

**Retrospektive Bestimmung der Prävalenz
Influenzavirus-spezifischer IgG-Antikörper bei Kindern
und Jugendlichen im Alter von 0 bis 18 Jahren**

**Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)**

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
 der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

**von Anja Krause
geb. am 15.08.1974**

Gutachter:

- 1. Herr Prof. Dr. med. Peter Wutzler, Facharzt für Medizinische Mikrobiologie,
Leiter des Instituts für Virologie und Antivirale Therapie, Beutenberg-Campus,
Hans-Knöllstr. 2, 07740 Jena**

- 2. Herr PD Dr. med. Bernd Gruhn, Facharzt für Kinder- und Jugendmedizin,
Oberarzt der Abteilung Hämatologie, Onkologie, Stammzelltransplantation,
Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Kochstr. 2, 07745 Jena**

- 3. Herr Prof. Dr. med. Markus Knuf, Facharzt für Kinder- und Jugendmedizin,
Direktor der Klinik für Kinder und Jugendliche,
HSK, Dr. Horst Schmidt Kliniken GmbH, Ludwig-Erhard-Str. 100, 65199 Wiesbaden**

Tag der öffentlichen Verteidigung: 07.09.2010, 16.00 Uhr, in Jena, Hörsaal der Augenklinik

Abkürzungsverzeichnis

AGI	Arbeitsgemeinschaft Influenza
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrom (erworbenes Immundefekt-syndrom)
ARE	akute respiratorische Erkrankung
AS03	Adjuvant System
BGBI	Bundesgesetzblatt Teil I
BM2-Protein	M2-Protein der Influenza B-Viren
Cap-Struktur	Kappen-Struktur, Modifizierung des 5'-Endes aller eukaryotischen mRNAs
cDNA	komplementäre DNA
cRNA	komplementäre RNA
CI	Konfidenzintervall
CM2-Protein	M2-Protein der Influenza C-Viren
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease (chronisch obstruktive Lungenerkrankung)
DGK	Deutsches Grünes Kreuz e. V.
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dsRNA	Doppelstrang-RNA
DVV	Deutsche Vereinigung zur Bekämpfung der Viruserkrankungen e.V.
Dynamamin-GTPase	molekularer „Schalter“ in Signaltransduktionsketten binden GDP oder GTP, wesentlich für Vesikelbildung und Mengenregulation
ECDC	European Center for Disease Control
EIA	Enzym-Immuno-Assay
EISS	European Influenza Surveillance Scheme
ELISA	Enzyme-linked Immuno Sorbent Assay
H(A)	Hämagglutinin
HHT	Hämagglutinationshemmtest
HiG	Hämolysis-in-Gel-Test
HIV	Human immunodeficiency virus, Humanes Immundefizienz-Virus
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
IgG	Immunglobulin G
IfSG	Infektionsschutzgesetz

IFT	Immunfluoreszenztest
J	Jahr
KBR	Komplementbindungsreaktion
KG	Körpergewicht
LAIV	Attenuierter Influenzavirus-Lebendimpfstoff
LJ	Lebensjahr
LM	Lebensmonat
M1-Protein	Matrixprotein 1
M2-Protein	Matrixprotein 2
MDCK-Zellen	Madin Darby Canine Kidney-Zellen
MHC-Klasse-I-Komplex	Major Histocompatibility Complex (Haupthistokompatibilitätskomplex)
mRNA	messenger RNA (Boten-RNA)
MRP	Meerrettichperoxidase
n	Anzahl der Serumproben
N(A)	Neuraminidase
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptoren, inotrope Glutamatrezeptoren
NP	Nukleoprotein
NRZ	Nationales Referenzzentrum für Influenza
NS1	Nicht-Struktur-Protein1
NS2	Nicht-Struktur-Protein2
NTU	Nova-Tec-Einheiten
PA	Polymerase-Acidic-Protein
PB1	Polymerase-Basic-Protein 1
PB2	Polymerase-Basic-Protein 2
PCR	Polymerasekettenreaktion
PEI	Paul-Ehrlich-Institut
QT-Zeit	Zeit zw. Beginn der Q-Zacke bis zum Ende der T-Welle im EKG
RanPB5-Rezeptoren	Ran-binding-Protein-Rezeptoren
RIA	Radio-Immuno-Assay
RKI	Robert Koch-Institut
RNA	Ribonukleinsäure
RS	Respiratory Syncytial Virus
SD	Standardabweichung

s-OIV	swine-origin Influenza A-Virus
ssRNA	Einzelstrang-RNA
STIKO	Ständige Impfkommision am Robert Koch-Institut
TIV	Trivalent Inactivated Influenza Vaccines, Totimpfstoff
TMB	3,3', 5,5' - Tetramethylbenzidin
Vk %	Variationskoeffizient in Prozent
vRNA	virale RNA
WHO	Weltgesundheitsorganisation
ZNS	Zentrales Nervensystem

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Zusammenfassung	1
2. Einleitung	
2.1. Historie der Influenzaviren	3
2.2. Klassifizierung und Nomenklatur der Influenzaviren	3
2.3. Morphologie der Influenzaviren	4
2.4. Vermehrungszyklus der Influenzaviren	7
2.5. Epidemiologie der Influenzavirus-Infektion	9
2.6. Influenzavirus-Infektion im Kindesalter	11
2.7. Symptomatik der Influenza	12
2.8. Labordiagnose der Influenzavirus-Infektion	13
2.9. Erfassung der Influenza	15
2.10. Prophylaxe der Influenza	16
2.11. Therapie der Influenza	19
2.12. Nationaler Pandemieplan	22
2.13. Neues Influenzavirus A/H1N1	23
3. Aufgabenstellung	25
4. Material und Methodik	
4.1. Probanden und Untersuchungsmaterial	26
4.1.1. Studiengruppe	26
4.1.2. Kontrollgruppe	29
4.2. Qualitative und semiquantitative Bestimmung von Influenzavirus A- und B-spezifischem IgG	30
4.2.1. Testprinzip	30
4.2.2. Kitsysteme für den Nachweis von IgG gegen Influenzavirus A und B	32
4.2.3. Materialien und Geräte	33
4.2.4. Testmerkmale der eingesetzten Influenzavirus A und B IgG-ELISA	33
4.2.5. Testdurchführung	34
4.2.6. Testgültigkeitskriterien	38
4.2.7. Qualitative Testauswertung	38
4.2.8. Semiquantitative Testauswertung	38
4.3. Statistische Methoden	39

4.3.1. Zielgrößen	39
4.3.2. Fallzahlschätzung	39
4.3.3. Statistische Analysen	40
4.3.4. Datenmanagement	40
4.3.5. Erhobene Merkmale der analysierten Proben	41
5. Ergebnisse	
5.1. Qualitative IgG-Antikörperbefunde gegen Influenzavirus A	42
5.1.1. Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen	42
5.1.2. Kontrollgruppe der Erwachsenen	47
5.2. IgG-Antikörperprävalenzen gegen Influenzavirus A	49
5.2.1. Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen	49
5.2.2. Kontrollgruppe der Erwachsenen	54
5.3. Semiquantitative IgG-Antikörperbefunde gegen Influenzavirus A	57
5.3.1. Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen	57
5.3.2. Kontrollgruppe der Erwachsenen	60
5.4. Qualitative IgG-Antikörperbefunde gegen Influenzavirus B	61
5.4.1. Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen	61
5.4.2. Kontrollgruppe der Erwachsenen	66
5.5. IgG-Antikörperprävalenzen gegen Influenzavirus B	69
5.5.1. Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen	69
5.5.2. Kontrollgruppe der Erwachsenen	73
5.6. Semiquantitative IgG-Antikörperbefunde gegen Influenzavirus B	76
5.6.1. Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen	76
5.6.2. Kontrollgruppe der Erwachsenen	79
6. Diskussion	81
7. Schlussfolgerungen	94
8. Literatur- und Quellenverzeichnis	
9. Anhang	
Danksagung	
Eidesstattliche Erklärung	
Lebenslauf	

4.3.1. Zielgrößen	39
4.3.2. Fallzahlschätzung	39
4.3.3. Statistische Analysen	40
4.3.4. Datenmanagement	40
4.3.5. Erhobene Merkmale der analysierten Proben	41
5. Ergebnisse	
5.1. Qualitative IgG-Antikörperbefunde gegen Influenzavirus A	42
5.1.1. Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen	42
5.1.2. Kontrollgruppe der Erwachsenen	47
5.2. IgG-Antikörperprävalenzen gegen Influenzavirus A	49
5.2.1. Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen	49
5.2.2. Kontrollgruppe der Erwachsenen	54
5.3. Semiquantitative IgG-Antikörperbefunde gegen Influenzavirus A	57
5.3.1. Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen	57
5.3.2. Kontrollgruppe der Erwachsenen	60
5.4. Qualitative IgG-Antikörperbefunde gegen Influenzavirus B	61
5.4.1. Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen	61
5.4.2. Kontrollgruppe der Erwachsenen	66
5.5. IgG-Antikörperprävalenzen gegen Influenzavirus B	69
5.5.1. Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen	69
5.5.2. Kontrollgruppe der Erwachsenen	73
5.6. Semiquantitative IgG-Antikörperbefunde gegen Influenzavirus B	76
5.6.1. Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen	76
5.6.2. Kontrollgruppe der Erwachsenen	79
6. Diskussion	81
7. Schlussfolgerungen	94
8. Literatur- und Quellenverzeichnis	
9. Anhang	
Danksagung	
Eidesstattliche Erklärung	
Lebenslauf	

1. Zusammenfassung

Nach der derzeit in Deutschland bestehenden Impfempfehlung der Ständigen Impfkommission am Robert Koch-Institut (STIKO) zum Schutz vor Influenzaerkrankungen wird eine generelle Vakzination nach dem 60. Lebensjahr und von Personen mit Grunderkrankungen und speziellem Risikoprofil empfohlen, da die genannten Personengruppen besonders gefährdet sind, an einer schweren Influenza zu erkranken. Ein besonderes Gefährdungspotential besteht jedoch auch für Kinder und Jugendliche. Wie zahlreiche Studien belegen, weisen Kinder bis zum 5. Lebensjahr eine deutlich erhöhte influenzabedingte Hospitalisierungsrate und ein erhöhtes Risiko für Folgeerkrankungen der Influenza auf. Prinzipiell tragen Kinder stärker als Erwachsene zur Verbreitung des Influenzaerregers in der Bevölkerung bei und gelten deshalb als „Feuer der Epidemie“.

Ziel dieser Arbeit war es, Hinweise zur Häufigkeit von Influenzainfektionen bei Kindern und Jugendlichen im Thüringer Raum zu erhalten. Hierzu sollten die Prävalenzen und Konzentrationen von Antikörpern gegen Influenzavirus A und B in definierten Altersgruppen des Kinder- und Jugendalters bestimmt und mit den Daten einer Kontrollgruppe gesunder erwachsener Blutspender verglichen werden. Ausgangspunkt war die qualitative und semiquantitative Bestimmung virus-spezifischer IgG-Antikörper mittels Enzym-linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) in beiden Personengruppen. Mittels statistischer Analysen wurden die Prävalenzen in der Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen hinsichtlich des Alters und Geschlechts beschrieben und mit den entsprechenden Daten der Kontrollgruppe verglichen. Die IgG-Antikörperkonzentrationen wurden ebenfalls statistisch analysiert und den Befunden der Kontrollgruppe gegenübergestellt. Als Studiengruppe dienten Serumproben von überwiegend gesunden 1.111 Kindern und Jugendlichen im Alter von 0-18 Jahren aus dem Thüringer Raum. Die Kontrollgruppe bildeten Seren von 809 gesunden Blutspendern im Alter zwischen 18-30 Jahren aus dem Einzugsgebiet von Erfurt. Zur qualitativen und semiquantitativen Bestimmung Influenzavirus-spezifischer IgG-Antikörper wurden die Influenzavirus A und B IgG-ELISAs der Firma NovaTec-Immundiagnostica GmbH eingesetzt, die auf dem Testprinzip der indirekten ELISA-Technik beruhen.

Im Ergebnis der Untersuchungen konnte bei den Kinder und Jugendlichen eine Gesamtprävalenz von IgG-Antikörpern gegen Influenzavirus A von 82,0% [79,6%-84,2%] nachgewiesen werden. Zum Zeitpunkt der Geburt bestanden bei 83,9% [66,3%-94,5%] der Neugeborenen positive IgG-Befunde. Statistische Untersuchungen zeigten einen signifikanten Anstieg der IgG-Antikörperprävalenzen gegen den Influenzavirus A mit fortschreitendem Alter der Kinder und Jugendlichen, wobei geschlechtsspezifische Unterschiede nicht erhoben werden konnten. In der Kontrollgruppe der Erwachsenen wurde eine Gesamtprävalenz positiver Antikörperergebnisse von 99,4% [98,6%-99,8%] erhoben. Kinder <9 Jahren zeigten signifikant niedrigere Antikörperprävalenzen gegenüber

Influenza A als die Erwachsenen. Ein ähnliches Bild zeigte der Verlauf der Antikörperkonzentrationen gegenüber dem Influenzavirus A. Statistisch zeigte sich ein Anstieg der IgG-Konzentrationen mit zunehmendem Alter der Kinder und Jugendlichen. Bei Kindern zwischen dem >3. und 6. Lebensjahr bestanden signifikant niedrigere und >12- bis 15-jährige Teenager signifikant höhere IgG-Antikörperkonzentrationen als in der Kontrollgruppe.

Die Ergebnisse der Antikörperbestimmungen gegenüber Influenzavirus B wiesen deutliche Differenzen auf. In der Studiengruppe betrug die Gesamtprävalenz positiver IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B 9,6% [8,0%-11,5%]. Bei 45,2% [27,3%-64,0%] der Neugeborenen wurden zum Zeitpunkt der Geburt positive IgG-Befunde erhoben. Bereits innerhalb der ersten 2 bis 4 Lebensmonate waren diese mütterlichen Leihantikörper vollständig abgebaut. Ein signifikanter Anstieg der Influenza B-Antikörperprävalenzen erfolgte erst in der Altersgruppe der >12- bis 15-jährigen Jugendlichen, wobei in der Altersgruppe der >15- bis 18-jährigen Heranwachsenden 24,7% [18,0%-32,4%] positiv waren. In der Kontrollgruppe wurde eine Gesamtprävalenz Influenza B-Virus-spezifischer Antikörper von 56,7% [53,2%-60,2%] erhoben. Mit zunehmendem Alter der Erwachsenen kam es zum signifikanten Anstieg der Prävalenzen bis auf 67,0% [60,2%-73,3%] in der Altersgruppe der >27- bis 30-jährigen Blutspender. Bei Frauen war die Antikörperprävalenz signifikant geringer als bei Männern. Was die Antikörperkonzentrationen gegenüber Influenzavirus B betrifft, so lagen in allen Altersstufen der Studiengruppe von Kindern und Jugendlichen signifikant geringere Konzentrationen als in der Kontrollgruppe der Erwachsenen vor.

Aus diesen Ergebnissen kann geschlussfolgert werden, dass mehr als ein Drittel der Kinder bis zum 6. Lebensjahr im Thüringer Raum für Influenza A sowie nahezu alle Kinder bis zum 12. Lebensjahr und mehr als drei Viertel der >12- bis 18-jährigen Jugendlichen bezüglich Influenza B keine serologischen Hinweise auf eine zurückliegende Infektion aufweisen. Diese Kinder und Jugendlichen müssen als immunologisch unreif gegenüber einer Influenza betrachtet werden und sind daher mit einem hohen Risiko für eine schwer verlaufende Influenza behaftet. Durch die Einbeziehung von Kindern und Jugendlichen in die jährlichen Impfungen gegen Influenza könnte der Schutz vor dieser epidemisch auftretenden Infektion wesentlich verbessert werden.

