

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

**Virale Gastroenteritiden:  
Eine epidemiologische Beobachtungsstudie  
im Zeitraum 2000 – 2008**

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

vorgelegt von  
Bettina Janz  
aus Frankfurt am Main

Frankfurt am Main, 2009

Dekan:	Prof. Dr. J. Pfeilschifter
Referent:	Prof. Dr. H. W. Doerr
Koreferent:	PD Dr. M. Rose
Tag der mündlichen Prüfung:	31.05.2010

## **Danksagung**

Zu Anfang meiner Ausführungen möchte ich gegenüber all jenen meinen Dank aussprechen, die mir während der Arbeit an meiner Doktorarbeit, sei es fachlich, sprachlich oder moralisch, unterstützend zur Seite standen.

Großer Dank gilt hierbei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. H. W. Doerr und meiner Dissertationsbetreuerin Frau Dr. med. Regina Allwinn, die für jegliche Fragen meinerseits stets ein offenes Ohr hatten.

Weiterhin möchte ich mich bei meiner Familie und meinem Freund, sowie vielen nicht namentlich genannten Freunden und der TG-Bornheim, die mich in der Durchführung meiner Doktorarbeit bestärkten und unterstützen, bedanken.

## Inhaltsverzeichnis

1.0 Einleitung	1
1.1 Einführung	1
1.2 Allgemeine Übersicht der Erreger von Gastroenteritiden	3
1.3 Die viralen Gastroenteritiserreger im Überblick	4
1.3.1 Rotaviren	4
1.3.2 Noroviren	10
1.3.3 Adenoviren	15
1.3.4 Astroviren	21
2.0 Material und Methoden	26
2.1 Enzymimmunoassays	26
2.1.1 Schematischer Aufbau des ELISA	27
2.1.2 Übersicht der verwendeten Testkits	28
2.1.2.1 RIDASCREEN® Rotavirus (C0901)	28
2.1.2.2 RIDASCREEN® Adenovirus C(1001)	29
2.1.2.3 RIDASCREEN® Astrovirus (C1301)	29
2.1.2.4 IDEIA™ von DakoCytomation	30
2.2 Schematischer Aufbau der Polymeraseketten-Reaktion	31
2.2.1 PCR „In-house“ Verfahren	32
3.0 Ergebnisse	34
3.1 Allgemeine Übersicht im Zeitraum 06/2000 bis 06/2008	34
3.2 Jahreszeitliche Verteilung der viralen Infektionsraten 06/2000-06/2008	37
3.3 Altersverteilungen des untersuchten Patientenkollektivs	38
3.3.1 Rotaviren	38
3.3.2 Adenoviren	39
3.3.3 Astroviren	40
3.3.4 Noroviren Typ 1	41
3.3.5 Noroviren Typ 2	42

3.4 Geschlechterverteilung	43
4.0 Diskussion	44
4.1 Epidemiologie der Rotaviren	44
4.2 Epidemiologie der Noroviren	50
4.3 Epidemiologie der Adenoviren	57
4.4 Epidemiologie der Astroviren	63
4.5 Anmerkung zur Meldepflicht	70
4.6 Anmerkung zum Infektionsschutzgesetz (IfSG)	71
5.0 Literaturverzeichnis	72
Abkürzungsverzeichnis	86
Quellennachweis	87
Ehrenwörtliche Erklärung	
Lebenslauf	

## **Zusammenfassung**

Hintergrund: Die häufigsten infektiösen Ursachen für Durchfallerkrankungen sowohl im Kindes- als auch im Erwachsenenalter sind viraler Genese. Dabei werden Rota-, Noro-, Adeno- und Astroviren in absteigender Reihenfolge benannt. Die Diagnose der oft nosokomialen Infektionen erfolgt durch Virusnachweis in Stuhlproben.

Material und Methodik: In dieser retrospektiven epidemiologischen Auswertung wurden anhand der Stuhlproben von Gastroenteritispatienten im Zeitraum 2000 – 2008 die Häufigkeitsverteilung der einzelnen Viren sowie saisonale Aspekte untersucht. Bestimmt wurden des Weiteren die Geschlechts- und die Altersverteilung der Patienten. Der überwiegende Anteil der eingesandten Proben entstammte der Universitätsklinik Frankfurt/Main; hinzu kamen Proben von einigen in näherer Umgebung liegenden Gesundheitsämtern, Krankenhäuser und Laborarztpraxen.

Ergebnisse: Die laborchemische Effizienz beträgt ca. 10 – 20 %. In Deutschland ist die winterliche Rotavirusinfektion bei Kleinkindern die häufigste Ursache des Brechdurchfalls. An zweiter Stelle stehen im Wechsel Adeno- und Norovirusinfektionen, während Astrovirusinfektionen in den letzten Jahren selten geworden sind.

Schlussfolgerung: In Übereinstimmung mit neuen Studien aus anderen Regionen wird belegt, dass Noroviren des Typ 2 heute einen wesentlichen Anteil bei der infektiösen Gastroenteritis stellen und – im Unterschied zu Rotaviren – vor allem ältere Menschen betroffen sind.

## Abstract

Viral Gastroenteritis. An Epidemiologic Investigation between the Period 2000 – 2008

Background: The most common causes for diarrhea both in children and adults are of viral genesis. Thereby rota-, noro-, adeno-, and astroviruses are mentioned in descending order. The diagnosis of these frequently nosocomial infections can easily result from virus antigen detection of stool samples.

Material and Methods: In this retrospective epidemiologic survey of annual stool samples of patients with gastroenteritis, the frequency scale of each virus as well as seasonal aspects, the genital arrangement, and age distribution of mainly patients of the University Hospital Frankfurt/Main and some other health institutions in the closer surrounding were analyzed during the period 2000 – 2008.

Results: The proficiency rate of viral investigations amounts to about 10 – 20 %. Similar to previous years, the rotavirus infection poles the most frequent cause of infantile gastroenteritis in Germany. The second place is taken by another adeno- or by norovirus. Astrovirus infections have been seen more rarely in the last years.

Conclusions: In accordance with recent surveys in other regions it is shown that nowadays the main part of infectious gastroenteritis is caused by norovirus type 2 and – in opposition to rotavirus – elderly people are preferentially affected.

## **1.0 Einleitung**

### **1.1 Einführung**

Die virale Gastroenteritis ist die häufigste Ursache für Durchfallerkrankungen und Erbrechen im Kindes- und Erwachsenenalter. Global gesehen, sind Durchfallerkrankungen nach den Herz-Kreislauf-Erkrankungen die zweithäufigste Todesursache, vor allem in Entwicklungsländern, wo 50 % der kindlichen Todesfälle darauf zurückzuführen sind (1-4). In Afrika, Asien und Lateinamerika sterben jährlich mehr als vier Millionen Säuglinge an einer Gastroenteritis, begünstigt durch chronischen Mangel und Unterernährung; und generell kann man festhalten, dass Kinder oft an bis zu 60 Tagen pro Jahr Durchfall haben.

Nach Schätzungen der WHO verursachen allein Rotaviren bei Kindern über 800.000 Todesfälle pro Jahr, vorrangig in Entwicklungsländern (3).

Aber auch in den USA werden jährlich rund 200.000 Kinder unter fünf Jahren wegen einer infektiösen Gastroenteritis ins Krankenhaus eingewiesen.

In den westlichen Industrieländern erkranken Säuglinge und Kinder im Alter von 6 Monaten bis zu 2 Jahren am häufigsten an einer Gastroenteritis. Die wichtigste Therapiestrategie stellt dabei die Flüssigkeits- und Elektrolytsubstitution dar. Gerade Säuglinge und Kleinkinder sind sehr schnell durch Dehydration gefährdet. Ein Erregernachweis gelingt oft nur in schwereren Fällen. Bei viralen Erregern wird dies mittels Antigen-ELISA aus nativen Stuhlproben oder aufwendiger elektronenmikroskopisch (bei Erregern unbekannter Natur) sowie durch Genomnachweis (Polymerase-Kettenreaktion (PCR)), z.B. bei Norovirusinfektionen, durchgeführt. Bei Immunkompetenten ist eine spezifische Erregerdiagnostik normalerweise nicht erforderlich. Jedoch ist bei endemischem Auftreten, nosokomialen Infektionen sowie Erkrankungen von Früh- und Neugeborenen und Säuglingen < 4 Monate der Erregernachweis aus dem Stuhl zwingend.

Die Diagnose einer viral bedingten Gastroenteritis wurde ursprünglich per exclusionem gestellt. Das heißt: Wenn enteropathogene Bakterien nicht nachgewiesen werden konnten, wurde eine virale Genese angenommen. Erst die genaue epidemiologische Erfassung einer nicht bakteriell bedingten Gastroenteritis im Jahre 1968 durch Adler und Zickl (5) und der immunelektronenmikroskopische Nachweis eines infektiösen viralen Agens im Stuhl durch

Kapikian et al. (6) führten zu einem weltweiten Interesse an den viral bedingten Durchfallserkrankungen und zu deren intensiver Erforschung.

Eine Reihe von Viren wird für Gastroenteritiden verantwortlich gemacht. Dazu gehören in erster Linie Rota-, Noro-, Adeno- und Astroviren.

Nebenbefundlich gastrointestinale Symptome können zudem HIV, CMV, Entero- und Herpesviren auslösen. Auch Coxsackievirus A1 wurde in Zusammenhang mit Durchfallerkrankungen gebracht (7).

In der hier vorliegenden epidemiologischen Beobachtungsstudie wurden retrospektiv die häufigsten viralen Erreger von Gastroenteritiden im Zeitraum 2000-2008 aus eingesandten Proben der Universitätsklinik Frankfurt/Main und Umgebung analysiert.

## **1.2 Allgemeine Übersicht der Erreger von Gastroenteritiden**

### **Zu den häufigsten viralen Erregern zählen:**

Noroviren (früher Norwalk-like Viren)

Rotaviren

Adenoviren

Astroviren

### **Häufigste bakterielle Erreger und Toxine:**

Salmonellen (ca. 5-10 % Erreger der Reisediarrhö)

Escherichia coli (EC):

1. Enterotoxinbildende EC (ETEC), ca. 40 % der Fälle; Erreger der Reisediarrhoe
2. Enteropathogene EC (EPEC): Säuglingsdiarrhö
3. Enteroinvasive EC (EIEC): Dysenterische Durchfälle mit Tenesmen und breiigen, evt. blutigen Darmentleerungen
4. Enterohämorrhagische EC (EHEC)
5. Enteroaggregative EC (EAEC)

Campylobacter jejuni

Yersinia enterocolitica

Clostridium difficile: Erreger der antibiotika-assoziierten pseudomembranösen Kolitis (PMC)

Staphylococcus aureus, Bacillus cereus und Clostridium perfringens: Toxinbildner

Shigellen

Vibrio cholerae

### **Protozoen:**

Giardia lamblia

Entamoeba histolytica (Amöbenruhr)

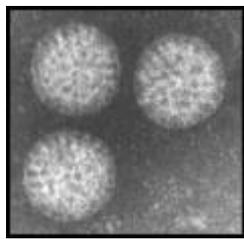
Kryptosporidien (insbes. bei Immunsupprimierten)

### **Pilze**

Candida, Aspergillus

## 1.3 Die viralen Gastroenteritiserreger im Überblick

### 1.3.1 Rotaviren



(Quelle 1)

Rotaviren gehören neben den Norwalkviren zu den ersten viralen Partikeln, die als Erreger einer viralen Gastroenteritis entdeckt wurden.

Bishop et al. untersuchten 1973 (8) Duodenalschleimhaut bei sechs Kindern im Alter von 4 bis 31 Monaten in der akuten Phase einer nicht bakteriell bedingten Durchfallserkrankung. Im Resorptionsepithel der Duodenalschleimhaut wiesen sie elektronenmikroskopisch identische Viren mit einem Durchmesser von ungefähr 75 nm nach. Im gleichen Jahr fanden Flewett et al. (9) bei einem ähnlichen Patientenkollektiv feinstrukturell vergleichbare Viren im Stuhl.

Diese Befunde machten eine virale Genese der beobachteten akuten Durchfallserkrankung sehr wahrscheinlich. Der Beweis wurde später durch die Isolierung des Erregers, seine Anzüchtung in Zellkulturen sowie den Nachweis seiner Pathogenität nach Verabreichung an freiwillige Probanden und Tiere erbracht (10). Anfangs standen nur morphologische Kriterien zur Charakterisierung dieses Virus zur Verfügung, was die präzise taxonomische Einordnung erschwerte. Später aber belegten weitere morphologische, serologische und biochemische Untersuchungen die Zugehörigkeit zur Familie der Reoviridae. Innerhalb der Familie der Reoviridae unterscheidet man die folgenden drei Gattungen: Reoviren, Orbiviren und Rotaviren.

Rotaviren sind mit einem Anteil von 70% die häufigste Ursache für Magen-Darm-Erkrankungen im Kindesalter.

Fast alle Kinder erkranken bis zu einem Alter von 3 Jahren an einer Rotavirus-Infektion. In den westlichen Industrieländern erkranken am häufigsten Säuglinge und Kinder im Alter von 6 Monaten bis zu 2 Jahren. Bis zu einem Alter von 5 Jahren erkrankt nahezu jedes Kind an Rotaviren. Die Ursache hierfür ist eine noch fehlende Immunität gegen diese Viren (12). Im

Laufe der ersten Lebensjahre werden infolge von Kontakten mit Rotaviren zunehmend Antikörper gebildet.

In den Nicht-Industrieländern sind die Rotaviren die Haupttodesursache durch eine Gastroenteritis und tragen maßgeblich zur Mortalität im Kindesalter bei.

Ca. 85% der Todesfälle durch Rotavirusinfektionen ereignen sich in den sog. Entwicklungsländern, aber auch in Deutschland sind Todesfälle bekannt.

Bei Neugeborenen und Kleinkindern sind Rotaviren die Hauptursache nosokomialer Darminfektionen. Ursache hierfür ist die hohe Infektiosität.

### **Morphologie und Taxonomie**

Rotaviren gehören zum Genus Rotavirus der Familie Reoviridae mit einer Größe von 65-76 nm, und ein dreischaliges Kapsid umgibt das RNA-Genom. Die elf doppelsträngigen RNA-Segmente von 0,6 bis 3,3 Kb Länge kodieren für acht virale Strukturproteine, wobei die Genomsegmentierung die Reassortenbildung begünstigt. Man unterscheidet sieben antigene Gruppen (A-G), die durch VP6 (Protein der mittleren Hülle) determiniert werden. Die Gruppe A ist weltweit die wichtigste und wird noch weiter unterteilt in distinkte Sero- und Genotypen. VP7 bestimmt den G-Typ mit aktuell 15 bekannten G-Typen, und VP4 ist für den P-Typ mit 23 Typen bekannt (11).

Elektronenoptisch erscheinen die Rotaviren wie eine Radspeichenstruktur, daher der Name „Rota“ (lat. = Rad).

### **Pathophysiologie**

Die Infektion mit Rotaviren erfolgt peroral. Rotaviren befallen primär das Duodenum und das obere Jejunum mit Aussparung des Magens und Kolons. Makroskopisch zeigen sich fleckförmige Veränderungen, die die Vernichtung der villösen Epithelzellen durch eine Verkürzung der Villi und einer vermehrten Infiltration der Lamina propria mit mononukleären Zellen demonstrieren (12, 13, 14). Primäre pathophysiologische Auswirkungen sind eine erhebliche Verringerung der Darmzottenenzyme, vor allem der Disaccharidasen wie Maltase und Laktase (15). Daraus ergibt sich eine nachweisliche Malabsorption von Laktose und D-Xylose. In Folge der komplexen Zuckermalabsorption resultiert eine osmotische Diarrhoe

(16). Da dies nicht alle Dünndarmabschnitte betrifft, ist die orale Rehydratation erfolgsversprechend (17). Darüber hinaus werden zusätzlich sekretorische Motorneurone des enterischen Nervensystems stimuliert (18).

Die Wiederherstellung der normalen Histologie und damit Funktion der Dünndarmmukosa kann 3 bis 8 Wochen dauern.

### **Krankheitsbild**

Rotaviren führen nach einer Inkubationszeit von 1-3 Tagen zu einer akuten Durchfallserkrankung, wobei das Leitsymptom unblutige, wässrige Durchfälle mit Schleim Beimengungen sind. Leukozyten lassen sich bei etwa einem Drittel der Fälle nachweisen. Fieber, Erbrechen, aber auch Infekte des oberen Respirationstraktes können den gastrointestinalen Symptomen vorausgehen (19, 20, 21). Demnach weisen 30-50 % aller infizierten Kinder pulmonale Symptome auf.

In einem hohen Prozentsatz kommt es bei den Erkrankten zu einer Dehydrierung, eventuell mit einer metabolischen Azidose und Erhöhung des Harnstoffs (22). Ansonsten gibt es keine typischen Laborveränderungen.

Die Prognose ist in der Regel gut. Zu erwähnen ist, dass allein 30 % der Infektionen bei Kindern asymptomatisch verlaufen (23), und viele Patienten einen leichten Verlauf zeigen (24, 25).

### **Diagnostik**

Rotaviren lassen sich durch unterschiedliche Verfahren nachweisen. Hier sind die Elektronenmikroskopie, Virusisolierung (Speziallabor), der direkte Enzymimmuntest und molekularebiologische Untersuchungsverfahren (RT-PCR und Sequenzierung des Amplifikats) zu nennen. Die Elektronenmikroskopie ist nicht Methode der Wahl, da sie hohe Fachkompetenz erfordert und teuer ist. Vielmehr steht der Nachweis eines gruppenspezifischen Antigens des inneren Kapsids aus dem Stuhl mittels Enzymimmunoassay im Vordergrund. Hier handelt es sich üblicherweise um VP6 (26).

Auch die PCR wurde bereits vielfach zum Nachweis eingesetzt (27). Aufgrund des höheren Kostenaufwandes eignet sie sich jedoch auch nicht als flächendeckende Screeningmethode.

## **Therapie**

Die Behandlung der Rotavirusenteritis ist symptomatisch. Sie besteht in der Verhütung und im Ausgleich einer eingetretenen Dehydrierung und Korrektur der Wasser- und Mineralverluste. In leichteren Fällen kann man sich auf die orale Rehydratation mit Reisschleim-Elektrolyt-Lösungen beschränken (28); bei schweren Dehydratationen, z.B. bei mehr als 10 % Gewichtsverlust, ist eine parenterale Flüssigkeits- und Elektrolytsubstitution erforderlich.

## **Prävention**

Rotaviren sind sehr umweltresistent (hohe Tenazität, Säure- und Hitzeresistenz), und es besteht prinzipiell Hospitalismusgefahr. Aufgrund der effizienteren Übertragung des Virus in geschlossenen Räumen, speziell bei trockener Raumluft, ist die Infektionsrate in den Wintermonaten am größten (31).

Über den Stuhl scheiden Erkrankte eine hohe Virusanzahl von mehr als eine Milliarde Viren pro Gramm Stuhl aus. Bereits 10-100 Viruspartikel reichen für eine Infektion bei einem Kind aus.

Rotavirusenteritiden können auf Säuglingsstationen endemisch auftreten. Da es sich um eine hochkontagiöse Erkrankung handelt, ist die sofortige Einleitung hygienischer Maßnahmen wie Kittelpflege, Händedesinfektion, eventuelle Isolierung erkrankter Personen von größter Bedeutung. Zur Desinfektion sind nur Präparate auf der Basis mit nachgewiesener Viruswirksamkeit zulässig, z.B. Chlor und bestimmte Alkohole zur Händedesinfektion.

Seit Februar bzw. Juni 2006 stehen in Deutschland zwei Lebendimpfstoffe gegen Rotaviren zur Verfügung. Eine generelle Empfehlung der Impfung im Säuglingsalter wird derzeit von der Ständigen Impfkommission (STIKO) jedoch nicht empfohlen, wobei sie nach entsprechender individueller Risiko-Nutzen-Abwägung sinnvoll sein kann. Die nachgewiesene Effektivität beider Rotavirusimpfstoffe mit 96-98% ist hoch. Darüber hinaus weisen sie nur geringe unerwünschte Wirkungen auf.

Beide Impfstoffe (Rotarix® von GlaxoSmithKline und RotaTeq® von Sanofi PasteurMSD) werden – je nach Impfstoff in 2 bzw. 3 Dosen – oral verabreicht. Die erste Gabe des Impfstoffs erfolgt ab der 6. Lebenswoche, die letzte Dosis sollte entsprechend des zugelassenen

Impfschemas vor Vollendung der 24. bzw. 26. Lebenswoche verabreicht werden. Der eng umschriebene Zeitraum für eine Immunisierung gegen Rotaviren soll die Gefahr einer Invagination (Darmeinstülpung) minimieren. Invaginationen wurden im Zusammenhang mit der Gabe eines früheren Rotavirusimpfstoffs (Rotashield®) beschrieben, der 1998 in den USA zugelassen war und nach wenigen Monaten wegen der vermehrt beobachteten Invaginationen wieder vom Markt genommen wurde. In den Zulassungsstudien der aktuell in Deutschland zugelassenen Rotavirusimpfstoffe konnte wissenschaftlich valide gezeigt werden, dass das Risiko einer Invagination nach zulassungskonformer Gabe der Impfstoffe im ersten Lebenshalbjahr nicht erhöht ist.

Derzeit wird davon ausgegangen, dass nach einer Grundimmunisierung ein Schutz gegen Rotavirusinfektionen für eine Dauer von 2–3 Jahren besteht.

Die gleichzeitige Gabe mit dem Sechsfach- und Pneumokokken-Konjugatimpfstoff ist bei beiden Impfstoffen möglich.

### **Immunität**

Da es sich bei der Rotavirusinfektion um eine lokale Infektion handelt, bei der sich das Virus nur im Bereich der Eintrittspforte vermehrt, hinterlässt sie keine zuverlässige postinfektiöse Immunität. Die Zellen, in denen das Virus repliziert wird, liegen weitgehend außerhalb der Blutbahn, so dass diese Zellen den humoralen Antikörpern ungenügend ausgesetzt sind.

Reinfektionen sind möglich. Bishop et al (29) fanden in einer prospektiven Studie heraus, dass 55 % der Kleinkinder, die eine Rotavirus-Infektion in der Neonatalperiode durchgemacht hatten, erneut eine solche innerhalb der nächsten drei Jahre erlitten, wenngleich auch mit milderem Verlauf. Symptomlose Ausscheider fungieren oftmals als Überträger. (30, 31, 32 )

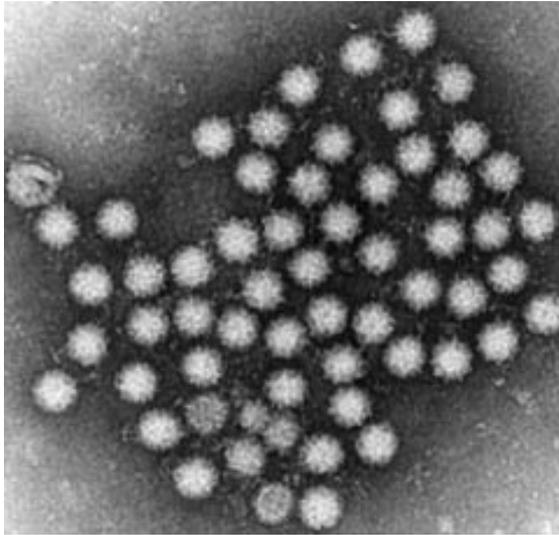
Reinfektionen lassen sich ebenfalls im Erwachsenenalter aufzeigen (33).

Gründe für erneute Infektionen sind auf der einen Seite niedrige Antikörperspiegel als auch der Bestand an unterschiedlichen Serotypen.

## **Meldepflicht**

Nach §7 des Infektionsschutzgesetzes (IfSG) ist der direkte oder indirekte Nachweis von Rotaviren meldepflichtig, sofern der Nachweis auf eine akute Infektion hinweist. Nach §6 Abs. 1 Ziff. 2 IfSG sind Krankheitsverdacht und Erkrankung meldepflichtig, wenn die erkrankte Person eine Tätigkeit im Sinne des §42 ausübt oder wenn zwei oder mehr gleichartige Erkrankungen auftreten, bei denen ein epidemiologischer Zusammenhang wahrscheinlich ist. Treten in Krankenhäusern und anderen Gemeinschaftseinrichtungen gehäuft Rotavirusinfektionen auf, so müssen Infektionsquellen und mögliche Übertragungsfaktoren schnell ermittelt werden und dem Gesundheitsamt gemeldet werden.

### **1.3.2 Noroviren:**



(Quelle 2)

#### **Allgemein**

Noroviren, einst als Norwalk-like Viren bezeichnet, nahmen in den letzten Jahren an Bedeutung zu und sind derzeit die häufigste Ursache akuter epidemischer, nicht-bakterieller Gastroenteritiden beim Menschen (34).

Bekannt ist diese infektiöse Gastroenteritis jedoch seit Jahrzehnten und wurde bereits 1929 als “Winter vomiting disease” bezeichnet (35). Der Name charakterisiert treffend die bevorzugte Saisonalität und klinisch vorherrschende Symptomatik. Da man zunächst keinen damals bekannten bakteriellen oder parasitären Erreger zuordnen konnte, entschloss man sich zur weiteren Diagnostik und Identifizierung zu einer oralen Verabreichung gereinigten Stuhlultrafiltrates (gewonnen aus menschlichem Stuhl erkrankter Patienten) an Freiwillige, welche ebenfalls erkrankten. Daraufhin legte man sich auf eine virale Ursache fest (36), ohne das infektiöse Agens jedoch zunächst weiter identifizieren zu können.

Nachdem es 1968 zu einem Gastroenteritisausbruch in Norwalk, Ohio kam, konnte vier Jahre später das Virus immunelektronenmikroskopisch morphologisch charakterisiert werden. Hier zeigten sich 27-32 nm große Viruspartikel (37, 38), die nach dem Ort des Ausbruches “Norwalk-Virus” genannt wurden. Da den Virionen die typische Morphologie der Caliciviren fehlt, wurden sie zunächst als “small round structured viruses” (SRSV) bezeichnet. 1981 konnte jedoch durch Greenberg gezeigt werden, dass die Proteine des Norwalk-Virus ähnlich denen

anderer Caliciviren sind (39) und 1990 wurde durch Genomuntersuchungen eine Zugehörigkeit bewiesen (40).

Man gab ihnen vorläufig den Namen "Norwalk-like Viren". Seit 2002 wurde der Erreger jedoch in seinen heute bekannten Namen "Noroviren" umbenannt (41).

### **Morphologie und Taxonomie**

Noroviren gehören zur Familie der Caliciviren. Der Name „Calici“ leitet sich von den kelchartigen Einziehungen (lat. calix=Kelch) der Kapsidstruktur ab. Gemäß einer Festsetzung des „International Committee on Taxonomy of Viruses“ (ICTV) wird in die beiden Genera „Norovirus“ und „Sapovirus“ eingeteilt.

