

Aus dem Fachbereich Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main
Institut für Medizinische Virologie
Direktor: Prof. Dr. med. H.W. Doerr

**Epidemiologie des Herpes simplex Virus Typ 1 und Typ 2
in Frankfurt/Main:**

Auswertung Herpes simplex Virus positiver Abstrichisolate

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

Vorgelegt von
Michaela Geers
aus Bramsche

Frankfurt am Main, 2005

Dekan: Prof. Dr. J. Pfeilschifter

Referent: Prof. Dr. H.W. Doerr

Korreferent: Prof. Dr. H. Schöfer

Tag der mündlichen Prüfung: 30.05.2006

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Abkürzungsverzeichnis | 5 |
| 1. Einleitung | 6 |
| 1.1 Herpes simplex Typ 1 und 2 | 6 |
| 1.1.1 Taxonomie | 6 |
| 1.2.1 Morphologie | 7 |
| 1.2 Medizinische Aspekte der HSV Infektion | 7 |
| 1.2.1 Pathogenese | 7 |
| 1.2.2 Epidemiologie und Klinik der HSV Infektion | 8 |
| 1.2.3 Diagnostik der HSV Infektion | 10 |
| 1.2.4 Therapie der HSV Infektion | 12 |
| 1.3 Ziel dieser Arbeit | 13 |
| 2. Material | 14 |
| 2.1 Reagenzien | 14 |
| 2.1.1 Chemikalien | 14 |
| 2.1.2 Antiseren | 15 |
| 2.1.3 Zellkulturen | 15 |
| 2.1.4 Kontrollviren | 15 |
| 2.2 Puffer und Lösungen | 15 |
| 2.3 Geräte und Zubehör | 16 |
| 3. Methoden | 17 |
| 3.1 Untersuchungsproben | 17 |
| 3.1.1 Auswahl der Patienten | 17 |
| 3.1.2 Probengewinnung | 17 |
| 3.2 Virusisolierung in Zellkultur | 18 |
| 3.2.1 „Shell-Vial“-Verfahren | 18 |
| 3.2.2 Färbung mit monoklonalen Antikörpern | 20 |
| 4. Ergebnisse | 22 |
| 4.1 Positive Herpesabstriche im Raum Frankfurt/Main | 22 |
| 4.1.1 Darstellung aller positiver Herpesabstriche (Universitätsklinik und zusätzliche Kliniken im Einzugsgebiet) | 22 |
| 4.1.2 Darstellung der ausgewerteten positiven Herpesabstriche aus der Universitätsklinik | 23 |
| 4.2 Verteilung der herpespositiven Abstriche nach verschiedenen Kriterien | 24 |

| | |
|--|----|
| 4.2.1 Herpestypverteilung | 24 |
| 4.2.2 Geschlechtsverteilung | 25 |
| 4.2.3 Altersverteilung (geschlechtsunabhängig) | 26 |
| 4.2.4 Altersverteilung bei Männern | 27 |
| 4.2.5 Altersverteilung bei Frauen | 28 |
| 4.3 Zuordnung Herpestyp und Hautlokalisation | 29 |
| 4.3.1 Darstellung der HSV Lokalisation (geschlechtsunabhängig) | 30 |
| 4.3.2 Darstellung der HSV Lokalisation bei Männern | 31 |
| 4.3.3 Darstellung der HSV Lokalisation bei Frauen | 32 |
| 4.4 Einsendediagnosen | 33 |
| 4.5 Patientenisolat mit Folgeproben | 34 |
| 4.5.1 Patienten mit Zweitbefunden | 34 |
| 4.5.2 Patienten mit Mehrfachbefunden | 35 |
| 5. Diskussion | 37 |
| 6. Zusammenfassung | 43 |
| 7. Summary | 45 |
| 8. Literaturverzeichnis | 46 |
| 9. Abbildungsverzeichnis | 53 |
| 10. Tabellenverzeichnis | 54 |
| 11. Danksagung | 55 |
| 12. Ehrenwörtliche Erklärung | 56 |
| 13. Curriculum Vitae | 57 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---------------|------------------------------------|
| ACE | Amino-Ethyl-Carbazol |
| ACV | Aciclovir |
| AIDS | Acquired Immune Deficiency Syndrom |
| AML | Akute Myeloische Leukämie |
| CLL | Chronisch Lymphatische Leukämie |
| CML | Chronisch Myeloische Leukämie |
| CMV | Cytomegalo Virus |
| CPE | Cytopathological Effect |
| DD | Differentialdiagnose |
| DNA | Desoxyribonukleinsäure |
| ELISA | Enzyme Linked Immunosorbent Assay |
| FCS | Fetal Calf Serum |
| gG | Glykoprotein G |
| HHV | Human Herpes Virus |
| HIV | Human Immunodeficiency Virus |
| HSV1 | Herpes simplex Virus 1 |
| HSV2 | Herpes simplex Virus 2 |
| IFT | Immunfluoreszenztest |
| IgG | Immunglobulin G |
| IgM | Immunglobulin M |
| MAK | Monoklonale Antikörper |
| MEM | Minimal Essential Medium |
| MSH | Mundschleimhaut |
| PCR | Polymerase Chain Reaction |
| RT | Raumtemperatur |
| STD | Sexuell Transmitted Disease |
| TNF- α | Tumornekrosefaktor- α |
| ZIM | Zentrum Innere Medizin |
| ZKI | Zentrum Kinderheilkunde |

1. Einleitung

1.1 Herpes simplex Typ 1 und 2

1.1.1 Taxonomie

Die Herpes simplex Viren Typ 1 und Typ 2 gehören mit dem Varizella Zoster Virus zu der Gruppe der Alphaherpesvirinae. Zusammen mit der Familie der Betaherpesvirinae (diese umfasst das Zytomegalievirus, das Humane Herpesvirus 6 und das Humane Herpesvirus 7), die einen relativ langsamen Vermehrungszyklus haben und der Gammaherpesvirinae (dazu zählen das Epstein-Barr-Virus und das Humane Herpesvirus 8), die entweder B- oder T-Lymphozyten infizieren, gehören sie zu der Familie der Herpesviridae, die zur Zeit 112 Virusspezies umfasst (siehe Tabelle 1.1). Diese Gruppe der Alphaherpesvirinae zeichnet sich durch gemeinsame Eigenschaften wie schnelle Infektionsausbreitung von Zelle zu Zelle mit typischen inselförmigen zytopathologischen Effekten nach 1-6 Tagen, Zerstörung der infizierten Zellen, rasche Ausbreitung in der Zellkultur, kurzer Replikationszyklus, sowie Viruslatenz in sensorischen Ganglien aus (Gärtner et Müller-Lantzsch, 2002).

| Bezeichnung | Trivialname | Abkürzung | Latenzort | Subfamilie |
|-------------|----------------------------|-----------|----------------------------|------------|
| HHV-1 | Herpes simplex Virus Typ 1 | HSV1 | Sensorische Nervenganglien | α |
| HHV-2 | Herpes simplex Virus Typ 2 | HSV2 | Sensorische Nervenganglien | α |
| HHV-3 | Varizella-Zoster-Virus | VZV | Sensorische Nervenganglien | α |
| HHV-4 | Epstein-Barr-Virus | EBV | B-Lymphozyten | γ |
| HHV-5 | Zytomegalievirus | CMV | Leukozyten, Epithelzellen | β |
| HHV-6 | Humanes Herpesvirus 6 | HHV6 | T-Lymphozyten | β |
| HHV-7 | Humanes Herpesvirus 7 | HHV7 | T-Lymphozyten | β |
| HHV-8 | Humanes Herpesvirus 8 | HHV8 | B-Lymphozyten | γ |

Tabelle 1.1: Übersicht über die humanen Herpesviren

1.1.2. Morphologie

Der Durchmesser des Herpes simplex Virus beträgt 120-180nm. Das Genom von HSV1 und HSV2 zeigt bis zu 50% Sequenzhomologie (Roizman et Sears, 1996) und besteht aus einer linearen doppelsträngigen DNA. Diese ist in ein Kapsid aus 162 hexamerischen Protein-Kapsomeren eingebettet. Im Inneren des Virions liegt ein Protein-Kern (fibrilläre Proteinmatrix), welcher in Wechselwirkung mit dem linearen, doppelsträngigen DNA-Genom vorliegt. Das Nukleokapsid wird von einem Tegument eingehüllt. Es handelt sich dabei um eine unstrukturierte Proteinmatrix, die bis zu 20 Virusproteine enthält. Die Dicke des Teguments ist variabel, und die Anordnung um das Kapsid ist häufig asymmetrisch. Für einige Tegumentproteine hat man wichtige, regulatorische Funktionen während der Frühphase des Replikationszyklus beschrieben. Abgegrenzt wird das Tegument durch eine glyko- und lipoproteininhaltige Membran, die als Envelope bezeichnet wird. Sie ist empfindlich gegenüber Detergenzien, Säuren und Lösungsmitteln. In diese Hüllmembran sind verschiedene Glykoproteine (Spikes) eingelagert. Sie haben antigene Eigenschaften (Modrow et al., 1997).

1.2 Medizinische Aspekte der HSV Infektion

1.2.1 Pathogenese

Die Herpesviren werden zum einen durch Tröpfcheninfektion aus dem Rachensekret, zum anderen durch Kontamination mit dem Vesikelinhalt aus Effloreszenzen der Haut sowie aus Schleimhautläsionen des Oral- und Genitalbereiches übertragen (Doerr et al., 1996). Die Ausbreitung des Virus erfolgt nicht nur über akut kranke, sondern auch über asymptomatische Personen (Wald et al., 2002).

Bei der Primärinfektion infiziert das Virus die oralen beziehungsweise die genitalen Schleimhautzellen, in denen es sich lytisch vermehrt. Unspezifische Abwehrmechanismen, die durch Monozyten-Makrophagen sowie natürlichen Killerzellen repräsentiert und über Zytokine (z. B. Interferone) vermittelt werden, verhindern eine lymphohämatogene Streuung der sich in der Schleimhaut vermehrenden Viren und damit die Entstehung eines generalisierten Herpes. Die erste Kontaktaufnahme mit dem Immunsystem erfolgt über die Langerhans-Zellen der Haut. Diese wandern anschließend in die lokalen Lymphknoten und differenzieren hier zu reifen dendritischen Zellen, die Interleukin-1, TNF- α und andere

Zytokine sezernieren und damit die Entzündungsreaktion auslösen. Es entwickeln sich Hautbläschen (durch Exsudation von Gewebeflüssigkeit, die durch die Entzündungsreaktion hervorgerufen wird), in denen man histologisch degenerierte Keratinozyten und vielkernige Riesenzellen nachweisen kann. Die Entzündungsreaktion ist außer durch die Bläschenbildung und die Epithelnekrose durch Infiltration von Granulozyten in den infizierten Bereichen nachzuweisen. Die Nekrosen durchbrechen die Basalmembran nicht. Am Ort der Primärläsion gelangen die Viren über Zell-Zell-Kontakte in freie Nervenendigungen, die das infizierte Gewebe versorgen. Sie wandern von dort entlang der sensiblen und autonomen peripheren Nerven zu den regionalen sensorischen Ganglien. Diese werden infiziert (Buxbaum et al., 2003 b). Die eingeschleusten Virusgenome verbleiben hier wahrscheinlich lebenslang. Herpes simplex Virus Typ 1 verbleibt in den neuronalen Zellen des Ganglion trigemini, selten in anderen Spinalganglien. HSV Typ 2 persistiert im Ganglion sacrale (Modrow et al., 1997). Außerhalb lebender Zellen gehen Herpesviren schnell zugrunde.

Es gibt verschiedene Faktoren, durch die es zur Reaktivierung der in den Ganglien latent vorhandenen Herpes Viren kommen kann. Dazu gehören unter anderem: Stress, fieberhafte Infekte, UV-Bestrahlung, Menstruation, mechanische und psychische Traumen. Die Folge ist ein Herpesrezidiv.

1.2.2 Epidemiologie und Klinik der HSV Infektion

Herpes simplex Viren sind weltweit verbreitet und gehören mit zu den häufigsten Krankheitserregern. Erwachsene haben zu etwa 80% Antikörper gegen HSV1 und zu etwa 20% gegen HSV2 (Chenot et al., 1999). Primärinfektionen verlaufen häufig inapparent. Die Inkubationszeit beträgt sechs bis acht Tage.

HSV1 wird durch Speichelkontakt über die Eltern bereits im frühen Kindesalter übertragen. In Deutschland ist etwa die Hälfte der Kinder vor der Pubertät seropositiv (Chenot et al., 1999). Ein zweiter kleiner Durchseuchungsschub beginnt postpubertär mit der Aufnahme von Intimkontakten. Herpes Simplex Virus Typ 1 Infektionen manifestieren sich gewöhnlicherweise im Orofazialbereich (Buxbaum et al., 2002). Im Kindesalter verläuft die Mehrzahl der nur etwa 1% klinisch manifesten HSV1 Primärinfektionen als Gingivostomatitis (Doerr et Rabenau, 1996).

Später kommt es zum Herpes labialis mit ulzerierenden und vesikulären Läsionen an den Lippen und an der Mundschleimhaut. Zusätzlich kann man eine ödematöse Schwellung des Gesichtes, Lymphknotenschwellung und eventuell einen Körpertemperaturanstieg beobachten (Modrow et al., 1997). Es gibt einige weitere Manifestationsorte der HSV1 Infektion, wie zum Beispiel die Herpeskeratitis des Auges (Sundmacher, 1989) und die atopische Haut des Neurodermitikers in Form eines Ekzema herpeticatum (Doerr et al., 1996). Hierbei handelt es sich um eine generalisierte HSV-Infektion, die meist auf ekzematöse Hautgebiete beschränkt ist (Braun et al., 1987).

HSV Infektionen können virämisch werden oder auch neurogen das ZNS erreichen. Die Herpes simplex Enzephalitis gilt als häufigste virale Erkrankung des Hirngewebes (Doerr et al., 1996).

Das Virus vom Typ 2 verursacht im Gegensatz dazu meist genitale Infektionen. HSV2 Infektionen gehören zu den sexuell übertragbaren Erkrankungen, was sich in einer überdurchschnittlich hohen Antikörperprävalenz bei Personen mit häufig wechselnden Sexualpartnern zeigt (Wutzler, 2002). Je nach Studie werden unterschiedliche Risikofaktoren für eine Herpes Typ 2 Infektion angegeben: weibliches Geschlecht, ein Alter zwischen 20-30 Jahren, ein positiver HIV Status und eine damit verbundene Immunsuppression (Rabenau et al., 2001), sowie Prostitution (Hashido et al., 1998).

