlichkeit eines komplizierten Verlaufes vom Ernährungszustand des betroffenen Patienten ab. So waren in einer retrospektiven Studie bei 4.532 jungen Denguefieber-Patienten Kinder mit Mangelernährung im Vergleich mit einer Gruppe von an anderen Erkrankungen leidenden Kindern, unterrepräsentiert. Des Weiteren hatten übergewichtige Kinder ein höheres Risiko, an komplizierten Verläufen der Dengue-Virus-Infektion zu erkranken. Der klinische Verlauf war bei einer Untersuchung der drei Gruppen (mangelernährte, übergewichtige und normalgewichtige Kinder) ansonsten recht ähnlich [62].

Das Auftreten einer Schocksymptomatik ist allerdings bei Mangelernährten häufiger. Übergewichtige Kinder neigen hingegen eher zu insgesamt seltener beobachteten Verläufen, wie Enzephalopathie und konkommittierende Infektionen. Die Letalität war in der Gruppe der Normalgewichtigen am niedrigsten [62].

Bei Kindern ist die Unterscheidung von anderen fieberhaften Erkrankungen oft schwierig. Häufiger, im Vergleich zu sonstigen Infektionskrankheiten, treten bei Denguefieber-Patienten Hauterscheinungen auf. Vergleichsweise seltener hingegen sind Symptome wie Kopfschmerzen, Rhinorrhoe, Husten und Durchfall. Dennoch sind Kopfschmerzen (64%) und Husten (42%) auch bei der Dengue-Virus-Infektion im Kindesalter, die am häufigsten beobachteten Symptome [6].

Die im Folgenden berichteten Häufigkeiten diverser Symptome von Patienten mit Denguefieber sind somit die Häufigkeiten bei klinisch apparenten Verläufen und nicht bei Dengue-Virus-Infektion generell, da diese, wie geschildert, oftmals inapparent verläuft.

Die folgende Tabelle zeigt eine Übersicht von verschiedenen Studien zum Thema Symptomatik der akuten Dengue-Virus-Infektion.

Tabelle 45: Symptome bei akuter Dengue-Virus-Infektion: Resultate verschiedener Studien

	Walentiny	Jelinek	Wichmann	Gascón	Teichmann	Endy	Sung
Untersuchte	Reisende	Reisende	Reisende	Reisende	Reisende	Schulkinder	Reisende
Anzahl Untersuchte	66	250	69	57	71	2119	19
Fieber	95,5	86	81	100	100	-	100
Kopfschmerzen	71,2	59,2	62	98	86	64	68
Augenschmerzen	7,9	-	-	65		-	-
Leistungsminderung	43,9	43,2	-	100	100	32	-
Myalgien	47,0	42,4	-	84	48	23	79
Arthralgien	53,0		50	72	79	15	-
Exanthem	40,9	29,2	23,5	61	66	5	74
Übelkeit	30,3	-	-	-	-	19	37
Erbrechen	7,6	8,0	-	-	-	20	-
Diarrhoe	3,0	20,4	-	-	-	4	37
Respiratorisch	-	6	-	-	-	42	-
Neurologisch	18,2	2,4	-	-	-	-	-
Psychisch	9,1	2	-	-	-	-	-
Andere	16,7	-	-	-	-	-	-
Otitis media	-	8,8	-	-	-	-	-

Quellen: [6], [48], [56], [57], [58], [59].

Bei der vorliegenden Arbeit litten 95% der Patienten unter Fieber, welches somit analog zu den zitierten Studien das häufigste Symptom war. Lediglich drei Probanden gaben dieses Symptom nicht an. Kopfschmerzen waren das zweithäufigste Symptom; sie traten bei 71% der Patienten auf. 5 Patienten berichteten über Augenschmerzen, 2 weitere über Lichtempfindlichkeit. Danach folgten Appetitlosigkeit (57%), Hautbeschwerden (Exanthem, Juckreiz, Überempfindlichkeit) (55%), Gelenkschmerzen (53%), Muskelschmerzen (47%) sowie Übelkeit (30%). An weiteren, sich nicht auf der Liste der ankreuzbaren Beschwerden befindend, wurden angegeben: Leistungsminderung (auch als Schlappeheit, Müdigkeit oder Abgeschlagenheit bezeichnet) (44%), gastroenterologische Beschwerden (18%), neurologische Beschwerden (17%), andere dermatologische Beschwerden (14%), psychologische Beschwerden (9%) und sonstige Beschwerden (17%).

Sung et al. untersuchten 696 Reiserückkehrer, von denen 19 eine Dengue-Virus-Infektion und 20 eine Denguefieber ähnliche Erkrankung, wie z.B. Malaria, Typhus oder Rickettsiose, auf ihrer Reise akquiriert hatten. Die häufigsten Symptome der Denguefieber-Patienten waren Fieber, Muskelschmerzen, Hautausschlag, Kopfschmerzen, Übelkeit und Diarrhö. Im Vergleich zu den Nicht-Denguefieber-Patienten waren bei den Denguefieber-Patienten Muskelschmerzen und Temperaturen von $<39^{\circ}\text{C}$ häufiger. Des Weiteren war eine Dengue-Virus-Infektion 18 mal häufiger bei Fieber und Leukopenie, 71 mal häufiger bei Fieber und Hautausschlag sowie 230 mal häufiger bei Fieber, Hautausschlag und Leukopenie [60]. Auch O. Wichmann kam zu diesem Ergebnis bei seinen Untersuchungen von infizierten Tropenrückkehrern: Die Kombination von Leuko- und Thrombozytopenie lag bei 40,4% der bestätigten Fälle von Denguefieber und nur 6,1% der falsch Positiven vor. Die Kombination von einer positiven Serologie bei gleichzeitig vorliegender Leuko- und Thrombozytopenie erhöhte den positiven prädiktiven Wert auf 90,5%. Hautausschlag (vorhanden bei 23,5% der Denguefieber-Patienten – aber nur 9% der anderen Tropenrückkehrern) war das einzige Symptom, welches bei Denguefieber-Patienten statistisch signifikant häufiger vorkam ($p = 0,01$) [20].

In oben genannten Studien über Reiserückkehrer wurden nur symptomatische Patienten untersucht. In der Regel wird man einen Reiserückkehrer nur dann auf Denguefieber hin untersuchen, wenn er vermeintlich typische Beschwerden wie Fieber, Kopf- Muskel- und Gelenkschmerzen oder Hauterscheinungen hat, oder aber typische Laborveränderungen vorliegen. Daten aus Endemieländern zeigen jedoch, dass nur ein kleiner Teil der Denguefieber-Patienten überhaupt an Beschwerden leidet [16]. Die exakte Häufigkeit der verschiedenen Beschwerden bei symptomatischen Reiserückkehrern kann mit der vorliegenden Studie (und gleiches gilt für die zuvor zitierten Studien an Reiserückkehrern) somit nicht ermittelt werden.

5.5.2. Symptombdauer

Die Dauer der Beschwerden betrug 19 Tage (Median). Die durchschnittliche Dauer der akuten Beschwerden lag bei 14 Tagen (Median), die der „länger andauernden“ Beschwerden bei 60 Tagen. 39% der Patienten hatten Beschwerden welche 30 oder mehr Tage anhielten, 14% litten sogar 3 Monate oder länger an Symptomen, wobei erwähnt werden muss, dass all diesen Zahlen das Manko der retrospektiven Erhebung anhaftet.

5.5.3. Diskussion einzelner Symptome

Gastroenterologische Beschwerden

Insgesamt litten 62% der Patienten an mindestens einem gastrointestinalen Symptom, wobei diese gastroenterologischen Beschwerden nie länger als 14 Tage anhielten. Am häufigsten waren Appetitlosigkeit und Übelkeit (57% und 30%). Frauen litten signifikant häufiger an Appetitlosigkeit als Männer (OR = 3,3). Ein Einfluss von Alter oder Impfscore auf das Auftreten von gastroenterologischen Beschwerden konnte nicht gefunden werden.

Dermatologische Beschwerden

55% der Patienten berichteten von Hautbeschwerden. Dies waren in 75% der Fälle Hautrötungen, gefolgt von Juckreiz (31%) und Überempfindlichkeit (25%). Ein Exanthem trat bei 17 von 27 Patienten ohne weitere Hautbeschwerden auf. Weitere dermatologische Beschwerden waren Haarausfall, der typischerweise 2 bis 3 Monate nach Symptombeginn folgte (bei 3 Patienten), Allergiefähigkeit (bei 2 Patienten), Hautverfärbung welche länger sichtbar waren (bei 3 Patienten), davon Petechien (bei 2 Patienten) sowie einmal eine nicht genauer definierte Gesichtsschwellung (1).

Diese dermatologischen Beschwerden wurden fast immer den akuten Beschwerden zugeordnet, mit einer medianen Dauer von 14 Tagen. Lediglich eine nicht genauer beschriebene Hautverfärbung an der Innenseite der Oberschenkel und eine Allergiefähigkeit bestanden 3 bzw. 6 Monate lang.

Der Haarausfall trat 2 bis 3 Monate nach Beschwerdebeginn auf und war in allen Fällen reversibel.

Die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Exanthem oder Juckreiz korrelierte signifikant mit vorher durchgeführten Gelbfieber-Impfungen ($p = 0,02$; OR = 3,7) oder FSME-Impfungen ($p = 0,05$; OR = 2,9).

Bei vorliegendem Exanthem war die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer 30 Tage oder länger andauernden Leistungsminderung erhöht ($p = 0,04$; OR = 3,9).

Psychologische Beschwerden

Psychologische Beschwerden waren im Fragebogen nicht aufgezählt; sie konnten lediglich bei der Frage nach weiteren Symptomen angegeben werden (siehe Fragebogen im Anhang).

Insgesamt berichteten 6 Probanden von psychologischen Beschwerden. Dies waren depressive Episoden (bei 3 Patienten), Antriebslosigkeit (2) und je einmal Stimmungsschwankungen, Albträume, Schlafstörung oder Halluzinationen.

Diese Beschwerden wurden, abgesehen von einer Ausnahme, als akut eingestuft. Ein Proband litt 9 Monate an einer medikamentös behandelten Depression.

Das Verhältnis Frauen zu Männern betrug 4 zu 2, was in etwa das umgekehrte Geschlechterverhältnis aller Studienteilnehmer darstellt. Bei der kleinen Fallzahl sind statistisch signifikante Aussagen jedoch nicht möglich.

Psychologische Beschwerden bei Denguefieber-Patienten wurden bislang wenig untersucht, ausgenommen das Symptom Leistungsminderung (siehe unten).

Neurologische Beschwerden

Kopfschmerzen waren das einzige neurologische Symptom, welches im Fragebogen aufgelistet war (siehe Fragebogen im Anhang).