Noroviren sind unbehüllt, 30-33 nm groß, enthalten einzelsträngige positive RNA (ss-RNA) und weisen im elektronenmikroskopischen Bild eine sehr unscharfe, runde Struktur auf. Sie besitzen ein ikosaedrisches (zwanzigflächiges) Kapsid mit einer T=3 Symmetrie.

Das einzelsträngige Genom der Noroviren ist etwa 7,3 bis 7,7 kB groß und kann bei Infektion innerhalb einer Zelle durch Rekombination sehr effektiv neue Varianten und Subtypen hervorbringen. Hier besteht ein dem Influenzavirus ähnlicher Antigendrift und Antigen shift.

### **Pathophysiologie**

Nach einer Inkubationszeit von 24-48h kommt es histologisch zu einer reversiblen Zottenatrophie sowie Kryptenhyperplasie im proximalen Jejunum, die Mucosa bleibt jedoch intakt (34). In der Lamina propria kommt es zu mononukleären und polymorphonukleären Leukozyteninfiltrationen. Im Elektronenmikroskop erscheinen die Epithelzellen bei erweitertem Intrazellularraum und verkürzten Mikrovilli intakt. Magen und Rektum sind davon nicht betroffen (42). Diese reversiblen pathophysiologischen Veränderungen bilden sich normalerweise innerhalb von 14 Tagen zurück. In Einzelfällen konnten jedoch noch nach sechs Wochen jejunale Veränderungen beobachtet werden.

Klinisch macht sich das in einer transienten Malabsorption von D-Xylose und Fett (43) sowie in einer verringerten Aktivität der Bürstensaummembranenzyme wie Alkalinphosphatase und

Trehalase bemerkbar (44). Während der akuten Infektion kommt es zu einem noch ungeklärten intestinalen Sekretionsmechanismus, jedoch ohne nachweisbare Enterotoxinproduktion.

Die Norovirus-Infektion ist eine typische nichtentzündliche Dünndarminfektion mit unblutiger, leicht wässriger Diarrhoe ohne Leukozytennachweis im Stuhl.

### **Krankheitsbild**

Die Inkubationszeit reicht von 6–50 Stunden. In der Regel ist das Zeitfenster 24-48h.

Die Erkrankung setzt plötzlich (akut), meist aus völligem Wohlbefinden heraus, mit schwallartigem Erbrechen und starken Durchfällen ein. Innerhalb weniger Stunden kann es dadurch zu einem erheblichen Flüssigkeitsverlust kommen. Übelkeit, abdominelle Schmerzen, Kopfschmerzen und Myalgien sind häufige Begleitsymptomatik. Es besteht meistens ein starkes Krankheitsgefühl.

Erbrechen kommt bei mehr als 50 % der Patienten vor. Charakteristisch ist das explosionsartige Erbrechen (meist nur am ersten Tag), das bereits von Kaplan 1982 im Rahmen der für eine Norovirus-Infektion typischen Kaplan-Kriterien (45) beschrieben wurde.

Das Ausmaß der Durchfälle hält sich mit 4-8 wässrigen Stühlen über 24h meist in Grenzen.

Erhöhte Temperaturen können auftreten. Jedoch kommt es meistens nicht zu hohem Fieber.

Laboruntersuchungen sind nicht richtungsweisend, da üblicherweise normale Blutbild-Konstellationen zu erwarten sind.

Die Infektion ist selbstlimitierend und meist nach 1-2 Tagen überstanden.

Je nach Schwere der Erkrankung kann der Wasserverlust durch das Norovirus ohne therapeutisches Eingreifen in Einzelfällen (vor allem bei Immungeschwächten) jedoch auch zum Tod führen.

### **Diagnostik**

Für den Nachweis stehen kommerziell erhältliche Testkits zur Verfügung. Aus klinischer Sicht besteht bei milden Verläufen oftmals kein Bedarf des Nachweises, jedoch kann aus seuchenhygienischen und epidemiologischen Gesichtspunkten ein Infektionsnachweis sinnvoll sein.

Zum Einsatz kommen hier die direkte Elektronenmikroskopie oder die Immunelektronenmikroskopie (vor allem erfolgreich bei der antigenetischen Charakterisierung (46) sowie die Amplifikation viraler Nukleinsäuren (RT-PCR).

Der Antigen-Nachweis über monoklonale Antikörper mittels Immunoassay ist verfügbar. Diese Methode kam auch in der hier vorliegenden Studie zum Einsatz. Sie wird jedoch aufgrund unterschiedlicher Sensitivität und Spezifität gegenüber den Calici- sowie Astroviren mehr und mehr durch die Nachweismethode der PCR abgelöst. So erfolgte auch in unserem Labor die Umstellung des Antigen-Immunoassays auf PCR-Untersuchungen im Jahr 2006.

Mit Hilfe der RT-PCR-Technik kann man aufgrund der hohen Sensitivität, Noroviren nicht nur im Stuhl, sondern auch in Nahrungsmitteln nachweisen (47).

### **Therapie**

In der Regel reicht eine ambulante Therapie aus und eine stationäre Aufnahme ist nicht erforderlich. Die Therapie erfolgt symptomatisch durch Ausgleich des zum Teil erheblichen Flüssigkeits- und Elektrolytverlustes. Erkrankte Personen sollen in der akuten Phase Bettruhe einhalten und isoliert werden. Bei starkem Erbrechen können Antiemetika verabreicht werden. Eine kausale antivirale Therapie steht nicht zur Verfügung.

Bismutsubsalicylat wirkte bei infizierten Freiwilligen nicht überzeugend: Krämpfe traten seltener auf, Erbrechen und Durchfälle waren jedoch nicht weniger als unter Placebo (48).

### **Prävention**

Erkrankte sind insbesondere während der akuten Erkrankung und mindestens bis zu 48 Stunden nach Sistieren der klinischen Symptome ansteckend. Die Infektiosität ist sehr hoch und die minimale Infektionsdosis liegt bei ca. 10-100 Viruspartikeln. Die Übertragung erfolgt fäkal-oral oder durch die Bildung virushaltiger Aerosole während des Erbrechens. Das erklärt die sehr rasche Infektionsausbreitung innerhalb von Gemeinschaftseinrichtungen.

Die direkte Übertragung von Mensch zu Mensch ist in erster Linie die Ursache für die hohe Zahl an Norovirus-Infektionen. Infektionen können aber auch von kontaminierten Speisen (Salate, Krabben, Muscheln u.a.) oder Getränken (verunreinigtes Wasser!) ausgehen. Ebenso ist eine

Übertragung durch kontaminierte Gegenstände möglich. Sie weisen eine hohe Resistenz gegenüber Umwelteinflüssen auf und überstehen Temperaturschwankungen von -20 bis +60°C. Um einer Infektion und der Verbreitung von Noroviren entgegenzuwirken, müssen hygienische Regeln (wie Händedesinfektion, Tragen von Handschuhen und Schutzkitteln) streng befolgt werden. Da die Ansteckung ebenfalls über kontaminierte Nahrungsmittel und Getränke erfolgen kann, müssen alle Speisen, insbesondere Fisch und Meeresfrüchte, gut durchgegart werden.

Noroviren können in manchen Fällen über 1-2 Wochen, in Ausnahmefällen aber auch über viele Wochen nach einer akuten Erkrankung mit dem Stuhl ausgeschieden, so dass Maßnahmen der Händehygiene auch nach Sistieren der Durchfälle für ca. 2 Wochen durchgeführt werden sollten.

Bei Ausbrüchen wurden auch asymptomatische Virusausscheider beobachtet (49). Immunsupprimierte Personen, beispielsweise nach Organtransplantationen, können chronisch infiziert bleiben (50).

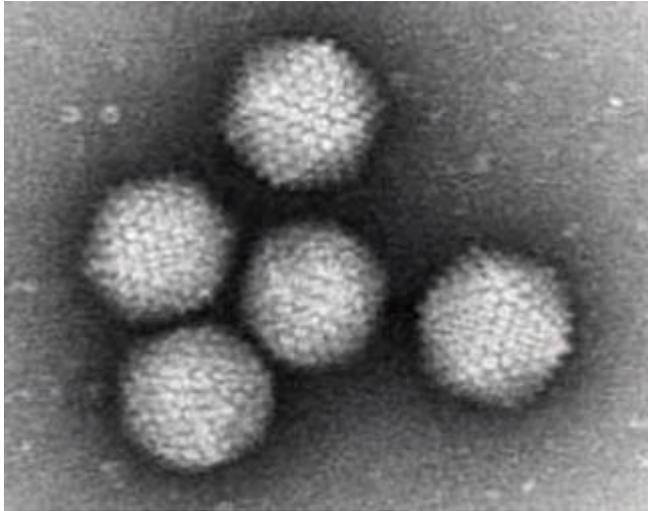
Eine Schutzimpfung steht derzeit noch nicht zur Verfügung.

### **Meldepflicht**

Nach §34 Abs. 1 Infektionsschutzgesetz (IfSG) dürfen Kinder unter 6 Jahren, die an einer infektiösen Gastroenteritis durch Noroviren erkrankt oder dessen verdächtig sind, Gemeinschaftseinrichtungen nicht besuchen.

Für Leiter von Laboratorien ist nach §7 IfSG der direkte Nachweis von Noroviren aus dem Stuhl seit dem 01.01.2001 meldepflichtig. Für Ärzte sind nach §6 IfSG Krankheitsverdacht und Erkrankung an einer akuten infektiösen Gastroenteritis meldepflichtig, wenn die erkrankte Person eine Tätigkeit im Sinne des §42 (z.B. Tätigkeit in Küchen oder Gaststätten) ausübt oder wenn zwei oder mehr gleichartige Erkrankungen auftreten, bei denen ein epidemiologischer Zusammenhang wahrscheinlich ist.

### **1.3.3 Adenoviren**



(Quelle 3)

#### **Allgemein**

Adenoviren (Adenoviridae) wurden erstmalig 1953 von Rowe und Mitarbeitern des American National Institute of Health beschrieben und 20 Jahre nach der Entdeckung der Influenzaviren aus Gewebekulturen des Adenoidgewebes von operierten Kinder mit respiratorischen Infekten nachgewiesen (51, 52, 53). Adenoviren stellten sich somit als Erreger von respiratorischen Infekten heraus, die oft in Kombination mit einer Konjunktivitis oder mit einer Enteritis auftreten (54).

#### **Morphologie und Taxonomie**

Adenoviren sind unbehüllte, ikosaedrische Partikel mit einer Größe von 80 nm. Das Kapsid enthält eine lineare, doppelsträngige DNA mit ca. 35 kb und weist eine ikosaedrische Symmetrie auf. Sie besitzt einen besonderen, die Virusfamilie charakterisierenden Aufbau aus so genannten *Penton*- und *Hexon*-Kapsomeren. Hier sind 12 Pentone und 240 Hexone am Aufbau des Kapsid beteiligt.

Die Pentone befinden sich an den Ecken der ikosaedrischen Symmetrie (an den Achsenpunkten der fünfstrahligen Symmetrieachse), an denen die je nach Spezies unterschiedlich langen Fibern (spikes) ansetzen, die aus Trimeren des glykosylierten Fiberproteins zusammengesetzt sind und den Virionen ihr „satellitenartiges“ Erscheinungsbild geben.

Das Fiberprotein vermittelt die Bindung an die Oberfläche der Wirtszelle und induziert die gruppenspezifischen Antikörper. Einen Nachteil von unbehüllten Viren gegenüber behüllten

können die Adenoviren daher aufgrund der Fiberstruktur umgehen: Eine Anpassung an einen neuen Wirt oder eine neue Zielzelle (und damit an einen neuen Rezeptor) können unbehüllte Viren gewöhnlich nur durch Mutationen ihrer äußersten Kapsidproteine realisieren; diese Mutationen können jedoch zu einer Instabilität des Kapsids oder dem vollständigen Verlust seiner Verpackungsfähigkeit führen. Die Adenoviren haben hingegen die Möglichkeit, neue Varianten allein durch Mutationen der Fiberstrukturen zu entwickeln und das komplexe Kapsid unverändert beizubehalten.

Das Innere (Core) der Adenoviren ist von einem Nukleoproteinkomplex angefüllt, der aus dem doppelsträngigen, linearen DNA-Genom besteht.

Adenoviren werden in zwei Gattungen unterteilt, die Mastadenoviren, die Säugetiere infizieren können und die Aviadenoviren, die in verschiedenen Vogelarten endemisch sind.

Die Subgruppen A-F der Gattung Mastadenovirus umfassen die humanpathogenen Adenoviren. Dabei werden die Subgruppe A mit den Serotypen 40 und 41 sowie die Subgruppe F mit dem Serotyp 31 dem Krankheitsbild der akuten Gastroenteritis zugeordnet.

Es bestehen zudem Gemeinsamkeiten mit anderen Viren. So nutzen die Schwanzfibern vieler Mitglieder der Adenoviridae und das Coxsackievirus B den gleichen Rezeptor CAR (Coxsackie-Adenovirus-Rezeptor) zur Erkennung von Zielzellen. Darüber hinaus haben die adenoviralen Schwanzfibern strukturelle Ähnlichkeiten mit einem Anheftungsprotein innerhalb der *Reoviridae*.

In der Geschichte der Molekularbiologie spielen die Adenoviridae eine bedeutende Rolle, da bei ihnen 1977 ein grundlegender Prozess der Genexpression entdeckt wurde. In der Gentechnik und der virologischen Forschung sind Adenoviren für das Einschleusen von DNA in Zellen und Organismen als gentechnische Vektoren von gewisser Bedeutung (z.B. Gentherapie der zystischen Fibrose) (52).

## **Pathophysiologie**

Adenovirusinfektionen werden vor allem durch Tröpfchen- oder Schmierinfektionen von Mensch zu Mensch übertragen (55). Eintrittspforte sind die Konjunktiven sowie die Schleimhäute des Nasopharynx. Adenoviren sind so genannte lytische DNA-Viren, d.h. sie vermehren sich in der Zelle, ohne eine Virämie zu veranlassen, führen primär zur Zelldegeneration und sekundär zu allgemeinen Entzündungserscheinungen der Schleimhäute (56, 57).

Die serotypischen unterschiedlichen klinischen Manifestationen sind weitgehend noch ungeklärt. Wahrscheinlich führen die bei der rezeptorvermittelten Endozytose erforderlichen unterschiedlichen viralen Proteine zu unterschiedlichen klinischen Manifestationen (58)

## **Krankheitsbild:**

Adenoviren können alle Schleimhäute des Organismus infizieren; Zielzellen sind hauptsächlich Epithelzellen. Sie rufen die unterschiedlichsten Krankheitsbilder hervor, wobei in absteigender Reihenfolge Erkrankungen des Respirationstrakts (Pharyngitiden, Tonsillitiden, Bronchitiden, Pneumonien), Gastroenteritiden und die hochkontagiöse Keratoconjunctivitis epidemica vorherrschen.

Mit akuten Gastroenteritiden werden Adenovirus Typ 1, 2, 5, 40 und 41 in Verbindung gebracht. Die Übertragung erfolgt fäkal-oral und über Aerosole. Dabei besteht eine Inkubationszeit für Darminfektionen von acht bis zehn Tagen. Die Durchfälle sind wässrig und enthalten kein Blut. Meist sistieren sie nach sieben bis acht Tagen (59). Die Ausscheidung der Viren im Stuhl beträgt sieben bis vierzehn Tage.

Schwere Dehydrierungen kommen selten vor.

Bei 80% der Fälle tritt Erbrechen ein bis zwei Tage nach den Durchfällen auf. Das Erbrechen ist meist milde und dauert nicht länger als zwei Tage. Fieber tritt bei einem hohen Prozentsatz für zwei bis drei Tage auf.

Des Weiteren treten die Durchfälle wie bereits erwähnt oft mit respiratorischen Symptomen zusammen auf.

Aufgrund der hohen Infektiosität der Adenoviren (60) stellen sie vor allem bei Immunsupprimierten ein erhebliches Risiko dar. Als Beispiele seien die Adenovirushepatitis bei Kindern nach Lebertransplantation oder die Adenozystitis/Kolitis bei AIDS-Patienten bis hin zur Sepsis bei Knochenmarktransplantierten (1, 2) zu nennen.

### **Diagnostik**

Vorab ist zu berücksichtigen, dass es auch längere Zeit nach einer Erkrankung zu intermittierenden Virusausscheidungen kommen kann. Geeignet sind Materialien wie Rektalabstriche und Darmbiopsien. Die Viruskultur ist hochsensitiv und spezifisch. Ein zu erwartender zytopathischer Effekt tritt jedoch bei den für Durchfallerkrankungen am meisten zu erwartenden Serotypen 40 und 41 in humanen Zelllinien nicht auf.

Deshalb ist bei Gastroenteritiden die Untersuchung des Stuhls mittels Enzymimmunoassay (EIA) die Methode der Wahl, der gerade für den Nachweis der Serotypen 40 und 41 besonders gut geeignet ist (61).

Eine Serotypisierung kann dann entweder mittels Hämagglutination oder auch durch Restriktions-Endonuklease-Analyse erfolgen.

Die Polymerasekettenreaktion (PCR) ist ebenfalls eine hochsensitive und spezifische Methode. Durch unterschiedliche Primer können Serotypen direkt identifiziert werden (62).

Die Elektronenmikroskopie stellt eine weitere diagnostische Methode dar.

Adenoviren aus Gewebebiopsien verursachen charakteristische intranukleäre Einschlüsse, die bei früher Infektion eosinophil und später basophil imponieren.

Eine weitere Methode ist der serologische Nachweis von adenoviruspezifischen Antikörpern (KBR oder ELISA). Hier ist jedoch nur durch wiederholte Untersuchungen und ein mindestens 4-facher Titeranstieg aufgrund der hohen Antikörperprävalenz in der Bevölkerung und vielzählige Kreuzreaktionen eine Aussage zu treffen.

### **Therapie**

Die Therapie beschränkt sich auf symptomatische Maßnahmen. Bei Affektionen des Respirationstraktes sind bakterielle Superinfektionen mit Antibiotika zu behandeln, bei den Gastroenteritiden steht die orale Rehydrierung im Vordergrund.

Eine wirksame antivirale Chemotherapie gegen Adenoviren konnte bisher nicht gefunden werden, wenngleich verschiedene Substanzen (z.B. Ganciclovir, Ribavirin und Vidarabin) in vitro antivirale Aktivität zeigten. In vivo bestätigte sich dies leider nicht, obwohl in Einzelfällen in Kombination mit Immunglobulinen von Behandlungserfolgen berichtet wurde. (63). Auch der Einsatz von Cidofovir wurde kontrovers diskutiert. Einige Patienten konnten mit Erfolg behandelt werden. Gleichzeitig traten aber auch cidofovirresistente Virusisolate auf (64).

## **Prävention**

Hygienemaßnahmen bilden auch hier die Basis zur Vorbeugung gegen die Infektionsausbreitung. Insbesondere ist die Trinkwasserhygiene zu berücksichtigen.

Dabei ist zu beachten, dass sie eine hohe Stabilität gegenüber chemischen und physikalischen Einwirkungen kennzeichnet. Sie tolerieren extreme pH-Werte sowie alkoholische Desinfektionsmittel. Bei Erwärmung auf 56°C für 10 min. werden sie jedoch vollständig inaktiviert.

Akut erkrankte Patienten sollen Gemeinschaftseinrichtungen nicht besuchen bzw. im Krankenhaus isoliert werden. An die Möglichkeit einer länger andauernden Virusausscheidung sollte unbedingt gedacht werden.

Die Verwendung von Einmalhandschuhen sollte obligat sein.

## **Immunität**

Nach einer Adenovirusinfektion entwickeln sich serotypenspezifische neutralisierende Antikörper, die nur gegen diese Serotypen schützen und nicht kreuzreagieren.

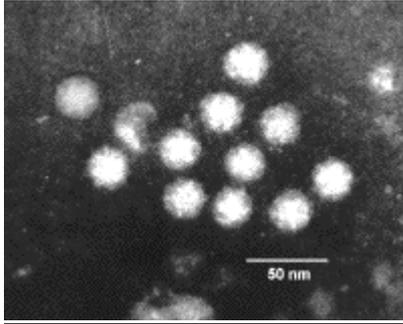
Für die Serotypen 4 und 7 wurden Impfstoffe entwickelt, die allerdings nur zur Prävention schwerer Atemwegsinfektionen bei Rekruten der US-Streitkräfte eingesetzt wurden (65).

Nachdem die Impfung wieder eingestellt wurde, kam es erneut zu Infektionsausbrüchen, was die effektive Wirksamkeit noch nachträglich bewies. Aufgrund eines zu engen Spektrums der Vakzine konnte es jedoch nicht für die breitere Bevölkerungsschicht eingesetzt werden, so dass die Produktion eingestellt wurde.

## **Meldepflicht**

Nach § 7 (1) IfSG ist nur der direkte Nachweis von Adenoviren im Konjunktivalabstrich meldepflichtig. (In einigen Bundesländern ist die epidemische Keratokonjunktivitis als klinisches Bild meldepflichtig.) Nach § 6 (3) IfSG ist dem Gesundheitsamt unverzüglich das gehäufte Auftreten nosokomialer Infektionen, bei denen ein epidemiologischer Zusammenhang wahrscheinlich ist oder vermutet wird, als Ausbruch nichtnamentlich zu melden.

### 1.3.4 Astroviren



(Quelle 4)

### Allgemein

1975 berichteten zwei voneinander unabhängige Arbeitsgruppen über neuartige Erreger viraler Gastroenteritiden. Elektronenmikroskopisch zeigten sich Viruspartikel, die sich morphologisch weder als Rota-, noch als Noroviren klassifizieren ließen und aus dem Probenmaterial durchfallerkrankter Säuglinge stammten. Eine erste Veröffentlichung erfolgte hier durch Appleton aus London (66).

Nur kurze Zeit später beschrieben Madeley und Cosgrove “small round structured viruses” mit einer Größe von 28 nm, die sie im Stuhl schottischer Säuglinge und Kleinkinder entdeckten. Durch weitere Untersuchungen konnten die in London detektierten Viren ebenfalls als humane Astroviren verifiziert werden (66).

Während der ersten 15 Jahre stellte die Elektronenmikroskopie von Stuhlproben die einzige Möglichkeit der Diagnostik dar. Aufgrund der geringen Sensitivität dieser Untersuchungsmethode wurden sie als Erreger in ihrer Bedeutung als Ursache viraler Gastroenteritiden erheblich unterschätzt und nur gelegentlich detektiert (<1 % der untersuchten Proben) und galten somit als selten (67).

Im Gegensatz dazu standen die Resultate seroepidemiologischer Studien. Bei einer Untersuchung von 87 Kindern in Großbritannien konnten Kurtz und Lee bei 7% der 6–12 Monate alten Kinder Antikörper gegen Astroviren nachweisen. 75% der untersuchten Zehnjährigen wiesen Antikörper auf, ebenso 77% der jungen Erwachsenen (68). Der frühe Erwerb von Antikörpern sowie ihre hohe Prävalenz warfen die Frage auf, ob Astroviren eine Vielzahl asymptomatisch verlaufender Infektionen hervorrufen, oder ob die Elektronenmikroskopie als Nachweismethode unzureichend war (67).

Weitere Fortschritte auf dem Gebiet der Diagnostik führten zum tiefgreifenden Wandel des epidemiologischen Verständnisses der Prävalenz von Astroviren. Zwischen 1977 und 1981 etablierten Lee und Kurtz eine Methode zur Kultivierung von Astroviren in Affennierenzellen (69). Die erfolgreiche Virusanzucht ermöglichte die Herstellung spezifischer Kaninchen-Antisera, die in der Immun-Elektronenmikroskopie eingesetzt werden können.

Unter Verwendung kultivierter Virusstämme stellten Herrmann et al. monoklonale spezifische Antikörper her und entwickelten darauf aufbauend einen einfach durchzuführenden Enzym-Immuno-Assay (EIA), dessen Nachweisgrenze erheblich unter der der Elektronenmikroskopie lag (67, 70).

Untersuchungen von Gastroenteritisgeschehen unter immunsupprimierten Patienten ergaben ebenfalls höhere Astrovirusprävalenzen als dies bisher angenommen worden war (71).

### **Morphologie und Taxonomie**

Morphologisch sind Astroviren ikosaedrische Partikel mit einem Durchmesser von 28-30 nm und gehören zu der neu definierten Familie der Astroviridae von humanen und animalen Spezies (72). Circa 10 % der Partikel wiesen eine charakteristische sternförmige Oberfläche auf und wurden daraufhin als Astroviren (griechisch astron = Stern) getauft (73).

Durch die erfolgreiche Anzucht in Affennierenzellen (siehe oben) und die daraufhin entwickelten spezifischen Kaninchen-Antisera konnte man verschiedene Serotypen untergliedern. Mittlerweile sind acht Serotypen bekannt (74).

Der erfolgreiche Einsatz molekularbiologischer Techniken führte zur Ermittlung der Totalsequenzen von zwei Isolaten des Serotyps 1 sowie jeweils eines Isolats der Serotypen 2 und 8 (75). Es zeigte sich, dass Astroviren über eine Genomorganisation verfügen, die zwar der Genomorganisation der Caliciviren ähnelt, jedoch in der Größe und Zahl der codierten Proteine sowie in der Translationsstrategie ausgeprägte Unterschiede aufweist.

Konsequenz war die Klassifikation der Astroviren in eine neue Familie, die *Astroviridae*, in der das *Astrovirus* das einzige Genus darstellt (76).

Das Genom des humanen Astrovirus besteht aus einer einzelsträngigen RNA positiver Polarität (ss(+) RNA) mit einer Länge von ca. 6,8 Kilobasen (kb), deren 3'-Ende polyadenyliert ist. Die in

den Viruspartikeln enthaltene RNA ist bei direkter Transmission in permissive Zellen infektiös (77).

Nach der Infektion von Zielzellen können zwei virusspezifische RNA-Populationen nachgewiesen werden. Bei der einen Population handelt es sich um genomische RNA kompletter Länge (6,8 kb), bei der anderen um subgenomische RNA mit einer Länge 2,8 kb (78).

Es sind vier Gesamtgenomsequenzen von drei der bisher beschriebenen acht Serotypen bekannt. Genom- und ORF-Längen (ORF=*open reading frame*) variieren in Abhängigkeit vom Serotyp und vom Herkunftsort des Virus, der prinzipielle Genomaufbau ist jedoch bei allen publizierten Gesamtsequenzen gleich.

Das Astrovirus-Genom besteht aus drei sequentiellen, einander überlappenden offenen Leserastern, die als ORF 1a, ORF 1b und ORF 2 bezeichnet werden.

### **Pathophysiologie**

Nach oraler Aufnahme passieren die säurestabilen Viren Magen und Zwölffingerdarm und erreichen den Dünndarm, wo sie sich im Mukosaepithel vermehren (79). Die Absorption der Viren erfolgt vermutlich über einen zellulären Rezeptor und die Replikation findet im Zytoplasma der Zellen statt.