Erst nach Aufnahme von Intimkontakten tritt demzufolge HSV2 epidemiologisch in Erscheinung. Das klinische Bild in Form von gruppiert stehenden Bläschen, Pusteln und Ulzerationen dominiert auch hier die Infektion. Außerdem kann es zu schmerzhafter Lymphknotenschwellung, Pruritus, urethralem und vaginalem Ausfluss kommen (Corey et al., 1983). Untypische Erscheinungsformen werden besonders unter Immunsuppression, wie zum Beispiel bei Tumorerkrankungen, nach Transplantation und bei positivem HIV Status beobachtet. Bei diesen Patienten kann die Herpes Infektion ausgeprägter sein, sowie länger persistieren. Die Läsionen stellen sich durch vermehrte Gewebeerstörung dar und heilen langsamer ab (Lautenschlager et Eichmann, 2001). Auch in der physiologisch leichten Immunsuppression in der Schwangerschaft kann der Herpes genitalis auftreten. Die Wahrscheinlichkeit, dass sich das Neugeborene im Geburtskanal infiziert, ist sehr hoch (über 70%). Es kann zum Herpes neonatorum generalisatus mit hoher Letalität und neurologischen Restschäden kommen. Der schwere Verlauf der Herpesinfektion beim Neugeborenen hängt mit der Unreife des Immunsystems des Kindes zusammen. Dabei ist der Verlauf und der Folgeschaden schwerer bei Infektionen mit HSV2 als mit HSV1 (Corey et al., 1983).

Obwohl für die unterschiedlichen Herpes Typen eine bevorzugte Lokalisation besteht, können prinzipiell extragenitale und genitale Infektionen durch HSV1 oder HSV2 verursacht werden (Kingham, 1994). Diese Tatsache ist in den letzten Jahren vermehrt diskutiert worden.

Rezidive äußern sich bei allen Infektionen durch das erneute Auftreten des bläschenförmigen Hautausschlags, meist in abgeschwächter Form. Unklar ist derzeit noch, auf welche Weise die Immunmechanismen den Verlauf der primären und rezidivierenden Herpes Infektionen beeinflussen. Gehäuftes Auftreten bei Immunsuppression zeigt jedenfalls, dass sie von Bedeutung sein müssen (Modrow et al., 1997).

1.2.3 Diagnostik der HSV Infektion

Die Diagnose einer Infektion wird normalerweise anhand der für HSV typischen Symptome (gruppiert stehende Bläschen und Ulzerationen auf Haut oder Schleimhaut) durch Blickdiagnose gestellt und bedarf keiner Laboruntersuchung. Dennoch kann die Diagnose bei untypischen Verläufen, wie zum Beispiel bei Patienten mit Lymphom, Transplantation oder HIV erschwert sein, da sich die Infektion möglicherweise klinisch untypisch präsentiert (Lautenschlager et Eichmann, 2001). In den letzten Jahren wurden, vermutlich durch verbesserte Labordiagnostik, vermehrt Herpeserkrankungen erkannt. Eine Zunahme der HSV-Infektionen in der Bevölkerung wird diskutiert (Buxbaum et al., 2003 a).

Wird eine Labordiagnostik erforderlich, kann die Herpes simplex Virus Infektion durch den direkten Virusnachweis im Abstrich- und/oder Sekretmaterial oder durch Antikörpernachweis im Serum erfolgen.

Für den direkten Virusnachweis stehen mehrere Methoden zur Verfügung. Es kann ein Hautabstrich (z.B. Abstrich von zellhaltigem Material mit Einmaltupfer von geplatzten oder verkrusteten Bläschen, sowie aus einem Bläschenpunktat) von den Effloreszenzen gewonnen werden. Im Immunfluoreszenztest (IFT) wird dann mit virusspezifischen Antikörpern nach viralen Antigenen gesucht (Rabenau et al., 1986). Diese schnelle Methode kann auch bei ungünstigen Transportbedingungen (keine Kühlung, lange Transportdauer) des Isolates durchgeführt werden (Chenot et al., 1999).

Als weitere Methode für den Direktnachweis benutzt man die Virusisolierung in Zellkultur mit anschließender Typisierung. Sie wird als diagnostischer Goldstandard bezeichnet

(Wutzler et al., 1992, Chenot et al., 2001). Im infizierten Zellrasen bildet sich, abhängig von der HSV Menge, nach ein bis drei Tagen ein charakteristischer zytopathogener Effekt (CPE), der durch Lichtmikroskopie sichtbar wird. Anschließend ist die Unterscheidung der beiden HSV-Typen durch Färbung mit monoklonalen Antikörpern möglich, die typenspezifische Strukturproteine erkennen. Wenn das Probenmaterial korrekt gewonnen und in einem Konservierungsmedium eingesandt wird, ist diese Methode sehr sensitiv (Chenot et al., 1999). Eine Abwandlung dieser konventionellen Zellkulturmethode ist das auch in dieser Studie verwandte „Shell-Vial“ Verfahren (siehe 3.). Dabei erfolgt eine Zentrifugation bei 700g über 40 Minuten, um die Sedimentation der Viruspartikel auf den Zell-Monolayer zu beschleunigen (Döller, 1996). Auch die Polymerasekettenreaktion (PCR) steht für den Direktnachweis als Diagnostik zur Verfügung (Enders, 1992). Hier wird die virale Nukleinsäure aus Patientenabstrichen, Liquorproben u.a. auf enzymatischem Wege vervielfältigt. So können auch ursprünglich sehr kleine Mengen vorhandener Viren erfasst werden. Dieses Verfahren ist relativ kostenintensiv. (Doerr et Rabenau, 1996). Es dient als Methode der Wahl zur HSV-Enzephalitis Diagnostik. Als kostengünstigere Variante steht der Antigen ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) Test zur Verfügung. Allerdings ist hier keine Typisierung zwischen HSV1 und HSV2 möglich.

Die serologische Diagnostik einer HSV Infektion dient vor allem zum Nachweis der Serokonversion nach Primärinfektion (IgM Antikörpernachweis), sowie zur Erfassung der Durchseuchung (Wutzler, 2002).

Hierfür benutzt man die Komplementbindungsreaktion (KBR) oder moderne Immunoassays (IFT, ELISA) (Chenot et al., 1999). Da HSV1 und HSV2 über 50% Sequenzhomologie besitzen, sollte die Bestimmung typenspezifischer Antikörper mit einem ELISA auf der Basis von gereinigtem oder rekombinantem Glykoprotein G von HSV1(gG1) und HSV2 (gG2) erfolgen (Wutzler, 2002).

Wenn es beim Patienten zu einem erneuten IgG Antikörperanstieg oder zum Wiederauftreten von IgM Antikörpern kommt, kann das für ein Rezidiv sprechen. Allerdings sind diese Marker nicht sehr zuverlässig, so dass Rezidive normalerweise nicht durch Antikörperbestimmung nachgewiesen werden, sondern über den klinischen Befund.

Zur Diagnose einer floriden Herpesinfektion empfiehlt sich daher ein Direktnachweis mittels Hautabstrich und anschließender Typisierung mit monoklonalen Antikörpern (Chenot et al., 2001).

1.2.4 Therapie der HSV Infektion

HSV Infektionen können mit einer Reihe von Medikamenten behandelt werden, die spezifisch die Virusreplikation hemmen. Je nach Ausmaß der Infektion und Immunstatus des Patienten werden sie lokal oder systemisch appliziert.

Für die Therapie des primären Herpes labialis sowie genitalis empfiehlt sich die orale Behandlung mit Aciclovir, Valaciclovir (Prodrug von Aciclovir) oder Famciclovir über 7-10 Tage. Dies sind Nukleosidanaloga, die durch die virusspezifische Thymidinkinase zum Monophosphat phosphoryliert und dann durch zelluläre Enzymen über das Di- zum Triphosphat überführt werden. Diese Triphosphate hemmen die virale DNA-Polymerase und verhindern damit die Neuproduktion von Viruspartikeln (Doerr et Rabenau, 1996). Nur virusinfizierte Zellen sind von diesem Wirkungsmechanismus betroffen. Durch die damit verbundene niedrige Toxizität der Medikamente kommt es nur zu sehr geringen Nebenwirkungen. Thymidinkinase negative Herpes simplex Viren sind gegenüber Nukleosidanaloga resistent. Hier kommt Foscarnet zur Anwendung, das die virale DNA-Polymerase durch Unterbindung des Pyrophosphataustauschs hemmt.

Besondere Beachtung gilt der Behandlung von Herpes labialis und Herpes genitalis Rezidiven. Hier kommt die episodische Therapie (ebenfalls mit Aciclovir, Valaciclovir oder Famciclovir, oral über 5 Tage) zum Einsatz. Dabei ist zu beachten, dass das Virustatikum frühzeitig, bereits beim Auftreten erster Symptome, appliziert wird. Bei häufigen Rezidiven (> sechs Rezidive pro Jahr) wird eine Suppressionstherapie über mehrere Monate empfohlen. Durch diese Langzeittherapie sollen Herpesrezidive verhindert werden.

Bei immunkompetenten Patienten wurde trotz langer Anwendung von Aciclovir bisher kaum eine Resistenzentwicklung beobachtet. Probleme können diese HSV Stämme allerdings bei immunsupprimierten Patienten bereiten.

Impfstoffe auf der Basis von rekombinanten Glykoproteinen befinden sich in der Entwicklung, sind aber noch nicht erhältlich. Zur Vermeidung der Primärinfektion empfiehlt sich die Expositionsprophylaxe (Wutzler, 2002).

1.3 Ziel dieser Arbeit

In der vorliegenden Arbeit wurden Herpes simplex Typ 1 und Typ 2 positive Isolate von Patienten der Universitätsklinik Frankfurt im Zeitraum von Januar 1996 bis Dezember 2002 unter den Aspekten Herpestyp und Lokalisation der Herpesläsion, sowie Alter und Geschlecht des Patienten ausgewertet.

Im Rahmen der Diskussion über eine Zunahme von durch HSV1 verursachtem Genitalherpes, galt das besondere Interesse der Fragestellung, ob das klassische Verteilungsmuster (HSV1 bei orofaziale und HSV2 bei genitale Herpes) noch gültig ist und wie hoch der Anteil des durch HSV1 verursachten Genitalherpes ist.

2. Material

2.1. Reagenzien

2.1.1 Chemikalien

| Reagenz | Firma |
|---|--|
| Aceton | Riedel de Häen, Seelze |
| Amino-Ethyl-Carbazol (AEC) | Sigma, Deisenhofen |
| Amphotericin B | Biochrom, Berlin |
| Aqua bidest. | Delta Select, Pfullingen |
| Bovines Serumalbumin (BSA) | PAA Laboratories GmbH, Linz, Österreich |
| Essigsäure (Eisessig), 100% | Merck, Darmstadt |
| FCS | Sigma, Deisenhofen |
| Hepes | Sigma, Deisenhofen |
| MEM | Biochrom, Berlin |
| Methanol (CH ₃ OH) | Kalbiochem, Frankfurt |
| Natriumhydrogencarbonat (NaHCO ₃) | Sigma, Deisenhofen |
| Natriumacetat (CH ₃ COONa), wasserfrei | Merck, Darmstadt |
| Natriumchlorid (NaCl) | Merck, Darmstadt |
| N-N-Dimethylformamid | Fisher scientific, Schwerte |
| Penicillin | Hoechst, Frankfurt |
| Salzsäure (HCl) | Applichem, Darmstadt |
| Streptomycin | Grünenthal, Stollberg |
| Streptavidin/Peroxidase-Konjugat | Merck, Darmstadt |
| Thimerosal | Sigma, Deisenhofen |
| Tris | Amershem, Freiburg |
| Tween 20 | Merck, Darmstadt |
| Perhydrol 30% (H ₂ O ₂) | Merck, Darmstadt |

2.1.2 Antiseren

| | |
|---|----------------------|
| Monoklonale Antimaus-Antikörper gegen HSV1 | Argene/Biosoft, Köln |
| Monoklonale Antimaus-Antikörper gegen HSV2 | Argene/Biosoft, Köln |
| Ziege Anti-Maus IgG F(ab) ₂ Fragment, biotinmarkiert | Dianova, Hamburg |

2.1.3 Zellkulturen

| | |
|------------------------------------|---|
| Vero-Zellen (Affennierenzellen) | ATCC (American Type Culture Collection) |
|------------------------------------|---|

2.1.4 Kontrollviren

| | |
|------|-----------------|
| HSV1 | Patientenisolat |
| HSV2 | Patientenisolat |

2.2 Puffer und Lösungen

| | | |
|--------------|--|----------------|
| Acetatpuffer | 2,05 g Natriumacetat (wasserfrei) ad 500ml aqua bidest mit Eisessig auf pH 5,0 einstellen | |
| AEC-Lösung | Acetatpuffer 0,05M | 105 ml, pH 5,0 |
| | AEC | 0,18g |
| | N-N-Dimethylformanit | 45 ml |

MEM für Herstellung von Zellkulturmedium

+2% NaCO₃
 +2% Hepes
 +1% Penicillin/Streptomycin
 +1% FCS

| | | |
|-------------|---|-------|
| Waschpuffer | TRIS | 4,84g |
| | NaCl | 23,6g |
| | BSA | 2,0g |
| | Thimerosal, 1% | 20 ml |
| | Tween 20 | 4 ml |
| | ad 2 l aqua bidest, mit HCL auf pH 7,45 einstellen | |

2.3. Geräte und Zubehör

| | |
|---|---------------------------------|
| Viral Culturette Abstrichtupfer | Becton Dickinson |
| | Heidelberg |
| 10ml Glasröhrchen | WS Laborservice, Neuisenburg |
| sterile Pasteurpipetten | Greiner, Frichenhausen |
| 96-Loch-Mikrotiterplatte | Greiner, Frichenhausen |
| Zentrifuge | Hettig, Tuttlingen |
| Auflichtmikroskop (Model CK2) | Olympus, Wiesbaden |
| sterile, nicht toxische Abklebefolie (8,3cm x 13,3cm) | WS Laborservice, Neuisenburg |

3. Methoden

3.1 Untersuchungsproben

3.1.1 Auswahl der Patienten

Alle untersuchten Proben stammten aus dem Einsendegut des Instituts für Medizinische Virologie des Klinikums der Johann Wolfgang Goethe Universität, Frankfurt am Main. Berücksichtigt wurden alle Einsendungen im Zeitraum zwischen Januar 1996 und Dezember 2002 von Patienten mit auf Herpes simplex verdächtigen Effloreszenzen. Ausgewertet wurden die Abstrichbefunde und die dazugehörigen Krankenakten unter verschiedenen Gesichtspunkten: einsendende Station/Klinik der Abstriche, Diagnose (mit dem Hinweis auf eine eventuell vorliegende Immunsuppression), Geschlecht und Alter des Patienten, Hautlokalisation der Abstriche, Folge- bzw. Mehrfachbefunde. Auf den Anforderungsscheinen sollte seitens des klinischen Untersuchers die Verdachtsdiagnose (in der Regel Bestätigung bzw. Ausschluss einer HSV Infektion), das Datum und der Ort der Probenentnahme (Körperlokalisation), sowie die gewünschte Untersuchungsmethode angegeben sein.

3.1.2 Probengewinnung

Für einen Erregernachweis musste vermehrungsfähiges Virus vorhanden sein. Dabei war die Wahrscheinlichkeit der erfolgreichen Anzucht von der Höhe der Virusmenge und der korrekten Probenentnahme abhängig. Die Probengewinnung fand im floriden Stadium der Erkrankung durch Abstriche mit Einmaltupfern von herpesverdächtigen Effloreszenzen an verschiedenen Körperstellen der Haut bzw. Schleimhaut statt. Hierbei konnten entsprechende virologische Abstrichsysteme (Viral Culturette) verwendet werden. Der Transport ins Labor sollte möglichst schnell erfolgen. Es war darauf zu achten, dass kein Kontakt mit desinfizierenden oder denaturierenden Chemikalien zustande kam, um die Infektiosität zu gewährleisten.