In der hier vorgestellten Untersuchung traten Kopfschmerzen bei 71% der Patienten auf. Sie waren somit das häufigste neurologische Symptom und nach Fieber das am zweithäufigsten berichtete Symptom insgesamt. Neben Kopfschmerzen wurden 11 weitere neurologische Beschwerden berichtet. Dies waren: Augenschmerzen (in 5 Fällen), Lichtempfindlichkeit (in 2 Fällen) sowie Gleichgewichtsstörung, Gesichtslähmung, Geschmackverlust und metallener Geschmack je einmal. Bis auf eine Ausnahme litten all diese Patienten außerdem an Kopfschmerzen. Diese neurologischen Beschwerden, an denen somit 73% litten, wurden bis auf 2 Ausnahmen den akuten Beschwerden zugeordnet (mediane Dauer 14 Tage). Bei 2 Patienten bestanden sie 30 bzw. 60 Tage lang. Die Gleichgewichtsstörung hielt 42 Tage lang an. Ein Einfluss von Alter, Geschlecht oder Impfscore auf die Wahrscheinlichkeit neurologische Beschwerden zu erleiden, konnte nicht gefunden werden. Schwerwiegende neurologische Beschwerden traten bei vorliegender Untersuchung nicht auf.

Wie in Tabelle 45 gezeigt, gehören Kopfschmerzen zu den häufigsten Symptomen eines Denguefieber-Patienten. Interessanterweise war die Intensität der Kopfschmerzen in einer Studie bei Denguefieber-Patienten mit klassischem Verlauf stärker als bei den Patienten mit DHF [69].

Das Auftreten weiterer neurologischer Symptome bei Dengue-Virus-Infektionen ist wenig untersucht. Eine prospektive Studie aus dem Jahr 2006 untersuchte Patienten, welche auf einer neurologischen Station in Indien zwischen 2003 und 2005 aufgenommen wurden, und Dengue-IgM positiv waren. Von 17 Patienten zeigten 11 eine Enzephalopathie und 6 eine akute Muskelschwäche. Von den Enzephalopathiepatienten zeigten 3 epileptische Anfälle, einer einen Myoklonus, 8 eine Pleozytose im Liquor und eine EEG Verlangsamung sowie jeweils ein Patient einen Globus pallidus bzw. eine Rückenmarkbeteiligung in der Magnetresonanztomographie. Von den Patienten mit Muskelschwäche hatten 5 eine CK-Erhöhung: Bioptisch und per EMG konnte bei jeweils einem eine Myositis nachgewiesen werden [65].

In einer brasilianischen Studie entwickelten von 41 Dengue-Patienten mit neurologischen Symptomen 25 eine Beteiligung des Gehirns, 14 des peripheren Nervensystems und 2 des Myelons. Insgesamt waren die Beschwerden vielfältiger Natur: Epileptische Anfälle (8), Enzephalitis (7), intrazerebrale Blutungen (3), Meningoenzephalitis (3), Subarachnoidealblutung (2), persistierende Kopfschmerzen (1). Periphere Beschwerden waren: Transverse Myelitis (2), Guillain-Barré Syndrom (7), akute Polyradikuloneuritis (2), Faszialisparese (2), Polyneuropathie, Optikusneuritis, Gesichtsspasmen (je 1). Die Prävalenz von neurologischen Komplikationen wurde auf 17,4 von 100.000 im Jahre 1997 sowie 44,8 von 100.000 im Jahre 2002 geschätzt [66].

Neurologische Beschwerden müssen nicht unbedingt mit anderen, Denguefieber-typischen, Symptomen einhergehen, wie eine Untersuchung in einem Referenzkrankenhaus in Vietnam zeigt. 1995 wurden alle Patienten mit Verdacht auf eine ZNS-Infektion auch auf Dengue hin untersucht, um dessen Stellenwert bei ZNS-Infektionen zu erforschen. Hierbei waren von 378 Patienten 16 (4,2%) PCR-positiv (in Abwesenheit von ZNS-Infektionen anderer Ätiologien). Hingegen waren nur 1,4% der Kontrollpatienten positiv. Später wurden noch 5 weitere Patienten mit ZNS-Beteiligung untersucht. Von den insgesamt 21 Patienten hatten 12 keine für eine Dengue-Virus-Infektion charakteristischen Symptome bei Krankenhausaufnahme. In 7 Fällen handelte es sich um eine Erstinfektion, bei den anderen um eine Denguefieber-Zweitinfektion. Die häufigsten Beschwerden waren epileptische Anfälle sowie Vigilanzstörungen [70].

Bei einer Untersuchung von Soares wurde der Liquor von 13 Denguefieber-Patienten, die neurologische Komplikationen entwickelt hatten, untersucht. Hierbei wurden bei 4 von 7 Patienten mit Enzephalitis keine Liquorveränderungen nachgewiesen. Die 4 Guillain-Barré-Syndrom Patienten sowie die 2 mit Myelitis hatten hingegen allesamt eine Blut-Liquor-Schrankenstörung entwickelt [68].

Die ZNS Beteiligung bei Denguefieber-Erkrankten bzw. an DHF Erkrankten wurde lange Zeit als Enzephalopathie beschrieben und die vielfältigen Symptome pathophysiologisch als sekundär zu einer Vaskulitis mit resultierender Flüssigkeitsextravasation (zerebrales Ödem) angesehen bzw. einer Hypoperfusion, Hyponatriämie, einem Leber- oder Nierenversagen zugeschrieben. Weitere pathophysiologische Erklärungen waren intrazerebrale Blutungen, mikropapilläre Blutungen und Freisetzung von toxischen Metaboliten. Zunächst ging man davon aus, dass die Anti-Dengue-Antikörper selbst für neurologische Symptome ursächlich waren. Allerdings wurden Antigene im Liquor und somit eine zerebrale Invasion nachgewiesen. Lum et al. konnten bei 5 von 6 Dengue-Enzephalitis Patienten Viren im ZNS nachweisen (Methodik: 4 Kulturen, 1 PCR) sowie bei einem eine lokale IgM Produktion. Einige Autoren gehen somit davon aus, dass vor allem DENV 2 und DENV 3 eine Neurovirulenz, ähnlich der anderer Flaviviren, besitzen [67].

Gelenkschmerzen

Gelenkschmerzen waren im Fragebogen aufgezählt (siehe Fragebogen im Anhang).

Insgesamt gaben 52% der Patienten Gelenkschmerzen an, was diese zum vierthäufigsten Symptom macht (nach Fieber, Kopfschmerzen und Appetitlosigkeit). Diese Zahl ist nahezu identisch mit der aus anderen Untersuchungen [71]. Die mediane Dauer der Gelenkschmerzen betrug 14 Tage (2 bis 180 Tage, Durchschnitt 25 Tage)

Bei 6 Patienten dauerten diese Beschwerden länger als die akute Symptomatik an, im Schnitt 79,2 Tage (25 bis 180 Tage, Median 75 Tage).

Taubitz et al. zeigten bei Chikungunya-Patienten, dass das Auftreten von lang dauernder Arthropathie altersabhängig ist [63]. Aufgrund der großen Ähnlichkeit des klinischen Verlaufes sowie von Teilen der dreidimensionalen Struktur zwischen dem Dengue-Virus und dem Chikungunya-Virus hätte man einen Einfluss des Alters auf die Dauer der Arthropathien auch bei Denguefieber-Patienten erwarten können. Bei der vorliegenden Untersuchung konnte jedoch ein statistisch signifikanter Einfluss des

Alters weder auf das Auftreten von Gelenkschmerzen noch auf deren Persistenz über einen längeren Zeitraum, ausgemacht werden. Dies gilt gleichermaßen für das Geschlecht und den Impfscore.

Sonstige Beschwerden

Gewichtverlust (bei 4 Patienten), Schweißausbrüche, Hitzewallungen, Schüttelfrost, Atemwegsbeschwerden, Nasenbluten, Kreislaufschwäche, Infektanfälligkeit (in je einem Fall)

5.5.4. Leistungsminderung

Die von den Patienten berichteten Symptome Schlaptheit, Müdigkeit oder Abgeschlagenheit wurden alle als Leistungsminderung zusammengefasst. Leistungsminderung konnte im Fragebogen nicht angekreuzt, sondern lediglich bei der offenen Frage nach Symptomen angegeben werden. Dennoch gaben 44% aller Befragten an, eine Leistungsminderung bemerkt zu haben. Bei 23% aller Patienten dauerte diese Einschränkung 30 oder mehr Tage an, bei 15% sogar länger als 60 Tage. Die Leistungsminderung dauerte durchschnittliche 37 Tage (Median 30). Sofern die Leistungsminderung die 30-Tages-Grenze erreichte, erhöhte sich die durchschnittliche Dauer auf 60 Tage (Median 56).

Alter und Geschlecht hatten keinen signifikanten Einfluss auf das Auftreten oder die Dauer der Leistungsminderung.

Patienten mit mindestens einer vorhergehenden Flavivirus-Impfung litten signifikant häufiger an Leistungsminderung als Patienten ohne Impfung (OR = 3,4; $p = 0,02$). Des Weiteren litten sie auch häufiger an einer länger als 30 Tage andauernden Leistungsminderung als Ungeimpfte (OR = 1,5; $p = 0,051$). Bei den einzelnen Impfungen (Gelbfieber, FSME oder Japanische Enzephalitis) bestand eine statistische Signifikanz lediglich für die Gelbfieber-Impfung.

Folgende akute Symptome korrelierten mit einem längeren Bestehen der Leistungsminderung: Muskelschmerzen ($p = 0,06$; OR = 4,5), Gelenkschmerzen ($p = 0,02$; OR = 0,15), Hautbeschwerden ($p = 0,03$; OR = 5,3). Von den Hautbeschwerden hatte jedoch nur das Exanthem eine prognostische Bedeutung ($p = 0,04$; OR = 3,9).

Somit hatten Erkrankte mit Gelenkschmerzen in der akuten Phase einer Dengue-Virus-Infektion eine geringere Wahrscheinlichkeit, an länger andauernder Leistungsminderung zu erkranken, als solche ohne. Ein Exanthem oder Muskelschmerzen hingegen erhöhen die Wahrscheinlichkeit, 30 Tage oder länger an Leistungsminderung zu leiden.

In einer australischen Studie von Hickie et al. waren neben Irritabilität, neurokognitiven Störungen und Müdigkeit ebenfalls Muskelschmerzen, nicht aber Hauterscheinungen, mit einem chronic fatigue syndrome nach diversen Infektionserkrankungen (EBV, Coxiella burnetii bzw. Ross River Virus) assoziiert. Alter und Geschlecht korrelierten auch hier nicht mit länger andauernder Müdigkeit (in dieser Studie aber als seit mindestens 6 Monaten bestehende Müdigkeit, welche nicht auf Ruhe anspricht, definiert) [64].

Seet et al. untersuchten das Auftreten von postinfektiösem Müdigkeitssyndrom nach Dengue-Virus-Infektion (n=127). Hierbei war weibliches Geschlecht, höheres Alter, Schüttelfrost sowie die Abwesenheit eines Exanthems signifikant mit einem 2 Monate nach akuter Erkrankung bestehendem Müdigkeitssyndrom assoziiert. Eine Assoziation mit dem Schweregrad der Dengue-Virus-Infektion oder anderen Symptomen, wie z.B. Muskelschmerzen, bestand nicht [72]. Somit erbrachte diese Studie bezüglich des Exanthems gegenteilige Ergebnisse. Ein Einfluss von Geschlecht und Alter konnte in vorliegender Arbeit nicht gefunden werden, was auch an der geringeren Fallzahl liegen könnte. Schüttelfrost wurde in der vorliegenden Arbeit nicht explizit erfragt.