2. Einleitung

2.1. Historie der Influenzaviren

Bis in das 21. Jahrhundert stellt die Influenza weltweit eine der bedeutendsten Infektionskrankheiten neben AIDS und einigen Formen der Hepatitis dar. Sie überwindet Ländergrenzen und Kontinente, auch soziale Unterschiede sind ohne Belang. Die Influenzavirus-Erkrankung führt jährlich bei 3 bis 5 Mio. Menschen zu schweren Krankheitsverläufen und fordert zwischen 250.000 bis 500.000 Todesfälle weltweit (WHO 2007). Der Begriff „Influenza“ lässt sich bis in das 14. bzw. 15. Jahrhundert zurückverfolgen. Damals wurde mit „Influence“ eine seuchenhaft auftretende Atemwegserkrankung des Menschen bezeichnet, die durch äußere, „extraterrestrische“ Einflüsse bedingt sei. Später wurde der Begriff auch für entsprechende Erkrankungen der Tiere genutzt. Deshalb unterscheidet man in der heutigen Zeit die humane von der tierischen Influenza, die vor allem bei Schweinen, Geflügel und Pferden vorkommt. Nach der Art des Auftretens der Infektionskrankheit wird die epidemische von der pandemischen Influenza unterschieden. Bisher wurde von über 31 großen Influenzaausbrüchen seit 1580 berichtet. Im Jahre 1930 gelang Shope die erstmalige Isolation eines Influenzavirus aus dem Respirationstrakt des Schweines. Das war ein Meilenstein in der Forschungsgeschichte der Virologie. Das Influenzavirus war ein Vertreter des Subtypes H1N1, der beim Menschen in Form der „Spanischen Grippe“ in den Jahren 1918/19 eine der größten Pandemien des letzten Jahrhunderts mit weltweit 20 bis 40 Mio. Toten auslöste (Reid et al. 2001). Zur Prophylaxe der Erkrankung stand ab 1952 der erste Impfstoff zur Verfügung. Das erste zur Behandlung der Influenza A zur Verfügung stehende Medikament Amantadin wurde seit 1966 zur Therapie eingesetzt. Gegenwärtig wird diese Arzneimittelgruppe durch die 1999 in Deutschland eingeführten Neuraminidasehemmer, deren Einsatzgebiet zusätzlich die Prophylaxe umfasst, verdrängt.

2.2. Klassifizierung und Nomenklatur der Influenzaviren

Die Influenzaviren werden in der Familie der Orthomyxoviridae zusammengefasst und geordnet. Diese Bezeichnung wurde in Anlehnung an die griechische Übersetzung „myxos“ für Schleim gewählt, da die Influenzaviren auf den Schleimhäuten der Atemwege nachgewiesen wurden. Bei den Orthomyxoviridae handelt es sich um behüllte Viren, die eine einzelsträngige RNA [(-)ssRNA, segmentiert] mit negativer Polarität aufweisen. Das Genom zeigt eine Segmentierung. Die einzelnen Kapsomere des viralen Kapsids liegen in helikaler Symmetrie geordnet vor. Innerhalb der Orthomyxoviridae werden folgende Gattungen unterschieden: Influenzavirus A, B und C, wobei jeweils eine Spezies vorliegt, das Thogotovirus (Clerx et al. 1983, Pringle 1996) mit den Spezies

Dhori-, Thogoto- und Aragarivirus (Da Silva et al. 2005) sowie das Isavirus mit der Spezies des Virus der infektiösen Lachsanämie (Infectious salmon anemia virus) (Falk et al. 1997). Das Isavirus der Lachse wird durch direkten Kontakt, Fischläuse und kontaminiertes Wasser übertragen (Mc Clure et al. 2005). Dieser Infektionsweg wurde ebenso für Influenzavirus A bei im Wasser lebenden Wirtsorganismen (z.B. Bartenwale) (Mandler et al. 1990) beobachtet. Die Thogotoviren hingegen verursachen keine respiratorischen Symptome und werden durch Zecken übertragen (Kaufmann und Nuttall 2003). Die meisten Virusgattungen der Orthomyxoviren wie z.B. Influenzavirus A, B und C befallen das respiratorische System des Wirtsorganismus über Aerosole. Vor allem Influenzaviren des Typs A stellen bei Menschen und Tieren bedeutende Krankheitserreger dar. Die Subtypenunterteilung des Influenzavirus A erfolgt nach den Eigenschaften der Oberflächenantigene der Hämagglutinine (H) und Neuraminidasen (N). Derzeit sind 16 Subtypen des H und 9 der N bekannt (Fouchier et al. 2005). Lediglich drei H-(H1, H2, H3) und zwei N (N1, N2)-Subtypen haben sich seit 1918 in der menschlichen Population etabliert. Bei Influenzavirus B ist nur ein H- und N-Subtyp bekannt. Nach internationaler Übereinkunft werden die Influenzaviren mit einer bestimmten Nomenklatur versehen. In die Bezeichnung gehen der Typ des Virus (A, B und C), bei Tieren die Spezies und der Subtyp (z.B. Equi, Swine), der Fundort des Virus, die laufende Nummer des Isolates, das Jahr sowie die Formel des Oberflächenantigens (z.B. H3N2) ein. Das isolierende Labor oder internationale Referenzzentrum für Influenza vergeben nach diesen Regeln die Bezeichnung wie z.B. A/Berlin/1/89 (H3N2).

2.3. Morphologie der Influenzaviren

Im Elektronenmikroskop wurden Influenzaviren als rundliche bis längsovale Partikel mit einem Durchmesser von 75 bis 120 nm dargestellt (Abb. 1).

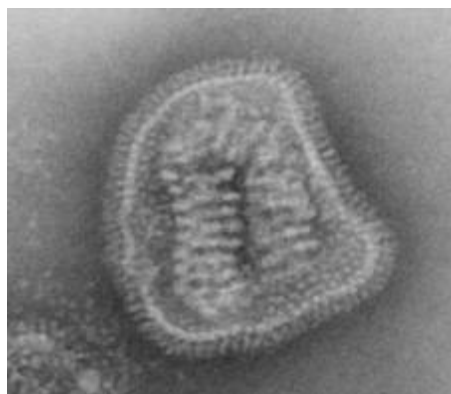


Abb.1 : Elektronenmikroskopische Darstellung eines Influenzavirus, [http://www.Scienceblogs.com/.../upload/2006/07/flu A.O.jpg](http://www.Scienceblogs.com/.../upload/2006/07/flu_A.O.jpg); http://www.intabitinsop.blogspot.com/2008_11_01_archive.html

Abbildung 2 gibt den vereinfachten schematischen Aufbau eines Influenzavirus wieder. Der Randsaum der Virionen weist spikeartigen Fortsätze, die glykoproteinhaltigen Oberflächenantigene H und N (Colman 1994), auf. Sie sind mit ihrem hydrophoben Ende in der das Virus begrenzenden Lipiddoppelmembran verankert, während das hydrophile Ende nach außen ragt. H ist ein 16 nm langes spike- bis stäbchenförmiges glykolisiertes Klasse I-Membranprotein. Es bedeckt gleichmäßig die Oberfläche des Virus und macht ca. 25% des Gesamtproteingehaltes des Influenzavirus-Partikels aus. Mit der Röntgen-Kristallographie wurden drei identischen Monomere des H identifiziert (Wilson et al. 1981), die durch Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Dieses Oberflächenprotein initiiert die frühen Schritte des Virusreplikationszyklusses, die Rezeptorbindung und die Membranfusion. Es bindet dabei an N-Acetylneuraminsäurehaltige Rezeptoren an der Oberfläche empfindlicher Zellen (Wiley und Skehel 1987, Skehel und Wiley 2000).

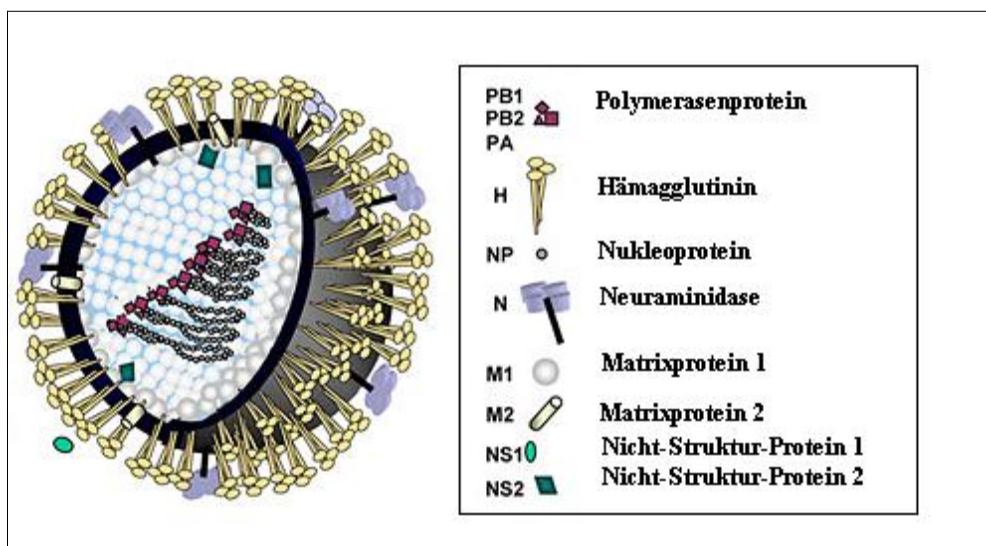


Abb. 2: Schematische Darstellung des Influenzavirus
http://www.nlga.niedersachsen.de/master/C47817093_N47825458_L20_I

Voraussetzung für die Fusionsfähigkeit von H ist die Spaltung des Glykoproteins durch zelluläre Proteasen in zwei Untereinheiten und die sich anschließende pH-abhängige Konformationsänderung. Durch diesen Aktivierungsprozess wird die Fusionsdomäne von H so exponiert, dass sie in die Zielmembran eindringen und somit die Fusion initiieren kann. Antikörper gegen H sind die Hauptkomponente der Immunantwort. Es trägt Epitope, die die Bildung von neutralisierenden Antikörpern induzieren (Laver und Kilbourne 1966, Dowdle et al. 1974). Die N als Klasse II-Membranprotein besteht aus vier identischen Untereinheiten (Varghese et al. 1983), wobei jeweils zwei Dimere durch Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Dieses tetramere Molekül setzt neu gebildete Viruspartikel von der Zellmembran frei. Es spaltet Sialinsäure und befreit das Virus von Mukopolysacchariden und Zelldebris. Es erfüllt die Aufgabe der Rezeptorzerstörung und verhindert durch Beseitigung der Sialinsäure von der Zelloberfläche einer infizierten Wirtszelle eine mögliche

Superinfektion (Huang et al. 2008). Antikörper gegen N hemmen die Ausschleusung neu gebildeter Viruspartikel aus der Zelle und verhindern die Ausbreitung des Virus, aber nicht die Infektion des Wirtsorganismus (Dowdle et al. 1974). Ein weiteres Oberflächenprotein des Influenzavirus A ist das Matrix 2-Protein (M2-Protein), ein Klasse II-Membranprotein. Tetramere dieses Proteins bilden Ionenkanäle an der Oberfläche des Virus. Eine wesentliche Funktion ist die von ihm durchgeführte Ansäuerung im Endosom. Dadurch wird die virale Ribonukleinsäure (vRNA) von seiner Lipidhülle befreit. Dieser Schritt spielt eine besondere Rolle bei der Virus-Replikation und stellt den Angriffspunkt der bekannten antiviralen Therapeutika wie Amantadin und Rimantadin dar. Eine weitere Funktion ist die pH-Regulation im Golgi-Apparat während der H-Synthese. Funktionelle Gemeinsamkeiten mit dem M2-Protein der Influenza A-Viren weist das CM2-Protein (Hongo et al. 1997) bei den Influenza C-Viren und das BM2-Protein bei den Influenza-B-Viren (Mould et al. 2003) auf. Die Innenseite der Lipiddoppelmembran wird durch das Matrix 1-Protein (M1) (Ruigrok et al. 1989) ausgekleidet. Es ist das häufigste Protein des Viruspartikels und bildet den inneren Anteil der Virushülle und vermittelt somit die virale Struktur (Harris et al. 2001).

Desweiteren liegen im Virion in geringen Mengen Nicht-Struktur-Proteine NS1 und NS2 (Richardson und Akkina 1991) vor, wobei NS1 eine besondere Rolle in der Abwehr des wirts-eigenen Interferonsystems spielt, und somit eine frühe Abwehrreaktion des Organismus hemmen kann (Wang et al. 2000). Außerdem erfüllt es eine Kontrollfunktion der zeitlichen Syntheseabfolge der virusspezifischen messenger (m)RNA und des viralen Genoms (Falcon et al. 2004, Min et al. 2007). Das NS2-Protein liegt als Komplex mit dem M1-Protein vor (Yasuda et al. 1993). Im Inneren des Viruspartikels befindet sich das segmentierte Nukleokapsid. Elektronenoptisch stellen sich die Nukleokapside als zopfartig gedrehte Schlingen mit einer ösenartigen Schlinge in ihrem Ende dar. Die Anordnung der 8 Nukleokapside im Viruspartikel ist nicht willkürlich, sondern nach einem Muster geordnet (Noda et al. 2006). Die helikalen Komplexe bestehen jeweils aus dem einzelnen RNA-Segment (Kingsbury und Webster 1969), dem Nukleoprotein (NP) und den Polymeraseproteinen (Polymerase-Basic-Protein 1 (PB1), Polymerase-Acidic-Protein (PA), Polymerase-Basic-Protein 2 (PB2)). Das NP umhüllt und schützt sie vor Nukleasen. Es wird von zytotoxischen T-Lymphozyten erkannt und ist eines der wichtigsten Antigene des Virus. Die ssRNA, die als Charakteristikum eine Ringform am 3'- und 5'-Ende aufweist, enthält die genetische Information für die verschiedenen Virusproteine. Das Virusgenom besteht bei Influenzaviren A und B aus 8 sowie beim C-Virus aus 7 Segmenten. Die lockere Bindung der Gensegmente und die hohe Fehlerquote der Polymerase sind Ursache der hohen Veränderlichkeit der Influenzaviren (antigene Shift und antigene Drift).

2.4. Vermehrungszyklus der Influenzaviren

Der **Replikationszyklus** der Influenzaviren wird schematisch in Abb. 3 dargestellt. Die Initialreaktion ist die Infektion der Wirtszelle, die über die Bindung des H an spezielle N-Acetylneuraminsäurehaltige Rezeptoren der Zelloberfläche erfolgt (Skehel and Wiley 2000). Dieser Vorgang wird als **Adsorption** bezeichnet, wobei ein Kontakt von Virus und Wirtszelle hergestellt wird. Anschließend kommt es zur rezeptorvermittelten Endozytose (Marsh und Helenius 1989), die bei den Influenzaviren Clathrin-abhängig ist (Matlin et al. 1981, Schmid 1997). Die Clathrin-umhüllten Vesikel werden durch die Dynamin-GTPase von der Zellmembran gelöst und in den endozytotischen Prozess eingeschleust (Sever et al. 1999).