Nach dem Eintreffen der Abstriche im Labor wurde von diesen in 10 ml Glasröhrchen eine Aufschwemmung mit 1 ml 0,9% NaCl, 0,3 ml Penicillin/Streptomycin und 1 Tropfen

Amphotericin B hergestellt und eine Stunde bei Raumtemperatur (RT) inkubiert. Die Inkubation mit Antibiotika diente der Reduktion des Kontaminationsrisikos während der Beimpfung der Zellkulturen.

3.2 Virusisolierung in Zellkultur

Der Nachweis von Herpesviren erfolgte durch Anzucht auf geeigneten Zellkulturen, sogenannten „Verozellen“, mit Hilfe des „Shell-Vial“-Verfahrens nach Döller, einer abgewandelten Methode der konventionellen Virusisolierung in Zellkultur mit Zentrifugation, um die Sedimentation der Viruspartikel auf den Zell-Monolayer zu beschleunigen und anschließender Färbung mit monoklonalen Antikörpern (Döller, 1996).

3.2.1 „Shell-Vial“-Verfahren

Für die Anzucht des Virus wurden in 96-Loch-Mikrotiterplatten Verozellen mit 50µl MEM (Minimal Essential Medium) mit 50µl der Probenaufschwemmung beimpft. Pro Patient wurden 12 Wells (Vertiefungen in der Mikrotiterplatte) beimpft (z.B. Patient 1: A 1-12, Patient 2: B 1-12) (siehe Abb.3.1). Die Negativkontrolle bildete den Abschluss unter der letzten Patientenprobe (z.B. C 1-12 Negativkontrolle: nur frisches MEM). Es wurden jeweils zwei Positivkontrollen pro HSV Typ mitgeführt (z.B. D7 und D8 Positivkontrolle für HSV2 aus Patientenstamm und D11 und D12 Positivkontrolle für HSV1 aus Patientenstamm). Als Positivkontrollen wurden entsprechend vorbereitete und kryokonservierte Patientenstämme verwendet (Lagerung bis zu 6 Monaten bei -20°C bzw. -80°C).

Die fertig pipettierten Platten wurden mit steriler, nicht toxischer Abdeckfolie abgeklebt (Abb.3.1).

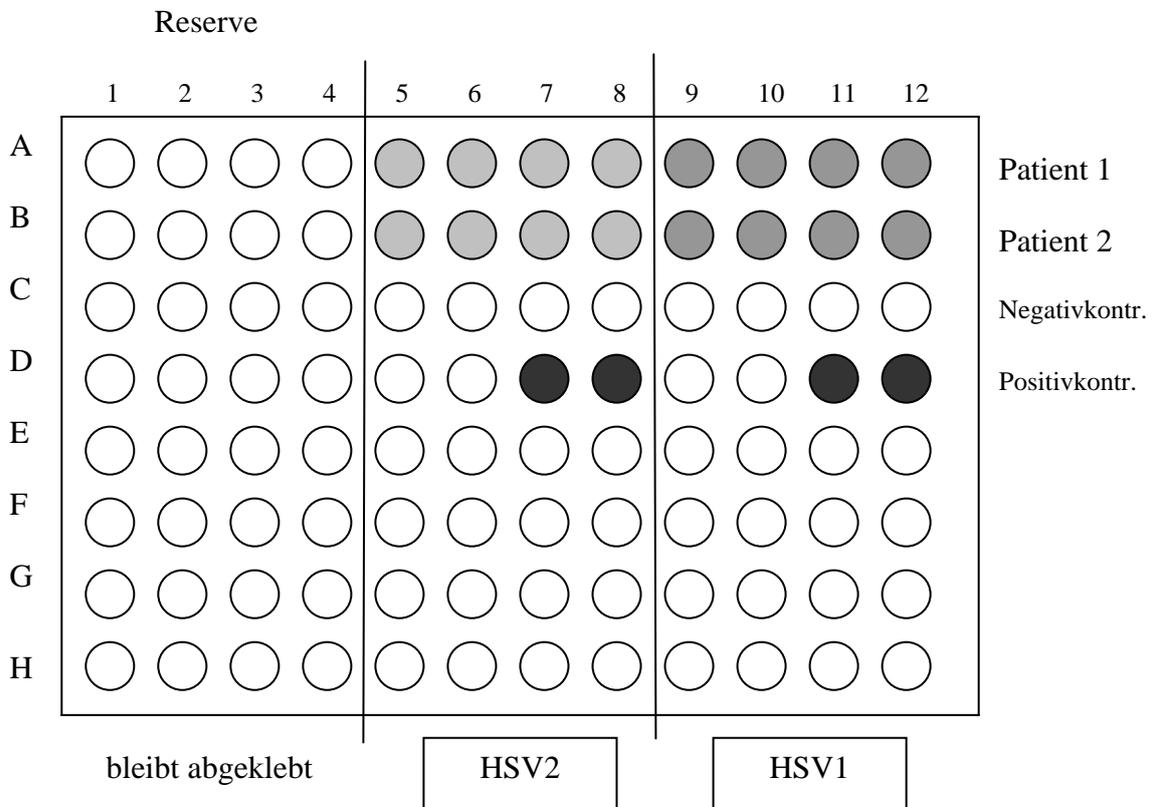


Abbildung 3.1: Aufteilung der Mikrotiterplatte

Dann erfolgte eine Zentrifugation bei 700 g über 40 Minuten, um die Sedimentation der Viruspartikel auf den Zell-Monolayer zu beschleunigen („Shell-Vial“-Verfahren). Eine Inkubation über 36 Stunden bei 37°C im 5% igem CO₂- Milieu schloss sich an.

3.2.2 Färbung mit monoklonalen Antikörpern

An die Inkubationsphase schloss sich, ohne auf einen zytopathologischen Effekt zu warten, der Virusantigen-Nachweis mittels Immunperoxidase-Färbung an.

Nach Entfernen der Probe und des Mediums aus den Wells erfolgte die Fixation der Zellen mit 100µl eiskaltem Aceton/Methanol-Gemisch (Verhältnis 40:60) für 15 Minuten bei RT.

Nach Absaugen der Flüssigkeit wurden pro Well 50µl monoklonale Mausantikörper gegen HSV1 oder HSV2 hinzugefügt. Es wurde ein Verdünnungsverhältnis von 1:500 gewählt (die optimale Antikörperkonzentration wurde bereits vorher durch Austitration ermittelt).

Die Lösungen wurden so verteilt, dass pro Patientenprobe vier Wells auf HSV1 (z.B. Wells A 9-12) und vier Wells auf HSV2 (z.B. A 5-8) getestet wurden. Die Wells A 1-4 dienten als Reserve und blieben abgeklebt. In allen Testreihen führte man jeweils vier Negativkontrollen (nur frisches MEM) mit, sowie je zwei Positivkontrollen gegen Herpes Simplex Typ 1 und 2 (Patientenstämme).

Nach einer weiteren Inkubation für 1 Stunde bei 37°C wurde die Flüssigkeit verworfen und die Wells dreimal mit je 100µl Waschpuffer gewaschen.

Danach erfolgte die Zugabe von je 50µl biotinylierten Anti-Maus IgG-Antikörpern (optimale Antikörperkonzentration wurde bereits vorher durch Austitration ermittelt) und eine erneute Inkubation für 1 Stunde bei 37°C, sowie im Anschluss daran dreimaliges Waschen.

Danach wurden 50µl Streptavidin/Peroxidase-Konjugat zu den Wells hinzugefügt (optimale Konzentration wurde vorher durch Austitration ermittelt), 30 Minuten bei 37°C inkubiert und wieder dreimal gewaschen.

Zum Schluss wurden 50µl AEC-Lösung (siehe 8.) mit 1% H₂O₂ in die Wells pipettiert, wiederholt bei 37°C über 30 Minuten inkubiert und zum Abstoppen das Substrat entfernt und alle Vertiefungen mit Waschpuffer aufgefüllt (Abb.3.2).

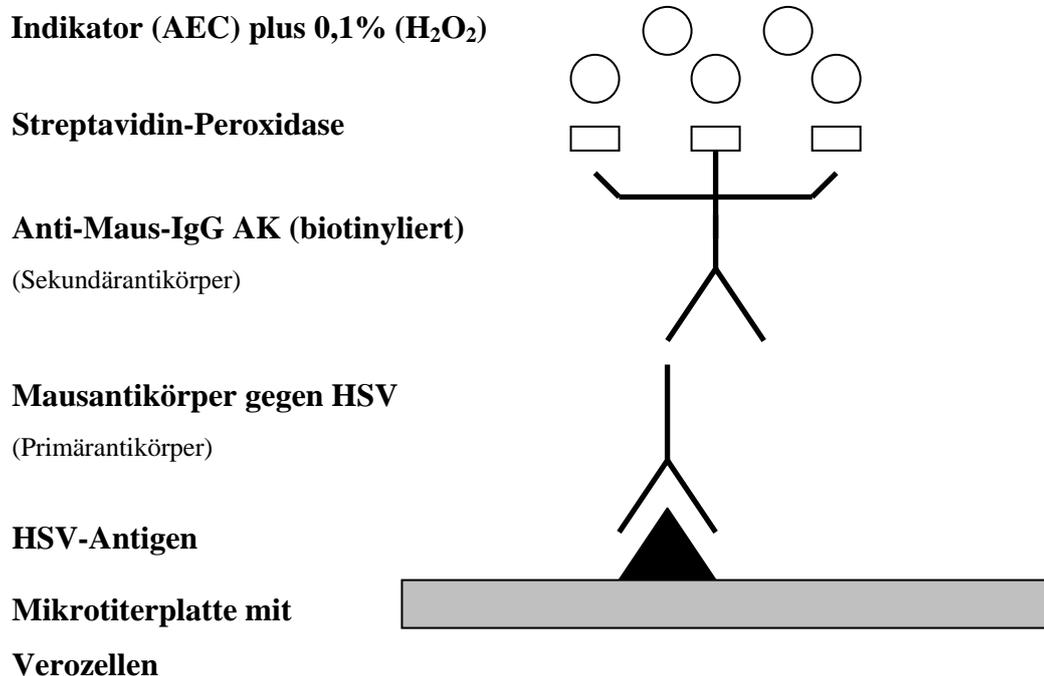


Abbildung 3.2: Färbung mit monoklonalen Antikörpern

Die Auswertung der Zellkulturen erfolgte mikroskopisch. In Abwesenheit von Herpes simplex Virus Typ 1 oder Typ 2 blieb eine Bindung des gegen HSV gerichteten monoklonalen Mausantikörper (Primärantikörper) aus. In Anwesenheit von HSV-Antigenen erfolgt zuerst die Bindung des monoklonalen Mausantikörper (Primärantikörper), dann die Bindung des biotinylierten Anti-Maus-IgG Antikörper (Sekundärantikörper). Nach Zugabe von Konjugat (Streptavidin-Peroxidase) und Substrat (Indikator AEC) wurde dieses durch Enzymkatalyse umgesetzt. Bei positivem Nachweis erfolgte ein Farbumschlag und die HSV infizierten Zellen konnten anhand einer rötlichen Färbung identifiziert werden.

4. Ergebnisse

4.1 Positive Herpesabstriche im Raum Frankfurt/Main

4.1.1 Darstellung aller positiver Herpesabstriche (Universitätsklinik und zusätzliche Kliniken aus dem Einzugsgebiet)

Im Zeitraum von Januar 1996 bis Dezember 2002 wurden in der Abteilung für Medizinische Virologie des Klinikums der Johann Wolfgang Goethe Universität, Frankfurt am Main, 983 Abstriche positiv für Herpes Simplex Virus Typ 1 oder Herpes Simplex Virus Typ 2 getestet. Die Abstriche wurden von unterschiedlichen Körperstellen der Patienten entnommen. Von den Isolaten stammten 403 (41%) aus verschiedenen Kliniken im Einzugsgebiet der Universitätsklinik Frankfurt und 580 (59%) direkt aus den verschiedenen Fachkliniken der Universitätsklinik (Abb.4.1).

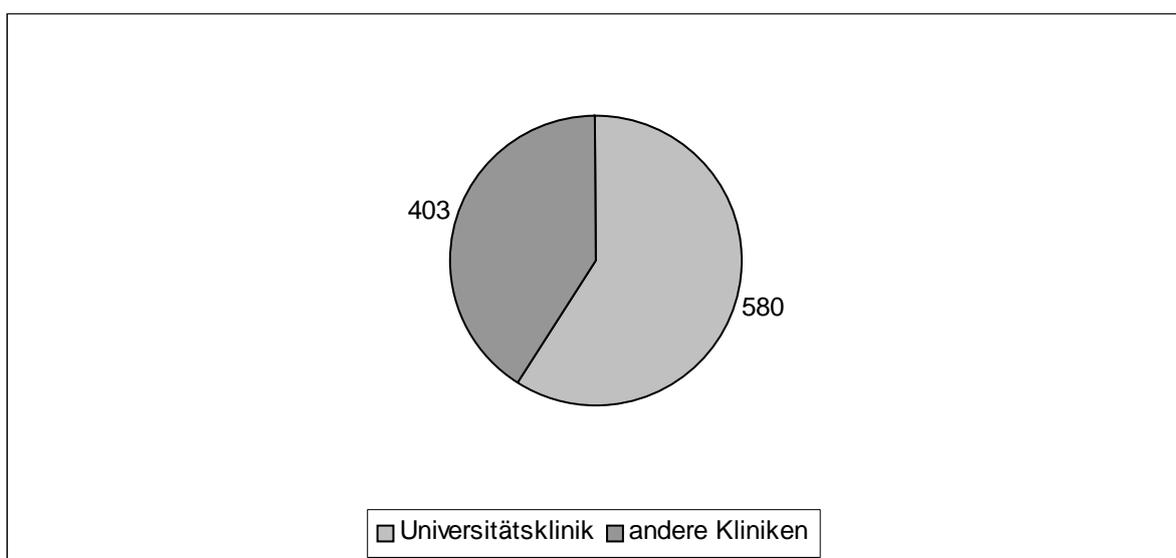


Abbildung 4.1: Herkunft der positiven Herpesabstriche (n=983)

Die 580 HSV positiven Abstriche von Patienten der Universitätsklinik stammten von insgesamt 506 Patienten. Bei 74 Abstrichen handelte es sich um Folgeproben. Die Patientendaten von 90% (n=453) dieser 506 Patienten konnten nach Durchsicht der Krankenakten erhoben und ausgewertet werden. Im Folgenden werden die Daten dieser 453 Patienten der Universitätsklinik näher betrachtet und ausgewertet.

4.1.2 Darstellung der ausgewerteten positiven Herpesabstriche aus der Universitätsklinik

Um die Herkunft der positiven Herpesabstriche aus der Universitätsklinik noch genauer zu untersuchen, erfolgte eine Darstellung nach den verschiedenen Abteilungen, aus denen die Patienten stammten. Der größte Anteil der Abstriche kam aus den Abteilungen der Inneren Medizin (45%) und aus der Dermatologie (33%).

Weitaus weniger Isolate wurden bei Patienten aus der Gynäkologie (10%), der Pädiatrie (8%), der Chirurgie (2%) und einigen anderen Kliniken (Neurologie, Augenheilkunde und HNO) nachgewiesen (Abb.4.2).