Im Tierexperiment zeigt sich ein direkt zytopathogener Effekt auf reife Enterozyten und subepitheliale Makrophagen, der vorübergehend in einer Atrophie der Villi und Hypertrophie der Krypten resultiert (79). Dieser Mechanismus bewirkt eine Ausscheidung von Stühlen niedriger Konsistenz, und somit das Auftreten von Durchfällen (sekretorische Diarrhoe).

### **Krankheitsbild**

Das klinische Bild symptomatischer Astrovirus-Infektionen ähnelt dem der Rotavirus-assoziierten Gastroenteritiden, doch ist ihr Verlauf im Allgemeinen milder (79).

Die Durchseuchung wird bereits im Alter von 5 Jahren mit 70 % beschrieben (80).

Nach einer Inkubation von drei bis vier Tagen treten die wässrigen Durchfälle auf mit einer täglichen Frequenz von etwa zwei bis sechs Mal (81).

In der Regel hält die Infektion zwei bis drei Tage an und kann von Fieber, Erbrechen und abdominalen Schmerzen begleitet sein. In schweren - jedoch seltenen - Fällen kann es zu ernstern Dehydratationen und einer metabolischen Azidose kommen (82).

Normalerweise ist die Erkrankung selbstlimitierend, kann aber bei Immunsupprimierten bis zu sechs Wochen anhalten.

Berichte über Astrovirus-Infektionen mit Todesfolge sind extrem selten (82).

### **Diagnostik**

Neben der aufwendigen Elektronenmikroskopie erfolgt der Nachweis heute generell über Antigentests auf Enzymimmunoassay (EIA)-Basis, der alle 7 Serotypen erkennen lässt.

Prinzipiell ist auch der Nachweis durch die RT-PCR möglich (83).

### **Therapie**

Wie bei den zuvor beschriebenen viralen Gastroenteritiden ist auch hier keine spezifische Therapie angezeigt. Eine symptomatische Therapie mit oraler Rehydrierung, in schwereren Fällen auch intravenös, stellt die hauptsächliche Strategie dar.

Bemerkenswerterweise ließ sich die ernste Symptomatik einer Astrovirus-Infektion bei einem Patienten mit M. Waldenström (einem Immunozytom, welches zu den niedrigmalignen B-Zell-Lymphomen zählt) durch intravenöse Gabe von Gammaglobulinen innerhalb von 24 Stunden beenden (84). Die orale Verabreichung humaner Astrovirus-spezifischer IgG-Antikörper führte hingegen zu keiner signifikanten Besserung der Durchfälle bei knochenmarkstransplantierten Kindern (81).

## **Prävention**

Auch hier gelten Hygienevorschriften zur Vermeidung weiterer Ansteckungen durch Astroviren als Hauptpfeiler der Prävention. Dies gilt insbesondere für öffentliche Einrichtungen wie Kindergärten.

Des Weiteren wurden Nahrungsmittel wie Muscheln mit der Verbreitung von Astrovirusinfektionen in Zusammenhang gebracht. Hier sollte eine sorgfältige Auswahl getroffen oder im Zweifelsfall auf den Genuss solcher Lebensmittel verzichtet werden.

Da die Viren gegenüber üblichen Desinfektionsmitteln auf der Basis von Alkohol und Äther zumeist unempfindlich sind und normales Händewaschen nicht zu einer effizienten Elimination der Erreger führt, sollten auch hier Einmalhandschuhe obligat sein.

Die Entwicklung eines wirksamen Impfstoffes steht derzeit noch aus.

## **Meldepflicht**

In Hessen besteht keine Meldepflicht bei einer Astrovirusinfektion.

## **2.0 Material und Methoden**

Die virologische Testung erfolgte bei Rota-, Adeno- und Astroviren von 2000-2008 mittels kommerziell verfügbarer Antigen-ELISAs. Die Enzymimmunoassays dienen dem qualitativen Nachweis der Erreger aus Stuhlproben. Dazu standen Testkits der Firma R-Biopharm AG zur Verfügung. Es handelte sich um die Antigen-ELISAs Ridascreen® Adenovirus (C 1001), Astrovirus (C1301) und Rotavirus (C0901). Für Norovirus Typ 1 und 2 stand ab 2002 (bis 2006) das Testkit IDEIA™ von DakoCytomation zur Verfügung. 2000-2001 waren für Noroviren noch keine kommerziellen Testkits erhältlich, so dass hier keine Daten zur Verfügung stehen. Ab 2006 wurden die Antigen-ELISA-Testkits zum Nachweis der Noroviren durch die Screeningmethode der PCR (Polymerase-Ketten-Reaktion) abgelöst. Die Tests wurden gemäß Herstellerangaben durchgeführt. Die Patientenproben mit dem klinischen Bild einer Gastroenteritis wurden hauptsächlich aus dem Universitätsklinikum Frankfurt/Main, mit einem Überwiegen der Kinderklinik, eingesandt. Ein nur geringer Anteil (ca. 15 %) der Untersuchungsaufträge kam aus externen Einrichtungen wie z.B. Gesundheitsämtern oder Kliniken.

## **2.1 Enzymimmunoassays**

Bekannt sind Enzymimmunoassays unter dem Namen Enzymgekoppelter Immunadsorptionstest (EIA) bzw. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Mittels dieser Testverfahren können nicht nur Viren, sondern auch komplexere Proteine oder niedermolekulare Verbindungen wie Toxine oder Hormone in Proben nachgewiesen werden. Hier bieten sich Blutseren, Stuhl oder Urin an. Bei V.a. Gastroenteritiden dienen Stuhlproben als Untersuchungsmaterial.

Im Gegensatz zum Radioimmunoassay (RIA), der auch zur Gruppe der Immunassay-Verfahren gehört, basieren sie nicht auf einer Radioaktivitätsmessung, sondern auf einer enzymatischen Farbreaktion. Dabei bindet ein spezifischer Antikörper an einen nachzuweisenden Stoff (Antigen). Dabei können Antikörper als auch Antigen zuvor mit einem Enzym markiert werden, welches als Katalysator dient. Üblicherweise erfolgt bei der Substratumsetzung ein Farbumschlag, Fluoreszenz. Die Signalstärke korreliert im Allgemeinen mit der Antigenkonzentration, so dass ELISA (bzw. EIA) sowohl qualitativ als auch quantitativ zu bewerten sind.

### 2.1.1 Schematischer Aufbau des ELISA

Es gibt unterschiedliche ELISA-Techniken. Häufig ist der so genannte **Sandwich-ELISA**, der auf zwei Antikörpern basiert, die beide an das nachzuweisende Antigen binden. Dabei binden die Antikörper an unterschiedlichen Stellen. Der erste Antikörper, auch coating-Antikörper genannt, ist meistens an einer festen Phase (Mikrotiterplatte) gebunden. Die Probe mit dem nachzuweisenden Antigen wird eine zeitlang inkubiert. Dabei bindet der an die Platte gebundene Antikörper das in der Probe vorhandene Antigen. Als nächster Schritt wird die Platte gewaschen und ungebundene Anteile entfernt. Zurück bleibt nur der coating gebundene Anteil. Jetzt folgt der zweite, so genannte Detektionsantikörper, der an ein Enzym (Peroxidase, Alkalische Phosphatase oder selten Glukoseoxidase) gebunden ist. Dieser bindet ebenfalls an das Antigen und es entsteht ein Antikörper-Antigen-Antikörper Komplex (daher der Name Sandwich). Durch erneutes Waschen der Platte wird der überschüssige zweite Antikörper ausgewaschen und dann ein zum Enzym passendes Substrat (Chromogen) hinzugegeben. Hierauf erfolgt als Nachweis der Substratumsetzung ein Farbumschlag. Im Falle von alkalischer Phosphatase wird als Chromogen z.B. *p*-Nitrophenylphosphat (pNPP) zugegeben. Die alkalische Phosphatase spaltet den Phosphatrest vom farblosen Nitrophenylphosphat ab und es entsteht *p*-Nitrophenol, welches schwach gelb ist. Diese Reaktion kann in einem Photometer verfolgt werden. Die Intensität der Farbe ist dabei proportional zu der Konzentration des entstandenen Nitrophenols und damit auch der Konzentration des zu bestimmenden Antigens in der Probe.

Häufig wird jedoch auch der **kompetitive Immunoassay** angewendet. Hierbei wird kein markierter Antikörper verwendet, sondern ein markiertes Kompetitor-Antigen (eine synthetische Verbindung, die dem Analyten strukturell ähnlich ist und auch am Antikörper bindet). So kommt es zur **Kompetition (Konkurrenz)** zwischen Analyt und Kompetitor um einen Bindungsplatz am Antikörper. Das Signal ist hier indirekt und nicht direkt proportional zur Analyt-Konzentration. Dieses Verfahren kam in der hier vorliegenden Studie jedoch nicht zum Einsatz.

## 2.1.2 Übersicht der verwendeten Testkits

### 2.1.2.1 RIDASCREEN® Rotavirus (C0901)

Format: 96-Well-Mikrotiterplatte (12 Streifen mit je 8 brechbaren Kavitäten)

Inkubationszeit: 75 min

Sensitivität: Verglichen mit EM 100,0%

Spezifität: Verglichen mit EM 99,7%

Positiv prädiktiver Wert: 93,3%

Negativ prädiktiver Wert: 100,0%

Im RIDASCREEN® Test werden monoklonale Antikörper nach dem Sandwich-Verfahren eingesetzt. An der Oberfläche der Vertiefung der Mikrotiterplatte ist ein monoklonaler Antikörper gebunden. Im Fall von Rotaviren gegen das Produkt des 6. viralen Gens (VP6). Dabei handelt es sich um ein gruppenspezifisches Antigen, das bei allen humanpathogenen Rotaviren vorkommt. Eine Suspension der zu untersuchenden Stuhlprobe wird zusammen mit einem weiteren monoklonalen Rotavirus-Antikörper, der mit Meerrettich-Peroxidase konjugiert ist, zur Inkubation in die Vertiefung der Mikrotiterplatte pipettiert. Bei Anwesenheit von Rotaviren bildet sich ein Sandwich-Komplex aus dem immobilisierten Antikörper, dem Rotavirus-Antigen und dem konjugierten Antikörper. Nicht gebundene enzymmarkierte Antikörper werden in einem weiteren Waschschrift entfernt. Nach der Zugabe von Substrat wandelt gebundenes Enzym bei positiven Proben die farblose Lösung in den Vertiefungen der Mikrotiterplatte in eine blaue Lösung um. Durch Zugabe von Stopp-Reagenz erfolgt ein Farbumschlag von blau nach gelb. Die Extinktion ist proportional zur Konzentration des in der Probe vorhandenen Rotavirus-Antigens. Dabei werden solche Proben als positiv bewertet, deren Extinktionswert mehr als 10 % über dem errechneten Grenzwert liegt. Bei grenzwertigen Proben, deren Extinktionswert im Bereich von 10 % oberhalb und unterhalb des Grenzwertes liegt, erfolgt eine Wiederholungsuntersuchung mit einer frischen Stuhlprobe. Fällt sie wieder in den Graubereich, so ist sie als negativ zu werten. Proben, die mehr als 10 % unter dem Grenzwert liegen, sind definitiv als negativ zu bewerten. Alle Reagenzien sind bei 2-8 °C zu lagern und vor direktem Lichteinfluss zu schützen. Die Testdurchführung erfolgt jedoch erst nach Erwärmung auf Raumtemperatur. Zur Qualitätskontrolle erfolgt zusätzlich zur untersuchenden Probe eine mit im Set enthaltene

Positiv- sowie Negativkontrolle.

Des Weiteren ist auf eine ausreichende Stuhlmenge von mindestens 100 mg zu achten. Dies ist insbesondere wichtig bei rektalen Abstrichen.

#### 2.1.2.2 RIDASCREEN® Adenovirus C(1001)

Format: 96-Well-Mikrotiterplatte (12 Streifen mit je 8 brechbaren Kavitäten)

Inkubationszeit: 75min

Sensitivität: Vergleich mit PCR 72,7%

Spezifität: Vergleich mit PCR 100,0%

Positiv prädiktiver Wert: 100,0%

Negativ prädiktiver Wert: 82,4%

Analog zum RIDASCREEN® Test auf Rotaviren erfolgt der RIDASCREEN® Test auf Adenoviren. Die im RIDASCREEN® Adenovirus verwendeten monoklonalen Antikörper sind gegen das für Adenoviren spezifische Protein Hexon gerichtet und erfassen dadurch sowohl die enteralen Typen 40/41 als auch die meisten anderen Typen, die für Infektionen des Auges oder des Respirationstraktes verantwortlich sind.

#### 2.1.2.3 RIDASCREEN® Astrovirus (C1301)

Format: 96-Well-Mikrotiterplatte (12 Streifen mit je 8 brechbaren Kavitäten)

Inkubationszeit: 75 min

Sensitivität: Verglichen mit RT-PCR 89,2%

Spezifität: Verglichen mit RT-PCR 87,3%

Positiv prädiktiver Wert: 82,5%

Negativ prädiktiver Wert: 92,3%

Der RIDASCREEN® Test auf Astroviren basiert ebenfalls auf einem Sandwich-ELISA-Verfahren, analog den oben beschriebenen Verfahren. Die monoklonalen Antikörper erfassen hierbei alle bekannten Astrovirus-Serotypen.

#### 2.1.2.4 IDEIA™ von DakoCytomation

Der IDEIA™ Norovirus-Test ist ein qualitativer Enzymimmunoassay für den simultanen Nachweis von Noroviren der Genogruppe 1 und 2 aus humanen Stuhlproben.

Das Testkit umfasst spezifische monoklonale Antikörper, die sowohl in Genogruppe 1 als auch 2 unterschiedliche Genotypen detektieren. Dazu gehören in Genogruppe 1 die Typen 1-6 und in Genogruppe 2 die Typen 1-7.

Wie bereits weiter oben beschrieben, arbeitet auch dieser Test als Enzymimmunoassay nach dem Sandwich-Verfahren. An der Oberfläche der Vertiefung der Mikrotiterplatte sind polyklonale Antikörper gegen das Norovirus-Genogruppe 1 bzw. 2 gebunden. Die unterschiedlichen Genotypen der Gruppen 1 und 2 werden durch das Verfahren jedoch nicht differenziert.

Die Probe wird zusammen mit einem weiteren polyklonalen Antikörper, der mit Meerrettich-Peroxidase konjugiert ist, zur Inkubation in die Vertiefung der Mikrotiterplatte pipettiert. Nach einem Waschschriff mit einer Inkubationszeit von 120 Minuten, der nicht gebundene enzymmarkierte Antikörper entfernt, erfolgt die Zugabe von Chromogen, der bei positiven Proben die farblose Lösung in eine blaue umwandelt. Durch Zugabe von Stopp-Reagenz nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten erfolgt ein Farbumschlag von blau nach gelb. Die Auswertung erfolgt photometrisch bei einer Wellenlänge von 450 nm und einer Referenzwellenlänge von 630 nm. Die Extinktion ist proportional zur Konzentration des in der Probe vorhandenen Virusantigens.

Das Testverfahren erfolgt optimalerweise bei Raumtemperatur.

Die zu untersuchenden Proben können vor dem Testen 3 Tage lang bei 2-8°C aufbewahrt werden. Die Transportzeit sollte jedoch unter 24 Stunden liegen.

Zur langfristigen Lagerung können die Fäkalproben bei -20°C aufbewahrt werden.

Als Mindeststuhlprobenmenge wird eine ca. erbsgroße Menge benötigt. Der Mindest-Probeneinsatz beträgt je 100 µl Stuhlaufschwemmung.

## **2.2 Schematischer Aufbau der Polymeraseketten-Reaktion (PCR)**

Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) ist eine Methode, um eine Erbsubstanz (DNA) in vitro zu vervielfältigen. Sie ist vielfältig einsetzbar. So z.B. zur Erkennung von Erbkrankheiten, Virusinfektionen, zur Erstellung genetischer Fingerabdrücke oder das Klonieren von Genen.

1983 gelang es Kary Mullis, ein neuartiges DNA-Syntheseverfahren zu entwickeln, das DNA durch wiederholte Verdopplung in mehreren Zyklen mit Hilfe eines Enzyms namens DNA-Polymerase künstlich vervielfältigt. Im Gegensatz zu lebenden Organismen kann der PCR-Prozess nur relativ kurze DNA Abschnitte kopieren. Bei einer Standard PCR können dies bis zu 3000 Basenpaare sein.

Der PCR-Prozess besteht aus einer Anzahl von ca. 12-50 Zyklen, die in einem Thermocycler durchgeführt werden. Jeder Zyklus besteht aus drei Schritten:

1) Denaturierung (Melting, Schmelzen): Hierbei wird die doppelsträngige DNA auf 90-95°C erhitzt, um die Stränge zu trennen. Das Prinzip liegt in der Spaltung der Wasserstoffbrückenbindungen, die die beiden DNA Stränge zusammenhalten

2) Primerhybridisierung (primer annealing): Die Temperatur wird ca. 30 Sekunden lang auf einer Temperatur gehalten, die eine spezifische Anlagerung der Primer an die DNA erlaubt. Die genaue Temperatur wird hierbei durch die Länge und die Sequenz der Primer bestimmt. Schon kleine Temperaturabweichungen können zu ineffizienten oder unspezifischen Produktbanden führen.

Diese optimale Temperatur liegt normalerweise 2–3 °C unter dem Schmelzpunkt der Primersequenzen und entspricht einer Temperatur von 55–65 °C.

3) Elongation (Polymerisation, Verlängerung, Amplifikation): Zum Schluss füllt die DNA-Polymerase die fehlenden Stränge mit freien Nukleotiden auf. Sie beginnt am 3'-Ende des angelagerten Primers und folgt dann dem DNA-Strang. Der Primer wird nicht wieder abgelöst, sondern bildet den Anfang des neuen Einzelstrangs. Die Temperatur hängt vom Arbeitsoptimum der verwendeten DNA-Polymerase ab (68–72 °C). Dieser Schritt dauert etwa 30 Sekunden je 500 Basenpaare, variiert aber in Abhängigkeit von der verwendeten DNA-Polymerase.

### 2.2.1 PCR „In-house“ Verfahren für Noroviren

Bei der hier vorliegenden Studie kam ein so genanntes „in-house“ Verfahren der PCR Untersuchung zum Einsatz:

Als Analysengeräte standen eine Tischzentrifuge (Modell 5415C/5417R/5417) sowie ein Thermomixer (Modell 5436) der Fa. Eppendorf zur Verfügung.

Die Testkits umfassten QIAamp Viral RNA Mini Kit (250) und QIAGEN QuantiTect Probe RT-PCR Kit (50) der Fa. Qiagen.

Zunächst erfolgt die RNA-Extraktion mit QIAamp Viral RNA Mini Kit.

Danach wird das Probenmaterial in ein Lyse-Puffersystem pipettiert, in dem sich eine definierte Menge Bovines-Virus-Diarrhoe-Virus (BVD-Virus) haltiger Zellkulturüberstand (interner Standard) befindet, anhand dessen die Extraktions- und Amplifikationseffizienz kontrolliert und gemessen werden kann. Durch das Puffersystem werden RNasen inaktiviert und es wird sichergestellt, dass die intakte Virus-RNA isoliert werden kann. Die RNA liegt somit frei in der Lösung vor. Durch Zugabe von Ethanol wird die RNA so vorbereitet, dass sie optimal an die QIAamp Membran bindet. Nach Zugabe der vorbehandelten Probe auf die Extraktionssäulen und anschließendes kurzes Zentrifugieren oder Anlegen eines Vakuums kommt es zur Bindung der RNA an die QIAamp Silica-Gel Membran. Durch zweimaliges Waschen der Säule (ethanolhaltig) wird sichergestellt, daß alle störenden Probeninhaltsstoffe (Inhibitoren) ausgewaschen werden, ohne die RNA von der Membran zu lösen. Im letzten Isolationschritt wird die RNA mit wässrigem Puffer oder Wasser von der Membran gelöst und in ein Probengefäß zentrifugiert.

In einer „OneStep“ Reversen Transkription (RT) und Amplifikation wird die erregerspezifische Sequenz erst in eine c-DNA umgeschrieben (RT) und dann amplifiziert (PCR). Die isotherme Transkription erfolgt mit spezifischen 3' Primern, die auch in der anschließenden PCR verwendet werden. Dabei lagert sich der 3' Primer an den komplementären Bereich der RNA an, und das Enzymgemisch aus Omniscript™ und Sensiscript™ Reverse Transkriptasen verlängert diesen doppelsträngigen Bereich mit Hilfe der im Mastermix vorhandenen Desoxyribonukleosidtriphosphate. Nach Abschluß der Umschreibung werden die Reversen Transkriptasen 15 Minuten bei 95°C hitzedenaturiert. Gleichzeitig wird die im QIAGEN OneStep-Enzymmix vorliegende HotStarTaq DNA Polymerase aktiviert. Die cDNA dient als Vorlage zur Amplifikation in der PCR.

In der PCR werden zwei Temperaturzyklen, die zwischen 40 - 45 mal wiederholt werden, durchlaufen. In jedem Zyklus kommt es zur Verdoppelung der Zielsequenz.

Durch eine Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wird eine spezifische Sequenz amplifiziert. An die zu amplifizierende Sequenz bindet eine zugesetzte, mit einem Fluoreszenzfarbstoff markierte Oligonukleotidsonde. Am 5'-Ende der Sonden befindet sich der Detektionsfarbstoff (=Reporter), dessen Fluoreszenzemission aufgrund der räumlichen Nähe eines Farbstoffes am 3'-Ende der Sonde unterdrückt wird. Während der Amplifikation wird durch die 5'-3'-Exonukleaseaktivität der Taq-Polymerase die gebundene Nukleotidsonde hydrolysiert. Dabei wird der Reporter räumlich vom Quencher getrennt, wodurch der Reporter nach Anregung durch einen Laser Fluoreszenz emittiert und vom ABI PRISM 7900 quantitativ detektiert werden kann. Mit Hilfe der SDS Software werden die während der Amplifikationszyklen gemessenen Emissionsdaten analysiert (sog. "real-time" / "Echt-Zeit" PCR).

Zur Kalibrierung des Gerätes steht eine isolierte RNA Kontrolle (Noro-IRC) zur Verfügung, die in der RT-PCR mitgeführt wird. Sie besteht aus einem Mix aus Genotyp 1 und Genotyp 2 RNA.

Als interne Extraktionskontrolle und Inhibitionskontrolle wird in jeder Probenextraktion BVD-Virus in einer separaten RT-PCR mitgeführt.

Als Untersuchungsmaterial zur Durchführung der Noroviren-PCR dienen sowohl Stuhl als auch Erbrochenes. Die Mindestprobenmenge beläuft sich auf 500 µl, der Mindestprobeneinsatz auf 200 µl.

Die Proben sollten ungeöffnet innerhalb von 24 h nach Probenentnahme in das Labor gelangen. Bei längeren Transport-/ Lagerungszeiten sollte das Probenmaterial entweder bei 2-8°C gekühlt oder eingefroren werden. Zur Probenaufbewahrung werden die Stuhlproben bis zur Isolierung und Analyse bei -20°C tiefgefroren.

## 3.0 Ergebnisse

### 3.1 Allgemeine Übersicht im Zeitraum 06/2000 bis 06/2008

	Zeitraum	2000/2001	2001/2002	2002/2003	2003/2004	2004/2005	2005/2006	2006/2007	2007/2008
<b>Virus</b>									
<b>Rotavirus</b>									
Anzahl gesamt		421	441	292	240	315	394	307	507
Positive (absolut)		50	29	45	20	29	70	24	34
Positive (%)		11,9	6,6	15,4	8,4	9,2	17,8	7,8	6,7
<b>Adenovirus</b>									
Anzahl gesamt		478	268	284	233	231	340	291	342
Positive (absolut)		25	26	13	3	5	18	16	17
Positive (%)		5,2	9,7	4,6	1,3	2,2	5,3	5,5	5
<b>Astrovirus</b>									
Anzahl gesamt		449	235	254	564	223	322	236	284
Positive (absolut)		13	10	4	1	5	2	0	1
Positive (%)		2,9	4,3	1,6	0,2	2,2	0,6	0	0,4
<b>Norovirus Typ 1</b>									
Anzahl gesamt		0	231	209	66	157	189	0	0
Positive (absolut)		0	1	4	1	2	4	0	0
Positive (%)		0	0,4	1,9	1,5	1,3	2,1	0	0
<b>Norovirus Typ 2</b>									
Anzahl gesamt		0	234	209	66	157	163	0	0
Positive (absolut)		0	25	36	10	13	13	0	0
Positive (%)		0	10,7	17,2	15,2	8,3	8	0	0
<b>Norovirus Typ 1 PCR</b>									
Anzahl gesamt							117	286	769
Positive (absolut)							3	5	7
Positive (%)							2,6	1,7	0,9
<b>Norovirus Typ 2 PCR</b>									
Anzahl gesamt							117	286	769
Positive (absolut)							17	45	149
Positive (%)							14,5	15,7	19,4

Tabelle 1. Einsendefrequenz von Stuhlproben zur Untersuchung auf virale Gastroenteritiserreger mittels Antigen- und PCR-Screening der Universitätsklinik Frankfurt/Main im Zeitraum 06/2000-06/2008.

Die Datenlage zeigt ein reges und konstantes Einsendeverhalten an Stuhlproben auf Nachweis von viralen Gastroenteritiden im Zeitraum 06/2000-06/2008. Führend sind hier vor alle Verdachtsfälle auf Rota-, Adeno- und Astroviren zu nennen. Verdachtsfälle auf Norovirus Typ 1 und 2 weisen zunächst am Anfang des untersuchten Zeitraums hohe Einsendezahlen auf (Antigentests auf Noroviren standen in unserem Labor erst ab dem Jahr 2002 zur Verfügung). Zwischenzeitlich zeigt sich jedoch ein Absinken der Einsendefrequenz mit einer geringsten Rate im Zeitraum 2003/2004. Nach Umstellung der Noroviren-Antigentests auf die PCR-Untersuchungsmethode bei Noroviren Typ 1 und 2 zeigt sich jedoch ein enormer Anstieg der Einsendungen mit einem Peak 2007/2008. Hier ist mit weiteren Anstiegen an Einsendefrequenzen zu rechnen.

Im Gegensatz zu den hohen Einsendefrequenzen insgesamt liegt die Anzahl positiver Ergebnisse jedoch weitaus geringer. Das Verhältnis von Einsendungen insgesamt zu positiven Proben schwankt erheblich, wenn man das einzelne Virus herausgreift.

Generell sieht man jedoch, dass pro Jahr höchstens 10-20 % der eingesendeten Stuhlproben positiv getestet werden (Rotavirus und Norovirus Typ 2).

Bei den übrigen Viren bewegt sich der Prozentsatz unter 10 % (Adenovirus) bzw. unter 5 % (Astro- und Norovirus Typ 1).

Am häufigsten wurde von den Kinderstationen der Universitätsklinik eingeschickt.