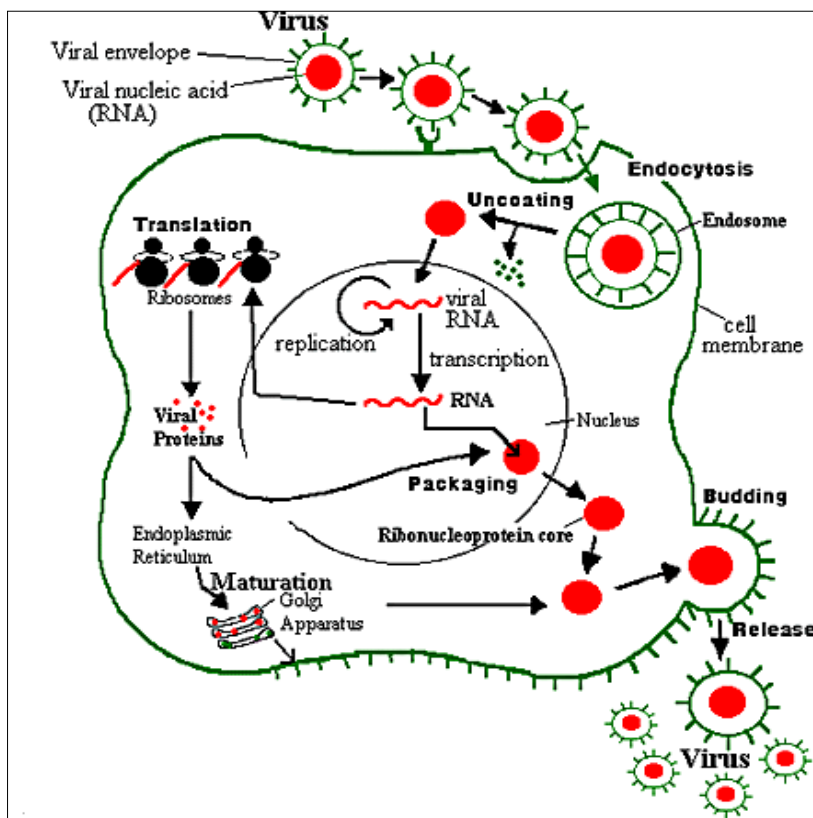


Abb. 3: Schematische Darstellung der Infektion einer Wirtszelle durch Influenzaviren (<http://www.csa.com/discoveryguides/avian/images/replication.gif>)

Nach der intrazellulären Aufnahme ermöglicht das H die Fusion mit den intrazellulären Vesikeln (White et al. 1982), den Endosomen. Dieser Vorgang wird durch das saure Milieu mit einem pH-Wert von 5,5 in den Vesikeln ermöglicht. Durch zelluläre Proteasen wird das H in zwei Untereinheiten gespalten und erfährt anschließend eine pH-abhängige Änderung der Konformation. Die Fusionsdomäne von H ist nun befähigt, in die Zielmembran einzudringen und den Fusionsprozess zu initiieren. Zusätzlich werden Protonen über den vom M2-Protein gebildeten Ionenkanal, der selbst pH-abhängig ist, in das Virus transportiert (Pinto et al. 1992). Die Fusion der Virus- und Endosomen-Membranen wird ermöglicht. Das Virus wird von seiner Hülle befreit und penetriert

aus den Endosomen in das Zytoplasma. Dieser Prozess wird als **Uncoating** bezeichnet. Das M2-Protein erfüllt eine weitere wichtige Funktion. Es unterstützt den Zusammenbau der Gensegmente in den neu gebildeten Tochterviren (McCrown und Pekosz 2005). Es erfolgt eine Abspaltung des M1-Matrixproteins von den Nukleokapsiden. Anschließend wird der Komplex in das Zytoplasma freigesetzt und durch die nukleäre Poren aktiv in den Zellkern transportiert (Martin und Helenius 1991). Dort findet die Transkription und Replikation des viralen Genoms durch die Polymerasen (Neumann et al. 2004) statt. PB1 und PA erreichen als Komplex den Zellkern, während das PB2 allein transportiert wird (Fodor und Smith 2004). Es wird angenommen, dass die verschiedenen Polymerase-Untereinheiten über das Importin α/β -Dimer den klassischen und den alternativen Weg über den Importin- β -Rezeptor nutzen, um in den Zellkern zu gelangen. Über den alternativen Prozess erreichen die PB1-PA-Dimere durch die Ran-binding-Protein-(RanPB5)-Rezeptoren den Nukleus (Deng et al. 2006). Der klassische Weg verläuft über die Importin- α -Rezeptoren, den das NP und die vRNA über die Importin- α 1-, α 2-Proteine (Wang et al. 1997) und das PB2 über das Importin- α 5-Protein (Tarendeau et al. 2007) für ihren intranukleären Transport nutzen. Die Negativstrang-Einzelsegmente der vRNA gelangen mit dem NP und dem Polymerasekomplex als Nukleokapsid in den Zellkern. Es erfolgt die **Transkription**, d. h. die Synthese der RNA, wobei die vRNA als Matrize für die Produktion einer komplementären (c)RNA sowie der mRNA dient. Das 5'-Ende der mRNA ist mit einer Kappen-Struktur (cap-Struktur) ausgestattet, die von zellulärer mRNA abstammt. Die cRNA dient als Matrize für die Synthese der neuen vRNA-Tochterstränge. Anschließend gelangt die neu gebildete mRNA in das Zytoplasma, bindet dort an ein Ribosom und induziert jeweils die Synthese eines bestimmten Virusproteins. Dieser Vorgang wird als **Translation** bezeichnet und findet an freien oder membrangebundenen Ribosomen statt.

Das neu gebildete NP, M1-Protein und der Polymerasekomplex (Huang et al. 2008) werden wieder in den Zellkern transportiert und binden an die vRNA-Tochterstränge. Das NP erfüllt im Vermehrungszyklus die Funktion eines Koordinators zwischen den viralen und zellulären Prozessen (Portela und Digard 2002). Eine weiterer Regler des Transkriptionsmechanismus ist das M1-Protein, das passiv in den Nukleus gelangt (Martin und Helenius 1991). Durch Bindung des M1-Proteins an das neu gebildete Nukleokapsid wird der Prozeß der Transkription herunter geregelt. Anschließend wird das neu synthetisierte Nukleokapsid aus dem Zellkern entlassen. Gleichzeitig werden die wichtigen am rauen endoplasmatischen Retikulum gebildeten Oberflächenproteine H und N in den glatten Vesikeln zur Zellmembran transportiert. In diesem Zeitraum findet das weitere **Processing** der Membranproteine statt. Die virusspezifischen Glykoproteine werden an der äußeren Zellmembran angesammelt. In diesem Bereich werden M-Proteine der Innenseite der Zellmembran angelagert. Wenn alle Bestandteile des Virus an der Zellmembran liegen, werden diese nach außen vorgestülpt und schnüren sich ab. Dieser als „**Budding**“ bezeichnet Prozess wird durch das M1-

Protein (Gomez-Puertas et al. 2000) sowie durch H und N (Chen et al. 2007) bewirkt. Wesentlich für den Knospungsvorgang ist die Interaktion zwischen dem M1- und M2-Protein (Chen et al. 2008). Bei der Freisetzung der fertigen Viruspartikel spielt die N eine wichtige Rolle. Sie vermittelt die Abspaltung der N-Acetyl-Neuraminsäure vom Virus und von der Zelle. Dabei werden auch an der Virusoberfläche haftende Neuraminsäurereste mit gespalten, wodurch die Aggregation der Viruspartikel untereinander verhindert wird. Das enzymatisch aktive Zentrum mit Bindungsfähigkeit für neuraminsäurehaltige Strukturen ist bei allen Stämmen hochkonserviert und stellt dadurch einen idealen Angriffspunkt für antivirale Hemmstoffe dar.

Der Vorgang vom Eintritt des Virus in die Zelle bis zur **Freisetzung neu gebildeter Viruspartikel** dauert circa 5 bis 8 Stunden. Nach Freisetzung von bis zu 100.000 Influenza-Viruspartikel pro infizierter Zelle wird der **zelluläre Apoptosevorgang** eingeleitet, der zum Zelltod führt (Hinshaw et al. 1994).

2.5. Epidemiologie der Influenzavirus-Infektion

Die saisonalen Influenzavirus-Infektionen sind weltweit verbreitet. In beiden Hemisphären treten regelmäßig in den jeweiligen Wintern Grippewellen auf (Viboud et al. 2006). So kommt es alljährlich in Deutschland von Dezember-März zu Epidemien, die gegenwärtig von den humanen Influenza A-Viren der Subtypen H1N1 und H3N2 sowie Influenza B-Viren verursacht werden. Auf der Südhalbkugel liegt die Winter- und Influenzasaison im Zeitraum von Mai-August. In den wärmeren Gebieten wurde keine Saisonalität beobachtet. Die Inkorporation in den menschlichen Organismus und die Übertragung des Influenzavirus erfolgt durch die Tröpfcheninfektion, d.h. durch große Tropfen beim Sprechen, Niesen und Husten (Bridges et al. 2003a, Bell 2006) sowie durch Inhalation feinsten Tröpfchen als virushaltige Aerosole (Alford et al. 1966). Aber auch Infektionen durch Kontakt mit Sekreten als Schmierinfektionen sind möglich (Tellier 2006). Dabei handelt es sich um eine direkte Übertragung von Krankheitserregern durch das Berühren eines Gegenstandes oder Lebewesens. Erwachsene können vom Tag vor Symptombeginn bis 5 Tage nach Beginn der Erkrankung das Virus übertragen (Hoppe et al. 2005). Kinder weisen über einen deutlich längeren Zeitraum von mehr als 10 Tagen eine Virusausscheidung auf. Bei Immunsupprimierten wurde eine Virusausscheidung über Wochen und Monate beobachtet. In Deutschland sterben je nach Ausprägung der Influenzawelle 8.000 bis 20.000 Menschen jährlich an den Folgen der Erkrankung (Zucs et al. 2005). Dabei führen A/H3N2-Grippewellen im Durchschnitt zu mehr Influenza-assoziierten Krankenhauseinweisungen bzw. Todesfällen als B- und A/H1N1-dominierte

Wellen (Thompson et al. 2003, Thompson et al. 2004, Zucs et al. 2005). Von grundlegender Bedeutung für die Epidemiologie der Influenza ist die genetische Variabilität der Influenza A-Viren. Die relevanten Antigenvariationen betreffen vor allem H und N. Die entsprechenden Vorgänge werden als antigene Shift und Drift bezeichnet (Schild 1979). Voraussetzung für den Antigen sprung, die so genannte Antigen-Shift, stellen die Genomabschnitte der Influenza A-Viren dar. Bei der Simultaninfektion einer Wirtszelle mit zwei verschiedenen Influenzaviren ist eine Kombination der Gensegmente möglich. Begünstigend wirkt hierbei das breite Wirtsspektrum und die Vielzahl der H- und N-Typen des Influenzavirus A. So wurden bei Menschen, Schweinen, Pferden, Nerzen, Frettchen und Robben ein Teil der Subtypen nachgewiesen. Das eigentliche Reservoir der Influenza-A-Viren bilden Wasservögel, bei denen alle bisher beschriebenen H- und N-Subtypen nachweisbar sind (Webster et al. 1992). Menschliche und aviäre Influenzaviren unterscheiden sich durch ihren spezifischen Bindungszellrezeptor. Das Schwein hingegen besitzt Rezeptoren für die menschliche und aviäre Influenza (Ito et al. 1998). Findet der Genaustausch an wichtigen Segmenten für eines oder beide Oberflächenantigene statt, können Viren mit neuer antigenen Struktur entstehen. Diese Antigen-Shift ist wesentliche Ursache für die Entstehung von Pandemien. Es handelt sich dabei um länderübergreifende Ausbrüche. Sie sind gekennzeichnet durch das Auftreten oder Wiederauftreten eines Influenza A-Subtypes, gegen den die Mehrheit der menschlichen Bevölkerung nicht immun ist. Beispiellos zeigte sich die „Spanische Grippe“ von 1918/19. Diese Influenzavirus A-Pandemie mit dem Erreger-Subtyp H1N1 führte zu einer der verheerendsten Katastrophen weltweit. Schätzungsweise ein Drittel der Weltbevölkerung war infiziert und wies klinisch erkennbare Symptome auf. Die Gesamtzahl der zu beklagenden Todesfälle lag zwischen 20 und vermutlich 50 Mio. (Patterson und Pyle 1991, Reid et al. 2001, Johnson und Mueller 2002). Um 1957 kam es zu einem Influenza-A-Typenwechsel zu H2N2, der die „Asiatische Grippe“ auslöste. 1968 führte die „Hongkong Grippe“ zu einem erneuten Wechsel zu H3N2. 1977 trat wiederum H1N1 auf, das derzeit mit H3N2 koziirkuliert (Hoppe et al. 2005, Kilbourne 2006). Die antigene Drift, die besonders bei Influenzaviren des Subtyps H3N2 auftritt, entsteht durch eine schrittweise Anhäufung von Einzelbasenmutationen in einem Gen, die zur Änderung der Aminosäuresequenz eines Moleküls führt. Durch Änderung von 11 Aminosäurenpositionen im H wandelte sich beispielsweise das A/Wuhan/395/95 zum neuen Influenza-Referenzstamm A/Sydney/5/97. Eine weitere Ursache der genetischen Variabilität des Influenza A-Virus ist das Wiederauftreten von Subtypen. Es kommt zur Konservierung des Virus in einem Reservoir und zu einem späteren Wiederauftreten. Seit 1977 beobachtet man das parallele Auftreten der Subtypen H1N1 und H3N2, die sich jährlich durch Punktmutationen, die antigene Drift, wandeln und in regelmäßigen Abständen räumlich begrenzte Epidemien verursachen (Fock et al. 2001).

2.6. Influenzavirus-Infektion im Kindesalter

Als Ursache akuter Infektionen des Atmungstraktes im Kindesalter stehen vor allem Erkrankungen durch Respiratory Syncytial Virus (RS)-, Influenza- und Parainfluenza-Viren im Vordergrund (Weigl et al. 2002). Jährlich erkranken ca. 30% der Kinder an Influenza. Bei Auftreten einer Pandemie wären Erkrankungsraten von 70% zu erwarten (Munoz 2002). Die erste Phase einer Virusepidemie ist gekennzeichnet durch eine Häufung der Infektion bei Schulkindern. Anschließend erreicht die Erkrankung die Gruppe der Säuglinge und Erwachsenen. In der Gruppe der Säuglinge und Kinder liegt die höchste Infektionsrate vor (Munoz 2002). In der Saison 2007/2008 wurde in der Gruppe der unter 5-jährigen Kinder, bezogen auf die Bevölkerung, die höchste kumulative Inzidenz an Exzess-Konsultationen und in der Gruppe der unter 2-Jährigen die höchste Rate an Krankenhauseinweisungen erhoben (RKI 2008). Die meisten Influenzavirus-Infektionen bei Säuglingen treten nach dem 7. Lebensmonat auf, wenn die von der Mutter übertragenen Antikörper abgebaut sind und ein Kontakt zur Umwelt besteht. Es gibt viele Anzeichen dafür, dass Kinder bei der Virusverbreitung und somit der Dynamik der Influenzawelle eine wichtige Rolle spielen (Glezen 1996, Uphoff und Stilianakis 2001, Reichert et al. 2001). Kinder gelten als „das Feuer der Epidemie“, da Kinder im Vergleich zu Erwachsenen Viren länger und in höheren Dosen ausscheiden (Hall et al. 1979, Frank et al. 1981). Die Immunität ist bei Kindern kürzer. Zahlreiche subklinische Reinfektionen sind zum Aufbau der natürlichen Abwehr erforderlich (Frank et al. 1979). Das Hospitalisierungsrisiko ist insbesondere für Säuglinge und Kinder unter dem 5. Lebensjahr deutlich erhöht (Hite et al. 2007, Izurieta et al. 2000, Neuzil et al. 2000a) und mit der Gruppe der Personen im Alter von über 50 bis 64 Jahren vergleichbar (Thompson et al. 2004). Bei Säuglingen im 1. Lebensjahr ist das Risiko eines influenzabedingten Krankenhausaufenthaltes höher als bei den älteren Erwachsenen mit Risikofaktoren (Neuzil et al. 2000a). Die Influenza führt zu erheblichen sozioökonomischen Auswirkungen auf die erkrankten Kinder und ihre Familien (Principi et al. 2003, Heikkinen et al. 2004). Die Sterblichkeit in der Gruppe der Kinder ist jedoch geringer als die in der Gruppe der älteren Erwachsenen (Glezen 1996, Thompson et al. 2003). Dennoch wurden bislang zahlreiche lebensbedrohliche Komplikationen und Todesfälle durch die Influenza bei Kindern beschrieben (Glezen et al. 1997, Quach et al. 2003). Chronisch kranke Kindern weisen ein deutlich erhöhtes Sterblichkeitsrisiko auf.