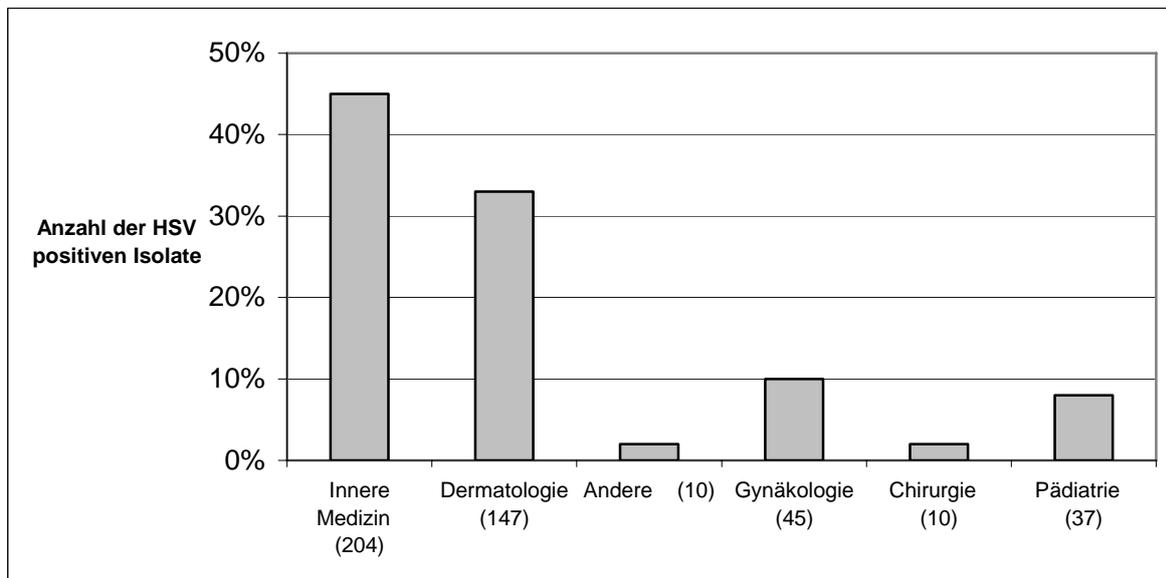


Abbildung 4.2: Zuordnung der Anzahl der HSV-Isolate zu den einzelnen Abteilungen der Universitätsklinik

4.2 Verteilung der herpespositiven Abstriche nach verschiedenen Kriterien

4.2.1 Herpestypverteilung

Aus dem Abstrichmaterial der 453 Patienten mit auswertbaren Krankenakten konnte bei 300 (66%) Patienten Herpes Simplex Typ 1 und bei 153 (34%) Herpes Simplex Typ 2 nachgewiesen werden (Abb.4.3).

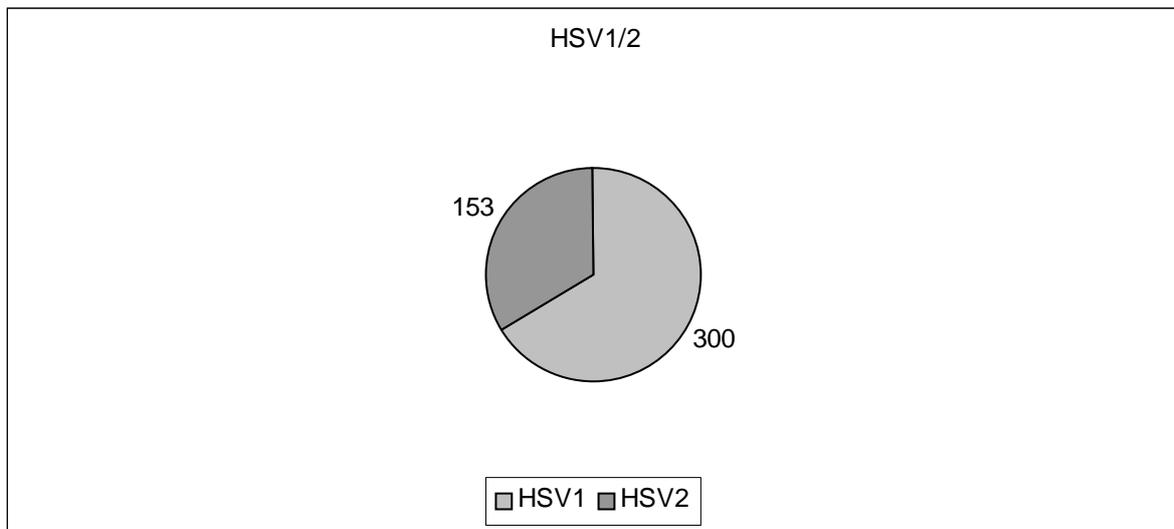


Abbildung 4.3: Herpestypverteilung (HSV1 und HSV2). Angegeben ist die Anzahl der positiven Abstrichisolate

4.2.2 Geschlechtsverteilung

Bei der Untersuchung bezüglich des Geschlechts der Patienten stellte sich heraus, dass 212 (47%) Patienten weiblich und 241 (53%) Patienten männlich waren. In beiden Gruppen gab es mehr HSV1 positive Abstriche: bei 61% der Frauen konnte HSV1 nachgewiesen werden und bei 70% der Männer (Abb.4.4).

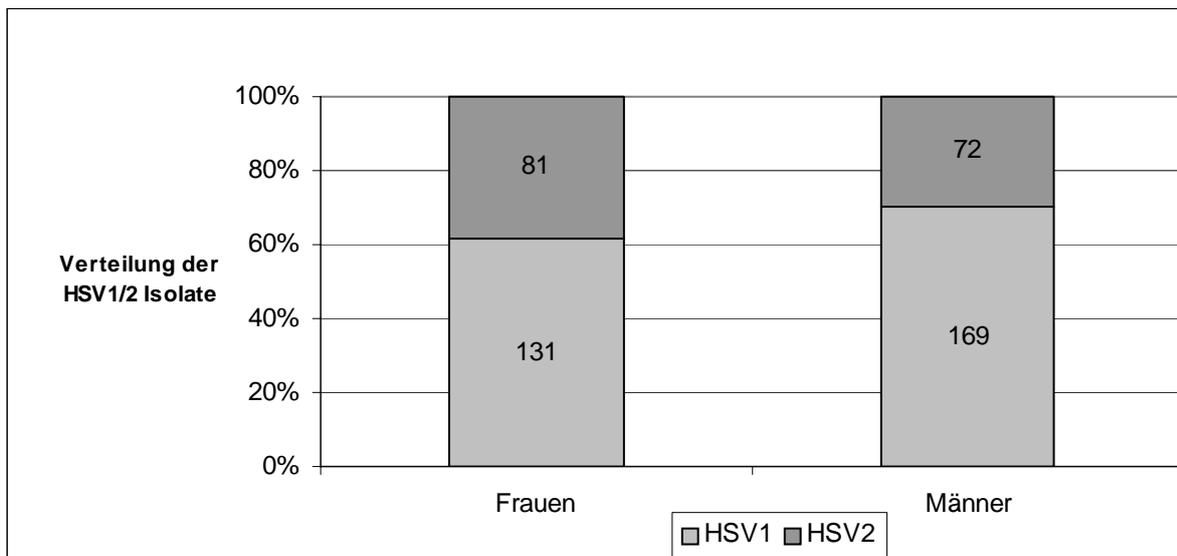


Abbildung 4.4: Verteilung der HSV-Isolate nach Geschlecht der Patienten

4.2.3 Altersverteilung (geschlechtsunabhängig)

Zur Ermittlung der Altersverteilung bei den Patienten mit nachgewiesenem Herpes Simplex erfolgte eine Einteilung der Patienten in sieben Altersstufen. Es wurden die Altersklassen der <1 bis 10 Jahre alten Kinder, der 11 bis 20 Jahre alten Kinder und Jugendlichen, der 21 bis 30 jährigen jungen Erwachsenen, der 31 bis 40 Jahre und 41 bis 50 Jahre alten Erwachsenen, der 51 bis 60 Jahre alten, sowie der über 60 jährigen älteren Patienten gewählt (Abb.4.5).

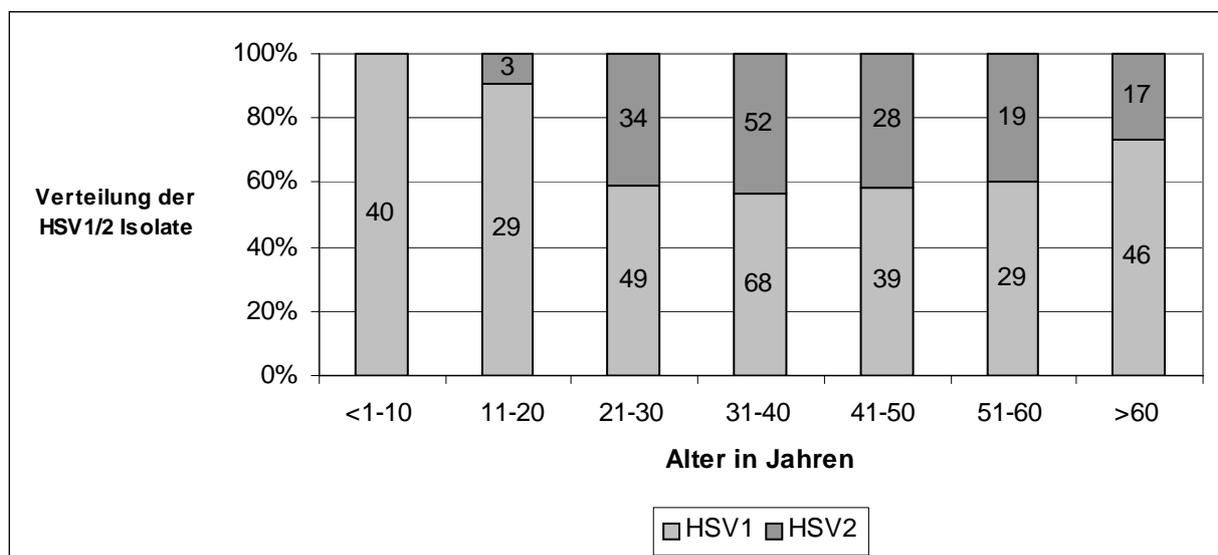


Abbildung 4.5: Anzahl der positiven HSV1 und HSV2 Abstriche in den verschiedenen Altersstufen der Patienten

Bei allen 40 Kindern bis 10 Jahre wurde ausschließlich HSV Typ 1 nachgewiesen. Die beiden jüngsten Patienten mit positiven HSV1 Effloreszenzen waren zwei sechs Monate alte Säuglinge, die beide laut Einsendediagnose eine Stomatitis aphtosa auf der Zunge, sowie im Gaumen- und Mundwinkelbereich hatten. Aus den Krankenakten ging weiterhin hervor, dass bei einem der Säuglinge zusätzlich herpetiforme Bläschen an der rechten Schläfe und ein Mundsoor vorhanden waren.

In der Altersgruppe der Jugendlichen (11-20 Jahre) waren 29 der 32 Abstriche für HSV1 positiv. Die drei ermittelten Herpes Typ 2 positiven Abstriche stammten von einer 19 Jahre alten gynäkologischen Patientin (mit Zustand nach Drogenabusus) und von zwei männlichen Patienten (13 und 16 Jahre alt) aus der Dermatologie. Bei allen drei Jugendlichen waren keine

weiteren anamnestischen Angaben zu Zusatzerkrankungen, sowie Risikofaktoren in den Akten vermerkt.

Für die Erwachsenen der anderen Altersgruppen lag die Herpes Typen 1 und 2 Verteilung bei ungefähr 60% HSV1 positive und ca. 40% HSV2 positive Abstriche (Abb.4.5).

4.2.4 Altersverteilung bei Männern

Zur Ermittlung von Unterschieden in der Altersverteilung der HSV positiven Patienten wurden Männer und Frauen getrennt voneinander betrachtet.

Bei 169 Männern konnte Herpes Typ 1 isoliert werden. Die meisten positiven Abstriche (39 Abstriche) waren in der Altersstufe 31-40 Jahre zu finden (Abb.4.6). Das gleiche Ergebnis konnte bei den 72 Herpes simplex Virus Typ 2 positiven Abstrichen der Männer beobachtet werden. Auch hier wurden die meisten Abstriche (31 Abstriche) in der Altersstufe der 31-40 Jahre alten Patienten nachgewiesen (Abb.4.6).

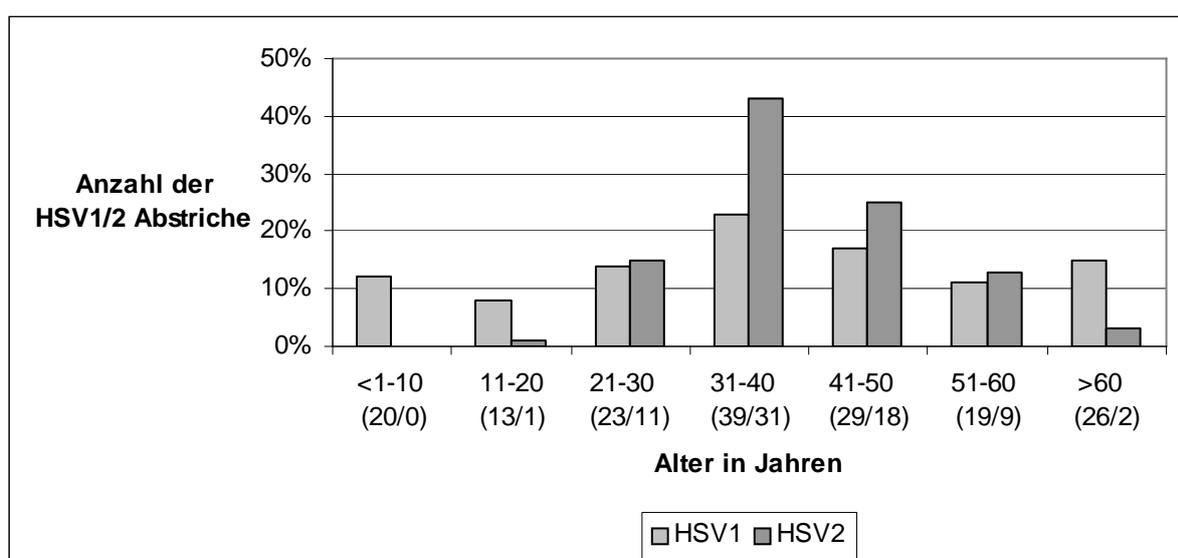


Abbildung 4.6: Altersverteilung von HSV1 und HSV2 positiven Isolaten bei Männern

4.2.5 Altersverteilung bei Frauen

Insgesamt wurde bei 131 Frauen ein positiver Herpes Simplex Virus 1 Abstrich gewonnen. Wie schon bei den männlichen Patienten beobachtet, stammten auch hier die meisten Abstriche (29 Abstriche) aus der Gruppe der 31-40 jährigen (Abb.4.7).

Auch ergibt sich für die 81 Frauen mit positivem Nachweis einer HSV2 Infektion eine ähnliche Altersverteilung: die größte Anzahl der Abstriche (23 Abstriche) konnte ebenfalls bei den jungen Erwachsenen nachgewiesen werden, allerdings bei etwas jüngeren Patientinnen (21-30 Jahre)(Abb.4.7).