Über 50 % der eingesandten Stuhlproben entstammten der Kinderklinik. Die

bevorzugte Altersgruppe mit Untersuchungsauftrag auf virale Gastroenteritiserreger waren Kinder zwischen 1 und 4 Jahren.

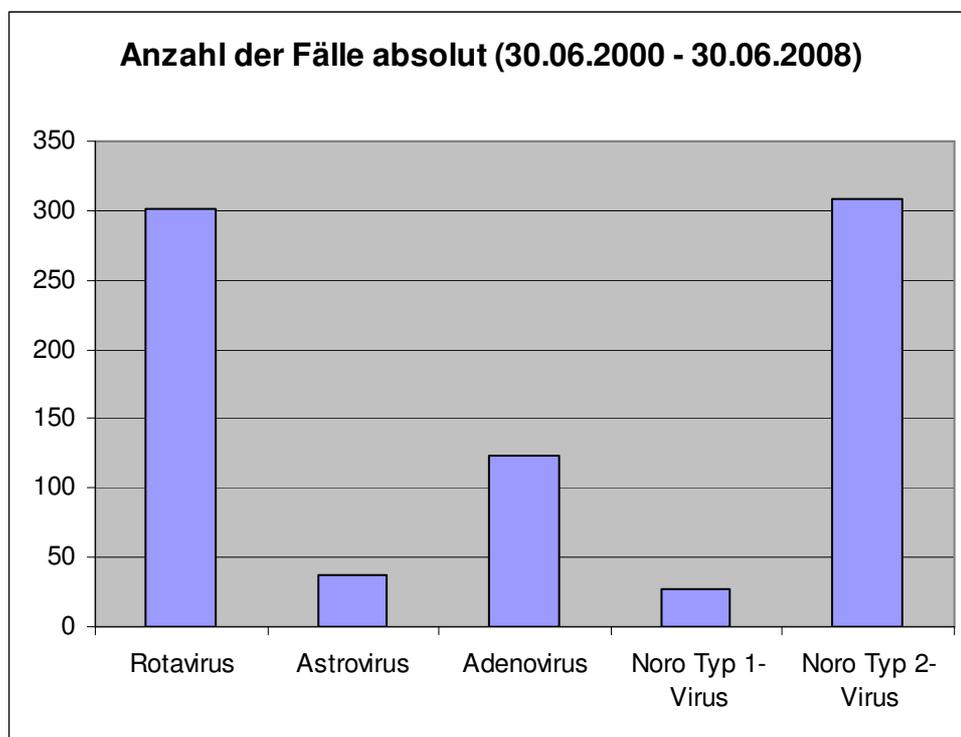


Abbildung 1. Absolute Anzahl positiver Ergebnisse mittels Antigen- und PCR-Screening auf virale Gastroenteritiserreger des Universitätsklinikums Frankfurt/Main im Zeitraum 2000-2008.

In dem untersuchten Zeitraum 06/2000-06/2008 findet sich deutlich ein Überwiegen an Rotaviren und Noroviren Typ 2. Gefolgt werden sie von Adenoviren, jedoch in einer weitaus geringeren Anzahl von weniger als 50 % der Anzahl an Rota- und Noroviren Typ 2- Infektionen.

Astro- und Noroviren Typ 1 sind nur mit einer geringen Rate vertreten, wobei die niedrigste Rate insgesamt bei Noroviren Typ 1 zu verzeichnen ist.

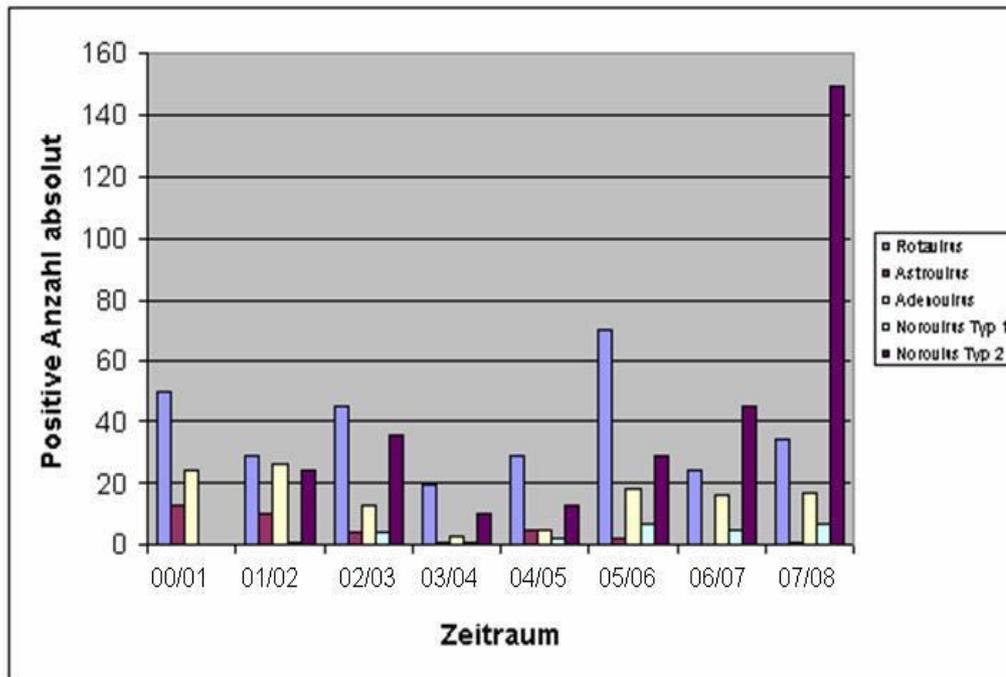


Abbildung 2. Nachweis viraler Gastroenteritisreger aus den Einsendungen an das Universitätsklinikum Frankfurt/Main.

Über den gesamten Zeitraum gesehen überwiegen die Rotavirusinfektionen. Dabei lassen sich annähernd konstante Fallzahlen ermitteln mit einem stärkeren Rückgang im Zeitraum 03/04 und einem deutlichen Anstieg im Zeitraum 05/06.

Astrovirusinfektionen warten mit vergleichsweise niedrigeren Fallzahlen auf, die im untersuchten Zeitraum darüber hinaus kontinuierlich abnehmen. Im Zeitraum 06/07 gab es sogar kein einziges positives Ereignis.

Die Adenovirusnachweise lassen ein unregelmäßiges Muster erkennen. Im Zeitraum 00/01 und 01/02 zeigen sie erhöhte Fallzahlen, nehmen im Zeitraum 02/03 bis 04/05 jedoch deutlich ab und zeigen wiederum konstante höhere Fallzahlen im Zeitraum 05/06 bis 07/08.

Norovirus Typ 1-Infektionen haben die niedrigsten positiven Resultate insgesamt. Im Zeitraum 00/01 wurden in unserem Labor noch keine Screeninguntersuchungen auf Noroviren, sowohl Typ 1 als auch Typ 2, durchgeführt. Aber auch im Zeitraum 01/02 bis 07/08 weisen Norovirus Typ 1-Infektionen nur sehr geringe Anzahlen auf. Lediglich im Zeitraum 05/06 bis 07/08, nach Einführung der PCR-Untersuchungen und somit Ablösung der Antigen Screenings auf Noroviren, lassen sich geringe Fallzahlen vorweisen.

Insgesamt überwiegen Norovirus Typ 2-Infektionen. Nach einer Abnahme im Zeitraum 03/04 und 04/05 kommt es zu einem erneuten Anstieg im Zeitraum 05/06 und 06/07 mit einem überragenden Peak im Zeitraum 07/08.

### 3.2 Jahreszeitliche Verteilung der viralen Infektionsraten 06/2000-06/2008

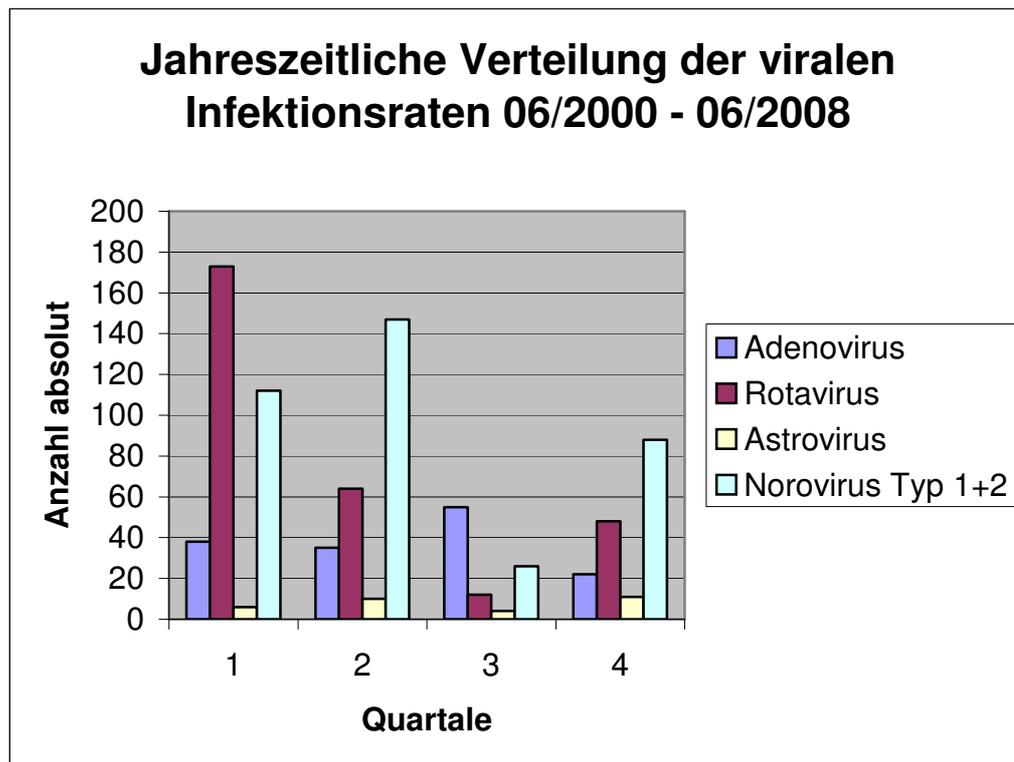


Abbildung 3. Jahreszeitliche Verteilung positiver Screening-Ergebnisse auf virale Gastroenteritiden im Zeitraum 2000-2008

Virale Gastroenteritiden haben ihren saisonalen Höhepunkt in den Wintermonaten. Dies zeigt sich auch in unserer epidemiologischen Beobachtungsstudie.

(Die Quartale eins bis vier entsprechen hierbei den Monatsabschnitten Januar bis März (1), April bis Juni (2), Juli bis September (3) sowie Oktober bis Dezember (4)). Besonders trifft dies für Rotavirusinfektionen zu. Im ersten Quartal verzeichnen wir einen deutlichen Peak, danach ein Absinken mit erneutem Anstieg im vierten Quartal. Auch Norovirusinfektionen haben ihren Höhepunkt in der ersten Jahreshälfte mit einem Tiefpunkt in den Sommermonaten und einem erneuten Anstieg hin zu den Wintermonaten.

Adenovirusinfektionen unterscheiden sich von den anderen Viren in ihrer jahreszeitlichen Verteilung. Sie zeigen konstant hohe Fallzahlen in den ersten beiden Quartalen, gefolgt von einem Höhepunkt im dritten und einem Tiefpunkt im vierten Quartal.

Astrovirusinfektionen warten insgesamt mit niedrigen Fallzahlen auf, und es lässt sich kein deutliches Muster aufzeigen.

### 3.3 Altersverteilungen des untersuchten Patientenkollektivs

#### 3.3.1 Rotaviren

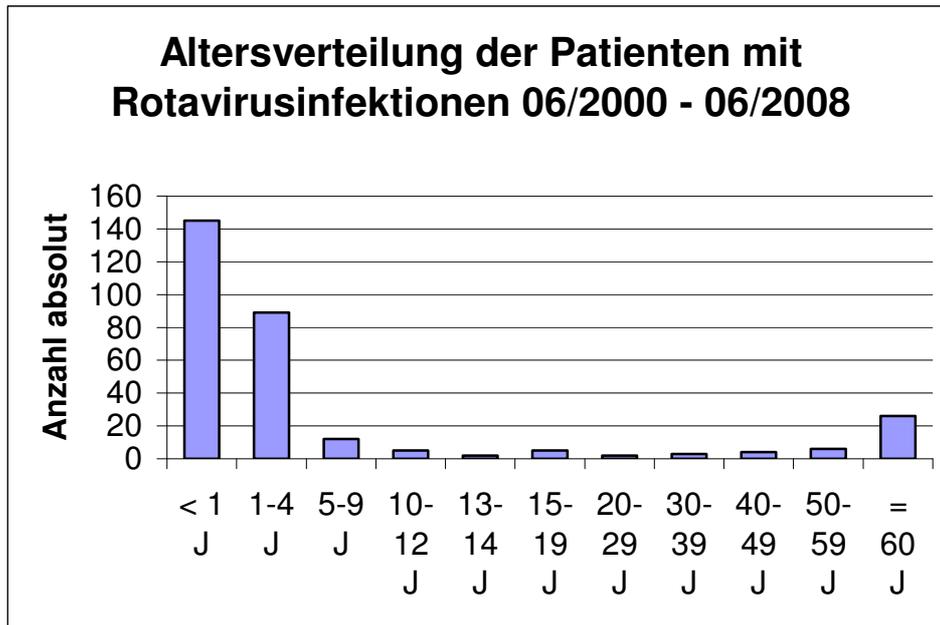


Abbildung 4. Altersverteilung der Patienten mit Rotavirusinfektionen (n = 301)

Wie in Abbildung 4 ersichtlich und entsprechend den bekannten nationalen und internationalen Daten ist die Erkrankungsrate an Rotaviren bei Säuglingen (< 1 Jahr) und Kleinkindern der Altersgruppe 1 - 4 Jahre am höchsten. Über 70 % der positiven Antigennachweise erfolgte aus Stuhlproben von Säuglingen und Kleinkindern bis 4 Jahre.

Ebenfalls auffällig ist aber auch die Positivenrate von über 10 % bei den >50-Jährigen.

### 3.3.2 Adenoviren

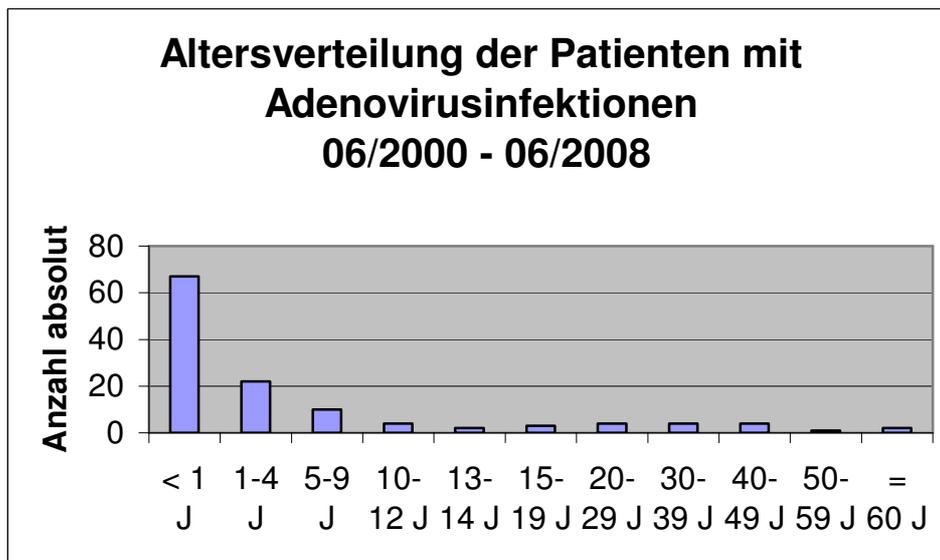


Abbildung 5. Altersverteilung der Patienten mit Adenovirusinfektionen (n = 123)

Auch die positiven Antigennachweise bei Adenovirusinfektionen finden sich gehäuft bei den ganz jungen Patienten. Über 70 % betreffen die Altersgruppe < 1 Jahr und 1-4 Jahre und einschließlich der Altersgruppe 5-9 Jahre sind es sogar über 80 % der Infektionsfälle.

### 3.3.3 Astroviren

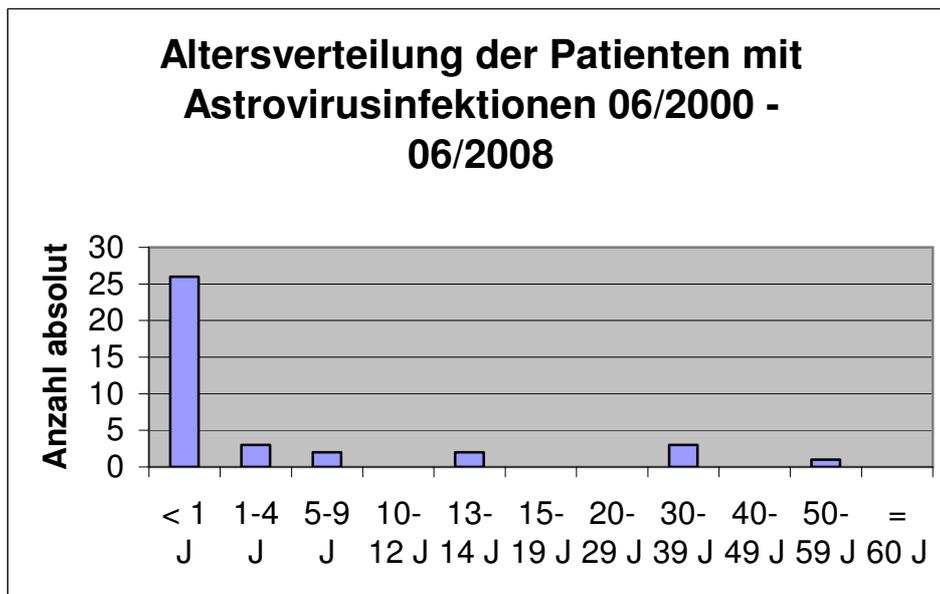


Abbildung 6. Altersverteilung der Patienten mit Astrovirusinfektionen (n = 37)

Schwierig ist die Aussage bei Astroviren. Hier findet sich generell eine geringe Untersuchungsrate. In der Regel überwiegen Untersuchungsaufträge auf Rota-, Adeno- und Noroviren, entsprechend dem klinischen Bild und der Durchseuchungsrate.

Zahlenmäßig am häufigsten vertreten waren Säuglinge < 1 Jahr mit über 70 %.

### 3.3.4 Noroviren Typ 1

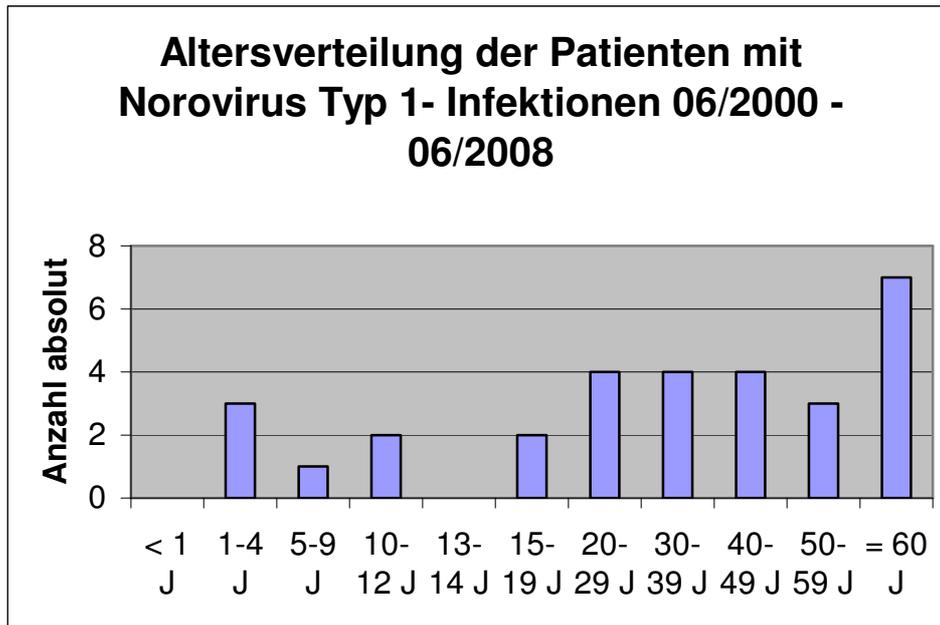


Abbildung 7. Altersverteilung der Patienten mit Norovirus Typ 1-Infektionen (n = 27)

Wie bereits erwähnt, standen bis 2002 keine kommerziellen Norovirus-ELISAs zur Verfügung, so dass die Auswertung erst ab März 2002 einsetzt.

Norovirus Typ 1-Infektionen haben zahlenmäßig den geringsten Anteil an der Anzahl der viralen Gastroenteritiden. Eine objektive Beurteilung ist somit schwer auszumachen. Es zeigt sich jedoch eine deutliche Dominanz in der älteren Bevölkerung. Über 25 % betreffen die Altersgruppe über 60 Jahre. Aber auch die mittleren Jahre von 20-50 Jahre machen allein knapp 45 % der Infektionsrate aus.

### 3.3.5 Noroviren Typ 2

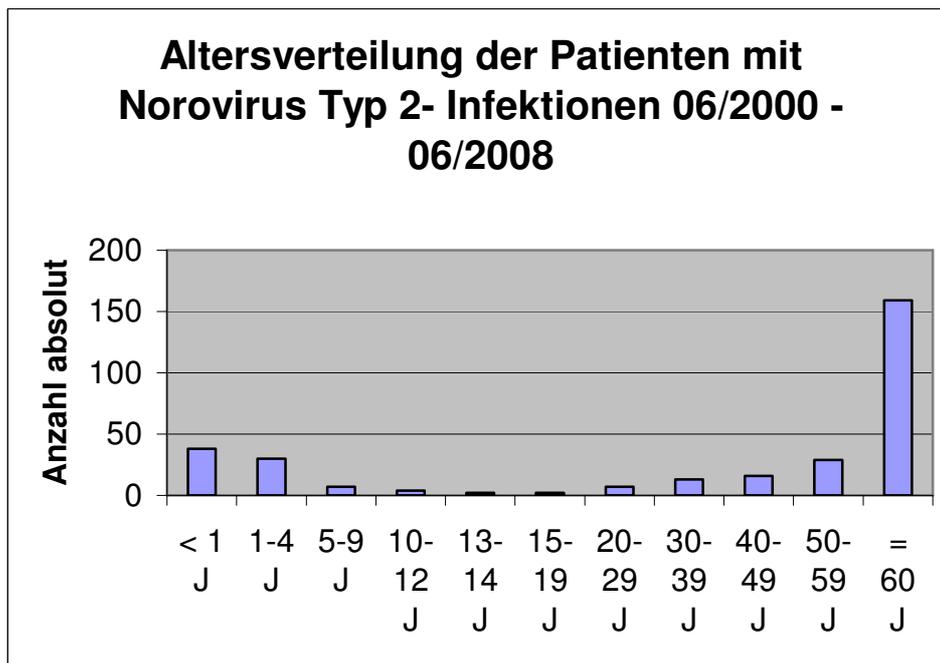


Abbildung 8. Altersverteilung der Patienten mit Norovirus Typ 2-Infektionen (n = 308)

Die zahlenmäßig insgesamt am häufigsten vertretene virale Gastroenteritisinfektion durch Norovirus Typ 2 zeigt einen deutlichen Peak in der Altersgruppe über 60 Jahre. Knapp über 50 % der Infektionen sind hier anzutreffen. Bemerkenswerterweise finden sich aber auch rund 22 % an Norovirus Typ 2-Infektionen im Alter unter 5 Jahren.

### 3.4 Geschlechterverteilung

	<b>Männlich</b>	<b>Weiblich</b>	<b>Unbekannt</b>
<b>Rotaviren</b>	156	120	25
<b>Adenoviren</b>	67	48	8
<b>Astroviren</b>	14	23	0
<b>Noroviren Typ 1</b>	9	15	3
<b>Noroviren Typ 2</b>	149	152	7

Abbildung 9. Geschlechterverteilung viraler Gastroenteritiden im Zeitraum 2000-2008.

Betrachtet man die Geschlechterverteilung viraler Gastroenteritiden in unserer epidemiologischen Studie lässt sich kein eindeutiges Muster erkennen. Bei den Rotavirusinfektionen überwiegen mäßig männliche Patienten. Genauso verhält es sich bei den Adenoviren.

Umgekehrt zeigt sich ein leichtes Überwiegen des weiblichen Geschlechts bei Astro- und Noroviren Typ 2. Jedoch liegen hier nur geringe Fallzahlen vor.

Noroviren Typ 1 lassen annähernd gleiche Infektionsraten bei beiden Geschlechtern erkennen.

## **4.0 Diskussion**

### **4.1 Epidemiologie der Rotaviren**

Weltweit sind Rotaviren (vorwiegend Virustyp A, Typ B in China) für 50 % der Fälle aller krankenhausbedürftigen kindlichen Diarrhoen als Erreger verantwortlich (85). Jährlich rechnet man mit 500 Mio. Erkrankungen in Afrika, Asien und Lateinamerika mit einer Letalität von 1-2 % durch Rotavirusinfektionen. Der Altersgipfel der Infektionen liegt bei 6 Monaten bis zu 2 Jahren. In dieser Altersgruppe treten weltweit 2,5 Millionen Todesfälle/Jahr, insbesondere in den Entwicklungsländern, auf. Die Letalität der Rotavirusinfektion ist in den Industriestaaten mit ca. 0,1 % jedoch sehr gering. So wurden in der EU im Jahr 2006 231 Todesfälle und in den USA 100 Todesfälle berichtet (86).

Die Durchseuchungsrate im Alter von 3 Jahren liegt bei 90 %.

Unter den nosokomialen Darminfektionen sind sie die Hauptursache auf Neugeborenen- und Kleinkinderstationen. Im Erwachsenenalter treten sie seltener auf.

Des Weiteren ist der sozio-ökonomische Aspekt von Bedeutung. So werden für die Betreuung von an Rotavirus erkrankten Kindern jährlich etwa 423.600 Arbeitsausfallstage geschätzt.

Die Erkrankungen stellen somit eine große finanzielle Belastung für die Gesellschaft und das Gesundheitswesen dar (87).

Es finden sich sogar Studien, die das soziale Ausmaß innerhalb von Familien mit an Rotavirus erkrankten Kindern untersuchten. Eltern fühlen sich oftmals ohnmächtig und überfordert gegenüber der Erkrankung, beklagen das Fehlen einer spezifischen Therapie und sind sowohl beruflich als auch im Haushalt massiv eingeschränkt. Hier ist das Gesundheitswesen zu einer Optimierung aus Prävention und Aufklärung herausgefordert (88).