Studien zum Thema postinfektiöse Müdigkeit bzw. chronic fatigue syndrome (CFS) nach einer Dengue-Virus-Infektion gibt es nur wenige. Hingegen existieren zahlreiche Studien, welche das Auftreten von postinfektiösem Müdigkeitssyndrom nach EBV-Infektion untersuchen. In einer britischen Kohortenstudie (1.438 Fälle), welche das Auftreten eines postinfektiösen Müdigkeitssyndroms nach EBV Infektion untersuchte, mit den Vergleichsgruppen Influenza- bzw. Tonsillitispatienten, waren sowohl weibliches Geschlecht als auch vor der akuten Infektion bestehende Affektstörung (OR = 2,3) Risikofaktoren für die Entwicklung eines CFS, Alter oder Atopieneigung hingegen nicht [73].

Tabelle 46: Auftreten und Dauer von postinfektiöser Leistungsminderung bzw. chronischer Müdigkeit (nach diversen Studien).

	Walentiny	Seet	Petersen	White	Hickie	Hotopf
Infektion	Dengue	Dengue	EBV bzw. Influenza bzw. Tonsillitis	EBV bzw. HWI	EBV, Coxiella, Ross River	Virale Meningitis, andere virale, nicht ZNS- oder Enterovirus-Infektionen
Auftreten Leistungsminderung	44%		12,5% bzw. 2,9% bzw. 1,9%	47% bzw. 20%	35% in Woche 6	12,5%
Dauer Leistungsminderung (Median)	30 Tage	2 Monate (?)		8 bzw. 3 Wochen		
LM nach 6 Monaten	3% (von allen), 6,9% (Pat. mit LM)	Tel. Abfrage nach 2 Monaten		9-22% bzw. 0-6%	12%	
Risikofaktoren	Flavivirus-Impfung, Exanthem, Muskelschmerz	Weibliches Geschlecht, Alter, Schüttelfrost, Abwesenheit von Exanthem	Affektstörung, weibliches Geschlecht		Muskuloskel. Schmerzen, Müdigkeit, neurokognitive Störung, (Alter nur für akute Müdigkeit)	Länge der Krankenschreibung, Psychiatrische Erkrankung
Kein Risikofaktor	Gelenkschmerzen (protektiv), Alter, Geschlecht (kein Einfluss)	Exanthem	Alter, Atopieneigung		Psycholog./ Psychiatrische Störung, Alter, Geschlecht	Dauer akute Erkrankung

Wie aus dieser zusammenfassenden Tabelle hervorgeht, sind die Ergebnisse dieser Studien unterschiedlich. So ist bei Hickie et al. und Petersen et al. das Alter ebenfalls kein Risikofaktor, bei Hickie et al. auch das weibliche Geschlecht nicht, welches jedoch von Petersen et al. und Seet et al. als Risikofaktor für das Auftreten einer chronischen Leistungsminderung angesehen wird.

Hotopf et al. untersuchte 83 Patienten nach überstandener viraler Meningitis über einen Zeitraum von 6 bis 24 Monaten und verglich sie mit 76 Patienten, welche virale Infektionen hatten, die nicht das ZNS befielen. Insgesamt war bei den 159 Patienten die Prävalenz eines CFS 12,6%, wobei die Prävalenz in der Meningitisgruppe leicht höher war (nicht signifikant da KI = 0,5-3,6; OR = 1,4). Der beste Prädiktor für das Auftreten eines CFS war die Länge der Krankschreibung nach akuter Erkrankung! Der zuverlässigste Prädiktor für eine schwere CFS war eine psychiatrische Erkrankung in der Vorgeschichte. Die Dauer der akuten Phase, gemessen in stationären Tagen, korrelierte nicht mit dem Auftreten von CFS [75].

Auch bei Cope et al. wurden 618 Patienten mit der Diagnose einer viralen Erkrankung untersucht. Auch hier war das Vorliegen einer Arbeitsunfähigkeitsbescheinigung ein signifikanter Prädiktor eines CFS. Weitere signifikante Prädiktoren waren interessanterweise der „somatic attributional style“ und eine unsichere Diagnose durch den Allgemeinarzt. Die CFS Symptome korrelierten demnach eher mit dem ärztlichen Verhalten und der Einstellung des Patienten, als mit dem klinischen Erscheinungsbild bei akuter Infektion [76].

Insgesamt können jedoch nicht nur virale Infektionen zu länger andauernder postinfektiöser Leistungsminderung führen [64]. In einigen Studien sind weibliches Geschlecht, höheres Alter und eine Vorgeschichte von psychiatrischen Erkrankungen Risikofaktoren für das Entstehen einer postinfektiösen Leistungsminderung. Des Weiteren können Schüttelfrost, Muskelschmerzen, Gelenkschmerzen oder Exantheme in der akuten Phase einen prädiktiven Wert für das Auftreten von länger andauernder Leistungsminderung haben. Im Falle einer Dengue-Virus-Infektion ist es möglich, dass vorhergehende Flavivirus-Impfungen den klinischen Verlauf und somit auch die Wahrscheinlichkeit einer Leistungsminderung sowie deren Dauer beeinflussen. Allerdings sind hier weitere Untersuchungen notwendig, um genauere Aussagen treffen zu können.

5.5.5. „Chronische“ Beschwerden

Chronische Beschwerden werden hier definiert als Beschwerden, die 30 Tage oder länger anhielten (siehe auch Kapitel 8. Begriffserklärung).

39% der Patienten litten unter 30 oder mehr Tage andauernden Beschwerden. Daten zur Dauer der Symptome eines Denguefiebers oder zur Häufigkeit von länger andauernden, „chronischen“ Beschwerden nach einer Dengue-Virus-Infektion von Reisenden fehlen bislang weitgehend (Ausnahme Leistungsminderung bzw. CFS, siehe unten).

Die häufigsten chronischen Beschwerden waren Leistungsminderung (63%), Gelenkschmerzen (23%) und neurologische Beschwerden (15%; je ein Patient litt an Gleichgewichtstörung, Kopfschmerzen und Depression). Des Weiteren traten auf: Muskelschmerzen (bei drei Patienten), sowie bei je einem Patienten Infektanfälligkeit, Allergieanfälligkeit und eine lang anhaltende Hautverfärbung. Außerdem berichteten 2 Patienten von massivem Haarausfall 2 bis 3 Monate nach Dengue-Virus-Infektion.

Für den Patienten wäre es von Vorteil, wenn ein bestimmtes akutes Beschwerdemuster oder aber der Flavivirus-Impfstatus eine Vorhersage zur Dauer der Symptome ermöglichen würden. So scheinen ein Exanthem und/oder Muskelschmerzen die Wahrscheinlichkeit einer chronischen Leistungsminderung zu erhöhen, wohingegen akute Gelenkschmerzen diese senken. Alter und Geschlecht scheinen die Dauer der Beschwerden nicht zu beeinflussen. Allerdings war die in der vorliegenden Studie untersuchte Fallzahl zu klein und die statistische Güte in Abwesenheit von Kontrollgruppen zu gering, um im klinischen Alltag brauchbare Vorhersagen zu ermöglichen. Ob und wie der Impfstatus die klinische Symptomatik beeinflusst, wird im nächsten Kapitel besprochen.

5.5.6. Einfluss von Flavivirus-Impfungen auf Symptome

Da nur wenige Prozent der Dengue-Virus-Erstinfektionen symptomatisch verlaufen, aber die Mehrzahl der Zweitinfektionen mit Beschwerden einhergehen, ist die Tatsache, dass Dengue-Antikörper die klinische Ausprägung einer Infektion mit beeinflussen, unumstritten. Diverse Untersuchungen zeigen, dass der Verlauf einer bestimmten Flavivirus-Erkrankung durchaus durch bereits vorhandene Antikörper gegen ein anderes Flavivirus beeinflusst wird.

So zeigten Price et al., dass Hamster, die mit einem der 4 DENV-Serotypen „immunisiert“ wurden, eine niedrigere WNV-Konzentration im Gehirn hatten und weniger Neuropathologien aufwiesen als „Nichtimmunisierte“ [31]. Auch bei Mäusen, welche zuvor mit Dengue-Virus infiziert wurden, war nach Infektion mit JE-Virus oder St. Louis Enzephalitis-Virus die Virämie deutlich geringer und die intrazerebrale Virusreplikation signifikant niedriger als bei den Kontrollmäusen [32].

Aber auch beim Menschen zeigten sich solche Kreuzprotektionen:

Eine Untersuchung des klinischen Outcomes von 85 Kindern mit akuter Japanischer Enzephalitis in Thailand zeigte, dass die Abwesenheit einer vorhergehenden Flavivirus-Infektion ein Risikofaktor für ein negatives Outcome war [33].

Die epidemiologische Untersuchung einer St. Louis Enzephalitis Epidemie in Tampa Bay in Florida im Jahre 1962 fand die höchsten Raten an manifesten Erkrankungen in einem County, in dem vor allem kürzlich aus den nördlicheren Staaten emigrierte Menschen wohnten. Die niedrigsten Raten zeigten Menschen, welche schon vor 1934, also in einer Zeit rezidivierender, großer Dengue-Epidemien, in der Region lebten. Dies deutet auf eine Kreuzprotektivität hin, welche sogar noch nach 30 Jahren anhält [34].

Diese Kreuzreaktionen können aber auch nachteilige Wirkungen haben. So zeigten Gomez et al., dass Dengue-Antikörper das zur Gelbfieber-Impfung verwendete YF 17 D Virus neutralisierten. Diese Kreuzreaktionen führten dazu, dass 31% der Kinder und 10% der Erwachsenen mit nachgewiesener Gelbfieber-Impfung keinen ausreichenden Schutz hatten [35].

All diesen Beispielen gemeinsam ist eine Dengue-Virus-Infektion, die zu einer Immunantwort führte, welche den Verlauf einer späteren Flavivirus-Infektion günstig beeinflusste. Ob umgekehrt auch zutrifft dass nach einer Flavivirus-Infektion (ausgenommen Denguefieber) gebildete, mit DENV kreuzreagierende Antikörper, den Verlauf einer Dengue-Virus-Infektion beeinflussen, ist unklar. Vor

allem ist die Frage, ob das Vorhandensein von kreuzreagierenden, verwandten, Nicht-Dengue-Flavivirus-Antikörpern auch zu DHF und DSS prädisponiert, entscheidend.

Es gibt bis dato wenige Erkenntnisse in Bezug auf die Frage, ob und wie sich Flavivirus-Infektionen, ausgenommen Denguefieber, auf eine nachfolgende Dengue-Virus-Infektion auswirken.