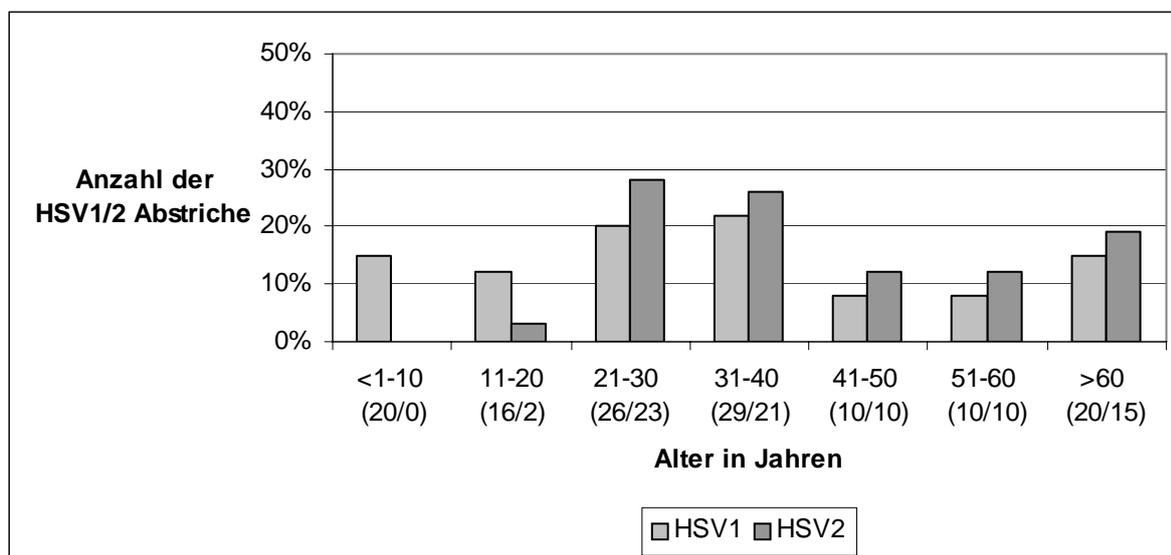


Abbildung 4.7: Altersverteilung von HSV1 und HSV2 positiven Isolaten bei Frauen

4.3 Zuordnung Herpestyp und Hautlokalisierung

Um die Ergebnisse der Herpestypverteilung mit der entsprechenden Lokalisation, von der der Abstrich entnommen wurde zu korrelieren, erfolgte die Auswertung der dazugehörigen Krankenakten der Patienten zusätzlich nach dem Kriterium „Hautlokalisierung der HSV verdächtigen Effloreszenz“.

Dies war bei insgesamt 289 (von 300) Patienten mit nachgewiesenem HSV1 und bei 148 (von 153) Patienten mit nachgewiesenem HSV2 möglich.

Die Einteilung der Hautlokalisierung erfolgte in vier Kategorien: extragenitale und genitoanale (Definition: Abstriche oberhalb bzw. unterhalb der Gürtellinie) Abstriche wurden unterschieden, sowie die Lokalisation an den Händen und die Diagnose eines Ekzema herpeticatum.

4.3.1 Darstellung der HSV Lokalisation (geschlechtsunabhängig)

Von den 437 positiven HSV Abstrichen, denen eine Lokalisation zugeordnet werden konnte, wurden 242 (55%) Abstriche extragenital (nach Definition 4.3) entnommen. Von diesen waren 229 (95%) Proben in der Zellkultur HSV1 positiv und nur 13 (5%) HSV2 positiv.

Die 176 positiven genitoanalalen Abstriche wurden zu 75% auf Herpes Typ 2 und 25% Herpes Typ 1 positiv getestet (Abb.4.8). Des weiteren konnten sechs Abstriche an der Hand ausgewertet werden, von denen vier Herpes Typ 1 positiv und zwei Herpes Typ 2 positiv waren.

Alle 13 Patienten mit Ekzema herpeticatum stammten aus dem Patientengut der dermatologischen Abteilung der Universitätsklinik. Aus allen Abstrichen konnte ausschließlich Herpes Typ 1 nachgewiesen werden (Abb.4.8).

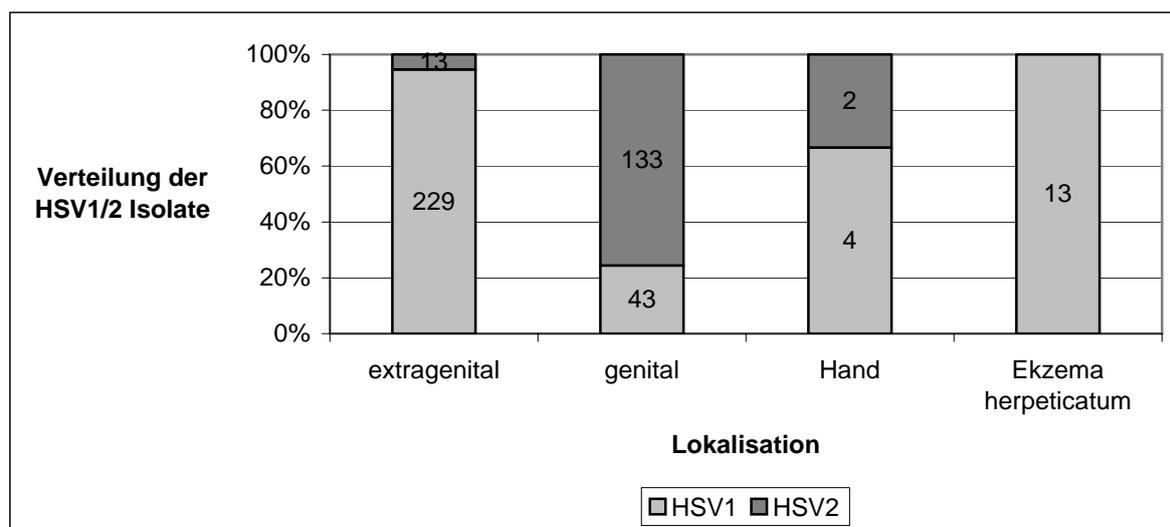


Abbildung 4.8: Anzahl der positiven Herpesisolate bezogen auf unterschiedliche Körperlokalisationen

4.3.2 Darstellung der HSV Lokalisation bei Männern

Bei den untersuchten Männern wurden 94% der extragenitalen positiven Abstriche durch HSV1 und 6% durch HSV2 verursacht. Im Gegensatz dazu wurde der genitoanale Herpes in 20% der Fälle durch Herpes Typ 1 und in 80% durch Herpes Simplex Virus 2 verursacht (Abb.4.9). Nur bei einem Mann konnte an der Hand HSV1 nachgewiesen werden. Außerdem gab es sieben Fälle eines Ekzema herpeticatum, die ebenfalls alle durch HSV1 verursacht waren (Abb.4.9).

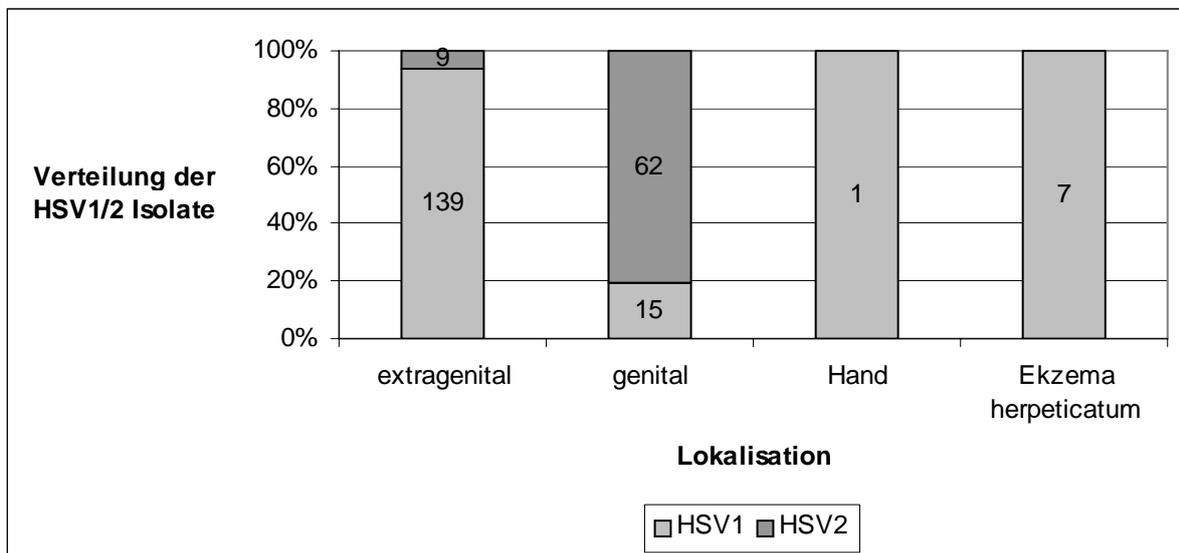


Abbildung 4.9: Anzahl der nachgewiesenen HSV positiven Isolate nach den Kriterien Herpestyp und Lokalisation bei Männern

4.3.3 Darstellung der HSV Lokalisation bei Frauen

Auch bei den untersuchten Frauen wurde der extragenitale Herpes größtenteils (96%) durch HSV1 und nur zu 4% durch HSV2 verursacht. Im Vergleich zu den Männern war der Anteil des HSV1 positiven genitalen Herpes mit 29% (bei den Männern waren es 20%) leicht erhöht (Abb.4.10). Der Großteil (75%) dieser genitalen HSV1 Infektionen bei Frauen, ließ sich in der Altersgruppe zwischen 11 und 30 Jahren finden (ohne Abbildung). Insgesamt stammten fünf Abstriche von der Hand, wobei dreimal HSV1 und zweimal HSV2 nachgewiesen werden konnte.

Wie auch bei den männlichen Patienten konnte bei den weiblichen Patienten aus allen sechs Abstrichen, die von einem Ekzema herpeticatum entnommen wurden, Herpes Simplex Typ 1 nachgewiesen werden (Abb.4.10).

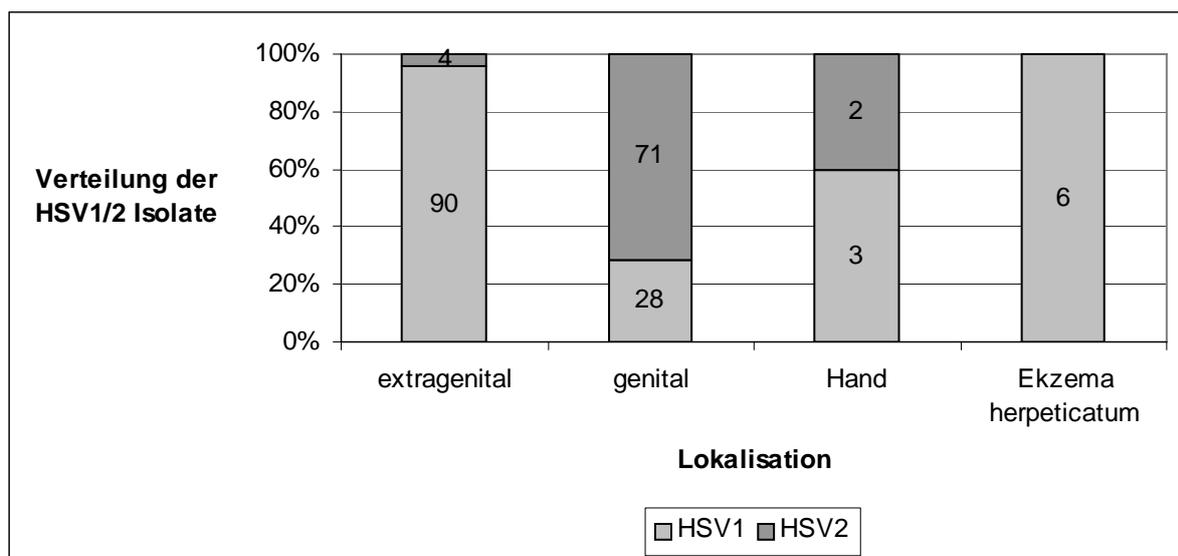


Abbildung 4.10: Anzahl der nachgewiesenen HSV positiven Isolate nach den Kriterien Herpestyp und Lokalisation bei Frauen

4.4 Einsendediagnosen

Ein Großteil der Patienten (53% der insgesamt 453 untersuchten Patienten), von denen die eingesandten Abstrichproben stammten, hatte eine onkologische Erkrankung als Diagnose, befand sich im Zustand nach Transplantation oder war HIV positiv. Deshalb wurden die Proben dieser Immunsupprimierten näher betrachtet.

Es stellte sich heraus, dass bei 111 der untersuchten Patienten eine onkologische Erkrankung mit entsprechender Chemotherapie aus der Anamnese hervorging. Aus ihren Hauteffloreszenzen wurde zu 84% HSV1 und zu 16% HSV2 nachgewiesen.

Elf Patienten hatten eine Transplantation hinter sich. Ihre Abstriche waren alle HSV1 positiv. Es handelte sich in drei Fällen um eine Nierentransplantation, in drei Fällen um eine Herztransplantation, in einem Fall um eine Stammzelltransplantation und in vier Fällen um eine Knochenmarkstransplantation.

Die Abstriche der 118 HIV infizierten Patienten waren zu 40% HSV1 und 60% HSV2 positiv (Abb.4.11). Betrachtet man alle 72 genitalen Läsionen der HIV positiven Patienten im Hinblick auf die Herpestypverteilung gesondert, so kann festgestellt werden, dass 17% dieser Infektionen durch HSV1 verursacht worden sind (ohne Abbildung).

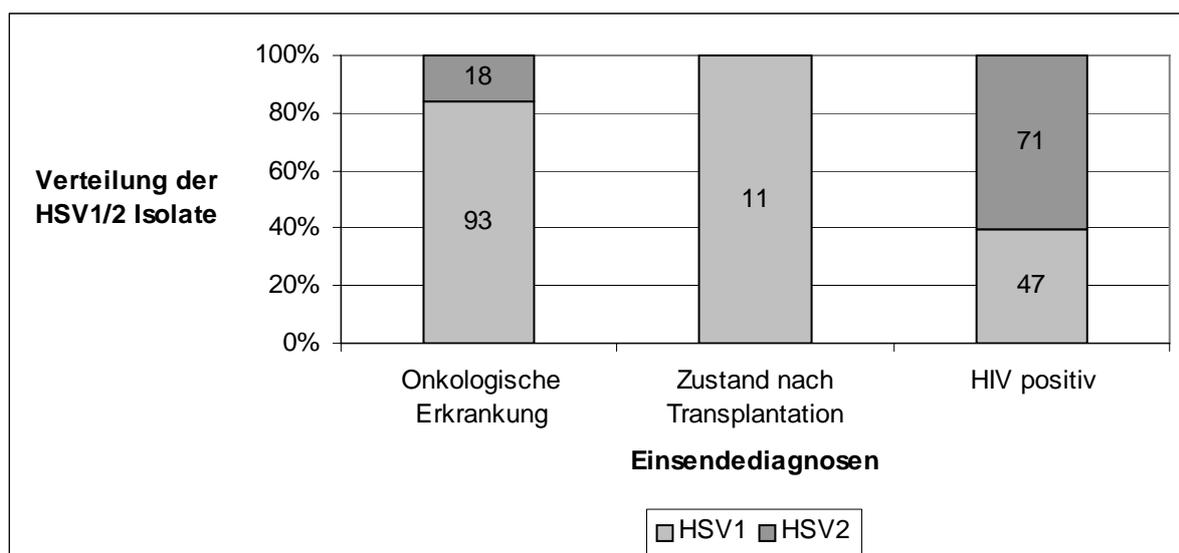


Abbildung 4.11: Anzahl der nachgewiesenen HSV1 und HSV2 positiven Abstriche nach den Kriterien Herpestyp und Einsendediagnose der Patienten

4.5 Patientenisolat mit Folgeproben

Bei 73 der insgesamt untersuchten 453 Patienten, die einen positiven auswertbaren Herpesbefund hatten, waren weitere HSV positive Untersuchungsproben vorhanden.