2.7. Symptomatik der Influenza

Der Hauptangriffspunkt des Influenzavirus ist das Zylinderepithel des Respirationstraktes. Innerhalb von 4-6 Stunden beginnt die Replikation und Infektion weiterer Zellen wie Makrophagen, Schleimdrüsen-, Endothel- und Alveolarzellen. Nach einer Inkubationszeit von 1-5 Tagen stellen sich die typischen Symptome einer Influenzagrippe ein. Charakteristisch für die Influenzavirus-Infektion ist ein plötzlicher Krankheitsbeginn. Er wird als „sudden onset“ bezeichnet. Am 2.- 3. Tag nach der Infektion kommt es zum Höhepunkt der Erkrankung. Während einer Epidemie sprechen folgende Symptome mit hoher Wahrscheinlichkeit (80%) für eine Influenzavirus-Infektion:

- **schlagartiges Auftreten von Fieber**
- und/oder **schweres Krankheitsgefühl**
- sowie **mindestens zwei der folgenden Symptome**: Gliederschmerzen, Kopfschmerzen, Husten, Abgeschlagenheit.

Typisch sind bei Kindern virusbedingte Myalgien mit unterschiedlichem klinischen Verlauf, aber auch die Nackenmyositis und der Wadenschmerz. Glücklicherweise führt nur jede zweite Erkrankung zum Vollbild der Influenza. Das klinische Bild ist bunt und reicht vom symptomarmen Geschehen bei 50% der Infizierten bis zur Viruspneumonie und toxischen Verläufen mit letalem Ausgang bei ca. 10% der Infizierten. Bei unkompliziertem Verlauf bildet sich die Erkrankung innerhalb von 5-7 Tagen zurück. Typisch nach überstandener Erkrankung ist die verzögerte Rekonvaleszenz. Komplikationen der Erkrankung können in jedem Lebensalter auftreten. Sie betreffen vorrangig Patienten mit Grunderkrankungen sowie Personen über dem 60. Lebensjahr, Säuglinge in den ersten 6 Lebensmonaten und Kleinkinder zwischen dem 2. und 4. Lebensjahr (Louie et al. 2006).

Die Influenza ist nicht nur auf den oberen Respirationstrakt begrenzt, sondern mit einem weiten Spektrum von Komplikationen wie Krupp, Tracheobronchitis, Bronchitis, Pneumonie (Abb. 4) (Peltola et al. 2003), akute Otitis media (Ruuskanen et al. 1989) und Sinusitis (Wright et al. 1977) verbunden. Die Erkrankungen werden durch bakterielle Superinfektionen mit *Streptococcus pneumoniae*, *Hämophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* und Pneumokokken verursacht (Bisno et al. 1971, Schwarzmann et al. 1971).

Ebenso kann eine Influenzainfektion zur akuten Exazerbation eines bekannten Asthmas (Neuzil et al. 2000), zu Fieberkrämpfen (Chiu et al. 2001), Myositis (Dietzmann et al. 1976, Li et al. 2008), Myokarditis (Engblom et al. 1983, Nolte et al. 2000, Guarner et al. 2006, Letouze et al. 2006), Perikarditis (Franzen et al. 1991), Enzephalitis (Maricich et al. 2004) und dem Reye-Syndrom (Belay et al. 1999) führen.



Abb. 4 : Typische Komplikation einer Influenzaerkrankung: li. Viruspneumonie, re. Bronchopneumonie im Rahmen einer bakteriellen Superinfektion Viruspneumonie:<http://www.mevis-research.de/.../hhhrInfIntPnThA19a.JPG> (Bronchopneumonie:http://www.mevis-research.de/.../hhhrinf_brpn_schim.JPG)

Das Reye-Syndrom bei Kindern, das bei gleichzeitiger Einnahme von Salizylaten bei einer Influenzainfektion zur akuten Enzephalopathie und fettigen Leberdegeneration führen kann (Tang et al. 1975), und die akut auftretende nekrotisierende Influenza A-assoziierte Enzephalopathie, die in den vergangenen Jahren in europäischen und osteuropäischen Ländern zunehmend auftrat, stellen ernste Komplikationen dar (Olgar et al. 2006). Insbesondere in Japan und Ostasien wird diese Form der Enzephalopathie häufig als Folgeerkrankung beobachtet (Nunoi et al. 2005, Mizuguchi et al. 2007). Enzephalitiden bedingt durch das Influenzavirus B wurden ebenfalls beschrieben (Bayer 1987). Darüber hinaus kann das Toxic Shock-Syndrom mit Influenzavirus A- und B-Infektionen assoziiert sein (MacDonald et al. 1987, Tolan 1993).

2.8. Labordiagnose der Influenzavirus-Infektion

In der Influenzavirus-Diagnostik stehen die Methoden des direkten und indirekten Virusnachweises zur Wahl. Beim **direkten Influenzavirus-Nachweis** werden geeignete Patientenproben auf das Vorhandensein von Influenzavirus-Antigen untersucht. Das Patientenmaterial stellen üblicherweise Wattetupfer mit Schleimproben aus dem Pharynx und/oder der Nase bzw. Gurgelwasser dar. Die Tupfer sollten nach der Entnahme in ein Transportmedium übertragen werden. Weitere Untersuchungsmaterialien können Trachealsekret oder bronchioalveoläre Lavage sein.

Zu den direkten Methoden des Influenzavirus-Nachweises gehören:

5. Influenza-Schnelltest
6. Antigen-Nachweis durch Festphasenimmunassay
7. Polymerasekettenreaktion (PCR), Mikroarrays
8. Virusisolation durch Anzucht oder Vermehrung auf geeigneten Medien

9. optische Darstellung des Viruspartikels durch das Elektronenmikroskop.

Für den direkten Nachweis von Inflenzaviren besteht gemäß § 7 Infektionsschutzgesetz (IfSG) eine namentliche Meldepflicht innerhalb von 24 Stunden an das Gesundheitsamt.

Der **Influenza-Schnelltest** ist von wesentlicher Bedeutung für eine rasche Diagnose in der ärztlichen Praxis. Ziel der Methode nach dem Prinzip eines Immunassays ist der Nachweis typspezifischer interner Antigene der Inflenzaviren im Untersuchungsmaterial. Spezifität und Sensitivität des Inflenzaschnelltestes können jedoch deutlich eingeschränkt sein (Storch 2003, Montalto 2003, Hurt et al. 2007). In einigen spezialisierten Laboren erfolgt der Virusantigen-Nachweis quantitativ mit **Festphasenimmunassays** auf der Basis von Mikrotiterplatten. Diese Tests weisen eine günstigere Spezifität und Sensitivität auf (Watanabe et al. 1999, Yamazaki et al. 2001). Dem Genomnachweis dient die **PCR**, die eine hohe Sensitivität und Spezifität besitzt (Templeton et al. 2004). Sie wird jedoch nur in spezialisierten Laboreinrichtungen vor gehalten. Das 1983 von Kary Mullis entwickelte Verfahren beruht auf der künstlichen Vervielfältigung von DNA durch temperaturstabile DNA-Polymerasen, nach dem die vRNA mittels reverser Transkriptase in entsprechende DNA umgeschrieben wurde. In **Microarrays**, auch als „Genchips“ oder „Biochips“ bezeichnet, kann eine Vielzahl an parallelen Analysen unter Einbeziehung verschiedener Erreger durchgeführt werden. Optisch ist eine direkte Darstellung des Viruspartikels im **Elektronenmikroskop** möglich, was jedoch mit einem relativ hohen Aufwand verbunden ist.

Schließlich ist der Inflenzavirus-Nachweis auch mittels **Anzüchtung in Zellkulturen** möglich. Derzeitig werden als Zelllinien Madin Darby Canine Kidney-Zellen (MDCK-Zellen) sowie African Green Monkey Cells (Vero-Zellen) eingesetzt. Die Virusanzüchtung in Zellkulturen und im bebrüteten Hühnerei gelten derzeit als Goldstandard zur Diagnosesicherung der Influenza. Der Nachteil besteht in einem relativ hohen Zeitaufwand. Zur Typisierung neu isolierter Viren wird der Hämagglutinationstest (HHT) mit postinfektionellen Frettchenseren auf der Grundlage überwiegend stammspezifischer Antikörper empfohlen. Zum Erreichen einer schnelleren Diagnose besteht die Möglichkeit, virusspezifische Antigene mittels Immunfluoreszenz in der Zellkultur zu bestimmen. Zur Impfstoffherstellung wird ebenfalls das Verfahren der Inflenzavirus-Anzucht angewandt, wobei der Einsatz von Zelllinien die Virusvermehrung in Hühnereiern zunehmend ersetzt.

Der **indirekte Nachweis der Inflenzavirus A-Infektion** sowie die **Bestimmung des Immunstatus** erfolgen mit dem Nachweis von virusspezifischen Antikörpern. Wesentlich für die Ergebnisse ist die Antigenpräparation. Bei zytopathogenen Virusinfektionen wie der Inflenzavirus-Infektion ist die Antikörperdiagnostik nicht zur Frühdiagnostik geeignet. Es lässt sich lediglich die Krankheitsursache klären. Bei dem Untersuchungsmaterial handelt es sich in der Regel um Serumproben, die zu Beginn und 14 Tage nach dem Beginn der Erkrankung entnommen werden.

Die Antikörper-Nachweis-Verfahren können in den folgenden beiden Hauptgruppen zusammengefasst werden:

- Biologische Verfahren: Flüssigphasen-Immunoassays wie HHT, Komplementbindungsreaktion (KBR), Hämolyse-in-Gel-Test (HiG)
- Festphasen-Immunoassay: Immunfluoreszenztest (IFT), Enzym-Immuno-Assay (EIA), ELISA, Radio-Immuno-Assay (RIA)

Beim Flüssigphasen-Immunoassay erfolgt die Antigen-Antikörper-Reaktion in der Flüssigkeit des Testansatzes. Die Infektionsneutralisationstests sind nach wie vor die zuverlässigsten Untersuchungsmethoden zur Beurteilung der Immunität. Beim als Goldstandard angesehenen **HHT** wird nach Ausfällung unspezifischer Serumhemmstoffe das Patientenserum mit dem hämagglutinierenden Virusantigen versetzt. Anschließend erfolgt die Zugabe agglutinierbarer Erythrozyten. Der Antikörpertiter wird nach Sedimentbildung, d.h. Hämagglutinationshemmung, abgelesen. Bei der **KBR** werden virusspezifische Antikörper nachgewiesen, indem ihre Komplementaktivierenden Eigenschaften genutzt werden. Der HHT und die KBR sind die klassischen Tests zum Nachweis von Typ- und Subtypspezifischen Antikörpern. Dazu zählt auch das **HiG**-Verfahren, wobei hier die KBR in einem Gel durchgeführt wird. Im Rahmen einer Influenzavirus-Infektion werden sowohl Titeranstiege, um mindestens zwei Verdünnungsstufen sowie hohe Antikörpertiter bei entsprechendem klinischen Krankheitsbild gewertet.

Bei modernen kommerziell angebotenen **Festphasen-Immunoassays** wird ein definiertes Antigen auf einem geeigneten Trägermaterial fixiert. Es werden verschiedene Antigene verwendet, die im Virusreplikationszyklus zu unterschiedlichen Zeitpunkten auftreten. Meist werden spezifische Ribonukleoproteine und Matrixproteine als Antigen eingesetzt. Die mit dem Antigen reagierenden Antikörper der Serumprobe können nach Zugabe eines markierten Anti-Human-Immunglobulins mittels Fluoreszenzfarbstoffen (IFT), Isotopen (RIA), Enzymen (EIA, ELISA) oder mit einem Licht emittierenden Indikator (Lumineszenz-Immunoassay) nachgewiesen werden. Im Unterschied zu den Flüssigphasenimmunoassays kann zwischen den Immunglobulinklassen unterschieden werden. Die Angabe der Antikörperkonzentrationen erfolgt in entsprechenden Einheiten. Durch ihre hohe Sensitivität eignen sich EIAs nicht nur zum Nachweis einer durchgemachten Influenza, sondern auch für Immunstatusbestimmungen.

2.9. Erfassung der Influenza

Um eine zeitnahe Überwachung und Berichterstattung über die Influenzaaktivität in Deutschland gewährleisten zu können, wurde 1992 das Überwachungssystem der Arbeitsgemeinschaft Influenza (AGI) gegründet. Diese Arbeitsgemeinschaft entstand als Gemeinschaftsarbeit des Robert Koch-

Institutes (RKI), des Deutschen Grünen Kreuzes e.V. (DGK), des Nationalen Referenzzentrums für Influenza (NRZ) am RKI sowie Partnern aus der impfstoffherstellenden Industrie. Das DGK führt die Feldarbeit und Routineauswertungen des Überwachungssystems durch. Finanziell wird diese Arbeit durch pharmazeutische Unternehmen unterstützt. Das Influenzaüberwachungssystem besteht aus einer bestimmten Anzahl rekrutierter allgemeinärztlicher, internistischer sowie pädiatrischer Praxen. Patienten mit akuten respiratorischen Erkrankungen (ARE) werden entsprechend ihrer Altersstufen sowie der krankheitsbedingten Arbeitsunfähigkeit, der Krankenhauseinweisungen und Todesfälle wöchentlich gemeldet. Ungefähr 20% der meldenden Ärzte wurden mit Materialien zur Abnahme von Nasenabstrichen ausgestattet. Bei Patienten mit typischem Krankheitsbild wird Untersuchungsmaterial gewonnen. Das RKI ist für die Gesamtkoordination des wissenschaftlich-epidemiologischen und virologischen Anteils der Surveillance verantwortlich. Ein repräsentative Stichprobe der während der Saison isolierten Viren wird an das Weltgesundheitsorganisation-(WHO)-Labor in Mill Hill, England, gesandt. Sie dienen der Auswahl der Impfstämme für die kommende Influenzasaison. Wichtig für die virologische Surveillance ist das frühzeitige Erkennen neuer Influenzavirus-Varianten und der Vergleich der saisonal zirkulierenden Viren mit Viren aus früheren Jahren sowie mit den von der WHO empfohlenen Impfviren. Der Einfluss der Influenzavirus-Infektion auf die Gesundheit der Bevölkerung wird mit Hilfe des European Influenza Surveillance Scheme (EISS)-Index abgeschätzt. In diese Zahl gehen die influenza bedingten Excess-Konsultationen, -Arbeitsunfähigkeiten und -Krankenhauseinweisungen ein. Auf internationaler Ebene erfolgt die Überwachung der Influenzaaktivität durch das EISS und das European Center for Disease Control (ECDC) sowie durch die WHO (RKI 2007a).

2.10. Prophylaxe der Influenza

Die aktive Immunisierung ist die wirksamste und kosteneffektivste präventive Maßnahme gegen Influenza (Nichol 2003). Wegen der antigenen Drift muss der Impfstoff jährlich angepasst werden. Nach der Bekanntgabe der Impfstoffzusammensetzung durch die WHO, getrennt für die Nord- und Südhalbkugel, beginnt die Vakzineherstellung, die bis zu 6 Monaten dauert. Immunität und Schutzwirkung beginnen ca. 14 Tage nach Impfung und halten 6-12 Monate an (Noble et al. 1977).

Zur Immunisierung stehen folgende Vakzine zur Verfügung (Tab. 1):

- **Totimpfstoffe**, Trivalent Inactivated Influenza Vaccines (TIV), beinhalten abgetötete, inaktivierte Erreger oder -bestandteile als Ganzpartikelimpfstoff, Spalt- oder Subunit-Impfstoff
- **attenuierte Lebendimpfstoffe**, die aus abgeschwächten Erregern bestehen, Live Attenuated Influenza Vaccines (LAIV), dabei werden kalteadaptive und temperatursensitive Influenzavirus-Stämme unterschieden.

Alle derzeit eingesetzten saisonalen Influenzavirus-Impfstoffe sind aus Impfantigenen von 2 Varianten des Influenzavirus A und einem Stamm des Influenzavirus B zusammengesetzt (H3N2, H1N1, B). Die Tab. 1 zeigt einen Überblick über die beiden Impfstoffarten, deren Immunisierungserfolg und Nebenwirkungsprofil.