Auch in unserer Studie überwiegen zusammen mit Norovirus Typ 2 die Rotavirusinfektionen gegenüber den anderen untersuchten viralen Gastroenteritiserregern deutlich. Vor allem 2006 war eine deutliche Zunahme der Positivenrate zu verzeichnen. Dass Rotaviren in der Jahresstatistik ganz oben stehen, belegt auch das Robert-Koch-Institut (RKI), Berlin. Trotz der nicht zu unterschätzenden Dunkelziffer wurden pro Jahr im angegebenen

Untersuchungszeitraum in Deutschland rund 50.000 und mehr Fälle gemeldet. Insgesamt ergeben die Zahlen des RKI eine Zunahme in den Jahren 2001-2006: 2001 mit 47 643, 2002 mit 52 399, 2003 mit 46 095, 2004 mit 37 789, 2005 mit 54 289 und 2006 sogar mit 67 016 gemeldeten Rotavirusinfektionen (89). Aber auch 2007 waren 59370 Fälle gemeldet und 2008 wurden über mehr als 77.000 Erkrankungen erfasst. Die Tendenz ist weiter steigend.

Hessen hat mit 1867 erfassten Fällen im Jahr 2001 und 2923 Fällen im Jahr 2008 einen Anteil

von konstant rund 25 % der gesamten gemeldeten Rotavirusinfektionen.

Die Zunahme der Positivenrate an epidemiologisch erfassten Infektionsfällen in den letzten Jahren hat des Weiteren mit einer Zunahme der Einsendungen der Stuhluntersuchungen zu tun:

Allein in unserer Studie im Zeitraum 2000 bis 2008 lässt sich eine steigende Anzahl an Einsendungen vorweisen. Waren es im Jahr 2000 noch 421 zu untersuchende Stuhlproben, die zwischenzeitlich sogar auf ca. 300 zurückgegangen waren, zeigten sich 2008 über 500 zu screenende Proben. Die Haupteinsender stellten hier die Kinderkliniken dar.

Im weltweiten Vergleich mit weiteren epidemiologischen Studien präsentieren sich Rotaviren auch in anderen Ländern als die vorherrschende Ursache viraler Gastroenteritiden. So dokumentiert eine Studie aus China (Lanzhou), durchgeführt von 2005 bis 2007, dass Rotaviren der Gruppe A mit 54 % führender Grund viraler Gastroenteritiden bei hospitalisierten Kindern unter 5 Jahren waren, gefolgt von Noroviren mit knapp 10%. Astro- und Adenoviren als ursächliche Erreger lagen hier unter 5% (90).

Aber auch in Ländern wie Pakistan konnte in einem zweijährigen Beobachtungszeitraum Rotavirus bei 20 % von Kindern mit einer Magen-Darm-Infektion unter einem Jahr nachgewiesen werden. In zwei weiteren Studien über einen Zeitraum von fünf Jahre stellten sich Rotaviren als zweithäufigste Ursache, gleich nach E. coli Infektionen heraus (91).

Ein Blick nach Saudi-Arabien lässt ähnliche Rückschlüsse zu. In insgesamt 22 Studien konnte von 1982-2003 Rotavirus mit einer Prävalenz von 10 - 46 % bei Gastroenteritiden nachgewiesen werden. Der Durchschnittswert lag bei 30 %. Auch hier handelte es sich vorwiegend um Patienten unter zwei Jahren (92).

Zurück nach Europa zeigen auch Deutschlands Nachbarländer eine hohe Positivenrate für Rotaviren bedingte Gastroenteritiden. Hier waren sie beispielsweise in Frankreich mit 17,3 % an der viralen, gastrointestinalen Infektionsrate im Zeitraum 1997-1999 beteiligt (93).

## Saisonalität

In unserer Studie zeigt sich ein gehäuftes Auftreten von Rotavirusinfektionen in den Wintermonaten. Mehr als die Hälfte aller registrierten Infektionen betreffen das erste Quartal, gefolgt von ca. 20 % im zweiten Quartal. Einen Tiefpunkt erreichen die gemeldeten Fälle im Sommer und zeigen zum Winter hin wieder ein kontinuierliches Ansteigen.

Die Übertragung des Virus ist in geschlossenen Räumen, besonders bei trockener Raumluft, und engem Kontakt am effektivsten. Sie erfolgt sowohl fäkal-oral, über kontaminiertes Wasser oder Nahrungsmittel, als auch über Aerosole.

Da bereits geringe Virusmengen zur Ausbreitung von Infektionen ausreichen, erklärt sich auch die Häufung in den Wintermonaten, in denen man sich hauptsächlich in geschlossenen Räumen aufhält (31).

Auch das RKI bestätigt das gehäufte Auftreten der Rotavirusgastroenteritiden in den Wintermonaten. So wurden 2001 im ersten Quartal 22491 Fälle und 16857 Fälle im zweiten Quartal gemeldet. Dies sind auf die Jahresgesamanzahl bezogen jeweils knapp 50 % im ersten Quartal und noch mal 35 % im zweiten Jahresabschnitt. Diese Tendenz zeigt sich auch in den folgenden Jahrgängen.

2008 wurden 38944 Infektionen (50 %) im ersten Quartal gemeldet und 26970 (35 %) im zweiten.

Interessanterweise zeigt sich nicht in allen Ländern ein gehäuftes Auftreten in den Wintermonaten. In der bereits oben erwähnten Studie aus Saudi-Arabien gab es sowohl Städte mit Häufungen in den Wintermonaten, als auch Städte mit Häufungen in den Sommermonaten.

In afrikanischen Ländern wie Kenia wird von erhöhten Infektionsraten in den Trockenzeiten berichtet (94).

Asiatische Länder wie Vietnam beschreiben Fälle von Rotavirusinfektionen über das gesamte Jahr verteilt mit einem Höhepunkt in den Monaten September bis Dezember (95).

## Altersverteilung

Bekannt ist, dass Rotavirusinfektionen vorwiegend im Säuglings- und Kleinkindesalter auftreten. Im Erwachsenenalter kommen sie seltener vor und weisen zudem mildere Verläufe auf.

So traten in Deutschland nach dem IfSG im Jahr 2001 82,3 % der gemeldeten Erkrankungsfälle an Rotavirusinfektionen bei Kindern im Alter bis 5 Jahre und nur 5,3 % im Alter über 60 Jahre auf.

2008 waren rund 60 % der gemeldeten Fälle bei Patienten unter 5 Jahren und 16 % im Alter über 60 Jahre. Hier zeigt sich eine zunehmende Rate an Rotavirusinfektionsfällen im höheren Alter, jedoch bleibt die Altersgruppe 0-5 Jahre weiterhin am stärksten vertreten.

Auch in unserer durchgeführten Studie zeigt sich im untersuchten Zeitraum ein deutliches Überwiegen der Altersgruppe unter 5 Jahren. Allein 48 % betreffen Säuglinge unter einem Jahr und 30 % das Alter 0 bis einschließlich 4 Jahren. Dies sind somit knapp 80 % der Gesamtfälle. Die Altersgruppe über 60 Jahre betrifft rund 9 % des Patientenkollektivs.

Auch andere Länder konnten in klinischen Studien zeigen, dass hauptsächlich Kinder unter 5 Jahren betroffen waren. Die bereits oben erwähnte Untersuchung aus Vietnam im Zeitraum 2001-2002 zeigte Rotavirus der Gruppe A als führenden Erreger mit 46,7 % bei hospitalisierten Kindern mit Gastroenteritiden. Die vorherrschende Altersgruppe waren Kleinkinder zwischen 13 und 24 Monaten. Darüber hinaus war das männliche Geschlecht häufiger betroffen. Dies deckt sich sowohl mit unserer Datenlage als auch mit der des RKI (95).

Ein Blick nach Nepal zeigt ähnliche Ergebnisse. Im Rahmen eines Impfprogramms gegen Rotaviren zeigte sich bei einer Studie im Jahr 2006, dass über 75 % der positiven Stuhluntersuchungen auf Rotaviren von einem Patientenkollektiv unter 5 Jahren stammten. Der führende Genotyp war dabei G1P (96).

Auch Mexiko beschreibt Rotaviren führend als ursächlichen Erreger von Gastroenteritiden bei Kindern unter 5 Jahren und ist um Impfprävention sehr bemüht (97).

Durchgeführte Studien in Afrika beispielsweise in Tansania untermauern ebenfalls eine Dominanz an Rotavirusinfektionen bei Patienten unter 5 Jahren (98).

Letztlich lässt sich festhalten, dass vielfach durchgeführte Studien beweisen, dass weltweit Patienten der Altersgruppe unter 5 Jahren am häufigsten an einer Rotavirus Gastroenteritis erkranken.

### Methodik

Rotaviren lassen sich, wie bereits weiter oben erwähnt, durch unterschiedliche Verfahren nachweisen. In unserer Studie kam der Antigennachweis durch ein Testkit der Firma RIDASCREEN® zum Einsatz. Dieser weist eine hohe Sensitivität und Spezifität auf. Antigennachweise durch Enzymimmunoassays sind in Deutschland labordiagnostische Methode der Wahl. Nicht zuletzt weisen sie eine leichte Handhabung und niedrigen Kostenaufwand auf.

Die PCR-Untersuchung wurde bereits mehrfach zum Nachweis von Rotaviren im Stuhl eingesetzt, ist jedoch um ein vielfaches aufwendiger und kostenintensiver. Sie zeichnet sich durch eine hohe Sensitivität und Spezifität aus. Mittels dieser Methode besteht die Möglichkeit der schnellen genotypischen Klassifikation der Viren auf der Basis der VP4- oder VP7-Sequenzen, mit deren Hilfe man schnell Infektketten, z.B. im Krankenhaus, rekonstruieren kann.

Die Elektronenmikroskopie ist spezifisch, jedoch sehr aufwendig. Die Nachweisgrenze liegt bei  $\geq 10^6$  Viruspartikel pro Gramm Stuhl. Ihr Vorteil liegt darin, dass andere virale Erreger ebenfalls erkannt werden können.

Prinzipiell besteht die Möglichkeit der Virusisolierung, die zwar billig und spezifisch aber auch sehr langwierig ist.

### Impfprävention

Wie bereits im Kapitel „Einleitung“ besprochen, existieren seit dem Jahr 2006 in Europa und den USA zwei Rotavirus-Schluckimpfstoffe, Rotarix® von GlaxoSmithKline und RotaTeq® von Sanofi PasteurMSD. Der in den USA 1999 zunächst zugelassene Impfstoff Rotashield® wurde aufgrund den in Zusammenhang gebrachten Invaginationen bei Impflingen wieder vom Markt genommen. Die jetzigen beiden Impfstoffe haben in vielfachen Studien sowohl in den Industrienationen als auch in Lateinamerika jedoch hohe Unbedenklichkeit und Effizienz bewiesen (99).

Eine generelle Impfung könnte die Morbidität und somit auch Mortalität von Rotavirusinfektionen im Säuglings- und Kleinkindalter senken. Weitere Aspekte, die für eine flächendeckende Impfung sprechen, stellen vor allem auch gesundheitsökonomische Gesichtspunkte dar. Rotaviruserkrankungen stellen eine große finanzielle Belastung für die Gesellschaft und das Gesundheitswesen dar. Auf eine zu 90 % geimpfte Geburtskohorte bezogen, könnten die anfallenden Krankheitskosten für die gesetzlichen Krankenkassen und die Gesellschaft um ca. 75 % gesenkt werden.

Die Krankheitskosten von Rotaviruserkrankungen für eine nicht geimpfte Geburtskohorte von 48,2 Mio. Euro könnten auf 9,8 Mio. Euro bei einer zu 90 % geimpften Geburtskohorte gesenkt werden. Das entspricht einer Reduktion der Kosten um 80 % (100). Trotzdem muss derzeit unterm Strich leider festgehalten werden, dass die gegenwärtigen Aufwendungen für die 90 prozentige Durchimpfung einer Geburtskohorte die Kosteneinsparungen der anfallenden Krankheitskosten noch überbieten.

Mögliche weitere Auswirkungen könnten eine relative Altersverschiebung der Morbidität in höhere Altersgruppen sein. Eine Zunahme der absoluten Erkrankungszahlen durch Rotavirusinfektionen in höhere Altersgruppen ist jedoch unklar.

Trotz hoher Impfraten junger Säuglinge besteht die theoretische Möglichkeit durch andere Rotavirus-Serotypen infiziert zu werden.

Die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Vakzinevirus-Wildtypvirus-Reassortanten mit erhöhter Pathogenität ist sehr gering, jedoch nicht völlig ausschließbar.

## 4.2 Epidemiologie der Noroviren

Die neue Spitzenposition der Noroviren mag neben den modernen Labordiagnostika und der erhöhten Aufmerksamkeit gegenüber einem relativ „neuen“ Erreger (neuer Name) dessen „explosivem“ Auftreten (Reassortantenbildung, geringe Infektionsdosis) und der Vielzahl an Epidemien gerade in Schulklassen und stationären Einrichtungen inklusive Altersheimen zuzuschreiben sein. Die Noroviren haben bundesweit die Anzahl der Rotavirusinfektionen um ein Vielfaches überholt. Der überwiegende Anteil aller nicht bakteriell bedingten Gastroenteritiden sowohl bei älteren Kindern (ca. 30 %) als auch bei Erwachsenen (über 50 %) wird vermutlich durch Noroviren ausgelöst. Auch bei Säuglingen und Kleinkindern sind sie nach den Rotavirusinfektionen die zweithäufigste Ursache akuter Gastroenteritiden (101 kopien caspary).

So lagen die Fallzahlen für Norovirusinfektionen deutschlandweit im Zeitraum 2002 bis 2005 noch zwischen 50.000 und 60.000. Im Jahr 2006 zeigte sich jedoch bereits ein Sprung auf über 70.000 und ein folgender rasanter Anstieg auf über 200.000 registrierter Fälle in den Jahren 2007 und 2008!

Hochsensitive Nachweisverfahren wie die Norovirus-PCR sind mittlerweile in virologischen Speziallaboratorien Goldstandard und haben die Nachweise in jüngster Zeit, insbesondere ab Winter 2006, auch in unserem Labor vervielfacht.

In Studien aus Ungarn und Finnland wurde Norovirus Typ 2 als häufigster Erreger von epidemisch auftretenden Gastroenteritiden in den letzten Jahren beschrieben (101, 102).

Interessant sind auch die verschiedenen Lokalisationen und Übertragungswege der Noroviren. So zeigt eine Studie aus den USA im Zeitraum 1997-2000, dass ca. 40 % der Ausbrüche in Restaurants und Catering-Services auftreten. Als Hauptübertragungsweg ist hier die Infektion durch kontaminierte Nahrung zu nennen. An zweiter Stelle folgen Pflegeheime und Krankenhäuser mit 25 % der Infektionsfälle. Hauptübertragungsweg ist hier zwischenmenschlicher Kontakt. Danach folgen Schulen und Tagesheime mit 13 % und Ferienanlagen sowie Kreuzfahrtschiffe mit 10 % der Ausbrüche. Hier halten sich fäkal-oral direkter Kontakt von Mensch zu Mensch sowie Nahrungsmittel und verunreinigtes Trinkwasser als Hauptübertragungswege die Waage (104).

Aufgrund epidemiologischer Beobachtungen mit einer schnellen Ausbreitung in Gemeinschaftsunterkünften wird auch eine aerogene Übertragung durch Bildung virushaltiger Aerosole während des Erbrechens diskutiert.

Auch in Deutschland sind Altersheime und Krankenhäuser an erster Stelle zu nennen. So berichtet Niedersachsen in der Saison 2007/2008 von 60,5 % der Ausbrüchen in Altenheimen und 30 % in Krankenhäusern. Ein Ausbruch umfasste im Durchschnitt 43 Fälle. Der größte Ausbruch mit 304 Fällen ereignete sich in einem Altenheim.

Des Weiteren wurden in Brandenburg 8 der größten Häufungen, mit zwischen 118 und 204 Erkrankten, einerseits aus Krankenhäusern (5) und andererseits aus Altenheimen (3) übermittelt.

### Altersverteilung

In unserer Studie war das Patientenkollektiv hauptsächlich über 60 Jahre alt. Über 50 % der Infektionsrate ist in diesem Alter auszumachen. Dabei war das weibliche Geschlecht häufiger betroffen.

Interessanterweise finden sich aber auch gut 20 % der Infektionen bei einem Patientenkollektiv unter 5 Jahren.

Studien aus anderen Bundesländern wie beispielsweise Brandenburg zeigen ähnliche Datenlagen, veröffentlicht durch das Robert-Koch-Institut. Hier zeigt sich ein deutlicher Peak und hohe Inzidenz im zweiten Lebensjahr. Ca. 4 von 100 Kindern erkrankten! Aber auch die Altersgruppen zwischen 0 und 5 Jahren waren stark vertreten. Ein erneuter Gipfel war erst wieder ab 70 Jahren zu verzeichnen.

Insgesamt war im Erfassungszeitraum 2001 bis 2007 im Land Brandenburg eine Totalzunahme der Inzidenz von Norovirus-Gastroenteritiden zu beobachten gewesen. Dieser gipfelte 2007 in einer Jahresinzidenz von 484,7 Erkrankungen je 100.000 Einwohner. Dies entsprach einem Dreifachen des Vorjahreswertes wie auch bundesweit seit Einführung des Infektionsschutzgesetzes.

Die Inzidenzspanne auf Kreisebene lag damit zwischen 174,2 und 680,2 Erkrankungen je 100.000 Einwohner.

Auch Niedersachsen untermauert diese Ergebnislage.

Norovirus-Erkrankungen traten besonders häufig bei Kindern und älteren Menschen auf. In der Saison 2007/2008 handelte es sich bei 10,8 % der übermittelten Fälle um Kinder unter 5 Jahren und bei 51,3 % um Personen über 70 Jahren.

Die gesamte Meldeinzidenz über alle Altersgruppen betrug 276,7 Erkrankte je 100.000 Einwohner (105, 106).

### Saisonalität

Eine saisonale Häufung fand sich in unserer Studie vor allem im II. Quartal gefolgt von den Wintermonaten, wie in der Literatur oftmals beschrieben (107-110).

Trotz der generell beschriebenen Häufung von Norovirusinfektionen in den Wintermonaten, gibt es ebenfalls Studienlagen, die gegenläufige Beobachtungen aufzeigen.

So konnte in einer Untersuchung aus England/Wales, durchgeführt von 1995 bis 2002, ein Peak an Erkrankungen in den Sommermonaten im Jahr 2002 gezeigt werden. In den zuvor liegenden Jahren bestätigte sich jedoch auch in dieser Studie eine Erkrankungshäufung der so genannten „winter vomiting disease“ in den Wintermonaten.

Bei den erhöhten Fallzahlen im Sommer 2002 handelte es sich vorwiegend um ältere Patienten über 65 Jahre. Diese Studie fordert heraus, Gastroenteritiden durch Noroviren nicht nur auf die Wintermonate beschränkt zu sehen (111).

Eine weitere epidemiologische Studie aus Spanien, durchgeführt von November 2000 bis Oktober 2001, lässt ebenfalls Abweichungen der Wintersaisonalität erkennen. Untersucht wurden Gastroenteritiserreger bei Kindern. Noroviren standen an zweiter Stelle hinter den Rotaviren und zeigten die höchsten Fallzahlen in den Sommermonaten. In den Wintermonaten zeigten sich erstaunlicherweise gar keine Erkrankungsfälle an Noroviren (112).

## Epidemiologie der Norovirus-Genogruppen

In der hier vorliegenden Beobachtungsstudie im Frankfurter Raum dominierte Norovirus Typ 2 gegenüber Norovirus Typ 1. Das Virus hat eine ausgeprägte Genomvariabilität. Die Unterteilung erfolgt in fünf Genotypgruppen (GG I bis V). GGI, GGII und GGIV sind humanpathogen und werden wiederum in wenigsten 20 Subtypen aufgeschlüsselt. Noroviren der Genogruppe III (Jena-Virus) und V (Maus Virus) sind nicht humanpathogen.

Unsere Datenerhebung deckt sich mit denen vergleichbarer Studienlagen. Die Mehrzahl von Gastroenteritisausbrüchen durch Noroviren wird durch Genotyp 2 verursacht (113).

Hier unterscheiden die meisten Untersuchungen, die in der Fachliteratur publiziert sind, noch einmal die verschiedenen Subtypen. Anzumerken ist hierbei, dass diese Differenzierung in unserer Studie nicht zum tragen kam.

So wird in der eben erwähnten Studie Norovirus GII.4 als Hauptursache noroviraler Gastroenteritiserreger beschrieben.

Auch Verhoef et al. (114) beschrieben Anstiege der antigenen Driftvariante des Genotyps GGII.4. Hier wurden Ausbrüche von Gastroenteritiden durch Noroviren auf Kreuzfahrtschiffen in Europa und im Pazifik im Sommer 2006 untersucht.

Des Weiteren zeigte eine Studie aus Japan im Zeitraum 2005/2006 Norovirus GGII.4 als dominanten Erreger bei Ausbrüchen (35 %) und sporadischen Fällen (46 %) unter Lebensmittelhändlern (115).

Darüber hinaus zeigten sich in einer durchgeführten Studie in Schweden zwei dominante Varianten. Im Zeitraum 2000-2001 trat hauptsächlich das genetische Cluster Norovirus GGII.b auf, im darauf folgenden Intervall 2001-2003 dominierte die GGII.4 Variante (116).

## Methodik

Für den Nachweis von Noroviren im Stuhl stehen wie bei den Rotaviren mehrere Untersuchungsverfahren zur Verfügung. Aus seuchenhygienischen Gründen sowie zu Kontrolluntersuchungen bei vermehrtem Auftreten von Infektionen ist ein virologischer Nachweis von Bedeutung.

Zum Einsatz kommen die direkte Elektronenmikroskopie oder die Immunelektronenmikroskopie, Immunoassay mit Antigennachweis über monoklonale Antikörper sowie die Amplifikation viraler Nukleinsäuren (RT-PCR).

In unserer Studie kamen sowohl der Antigennachweis als auch die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Einsatz.

Im folgenden Teil sollen die Vor- und Nachteile der einzelnen Verfahren sowie ein Vergleich untereinander näher beleuchtet werden:

Im Zeitraum 2002-2006 kam der Antigen-ELISA IDEIA™ von DakoCytomation zum Einsatz. In den darauf folgenden Jahren wurde er durch das PCR-Verfahren abgelöst.

Im Vergleich zur PCR weist IDEIA™ nur eine Sensitivität von 55,4 % auf. Die Spezifität liegt jedoch bei 100 %. Nicht zuletzt wegen der erheblich niedrigeren Sensitivität wurde in unserem Labor letztendlich die Antigen-Screening-Methode durch das PCR-Verfahren abgelöst. Die Firma DakoCytomation hat inzwischen bereits eine überarbeitete, neue Version ihres Antigen-ELISAs erstellt. Dieser zeigt im Vergleich zur PCR jedoch weiterhin eine niedrigere Sensitivität mit 72,8 % (120).

In absoluten Zahlen gesprochen, geht man generell bei der PCR von einer Sensitivität von  $>10^2$  RNS Kopien/ml Stuhlsuspension aus, beim ELISA von  $10^5$  Viruspartikel ml/Stuhlsuspension. Beim Nachweis im Elektronenmikroskop liegt die Sensitivität sogar bei  $10^6$  Viruspartikel ml/Stuhlsuspension (120).

Diverse Untersuchungen zum Vergleich „PCR versus ELISA“ wurden über die letzten Jahre in verschiedenen Laboren durchgeführt, wenngleich auch oftmals nicht publiziert.

So zeigt z.B. der Antigen-ELISA von IDEIA/DAKO 2004 CDC (117) eine im Vergleich zur PCR  $<30$  % Sensitivität für Norovirus Typ 2 bei einer Spezifität von 100 %. Somit ist er letztendlich als Nachweisverfahren nicht geeignet.

Eine Untersuchung 2003 Colindale/London (118) untersuchte den Vergleich zwischen elektronenmikroskopischem Nachweis versus ELISA. Die Sensitivität lag bei 55 % für IDEIA/DAKO und bei 24 % im Elektronenmikroskop. Die Spezifität lag bei beiden bei nahezu 100 %. Als Fazit kann man festhalten, dass der Antigennachweis durch ELISA als alternative Methode bezüglich Screening zur Elektronenmikroskopie bei der Aufklärung von

Ausbrüchen eingesetzt werden kann. Bei negativen Befunden sollte zur Kontrolle jedoch eine PCR-Untersuchung erfolgen.

2003 veröffentlichten Rabenau/Doerr et al. (119) ebenfalls eine Studie, die einen Vergleich der verschiedenen Nachweisverfahren aufzeigte. Die Sensitivitäten lagen bei der nested-PCR bei 94 %, im Elektronenmikroskop bei 58 % und im ELISA von DakoCytomation bei 31 %. Die Spezifitäten lagen der Reihe nach bei 92 %, 98 % und 94 %. Als Schlussfolgerung ersah man alle drei Methoden als nützlich für epidemiologische Untersuchungen von Gastroenteritis-Ausbrüchen. Bei Einzeluntersuchungen sollten jedoch wenigstens zwei der erwähnten Verfahren zum Einsatz kommen.

Auch das Robert-Koch-Institut (RKI) stellte Vergleichsstudien auf. Zwischen Mai und September 2003 erfolgte die Austestung diverser Stuhlrückstellproben aus der Routine-Diagnostik (gelagert bei -20°C). In der PCR-Untersuchung ließen sich 30 positive und 36 negative Proben eruieren, im ELISA von RIDASCREEN/r-Biopharm erwiesen sich von den 30 positiven Nachweisen nur acht als positiv und sieben als grenzwertig. Bei den durch PCR negativen Stühlen waren je 15 positiv bzw. negativ und sechs als grenzwertig eingestuft worden.

Auch ein Vergleich verschiedener ELISA untereinander (RIDASCREEN versus IDEIA) im Vergleich zur PCR wurden durchgeführt. Im Februar 2004 zeigte das RKI bei 16 PCR-positiven Stuhlsuspensionen eine Positivrate von 15 (plus einen grenzwertigen) durch RIDASCREEN und nur sieben positive Proben durch IDEIA. Bei den 19 PCR-negativen Proben waren jedoch alle 19 Proben auch bei IDEIA negativ, bei RIDASCREEN jedoch nur vier. 12 waren positiv und 3 grenzwertig.

Durch weitere Studien konnte folglich dem RIDASCREEN eine Sensitivität von 70 % bei einer Spezifität von nur 55 % zugeschrieben werden. Das Testverfahren durch IDEIA weist eine nur geringe Sensitivität von 38 % bei jedoch 100 % Spezifität auf.

Zusammenfassend ist die RT-PCR durch ihre hohe Sensitivität und Spezifität Goldstandard. Durch sie wurden sogar neue Genotypen gefunden. Als Real-time PCR (one tube) ist sie praktikabel und schnell. Als nested-PCR stellt sie jedoch hohe Anforderungen an die Labore. Auch der höhere Kostenaufwand ist nachteilig zu werten.