Dabei gab es von 63 Patienten nur einen weiteren Abstrich. Bei zehn Patienten konnten bis zu fünf zusätzliche positive Isolate nachgewiesen werden. Auch bei diesen Patienten werteten wir die Isolate anhand der klinischen Daten aus. Dabei galt das besondere Interesse der Fragestellung, ob bei den Folgeproben eines Patienten möglicherweise ein Herpestypwechsel stattgefunden hatte.

4.5.1 Patienten mit Zweitbefunden

Zur Untersuchung der Zweitbefunde wurden Erst- und Zweitbefund nach den Kriterien Herpestyp und Körperlokalisierung (extragenital, genital, Hand oder Ekzema herpeticum, siehe Definition 4.3) miteinander verglichen (Tabelle 4.1).

| | Isolate mit gleichem HSV-Typ | | Isolate mit unterschiedlichem HSV-Typ |
|--|------------------------------|--------------------|---------------------------------------|
| | 2x HSV-1 (n=34) | 2x HSV-2 (n=27) | 1x HSV-1 und 1x HSV-2 |
| gleiche Körperlokalisierung | 32 Patienten | 27 Patienten | keine |
| unterschiedliche Körperlokalisationen | 2 Patienten | keine | keine |

Tabelle 4.1: Zuordnung der nachgewiesenen HSV Typen zur entsprechenden Körperlokalisierung bei 61 Patienten mit Zweitbefund

Bei der Mehrzahl der Patienten mit Zweitbefunden konnte sowohl im Erstbefund als auch im zweiten Abstrich der gleiche Herpestyp (32x HSV1 im Erst- und Zweitbefund und im Gegensatz dazu 27x HSV2 im Erst- und Zweitbefund) isoliert werden. In allen Fällen wurden die Abstriche von der selben Körperlokalisierung entnommen. Andere Ergebnisse ergaben sich für zwei Patientinnen: hier wurde HSV1 zwar aus Erst- und Zweitbefund gewonnen, jedoch an unterschiedlichen Körperstellen. Bei einer dieser Patientinnen (20 jährige Frau aus der dermatologischen Abteilung) handelte es sich beim Erstabstrich um einen Ekzema herpeticatum Abstrich und im Zweitabstrich um einen extragenitalen Befund (Abstrich von den Mamillen der Patientin). Die andere Patientin war eine 82jährige Frau, deren Erstabstrich von einem perianalen Ekzem und deren Zweitabstrich von einer Dermatitis am Körperstamm gewonnen wurde (Tabelle 4.1).

Besonders interessant ist der Fall einer 23 Jahre alten gynäkologischen Patientin (nicht in Tabelle 4.1 aufgeführt). Bei ihr wurde in einem Abstrich HSV1 und HSV2 nachgewiesen. Der Fall konnte nicht näher untersucht werden, da die Angaben in der Krankenakte dieser Patientin nur unzureichend waren. Zudem gab es keine weitere Probe zur Bestätigung bzw. Verlaufskontrolle dieses Ergebnisses. Die Literaturrecherche zeigte keinen vergleichbaren Befund.

4.5.2 Patienten mit Mehrfachbefunden

Insgesamt gab es zehn Patienten mit mehr als zwei auf HSV1 oder HSV2 positiv getesteten Isolaten (Tabelle 4.2). Vier dieser zehn Patienten hatten eine onkologische Erkrankung, fünf waren HIV positiv.

Der Abstand der Probeneinsendungen erstreckte sich von einem Monat bis zu vier Jahren. Dabei wechselten bei keinem Patienten Herpestyp oder Körperlokalisierung der Infektion. (Tabelle 4.2).

| Patienten-Nr. | Alter/Geschlecht | Station | Herpestyp, Anzahl der Isolate | Diagnose |
|---------------|------------------------|--------------|---|---|
| 1. | 22 Jahre, männlich | ZIM | 3×HSV1 3×extragenital (Mund) | M. Hodgkin, zusätzlich Herpes Zoster links thorakal |
| 2. | 34 Jahre, männlich | ZIM | 5×HSV1 5×extragenital (Mund) | AML |
| 3. | 15 Monate, männlich | ZKI | 3×HSV1 3×extragenital (Gesicht) | Herpesangina |
| 4. | 39 Jahre, männlich | ZIM | 3×HSV2 3×extragenital (Rücken) | AIDS |
| 5. | 36 Jahre, weiblich | ZIM | 4×HSV2 4×genital (Analsbereich) | AIDS rezidivierender Herpes analis, rezidivierender Soor analis |
| 6. | 52 Jahre, weiblich | ZIM | 3×HSV2 3×genital (Genitalbereich) | CLL Zustand nach Chemotherapie |
| 7. | 39 Jahre, männlich | ZIM | 3×HSV2 3×genital (Analsbereich) | HIV positiv DD Candida stomatitis |
| 8. | 21 Jahre, weiblich | Gynäkologie | 3×HSV2 3×genital (Oberschenkel) | HIV positiv 31. Schwangerschaftswoche |
| 9. | 28 Jahre, männlich | Dermatologie | 3×HSV2 3×genital (Genitalbereich) | CLL rezidivierender Herpes genitalis |
| 10. | 45 Jahre, männlich | Dermatologie | 3×HSV2 3×genital (Glutealbereich) | HIV positiv HAART Therapie |

Tabelle 4.2: Darstellung von zehn Patienten mit wiederholtem Herpes simplex Virus-Nachweis

5. Diskussion

Zur Epidemiologie von Herpes simplex Virus Infektionen wurden weltweit viele seroepidemiologische Studien durchgeführt, jedoch vergleichbar wenige Auswertungen mit Virusdirektnachweis von Hautabstrichen. In vorliegender Studie erfolgte die Untersuchung HSV positiver Abstrichisolate von Patienten der Universitätsklinik Frankfurt, die zwischen Januar 1996 und Dezember 2002 gewonnen werden konnten. Um der Fragestellung nachzugehen, inwieweit im Raum Frankfurt/Main in den letzten Jahren ein Wandel in der Epidemiologie des Herpes, besonders des Herpes genitalis stattgefunden hat, wurde der nachgewiesene Herpestyp im Hinblick auf Kriterien wie Alter und Geschlecht des Patienten, Lokalisation der Herpeseffloreszenzen, sowie einsendende Station untersucht. Neuere Studien aus den USA (Lafferty et al., 2000), Großbritannien (Vyse et al., 2000), Norwegen (Nilsen et Myrmel, 2000) und Schweden (Löwhagen et al., 2000) weisen auf einen Wandel in der Epidemiologie der Herpes Simplex Virus Infektionen, insbesondere des Herpes genitalis hin. Trotz der klassischen Einteilung mit HSV2 als Verursacher von Herpes genitalis und HSV1 als Verursacher von extragenitalem Herpes orofazialis zeigen Studien, dass ein beträchtlicher Teil des Herpes genitalis durch Herpes Typ 1 verursacht wird. Dieser kann sich klinisch anders präsentieren und ein anderes Rezidivverhalten aufweisen, als der durch HSV2 verursachte Herpes genitalis (Nilsen et Myrmel, 2000).

Zunächst stellte sich bei den untersuchten Abstrichisolaten die Frage nach der allgemeinen Herpestypverteilung. Herpes simplex Virus 1 war insgesamt häufiger nachweisbar (66%) als HSV2 (34%), während es in einer großen amerikanischen Studie, in der ebenfalls eine Isolatauswertung durchgeführt wurde, jeweils etwa die Hälfte (50% HSV1 und 50% HSV2) waren (Ribes et al., 2001). Beide Studien umfassen ein ähnliches Patientengut: unser Kollektiv rekrutierte sich aus nahezu 500 Patienten der unterschiedlichen Abteilungen der Universitätsklinik Frankfurt, das Kollektiv bei Ribes et al. setzte sich aus über 1000 Patienten zusammen, deren Abstriche in der Universitätsklinik Kentucky in den USA auf HSV1 oder HSV2 untersucht wurden (Ribes et al., 2001).

Neben der Verteilung der Herpestypen interessierte auch die Verteilung der Isolate nach Geschlecht. Bei etwa ausgewogenem Verhältnis von untersuchten Männern (53%) und Frauen (47%) konnte gezeigt werden, dass der Anteil der HSV2 positiven Isolate bezogen auf alle Isolate bei Frauen mit 40% etwas größer war, als bei Männern mit 30% HSV2 positiver Abstriche. Auch Ribes et al. (2001) konnten in ihrer großen Untersuchung Herpes Typ 2 hauptsächlich bei weiblichen Patienten isolieren. Über 50% der Abstriche von Frauen waren

hier positiv für HSV2, wohingegen es nur 34% der Abstriche bei Männern waren. Hier spielt möglicherweise ein direkter Zusammenhang zwischen dem höheren Infektionsrisiko der Frauen und dem größeren Schleimhautanteil im weiblichen Genitaltrakt eine Rolle (Kamali et al., 1999). Es stellte sich nun die Frage, inwieweit neben der Herpestypverteilung bei unterschiedlichen Geschlechtern, die charakteristische Altersverteilung von Herpes Typ 1 (primäre Infektionen bereits in frühester Kindheit durch Übertragung von den Eltern auf die Kinder durch engen körperlichen Kontakt) und Typ 2 (primäre Infektionen mit Einsetzen der Intimkontakte) zutrifft. Wie erwartet zeigte sich, dass in der Gruppe der bis zu 10 Jahre alten Kinder ausschließlich HSV1, jedoch kein HSV2 nachweisbar war. In letzter Zeit finden sich vermehrt Studien, die auf eine Verschiebung der ersten sexuellen Kontakte ins jüngere Alter hinweisen (Jonsson et Wahren, 2004). In unserem Kollektiv konnten die ersten positiven HSV2 Abstriche aus dem Genitalbereich in der Altersgruppe der 11-20 Jahre alten Patienten isoliert werden. Es handelte sich um zwei männliche und eine weibliche Jugendliche. Es ist unklar, ob es Primärbefunde oder Rezidive waren. In der Gruppe der jungen Erwachsenen (21-30 Jahre) gelang es dann insgesamt vermehrt Herpes Typ 2 Infektionen (ca. 40%) nachzuweisen. Der größte Anteil (> 40%) der HSV2 positiven Infektionen (orofazial sowie genitoanal) wurde in der Gruppe der Erwachsenen (31-40 Jahre) gefunden. Die hier durchgeführten Untersuchungen zur Altersverteilung von Herpes Typ 1 und 2 zeigen Ähnlichkeiten mit anderen Isolatauswertungen, bei denen allerdings nur genitale Infektionen berücksichtigt wurden: bei Nilsen und Myrmel, die im Jahre 2000 eine Studie zur Häufigkeitsverteilung von HSV1 und HSV2 als Ursache für Herpes genitalis bei Patienten einer STD (Sexuell Transmitted Disease) Klinik im norwegischen Bergen durchführten, zeigte sich ebenfalls in der Gruppe der jungen Erwachsenen ein hoher Anteil (59%) HSV2 positiver Befunde. Lautenschlager und Eichmann ermittelten in ihren Untersuchungen mit 170 Patienten einer dermatologischen Ambulanz in Zürich aus dem Jahre 2001 für Genitalinfektionen durch HSV2 bei Männern ein Durchschnittsalter von 38 Jahren und bei Frauen von 35 Jahren. Stellt man die Altersverteilung für beide Geschlechter getrennt dar, so zeigt sich in unserer Untersuchung, dass sowohl bei Männern als auch bei Frauen die meisten HSV1 (orofazial und genital) Infektionen in der Altersklasse der 31-40 Jahre alten Patienten nachgewiesen werden konnten. Das gleiche gilt auch für HSV2 bei Männern. Dagegen ließen sich die meisten HSV2 Infektionen bei den Frauen in der Altersgruppe der 21-30 jährigen Patientinnen finden. Bei der Betrachtung der Zuordnung der Herpestypen 1 und 2 zu den Körperlokalisationen, von denen die Abstriche entnommen wurden, zeigte sich, dass die

Anzahl der durch Herpes Typ 1 verursachten extragenitalen Läsionen mit 95% erwartungsgemäß hoch war. Nur 5% wurden durch Herpes Typ 2 verursacht. Auch die Zahl der durch Herpes Simplex Typ 2 verursachten genitalen Läsionen war entsprechend hoch: es konnte bei 75% der Patienten mit Genitalherpes HSV2 nachgewiesen werden. Das entspricht der klassischen Einteilung. Allerdings waren 25% der Genitalabstriche Herpes Typ 1 positiv. Dies deckt sich mit neueren Studien aus den USA und Europa, die zeigen, dass trotz der Tatsache, dass Herpes Typ 2 die häufigste und gängigste Ursache der genitalen Herpesinfektion darstellt (Solomon et al., 2003), gerade in den letzten Jahren immer mehr Herpes genitalis Infektionen durch HSV1 verursacht werden (Ribes et al., 2001, Scoular et al., 2002). In ihrer großen amerikanischen Studie untersuchten Lafferty et al. (2000) über 1000 Patienten aus einer STD Klinik in Washington. Der Anteil der Herpes Typ 1 positiven Isolate bei Genitalherpes lag hier bei 17%. Ähnliche Ergebnisse fanden sich bei Lautenschlager und Eichmann (2001) aus Zürich, die positive Herpesabstriche aus dem Genitalbereich von 170 Patienten untersuchten. Hier lag der Anteil der HSV1 positiven Läsionen bei 12%. Veränderungen in der Epidemiologie des Genitalherpes sind auch in der im Jahre 2000 veröffentlichten Studie mit Patienten einer STD Klinik in Norwegen zu finden: Nach Nilsen und Myrnel (2000) ist zwischen 1987 und 1998 die Zahl der durch HSV1 verursachten genitalen Infektionen von 36% auf 51% gestiegen. Für Deutschland gibt es eine ähnliche Studie. In einer gynäkologischen Klinik in Witten waren fast 40% der genitalen Abstriche HSV1 positiv (Wolff et al, 2002). Interessant sind auch die Ergebnisse einer über 15 Jahre dauernden Studie über genitale Herpesinfektionen in Schottland. Die Hälfte der über 10000 untersuchten Genitalabstriche waren Herpes Typ 1 positiv (Scoular et al., 2002). Man kann verschiedene Ursachen für den Wechsel von HSV2 zu HSV1 im Genitalbereich annehmen. Eine Veränderung des Sexualverhaltens mit Anstieg oral-genitaler Kontakte wird diskutiert (White et Wardropper, 1997). Die Übertragung von Herpes simplex Virus 1 in den Genitaltrakt erfolgt meistens oral-genital und nur selten genital-genital (Jonsson et Wahren, 2004). Daher wird eine Korrelation zwischen oral-genitalem Sex und der Ansteckung mit Herpes Typ 1 vermutet, insbesondere wenn der Partner Herpes labialis hatte (Lautenschlager et Eichmann, 2001). Neu erworbene genitale HSV1 Infektionen verlaufen eher symptomatisch als durch Herpes Typ 2 verursachte (Whitley, 2000). Daher wird Herpes Typ 1 im Genitalbereich vermutlich vermehrt entdeckt und behandelt. Betrachtet man in unserer Studie das Vorkommen von Herpes Typ 1 und 2 im Genitalbereich bei den unterschiedlichen