Inaktivierte Vakzine gegen Influenza werden seit den 50iger Jahren eingesetzt. Meist werden „Spaltimpfstoffe“ angewandt, bei denen die Virusoberfläche zerstört wurde und die eine definierte Menge H, N sowie weitere Antigene wie das M-Protein und NP enthalten. Ein Subunitimpfstoff entsteht durch die vollständige Auflösung der Virusoberfläche, wobei die spezifischen Komponenten die Oberflächenantigenen H und N herausgereinigt wurden. Die Wirksamkeit des Impfstoffes hängt von der Übereinstimmung zwischen Impf- und zirkulierendem Epidemiestamm ab. Das Nebenwirkungsprofil ist in der Regel gering. In Studien ließ sich eine Korrelation zwischen der Antwort der Hämglutination-Hemmantikörper nach Impfung mit dem Schutz gegen eine spätere Influenzaerkrankung feststellen (Couch 1975, Couch und Kasel 1983). Ein Serumtiter von 1:40 und höher wird als schützend eingestuft (American Academy of Pediatrics 2002, Hannoun et al. 2004). Bei Kindern, die bisher noch nicht gegen Influenza geimpft wurden, werden zum Erreichen eines Impfschutzes zwei Impfungen im Abstand von 4 Wochen empfohlen (Hobson et al. 1972). Allerdings ist die Immunogenität und Wirksamkeit der in Deutschland und der EU zugelassenen Influenza-Impfstoffe in dieser Altersgruppe klinisch kaum untersucht. Ein ausreichender Impfschutz gegen die saisonalen Influenzaviren in der Bevölkerung dient der Prophylaxe einer möglichen Doppelinfektion und Hemmung einer Virusmutantenbildung. Schwerwiegende allergische Reaktionen auf Grund der Herstellungsmethode können bei einer Überempfindlichkeit auf Hühner-eiweiß und Antibiotika auftreten.

Tab. 1: Überblick über die Immunisierungsraten und Nebenwirkungen der Influenza-Impfstoffgruppen

Influenza-Impfstoffe	Immunisierungsraten	Nebenwirkungen nach Impfstoff-Applikation
TIV-trivalenter inaktiver Impfstoff	<ul style="list-style-type: none"> -bei gesunden Kinder und Erwachsenen Influenzaschutz in 60 bis 90% -bei Kindern ist die Immunantwort altersabhängig (< 6. LJ: nach 1 Impfstoffdosis ein vierfacher Titeranstieg gegen H (Neuzil und Edwards 2002); > 6. LJ liegt die Serokonversionsrate: 70 bis 100%. -bei älteren Erwachsenen und kranken Patienten ist Effektivität geringer 	<ul style="list-style-type: none"> -1.-3. Tag: vorübergehende Allgemeinreaktionen wie Fieber, Übelkeit, Unwohlsein, Muskel- und Gelenkschmerzen -4. Tag: lokale Induration (Neuzil und Edwards 2002). -selten: Vaskulitis, Thrombopenie oder allergische Reaktionen, Risiko eines Guillian-Barre-Syndroms: 1-2 Fälle pro 1.000.000 Geimpfter
LAIV-attenuierter Lebendimpfstoff	<ul style="list-style-type: none"> -Induktion einer robusten Serum- und Schleimhaut-Antikörperreaktion bei jungen nicht zuvor immunisierten Kindern (Belshe et al. 2000, Belshe et al. 2007) -bei älteren Kindern und Erwachsenen geringere Influenza-spezifische Antikörperreaktion als bei TIV (Johnson et al. 1985, Sasaki et al. 2007) -Immunität gesunder Erwachsener und älterer Jugendlicher TIV vergleichbar (Nichol et al. 1999). 	<ul style="list-style-type: none"> Gehäuftes Auftreten einer vorübergehenden Gesichtslähmung

Der **attenuierte Lebendimpfstoff** wird seit den 60iger Jahren erforscht und erfolgreich in der Russischen Föderation angewendet. Dieser Impfstoff basiert auf kälteangepassten Impfstämmen, die durch wiederholte Passagen bei fallenden Temperaturen so verändert wurden, dass sie sich am besten bei 25°C vermehren und mit den Gensegmenten für H und N der aktuellen Epidemiestämme kombiniert werden. Anschließend werden die Impfviren in embryonierten Hühnereiern vermehrt und nach Zentrifugation und Zugabe von Stabilisatoren mittels Applikator intranasal verabreicht. Nach Markteinführung wurde der Impfstoff in der Schweiz wegen Häufung einer vorübergehenden Gesichtslähmung wieder vom Markt genommen. Im Jahre 2003 erhielt eine ähnliche Vakzine die Zulassung in den USA. In Deutschland und der EU ist der Lebendimpfstoff bisher noch nicht zugelassen. Vorteil des Impfstoffes ist, dass neben der Induktion einer humoralen und zellulären Immunität auch sekretorisches IgA gebildet wird.

Da jüngeren Kindern eine besondere Bedeutung bei der Entstehung und Verbreitung der Influenzaepidemie zukommt und im Säuglingsalter hohe Hospitalisierungsraten vorliegen, gilt in den USA seit Oktober 2004 die Empfehlung einer jährlichen Influenzaimpfung für alle Kinder zwischen dem 6. und 23. Lebensmonat (Bridges et al. 2003). Auch Schwangere weisen ein erhöhtes Risikoprofil für Influenza auf. Daher wird in einigen Ländern zu einer Immunisierung bei Frauen mit Kinderwunsch oder im zweiten oder dritten Schwangerschaftstrimenon geraten. In Deutschland liegt derzeit keine Impfeempfehlung für diese Altersgruppen vor. Die aktuellen Influenza-Impfeempfehlungen der STIKO des RKI vom Juli 2009 werden in Tab. 2 zusammengefasst. Die Durchimpfungsraten in Deutschland lagen 2000/01 bundesweit bei 23% (in den neuen Ländern bei 33%) (RKI 2002) und 2008 bei 28% (AGI 2007/08). Zusätzliche Pneumokokkenimpfungen senken die influenzabedingte Übersterblichkeit bei einer Epidemie, in dem sie vor der Komplikation einer Pneumonie schützt. In der Regel sollten die Influenza- und Pneumokokkenimpfung zwischen September und Januar synchron an verschiedenen Körperteilen intramuskulär appliziert werden. Eine postexpositionelle Impfung ist nicht sinnvoll.

Eine besondere Situation stellt eine drohende Influenzapandemie dar. Eine interministerielle Koordinierungsgruppe empfiehlt den Ländern den Zeitpunkt, ab dem die Produktion pandemischer Impfstoffe zu veranlassen ist. Für eine ausreichende Wirksamkeit muss der Impfstoff zweimal im Abstand von 10-21 Tagen verabreicht werden. Zur Vorbereitung auf eine Pandemie gehört die Erhöhung der Durchimpfungsrate in der interpandemischen Phase auf mindestens ein Drittel der Gesamtbevölkerung.

Tab. 2: Impfpfempfehlung der STIKO am Robert Koch-Institut (RKI 2009a), gekürzt

- ◆ Personen > 60. Lebensjahr
- ◆ Kinder, Jugendliche und Erwachsene mit erhöhter gesundheitlicher Gefährdung auf Grund chronischer Erkrankungen:
- ◆ Krankheiten der Atmungsorgane (einschließlich COPD und Asthma)
- ◆ Herz-Kreislaufkrankung
- ◆ Leber- und Nierenerkrankheiten
- ◆ Diabetes mellitus und anderer Stoffwechselerkrankungen
- ◆ Multiple Sklerose mit durch Infektionen getriggerten Schüben
- ◆ Patienten mit erworbenen oder angeborenen Immundefekten mit T- und /oder B- zellulärer Restfunktion,
- ◆ HIV-Infektion
- ◆ Bewohner von Alten- und Pflegeheimen.
- ◆ Gefährdete Personen: medizinisches Personal, Personen mit hohem Publikumsverkehr und Personen, die eine mögliche Infektionsquelle für ungeimpfte Risikopersonen darstellen
- ◆ Personen mit direktem Kontakt zu Geflügel- und Wildvögeln
- ◆ Reisende aus den o.g. Risikogruppen, die nicht über einen aktuellen Impfschutz verfügen
- ◆ Bei drohender intensiver Epidemie oder nach Antigendrift und -shift und der Impfstoff die neue Variante enthält

2.11. Therapie der Influenza

Für die Kontrolle und Vorbeugung einer Influenzavirus-Erkrankung stellen antivirale Medikamente eine wertvolle Ergänzung zu Impfstoffen dar. In Deutschland sind derzeit Amantadin, Oseltamivir und Zanamivir zur Therapie der Influenza zugelassen, wobei Amantadin und Oseltamivir auch zur Prophylaxe eingesetzt werden können. Die Abb. 5 zeigt den Wirkungsort der derzeit eingesetzten antiviralen Therapeutika.

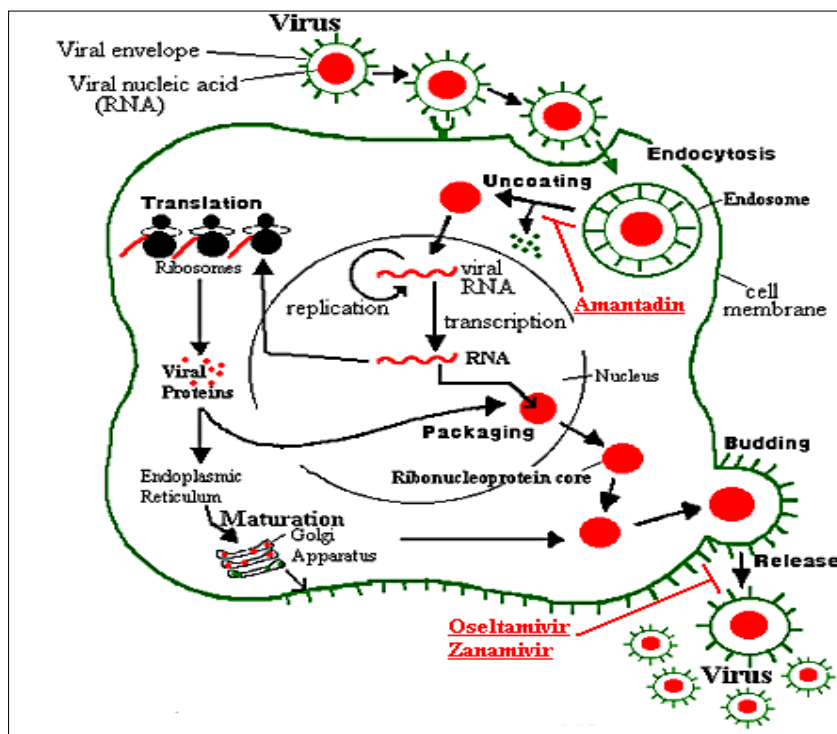
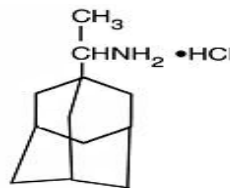
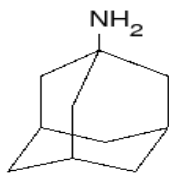


Abb. 5: Angriffspunkte im Virusreplikationszyklus der derzeit in Deutschland zugelassenen Virustatika zur Therapie und Prophylaxe der Influenza (<http://www.csa.com/discoveryguides/avian/images/replication.gif>)

Das Medikament Amantadin (InfectoFlu-Saft[®], Infex[®]) (Abb. 6) wirkt über die kompetitive Hemmung des M2-Proteins (Wang et al. 1993). Es verändert die Niedrigenergie-Zustände des Proteins (Cady und Hong 2008) und verhindert dadurch das Uncoating des Influenzavirus und seine intrazelluläre Ausbreitung. Ein Effekt des Amantadins wird nur gegenüber Influenzavirus A erzielt. Von Nachteil ist die rasche Resistenzbildung nach der Einnahme des Medikamentes (Hayden et al. 1989, Hayden und Hay 1992). Die Applikation innerhalb von 48 Stunden nach Beginn der Symptomatik führt zur Reduktion des Fiebers um einen Tag (Jefferson et al. 2000). Nach dem derzeitigen Erkenntnisstand ist in Anbetracht der zentralnervösen Nebenwirkungen, wie z.B. Schlaflosigkeit, Nervosität, Ängstlichkeit (Keyser et al. 2000) von einer Therapie mit Amantadin auf Grund der geringen Effektivität abzuraten (Jefferson et al. 2006). Ein weiterer M2-Protein-Hemmer, Rimantadin (Flumadine[®]), ist in Deutschland zur Prophylaxe und Therapie der Influenza nicht



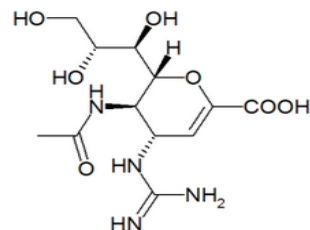
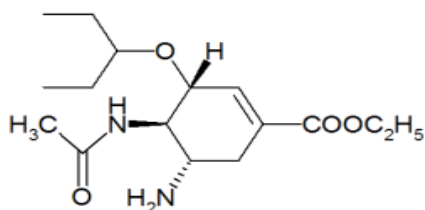
zugelassen. In anderen Ländern wie z.B. den USA wird er jedoch eingesetzt und empfohlen.

Amantadin

Rimantadin

Abb. 6: Strukturformeln der M2-Hemmer

Die Neuraminidase (N) fördert die Freisetzung und Verbreitung der Influenzaviren innerhalb der Atemwege. Ein großer Fortschritt für die Therapie der Influenza war daher die Entwicklung der N-Hemmer Oseltamivir (Tamiflu[®]) und Zanamivir (Relenza[™]) (Couch 1999) (Abb. 7), die sich zur Behandlung und Prophylaxe der Influenza A und B sowie der aviären Influenza eignen. Diese antiviralen Medikamente hemmen die Freisetzung von neuen Influenzaviren aus infizierten Zellen, unterdrücken dadurch die Ausbreitung der Infektion im Körper und führen zu einer Verklumpung freier Viren (Sidwell et al. 1998, Moscona 2005).



Oseltamivir

Zanamivir

Abb. 7: Strukturformeln der N-Hemmer

Auf Grund der geringen und nicht ausreichenden oralen Verfügbarkeit des antiviralen Medikamentes Zanamivir, das seit 1999 zur Therapie der Influenzavirus A- und B-Infektion jenseits des 12. Lebensjahres zugelassen ist, erfolgte die Entwicklung einer inhalativen Applikationsart. Das seit Juli 2002 in Deutschland zugelassene Oseltamivir wird dagegen als orales Medikament mit einer Haltbarkeitsdauer zwischen 2 und 5 Jahren angeboten (Gubareva et al. 2000). Es ist ab vollendetem 1. Lebensjahr zur Therapie einer Influenzavirus A- und B-Erkrankung und nach dem 13. Lebensjahr zur Prophylaxe einsetzbar. Als Vorteil erwies sich die geringe Resistenzentwicklung (McKimm-Breschkin 2000). Resistente Virusisolate zeigen zudem eine reduzierte Replikationsfähigkeit und Pathogenität. Studien belegen den Nutzen des prophylaktischen Einsatzes der N-Hemmer bei gesunden Patienten postexpositionell (Welliver et al. 2001, Monto et al. 2004) und bei der saisonalen Influenzaerkrankung (Monto et al. 1999, Hayden et al. 1999). Im infizierten Organismus bewirkt der Einsatz von N-Hemmern bei Einnahme innerhalb von 48 Stunden nach Beginn der Influenzasymptomatik eine Reduktion der Viruslast, so dass die Dauer der Erkrankung um 1- 2 Tage verkürzt, die Schwere der Influenza gemildert und die Inzidenz der sekundären Komplikationen reduziert wird (Englund 2002, Matheson et al. 2003). Symptome wie Fieber, Husten, Myalgien und Kopfschmerzen werden abgeschwächt. Die Effektivität einer Prophylaxe liegt bei 70 bis 90 %, wenn sie innerhalb von 48 Stunden begonnen wird (Cooper et al. 2003). Es kommt zu einer Linderung der Beschwerden. Folgeerkrankungen treten seltener auf. Beide Virustatika zeigen auf Grund ihrer Pharmakokinetik ein geringes Nebenwirkungspotential (Doucette und Aoki 2001). Als wesentliche unerwünschte Begleiterscheinungen werden Übelkeit und Erbrechen signifikant häufiger unter Oseltamivir beschrieben (Treanor et al. 2000).