Fagbami et al. fanden 1988 durch serologische Untersuchungen (hauptsächlich mittels Neutralisationstests) bei 19 Nigerianern Hinweise auf ungünstige Einflüsse von kreuzreagierenden Flavivirus-Antikörpern. So waren in 11 Seren neutralisierende WNV-Antikörper nachweisbar, 17 jedoch zeigten „infection-enhancing“, also eine Infektion begünstigende Eigenschaften. Insgesamt waren bei 17 der 19 Seren Flavivirus-neutralisierende-Antikörper nachweisbar, wovon 11 alle drei untersuchten Flaviviren (YF, DENV, WNV) neutralisierten. Allerdings zeigten ebenfalls 17 Seren DENV2-stimulierende Antikörper (enhancing) [36]. Ob diese serologischen Ergebnisse ein klinisches Korrelat haben, ist nicht bekannt.

Diese Frage, d.h. die Frage ob durch Flavivirus-Impfungen induzierte Antikörper zu komplizierten Verläufen bei einer Dengue-Virus-Infektion prädisponieren, ist auch für europäische Tropenreisende relevant, von denen eine zunehmende Zahl z.B. gegen FSME geimpft ist. Allerdings gibt es hierzu keine Daten. Die Schwierigkeit, diese Frage zu beantworten liegt unter anderem darin, dass DSS und DHF bei Reisenden sehr selten auftritt und somit Kohortenstudien nicht realisierbar sind. Auch Fall-Kontroll-Studien sind problematisch: So suchten Wichman et al. zwar bei über 200 Tropenrückkehrern mit Dengue-Virus-Infektion nach komplizierten Verläufen, schlossen aber explizit Flavivirus-Geimpfte von ihrer Analyse aus. Dieser Ausschluss sollte ermöglichen, Dengue-Erst- von Zweitinfektionen unterscheiden zu können. Nach Flavivirus-Impfung ist diese Unterscheidung aufgrund einer „secondary immune response“ nicht mehr möglich [37].

Zusammenfassend gibt es somit es eine solide theoretische Basis für die Hypothese, dass Reisende mit Flavivirus-Impfungen im Falle einer Dengue-Virus-Infektion häufiger symptomatisch sein könnten als Impfnative. Hingegen sind aber auch protektive Eigenschaften von Flavivirus-Impfungen möglich, wie die oben zitierte Studien nahe legen. Um die Frage beantworten zu können, ob und in welchem Ausmaße und in welcher Weise Flavivirus-Impfungen den klinischen Verlauf einer Dengue-Virus-Infektion beeinflussen, müsste man idealerweise in einer prospektiven Kohortenstudie mit geimpften und nicht geimpften Reisenden genauer untersuchen. Alternativ wäre eine retrospektive Analyse des Impfstatus von Denguepatienten und einer Kontrollgruppe durchführbar. Beides beinhaltet die vorliegende Arbeit nicht. Es konnten jedoch die im Folgenden zusammengefassten Hinweise auf eine Beeinflussung des klinischen Verlaufes durch Flavivirus-Impfungen nachgewiesen werden. Es handelt sich hierbei wohlgerne um Hinweise, da vor allem die geringe Anzahl an Patienten, die Abwesenheit einer Kontrollgruppe und das Studiendesign generell aussagekräftige „Beweise“ nicht erlauben. Des Weiteren kann nicht ausgeschlossen werden, dass einige der im Folgenden dargelegten Zusammenhänge zwischen Klinik und Impfstatus auf multiplem Analysieren beruhen und nicht auf tatsächlichen Zusammenhängen.

Die meisten Beschwerden bei dem untersuchten Kollektiv von symptomatischen Patienten traten unabhängig vom Flavivirus-Impfstatus auf. Allerdings gab es eine statistisch signifikante Korrelation zwischen Flavivirus-Impfungen und dem Auftreten von Hauterscheinungen, Leistungsminderung und Beschwerdedauern von 30 Tagen oder mehr. Für diese Symptome konnte nachgewiesen werden, dass sie umso wahrscheinlicher auftraten, je häufiger vor Dengue-Virus-Infektion gegen Flaviviren geimpft wurde.

Es ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Geimpften und Ungeimpften in Bezug auf die Dauer der Erkrankung insgesamt. Dies gilt auch für die Dauer der Leistungsminderung und Gelenkschmerzen und betrifft sowohl den Flavivirus-Impfscore als auch die einzelnen Flavivirus-Impfungen.

Diese Ergebnisse sind schwer zu interpretieren: Einerseits erhöhten Impfungen die Wahrscheinlichkeit länger andauernder Beschwerden oder länger andauernder Leistungsminderung, und andererseits waren diese Beschwerden dann aber bei den Geimpften kürzer als bei den Nichtgeimpften.

6. Schlussfolgerung

Nach einmaliger Dengue-Virus-Infektion waren spezifische IgG-Antikörper in über 98% der Fälle auch nach Jahren noch nachweisbar. Die Höhe der IgG-AU war dabei nicht von Faktoren wie Zeitpunkt nach Infektion, Alter des Infizierten, Geschlecht oder Flavivirus-Impfstatus abhängig. Der IgM-ELISA war hingegen nach einer Infektion schon nach wenigen Wochen negativ, wobei die AU umso niedriger waren, je länger die Infektion zurücklag und je höher der Flavivirus-Impfscore.

Ganz anders sah es bei der akuten Diagnosestellung aus. Hier hatte neben der Zeitspanne von Symptom bis zur Blutentnahme (S-V1), der Flavivirus-Impfstatus einen starken Einfluss auf die Höhe der IgM- bzw. IgG-AU. Obwohl S-V1 einen gewissen confounding-Effekt ausübte, zeigte sich deutlich, dass Flavivirus-Geimpfte niedrigere IgM-AU, dafür aber höhere IgG-AU hatten als Ungeimpfte. Um die serologischen Ergebnisse besser beurteilen und somit die Diagnose einer akuten Dengue-Virus-Infektion akkurater stellen zu können, ist eine genaue Erhebung des Flavivirus-Impfstatus unabdingbar. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um einen neuen cut-off-point des ELISA für Flavivirus-Geimpfte zu ermitteln. Bei Geimpften ist es zudem unmöglich, per ELISA zwischen Dengue-Virus-Erst- und Zweitinfektion zu unterscheiden.

Eine weitere Erkenntnis der vorliegenden Untersuchung ist die bemerkenswerte, bislang so nicht beschriebene Häufigkeit von lang dauernden Beschwerden bei Dengue-Virus-Infizierten. So litten 39% an Beschwerden, welche 30 Tage oder mehr andauerten. Hierbei waren Leistungsminderung und Gelenkschmerzen am häufigsten. Ein massiver Haarausfall 2 bis 3 Monate nach Infektionszeitpunkt wurde von knapp 5% der Probanden beschrieben.

Flavivirus-Impfungen, die einer Dengue-Virus-Infektion vorausgehen, scheinen den klinischen Verlauf bei symptomatischen Dengue-Erkrankungen zu beeinflussen. So traten bei Flavivirus-Geimpften Hautbeschwerden und Leistungsminderung häufiger auf. Besonders im Hinblick auf die Pathogenese der komplizierten Dengueverläufe (DHF/DSS), bei der kreuzreagierende Antikörper eine zentrale Rolle spielen, ist diese Feststellung bemerkenswert. Das Design der vorliegenden Studie ist jedoch nicht geeignet, exakte Aussagen bezüglich des Einflusses von Flavivirus-Impfungen auf den klinischen Verlauf eines Denguefiebers zu machen, nicht zuletzt weil die Zahl der insgesamt Untersuchten zu gering war und Denguefieber-Patienten mit asymptomatischem Verlauf in dieser Arbeit unberücksichtigt blieben.

7. Zusammenfassung

Denguefieber ist eine global zunehmende Infektionskrankheit (*emerging infectious disease*). Auch bei Reisenden wird ein Anstieg der Häufigkeit von Denguefieber-Erkrankungen beobachtet, was neben der Zunahme der Ausdehnung des Endemiegebietes vor allem auf vermehrte Tropenreisen, veränderte Urlaubsgewohnheiten und die Globalisierung zurückzuführen ist. Aktuell ist das Denguefieber häufiger Ursache von fieberhaften Infektionen bei Reiserückkehrern aus tropischen Ländern, tropisches Afrika ausgenommen, als Malaria. In Zukunft werden voraussichtlich auch die bislang seltenen, komplizierten Verläufe bei Reiserückkehrern häufiger auftreten. Eine korrekte und schnelle Diagnosestellung ist somit von zunehmender Bedeutung. Direkte Nachweismethoden wie Kultur oder PCR stehen oft nicht zur Verfügung und funktionieren nur während der ersten Krankheitstage. Die Diagnosestellung beruht somit in der Regel auf einer Serodiagnostik. Durch vorhergehende Flavivirus-Infektionen (Dengue, Gelbfieber, Frühsommer-Meningoenzephalitis, Japanische Enzephalitis), sowie Impfungen gegen diese, kann es jedoch zu Kreuzreaktionen kommen. Die Beeinträchtigung der Serodiagnostik kann folglich zu falsch positiven und falsch negativen Testergebnissen führen: Bei einigen Reiserückkehrern wird fälschlicherweise Denguefieber diagnostiziert und eventuell eine andere, behandlungsbedürftige Infektion übersehen. Bei anderen hingegen wird das Denguefieber nicht diagnostiziert und somit nicht adäquat behandelt.

Es gibt nur wenige Daten über die Häufigkeit, den Verlauf (inkl. Komplikationen) sowie die Diagnostik von Denguefieber-Fällen bei Reiserückkehrern. Noch weniger untersucht ist der Einfluss von Flavivirus-Impfungen auf die Symptomatik und die serologische Diagnosestellung des Denguefiebers. Die Zielsetzung der vorliegenden Dissertation war daher

- Die Untersuchung der Epidemiologie und des klinischen Verlaufs von importierten Denguefieber-Erkrankungen unter besonderer Berücksichtigung möglicher persistierender Symptome und des Einflusses vorausgegangener Flavivirus-Impfungen.
- Die Untersuchung der Dynamik der Bildung und Persistenz spezifischer Antikörper der IgG und IgM-Klassen sowie des Einflusses vorausgegangener Flavivirus-Impfungen hierauf.

Weil Deutschland kein Dengue-Virus-Endemiegebiet ist, eignen sich nach Deutschland zurückkehrende Tropenreisende besonders gut für diese Untersuchung, da man bei Ihnen im Falle eines Denguefiebers von einer Dengue-Virus-Primärinfektion ausgehen kann. Dies ist besonders im Hinblick auf die Dynamik der Antikörperbildung wichtig, da sich diese bei Zweitinfektionen unterschiedlich darstellt. Auch im Hinblick auf die Untersuchung des klinischen Verlaufs ist ein sicheres Unterscheiden zwischen Erstinfektion und Folgeinfektionen notwendig.