Geschlechtern so zeigte sich, dass bei Männern 20% der genitalen Effloreszenzen durch HSV1 verursacht wurden, wohingegen bei den Frauen der Anteil mit 28% leicht höher war. Bei Ribes et al. (2001) war der Anteil der durch HSV1 verursachten Genitalinfektionen bei Frauen sogar um 13% höher (45% des Herpes genitalis bei Frauen wurde durch HSV1 verursacht), als bei Männern mit nur 32%. Auch andere Studien kommen zu diesem Ergebnis: bei Nilsen und Myrmed (2000) wird für Frauen ein höherer Anteil (73%) von Herpes Typ 1 verursachtem Genitalherpes ermittelt, als für Männer (49%): Besonders betroffen sind hier junge Patientinnen unter 21 Jahren. Vergleichbare Daten ermittelten Scoular et al. in ihrer Studie: in der Altersgruppe der unter 25 Jahre alten Patientinnen wurden 70% der genitalen Herpesinfektionen durch HSV 1 verursacht (Scoular et al., 2002). Auch in unserer Untersuchung stammten ein Großteil der durch HSV1 verursachten positiven Genitalabstriche von jungen Frauen im Alter zwischen 11 und 30 Jahren. Die eigentliche Ursache für die Korrelation zwischen Herpes Typ 1 verursachtem Herpes genitalis und jungen Frauen ist noch ungeklärt (Vyse et al., 2000). Auch hier dürfte die Empfindlichkeit für HSV Infektionen bei Frauen aufgrund der größeren Schleimhautoberfläche eine Rolle spielen (Lautenschlager et Eichmann, 2001). Scoular et al. interpretieren den Anstieg des HSV1 im Genitalbereich bei Frauen mit verändertem Sexualverhalten der Bevölkerung. Jonsson und Wahren (2004) konnten zeigen, dass in den letzten Jahren das Alter, in dem sexuelle Erfahrungen gemacht werden, gesunken ist. Gleichzeitig wird über eine Abnahme der HSV1 Prävalenz bei Kindern berichtet (Jonsson and Wahren, 2004). Daher ist es möglich, dass ein Erstkontakt mit dem Herpes Typ 1 Virus erst während der Pubertät oder postpubertär stattfindet und somit vermehrt zu durch HSV1 verursachtem Genitalherpes führt.

Neben den typischen Erscheinungsformen des Herpes orofazialis und Herpes genitalis sind auch Herpesinfektionen der Hand bekannt, die normalerweise durch Autoinokulation übertragen werden (Gill et al., 1990 a). Dabei haben die Patienten meist eine vorausgegangene Herpesinfektion an anderer Körperstelle. Durch Kontakt der Hände mit infektiösem Bläscheninhalt, zum Beispiel beim Kratzen, kommt es zur Übertragung des Erregers. In unseren Untersuchungen fanden sich sechs positive Abstriche von Läsionen an der Hand, wobei vier HSV1 und zwei HSV2 positiv waren. Bei keinem der Patienten ging aus den Krankendaten eine vorangegangene Herpesinfektion an anderer Stelle hervor. Gill et al. untersuchten 1988 in Kanada über einen Zeitraum von drei Jahren knapp 80 Patienten mit positivem HSV Befund an der Hand. Alle Patienten, bei denen dort Herpes Typ 2 nachgewiesen wurde, waren älter als 20 Jahre und litten vorher anamnestisch an einer

Genitalinfektion mit Herpes simplex Typ2. Ein weiteres Kollektiv der Studie von Gill et al. bildeten Kinder mit vorangegangenen Gingivostomatitiden, bei denen ausschließlich HSV1 positive Abstriche vorlagen. (Gill et al., 1988 und 1990 b).

Eine andere interessante Patientengruppe unserer Untersuchungen bildeten die 13 Patienten mit der Diagnose eines Ekzema herpeticatum, bei denen wie erwartet ausschließlich Herpes Typ 1 nachgewiesen werden konnte. In der Literatur lassen sich derzeit keine Studien finden, die hier nach Herpestypen unterscheiden.

Ein weiterer Aspekt der hier vorliegenden Studie war die Auswertung der Daten von Patienten mit Immunsuppression (Patienten mit Tumorerkrankung, Zustand nach Transplantation oder positivem HIV Status in der Anamnese). Es ergab sich ein Anteil von über 50% immunsupprimierter Patienten bezogen auf das Gesamtkollektiv. Herpesinfektionen verlaufen bei Immunsupprimierten schwerer, und es kann besonders beim Genitalherpes zu atypischen klinischen Präsentationen kommen (Tyring et al., 1998). Für die große Gruppe der onkologischen Patienten aus der Abteilung der Inneren Medizin ließ sich das typische Verteilungsmuster von fast ausschließlich HSV1 (97%) positiven extragenitalen, sowie HSV2 (94%) positiven genitalen Läsionen nachweisen. Ähnlich stellt sich die Herpestypverteilung bei dem kleinen Kollektiv der elf Patienten nach Transplantation dar. Alle Abstriche wurden extragenital gewonnen und waren Herpes Typ 1 positiv. Eine etwas andere Verteilung ergab sich bei der dritten, gesondert betrachteten großen Gruppe der Patienten mit positivem HIV Status in der Anamnese: knapp 40% der gesamten HSV-Infektionen dieser Patienten wurden durch HSV1 verursacht. Von den genitalen Läsionen waren 17% HSV1 positiv. Im Vergleich zum Gesamtkollektiv, bei dem etwa 25% der genitalen Infektionen durch HSV1 verursacht wurden, ist der prozentuale Anteil für HIV-Infizierte damit etwas niedriger. Der Großteil der HSV-Infektionen bei HIV positiven Patienten, wurde durch HSV2 verursacht (60%). Beim Gesamtkollektiv waren es im Vergleich dazu nur 34%. Im Zusammenhang zwischen HIV- und HSV-Infektionen wird Herpes simplex Typ 2 als Risikofaktor für HIV Infektionen betrachtet (Avert et al., 2001), da das defekte Epithel und die Anreicherung von CD4 Zellen in Herpes Typ 2 positiven Läsionen ein Ziel für HIV-1 darstellt (van Benthem et al., 2001, Fleming et al., 1997). Auch wird ein Zusammenhang zwischen der Dauer der Läsionen und einer vorhandenen HIV Erkrankung gesehen: Im Vergleich zu HIV negativen Personen zeigen HIV positive Patienten eher länger andauernde Herpesinfektionen (Solomon et al., 2003). Bei der Datenauswertung immunsupprimierter Patienten fiel außerdem auf, dass von einigen Patienten dieses Kollektivs bis zu fünf weitere Abstriche eingeschickt wurden, die

ebenfalls HSV positiv waren. Auch wenn wir diese Patienten nicht weiter untersucht haben, so lässt sich doch feststellen, dass in diesem Kollektiv der Nachweis von HSV2 überwog. Auch in anderen Studien wird beobachtet, dass immunsupprimierte Patienten häufig unter Folgeinfektionen leiden, die vermehrt durch HSV2 verursacht werden (Schacker, 2001). Bei Solomon et al., die 2003 eine Studie mit 940 Patienten aus STD und HIV Kliniken aus den ganzen USA untersuchten, konnte zu 96% HSV2 aus Mehrfachbefunden isoliert werden. Aber auch Studien mit nicht ausschließlich immunsupprimierten Patienten kommen zu ähnlichen Ergebnissen für Mehrfachbefunde: Löwhagen et al. (2000), die Mehrfachbefunde von Patienten einer STD Klinik in Schweden untersuchten, konnten zu 94% HSV2 aus diesen nachweisen. Auch Lafferty und Mitarbeiter konnten im Jahre 2000 ebenfalls in einer STD Klinik in Seattle, USA in bis zu 85% der Mehrfachbefunde der Patienten Herpes Typ 2 nachweisen (Lafferty et al, 2000).

Zusammenfassend kann aus den Ergebnissen dieser Untersuchung festgestellt werden, dass neben dem „klassischen Verteilungsmuster“ mit HSV1 als Verursacher des extragenitalen und HSV2 als Verursacher des genitoanalen Herpes, der Anteil des durch HSV1 verursachten Genitalherpes bei etwa 25% liegt.

6. Zusammenfassung

Infektionen mit Herpes simplex Virus Typ 1 und 2 sind weltweit verbreitet. HSV1 verursacht in den meisten Fällen orofaziale Infektionen, wohingegen HSV2 normalerweise für genitale Ulzerationen verantwortlich ist. Trotz dieser klassischen Einteilung ist in den letzten Jahren vermehrt diskutiert worden, wie groß der Anteil von HSV1 bei genitalen und HSV2 bei extragenitalen Infektionen ist.

Die Daten von 453 Patienten mit positivem Nachweis einer Herpes simplex Virus Infektion (nachgewiesen über eine Hautabstrich Untersuchung mit anschließender Anzucht des Virus in Zellkultur) wurden retrospektiv ausgewertet. Es handelte sich um Patienten der Universitätsklinik Frankfurt, bei denen im Zeitraum zwischen Januar 1996 und Dezember 2002 ein oder mehrere positive HSV Abstriche untersucht werden konnten.

Der nachgewiesene Herpestyp wurde mit verschiedenen Kriterien wie Alter und Geschlecht des Patienten, sowie Lokalisation der Herpesinfektion korreliert. Als Ergebnis ergab sich folgende Herpestypverteilung: Herpes simplex Virus Typ 1 positiv waren 66% der Isolate, 34% waren HSV2 positiv.

Herpes Typ 2 konnte bei 38% der insgesamt 212 weiblichen Patienten und bei 30% der insgesamt 241 männlichen Patienten nachgewiesen werden.

Auch in unserer Untersuchung konnte gezeigt werden, dass die in vielen Studien beschriebene typische Altersverteilung für HSV1 und HSV2 besteht: in der Altersgruppe der bis zu 10 Jahre alten Kinder waren alle Isolate HSV1 positiv. HSV2 positive Abstriche wurden erst mit Beginn des Alters der ersten Intimkontakte gefunden. Die meisten HSV1 und HSV2 Abstriche stammten aus der Altersgruppe der 31-40 Jahre alten Patienten.

Wie erwartet konnte Herpes Typ 1 vermehrt aus extragenitalen Läsionen nachgewiesen werden: 95% dieser Abstriche waren HSV1 positiv. Anders sah die Typ-Verteilung der genitoanalen Abstriche aus: 75% dieser Läsionen wurden durch HSV2 und 25% durch HSV1 verursacht.

Bei den Patienten mit Tumorerkrankung, Zustand nach Transplantation oder positivem HIV Status in der Anamnese, die mit über 50% einen Großteil des Gesamtkollektives bildeten, war die Herpestypverteilung im großen und ganzen mit dem restlichen Kollektiv vergleichbar. Viele Patienten dieses Kollektivs hatten mehrere Herpes simplex Virus positive Abstriche. Abschließend kann festgestellt werden, dass die typische Verteilung von HSV1 als Verursacher von extragenitalen Infektionen und HSV2 als Verursacher von genitoanalen

Infektionen weitestgehend besteht. Allerdings war etwa ein Viertel dieser genitoanalalen Infektionen durch HSV1 verursacht.

7. Summary

Infections with herpes simplex virus are widespread in all human populations. HSV1 is commonly responsible for orofacial, HSV2 is more likely to cause genital lesions. Contrary to these specific classifications it has been discussed during the last few years, how many herpes genitals infections are caused by HSV1 and how many orofacial infections by HSV2.

Data from 453 herpes patients, attending the university clinic Frankfurt/Main during January 1996 and December 2002 were retrospectively evaluated. HSV infection was detected on swabs taken from different body locations and using cell culture to investigate the presence of HSV.

The detected Herpes type has been correlated with the patients age and gender, and the skin location of the infection has been evaluated. As a result we found 66% of all infections positive for HSV1 and 34% for HSV2.

HSV2 has been shown in 38% of all 212 investigated females and in 30% of all 241 investigated males.

In our study, we also showed the typical distribution in different age groups, as described in other studies: 100% of all positive swabs in the age group of the up to 10 years old kids were HSV1 positive. There were no HSV2 positive results in this group. The first HSV2 infections were detected in the age group with the beginning of sexual activity. The highest rate of all HSV1 and HSV2 positive swabs were found for the 31-40 years old adults.

As expected, Herpes type 1 was mostly isolated from extragenital lesions: 95% of all extragenital infections were HSV1 positive. Different results were obtained from genital lesions: 76% of these infections were caused by HSV2 and 24% by HSV1.

Over 50% of our patients were under immunodepression, such as diagnosis of an oncologic disease, having had organ transplantation, or being HIV positive. Herpes type distribution in immunocompromised patients were more or less similar to patients with no immunodepression. Many of these patients had more than one HSV positive swab.

As a conclusion we found that the typical distribution of HSV1 causing extragenital and HSV2 causing genital infections is still mostly common. Nevertheless we also found that nearly one fourth (25%) of all genital infections are caused by HSV1.

8. Literaturverzeichnis

Auvert B., Ballard R., Campbell C., Carael M., Carton M., Fehler G. (2001):

HIV Infection among youth in a South African mining town is associated with herpes simplex virus-2 seropositivity and sexual behaviour.

AIDS; (15): 885-98

Bentham B.H. van, Spaargaren J., Den Hoek J.A. van, Merks J., Coutinho R.A., Prins M. (2001):

Prevalence and risk factors of HSV-1 and HSV-2 antibodies in European HIV infected women.

Sex Transm Infect; (77): 120-4

Braun R.W., Kirchner H., Munk K., Schröder C.H. (1987):

Klinik der Herpes simplex Virus Infektion.

In: Rüdiger W. Braun (Hrsg.): Herpes-simplex-virus, Biologie, Klinik, Diagnostik, Therapie
Verlag W. Kohlhammer Stuttgart, Berlin, Köln, Mainz: 73-85

Brugha R., Keersmaekers K., Renton A., Meheus A. (1997):

Genital Herpes infection: A Review.

Int. Journal of Epidemiology Vol. 26, No. 4: 698-709

Buxbaum S., Geers M., Rabenau H.F., Doerr H.W. (2002):

Epidemiologie der HSV1 und HSV2 Infektionen in Deutschland.

In: Bender H.G., Dall P.(Hrsg.): 54. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe.

Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York: 415-418

Buxbaum S., Geers M., Gross G., Schöfer H., Rabenau H.F., Doerr H.W. (2003 a):

Epidemiologie of herpes simplex types 1 and 2 in Germany: what has changed?

Med Microbiol Immunol; (192): 177-181

Buxbaum S., Geers M., Rabenau H.F., Doerr H.W. (2003 b):

Ubiquitär: Herpes simplex Infektionen, Epidemiologie in Deutschland

Berliner Medizinische Gesellschaft

Symposium Medical, Ausgabe Onkologie/Gynäkologie; 14. Jahrgang: 26-27

Chenot J.F., Doerr H.W., Rabenau H.F. (1999):

Virologie, Epidemiologie und Diagnostik des Herpes genitalis.