Das Paul-Ehrlich-Institut (PEI) und die Deutsche Vereinigung zur Bekämpfung der Viruserkrankungen e.V. (DVV) gaben 2002 auf einer Konsens-Konferenz Empfehlungen für die antivirale Therapie und Prophylaxe der Influenza (Tab. 3). Es wurde festgestellt, dass Oseltamivir in oraler Einnahmeform und Zanamivir über inhalative Applikation auf Grund ihrer vergleichbaren Wirksamkeit alternativ zur Behandlung der Influenzaviruserkrankung einsetzbar sind. Amantadin stellt keine medikamentöse Alternative dar, da es keine Wirksamkeit gegen Influenzavirus B besitzt und zur Entwicklung resistenter Virusmutanten führt. Wesentlich ist die frühzeitige Einnahme der Medikation innerhalb von 48 Stunden nach Symptombeginn. Immunkompetente Patienten mit einem nicht fieberhaften Infekt bzw. mehr als 2 Tage nach Krankheitsbeginn sollten nicht mehr mit einem N-Hemmer behandelt werden. Dagegen sollten abwehrgeschwächte Patienten bei diagnostizierter Influenza die entsprechende Medikation erhalten. Die prophylaktische Verwendung von antiviralen Medikamenten wird bei Patienten, die engen Kontakt zu akut erkrankten Personen aufwiesen und über keinen Impfschutz verfügen, sowie im Falle der Pandemie empfohlen.

Tab. 3: Empfohlene antivirale Medikamente zur Therapie der Influenza (Wutzler 2002)

Wirkstoffgruppe, Virustatikum	Dosierung	Nebenwirkung & Anmerkung
Neuraminidase-Hemmer Zanamivir (Relenza TM) Inhalat	Ab 12. Lebensjahr: 2 x tägl. 10 mg/ 5 d	Bei bekannter bronchialer Obstruktion und Dauertherapie mit einem Bronchodilatator sollte dieser vor dem Virustatikum verwendet werden
Neuraminidase-Hemmer Oseltamivir (Tamiflu [®]) Kapseln, Suspension	Ab 1. Lebensjahr: 2 x tägl. 75 mg/ 5 d (KG ≤ 40 kg nach KG: über 5 d -2x2 mg/kgKG/d oder 1-3 Jahre: 2x30mg/d, 4-7 Jahre: 2x45 mg/d, 8-12Jahre: 2x60 mg/d) Prophylaxe der saisonalen und aviären Influenza ab 13. Lebensjahr: -leichter Verlauf: 2 x tägl. 75 mg/5 d -schwerer Verlauf: bis 2 x tägl. 150mg/7-10 d	Gastrointestinale Beschwerden (Übelkeit, Erbrechen, Magenbeschwerden) Dosisanpassung bei Niereninsuffizienz -Kreatininclearance 10-30ml/kg: 1 mal täglich 75mg
M2-Protein-Hemmer Amantadin (InfectoFlu-Saft [®]) Sirup	-1.- 9. Lebensjahr: 2 x tägl. 2,5mg/kg (max. 150mg/d)/7 d; -10.- 64. Lebensjahr: 2 x tägl. 100mg/7 d -ab 65. Lebensjahr: 1 x tägl. 100mg/7 d Nur bei Influenzavirus A -Infektionen wirksam	- Symptome: längere QT-Zeit, Leichte ZNS-Beschwerden, Depression, Schwindel, Unruhe, Schlafstörungen, Durchfall, epileptische Anfälle, periphere Ödeme - Gegenanzeigen: Herzinsuffizienz; Myokarditis; Prostatavergrößerung; Blasenentleerungsstörungen; bestehendes Engwinkelglaukom; Neurosen; Epilepsien; Kinder < 5 Jahre; Schwangerschaft; Thyreotoxikose; akute Lebererkrankung; Anwendung von Antiarrhythmika der Klasse III, Antidepressiva, Makrolide; - Dosisreduktion bei Niereninsuffizienz: s. Fachinformation - Wechselwirkung: mit Diuretika; N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptoren (NMDA) führt zur Verstärkung von Nebenwirkungen; verminderte Alkoholverträglichkeit

2.12. Nationaler Pandemieplan

Der Begriff einer Influenzapandemie wird als eine weltweite Influenza-Epidemie definiert, die durch ein neuartiges Virus verursacht wird und zu Erkrankungs- und Sterberaten führt, die solche bei saisonalen, auch schweren Influenzawellen um ein Vielfaches übertreffen. Voraussetzung ist das Auftreten eines viralen Subtyps, gegen den die Bevölkerung keine ausreichende Restimmunität aufweist. Es treten schwere Erkrankungen auf, die von Mensch zu Mensch übertragen werden. Unter dem Aspekt des allgemeinen Krisenmanagements handelt es sich um eine lang anhaltende, länderübergreifende Großschadenslage (Phase 6 nach Einteilung der WHO). Der Nationale Pandemieplan wurde im Rahmen des globalen Aufrufs der WHO zur Pandemie-Vorsorge im Jahr 2004 erstellt und im Bundesgesetzblatt (BGBl 2007, Nr. 20) veröffentlicht. Er ist Teil des Nationalen Katastrophenvorsorgeplanes und Grundlage für die Pandemiepläne der Länder und Ausführungspläne der Kommunen. Es erfolgt eine gemeinsame und kontinuierliche Aktualisierung durch Bund und Länder sowie eine regelmäßige Überprüfung und Ergänzung durch Experten. Der Plan besteht aus drei Teilen und orientiert sich an der Phaseneinteilung des Pandemieverlaufes (Stand 2007, RKI 2007):

-Teil I : Überblick über Maßnahmen: Definition einer Influenzapandemie im Rahmen des allgemeinen Krisenmanagements, Strukturen des Krisenmanagements, Versorgung mit Virustatika und Impfstoffen, Überwachung und Meldewesen, internationale Abstimmung über Maßnahmen im Reiseverkehr, Krisenkommunikation im Pandemiefall, Forschung und Forschungs koordinierung

-Teil II: phasenorientierte Aufgaben und Handlungsempfehlungen über das Zusammenwirken und Zuständigkeiten von Bund, Ländern, Gemeinden und Dritten

- Teil III: Epidemiologie der inter pandemischen und pandemischen Influenza, Phaseneinteilung, rechtlicher Grundlagen, Surveillance, Impfung, antivirale Arzneimittel, medizinische Vorbereitung, Schutzmaßnahmen und Folgeschätzungen, internes Krankenhausmanagement, Kommunikation und Information.

2.13. Neues Influenzavirus A/H1N1

In Mexiko traten Anfang 2009 erstmals Fälle akuter respiratorischer Erkrankungen mit Nachweis eines bisher nicht klassifizierten Influenza A-Virus auf. Es wurde als „triple-reassortant“ H1N1 identifiziert. Die Ausbreitung dieses neuen Virus verlief rasant. Kurze Zeit später wurde es bei Erkrankten in den USA nachgewiesen. „Triple-reassortant“ H1N1-Viren zirkulieren seit einigen Jahrzehnten bei Schweinen. Übertragungen auf den Menschen waren jedoch bisher selten. Dieses neue Virus hingegen wird leicht zwischen Menschen verbreitet. Es wurde als „swine-origin Influenza A-Virus“ (s-OIV) bezeichnet. Überwiegend junge Menschen werden von der Infektion betroffen. Der Altersmedian liegt bei 25 Jahren. Bis zum 05.11.2009 lag die Fallzahl bestätigter Influenzainfektion in Deutschland bei insgesamt 40.271 (RKI 2009b). 13 Todesopfer waren bisher bundesweit zu beklagen (RKI 2009c). Typische Symptome der neuen Influenza A H1N1-Infektion sind Fieber, Husten, Kopf- und Gliederschmerzen, Müdigkeit, Appetitlosigkeit aber auch Nausea, Erbrechen und Diarrhoe. Bei Patienten mit akuten respiratorischen Symptomen und/oder Fieber sowie vielfältigen Mensch-zu-Mensch-Kontakten oder Kontakte zu einem gesicherten Fall wird eine Influenzavirus-Diagnostik empfohlen. Die Übertragung der Viren erfolgt über Tröpfchen und aerogen. Die Inkubationszeit liegt zwischen 1 bis 4 Tagen. Durch einfache Verhaltensweisen, wie z.B. regelmäßige Händewaschungen, Vermeidung von Händekontakt, Nutzung von Einmal-taschentüchern, Bedeckung von Mund und Nase beim Husten und Niesen, kann die Verbreitung der Viren in der Bevölkerung reduziert werden. Für den Nachweis der Viren ist die Sensitivität des Schnelltestes deutlich eingeschränkt, so dass eine zweifelsfreie Diagnose nur mittels PCR möglich ist. Für Verdachts-, Krankheits- und Sterbefälle liegt eine Meldepflicht an die Gesundheitsämter vor. Am 11.6.2009 wurde durch die WHO die Alarmstufe 6 im Pandemiestufenplan ausgerufen und damit die InfluenzaA/H1N1 zur Pandemie erklärt. Behandelt wird die Influenza mit Neuraminidase-Hemmern. Derzeit ist nicht von bedeutsamen Resistenzen auszugehen, jedoch wurden sporadische Fälle in Japan, Hongkong und Dänemark nachgewiesen. Impfstoff sind seit Oktober 2009 verfügbar (Wolf und Brodt 2009). Derzeit stehen in Deutschland drei verschiedene Influenza H1N1-

Impfstoffe zur Prophylaxe der Neuen Influenza von verschiedenen Herstellern zur Verfügung. Sie wurden durch unterschiedliches Prozessing des A/California/07/2009 (H1N1) Virus entwickelt, die sich jedoch hinsichtlich ihrer Bestandteile wie Virusanteils, Produktionsmodus und zugefügten Adjuvantien unterscheiden. Der Impfstoff „Celvapan“, der Firma Baxter AG, besteht aus dem H1N1-Ganzvirus, das auf Verozellen angezüchtet und in entsprechenden Schritten inaktiviert wurde. Die Firma Novartis dagegen vertreibt den „Focetria“-Impfstoff. Dieser Pandemieimpfstoff enthält inaktiviertes Virus-Oberflächenantigen, das mit dem Adjuvanz MF59.1 versetzt wurde. Als inaktivierter Spaltimpfstoff liegt der Impfstoff „Pandemrix“, der Firma GlaxoSmithKline Biologicals vor. Dem Impfstoff wurde der Immunmodulator „Adjuvant System 03 (AS03)“ zugesetzt. Der Einsatz der Immunmodulatoren wurde zur Erhöhung der Impfstoff-Produktionsausbeute notwendig, so konnte der Antigen-Anteil im Impfstoff reduziert werden. Derzeit wird allen Bevölkerungsgruppen die Schutzimpfung vor der „Neuen Influenza-H1N1“ empfohlen. In Abhängigkeit von der Impfstoffverfügbarkeit sollte der Impfstoff zeitlich gestaffelt und in Abstufung appliziert werden (Tab. 4).

Tab. 4: Impfzielgruppen (STIKO 2009, gekürzt, RKI 2009d)

- | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. Personen im Gesundheitsdienst, Wohlfahrtspflege und Kontakt zu Patienten oder infektiösem Material 2. chronisch kranke Personen ab dem 6. Lebensmonat: Krankheiten der Atmungsorgane (einschließlich COPD und Asthma), Herz-Kreislaufkrankung, Leber- und Nierenkrankheiten, Malignome, Diabetes mellitus und andere Stoffwechselerkrankungen, neurologische und neuromuskuläre Grunderkrankungen, Patienten mit erworbenen oder angeborenen Immundefekten mit T- und /oder B- zellulärer Restfunktion, HIV-Infektion. 3. Schwangere (ab dem 2. Trimenon) und Wöchnerinnen 4. Haushaltskontaktpersonen, als mögliche Infektionsquelle für ungeimpfte Risikopersonen (s. Punkt 2.,3.) und Säuglinge unter 6 Monaten 5. Personen zwischen 6 Monaten und 24 Jahren 6. Personen zwischen 25 und 59 Jahren 7. alle übrigen Personen ab dem 60. Lebensjahr |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Nach den Dosierungsempfehlungen des PEI und RKI werden für den pandemischen Impfstoff „Pandemrix“ bei Kindern zwischen 6 Monaten und 9 Jahren- eine halbe Erwachsenendosen (0,25 ml), ab dem 10. Lebensjahr- eine normale Erwachsenendosis (0,5 ml) empfohlen (RKI 2009d).

Wenn die Symptomatik durch das neue Influenzavirus H1N1 bislang auch relativ milde ist, so besteht die reale Gefahr, dass er durch Rekombinationen mit saisonalen Influenza A-Viren zur Entstehung weitaus gefährlicher Influenza A-Viren kommt.

3. Aufgabenstellung

Während Kinder und Jugendliche ein besonderes Gefährdungspotential der Influenza darstellen und in starkem Maße zur Verbreitung innerhalb der Bevölkerung beitragen, wird eine generelle Impfung dieser Altersgruppen in Deutschland nicht empfohlen. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Antikörperprävalenz gegen Influenzavirus A und B bei Kindern und Jugendlichen zu bestimmen, um Rückschlüsse auf die Häufigkeit dieser Infektionen im Kindes- und Jugendalter ziehen zu können. Als Studiengruppe dienten Serumproben von 1.111 Kinder und Jugendlichen im Alter von 0-18 Jahren aus dem Thüringer Raum. Die Kontrollgruppe bildeten Seren von 809 gesunden Blutspendern im Alter zwischen 18 und 30 Jahren. Zur Bestimmung der Influenzavirus-spezifischen Antikörper sollten der Influenzavirus A IgG-ELISA und Influenzavirus B IgG-ELISA der Firma NovaTec-Immundiagnostica GmbH (Dietzenbach) eingesetzt werden. Es war geplant virus-spezifische IgG-Antikörper sowohl qualitativ als auch semiquantitativ in Studien- und Kontrollgruppe zu erfassen.

Primäres Ziel war dabei die Prävalenzschätzung Influenzavirus A und B- spezifischer Antikörper bei Kindern und Jugendlichen in den Altersgruppen von 0- 18 Jahren. Sekundäre Zielkriterien waren die altersspezifischen Prävalenzschätzungen in der Kontrollgruppe der Erwachsenen, Vergleiche der Antikörperprävalenz und Konzentrationen in den Altersgruppen der Kinder und Jugendlichen mit der Kontrollgruppe sowie Prävalenzvergleiche der Geschlechtsgruppen bei den Kindern und mit den Erwachsenen. Die gewonnenen Daten sollten Erkenntnisse zur epidemiologischen Situation der Influenza im Kindes- und Jugendalter in Thüringen liefern.

4. Material und Methodik

4.1. Probanden und Untersuchungsmaterial

4.1.1. Studiengruppe

In die vorliegenden Untersuchungen wurden 1.111 Serumproben von Kindern und Jugendlichen aus dem Stadtgebiet und der Umgebung von Erfurt (Freistaat Thüringen) einbezogen. Die Verteilung der Proben, das Alter und Geschlecht der Studienprobanden sowie das Jahr der Serumgewinnung sind in der Tab. 5 (S. 27) aufgeführt. Es gingen Proben aus den Jahren 1999 bis 2006 in die Rekrutierung ein. Die Einbeziehung der Proben erfolgte anonymisiert auf der Grundlage der Stellungnahme der Zentralen Ethikkommission über „Die (Weiter-) Verwendung von menschlichen Körpermaterialien für Zwecke medizinischer Forschung“ vom 20.02.2003. Diese besagt, dass „die Abwägung zwischen Forschungsziel und persönlichen Belangen des Betroffenen oder Dritter ausnahmsweise zu dem Ziel führen kann, dass eine Verletzung der Interessen des Betroffenen oder Dritter nicht gegeben ist und damit eine individuelle Einwilligung *von Rechts wegen* nicht erforderlich ist“ (Zentrale Ethikkommission 2003). Darüber hinaus hat die Ethik-Kommission der Friedrich Schiller-Universität Jena an der Medizinischen Fakultät am 15.11.2006 ihre Zustimmung zur Durchführung dieser Studie erteilt (Bearbeitungs-Nummer: 1896-11/06). Bei dem Untersuchungsmaterial handelte es sich um Restproben diagnostischer Einsendungen. Folgeseren konnten nicht entnommen werden.