Der Antigennachweis durch ELISA ist zwar schnell und kostengünstig, Verbesserungen der bestehenden Verfahren sind jedoch dringend indiziert. So ist der RIDASCREEN (r-Biopharm) aufgrund falsch positiver und der IDEIA (DakoCytomation) wegen falsch negativer Ergebnisse für Einzeluntersuchungen nicht adäquat geeignet. Für

Ausbruchsuntersuchungen, wie es die Praxis derzeit zeigt, ist der ELISA hilfreich, eine Befundbestätigung sollte im Einzelfall jedoch durch einen PCR-Nachweis erfolgen (120).

Zum Schluss sollen aber auch noch einmal die Störfaktoren des PCR-Verfahrens beleuchtet werden.

Dazu gehören:

- Verschleppungen von stark positiven Patientenproben in der Aufbereitung, durch unsauberes Arbeiten
- fluoreszierende Verunreinigungen in Tubes, Deckeln oder im Cycler
- instabile oder alte Sonden, so dass der Farbstoff ausfällt
- Amplifikatverschleppungen
- große Menge an Inhibitoren

Bei den ELISA Tests kommen folgende Einflussgrößen bzw. Störfaktoren in Frage:

- falsche Lagerung des Testkits
- Proben wurden in Transportbehältern gesammelt, die Konservierungsstoffe, tierische Seren, Metall-Ionen, oxidierende Agenzien oder Detergenzien enthalten
- wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben

### **4.3 Epidemiologie der Adenoviren**

Die epidemiologischen Merkmale der Adenoviren sind von Typ zu Typ verschieden. Sie haben jedoch gemeinsam, dass sie durch direkten Kontakt, d.h. fäkal-oral, Inhalation und gelegentlich durch Wasserübertragung weitergegeben werden (55).

Nicht selten kommt es insbesondere in Gemeinschaftseinrichtungen zu örtlich gehäuften Auftreten bis hin zu Kleinepidemien. Die auf dem Meldeweg erfassten, labordiagnostisch bestätigten Fälle geben aber nur einen Bruchteil der tatsächlichen Morbidität wieder, weil die Diagnose meist nur klinisch gestellt wird.

Einige Arten verursachen persistierende, asymptomatische Infektionen von Hals- und Rachenmandeln oder des Magen-Darm-Traktes des Wirtes. Eine Ausbreitung kann dabei über Monate oder Jahre erfolgen.

Die Serotypen 3, 7, 14, 21 verursachen den im Volksmund bekannten Schnupfen („Acute Respiratory Disease“ (ARD)), die Serotypen 11 und 21 die „Akute Hämorrhagische Cystitis“, die Serotypen 1, 2, 3 und 5 Hepatitiden.

Manche Adenoviren sind in einigen Gebieten der Welt endemisch. Dazu zählen beispielsweise die Serotypen 1, 2, 5 und 6. Eine Infektion erfolgt hier bereits meist in der Kindheit.

Andererseits verursachen andere Arten nur sporadische Infektionen mit gelegentlichen Ausbrüchen. So wird zum Beispiel die epidemische Keratokonjunktivitis durch die Serotypen 8, 19 und 37 ausgelöst. Epidemisch auftretende fieberhafte Erkrankungen mit Begleitkonjunktivitis sind oftmals mit Adenoviren assoziiert und treten gehäuft im Umfeld unzureichend chlorierter Schwimmbecken oder kleiner Seen auf.

Gastroenteritiden werden, insbesondere bei Kindern, durch die Serotypen 40, 41 und 31 ausgelöst. Speziell Gastroenteritiden mit gleichzeitiger mesenterialer Lymphadenopathie verursachen die Typen 1, 2, 5 und 6.

Bei einigen Serotypen variiert das klinische Spektrum der infektionsassoziierten Erkrankungen abhängig von der Eintrittspforte. So geht beispielsweise eine Infektion mit Adenovirus 7 durch Inhalation mit schwerwiegenden Erkrankungen der unteren Atemwege einher, während eine orale Übertragung des Virus keine beziehungsweise nur eine milde Infektion verursacht.

Die durch Adenoviren ausgelösten Gastroenteritiden ließen sich in unserer Studie als starke Fraktion neben Norovirus Typ 2 gleich hinter den Rotavirusinfektionen nachweisen. Am Anfang und Ende des untersuchten Zeitraums wurden die höchsten Fallzahlen ermittelt. 2003-2005 gab es jedoch einen Rückgang, der auch in anderen Untersuchungen gefunden wurde. Die hohe Häufigkeitsrate von gastrointestinalen Infektionen durch Adenoviren wurde bereits in den letzten Jahrzehnten beschrieben. So berichtete das British Medical Journal 1988 (121), dass Adenoviren der Gruppe F in den entwickelten Ländern gleich nach den Rotaviren als zweithäufigste Ursache kindlicher, viraler Diarrhoen zu sehen sind und bei 4 - 8 % erkrankter Kinder im Stuhl nachgewiesen werden. Die Studie stellt klar und deutlich die Wichtigkeit von Durchfallerkrankungen durch Adenoviren in entwickelten Ländern dar.

Im Gegensatz dazu wurde eine Studie zitiert, wonach in Brasilien nur 2 % der Kinder mit einer viralen Gastroenteritis Adenovirus-positiv waren (122).

Eine Studie aus Tunesien zeigte vergleichsweise niedrige Infektionsraten. Adenoviren waren im Zeitraum 2003 bis 2005 bei Kindern, die an einer akuten Diarrhoe litten, nur mit 2,7 % vertreten. Rota- und Noroviren waren hier wiederum führend (123).

So war beispielsweise nach einer italienischen Studie 2006 ein nur geringer Anteil an Gastroenteritis erkrankter Kinder durch Adenoviren ausgelöst, der Hauptteil jedoch durch Rotaviren, gefolgt von Noroviren (124).

Ebenfalls zeigte eine epidemiologische Beobachtung in den Niederlanden von 1994 bis 2005 einen nur geringen Prozentsatz von 1 % für Adenovirus-positive Stuhlproben. Der Hauptanteil war mit knapp 80 % den Noroviren zuzuschreiben. Des Weiteren verzeichnete die Studie eine Zunahme an Rotavirusinfektionen in Altersheimen über die letzten Jahre (125).

Betrachtet man jedoch nicht nur die absoluten Fallzahlen, so zeigt sich in unserer Beobachtungsstudie in diesem Zeitraum auch ein Rückgang an eingesendeten zu untersuchenden Stuhlproben auf Adenoviren. Dies mag daran liegen, dass es derzeit noch keine Meldepflicht für Gastroenteritiden durch Adenoviren gibt (der direkte Nachweis im Konjunktivalabstrich ist jedoch meldepflichtig!)

### Saisonalität

Eine jahreszeitliche Häufung in den Wintermonaten, wie in der vorherrschenden Literatur oft beschrieben, konnte nachgewiesen werden, war allerdings nicht so ausgeprägt wie bei den Gastroenteritiden durch Rotaviren. Interessanterweise zeigte sich bei uns sogar ein Peak in den Sommermonaten.

Auch das Robert-Koch-Institut kann keine jahreszeitlichen Häufungen bestätigen.

Ein Blick in andere Länder lässt ähnliche Rückschlüsse zu.

So zeigten sich in einer Studie in Guangzhou (China) im Zeitraum 2005-2007 gehäuft Adenovirusinfektionen in den Wintermonaten. Jedoch ließ sich auch ein Häufigkeitsgipfel in den Monaten März bis August ausmachen (126).

Eine Untersuchung aus Italien bei hospitalisierten Kindern, die an einer Magen-Darm-Infektion durch Adenoviren litten, ergab 2006 einen Peak im Frühling, vorzugsweise März (127).

### Altersverteilung

In der Häufigkeitsverteilung fielen in unserer Studie vor allem Säuglinge, gefolgt von Kleinkindern zwischen 1 und 4 Jahren auf.

Dies belegen auch weitere Untersuchungen:

So zeigt eine Studie aus Irland im Jahr 2006, dass bei einer hohen Rate an hospitalisierten Kindern mit den Symptomen Durchfall und/oder Erbrechen unter 2 Jahren Adenoviren im Stuhl nachgewiesen werden konnten. Als Nachweisverfahren wurde die Real-time PCR eingesetzt, die vorwiegend Adenoviren der Gruppe F mit den Serotypen 40 und 41 detektierte (128).

Eine Studie aus Japan wies bei einer Untersuchung auf virale Gastroenteritisserreger im Zeitraum 1997 bis 1998 bei 75 Kindern, bei denen eine Adenovirusinfektion als Ursache einer Gastroenteritis eruiert werden konnte, eine Altersverteilung wie folgt auf; mehr als  $\frac{3}{4}$  der Patienten waren zwischen 0 und 3 Jahren alt. Ein knappes  $\frac{1}{4}$  betraf die Altersspanne 4 bis 7 Jahre (129).

In der bereits oben zitierten Studie aus Italien (Carraturo 2008) im Zeitraum 2005-2007 wurde die höchste Prävalenz von gastrointestinalen Adenovirusinfektionen bei Kindern von 25 bis 36 Monaten festgestellt (127).

Auch in einer epidemiologischen Erhebung aus Afrika, Nigeria zeigt sich ein Häufigkeitsgipfel von Adenovirusinfektionen bei jungen Patienten im Alter von 25 bis 36 Monaten. Das männliche Geschlecht war gegenüber dem weiblichen Geschlecht mit einem Verhältnis von 2,2: 1 häufiger betroffen. Dieses Ergebnis deckt sich auch mit der Datenlage unserer Beobachtungsstudie, in der Adenovirusinfektionen tendenziell häufiger Jungen betrafen (130).

### Methodik

Als Screeningmethode kam in unserer Studie der Immunoassay der Firma Ridascreen® zum Einsatz.

Dieser zeichnet sich, verglichen mit der PCR, durch eine hohe Spezifität von 100 % und eine jedoch deutlich geringere Sensitivität von 72,7 % aus. Da er sowohl die enteralen, als auch die anderen Infektionstypen gut erfasst, eignet er sich als gängige Screeningmethode.

Neben der Antigen-detektion durch Enzymimmunoassays kommen als Nachweisverfahren außerdem das bereits erwähnte PCR-Verfahren, Virusisolation durch Zellkultur, die Elektronenmikroskopie sowie serologische Tests in Frage.

Der Nukleinsäurenachweis durch die PCR ist heute wegen ihrer Sensitivität und Schnelligkeit Methode der Wahl zum Nachweis von Adenoviren.

Es müssen PCR-Protokolle verwendet werden, die alle relevanten Typen erfassen. Manuelle Arbeitsschritte, die bei der DNA-Extraktion aus den Abstrichen nötig sind, bergen das Risiko von Kreuzkontaminationen und falsch positiven Ergebnissen.

Der Antigen-Nachweis (z.B. IFT, EIA) ist schnell und einfach durchzuführen, unterliegt aber in Sensitivität und Spezifität je nach Reagenzien und durchführendem Labor starken Schwankungen. Deshalb sollte er in der Regel durch die Virusisolierung auf Zellkulturen bestätigt werden. Es handelt sich um eine Referenz- bzw. Bestätigungsmethode, ist aber sehr zeitaufwändig.

Die Typbestimmung wird in der Regel durch Hämagglutinationshemmungsreaktion oder Neutralisation mit typspezifischen Antisera vorgenommen.

Das Prinzip des Hämagglutinations-Hemm-Test (HTT, auch Hirst-Test) basiert darauf, dass virusspezifische Antikörper die Hämagglutination verhindern.

Bestimmte Viren, z.B. auch das Rötelnvirus, besitzen Antigene mit hämagglutinierenden Eigenschaften. Bei einer Infektion werden Erythrozyten durch ein Hämagglutinin des Virus agglutiniert. Im Verlauf der Infektion bilden sich Antikörper, die das Hämagglutinin neutralisieren. In vivo wird dadurch die Adsorption des Virus an die Zielzelle verhindert. In vitro wird die Hämagglutination verhindert.

Der HHT-Titer ist der reziproke Wert der höchsten Serumverdünnung, bei der die Hämagglutination noch verhindert wird.

Das Prinzip des Neutralisationstest (NT) ist ein labortechnisches Verfahren, mit dem Antikörper gegen bestimmte Viren im Serum eines Patienten nachgewiesen werden können. Durch Bindung von Antikörpern an die Oberfläche des Virus wird seine Aufnahme in die Zelle verhindert, so dass es zu keiner Vermehrung mehr kommen kann. Antikörper, die in der Lage sind, die Aufnahme zu blockieren, nennt man *neutralisierende Antikörper*; nur diese werden mit dem NT erfasst. Der NT kann auch zur Quantifizierung von Zellgiften (bakteriellen Toxinen) verwendet werden.

Die Suche nach Antikörpern gegen ein bestimmtes Virus wird wie folgt durchgeführt:

- Eine bestimmte Menge eines Viruspräparats wird zu einer Zellkultur gegeben. Es kommt auf Grund des zytopathischen Effekts des Virus zu einer Zellerstörung.
- In weiteren Ansätzen wird zu Viren und Zellkultur das Patientenserum und Verdünnungen davon gegeben. Sind im Serum ausreichend neutralisierende Antikörper gegen diesen Virus vorhanden, wird der zytopathische Effekt verhindert und die Zellen der Kultur bleiben intakt.
- Zur Bestimmung des Antikörpertiters wird das Patientenserum in unterschiedlichen Kulturen mehr und mehr verdünnt (1:2, 1:4, 1:8 usw.). Als Titer wird die letzte Verdünnung bezeichnet, bei der mehr als 50 % des Zellrasens erhalten bleibt.

Das Verfahren ist jedoch sehr aufwändig und langwierig, da zur Testung eine Zellkultur benötigt wird. Zellkulturen erfordern für die tägliche Laborarbeit ein weitaus größeres Maß an Arbeitsaufwand und Erfahrung als die Nutzung vorgefertigter Test-Kits. Die Spezifität der NT-Reaktion wird jedoch von keinem automatisierten Immunassay erreicht, weshalb der NT vielfach als Referenztest für die Qualitätskontrolle Verwendung findet.

Ein nicht zu unterschätzender Nachteil aller Verfahren ist jedoch die Tatsache, dass Adenoviren über einen längeren Zeitraum ausgeschieden werden können und der Nachweis somit nicht unbedingt den Nachweis einer akuten Erkrankung erbringt. Hier ist das Testergebnis immer in Zusammenhang mit der Klinik zu interpretieren (131).

### Meldepflicht

Da es für Adenoviren (außer dem direkten Nachweis im Konjunktivalabstrich) keine Meldepflicht gibt, sind die hier erhobenen Zahlen nicht auf Bundesebene vergleichbar. Darüber hinaus ist nicht allein der labordiagnostische Nachweis zu melden, sondern es reicht das klinisch-epidemiologisch bestätigte Bild. Zudem gibt es zwischen den Bundesländern Unterschiede. So besteht beispielsweise in den sechs östlichen Bundesländern keine Labormeldepflicht. Eine Arztmeldepflicht besteht jedoch in Sachsen-Anhalt und Thüringen. Wie bereits erwähnt, handelt es sich hier nicht um gastrointestinale Erkrankungen, sondern allein um die Keratokonjunktivitis epidemica, die gerade jetzt im Jahr 2009 noch um das Kriterium „typische Hornhautdefekte“ erweitert wurde.

Seit Einführung des IfSG im Jahre 2001 wurden somit an das Robert Koch-Institut für Deutschland 132 Fälle für das Jahr 2001, 82 Fälle für das Jahr 2002 und 397 Fälle für das Jahr 2003 übermittelt. Der Anstieg der Fallzahlen im Jahr 2003 ist auf mehrere Ausbrüche zurückzuführen, wobei besonders hohe Erkrankungszahlen durch einen Ausbruch, der von zwei Augenarztpraxen ausging, aufgetreten sind (132).

#### 4.4 Epidemiologie der Astroviren

Astroviren kommen weltweit vor und verursachen vornehmlich bei Kindern, aber auch bei älteren und immungeschwächten Personen Durchfallerkrankungen. Die Übertragung erfolgt durch kontaminierte Lebensmittel, Wasser und Schmierinfektion.

Gastroenteritiden durch Astroviren haben in dieser Studie zahlenmäßig einen geringeren Anteil, wobei die Fallzahlen über den untersuchten Zeitraum sogar noch abnahmen.

Insgesamt werden Astroviren als potenzielle Erreger viraler Gastroenteritiden im klinischen Alltag oft unterschätzt bzw. vernachlässigt, so dass häufig erst gar kein Screening infektiöser Stuhlproben auf diesen Erreger erfolgt. Außerdem besteht keine Meldepflicht einer gastrointestinalen Astroviruserkrankung, so dass Vergleichsstatistiken schwierig zu erfassen sind.

Verschiedene Labore publizieren jedoch hin und wieder epidemiologische Charakteristika. So veröffentlichte das „Labor 28“-Magazin im Dezember 2000 eine hohe Beteiligung von Astroviren an Durchfallerkrankungen bei Kindern in Deutschland. Je nach Alter der Kinder variierte die Häufigkeit zwischen 2,5 % und 10 %.

Demnach waren nach deren Ergebnislage Astroviren mit Adenoviren sogar zweithäufigste Ursache viral bedingter Gastroenteritiden gleich nach den Rotaviren (133).

Weitere Studien bestätigen diese Beobachtungen, dass Astroviren nach den Rotaviren die zweithäufigste Ursache viraler Gastroenteritiden bei Kindern sind (134-138).

Untersucht wurden hierbei sowohl nosokomial als auch ambulant erworbene Infektionen, und es wurden Prävalenzen zwischen 2,5% und 16,5% der Erkrankten ermittelt (136, 137).

Die Untersuchungen betrafen hierbei die Länder China (Beijing), Mexico City und Melbourne, Australia.

In einer von Maldonado *et al.* untersuchten Kohorte mexikanischer Kleinkinder waren 26 % aller Durchfallepisoden durch Astroviren verursacht; hier stellten sie sogar das häufigste Enteropathogen dar (139).

Studienlagen aus anderen Ländern wie z.B. aus Sizilien (Italien) zeigten bei einer Untersuchung von 215 Stuhlproben bei pädiatrischen Patienten mit einer Gastroenteritis im Jahr 2003 jedoch eine abweichende Rangfolge. Hier unterlagen Astrovirusinfektionen mit einem Anteil von 7 % den Norovirusprävalenzen mit 18,6 % und diese wiederum den

Rotaviruserkrankungen mit 25,1%.

Interessanterweise traten Astrovirusinfektionen bei den Kindern mit dem höchsten Altersdurchschnitt auf. Den niedrigsten Altersdurchschnitt wiesen Patienten mit Rotavirusinfektionen auf (140).

Des Weiteren belegt eine Studie aus dem Jahr 2007 in Albanien eine ähnliche Rangfolge wie die oben beschriebene Studie aus Sizilien. Hier standen Astrovirusinfektionen sogar an letzter Stelle mit 3,4 %. Rotaviren waren mit 71,4 %, Noroviren mit 12,9 % und Adenoviren mit 12,3 % vertreten (141).

Schaut man über Europa hinaus, kann man jedoch auch andere Datenlagen vorfinden. So war nach einer Untersuchung in Japan im Jahr 1999/2000 das Astrovirus mit einer Prävalenz von 15,9 % der Haupterreger von Ausbrüchen in Kindertagesstätten, gefolgt von Noroviren mit 14,8 % und Adenoviren mit 12,5 %. Rotaviren spielten interessanterweise keine herausragende Rolle (142).

Ein Blick nach Afrika lässt wiederum andere Statistiken aufzeigen:

So zeigten Daten aus Botswana im Jahr 2001-2002 eine nur geringe Prävalenz von 2,7 % für Astrovirus-bedingte Durchfallerkrankungen (143).

Eine ähnliche Datenlage liegt auch für Südafrika vor. Im Zeitraum 1991-1993 konnten bei nur 7 % der infizierten Stuhlproben Astroviren detektiert werden. 20 % der Infektionsrate war hier wieder einmal dem Haupterreger Rotavirus zuzuschreiben (144).

Nigeria zeigt Prozentraten von 6,7 %. Dies dokumentierte eine Studie aus dem Jahr 2002. Interessanterweise wurde hier als Screeningmethode derselbe Enzymimmunoassay (Testkit IDEIA™ von DakoCytomation) verwendet, der auch in unserer epidemiologischen Studie zum Einsatz kam (145).

Nordafrika, speziell Tunesien, zeigte im Zeitraum Januar 2003 bis Juni 2005 ebenfalls nur geringe Fallzahlen für Astrovirus-assoziierte Gastroenteritiden. Hier konnten 4,1 % der infizierten Stuhlproben durch Astroviren identifiziert werden (146).

Die geringste Prozentzahl bietet eine Studie aus der Tschechischen Republik. Im Jahr 2002 konnten bei 496 Kindern im Alter von 3 Wochen bis 15 Jahren Astroviren als Durchfallerreger nur bei einer absoluten Anzahl von zwei Patienten (entsprechend 0,4 %) nachgewiesen werden (147).

Doch nicht nur der Vergleich mit Entwicklungsländern zeigt niedrige Prävalenzen für Astrovirusinfektionen auf:

Eine Studie aus Kalifornien, durchgeführt von September 1998 bis Juni 2000, zeigte bei 5,2 % hospitalisierter Kinder unter 5 Jahren mit einer Magen-Darm-Erkrankung Astroviren als Ursache. Damit spielte dieser Erreger eine untergeordnete Rolle (148).

Insgesamt zeichnet sich kein einheitliches Bild ab bei der Betrachtung von epidemiologischen Charakteristika Astrovirus-assoziiertes Gastroenteritiden. Festhalten lässt sich jedoch die Wichtigkeit dieses Virus als potenziellen Erreger infektiöser Magen-Darm-Erkrankungen. Nicht zuletzt kaschiert die Tatsache einer zurzeit noch eher lockeren Handhabung der Durchführung von Antigenscreenings infektiöser Stuhlproben auf Astroviren geringere Prävalenzen als bisher bekannt und veröffentlicht.

So berichten die USA beispielsweise, dass seit Einführung der Antigenscreeningmethode die Prävalenz von 2,5 % bis auf 9 % aller hospitalisierten Kinder mit einer Gastroenteritis durch Astroviren zugenommen hat (149).

Eine Studie aus Vietnam belegt sogar Astroviren als häufigsten viralen Gastroenteritiserreger bei Kindern im Zeitraum 2005-2006 (150).

Statistisch machen sie in Deutschland 2-8 % aller kindlichen Diarrhoen aus (151) und die Durchseuchung liegt bei 70 % im Alter von 5 Jahren.

Greift man fernerhin verschiedene Patientengruppen heraus, ergeben sich ebenfalls unterschiedliche Ergebnislagen.

Im Rahmen einer in Nordamerika durchgeführten Studie erwachsener, mit dem Humanen Immundefizienz Virus (HIV) infizierter Patienten wurden Astroviren als

häufigstes infektiöses Agens in den Stühlen durchfallkranker Patienten detektiert (152). Die ätiologische Bedeutung pathogener Enteroviren bei HIV-Patienten ist jedoch noch nicht abschließend geklärt und eine vergleichbare in Venezuela durchgeführte Untersuchung konnte einen solchen Zusammenhang nicht nachweisen (153).

Insgesamt zeigt sich bei HIV infizierten Patienten ein erhöhtes Risiko, an enteropathogenen Keimen zu erkranken; Astroviren gehören nach dem Erkenntnisstand der meisten Studien jedoch nicht zu den häufigsten Erregern. Neben vorwiegend opportunistisch-bakteriellen und parasitären Erregern finden sich unter den viralen Erregern vornehmlich CMV, gefolgt von Adeno-, Astro-, Picobirna-, „small round structured“ und Rotaviren.(154) Die Schwere einer Infektion mit Astroviren liegt im Durchschnitt bei HIV Patienten (sowohl Kinder als auch Erwachsene) höher als bei nicht immunsupprimierten (155).

In einer prospektiven Studie zur Ätiologie von Diarrhöen nach Knochenmarkstransplantationen wurden 13% der Durchfallepisoden auf gastrointestinale Infektionen zurückgeführt, von denen die meisten (35%) mit Astrovirusinfektionen im Zusammenhang standen (156).

#### Saisonalität

Astrovirusinfektionen zeigen in unserer Studie keine Präferenz für eine bestimmte jahreszeitliche Häufung. Insgesamt sind die Fallzahlen sehr niedrig, so dass generelle Schlussfolgerungen schwierig zu ziehen sind.

Andere Studien beschreiben ein gehäuftes Auftreten in den gemäßigten Zonen im Winter und im Frühling (157).

So zeigt eine 3- Jahresstudie aus Barcelona, Spanien ein gehäuftes Auftreten in den Wintermonaten, obwohl auch von einigen Fällen im Sommer berichtet wird (158).

Die bereits weiter oben zitierte Studie aus Südafrika beschreibt ein gehäuftes Auftreten in den Herbst- und frühen Wintermonaten.

Auch in Nigeria zeigt sich ein Peak in den Wintermonaten.

In tropischen Regionen berichtet die Literatur über gehäuftes Auftreten während der Regenzeit (159).

### Geschlechtsverteilung

In unserer epidemiologischen Beobachtung zeigt sich ein mäßiges Überwiegen des weiblichen Geschlechts. Hier ist jedoch die niedrige Fallzahl zu berücksichtigen.

In der Literatur gehen die Meinungen auseinander. So zeigt die bereits oben erwähnte Studie aus Vietnam ein Geschlechtsverhältnis m:w von 2,3:1.

### Altersverteilung

In unserer Studie zeigte die Altersverteilung eine deutliche Dominanz an Patienten < 1 Jahr, wie es auch weitere Studien der letzten Jahre belegen, so z.B. eine Studie aus Argentinien, die Gastroenteritiden durch Astroviren bei Kindern unter 3 Jahren untersuchte (160).

Die bereits weiter oben zitierte Studie aus Barcelona, Spanien zeigt ebenfalls einen Häufigkeitsgipfel bei jungen Patienten im Alter zwischen 2 und 4 Jahren.

Darüber hinaus konnte die Studie interessanterweise Präferenzen der verschiedenen Serotypen für unterschiedliche Altersgruppen differenzieren.

Bereits Ende der 90er Jahre zeigten diverse Studien eine Präferenz von Astrovirus-Infektionen bei Kindern während der ersten eineinhalb Lebensjahre (161-163).

Trotzdem konnte aber auch gezeigt werden, dass sie bei älteren Menschen und Immunsupprimierten auftreten (164-166).

Vereinzelt liegen des Weiteren Berichte über Astrovirus-assoziierte Gastroenteritisausbrüche unter Schulkindern und gesunden jungen Erwachsenen vor (167, 168).

Die Unterbringung prädisponierter Personen in Einrichtungen wie Kindertagesstätten oder Seniorenheimen begünstigt das Auftreten epidemischer Ausbrüche erheblich. Im Rahmen solcher Ausbrüche wurden, unter Verwendung unterschiedlicher diagnostischer Methoden, Infektionsraten zwischen 44% und 89% festgestellt (169, 170).

Ebenso ist das Risiko nosokomialer Infektionen für Patienten mit gastrointestinalen Störungen erhöht (171).