Dtsch. Med. Wschr.; (24): 158-162

Chenot J.F., Doerr H.W., Rabenau H.F. (2001):

Laboratory Diagnosis of Herpes genitalis.

J Lab Med; 25 (7/8): 223-225

Corey L., Adams H.G., Brown Z.A., Holmes K.K. (1983):

Genital herpes simplex virus infections: clinical manifestations, course and complications.

Annals of Internal Medicine; (98): 958-972

Corey L., Holmes K.K. (1983):

Genital herpes simplex virus infections: current concepts in diagnosis, therapy and prevention.

Annals of Internal Medicine; (98): 973-983

Doerr H.W., Rabenau H. (1996):

Dermatotrope Herpesviren.

Chemotherapie Journal; 5. Jahrgang, Heft 1: 1-11

Döller G. (1996):

Virusanzucht, Schnellidentifizierung und Direktnachweis viraler Antigene.

Mikrobiologie; 6. Jahrgang: 3-7

Enders G. (1992):

Virusinfektionen.

In: Thomas L. (Hrsg.): Labor und Diagnose, 4. Auflage

Med. Verlagsgesellschaft, Marburg: 1545-1630

Engelberg R., Carrell D., Krantz E., Corey L., Wald A. (2003):

Natural history of genital herpes simplex virus type 1 infection.

Sex Transm Dis; (30): 174-7

Fleming D.T., McQuillen G.M., Johnson R.E., Nahmias A.J., Aral S.O., Lee F.K., St Louis M.E. (1997):

Herpes simplex virus type 2 in the United States, 1976 to 1994.

N Engl J Med; Oct 16; 337(16): 1158-9

Gärtner B., Müller-Lantzsch N. (2002):

Herpesviren: allgemein.

In: Doerr H.W., Gerlich W.H. (Hrsg.): Medizinische Virologie, 1. Auflage,

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York: 370-372

Gill M.J., Arlette J., Buchan K. (1988):

Herpes simplex virus infection of the hand: A profile of 79 cases.

Am J Med (United States); Jan 84(1): 89-93

Gill M.J., Arlette J., Buchan K. (1990 a):

Herpes simplex virus infection of the hand: A profile of 79 cases.

J Am Acad Dermatol (United States); Jan 22 (1): 111-116

Gill M.J., Arlette J., Tyrrell DL, Buchan K. (1990 b):

Herpes simplex virus infection of the hand. Clinical features and management.

Am J Med (United States); Aug 29; 85(2A): 53-56

Hashido M., Lee F.K., Nahmias A.J., Tsugami H., Isomura S., Nagata Y. (1998):

An epidemiological study of herpes simplex virus type 1 and 2 infection in Japan based on type-specific serological assays.

Epidemiol Infect; (120): 179-86

Jonsson M.K., Wahren B. (2004):

Sexually Transmitted Herpes Simplex Viruses.

Scand J Infect Dis; (36): 93-101

Kamali A., Numm J., Mulder D.W., Van Dyck E., Dobbins J.G., Whitworth J.A.G. (1999):

Seroprevalence and incidence of genital ulcer infections in a rural Ugandan population.
Sex Transm Infect; (75): 98-102

Kinghorn G.R. (1994):

Epidemiology of genital herpes.
J Int Med Res; (22 Suppl.1): 14A-23A

Lafferty W.E., Downey L., Celum C., Wald A. (2000):

Herpes Simplex Virus Type 1 as a Cause of Genital Herpes: Impact on Surveillance and Prevention
The Journal of Infectious Diseases; (181): 1454-7

Laubereau Z., Zwahlen M., Neuenschwander B., Henninger U., Schaad U.B., Desgrandchamps D. (2000):

Herpes Simplex Virus Type 1 and 2 in Switzerland.
Schweiz Med Wochenschr; Feb 5; 130(5):143-50

Lautenschlager S., Eichmann A. (2001):

The Heterogeneous Clinical Spectrum of Genital Herpes.
Dermatology; (202): 211-219

Löwhagen G.B., Tunback P., Andersson K., Bergstrom T., Johannisson G. (2000):

First episodes of genital herpes in a Swedish STD population: A study of epidemiology and transmission by the use of herpes simplex virus (HSV) typing and specific serology.
Sex Transm Infect; (76): 179-192

Modrow S., Falke D., Truyen U. (1997):

Herpesviren
In: Modrow S. (Hrsg.): Molekulare Virologie,
2. Auflage Spektrum Akad. Verlag: 411-448

Nilsen A., Myrmel H. (2000):

Changing trends in genital herpes simplex virus infection in Bergen, Norway.

Acta Obstet Gynecol Scand; (79) : 693-696

Rabenau H.F., Buxbaum S., Preiser W., Weber B., Doerr H.W. (2001):

Seroprevalence of herpes simplex virus types 1 and type 2 in the Frankfurt am Main area, Germany.

Med Microbiol Immunol; (190): 153-160

Rabenau H.F., Runne U., Selb B., Doerr H.W. (1986):

Die Labordiagnose von Herpes simplex: Nachweis von Virusantigen mit dem Enzym-linked-immunosorbent-assay und dem direkten Immunfluoreszenztest.

Lab Med; (10): 324-26

Ribes J.A., Steele A.D., Seabolt J.P. (2001):

Six-year study of the incidence of herpes in genital and nongenital cultures in a central Kentucky medical centre patient population.

J Clin Microbiol; (39): 3321-25

Roizman B., Sears A.E. (1996):

Herpes-simplex-virus and their replication.

In Fields (ed.): Virology, Lipincott-Raven: Philadelphia: 2231-2295

Schacker T. (2001):

The role of HSV in the transmission and progression of HIV.

Herpes; (8): 46-9

Scoular A., Norrie J., Gillespie G. (2002):

Longitudinal study of genital infection by herpes simplex type 1 in western Scotland over 15 years

BMJ; (324): 1366-7

Solomon L., Cannon M.J., Reyes M., Graber J.M., Wetherall N.T., Reeves W.C. (2003):

Epidemiology of recurrent genital herpes simplex virus types 1 and 2

Sex Transm Infect; (79): 456-459

Sundmacher R. (1989):

Die Bedeutung der Herpesviren in der Ophthalmologie.

Fortschr. Med.; (107): 541-544

Tyring S.K., Carlton S.S., Evans T. (1998):

Herpes: Atypical clinical manifestations.

Dermatol Clin; (16): 783-788

Vyse A.J., Gay N.J., Slomka M.J., Gopal R., Gibbs T., Morgan-Capner P., Brown D.W. (2000):

The burden of infection with HSV-1 and HSV-2 in England and Wales: Implication for the changing epidemiology of genital herpes.

Sex Transm Infect; (76): 183-187

Wald A., Zeh J., Selke S., Warren T., Ashley R., Corey L. (2002):

Genital Shedding of Herpes Simplex Virus among Men

The Journal of Infectious Diseases; (186 Suppl 1): 34-9

White C., Wardropper A.G. (1997):

Genital herpes simplex infection in women.

Clin Dermatol; (15): 81-91

Whitley R.J. (2000):

Herpes simplex viruses.

In: Knipe D.M., Howley P.M (eds.) Fields Virology Volume 2, 4th edn. Lippincott, Williams & Wilkins; (73): 2461-2509

Wolff M.H., Schmitt J., Rahaus M., Dudda H., Hatzmann W. (2002):

Clinical and Subclinical Reactivation of Genital Herpes Virus

Intervirology; (45): 20-23

Wutzler P. (1992):

Herpes simplex-Virus.

In: Diagnostische Bibliothek, Nr.8 und Nr. 9 (Porstmann T., ed) Blackwell Berlin: 22-25

Wutzler P. (2002):

Herpesviren: Herpes-simplex-Virus Typ 1 und 2, Varizella-Zoster-Virus.

In: Doerr H.W., Gerlich W.H. (Hrsg): Medizinische Virologie, 1. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York: 373-378

9. Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 3.1: Aufteilung der Mikrotiterplatte
- Abbildung 3.2: Färbung mit monoklonalen Antikörpern
- Abbildung 4.1: Herkunft der positiven Herpesabstriche
- Abbildung 4.2: Zuordnung der Anzahl der HSV-Isolate zu den einzelnen Abteilungen der Universitätsklinik
- Abbildung 4.3: Herpestypverteilung (HSV1 und HSV2)
- Abbildung 4.4: Verteilung der HSV-Isolate nach Geschlecht der Patienten
- Abbildung 4.5: Anzahl der positiven HSV1 und HSV2 Abstriche in den verschiedenen Altersstufen der Patienten
- Abbildung 4.6: Altersverteilung von HSV1 und HSV2 positiven Isolaten bei Männern
- Abbildung 4.7: Altersverteilung von HSV1 und HSV2 positiven Isolaten bei Frauen
- Abbildung 4.8: Anzahl der positiven Herpesisolate bezogen auf unterschiedliche Körperlokalisationen
- Abbildung 4.9: Anzahl der nachgewiesenen HSV1 und HSV2 positiven Isolate nach den Kriterien Herpestyp und Lokalisation bei Männern
- Abbildung 4.10: Anzahl der nachgewiesenen HSV1 und HSV2 positiven Isolate nach den Kriterien Herpestyp und Lokalisation bei Frauen
- Abbildung 4.11: Anzahl der nachgewiesenen HSV1 und HSV2 positiven Isolate nach den Kriterien Herpestyp und Einsendediagnose der Patienten

10. Tabellenverzeichnis

| | |
|-------------|---|
| Tabelle 1.1 | Übersicht über die humanen Herpesviren |
| Tabelle 4.1 | Zuordnung der nachgewiesenen HSV Typen zur entsprechenden Körperlokalisation bei 61 Patienten mit Zweitbefund |
| Tabelle 4.2 | Darstellung von zehn Patienten mit wiederholtem Herpes simplex Virus-Nachweis |

11. Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. H.W. Doerr (Direktor des Instituts für Medizinische Virologie) danke ich herzlich für die Überlassung des Themas, die vielfältige Förderung und die anregenden Diskussionen.

Frau Dr. med. S. Buxbaum (Institut für Medizinische Virologie) danke ich herzlich für die wertvolle fachliche Betreuung und Beratung und für die Durchsicht des Manuskripts.

Bei Herrn Prof. Dr. med. H. Schöfer (Zentrum der Dermatologie und Venerologie) bedanke ich mich herzlich für die Beratung bei der Konzeption der Untersuchung.

Ebenso danke ich allen Mitarbeitern des Instituts für Medizinische Virologie für ihre mannigfaltige Unterstützung.

Mein besonderer Dank gilt den Mitarbeitern folgender Archive der Universitätsklinik Frankfurt: Zentralarchiv, Dermatologie, Pädiatrie, Gynäkologie und Neurologie.

Ich danke meinen Eltern für jegliche Unterstützung, Oliver Kiel für immer vorhandenen Beistand, besonders bei der Erstellung des Layouts dieser Arbeit, sowie Ellen Kellermann und Ellen Paß für die nie enden wollende Geduld bei der Durchsicht des Manuskripts.

12. Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel: **Epidemiologie des Herpes simplex Virus Typ 1 und Typ 2 in Frankfurt/Main:**

Auswertung Herpes simplex Virus positiver Abstrichisolate

im Zentrum der Hygiene, Institut für Medizinische Virologie, Universitätsklinikum Frankfurt am Main, unter der Leitung von Herrn Professor Dr. med. H.W. Doerr ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät bzw. Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Teile der vorliegenden Arbeit gelangten bereits im Rahmen der folgenden Publikationen zur Veröffentlichung:

Buxbaum S., Geers M., Rabenau H.F., Doerr H.W. (2002):

Epidemiologie der HSV1 und HSV2 Infektionen in Deutschland.

In: Bender H.G., Dall P.(Hrsg.): 54. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York: 415-418

Buxbaum S., Geers M., Gross G., Schöfer H., Rabenau H.F., Doerr H.W. (2003):

Epidemiologie of herpes simplex types 1 and 2 in Germany: what has changed?

Med Microbiol Immunol; (192): 177-181

Buxbaum S., Geers M., Rabenau H.F., Doerr H.W. (2003):

Ubiquitär: Herpes simplex Infektionen, Epidemiologie in Deutschland

Berliner Medizinische Gesellschaft

Symposium Medical, Ausgabe Onkologie/Gynäkologie, 14. Jahrgang: 26-27

Vortrag auf der 3rd European Conference on Viral Disease (ConVir2004):

Epidemiologie der Herpes simplex Viren- Was hat sich geändert?

14.-16.05.2004, Universitätsklinik Regensburg

Frankfurt am Main, 15.07.2005



13. Curriculum Vitae

Name: Geers
Vorname: Michaela
Geburtsdatum: 24.07.1975
Geburtsort: Bramsche
Wohnort: Ginnheimer Landstr. 24, 60487 Frankfurt

Schulausbildung

1982-1986 Grundschole Rieste
1986-1988 Orientierungsstufe Bersenbrück
1988-1995 Gymnasium Bersenbrück
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Berufsausbildung

Oktober 1995-September 1998 Ausbildung als Kinderkrankenschwester,
Kinderhospital Osnabrück

Anstellungen

Oktober 1998 Anstellung als Kinderkrankenschwester,
Kinderhospital Osnabrück
November 1998-März 1999 Anstellung als Kinderkrankenschwester,
Royal Hospital For Sick Children, Glasgow,
Großbritannien
Juli 1999-Juli 2005 Teilzeitanstellung als Kinderkrankenschwester,
Kinderklinik, Klinikum Offenbach GmbH

Studium

Seit April 1999 Medizinstudium Johann Wolfgang Goethe-
Universität, Frankfurt
September 2001 Physikum (Ärztliche Vorprüfung)
September 2002 1.Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
März 2005 2.Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Seit April 2005 Praktisches Jahr im Krankenhaus Nordwest,
Frankfurt/Main und Concord Repatriation
General Hospital, Sydney, Australien

Promotionsarbeit

Januar 2002-Juli 2005

Dissertation am Institut für Medizinische Virologie, Universität Frankfurt/Main, unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. H.W. Doerr.
Thema: Epidemiologie des Herpes simplex Virus Typ 1 und Typ 2 in Frankfurt/Main: Auswertung Herpes simplex Virus positiver Abstrichisolate

Publikationen

September 2002

Buxbaum S., Geers M., Rabenau H.F., Doerr H.W. (2002):
Epidemiologie der HSV1 und HSV2 Infektionen in Deutschland.
In: Bender H.G., Dall P.(Hrsg.): 54. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York: 415-418

August 2003

Buxbaum S., Geers M., Gross G., Schöfer H., Rabenau H.F., Doerr H.W. (2003):
Epidemiologie of herpes simplex types 1 and 2 in Germany: what has changed?
Med Microbiol Immunol; (192): 177-181

September 2003

Buxbaum S., Geers M., Rabenau H.F., Doerr H.W. (2003):
Ubiquitär: Herpes simplex Infektionen, Epidemiologie in Deutschland.
Berliner Medizinische Gesellschaft
Symposium Medical, Ausgabe
Onkologie/Gynäkologie, 14. Jahrgang: 26-27

Frankfurt am Main, 15.07.2005