Aus der Datenbank der Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin der LMU München wurden Patienten ausgesucht, bei denen in den Jahren von 1998 bis 2007 die Diagnose Denguefieber gestellt wurde. Die Arztbriefe wurden eingesehen und nur diejenigen Patienten berücksichtigt und in die

Studie aufgenommen, deren Reiseziele und Inkubationszeiten tatsächlich mit der Diagnose eines Denguefiebers vereinbar waren. Diese Patienten erhielten dann ein Schreiben mit der Bitte um eine Wiedervorstellung, zwecks erneuter Bestimmung der Dengue-Antikörper-Spiegel, sowie einen Fragebogen (siehe Anhang).

Die Patienten kamen mit unterschriebener Einverständniserklärung und dem ausgefüllten Fragebogen in unsere Ambulanz. Ein 7,5 ml Serumröhrchen Blut wurde abgenommen. Darüber hinaus wurde die Serumbank dahingehend überprüft, ob noch von der zur Denguefieber-Diagnose führenden Untersuchung Serum vorhanden war. Nachdem alle Seren abgenommen waren, wurden die ELISA-Untersuchungen mit Novagnost TM Dengue IgM bzw. IgG Testkits durchgeführt. Dies geschah sowohl mit den im Rahmen der vorliegenden Untersuchung abgenommenen Proben (P-Proben) als auch mit den bereits bei der Erstvorstellung eingefrorenen Proben (V-Proben). Es handelt sich dabei um Enzymimmunoassays zur qualitativen bzw. semi-quantitativen immunenzymatischen Bestimmung von spezifischen IgM- bzw. IgG-Antikörpern gegen Dengue-Virus in Humansenen.

Antikörper-Einheiten (antibody units - AU) wurden mithilfe von Kontrollseren berechnet. Sowohl für IgM- als auch IgG-Antikörper wurde der Trennwert bei 12 AU festgelegt.

Die Daten wurden mit Microsoft Excel verwaltet. Ein Teil der deskriptiven Statistik wurde mit dem gleichen Programm durchgeführt. Die analytische Statistik wurde mit SPSS 17.0 erstellt. Signifikante Unterschiede wurden als p-Werte unter 0,05 oder als nicht-überlappende 95%-Konfidenzintervalle definiert.

Insgesamt erfüllten 66 Patienten die Einschlusskriterien. Ihr Durchschnittsalter bei Erstvorstellung war 37 Jahre, 59,1% waren Frauen. Zwischen Symptombeginn und Erstvorstellung in unserem Institut vergingen im Median 10 Tage. Circa 60% der Patienten wurden innerhalb der ersten 2 Wochen nach Symptombeginn vorstellig. Die Zweitvorstellung zwecks Studie erfolgt im Median nach 2,3 Jahren (64 Tage bis 15 Jahre; Mittelwert 3,8 Jahre).

43,9% der Patienten hatten bei Erstvorstellung noch nie eine Flavivirus-Impfung im Laufe ihres Lebens erhalten und waren auch nie wesentlich an einer Flavivirus-Infektion erkrankt.

Von 59 der 66 Patienten war in unserer Serumbank Serum der Erstvorstellung vorhanden. Der IgM-ELISA war bei 42,4%, der IgG-ELISA bei 88,1% positiv.

Bei der Untersuchung von Einflussfaktoren auf die Ergebnisse des IgG-ELISA bei Erstvorstellung zeigte sich, dass Patienten, die gegen mindestens ein Flavivirus geimpft waren, signifikant häufiger einen positiven IgG-ELISA aufwiesen als solche ohne Flavivirus-Impfung. Des Weiteren hatten Nichtgeimpfte signifikant niedrigere IgG-AU als Geimpfte (25 bzw. 36). Gleiches gilt für Gelbfieber- und FSME-Impfungen: Auch hier zeigten die Nicht-Geimpften niedrigere IgG-AU.

Es zeigte sich ebenfalls ein inverser Zusammenhang zwischen dem Resultat des IgM-ELISA bei Erstvorstellung (=Diagnosestellung) und der Impfscore-Gruppierung. Die Nicht-Geimpften hatten eine höhere Wahrscheinlichkeit eines positiven IgM-ELISA-Ergebnisses und höhere AU-Mittelwerte als Geimpfte (23 bzw. 11). Der gleiche Trend bestand bezüglich des Einflusses der Gelbfieber- bzw. FSME-Impfungen.

Bei Wiedervorstellung war der Verlauf der IgG-Antikörper in bemerkenswerter Weise unabhängig von weiteren Einflussfaktoren wie Alter, Geschlecht oder Flavivirus-Impfstatus. Von einem Patienten abgesehen, zeigten alle (d.h. >98%) nach einer Zeitspanne von 0,3 bis 15 Jahren (Median 2,3 Jahre) noch einen positiven IgG-ELISA. Eine einmalige Dengue-Virus-Infektion führte also zu einer lang andauernden Immunantwort.

Der IgM-ELISA war nur bei einem von 66 Probanden bei Wiedervorstellung positiv. Ein statistisch signifikanter, inverser Zusammenhang zwischen Zeitspanne S-P1 und Höhe der IgM-AU konnte somit gezeigt werden. Des Weiteren waren die IgM-AU-Mittelwerte bei den Nicht-Geimpften signifikant höher als bei den Patienten mit mindestens einer Flavivirus-Impfung – bei beiden Gruppen war der Wert jedoch deutlich unter dem Trennwert von 12 und das Resultat somit als negativ einzustufen.

Bei der vorliegenden Arbeit litten 95,4% der Patienten unter Fieber, welches somit analog zu anderen Studien das häufigste Symptom der Dengue-Virus-Infektion darstellte. Lediglich drei Probanden gaben dieses Symptom nicht an. Kopfschmerzen waren das zweithäufigste Symptom und traten bei 71,2% der Patienten auf. Danach folgten Appetitlosigkeit (57,3%), Hautbeschwerden (Rötung, Juckreiz, Überempfindlichkeit) (54,6%), Gelenkschmerzen (53,0%), Muskelschmerzen (47,0%) sowie Übelkeit (30,3%). An weiteren Beschwerden, die sich nicht auf der Liste der zu markierenden Beschwerden befanden, wurden angegeben: Leistungsminderung (43,9%), gastroenterologische Beschwerden (18,2%), neurologische Beschwerden (16,7%), andere dermatologischen Beschwerden (13,6%), psychologische Beschwerden (9,1%) und sonstige Beschwerden (16,7%).

Die Beschwerden dauerten im Median 19 Tage. Die Dauer der akuten Beschwerden betrug durchschnittlich 14 Tage (Median), die „länger andauernden“ Beschwerden 60 Tage. 39% der Patienten hatten Beschwerden, welche 30 oder mehr Tage lang anhielten und 14% litten sogar 3 Monate oder länger an Symptomen. Die häufigsten chronischen Beschwerden waren hierbei Leistungsminderung (65,4%), Gelenkschmerzen (23,1%) und neurologische Beschwerden (15,4%).

Ein Exanthem und Muskelschmerzen in der akuten Phase erhöhten die Wahrscheinlichkeit einer chronischen Leistungsminderung, wohingegen akute Gelenkschmerzen diese senkten.

Die meisten Beschwerden traten unabhängig vom Flavivirus-Impfstatus auf. Allerdings gab es eine statistisch signifikante Korrelation zwischen solchen Impfungen und dem Auftreten von Hautbeschwerden und Leistungsminderung.

Ein Einfluss des Flavivirus-Impfstatus auf die Dauer der Beschwerden ist wahrscheinlich. Allerdings gab es hier paradoxe Ergebnisse. So hatten Flavivirus-Geimpfte einerseits signifikant häufiger eine länger andauernde Leistungsminderung, andererseits dauerte diese, sofern die 30-Tages-Grenze erreicht oder überschritten war, weniger lang an als bei Nichtgeimpften.

Die vorliegende Arbeit zeigt die Bedeutung einer korrekten Erhebung des Flavivirus-Impfstatus. Nur so ist es möglich eine Dengue-Virus-Infektion mit serologischen Methoden korrekt zu diagnostizieren. Des Weiteren zeigt sie, dass IgG-Antikörper nach einer einmaligen Infektion über einen sehr langen Zeitraum persistieren können und die Höhe der AU unabhängig vom Flavivirus-Impfstatus und sogar

dem Zeitpunkt der Infektion ist. Die IgM-AU hingegen nehmen mit zunehmendem Abstand zum Infektionszeitpunkt ab, und dies umso schneller, je höher der Flavivirus-Impfscore.

Ob durch Flavivirus-Impfungen induzierte, mit Dengue-Virus-Antigenen kreuzreagierende Antikörper, den Verlauf eines Denguefiebers günstig beeinflussen, oder, analog zu kreuzreagierenden Antikörpern nach einer Dengueprimärinfektion, zu komplizierten Dengue-Verläufen prädisponieren, ist nicht bekannt. Bei der vorliegenden Untersuchung konnte ein gewisser Einfluss des Impfstatus auf den klinischen Verlauf gezeigt werden. Allerdings sind weitere Untersuchungen mit größeren Fallzahlen und Kontrollgruppen notwendig, um detaillierter Aussagen treffen zu können.

8. Abkürzungen und Begriffserklärungen

8.1. Abkürzungen

AITM:	Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin der LMU
AU:	Antibody Unit = Antikörper-Einheit. Diese Einheiten sind proportional zur Konzentration der Antikörper im Serum.
CFS:	chronic fatigue syndrome
DENV:	Dengue-Virus
DF:	Denguefieber oder Dengue-Virus-Infektion
DHF:	Dengue hämorrhagisches Fieber
DSS:	Dengue Schock Syndrom
EBV:	Epstein-Barr-Virus
ELISA:	Enzyme linked Immunofluorescence assay
FSME:	Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME-V = FSME-Virus)
Isc.:	Impfscore (siehe Begriffserklärungen)
JE:	Japanische Enzephalitis (JEV = JE-Virus)
KI:	Konfidenzintervall
LMU:	Ludwig-Maximilians-Universität
NPW:	Negativer prädiktiver Wert
P1:	Zweitvorstellung = Wiedereinbestellung Monate bis Jahre nach Erstvorstellung und Diagnosestellung in unserem Institut (siehe Begriffserklärungen)
PCR:	Polymerase chain reaction
PPW:	Positiver prädiktiver Wert
Rsc.:	Reisescore, Werte von 0 bis 2 (siehe Begriffserklärungen)
RSSE:	Russian Spring Summer Enzephalitis
tg:	Travel group; Werte von 1 bis 4 (siehe Begriffserklärungen)
V1:	Erstvorstellung (siehe Begriffserklärungen)
WNV:	West Nile Virus
YF:	Yellow fever = Gelbfieber
YFV:	YF-Virus

8.2. Begriffserklärungen

Akute Beschwerden:

Beschwerden welche den Patienten zur Vorstellung in der AITM geführt hatten.

Chronische Beschwerden:

Beschwerden, welche mindestens 30 Tage lang dauern.