Bei 845 Probanden (76,1%) handelte es sich um gesunde Kinder und Jugendliche und bei 266 (23,9%) um Personen mit Adipositas oder Wachstumsstörungen. Die Proben waren zum Zwecke routinemäßiger serologischer Untersuchungen entnommen worden, wie z.B. im Rahmen von Schuluntersuchungen oder zur Bestimmung des Immunstatus. Bei allen Studienteilnehmern lagen keine klinischen und labordiagnostischen Hinweise auf eine Infektionskrankheit vor. Der Impfstatus der Kinder und Jugendlichen gegen Influenza war nicht bekannt. Seit der Gewinnung lagerte das Untersuchungsmaterial ohne Unterbrechung der Kühlkette portioniert bei -20° C.

Tab. 5: Übersicht über die Verteilung der Seren der Studiengruppe in den Altersgruppen und Unterteilung nach Geschlecht und Entnahmezeiträumen

Alter der Probanden (Jahre)	Anzahl der Probanden	Männliches Geschlecht	Weibliches Geschlecht	Entnahme 1999-2000	Entnahme 2001-2006
0-1	206 (18,5%)	119 (57,8%)	87 (42,2%)	130 (63,1%)	76 (36,9%)
>1-3	150 (13,5%)	90 (60,0%)	60 (40,0%)	108 (72,0%)	42 (28,0%)
>3-6	155 (14,0%)	81 (52,3%)	74 (47,7%)	145 (93,6%)	10 (6,5%)
>6-9	150 (13,5%)	84 (56,0%)	66 (44,0%)	150 (100,0%)	0 (0,0%)
>9-12	150 (13,5%)	63 (42,0%)	87 (58,0%)	150 (100,0%)	0 (0,0%)
>12-15	150 (13,5%)	84 (56,0%)	66 (44,0%)	150 (100,0%)	0 (0,0%)
>15-18	150 (13,5%)	60 (40,0%)	90 (60,0%)	150 (100,0%)	0 (0,0%)
Gesamt	1.111 (100,0%)	581 (52,3%)	530 (47,7%)	983 (88,5%)	128 (11,5%)

Wie in Tab. 5 dargestellt, wurden insgesamt 1.111 Serumproben von Testpersonen im Alter zwischen 0-18 Jahren untersucht und in Altersgruppen geordnet. Seren von 581 Jungen (52,3%) und 530 Mädchen (47,7%) wurden analysiert. 983 Proben (88,5%) stammten aus den Jahren 1999 bis 2000 und 128 Seren (11,5%) aus dem Zeitraum 2001-2006, wobei die Proben aus dem zuletzt genannten Zeitraum nur von Kindern im Alter von 0-6 Jahren entnommen worden waren.

Die Abb. 8 stellt die Häufigkeitsverteilung der Kinder und Jugendlichen in den einzelnen Altersgruppen nach dem Geschlecht grafisch dar.

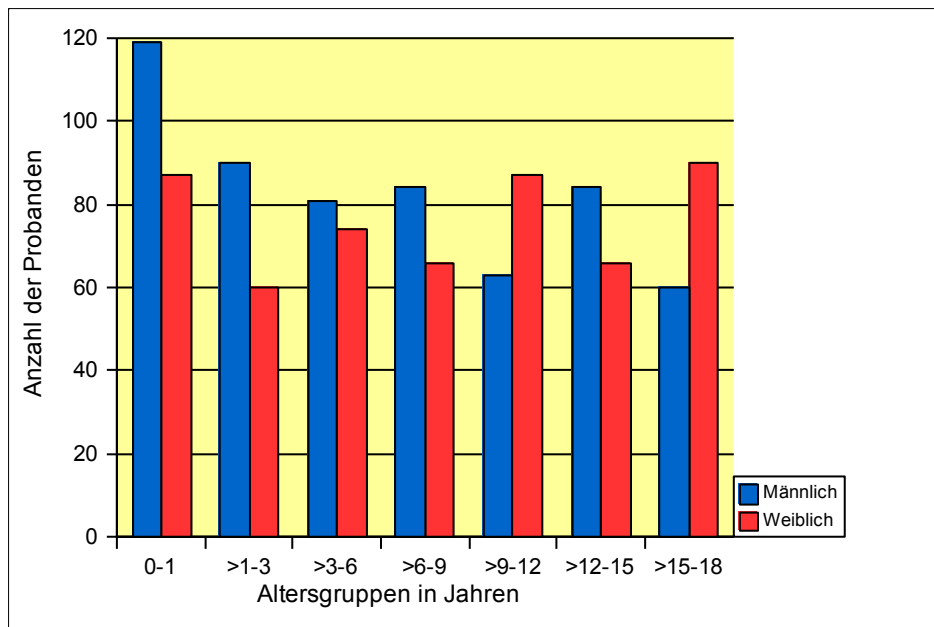


Abb. 8: Häufigkeits- und Geschlechtsverteilung der Probanden in den verschiedenen Altersgruppen der Studiengruppe

In die Studiengruppe wurden insgesamt 206 Neugeborene und Säuglinge bis zum ersten Lebensjahr einbezogen. Die Untersuchung der Proben erfolgte geordnet nach den Lebensmonaten der Kinder (Tab. 6). Eine Unterteilung der Probanden nach dem Geschlecht war aufgrund der relativ geringen Fallzahlen pro Lebensmonat (9-39) nicht sinnvoll, weshalb auf diese Darstellung verzichtet wurde. Abbildung 9 stellt die Anzahl der untersuchten Kinder nach den Lebensmonaten grafisch dar.

Tab. 6: Übersicht über die Gruppe der Kinder im 1. Lebensjahr

Kinder im ersten Lebensjahr														
Altersgruppen in Monaten	0.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	Σ
Anzahl der Proben	31	39	21	19	11	12	11	9	10	8	9	9	17	206
Anteil in Prozent	15,1	18,9	10,2	9,2	5,3	5,8	5,3	4,4	4,9	8	4,4	4,4	8,3	100,0

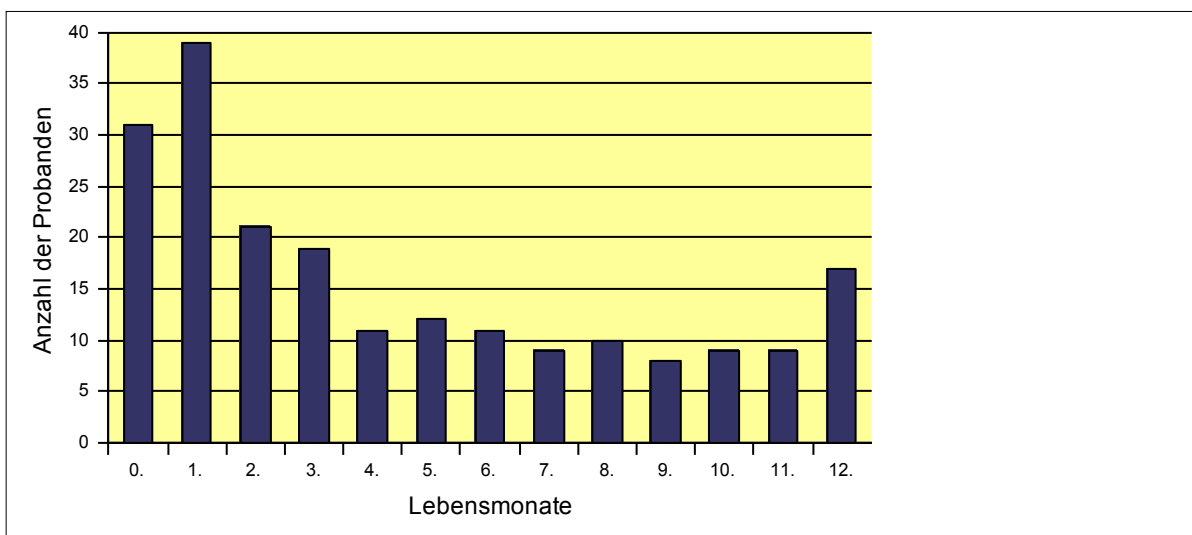


Abb. 9: Übersicht über die Verteilung der Probanden in den verschiedenen Lebensmonaten des ersten Lebensjahres

4.1.2. Kontrollgruppe

Als Kontrollgruppe standen 809 Serumproben von gesunden Blutspendern im Alter zwischen 18 und 30 Jahren aus dem Einzugsgebiet der Stadt Erfurt (Freistaat Thüringen) zur Verfügung. Die Altersverteilung der Blutspender sowie die jeweilige Probenanzahl sind in der Tab. 7 dargestellt. Nach Einverständniserklärung des Leiters der Blutspendeinrichtung erfolgte die Blutabnahme anonymisiert in den Jahren 1999/2000. Folgeseren konnten nicht gewonnen werden. Informationen zum Impfstatus gegen Influenza lagen nicht vor.

Tab. 7: Übersicht über Verteilung der Seren der Kontrollgruppe in den Altersgruppen und Unterteilung nach dem Geschlecht

Alter der Probanden (Jahre)	Gesamtanzahl Anzahl der Proben	Männliches Geschlecht	Weibliches Geschlecht
>18-21	201 (24,9%)	66 (32,8%)	135 (67,2%)
>21-24	199 (24,6%)	89 (44,7%)	110 (55,3%)
>24-27	200 (24,7%)	99 (49,5%)	101 (50,5%)
>27-30	209 (25,8%)	103 (49,3%)	106 (50,7%)
Gesamt	809 (100,0%)	357 (44,1%)	452 (55,9%)

In Abb. 10 wird die Geschlechtsverteilung der Probanden in den verschiedenen Altersgruppen der Kontrollgruppe grafisch dargestellt. Von den 809 Vergleichspersonen im Alter zwischen 18 und 30 Jahren wurden insgesamt 357 männliche (44,13%) und 452 weibliche (55,87%) Studienteilnehmer analysiert. Die Serumproben lagerten seit ihrer Gewinnung ohne Unterbrechung der Kühlkette bei -20° C .

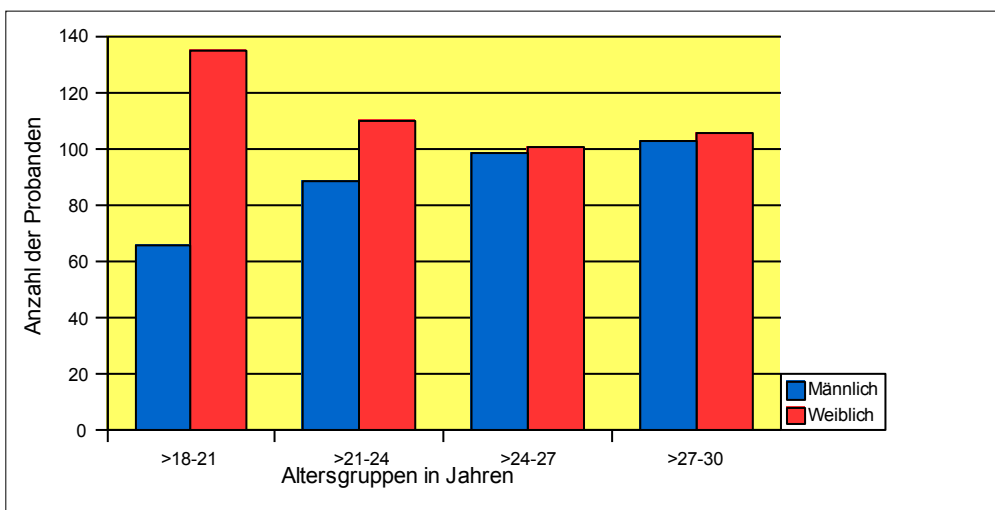


Abb. 10: Häufigkeits- und Geschlechtsverteilung in den verschiedenen Altersgruppen der Kontrollgruppe

4.2. Qualitative und semiquantitative Bestimmung von Influenzavirus A- und B -spezifischem IgG

Der qualitative und semiquantitative Nachweis der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A und B in humanem Serum wurde mit dem Influenzavirus A IgG-ELISA (Artikel-Nr. INFG0290, Ch.-B. INFAG-023 und INFAG-027) und dem Influenzavirus B IgG-ELISA (Artikel-Nr. INFG0300, Ch. -B. INFBG-024 und INFBG-029) der Firma NovaTec-Immundiagnostica GmbH (Dietzenbach) durchgeführt.

4.2.1. Testprinzip

Das Testprinzip beruht auf der indirekten ELISA-Technik und wird in Abb. 11 (S. 31) schematisch dargestellt. Die mit jeweils typenspezifischen Ribonukleoproteinen und M-Proteinen der Influenzaviren A bzw. B beschichteten Mikrotiterstreifen stellen die solide Phase des Testes dar. Virus-spezifische Antikörper in der jeweiligen Untersuchungsprobe binden an die immobilisierten Antigene der Mikrotiterplatte. In positiven Proben bilden sich durch Zugabe von Antihuman-IgG-Antikörpern, die mit Meerrettich-Peroxidase (MRP) als Enzym konjugiert sind, Antigen-Antikörper-Komplexe. Das Aktivitätszentrum der MRP stellt eine eisenhaltige Hämingruppe dar. Diese ist in der Lage einen Komplex mit dem Substrat Wasserstoffperoxid (H_2O_2) zu bilden. In Anwesenheit des Elektronendonators 3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB) als chromogene Substanz zerfällt dieser Komplex unter Bildung von Wasser (H_2O). Die chemische Reaktion wird in der Abb. 12 (S. 31) dargestellt. Darüber hinaus wird die MRP in aktiver Form frei und der Elektronendonator wird oxidiert. Dadurch kommt es zum Umschlag der farblosen Lösung nach blau. Das Reaktionsprodukt ist stabil, unlöslich und blau gefärbt. Die ablaufende enzymatische Reaktion wird nach entsprechender Inkubationszeit mittels Schwefelsäure abgestoppt. Hierbei tritt ein Farbumschlag von blau zu gelb ein, der mittels Spektrophotometer bei 450 nm gemessen werden kann. Die optische Dichte des Endproduktes bei 450 nm ist zur Konzentration der spezifisch gebundenen Antikörper direkt proportional. Zusätzlich wird mit dem 620 nm-Filter des Spektrophotometers als Referenz gemessen. Die ermittelte Kurve kann mit Hilfe des Sigma-Plot- bzw. Excel-Programms analysiert werden. Durch Quotientenbildung aus der jeweils ermittelten Extinktion einer Probe und dem gemessenen Cut-off-Mittelwert wird eine qualitative und semiquantitative Auswertung der Messergebnisse ermöglicht.