## Epidemiologische Aspekte der unterschiedlichen Astrovirus-Serotypen

Die Verteilung der sieben humanen Astrovirus-Serotypen ist regional unterschiedlich. Als weltweit und damit auch in Deutschland vorherrschend gilt jedoch der Serotyp 1, er wird mit 58 - 92% der Astrovirus-assoziierten Gastroenteritiden in Zusammenhang gebracht. Das Vorkommen der Serotypen 2 bis 7 variiert in Abhängigkeit von der betrachteten geografischen Region; allgemein lässt sich sagen, dass das Auftreten der Serotypen 2, 3 und 4 weniger häufig ist, während die Serotypen 5, 6 und 7 nur selten nachgewiesen werden (172, 173).

Ergebnisse seroepidemiologischer Studien deuten auf den Erwerb von Antikörpern im frühen Kindesalter hin. Insbesondere gegen Astrovirus-Serotyp 1 gerichtete Antikörper besitzen eine hohe Seroprävalenz (Angaben zwischen 90% und 94%) (174-176). Nicht eindeutig abgeklärt ist die Frage, ob die Immunität gegen Astroviren typenspezifisch ist (175, 177) oder ob es zu Kreuzreaktionen der Antikörper kommt (176).

## Methodik

Drei Nachweismethoden stehen im Vordergrund der Astrovirus-Diagnostik: die Elektronenmikroskopie, der Enzym-Immuno-Assay (EIA) und die Polymerase-Ketten-Reaktion unter Verwendung von Reverser Transkriptase (RT-PCR).

Bei der schnell durchführbaren Elektronenmikroskopie handelt es sich um das klassische Verfahren, das jedoch als vergleichsweise wenig sensitiv eingeordnet wird (178). Astroviren entgehen der Elektronenmikroskop-Diagnostik recht häufig, und es bedarf einer fundierten Erfahrung des Mikroskopierenden. Des Weiteren ist eine ausreichend hohe Konzentration der Viren im Probenmaterial für die erfolgreiche Detektion von ausschlaggebender Bedeutung. Nur etwa 10 % der Viruspartikel weisen das charakteristische Sternmotiv auf und wiederholtes Einfrieren und Auftauen mindern den Anteil deutlich erkennbarer Astroviren wahrscheinlich noch weiter (179).

Obwohl Fehldiagnosen nicht selten vorkommen (180), wird die Elektronenmikroskopie nach wie vor zur Diagnostik eingesetzt (181, 182).

In unserer Studie kam der Immunoassay mittels Antigennachweis der Firma Ridascreen® zum Einsatz, der alle sieben Serotypen erkennen kann. Als allgemeine Screeningmethode eignet er sich gut in Bezug auf Kosten- und Nutzaufwand. Ferner zeichnet er sich gegenüber der Elektronenmikroskopie durch eine 10–100mal höhere Sensitivität (91%) aus und seine Spezifität liegt bei 98%. Er ermöglicht die schnelle Detektion von Astrovirus-Antigenen und kommt vor allem in Studien zum Einsatz, in denen eine große Probenzahl beurteilt werden muss (183).

Die seit 1993 zum Astrovirennachweis eingesetzte spezifische Polymerase-Ketten-Reaktion unter Verwendung von Reverser Transkriptase (RT-PCR) ist zeit- und arbeitsaufwendiger, aber auch sensitiver als der EIA. Verglichen mit der RT-PCR weist der EIA nur eine Sensitivität von 89,2 % sowie eine Spezifität von 87,3 % auf.

RT-PCRs bieten die Möglichkeit, die Epidemiologie von Astrovirusinfektionen noch gründlicher zu definieren und eröffnen die Chance der molekularen Charakterisierung von Astrovirusinfektionen (159, 165).

Sie kommt beim epidemiologisch wichtigen Nachweis klinisch inapparenter Astrovirusinfektionen zum Einsatz, die zur Ausscheidung sehr geringer Mengen von Viruspartikeln führen (139, 165). Mehrere Genomabschnitte sind für diagnostische PCRs geeignet. PCR Systeme, die eine hochkonservierte Region am 3'-Ende des Genoms amplifizieren, detektieren, je nach Auswahl der Oligonukleotid-Primer, mindestens sieben der bekannten Serotypen (184). Dasselbe trifft für einen Bereich höherer Divergenz am 5'-Ende des ORF 2 (185-187) sowie für einen moderat variablen Abschnitt des ORF 1a zu (188).

Die Amplifikation eines Genomabschnittes macht dessen molekulare Charakterisierung möglich. Damit ist auch die Gelegenheit zur phylogenetischen Analyse gegeben, die einen wichtigen Beitrag zum Verständnis der Epidemiologie zirkulierender Astroviren leistet (162, 188).

Daneben besteht die Möglichkeit der Anzucht. Sie ist aber nur wenigen Speziallaboren vorbehalten, weist jedoch sowohl eine hohe Sensitivität als auch Spezifität auf bei niedrigem Kostenaufwand.

#### **4.5 Anmerkung zur Meldepflicht**

Die Vollständigkeit der Meldedaten wird u.a. durch die Meldedisziplin der ambulant oder stationär behandelnden Ärzte und der labordiagnostischen Einrichtungen beeinflusst. Insbesondere die Beachtung der Meldepflicht der behandelnden Ärzte erscheint verbesserungswürdig. Einige Meldungen lassen sich aufgrund unvollständiger Meldedaten dem jeweiligen Bundesland nicht zuordnen. Deshalb kann die Summe der von den 16 Bundesländern gemeldeten Fälle von der Gesamtsumme in Deutschland abweichen. Es ist davon auszugehen, dass aufgrund der aufwendigen Diagnostik und des charakteristischen Krankheitsbildes nicht bei jedem Ausbruch der verursachende Erreger identifiziert wird und dadurch ein erheblicher Teil insbesondere der ambulant behandelten Gastroenteritiden unerfasst bleibt. Diese Fälle werden zum Teil nach § 6 Abs. 1 Nr. 2b Infektionsschutzgesetz gemeldet und übermittelt, können aber aufgrund des fehlenden Erregernachweises für die Jahresstatistik nicht berücksichtigt werden.

#### **4.6 Anmerkung zum Infektionsschutzgesetz (IfSG)**

Das deutsche Infektionsschutzgesetz (IfSG, seltener: InfSchG) regelt seit dem 1. Januar 2001 die Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen. Es wurde vom Deutschen Bundestag mit Zustimmung des Bundesrats am 20. Juli 2000 beschlossen, im Bundesgesetzblatt am 25. Juli 2000 veröffentlicht und trat am 1. Januar 2001 in Kraft.

Damit traten folgende bestehende Gesetze und Verordnungen außer Kraft:

1. Bundesseuchengesetz
2. Gesetz zur Bekämpfung der Geschlechtskrankheiten
3. Laborberichtsverordnung
4. Verordnung über die Ausdehnung der Meldepflicht auf die humanen spongiformen Enzephalopathien
5. Erste Verordnung zur Durchführung des Gesetzes zur Bekämpfung der Geschlechtskrankheiten
6. Zweite Verordnung zur Durchführung des Gesetzes zur Bekämpfung der Geschlechtskrankheiten

Das Infektionsschutzgesetz ist eine bundesrechtliche Regelung auf dem Gebiet der Gefahrenabwehr, die ursprünglich den Ländern vorbehalten ist. Da gerade bei Seuchen und Infektionen Gefahren sehr schnell über Ländergrenzen hinaus entstehen können, erscheint eine bundesrechtliche Regelung sehr sinnvoll. Zugleich nimmt das Infektionsschutzgesetz Anpassungen am Gemeinschaftsrecht (Abschnitt 11) vor. Wichtige Abschnitte sind die Verhütung (Abschnitt 4) und die Bekämpfung (Abschnitt 5) von übertragbaren Krankheiten wie auch das hierfür notwendige Meldewesen (Abschnitt 3). Zudem werden die Gesundheitsanforderungen beim Umgang mit Lebensmitteln festgelegt (Abschnitt 8).

## **5.0 Literaturverzeichnis**

1. Franck S, Doerr HW. Nosokomiale Virusinfektionen des Gastrointestinaltraktes. In: Rabenau HF, Thraenhard O, Doerr HW, Hrsg. Nosokomiale Virusinfektion – Erkennung und Bekämpfung. Lengerich-Berlin-Riga-Rom-Wien-Zagreb: Pabst Science, 2001.
2. Weinke T, Liesenfeld O, Siegl G. Darm. In: Marre R, Mertens T, Trautmann M, et al., Hrsg. Klinische Infektiologie. München: Urban & Fischer, 2000: 384-6.
3. WHO. Rotavirus vaccines. Wkly Epidemiol Rec 2007; 32: 285-96 (<http://www.who.int/wer/2007/wer8232.pdf>).
4. Fragen und Antworten zur Möglichkeit einer Impfung gegen Rotaviruserkrankungen. Epidemiologisches Bulletin des Robert Koch Instituts, 12. Januar 2007, Nr. 2.
5. Adler JL, Zickl R. Winter vomiting disease. J Inf Dis 119 (1969) 65-69.
6. Kapikian AZ, Wyatt RG, Dolin R, Thornhill ThS, Kalica AR, Chanock, RM: Visualization by immune electron microscopy of a 27 nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. J Virol 10 (1972) 1075-1081.
7. Townsend TR, Bolyard EA, Yolken RH, et al. (1982): Outbreak of acute gastroenteritis associated with astrovirus among students and teachers in Osaka, Japan. J Infect Dis 170: 439-443.
8. Bishop, RF, Davidson GP, Holmes IH, Ruck BJ: Virusparticles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. Lancet, ii (1973) 1281-83.
9. Flewett TH, Bryden AS, Davies H: Virusparticles in gastroenteritis. Lancet ii (1973) 1497.
10. Riecken EO, Menge H: Klinik der gastrointestinalen Viruserkrankungen. In: Gsell O, Krech U, Mohr W (eds.), Klinische Virologie, Urban & Schwarzenberg, München/Wien/Baltimore, 1986, 85 – 100.
11. Desselberger U, Wolleswinkel-van den Bosch J, Mrukowicz J et al: Rotavirus types in Europe and their significance for vaccination. Pediatr Infect Dis J 2006; 25: 30-41.
12. Bishop RF, Barnes GL, Cipriani E, Lund JS: Clinical immunity after neonatal rotavirus infection. N Engl J Med 309 (1983) 72-76.
13. Collins J, Starkey WG, Wallis TS, Clarke GJ, Worton KJ, Spencer AJ, Haddon SJ, Osborne MP, Candy DCA, Stephen J: Intestinal enzyme profiles in normal and rotavirus-infected mice. J Ped Gastroenterol Nutrit 7 (1988) 264-272.
14. Spencker FB, Weiss J, Mehner E, Handrick W, Hüchel D, Bergmann L, Bennek J: Zur Virusätiologie der nekrotisierenden Enterokolitis des Neugeborenen. Deutsch Gesundheitswesen 38 (1983) 573-578.
15. Mavromichalis J, Evans N, McNeish AS, Bryden AS, Davies HA, Flewett TH: Intestinal damage in rotavirus and adenovirus gastroenteritis assessed by d-xylose malabsorption. Arch Dis Child 52 (1977) 589-591.

16. Champsaur H, Questiaux E, Prevot J et al: Rotavirus carriage, asymptomatic infection, and disease in the first two years of life I. Virus shedding. *J Infect.Dis* 1984; 149(5): 667.
17. Graham DY, Sackman JW, Estes MK. Pathogenesis of rotavirus induced diarrhea. *Dig Dis Sci* 1984; 29: 1028.
18. Widdowson MA, Bresee JS, Gentsch JR, Glass RI (2004): Rotavirus disease and its prevention. *Curr Opin Gastroenterol* 21: 26-31.
19. Goldwater PN, Chrystie IL, Bonatlava JE: Rotaviruses and the respiratory tract. *Br Med J* 2 (1979) 1551.
20. Hieber JP, Shelton SH, Nelson JD, Leon J, Mohs E: Comparison of human rotavirus disease in tropical and temperate settings. *Am J Dis Child* 132 (1978) 583-585.
21. Maass G: Rotaviren als Ursache der akuten Gastroenteritis. *Münch Med Wochenschr* 130 (1988) 873-874.
22. Rodriguez WJ, Kim HW, Arronio JO, Brandt CD, Chanock RM, Kapikian AZ, Wyatt RG, Parrott RH: Clinical features of acute gastroenteritis associated with human reovirus-like agent in infants and young children. *J Pediatr* 91 (1977) 188-193.
23. Eiden JJ, Verleur DG, Vonderfecht SL, Yolken RH: Duration and pattern of asymptomatic rotavirusshedding by hospitalized children. *J Ped Inf Dis* 7 (1988) 564-570.
24. Flores J, Nakagomi O, Nakagomi T, Glass R, Gorzig-Lia M, Askao J, Hoshino Y, Perez-Schael I, Kapikian A: The role of rotaviruses in pediatric diarrhea. *J Ped Inf Dis* 5 (1986) 53-62.
25. Hamilton JR: Viral enteritis. *Ped Gastroenterol* 35 (1988) 89-101.
26. Husain M, Seth P, Broor S: Detection of group A rotavirus by reverse transcription and polymerase chain reaction in feces from children with acute gastroenteritis. *Arch Virol* 1995; 140: 1225.
27. Kasempimolporn S, Lousrriotchanul S, Sinarachatanant P et al: Polyacrylamide gel electrophoresis and silver staining for detection of rotavirus in stools from diarrheic patients in Thailand. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 158.
28. Harms HK: Die orale Rehydration bei der akuten Säuglingsenteritis. *Monatsschr Kinderheilkd* 132 (1984) 501-502.
29. Bishop RF, Barnes GL, Cipriani E., Lund JS: Clinical immunity after neonatal rotavirus infection. *N Engl J Med* 309 (1983) 72-76.
30. Allwinn R, Stürmer M, Doerr HW: Nosokomiale virale Gastroenteritiden in der Pädiatrie. *Krankenhausyng Infektionsverhüt* 2003; 25: 187-90.
31. Poppe M, Ehlken B, Rohwedder A et al: Epidemiologie und Klinik von Rotavirus-Gastroenteritiden bei hospitalisierten Säuglingen und Kleinkindern in Deutschland. *Monatsschr Kinderheilkd* 2004; 19: 491-6.

32. Marc E, Biscardi S, Soulier M et al: Nosocomial rotavirus infections in a pediatric unit: surveillance during four successive winters. *Med Mal Infect* 2007; 37: 61-6.
33. Holländer R: Die Rotavirusinfektion des älteren Kindes und des Erwachsenen. *Immun Infekt* 15 (1987) 216-219.
34. Green KY (2007): The Noroviruses. In *Fields Virology, Fifth Edition*. Knipe DM und Howley PM, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, New York. Vol. I: 949-979.
35. Zahorsky J (1929): Hyperemesis hiemis or the winter vomiting disease. *Archives of Paediatrics* 46:391-395.
36. Gordon I, Meneely JK, Currie GD, Chicoine A (1953). Clinical laboratory studies in experimentally-induced epidemic nonbacterial gastroenteritis. *J Lab Clin Med* 41:133-141.
37. Kapikian AZ, Wyatt RG, Dolin R, Thornhill TS, Kalica AR, Chanock RM (1972): Visualization by Immune Electron Microscopy of a 27 nm Particle Associated with Acute Infectious Nonbacterial Gastroenteritis. *J Virol* 10(5): 1075-1081.
38. Kapikian AZ (2000): The discovery of the 27 nm Norwalk virus: An historic perspective. *The Journal of Infectious Diseases* 181(2): 295-302.
39. Greenberg HB, Valdesuso JR, Kalica AR, Wyatt RG, McAuliffe VJ, Kapikian AZ, Chanock RM (1981): Proteins of Norwalk Virus. *J Virol* 37(3):994-999.
40. Jiang X, Graham DY, Wang K, Estes MK (1990): Norwalk virus genome cloning and characterization. *Science* 250:1580-1583.
41. Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA (2005): Family Caliciviridae. In *Virus Taxonomy – Classification and Nomenclature of Viruses. Eight Report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses*. Fauquet CM, Mayo MA et al. Elsevier Academic Press, San Diego, California, USA. Vol: 843-851.
42. Schreiber DS, Blacklow NR, Trier JS: The mucosal lesion of the proximal small intestine in acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *N Engl J Med* 1973; 288; 1318.
43. Blacklow NR, Dolin R, Feson DS et al: Acute infectious nonbacterial gastroenteritis; Etiology and pathogenesis. *Ann Intern Med* 1972; 76: 993.
44. Agus SG, Dolin R, Wyatt RG et al: Acute infectious nonbacterial gastroenteritis: intestinal histopathology. *Ann Intern Med* 1973; 79: 18.
45. Kaplan JE, Gary GW, Baron RC, Singh N, Schonberger LB, Feldmann R, Greenberg HB (1982): Epidemiology of Norwalk gastroenteritis and the role of Norwalk virus in outbreaks of acute nonbacterial gastroenteritis. *Ann Intern Med* 96: 756-761.
46. Lewis D, Ando T, Humphrey CD et al: Use of solid-Phase immune elektron microscopy for classification of Norwalk-like viruses into six antigenic groups from 10 outbreaks of gastroenteritis in the United States. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 501.

47. Ando T, Monroe SS, Joel JS, Glass RI: A one-tube method of Reverse transcription-PCR to efficiently amplify a 3-kilobase Region from the RNA polymerase gene to the poly(A) tail of round structured viruses (Norwalk-like viruses). *J Clin Microbiol* 1997; 35: 570.
48. Steinhoff MC, Douglas RG, Greenberg HB et al (1980): Bismuth subsalicylate therapy of viral gastroenteritis. *Gastroenterology* 78: 1495-1499.
49. Gallimore CI, Cubitt DW, Du Plessis N, Gray JJ (2004): Asymptomatic and Symptomatic Excretion of Noroviruses during a Hospital Outbreak of Gastroenteritis. *J Clin Microbiol* 42(5):2271-2274.
50. Hutson AM, Atmar RL, Estes MK (2004). Norovirus disease: changing epidemiology and host susceptibility factors. *Trends Microbiol* 12(6): 279-87.
51. Adrian T, Pring-Akerblom P. Adenoviren. Kapitel 41. In: Doerr HW, Gerlich WH, Hrsg. *Medizinische Virologie*, Kap 41. Stuttgart: Thieme, 2002: 363-72.
52. Krech U: Einteilung der humanpathogenen Viren. *Virologische Nachweismethoden*. In: Gsell O, Krech U, Mohr W (eds.), *Klinische Virologie*, Urban & Schwarzenberg, München/Wien/Baltimore 1986, 3-8, 8-14.
53. Madeley CR, Path FRC: The emerging role of adenoviruses as inducers of gastroenteritis. *J Ped Inf Dis* 5 (1986) 63-74.
54. Schoenemann W: Bedeutung von Adenovirusinfektionen im Säuglings- und Kleinkindesalter. *Monatsschr Kinderheilk* 136 (1988) 680-686.
55. Bhan MK, Raj P, Bhandari N, Svensson L, Stintzing G, Prasad K, Jayashree S, Srivastava R: Role of enteric adenoviruses and rotaviruses in mild and severe acute enteritis. *J Ped Inf Dis* 7(1988) 320-323.
56. Madeley CR, Path FRC: The emerging role of adenoviruses as inducers of gastroenteritis. *J Ped Inf Dis* 5 (1986) 63-74.
57. Mavromichalis J, Evans N, McNeish AS, Bryden AS, Davies HA, Flewett TH: Intestinal damage in rotavirus and adenovirus gastroenteritis assessed by d-xylose malabsorption. *Arch Dis Child* 52 (1977) 589-591.
58. Wickham TJ, Mathias P, Cheresch DA, Nemerow GR: Integrins Alpha v beta 3 and Alpha v beta 5 promote adenovirus types 40 and 41 in Houston day care centers. *J Pediatr* 1992; 120; 516.
59. Uhnöo I, Olding-Stenkvisst E, Kreuger A: Clinical features of acute gastroenteritis associated with rotavirus, enteric adenovirus and bacteria. *Arch Dis Child* 61 (1986) 732-738.
60. Shimizu H, Phan TG, Nishimura S et al: An outbreak of adenovirus serotype 41 infection in infants and children with acute gastroenteritis in Maizuru City. *Jpn Infect Genet Evol* 2007;7:279-84.

61. Hermann JE, Perron-Henry DM, Blacklow NR: Antigen detection with monoclonal antibodies for the diagnosis of adenovirus gastroenteritis. *J Infect Dis* 1987; 155:1167.
62. Allard A, Albinsson B, Wadell G: Detection of adenoviruses in stools from healthy persons and patients with diarrhea by two-step polymerase chain reaction. *J Med Virol* 1992; 37: 149.
63. Sabroe I, McHale J, Tait DR et al: Treatment of adenoviral pneumonitis with intravenous ribavirin and immunoglobulin. *Thorax* 1995; 50: 1219.
64. Ribaud P, Scieux C, Freymuth F et al: Successful treatment of adenovirus disease with intravenous cidofovir in an unrelated stem-cell transplant recipient. *Clin Infekt Dis* 1999; 28: 690.
65. Barraza EM, Ludwig SL, Gaydos JC, Brundage JF: Reemergence of adenovirus type 4 acute respiratory disease in military trainees: Report of an outbreak during a lapse in vaccination. *J Infect Dis* 1999; 79: 1531.
66. Caul EO and Appleton H (1982): The electron microscopical and physical characteristics of small round human fecal viruses: an interim scheme for classification. *J Med Virol* (Band 9), No 4. 257-265.
67. Glass RI, Noel J, Mitchell D, Hermann JE, Blacklow NR, Pickering LK, Dennehy P, Ruiz-Palacios G, de Guerrero ML, and Monroe SS (1996): The changing epidemiology of astrovirus-associated gastroenteritis: a review, *Arch Virol Suppl* (Band 12: 287-300).
68. Kurtz J and Lee T (17 – 11 – 1978): Astrovirus gastroenteritis age distribution of antibody, *Med Microbiol Immunol (Berl.)* (Band 166), Nr. 1-4, 227-230.
69. Lee TW and Kurtz JB (1981): Serial propagation of astrovirus in tissue culture with the aid of trypsin, *J Gen Virol* (Band 57), Nr. Pt 2, 421-424.
70. Herrmann JE, Nowak NA, Perron-Henry DM, Hudson RW, Cubitt WD, and Blacklow NR (1990): Diagnosis of astrovirus gastroenteritis by antigen detection with monoclonal antibodies, *J Infect Dis* (Band 161), Nr. 2, 226-229.
71. Grohmann GS, Glass RI, Pereira HG, Monroe SS, Hightower AW, Weber R, and Bryan RT (1 – 7 – 1993): Enteric viruses and diarrhea in HIV-infected patients. Enteric Opportunistic Infections Working Group, *N Engl J Med* (Band 329), Nr. 1, 14-20.
72. Monroe SS, Jiang B, Stine SE et al. (1993): Subgenomic RNA sequence of human astrovirus supports classification of Astroviridae as a new family of RNA viruses. *J Virol* 67: 3611-3614.
73. Madeley CR and Cosgrove BP (6-9-1975): 28 nm particles in faeces in infantile gastroenteritis, *Lancet* (Band 2). 124.
74. Carter MJ and Willcocks MM (1996): The molecular biology of astroviruses, *Arch Virol Suppl* (Band 12: 277-85).

75. Mendez-Toss M, Romero-Guido P, Munguia ME, Mendez E, and Arias CF (2000): Molecular analysis of a serotype 8 human astrovirus genome, *J Gen Virol* (Band 81 Pt 12), 2891-2897.
76. Monroe SS, Carter MJ, Herrmann JE, Kurtz JB, and Matsui SM (1995): *Astroviridae*, Murphy FA, Fauquet CM, Bishop DHL, Ghabrial SA, Jarvis AW, Martelli GP, Mayo MA, and Summers MD eds, *Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses*. 364-367, Springer, Wien, New York.
77. Geigenmuller U, Ginzton NH, and Matsui SM (1997): Construction of a genome-length cDNA clone for human astrovirus serotype 1 and synthesis of infectious RNA transcripts, *J Virol* (Band 71), Nr 2, 1713-1717.
78. Monroe SS, Jiang B, Stine SE, Koopmans M, and Glass RI (1993): Subgenomic RNA sequence of human astrovirus supports classification of *Astroviridae* as a new family of RNA viruses, *J Virol* (Band 67), Nr 6, 3611-3614.
79. Matsui SM (1995): *Astroviruses*, MJ Blaser, PD Smith, JI Ravdin, HB Greenberg and RL Guerrant ed., *Infections of the gastrointestinal tract*, 1035-1045, Raven Press Ltd., New York NY.
80. Mertens T, Haller O, Klenk HD: *Astroviren*. In: *Aufl. München: Urban & Fischer, 2004: 39-42.*
81. Cubitt WD, Mitchell DK, Carter MJ, Willcocks MM, and Holzel H (1999): Application of electronmicroscopy, enzyme immunoassay, and RT-PCR to monitor an outbreak of astrovirus type 1 in a paediatric bone marrow transplant unit. *J Med Virol* (Band 57), Nr 3, 313-321.
82. Matsui SM and Greenberg HB (1996): *Astroviruses*. Fields BN, Knipe DM, Howley PM et al, *Fields Virology, Third Edition*, 811-824, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia.
83. Noel JS, Lee TW, Kurz JB et al (1995): Typing of human astroviruses from clinical isolates by enzyme immunoassay and nucleotide sequencing. *J Clin Microbiol* 33: 797-801.
84. Bjorkholm M, Celsing F, Runarsson G, and Waldenstrom J (1995): Successful intravenous immunoglobulin therapy for severe and persistent astrovirus gastroenteritis after fludarabine treatment in a patient with Waldenstrom's macroglobulinemia. *Int J Hematol* (Band 62), No 2, 117-120.
85. Waters V, Ford-Jones EL, Petric M et al (2000): Etiology of community-acquired pediatric viral diarrhea: a prospective longitudinal study in hospitals, emergency departments, pediatric practices, and child care centers during the winter outbreak, 1997-1998. *Pediatr Infect Dis* 19: 843-850.
86. Soriano-Gabarró M, Mrukowicz J, Vesikari T, Verstraeten T: Burden of rotavirus disease in European Union countries. *Pediatr Infect Dis J* 2006 Jan; 25 (1 Suppl): 7-11.
87. Bernstein DI: Rotavirus overview. *Pediatr Infect Dis J*. 2009 Mar;28(3 Suppl):S50-3.