Impfscore:

Um den Einfluss der verschiedenen Flavivirus-Impfungen auf die Dengue-Antikörper-Dynamik untersuchen zu können, wurde ein "Impfscore" gebildet mit diskreten Werten von 0 bis 6. Für jede komplett laut Impfeempfehlungen durchgeführte Impfung gegen eine der drei Erkrankungen YF, JE oder FSME gab es 2 Punkte. Lag die letzte Impfung jedoch länger zurück als der empfohlene Zeitpunkt einer Booster-Impfung, so wurde 1 Punkt vergeben. Bei völliger Impfnaivität gegenüber einer Impfung gab es null Punkte.

Tabelle 1: Punktvergabe zur Bildung des Impfscores: Abhängigkeit vom Zeitpunkt der letzten Impfung

Impfung	YF		JE		FSME	
	≤ 10	>10	≤ 5	>5	≤ 5	>5
Zeitpunkt letzter Impfung (Jahre)	≤ 10	>10	≤ 5	>5	≤ 5	>5
Punkte	2	1	2	1	2	1

YF = Gelbfieber

JE = Japanische Enzephalitis

FSME = Frühsommer-Meningoenzephalitis

Länger andauernde Beschwerden:

Im Fragebogen konnten Patienten angeben, ob sie neben den akuten Beschwerden, welche zur Vorstellung in der AITM geführt hatten, noch andere bereits länger andauernde Beschwerden hatten. Dabei spielte die eigentliche Dauer dieser Beschwerden keine Rolle. So können länger andauernde Beschwerden eines Patienten von kürzerer Dauer sein als akute Beschwerden eines anderen Patienten.

P1 = Zweitvorstellung = Wiedervorstellung = Wiedereinbestellung:

bezeichnet die Vorstellung welche erfolgte, nachdem die Patienten sich bereit erklärten, als Probanden an der Studie teilzunehmen. Sie wird auch als Wiedervorstellung bezeichnet. Sie fand Monate bis Jahre nach der Diagnosestellung „Denguefieber“ in unserem Institut (AITM) statt.

Reisescore:

Siehe travel group.

Serum V1:

bezeichnet das bei V1 gewonnene und kryokonservierte Serum.

Serum P1:

bezeichnet das bei P1 gewonnene und kryokonservierte Serum.

S-V1:

bezeichnet den zeitlichen Abstand (in Tagen) zwischen Symptombeginn und Erstvorstellung (V1).

S-P1:

bezeichnet den zeitlichen Abstand (in Jahren) zwischen Symptombeginn und Wiedervorstellung (P1).

Travel group und Reisescore

Idealerweise sollten nur Probanden mit einer einmaligen Tropenreise eingeschlossen werden, um inapparente und/oder nicht-diagnostizierte vorherige Dengue-Virus-Infektionen ausschließen zu können, und so sicherzustellen, dass alle Patienten tatsächlich an einer Dengue-Virus-Erstinfektion erkrankt waren. Dies war jedoch nicht möglich, da sonst die Fallzahl zu klein gewesen wäre, da die meisten der kontaktierten Personen mehr als einmal in tropischen Ländern unterwegs waren. Um den möglichen Einfluss dieser Tropenreisen auf die untersuchten Parameter zu untersuchen, wurden zwei „Tropenreisen-Parameter“ gebildet und bei den statistischen Analysen eingeschlossen: Die travel group und der Reisescore.

Travel group (tg):

Die Reisenden wurden in 4 unterschiedliche Gruppen („travel groups“, tg abgekürzt) eingeteilt:

- tg1 - wenn keine weitere Reise in Dengue-Virus endemische Länder stattgefunden hatte,
- tg2 - wenn zwischen V1 und P1 eine oder mehrere solcher Reisen stattgefunden hatten,
- tg3 - wenn solche Reisen oder eine solche Reise nur vor V1, aber nicht zwischen V1 und P1 stattgefunden hatte(n),
- tg4 - wenn sowohl vor V1 als auch zwischen V1 und P1 Reisen in Dengue-Virus endemische Länder stattgefunden hatten.

Die Dauer der jeweiligen Reisen spielte hierbei keine Rolle.

Um die gesamte in den Tropen verbrachte Dauer (die zur Infektion führende Reise nicht inbegriffen) zu berücksichtigen und somit die Wahrscheinlichkeit einer weiteren, unbemerkten, Dengue-Virus-Infektion quantifizieren zu können, wurden die Patienten in drei Reisescore-Gruppen unterteilt:

Reisescore-Gruppe 0:

Bezeichnet die Patienten, die neben der Reise, welche zur Infektion geführt hat, nie oder maximal 4 Wochen in den Tropen (Dengue-Virus endemischen Länder) unterwegs waren und

hierbei keinerlei Beschwerden entwickelten. Das Risiko der Probanden in dieser Gruppe, mehr als eine Dengue-Virus-Infektion erlitten zu haben, ist somit als sehr gering einzuschätzen.

Reisescore-Gruppe 1:

Enthält diejenigen Patienten, welche sich >4 aber <13 Wochen (d.h. 1 bis 3 Monate) neben der Reise, welche zur Infektion geführt hat, in Dengue-Virus endemischen Länder aufhielten und hierbei keinerlei Denguefieber-typischen Beschwerden hatten. Ihr Risiko, mehr als eine Dengue-Virus-Infektion erlitten zu haben, erscheint auch sehr gering.

Reisescore-Gruppe 2:

Enthält diejenigen Patienten, welche sich länger als 3 Monate (>12 Wochen), neben der Reise, welche zur Infektion geführt hat, in Dengue-Virus endemischen Länder aufhielten und hierbei keinerlei Denguefieber-typischen Beschwerden entwickelten. Ihr Risiko, mehr als eine Dengue-Virus-Infektion erlitten zu haben, ist als höher einzuschätzen, kann jedoch nicht genau beziffert werden.

V1 = Erstvorstellung

Bezeichnet die Erstvorstellung der Patienten in unserem Institut, d.h. die zur Diagnosestellung „Denguefieber“ führende Vorstellung.

Hier wurde ein Satz entfernt.

9. Literatur

1. Tsai V, Solomon. flaviviruses. Churchill Livingstone, 2005 (Mandell D, Bennet, ed. Principles and Practices of Infectious Diseases)
2. Marr JS, Calisher CH. Alexander the Great and West Nile virus encephalitis. *Emerg Infect Dis* 2003;9:1599-603
3. Máximo Bernabeu-Wittel a MR-Pb, María Dolores del Toro c, Javier Aznar b, Ángel Muniain c, Fernando de Ory d, Cristina Domingo d, Jerónimo Pachón e. Seroprevalencia de infecciones por el virus del Nilo Occidental en la población general del sur de España. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2007;25:25:561-5
4. Rigau-Perez JG, Clark GG, Gubler DJ, Reiter P, Sanders EJ and Vorndam AV. Dengue and dengue haemorrhagic fever. *Lancet* 1998;352:971-7
5. Graham RR, Juffrie M, Tan R, et al. A prospective seroepidemiologic study on dengue in children four to nine years of age in Yogyakarta, Indonesia I. studies in 1995-1996. *Am J Trop Med Hyg* 1999;61:412-9
6. Endy TP, Chunsuttiwat S, Nisalak A, et al. Epidemiology of inapparent and symptomatic acute dengue virus infection: a prospective study of primary school children in Kamphaeng Phet, Thailand. *Am J Epidemiol* 2002;156:40-51
7. Annual epidemiological surveillance report. Nonthaburi, Thailand: Office of the Permanent Secretary for Public Health, Ministry of Public Health, 1999.). Annual epidemiological surveillance report. Nonthaburi, Thailand. 1999
8. Freedman DO, Weld LH, Kozarsky PE, et al. Spectrum of disease and relation to place of exposure among ill returned travelers. *N Engl J Med* 2006;354:119-30
9. Trofa AF, DeFraités RF, Smoak BL, et al. Dengue fever in US military personnel in Haiti. *Jama* 1997;277:1546-8
10. Allwinn R HN, Doerr HW. Dengue in travellers is still underestimated. *Intervirology* 2008;96-100
11. Stephenson I, Roper J, Fraser M, Nicholson K and Wiselka M. Dengue fever in febrile returning travellers to a UK regional infectious diseases unit. *Travel Med Infect Dis* 2003;1:89-93
12. Halstead SB. Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. *Science* 1988;239:476-81
13. De Paula SO FB. Dengue: a review of the laboratory tests a clinician must know to achieve a correct diagnosis. *Braz J Infect Dis*. 2004:390-8
14. Halstead SB. The Alexander D. Langmuir Lecture. The pathogenesis of dengue. Molecular epidemiology in infectious disease. *Am J Epidemiol* 1981;114:632-48
15. Sangkawibha N, Rojanasuphot S, Ahandrik S, et al. Risk factors in dengue shock syndrome: a prospective epidemiologic study in Rayong, Thailand. I. The 1980 outbreak. *Am J Epidemiol* 1984;120:653-69
16. Guzman MG, Kouri G, Valdes L, et al. Epidemiologic studies on Dengue in Santiago de Cuba, 1997. *Am J Epidemiol* 2000;152:793-9; discussion 804
17. Mongkolsapaya J, Dejnirattisai W, Xu XN, et al. Original antigenic sin and apoptosis in the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. *Nat Med* 2003;9:921-7
18. Guzman MG, Kouri GP, Bravo J, Soler M, Vazquez S and Morier L. Dengue hemorrhagic fever in Cuba, 1981: a retrospective seroepidemiologic study. *Am J Trop Med Hyg* 1990;42:179-84

19. Kao CL, King CC, Chao DY, Wu HL and Chang GJ. Laboratory diagnosis of dengue virus infection: current and future perspectives in clinical diagnosis and public health. *J Microbiol Immunol Infect* 2005;38:5-16
20. Wichmann O, Stark K, Shu PY, et al. Clinical features and pitfalls in the laboratory diagnosis of dengue in travellers. *BMC Infect Dis* 2006;6:120
21. Houghton-Trivino N, Montana D and Castellanos J. Dengue-yellow fever sera cross-reactivity; challenges for diagnosis. *Rev Salud Publica (Bogota)* 2008;10:299-307
22. Donoso Mantke O, Lemmer K, Biel SS, et al. Quality control assessment for the serological diagnosis of dengue virus infections. *J Clin Virol* 2004;29:105-12
23. Lindegren G, Vene S, Lundkvist A and Falk KI. Optimized diagnosis of acute dengue fever in Swedish travelers by a combination of reverse transcription-PCR and immunoglobulin M detection. *J Clin Microbiol* 2005;43:2850-5
24. Schilling S, Ludolfs D, Van An L and Schmitz H. Laboratory diagnosis of primary and secondary dengue infection. *J Clin Virol* 2004;31:179-84
25. Fredi Alexander Díaz-Quijano RAM-V, Raquel Elvira Ocazonez, Luis Ángel Villar-Centeno. Evaluación de la prueba de IgM en suero agudo para el diagnóstico del dengue en un área endémica. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2006;24:90-2
26. Hunsperger EA, Yoksan S, Buchy P, et al. Evaluation of commercially available anti-dengue virus immunoglobulin M tests. *Emerg Infect Dis* 2009;15:436-40
27. Tran Thi Thanh Nga, 2 Khoa T. D. Thai,1 Hoang Lan Phuong,1,3 Phan Trong Giao,3 Le Quoc Hung,3 Tran Quang Binh,3 Vo Thi Chi Mai,4 Nguyen Van Nam,5 and Peter J. de Vries. Evaluation of Two Rapid Immunochromatographic Assays for Diagnosis of Dengue among Vietnamese Febrile Patients. *Clin Vaccine Immunol* 2007:799–801
28. Vaughn DW NA, Solomon T, Kalayanarooj S, Nguyen MD, Kneen R, Cuzzubbo A, Devine PL. Rapid serologic diagnosis of dengue virus infection using a commercial capture ELISA that distinguishes primary and secondary infections. *Am J Trop Med Hyg*. 1999:693-8
29. Balmaseda A, Guzman MG, Hammond S, et al. Diagnosis of dengue virus infection by detection of specific immunoglobulin M (IgM) and IgA antibodies in serum and saliva. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10:317-22
30. Groen J, Velzing J, Copra C, et al. Diagnostic value of dengue virus-specific IgA and IgM serum antibody detection. *Microbes Infect* 1999;1:1085-90
31. Price WH, Thind IS. Protection against West Nile virus induced by a previous injection with dengue virus. *Am J Epidemiol* 1971;94:596-607
32. Tarr GC HW. Cross-protection between group B arboviruses: resistance in mice to Japanese B encephalitis and St. Louis encephalitis viruses induced by Dengue virus immunization. *Infect Immun*. 1974 1974:909-15
33. Libraty DH, Nisalak A, Endy TP, Suntayakorn S, Vaughn DW and Innis BL. Clinical and immunological risk factors for severe disease in Japanese encephalitis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2002;96:173-8
34. JAMES O. BOND WMH. Epidemiologic studies of possible cross protection between dengue and St. Louis encephalitis arboviruses in Florida. *Amer. J. Epid.* 1970;92:321–329

35. Gomez SY, Ocazonez RE. [Yellow fever virus 17D neutralising antibodies in vaccinated Colombian people and unvaccinated ones having immunity against dengue]. *Rev Salud Publica (Bogota)* 2008;10:796-807
36. Fagbami A, Halstead SB, Marchette N and Larsen K. Heterologous flavivirus infection-enhancing antibodies in sera of Nigerians. *Am J Trop Med Hyg* 1988;38:205-7
37. Wichmann O, Gascon J, Schunk M, et al. Severe dengue virus infection in travelers: risk factors and laboratory indicators. *J Infect Dis* 2007;195:1089-96
38. Lai CY, Tsai WY, Lin SR, et al. Antibodies to envelope glycoprotein of dengue virus during the natural course of infection are predominantly cross-reactive and recognize epitopes containing highly conserved residues at the fusion loop of domain II. *J Virol* 2008;82:6631-43
39. Makino Y, Tadano M, Saito M, et al. Studies on serological cross-reaction in sequential flavivirus infections. *Microbiol Immunol* 1994;38:951-5
40. Dobler G, Jelinek T, Frosner G, Nothdurft HD and Loscher T. [Cross reactions of patients with acute dengue fever to tick-borne encephalitis]. *Wien Med Wochenschr* 1997;147:463-4
41. Holzmann H, Kundi M, Stiasny K, et al. Correlation between ELISA, hemagglutination inhibition, and neutralization tests after vaccination against tick-borne encephalitis. *J Med Virol* 1996;48:102-7
42. Allwinn R, Doerr HW, Emmerich P, Schmitz H and Preiser W. Cross-reactivity in flavivirus serology: new implications of an old finding? *Med Microbiol Immunol* 2002;190:199-202
43. Kayser M, Klein H, Paasch I, Pilaski J, Blenk H and Heeg K. Human antibody response to immunization with 17D yellow fever and inactivated TBE vaccine. *J Med Virol* 1985;17:35-45
44. Schwartz E, Mileguir F, Grossman Z and Mendelson E. Evaluation of ELISA-based sero-diagnosis of dengue fever in travelers. *J Clin Virol* 2000;19:169-73
45. Guzman MG, Alvarez M, Rodriguez-Roche R, et al. Neutralizing antibodies after infection with dengue 1 virus. *Emerg Infect Dis* 2007;13:282-6
46. Allison Imrie JM, Alexandra Gurary, Munkhzul Sukhbaatar, Thang Thua Truong, C. Bruce Cropp, Paul Effler. Antibody to Dengue 1 detected more than 60 years after infection. *Viral Immunology* 2007:672-675
47. Jelinek T, Dobler G, Holscher M, Loscher T and Nothdurft HD. Prevalence of infection with dengue virus among international travelers. *Arch Intern Med* 1997;157:2367-70
48. Jelinek T, Muhlberger N, Harms G, et al. Epidemiology and clinical features of imported dengue fever in Europe: sentinel surveillance data from TropNetEurop. *Clin Infect Dis* 2002;35:1047-52
49. Thai KT, Binh TQ, Giao PT, et al. Seroprevalence of dengue antibodies, annual incidence and risk factors among children in southern Vietnam. *Trop Med Int Health* 2005;10:379-86
50. Lopez-Velez R, Perez-Casas C, Vorndam AV and Rigau J. Dengue in Spanish travelers returning from the tropics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996;15:823-6
51. Schwartz E, Mendelson E and Sidi Y. Dengue fever among travelers. *Am J Med* 1996;101:516-20
52. Potasman I, Srugo I and Schwartz E. Dengue seroconversion among Israeli travelers to tropical countries. *Emerg Infect Dis* 1999;5:824-7
53. Waterman SH, Novak RJ, Sather GE, Bailey RE, Rios I and Gubler DJ. Dengue transmission in two Puerto Rican communities in 1982. *Am J Trop Med Hyg* 1985;34:625-32
54. Burke DS, Nisalak A, Johnson DE and Scott RM. A prospective study of dengue infections in Bangkok. *Am J Trop Med Hyg* 1988;38:172-80

55. McBride WJ, Mullner H, LaBrooy JT and Wronski I. The 1993 dengue 2 epidemic in Charters Towers, North Queensland: clinical features and public health impact. *Epidemiol Infect* 1998;121:151-6
56. Teichmann D, Gobels K, Niedrig M and Grobusch MP. Dengue virus infection in travellers returning to Berlin, Germany: clinical, laboratory, and diagnostic aspects. *Acta Trop* 2004;90:87-95
57. Gascon J, Giner V, Vidal J, Jou JM, Mas E and Corachan M. [Dengue: a re-emerging disease. A clinical and epidemiological study in 57 Spanish travelers]. *Med Clin (Barc)* 1998;111:583-6
58. Munoz J, Puente S, Lopez-Velez R, et al. [Clinical and epidemiological features of imported dengue in Spain]. *Med Clin (Barc)* 2008;131:18-21
59. Shirtcliffe P, Cameron E, Nicholson KG and Wiselka MJ. Don't forget dengue! Clinical features of dengue fever in returning travellers. *J R Coll Physicians Lond* 1998;32:235-7
60. Sung V, O'Brien DP, Matchett E, Brown GV and Torresi J. Dengue Fever in travelers returning from southeast Asia. *J Travel Med* 2003;10:208-13
61. Garcia-Rivera EJ, Rigau-Perez JG. Dengue severity in the elderly in Puerto Rico. *Rev Panam Salud Publica* 2003;13:362-8
62. Kalayanarooj S, Nimmannitya S. Is dengue severity related to nutritional status? *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2005;36:378-84
63. Taubitz W, Cramer JP, Kapaun A, et al. Chikungunya fever in travelers: clinical presentation and course. *Clin Infect Dis* 2007;45:e1-4
64. Hickie I, Davenport T, Wakefield D, et al. Post-infective and chronic fatigue syndromes precipitated by viral and non-viral pathogens: prospective cohort study. *Bmj* 2006;333:575
65. Misra UK, Kalita J, Syam UK and Dhole TN. Neurological manifestations of dengue virus infection. *J Neurol Sci* 2006;244:117-22
66. Ferreira ML, Cavalcanti CG, Coelho CA and Mesquita SD. [Neurological manifestations of dengue: study of 41 cases.]. *Arq Neuropsiquiatr* 2005;63:488-93
67. Lum LC, Lam SK, Choy YS, George R and Harun F. Dengue encephalitis: a true entity? *Am J Trop Med Hyg* 1996;54:256-9
68. Soares CN, Faria LC, Peralta JM, de Freitas MR and Puccioni-Sohler M. Dengue infection: neurological manifestations and cerebrospinal fluid (CSF) analysis. *J Neurol Sci* 2006;249:19-24
69. Domingues RB, Kuster GW, Onuki de Castro FL, Souza VA, Levi JE and Pannuti CS. Headache features in patients with dengue virus infection. *Cephalalgia* 2006;26:879-82
70. Solomon T, Dung NM, Vaughn DW, et al. Neurological manifestations of dengue infection. *Lancet* 2000;355:1053-9
71. de Oliveira SA, Camacho LA, Bettini LR, et al. [The joint manifestations of exanthematous viroses]. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999;32:125-30
72. Seet RC, Quek AM and Lim EC. Post-infectious fatigue syndrome in dengue infection. *J Clin Virol* 2007;38:1-6
73. Petersen I, Thomas JM, Hamilton WT and White PD. Risk and predictors of fatigue after infectious mononucleosis in a large primary-care cohort. *Qjm* 2006;99:49-55
74. White PD, Thomas JM, Amess J, et al. Incidence, risk and prognosis of acute and chronic fatigue syndromes and psychiatric disorders after glandular fever. *Br J Psychiatry* 1998;173:475-81

75. Hotopf M, Noah N and Wessely S. Chronic fatigue and minor psychiatric morbidity after viral meningitis: a controlled study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996;60:504-9
76. Cope H, David A, Pelosi A and Mann A. Predictors of chronic "postviral" fatigue. *Lancet* 1994;344:864-8
77. Berelowitz GJ, Burgess AP, Thanabalasingham T, Murray-Lyon IM and Wright DJ. Post-hepatitis syndrome revisited. *J Viral Hepat* 1995;2:133-8
78. O'Dowd H, Gladwell P, Rogers CA, Hollinghurst S and Gregory A. Cognitive behavioural therapy in chronic fatigue syndrome: a randomised controlled trial of an outpatient group programme. *Health Technol Assess* 2006;10:iii-iv, ix-x, 1-121
79. Candy B, Chalder T, Cleare AJ, Wessely S and Hotopf M. A randomised controlled trial of a psycho-educational intervention to aid recovery in infectious mononucleosis. *J Psychosom Res* 2004;57:89-94
80. Candy B CT, Cleare AJ, Wessely S, White PD, Hotopf M. Recovery from infectious mononucleosis: a case for more than symptomatic therapy? A systematic review. *Br J Gen Pract* 2002;844-51
81. Nijs J, Paul L and Wallman K. Chronic fatigue syndrome: an approach combining self-management with graded exercise to avoid exacerbations. *J Rehabil Med* 2008;40:241-7
82. Stiasny K, Kiermayr S, Holzmann H and Heinz FX. Cryptic properties of a cluster of dominant flavivirus cross-reactive antigenic sites. *J Virol* 2006;80:9557-68
83. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, et al. Dengue viremia titer, antibody response pattern, and virus serotype correlate with disease severity. *J Infect Dis* 2000;181:2-9
84. Guzman MG, Kouri G. Advances in dengue diagnosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 1996;3:621-7
85. Vordam V. KG. Laboratory diagnosis of dengue virus infections. 1997 (DJ Guber GK, ed. *Dengue and dengue hemorrhagic fever*, cab international, London, United Kingdom, pp 313-34. 1997.)
86. WHO fact sheet N°100, Januar 2011
87. Nuegoonpipat A, Panthuyosri N, Anantapreecha S, Chanama S, Sa-Ngasang A, Sawanpanyalert P, Kurane I. Cross-reactive IgM responses in patients with dengue or Japanese encephalitis. *J Clin Virol*. 2008 May;42(1):75-7. Epub 2008 Mar 4.