88. Mast TC, DeMuro-Mercon C, Kelly CM, Floyd LE, and Walter EB: The impact of rotavirus gastroenteritis on the family. *BMC Pediatr* 2009; 9: 11. Published online 2009 February 6.
89. Jahresstatistik des Robert Koch Instituts. Berlin: Robert Koch Institut, 2005 ([http://www.rki.de/cln\\_49/nn\\_199850/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/Jahresstatistik\\_2005.html](http://www.rki.de/cln_49/nn_199850/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/Jahresstatistik_2005.html))
90. Jin Y, Cheng WX, Yang XM, Jin M, Zhang Q, Xu ZQ, Yu JM, Zhu L, Yang SH, Liu N, Cui SX, Fang ZY, Duan ZJ: Viral agents associated with acute gastroenteritis in children hospitalized with diarrhea in Lanzhou, China. *J Clin Virol* 2009 Mar;44(3):238-41. Epub 2009 Feb 6.
91. Ali NK, Bhutta ZA: A review of rotavirus diarrhea in Pakistan: how much do we know? *J Coll physicians Surg Pak* 2003 May;13(5):297-301.
92. Kheyami AM, Cunliffe NA, Hart CA: Rotavirus infection in Saudi Arabia. *Ann Saudi Med* 2006 May-Jun;26(3):184-91.
93. Marie-Cardine A, Gourelain K, Mouterde O, Castignolles N, Hellot MF, Mallet E, Buffet-Janvresse C: Epidemiology of acute viral gastroenteritis in children hospitalized in Rouen, France. *Clin Infect Dis* 2002 May 1;34(9):1170-8. Epub 2002 Apr 1.
94. Kiulia NM, Kamenwa R, Irimu G, Nyangao JO, Gatheru Z, Nyachio A, Steele AD, Mwenda JM: The epidemiology of human rotavirus associated with diarrhoea in Kenyan children: a review. *J Trop Pediatr* 2008 Dec;54(6):401-5. Epub 2008 Jul 1.
95. Nguyen TV, Van PL, Huy CL, and Weintraub A: Diarrhea Caused by Rotavirus in Children Less than 5 Years of Age in Hanoi, Vietnam. *J Clin Microbiol* 2004 December; 42(12): 5745–5750.
96. Uchida R, Pandey BD, Sherchand JB, Ahmed K, Yokoo M, Nakagomi T, Cuevas LE, Cunliffe NA, Hart CA, and Nakagomi O: Molecular Epidemiology of Rotavirus Diarrhea among Children and Adults in Nepal: Detection of G12 Strains with P[6] or P[8] and a G11P[25] Strain. *J Clin Microbiol* 2006 October; 44(10): 3499–3505.
97. Valencia-Mendoza A, Bertozzi SM, Gutierrez JP, and Itzler R: Cost-effectiveness of introducing a rotavirus vaccine in developing countries: The case of Mexico. *BMC Infect Dis* 2008; 8: 103.
98. Moyo SJ, Gro N, Kirsti V, Matee MI, Kitundu J, Maselle SY, Langeland N, and Myrmel H: Prevalence of enteropathogenic viruses and molecular characterization of group A rotavirus among children with diarrhea in Dar es Salaam Tanzania. *BMC Public Health* 2007; 7: 359. Published online 2007 December 27.
99. Ward RL, McNeal MM, and Steele AD: Why does the world need another rotavirus vaccine? *Ther Clin Risk Manag* 2008 February; 4(1): 49–63.
100. Forster J, Banz K, Heininger U et al.: Rotaviren in Deutschland (2001–2006); Epidemiologie von Erkrankungen und Bewertung der verfügbaren Rotavirusimpfstoffe ; Zeitschrift Monatsschrift Kinderheilkunde, Verlag Springer Berlin/Heidelberg, Vol. 155, No. 2/Februar 2007, 167-175.

101. Schneider T, Mankertz J, Jansen A et al.: Norovirusinfektionen- häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. Dt. Ärzteblatt 2005; 102: A 2551- 2556.
102. Reuter G, Vennema H, Koopmans M et al: Epidemic spread of recombinant noroviruses with four capsid types in Hungary. J Clin Virol 2006; 35: 84-8.
103. Maunula L, Bonsdorff CH von: Norovirus genotypes causing gastroenteritis outbreaks in Finland 1998-2002. J Clin Virol 2005; 34:186-94.
104. Fankhauser RL, Monroe SS, Noel JS et al: Epidemiologic and molecular trends of « norwalk-like viruses » associated with outbreaks of gastroenteritis in the United States. J Infect Dis 2002; 186: 1-7.
105. [http://www.gesundheitsplattform.brandenburg.de/sixcms/detail.php?gsid=bb2.c.479417.d&template=gesi\\_altersverteilung\\_d](http://www.gesundheitsplattform.brandenburg.de/sixcms/detail.php?gsid=bb2.c.479417.d&template=gesi_altersverteilung_d)
106. [http://cdl.niedersachsen.de/blob/images/C47607699\\_L20.pdf](http://cdl.niedersachsen.de/blob/images/C47607699_L20.pdf)
107. <http://www.vitanet.de/krankheiten-symptome/durchfall/norovirus>
108. <http://www.focus.de/schlagwoerter/themen/n/noroviren>
109. <http://www.noro-virus.seuchen-info.de/>
110. [http://www.nlga.niedersachsen.de/master/C10102287\\_N7895566\\_L20\\_D0\\_I5800417.html#Vorkommen\\_Epidemiologie](http://www.nlga.niedersachsen.de/master/C10102287_N7895566_L20_D0_I5800417.html#Vorkommen_Epidemiologie)
111. Lopman B, Reacher M, Gallimore C, Adak G, Gray J, and Brown D: A summertime peak of "winter vomiting disease": Surveillance of noroviruses in England and Wales, 1995 to 2002. BMC Public Health. 2003; 3: 13.
112. Boga JA, Melón S, Nicieza I, Diego I, Villar M, Parra F, and Oña M: Etiology of Sporadic Cases of Pediatric Acute Gastroenteritis in Asturias, Spain, and Genotyping and Characterization of Norovirus Strains Involved. J Clin Microbiol 2004 June; 42(6): 2668–2674.
113. Lindesmith L, Donaldson E, LoBue A, Cannon J, Zheng DP, Vinje J, and Baric R: Mechanisms of GII.4 Norovirus Persistence in Human Populations. PLoS Med 2008 February; 5(2): e31.
114. Verhoef L, Depoortere E, Boxman I, Duizer E, Duynhoven Y, Harris J, Johnsen C, Kroneman A, Guyader S, Lim W, Maunula L, Meldal H, Ratcliff R, Reuter G, Schreier E, Siebenga J, Vainio K, Varela C, Vennema H, Koopmans M, and on behalf of the Food Borne Viruses in Europe Network : Emergence of New Norovirus Variants on Spring Cruise Ships and Prediction of Winter Epidemics. Emerg Infect Dis 2008 February; 14(2): 238–243.
115. Ozawa K, Oka T, Takeda N, and Hansman G: Norovirus Infections in Symptomatic and Asymptomatic Food Handlers in Japan. J Clin Microbiol 2007 December; 45(12): 3996–4005.
116. Lindell A, Grillner L, Svensson L, and Zwegyberg Wirgart B: Molecular Epidemiology of Norovirus Infections in Stockholm, Sweden, during the Years 2000 to 2003: Association of the GGIIb Genetic Cluster with Infection in Children. J Clin Microbiol 2005 March; 43(3): 1086–1092.
117. Zheng DP, Ando T, Fankhauser RL, Beard RS, Glass RI, Monroe SS. Norovirus classification and proposed strain nomenclature. Virology. 2006 Mar 15;346(2):312-23.

118. Lopman BA, Adak GK, Reacher MH, Brown DW. Two epidemiologic patterns of norovirus outbreaks: surveillance in England and Wales, 1992-2000. *Emerg Infect Dis* 2003;9:71-7.
119. Rabenau H, Doerr HW: *Intervirology* 46, Jan. 2003 which method is the best?, 232-238.
120. [http://www.bfr.bund.de/cm/232/noroviren\\_wie\\_verlaesslich\\_ist\\_die\\_diagnose.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/232/noroviren_wie_verlaesslich_ist_die_diagnose.pdf)
121. Wood DJ: Adenovirus gastroenteritis. *Br Med J (Clin Res Ed)*. Jan.1988; 296: 228.
122. Wood DJ: Adenovirus gastroenteritis. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1988 January 23; 296(6617): 229-230.
123. Sdiri-Loulizi K, Gharbi-Khélifi H, De Rougemont A, Chouchane S, Sakly N, Ambert-Balay K, Hassine M, Guédiche MN, Aouni M, and Pothier P: Acute Infantile Gastroenteritis Associated with Human Enteric Viruses in Tunisia. *J Clin Microbiol* 2008 April; 46(4): 1349-1355.
124. Colomba C, De Grazia S, Giammanco GM et al: Viral gastroenteritis in children hospitalised in Sicily, Italy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006; 25: 570-5.
125. Svraaka S, Duizer E, Vennema H, De Bruin E, Van der Veer B, Dorresteyn B, and Koopmans M: Etiological Role of Viruses in Outbreaks of Acute Gastroenteritis in The Netherlands from 1994 through 2005. *J Clin Microbiol* 2007 May; 45(5): 1389-1394.
126. Mao XJ, Qian XH: Adenovirus infection in hospitalized children with pneumonia in Guangzhou from 2005 to 2007. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2009 Feb;29(2):274-7.
127. Carraturo A, Catalani V, Tega L: Microbiological and epidemiological aspects of rotavirus and enteric adenovirus infections in hospitalized children in Italy. *New Microbiol*. 2008 Jul;31(3):329-36.
128. Logan C, O'Leary JJ, O'Sullivan N: Real-Time Reverse Transcription-PCR for Detection of Rotavirus and Adenovirus as Causative Agents of Acute Viral Gastroenteritis in Children. *Journal of Clinical Microbiology*, September 2006, p. 3189-3195, Vol. 44, No. 9.
129. [http://www.mvp.unimuenchen.de/fileadmin/be\\_users/eberle/pdf/9\\_Enterale\\_Virusinfektionen0707.pdf](http://www.mvp.unimuenchen.de/fileadmin/be_users/eberle/pdf/9_Enterale_Virusinfektionen0707.pdf)
130. Aminu M, Ahmad AA, Umoh JU, de Beer MC, Esona MD, Steele AD: Adenovirus infection in children with diarrhea disease in Northwestern Nigeria. *Ann Afr Med*. 2007 Dec;6(4):168- 73.
131. <http://www99.mh-hannover.de/institute/virologie/section/adeno/advisory.html>  
<http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap35.html>
132. [http://www.rki.de/cln\\_091/nn\\_468400/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2009/05\\_\\_09,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/05\\_09.pdf](http://www.rki.de/cln_091/nn_468400/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2009/05__09,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/05_09.pdf)
133. [http://www.labor28.de/lab\\_mag/dez2000/gastroenteritis\\_8.html](http://www.labor28.de/lab_mag/dez2000/gastroenteritis_8.html)

134. <http://www.laborfleischauer.de/download/fachinfos/Virale%20Gastroenteritiden.pdf>
135. Qiao H, Nilsson M, Abreu ER, Hedlund KO, Johansen K, Zaori G, and Svensson L (1999): Viral diarrhea in children in Beijing, China [In Process Citation], *J Med Virol* (Band 57), Nr. 4, 390-396.
136. Gaggero A, O'Ryan M, Noel JS, Glass RI, Monroe SS, Mamani N, Prado V, and Avendano L F (1998): Prevalence of astrovirus infection among Chilean children with acute gastroenteritis. *J Clin Microbiol* (Band 36), Nr. 12, 3691-3693.
137. Guerrero ML, Noel JS, Mitchell DK, Calva JJ, Morrow AL, Martinez J, Rosales G, Velazquez FR, Monroe SS, Glass RI, Pickering LK, and Ruiz-Palacios GM (1998): A prospective study of astrovirus diarrhea of infancy in Mexico City. *Pediatr Infect Dis J* (Band 17), Nr. 8, 723-727 .
138. Palombo EA and Bishop RF (1996): Annual incidence, serotype distribution, and genetic diversity of human astrovirus isolates from hospitalized children in Melbourne, Australia. *J Clin Microbiol* (Band 34 ), Nr. 7, 1750-1753.
139. Maldonado Y, Cantwell M, Old M, Hill D, Sanchez ML, Logan L, Millan-Velasco F, Valdespino JL, Sepulveda J, and Matsui S (1998): Populationbased prevalence of symptomatic and asymptomatic astrovirus infection in rural Mayan infants. *J Infect Dis* (Band 178), Nr. 2, 334-339.
140. Colomba C, De Grazia S, Giammanco GM, Saporito L, Scarlata F, Titone L, Arista S: Viral gastroenteritis in children hospitalised in Sicily, Italy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006 Sep;25(9): 570-5.
141. Fabiana A, Donia D, Gabrieli R, Petrinca AR, Cenko F, Bebeci D, Altan AM, Buonomo E, Divizia M: Influence of enteric viruses on gastroenteritis in Albania: epidemiological and molecular analysis. *J Med Virol* 2007 Dec;79(12): 1844-9.
142. Akihara S, Phan TG, Nguyen TA, Hansman G, Okitsu S, Ushijima H: Existence of multiple outbreaks of viral gastroenteritis among infants in a day care center in Japan. *Arch Virol* 2005 Oct;150(10): 2061-75. Epub 2005 Apr 21.
143. Basu G, Rossouw J, Sebunya TK, Gashe BA, de Beer M, Dewar JB, Steele AD: Prevalence of rotavirus, adenovirus and astrovirus infection in young children with gastroenteritis in Gaborone, Botswana. *East Afr Med J* 2003 Dec;80(12): 652-5.
144. Steele AD, Basetse HR, Blacklow NR, Herrmann JE: Astrovirus infection in South Africa: a pilot study. *Ann Trop Paediatr* 1998 Dec; 18(4): 315-9.
145. Pennap G, Pager CT, Peenze I, de Beer MC, Kwaga JK, Ogalla WN, Umoh JU, Steele AD: Epidemiology of astrovirus infection in Zaria, Nigeria. *J Trop Pediatr* 2002 Apr; 48(2): 98-101.
146. Sdiri-Loulizi K, Gharbi-Khélifi H, de Rougemont A, Chouchane S, Sakly N, Ambert-Balay K, Hassine M, Guédiche MN, Aouni M, Pothier P: Acute infantile gastroenteritis associated with human enteric viruses in Tunisia. *J Clin Microbiol* 2008 Apr;46(4):1349-55. Epub 2008 Feb 20.

147. Ambrozová H, Schramlová J: Viral gastroenteritis in children. *Klin Mikrobiol Infekc Lek* 2005 Jun;11(3): 83-91. Czech.
148. Rodriguez-Baez N, O'Brien R, Qiu SQ, Bass DM: Astrovirus, adenovirus, and rotavirus in hospitalized children: prevalence and association with gastroenteritis. *J Pediatr astroenterol Nutr* 2002 Jul; 35(1): 6.
149. Glass RI, Noel J, Mitchell D et al. (1996). "The changing epidemiology of astrovirus-associated gastroenteritis: a review". *Arch Virol Suppl* 12: 287–300.
150. Nguyen TA , Lephuc H, Pham L, Hoang KT, Misashi M, Shoko O, Hiroshi U : Identification of Human Astrovirus Infections Among Children With Acute Gastroenteritis in the Southern Part of Vietnam During 2005-2006. *J Med Vir* 2008, Vol. 80, No. 2, 298-305.
151. [http://www.mvp.uni-muenchen.de/fileadmin/be\\_users/eberle/pdf/9\\_Enterale\\_Virusinfektionen0707.pdf](http://www.mvp.uni-muenchen.de/fileadmin/be_users/eberle/pdf/9_Enterale_Virusinfektionen0707.pdf)
152. Grohmann GS, Glass RI, Pereira HG, Monroe SS, Hightower AW, Weber R, and Bryan RT (1-7-1993): Enteric viruses and diarrhea in HIV-infected patients. Enteric Opportunistic Infections Working Group. *N Engl J Med* (Band 329), Nr. 1, 14-20.
153. Gonzalez GG, Pujol FH, Liprandi F, Deibis L, and Ludert JE (1998): Prevalence of enteric viruses in human immunodeficiency virus seropositive patients in Venezuela. *J Med Virol* (Band 55), Nr. 4, 288-292.
154. Grohmann GS, Glass RI, Pereira HG et al. (1993): Enteric viruses and diarrhea in HIV-infected patients. *N Engl J Med* 329: 14-20.
155. Treviño M, Prieto E, Peñalver D, Aguilera A, García-Zabarte A, García-Riestra C, Regueiro BJ: Diarrhea caused by adenovirus and astrovirus in hospitalized immunodeficient patients. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2001 Jan;19(1):7-10. Spanish.
156. Cox GJ, Matsui SM, Lo RS, Hinds M, Bowden RA, Hackman RC, Meyer WG, Mori M, Tarr PI, and Oshiro LS (1994): Etiology and outcome of diarrhea after marrow transplantation: a prospective study, *Gastroenterology* (Band 107), Nr. 5, 1398-1407.
157. <http://www.laborfleischauer.de/download/fachinfos/Virale%20Gastroenteritiden.pdf>
158. Guix S, Caballero S, Villena C, Bartolomé R, Latorre C, Rabella N, Simó M, Bosch A, and Pintó RM: Molecular Epidemiology of Astrovirus Infection in Barcelona, Spain. *J Clin Microbiol* 2002 January; 40(1): 133–139.
159. Sakamoto T, Negishi H, Wang QH, Akihara S, Kim B, Nishimura S, Kaneshi K, Nakaya S, Ueda Y, Sugita K, Motohiro T, Nishimura T, and Ushijima H. (1-7-2000): Molecular epidemiology of astroviruses in japan from 1995 to 1998 by reverse transcription-polymerase chain reaction with serotype-specific primers (1 to 8) [In Process Citation]. *J Med Virol* 2000 Jul ;61.(3.): 326-31. (Band 61), Nr. 3, 326-331.
160. Espul C, Martinez N, Noel JS: Prevalence and characterization of astroviruses in Argentinean children with acute gastroenteritis. *Med Virol* 2004; 72: 75-82.

161. Guerrero ML, Noel JS, Mitchell DK, Calva JJ, Morrow AL, Martinez J, Rosales G, Velazquez FR, Monroe SS, Glass RI, Pickering LK, and Ruiz-Palacios GM (1998): A prospective study of astrovirus diarrhea of infancy in Mexico City. *Pediatr Infect Dis J* (Band 17), Nr. 8, 723-727.
162. Mitchell K, Matson DO, Jiang X, Berke T, Monroe SS, Carter MJ, Willcocks MM, and Pickering LK (1999): Molecular epidemiology of childhood astrovirus infection in child care centers [In Process Citation]. *J Infect Dis* (Band 180), Nr. 2, 514-517.
163. Medina SM, Gutierrez MF, Liprandi F, and Ludert JE (2000): Identification and type distribution of astroviruses among children with gastroenteritis in Colombia and Venezuela. *J Clin Microbiol* (Band 38), Nr. 9, 3481-3483.
164. Matsui SM (1995): Astroviruses. MJ Blaser, PD Smith JI. Ravdin HB. Greenberg and RL. Guerrant ed., *Infections of the gastrointestinal tract*, 1035-1045, Raven Press Ltd., New York, N.Y.
165. Cubitt WD, Mitchell DK, Carter MJ, Willcocks MM, and Holzel H. (1999): Application of electronmicroscopy, enzyme immunoassay, and RT-PCR to monitor an outbreak of astrovirus type 1 in a paediatric bone marrow transplant unit. *J Med Virol* (Band 57), Nr. 3, 313-321.
166. Yuen KY, Woo PC, Liang RH, Chiu EK, Chen FF, Wong SS, Lau YL, Ha SY, Peiris JS, Siau H, and Chan TK. (1998): Clinical significance of alimentary tract microbes in bone marrow transplant recipients. *Diagn Microbiol Infect Dis* (Band 30), Nr. 2, 75-81.
167. Oishi I, Yamazaki K, Kimoto T, Minekawa Y, Utagawa E, Yamazaki S, Inouye S, Grohmann GS, Monroe SS, and Stine SE. (1994): A large outbreak of acute gastroenteritis associated with astrovirus among students and teachers in Osaka, Japan. *J Infect Dis* (Band 170), Nr. 2, 439-443.
168. Belliot G, Laveran H, and Monroe SS. (1997): Outbreak of gastroenteritis in military recruits associated with serotype 3 astrovirus infection. *J Med Virol* (Band 51), Nr. 2, 101-106.
169. Gray JJ, Wreghitt TG, Cubitt WD, and Elliot PR (1987): An outbreak of gastroenteritis in a home for the elderly associated with astrovirus type 1 and human calicivirus. *J Med Virol* (Band 23), Nr. 4, 377-381.
170. Konno T, Suzuki H, Ishida N, Chiba R, Mochizuki K, and Tsunoda A (1982): Astrovirus-associated epidemic gastroenteritis in Japan. *J Med Virol* (Band 9), Nr. 1, 11-17.
171. Shastri S, Doane AM, Gonzales J, Upadhyayula U, and Bass DM. (1998): Prevalence of astroviruses in a children's hospital. *J Clin Microbiol* (Band 36), Nr. 9, 2571-2574.
172. Pang XL and Vesikari T (1999): Human astrovirus-associated gastroenteritis in children under 2 years of age followed prospectively during a rotavirus vaccine trial [In Process Citation]. *Acta Paediatr* (Band 88), Nr. 5, 532- 536.

173. Caspary WF, Kist M, Stein J, Brodt HR: Infektiologie des Gastrointestinaltraktes  
50. Astroviren und Toroviren: 403-405.
174. Mitchell DK, Matson DO, Jiang X, Berke T, Monroe SS, Carter MJ, Willcocks MM, and Pickering LK (1999): Molecular epidemiology of childhood astrovirus infection in child care centers. *J Infect Dis* (Band 180), Nr. 2, 514-517.
175. Koopmans MP, Bijen MH, Monroe SS, and Vinje J (1998): Age-stratified seroprevalence of neutralizing antibodies to astrovirus types 1 to 7 in humans in The Netherlands. *Clin Diagn Lab Immunol* (Band 5), Nr. 1, 33-37.
176. Kriston S, Willcocks MM, Carter MJ, and Cubitt WD (1996): Seroprevalence of astrovirus types 1 and 6 in London, determined using recombinant virus antigen. *Epidemiol Infect* (Band 117), Nr. 1, 159-164.
177. Naficy AB, Rao MR, Holmes JL, Abu-Elyazeed R, Savarino SJ, Wierzba TF, Frenck RW, Monroe SS, Glass RI, and Clemens JD (2000): Astrovirus diarrhea in Egyptian children. *J Infect Dis* (Band 182), Nr. 3, 685-690.
178. Glass RI, Noel J, Mitchell D, Herrmann JE, Blacklow NR, Pickering LK, Dennehy P, Ruiz-Palacios G, de Guerrero ML, and Monroe SS (1996): The changing epidemiology of astrovirus-associated gastroenteritis: a review. *Arch Virol Suppl* (Band 12), 287-300.
179. Cubitt WD (1996): Historical background and classification of caliciviruses and astroviruses. *Arch Virol Suppl* (Band 12), 225-235.
180. Oliver AR and Phillips AD (1988): An electron microscopical investigation of faecal small round viruses. *J Med Virol* (Band 24), Nr. 2, 211- 218.
181. Waters V, Ford-Jones EL, Petric M, Fearon M, Corey P, and Moineddin R (2000): Etiology of community-acquired pediatric viral diarrhea: a prospective longitudinal study in hospitals, emergency departments, pediatric practices and child care centers during the winter rotavirus outbreak, 1997 to 1998. The Pediatric Rotavirus Epidemiology Study for Immunization Study Group. *Pediatr Infect Dis J* (Band 19), Nr. 9, 843-848.
182. Cubitt WD, Mitchell DK, Carter MJ, Willcocks MM, and Holzel H (1999): Application of electronmicroscopy, enzyme immunoassay, and RT-PCR to monitor an outbreak of astrovirus type 1 in a paediatric bone marrow transplant unit. *J Med Virol* (Band 57), Nr. 3, 313-321.
183. Matsui SM and Greenberg HB (1996): Astroviruses, Fields BN, Knipe DM, Howley PM et al, *Fields Virology*, Third Edition, 811-824, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia.
184. Jonassen TO, Monceyron C, Lee TW, Kurtz JB, and Grinde B (1995): Detection of all serotypes of human astrovirus by the polymerase chain reaction. *J Virol Methods* (Band 52), Nr. 3, 327-334.
185. Noel JS, Lee TW, Kurtz JB, Glass RI, and Monroe SS (1995): Typing of human astroviruses from clinical isolates by enzyme immunoassay and nucleotide sequencing. *J Clin Microbiol* (Band 33), Nr. 4, 797-801.

186. Palombo EA and Bishop RF (1996): Annual incidence, serotype distribution, and genetic diversity of human astrovirus isolates from hospitalized children in Melbourne, Australia. *J Clin Microbiol* (Band 34 ), Nr. 7, 1750-1753.
187. Schulz K, Wegner U, Gurtler L, Wiersbitzky S, and Mentel R (2000): Analysis of genotypes of human astrovirus isolates from hospitalized children in northeastern Germany. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (Band 19), Nr. 7, 563-565.
188. Belliot G, Laveran H, and Monroe SS (1997): Detection and genetic differentiation of human astroviruses: phylogenetic grouping varies by coding region. *Arch Virol* (Band 142), Nr. 7, 1323-1334.

## **Abkürzungsverzeichnis**

EIA	Enzym-Immuno-Assay
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
HHT	Hämagglutinations-Hemm-Test
IfSG	Infektionsschutzgesetz
PCR	Polymerase-Ketten-Reaktion
RT-PCR	Reverse-Transkriptase-Polymerase-Ketten-Reaktion
RIA	Radioimmunoassay
RKI	Robert-Koch-Institut
STIKO	Ständige Impfkommission
KBR	Komplementbindungsreaktion
ORF	Open Reading Frame

## **Quellennachweis:**

1. <http://www.wadsworth.org/divisions/infdis/virology/rotavirus.htm>
2. <http://www.gesundheitsspiegel.de/?p=133>
3. <http://udel.edu/~crjarman/adenovirus.html>
4. [http://www.clinical-virology.org/gallery/cvn\\_em\\_01.html](http://www.clinical-virology.org/gallery/cvn_em_01.html)

## **Ehrenwörtliche Erklärung**

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe – Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel „Virale Gastroenteritiden. Eine epidemiologische Beobachtungsstudie im Zeitraum 2000 – 2008.“ im Institut für Medizinische Virologie der J. W. Goethe – Universität Frankfurt am Main unter Betreuung und Anleitung von Herrn Prof. Dr. H. W. Doerr, mit Unterstützung durch Frau Dr. med. R. Allwinn ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

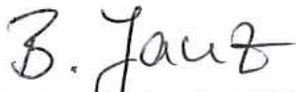
Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.

Die vorliegende Arbeit wurde in folgendem Publikationsorgan auszugsweise veröffentlicht:

Virale Gastroenteritiden

Regina Allwinn, Bettina Janz, Hans Wilhelm Doerr

Medizinische Klinik 2008; 103: 389-95 (Nr. 6), © Urban & Vogel, München



Frankfurt am Main, den 04.06.2009