10. Lebenslauf

Allgemeine Informationen

- Geburtsdatum: 13.07.1976
- Geburtsort: Luxemburg
- Nationalität: Luxemburgisch

Berufliche Erfahrung

- Seit 3.10.2011: Assistenzarzt (interne) auf der Polyvalenten Intensivstation, GHSR, St. Pierre, La Réunion, Frankreich
- 17.09.2010 – bis 15.09.2011: Assistenzarzt (interne) in der multidisziplinären Notaufnahme im GHSR, St. Pierre, La Réunion, Frankreich.
- 06.12.2005 – 30.06.2010: Assistenzarzt an der Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin des Klinikums der LMU in München
- 01.11.2004 - 01.05.2005: Arzt bei Ärzte ohne Grenzen im Burundi (Opfer des bewaffneten Konfliktes, Cholera Epidemie, ländliches Krankenhaus)
- 01.07.2003 - 30.09.2004: AiP in der Medizinischen Poliklinik, Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität (davon 9 Monate Infektionsambulanz)

Medizinstudium (1995-2002) und master of public health (2008-2010)

- 1995-1996: Cours Universitaire, Luxemburg
- 1996-1998: Ludwig Maximilians Universität, München
- 1998-1999: Faculté de Médecine Denis Diderot, Paris
- 1999-2002: Ludwig Maximilians Universität, München
- 2008-2010: Masterstudiengang in public health, Ludwig Maximilians Universität

Qualifikationen

- Master in Public Health (09.2010)
- Diplom in Tropenmedizin, Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin, Hamburg, 2003

Sprachen

- Muttersprache: Luxemburgisch
- Deutsch, Französisch, Englisch, Spanisch, Portugiesisch

11. Anhang

11.1. Fragebogen

Name: _____ Vorname: _____

Alter: ____ Jahre Geschlecht: männlich / weiblich

Wann wurde bei Ihnen eine Dengueinfektion festgestellt?

Datum: _____

In welchem Land waren Sie direkt vor oder während des Ausbruchs Ihrer Erkrankung?

Land: _____ Aufenthaltsdauer: ____ Wochen Datum: _____

Können Sie sich an Mückenstiche während dieses Aufenthaltes erinnern?

nein wenige viele

Welche Beschwerden standen bei Ihnen im Vordergrund? (mehrere Kreuze möglich)

Fieber Kopfschmerzen
Muskelschmerzen
 Gelenkschmerzen, v.a. folgende Gelenke waren betroffen: _____
 Hautbeschwerden, v.a. Hautrötung Hautüberempfindlichkeit Juckreiz
 Appetitlosigkeit Übelkeit Erbrechen
 sonstige Beschwerden: _____

Wie lange dauerte Ihre Erkrankung? Wie lange konnten Sie aufgrund der Erkrankung Ihrem Beruf nicht nachgehen?

Dauer der Beschwerden: _____ Tage
Dauer des Arbeitsausfalles: _____ Tage

Bestanden Beschwerden noch über einen längeren Zeitraum?

nein ja;
Wenn ja: welche? _____
Wie lange? _____



Gab es nach dieser Reise andere Aufenthalte in Länder mit Denguevorkommen (siehe Karte)?

- nein ja
 Wenn ja; Land _____ Datum _____ Dauer: _____ Wochen
 Land _____ Datum _____ Dauer: _____ Wochen

Trat während einer dieser Reisen eine fieberhafte Erkrankung auf?

- nein ja, in _____ Dauer _____ Tage

Gab es vor dieser Reise andere Aufenthalte in Länder mit Denguevorkommen?

- nein ja
 Wenn ja; Land _____ Datum _____ Dauer: _____ Wochen
 Land _____ Datum _____ Dauer: _____ Wochen
 Land _____ Datum _____ Dauer: _____ Wochen

Trat während einer dieser Reisen eine fieberhafte Erkrankung auf?

- nein ja, in _____ Dauer _____ Tage

Gegen welche der folgenden Krankheiten sind Sie geimpft?

- Gelbfieber, im Jahr _____
 Japanische Enzephalitis, im Jahr _____
 FSME (europäische Zeckenhirnhautentzündung) im Jahr _____
 keine

Leiden Sie an einer chronischen Erkrankung (z.B. Diabetes mellitus, Asthma, rheum., Abwehrschwäche etc.)

- nein ja: _____

Nehmen Sie regelmäßig Medikamente ein?

- nein ja; _____

Ich möchte die Ergebnisse schriftlich mitgeteilt bekommen

Ich erkläre mich einverstanden an der Studie teilzunehmen.....

Unterschrift: _____

Datum: _____

11.2. Briefe

1.

Sehr geehrte Frau.... / sehr geehrter Herr....

Für die Bekämpfung von Infektions- und Tropenkrankheiten ist es erforderlich neue und bessere Methoden für Diagnose und Behandlung zu entwickeln. Da von diesen Krankheiten weltweit überwiegend Menschen in armen Entwicklungsländern betroffen sind, wird hier kaum Forschung und Entwicklung von der Industrie betrieben, sondern fast nur von öffentlichen Einrichtungen wie z.B. unserer Abteilung.

Bei Ihnen wurde vor einiger Zeit in unserem Institut unter anderem anhand einer positiven Serologie eine Dengue-Infektion diagnostiziert. Bei dieser Methode sucht man im Blut nach Antikörpern, welche vom Immunsystem nach einer erfolgten Infektion gebildet werden um das eingedrungene Virus zu eliminieren. Derzeit gibt es wenige Daten dazu, wie lange solche Antikörper im Blut nachweisbar sind. Eine genauere Kenntnis hierüber ist aber wichtig, zum Beispiel um die Ergebnisse dieser Untersuchungsmethode besser interpretieren zu können und so alte von neuen Infektionen genauer unterscheiden zu können.

Um dieser Fragestellung nachgehen zu können würden wir gerne um Ihre Mitarbeit bitten. Wenn Sie einverstanden sind, würden wir hierzu bestimmen, ob bei Ihnen noch Dengue-Antikörper im Blut nachweisbar sind. Hierfür müssten wir 1 Serum-Röhrchen abnehmen, insgesamt also knapp 10ml. Selbstverständlich können Sie auf Wunsch die Ergebnisse dieser Untersuchung erfahren. Danach werden sämtliche Proben anonymisiert, d.h. mit einer anonymen Nummer versehen, so dass eine Rückverfolgung zu Ihren persönlichen Daten später nicht mehr möglich ist. Damit ist jegliche Verletzung der ärztlichen Schweigepflicht oder etwa eine Weitergabe an Kostenträger, Krankenkassen, Versicherungsträger oder sonstige Dritte ausgeschlossen.

Wir wären Ihnen sehr dankbar wenn Sie an dieser Studie mitwirken könnten und für eine Blutentnahme vorbeikommen könnten, und uns Ihr Einverständnis telefonisch (089 2180 3519 oder 089 2180 3517), per Post (am besten mit ausgefülltem beiliegendem Fragebogen) oder per E-Mail (walentiny@web.de) mitteilen könnten. Wir würden Sie dann zwecks Terminvergabe kontaktieren (bitte aktuelle Telefonnummer angeben).

Mit freundlichen Grüßen.....

2.

Sehr geehrte Frau / Herr,

Hiermit erlaube ich mir, Sie erneut auf unsere Dengue-Untersuchung anzusprechen (Näheres auf dem beiliegenden Zettel). Für diese Untersuchung brauchen wir Blut von Patienten die vor einiger Zeit Denguefieber hatten. Leider gestaltet es sich als schwierig eine ausreichende Zahl Patienten zu finden, die sich hierfür bereit erklären. Deswegen wäre ich Ihnen sehr dankbar wenn Sie eine Möglichkeit finden könnten uns zu helfen.

Der zeitliche Aufwand im Tropeninstitut beträgt knapp 5 Minuten. Am besten wäre eine kurze vorherige Anmeldung (089 2180 3519 oder 0892180 3613).

Sie können sich das beigelegte Serumröhrchen aber auch von einem Arzt in Ihrer Nähe abnehmen lassen und uns mit dem vorfrankierten Päckchen per Post zuschicken (am besten von Montag bis Donnerstag).

Im Voraus dankend, mit freundlichen Grüßen

12. Danksagung

Ich bedanke mich bei

- Prof. Dr. T. Löscher, für die Idee des Themas dieser Dissertation, seine bemerkenswerte Geduld, sowie für die Korrektur vieler Seiten
- Meinem Doktorvater Prof. Dr. H. D. Nothdurft für seine Diplomatie und doppelte Elangebung, nach anfänglichem und späterem Stocken sowie die geopferten Spätsommersonntage
- Dr. Dobler, für die Durchführung vieler serologischer Tests, deren Ergebnisse allerdings erst in einer weiteren Arbeit die ihnen gebührende Aufmerksamkeit erfahren werden
- Erna Fleischmann, für das beharrliche Nachfragen und v.a. die enorme und immer freundliche Unterstützung jeglicher Art und zu jeder Zeit
- Karl Heinz, für die exzellente Excel-Hilfe (und somit Hilfe bei der deskriptiven Statistik), die vielen Farben, das konzentrierte Korrekturlesen sowie vorab für die bald folgenden Publikationen
- Tobi, Lilli und Mirjam, für die muttersprachliche Überarbeitung
- Susanne, für das Heraussuchen der vielen Akten
- Franzi, da für das generelle Wohlbefinden unersetzlich
- Pamela, weil sie wusste, in welch dunklem Kellerloch man Proben finden kann
- Sowie all meinen Kollegen und dem ganzen Tropeninstitut für eine Umgebung, in der sich eine Forscherseele sehr wohl fühlen kann
- Meinen Eltern, da immer da wenn vonnöten
- Meinem Bruder, für das gemeinsame konzentrierte Arbeiten auf Lanzarote und das feine Arbeitsgerät
- Josinha, für die große Unterstützung vielfältiger Art
- Elisa Samara, für den riesigen Motivationsschub nach dem Wissen um Ihre (baldige) Existenz