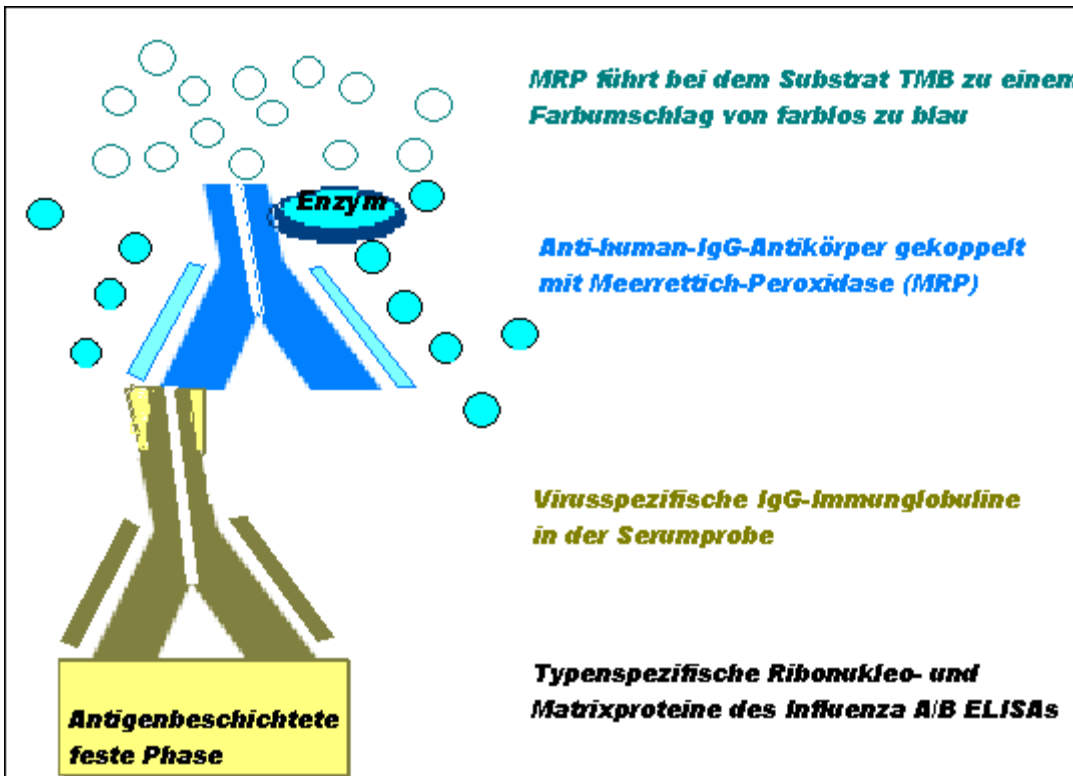


Abb. 11: Schematische Darstellung des Reaktionsablaufes des indirekten ELISAs

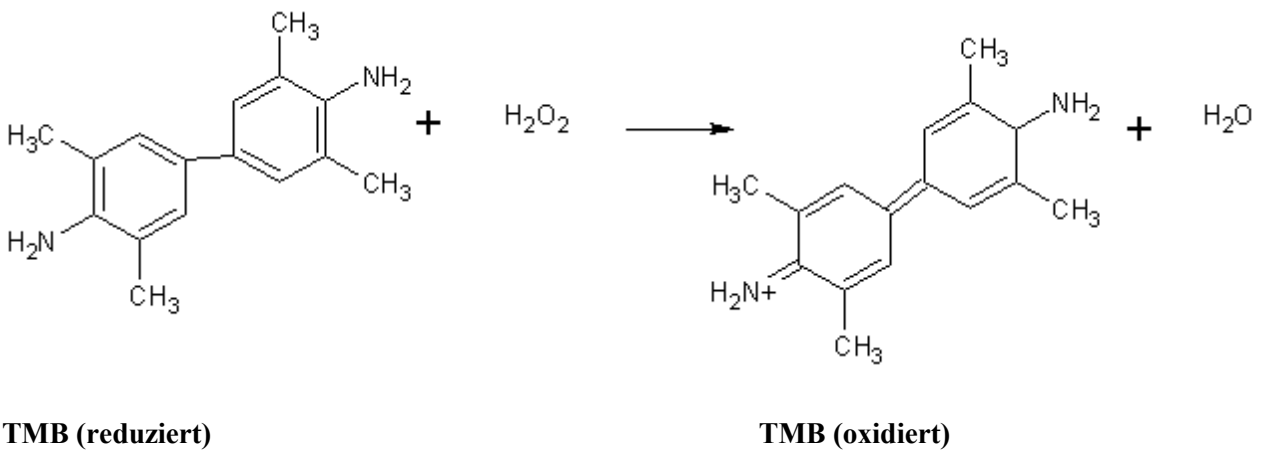


Abb. 12: Darstellung der chemischen Reaktion von 3,3', 5,5 Tetramethylbenzidin (TMB) und Wasserstoffperoxid (H₂O₂) zu oxidiertem TMB und Wasser unter der Katalyse von Meerrettichperoxidase

4.2.2. Kitsysteme für den Nachweis von IgG gegen Influenzavirus A und B

Die mitgelieferten Reagenzien zu den jeweiligen Kitsystemen werden in der Tab. 8 aufgelistet. Darüber hinaus waren dem Test selbstklebende Abdeckfolien, ein Rahmenhalter, eine Arbeitsanleitung sowie ein Ergebnisblatt als Zubehör beigelegt.

Tab. 8: Überblick über die Reagenzien der Kitsysteme für den Nachweis von IgG gegen Influenzavirus A/B

Reagenz	Beschreibung	Menge
Influenzavirus A- bzw. B-beschichtete Mikrotiterstreifen (Influenzavirus A- bzw. B-typische Ribonukleoproteine und Matrixproteine)	12 teilbare 8-er Streifen (96 Kavitäten) beschichtet mit Influenzavirus A/B-Antigen; vakuumverschweißt in wiederverschließbarem Aluminiumbeutel	jeweils 1 Mikrotiterplatte
IgG-Proben-Verdünnungspuffer, gelb gefärbt	pH 7,2± 0,2; gebrauchsfertig; weiße Verschlusskappe	jeweils 1 Flasche mit 100 ml Puffer zur Probenverdünnung
Stopplösung, Schwefelsäure 0,2 mol/l	gebrauchsfertig; rote Verschlusskappe	jeweils 1 Flasche mit 15 ml
Waschlösung (20 mal konzentriert)	20-fach konzentrierter Puffer zum Waschen der Kavitäten; pH 7,2 ± 0,2; weiße Verschlusskappe	jeweils 1 Flasche mit 50 ml
Anti-IgG-Konjugat mit Peroxidase-konjugierten Antikörpern gegen humanes IgG; rot gefärbt	gebrauchsfertig; schwarze Verschlusskappe	jeweils 1 Flasche mit 20 ml
3,3', 5,5' - Tetramethylbenzidin (TMB); Substratlösung; farblos	gebrauchsfertig; gelbe Verschlusskappe	jeweils 1 Flasche mit 15 ml
Positivkontrolle; gelb gefärbt	gebrauchsfertig; rote Verschlusskappe	jeweils 1 Flasche mit 2 ml
Cutt off-Kontrolle; gelb gefärbt	gebrauchsfertig; grüne Verschlusskappe	jeweils 1 Flasche mit 3 ml
Negativkontrolle; gelb gefärbt	gebrauchsfertig; blaue Verschlusskappe	jeweils 1 Flasche mit 2 ml

4.2.3. Materialien und Geräte

Zur Durchführung der ELISAs waren folgende Geräte, Materialien und Hilfsmittel erforderlich, die in Tab. 9 erfasst sind.

Tab. 9: Erforderliche Geräte, Materialien und Hilfsmittel zur Durchführung der ELISAs

Geräte, Materialien und Hilfsmittel	Hersteller
Anthos Reader 2001 Photometer mit Filtern 450/620 nm	anthos Labtec instruments, Wals, Österreich
Feuchtkammer/Brutschrank mit Thermostat- Commander Dynamic Incubator,	Abbott Park Road 100, Abbott Park, Illinois, USA
Mikroplate washer aw 1	Wals, Österreich
EPPENDORF-Mikropipetten mit Einmalgebrauchs- pipettenspitzen (10, 100, 200, 1000 µl)	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Vortex-Mischer Genie 2 TM	Bender & Hobein AG Zürich, Schweiz
Plastikröhrchen für den einmaligen Gebrauch	-
Röhrchenständer	-
steriles Aqua destillata	-
Timer	-

4.2.4. Testmerkmale der eingesetzten Influenzavirus A und B IgG-ELISA

In den Tab. 10 und 11 (S. 34) werden die Präzisionsdaten der Influenzavirus A bzw. B IgG-ELISAs dokumentiert. Es handelt sich hierbei um vom Hersteller durchgeführte Präzisionsanalysen mittels Interassay- und Intraassay-Tests der jeweiligen Influenzanachweise. Im Interassaytest wurde an unterschiedlichen Tagen die Extinktion verschiedener Serumproben (bekannt positive, bekannt negative und schwach positive bzw. grenzwertige Proben) in Einzelbestimmungen gemessen und die relative Standardabweichung als Variationskoeffizient (Vk%) ermittelt. Im Intraassaytest wurden positive Seren des Interassaytests geprüft. Dabei wurden verschiedene Verdünnungen der Probe getestet und an einem Tag mittels Testkit mehrfach analysiert sowie der Variationskoeffizient berechnet.

Tab. 10: Präzision des Influenzavirus A bzw. B IgG-ELISAs im Interassay-Test

Influenzavirus IgG-ELISA	Interassay-Test	Anzahl der Proben	Mittelwert der Ergebnisse	Variations- koeffizient (Vk%)
A	Positivserum	20	2,629	6,5
B	Positivserum	20	2,61	3,2

Tab. 11: Präzision des Influenzavirus A bzw. B IgG-ELISAs im Intraassay-Test

Influenzavirus IgG-ELISA	Intraassay-Test	Anzahl der Proben	Mittelwert der Ergebnisse	Variationskoeffizient (Vk%)
A	Positivserum	8	2,462	3,3
B	Positivserum	8	2,57	3,4

Die verwendeten ELISAs wurden nach Angaben des Herstellers hinsichtlich ihrer Spezifität und Sensitivität mit entsprechenden ELISAs der Firma VIRO-IMMUN Labor-Diagnostika GmbH, Oberursel, verglichen.

Diagnostische Spezifität des Influenzavirus A/B IgG-ELISA:

Die diagnostische Spezifität ist definiert als die Wahrscheinlichkeit des Testes, ein negatives Ergebnis bei Fehlen des spezifischen Analyten zu liefern. Sie beträgt für den Influenzavirus A IgG-ELISA 93% und für den Influenzavirus B IgG-ELISA 86,7%.

Diagnostische Sensitivität des Influenzavirus A/B IgG-ELISA :

Die diagnostische Sensitivität ist definiert als die Wahrscheinlichkeit des Testes, ein positives Ergebnis bei Vorhandensein des spezifischen Analyten zu liefern. Sie beträgt für den Influenzavirus A IgG-ELISA 96% und für den Influenzavirus B IgG-ELISA 95,8%.

4.2.5. Testdurchführung

Vor Testbeginn wurden die Proben im Verhältnis 1+100 mit IgG-Probenverdünnungspuffer verdünnt. Dass heißt, es erfolgte die Einbringung von 10 µl Probe und 1 ml IgG-Probenverdünnungspuffer in die vorbereiteten Röhrchen. Anschließend wurden beide Komponenten gut durchmischt und die Proben entsprechend dem Schema der Abb. 13 (S. 35) zu je 100 µl in die vorgesehenen Kavitäten F1 bis H12 pipettiert. Zuvor wurden die im Kit enthaltenen Kontrollen in die Kavitäten (B1-E1) eingefüllt. Die erste Vertiefung A1 diente zur Bestimmung des Blank- oder Substratleerwertes. Sie enthielt lediglich die Substratlösung. In die B1-Vertiefung wurden Negativkontrolle und in C1 und D1 jeweils 100 µl der Cut-off-Kontrollen pipettiert. Die Positivkontrolle wurde in die E1-Kavität eingefüllt. Die Abb. 14 (S. 35) liefert die schematische Darstellung einer vollständig bestückten Mikrotiterplatte.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blank	Probe 4	Probe 12	Probe 20	Probe 28	Probe 36	Probe 44	Probe 52	Probe 60	Probe 68	Probe 76	Probe 84
B	neg.	Probe 5	Probe 13	Probe 21	Probe 29	Probe 37	Probe 45	Probe 53	Probe 61	Probe 69	Probe 77	Probe 85
C	Cut-off	Probe 6	Probe 14	Probe 22	Probe 30	Probe 38	Probe 46	Probe 54	Probe 62	Probe 70	Probe 78	Probe 86
D	Cut-off	Probe 7	Probe 15	Probe 23	Probe 31	Probe 39	Probe 47	Probe 55	Probe 63	Probe 71	Probe 79	Probe 87
E	pos.	Probe 8	Probe 16	Probe 24	Probe 32	Probe 40	Probe 48	Probe 56	Probe 64	Probe 72	Probe 80	Probe 88
F	Probe 1	Probe 9	Probe 17	Probe 25	Probe 33	Probe 41	Probe 49	Probe 57	Probe 65	Probe 73	Probe 81	Probe 89
G	Probe 2	Probe 10	Probe 18	Probe 26	Probe 34	Probe 42	Probe 50	Probe 58	Probe 66	Probe 74	Probe 82	Probe 90
H	Probe 3	Probe 11	Probe 19	Probe 27	Probe 35	Probe 43	Probe 51	Probe 59	Probe 67	Probe 75	Probe 83	Probe 91

Abb. 13: Schematische Darstellung einer vollständig bestückten Mikrotiterplatte mit 12 x 8 Kavitäten

In der Abb. 14 sind die Mikrotiterplatten mit eingefüllten Kontrollen und Proben dargestellt. Dieser Reaktionsschritt ist durch die Gelbfärbung aller Materialien gekennzeichnet.

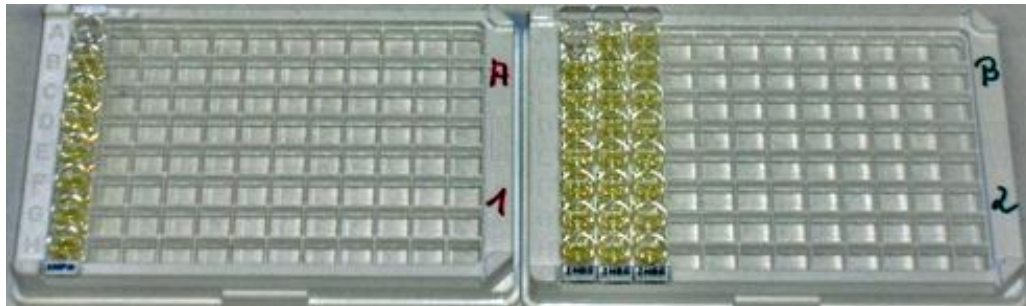


Abb. 14: Mikrotiterplatte für den Influenzavirus A- bzw. B-IgG-ELISA mit den in die entsprechenden Kavitäten eingefüllten Kontrollen (A1, B1, C1, D1, E1) und Proben (Influenzavirus A-Nachweis: F1, G1, H1; Influenzavirus B-Nachweis: F1-H3) (Gelbfärbung).

Im Anschluss wurden die Streifen mit der mitgelieferten Abdeckfolie verschlossen und bei 37° für 1 h ± 5 min im Inkubator belassen. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde die Abdeckfolie entfernt, die Inkubationsflüssigkeit aus den Teststreifen abgesaugt und 3 mal mit 300 µl Waschlösung gewaschen. Überschüssige, nicht gebundene Influenzavirus-spezifische IgG-Antikörper der Proben und Kontrollen wurden auf diese Weise entfernt. Für den Waschvorgang wurde der Mikrotiter washer aw1 eingesetzt. Die Antikörper, die bereits an die solide Phase der Influenzavirus A/B-spezifischen Antigene der beschichtete Mikrotiterstreifen gebunden waren, wurden durch diesen Schritt nicht beeinflusst. Ein Überfließen von Flüssigkeiten aus den Vertiefungen wurde während

des Waschens vermieden. Durch den Waschautomat und das spezielle Waschprogramm wurde ein Intervall von mindestens 5 sek zwischen Waschen und Absaugen eingehalten. Nach dem Waschen erfolgte die Entfernung der restlichen Flüssigkeit aus den Vertiefungen der Mikrotiterplatte durch Ausklopfen der Teststreifen mit den Öffnungen nach unten auf Fließpapier. Anschließend wurden 100 µl des jeweiligen rot gefärbten Influenzavirus A- oder B-Anti-IgG-Konjugates in alle Vertiefungen der jeweiligen Testansätze mit Ausnahme der für die Berechnung des Blank- oder Substratleerwertes (A1) vorgesehenen pipettiert (Abb. 15). Es bildeten sich Antigen-Antikörper-Komplexe, die aus Influenzavirus A- bzw. B-spezifischen Antigen, humanen Influenzavirus A- bzw. B-IgG-Antikörpern und Meerrettich-Peroxidase-konjugierten anti-human-IgG-Antikörpern bestanden.

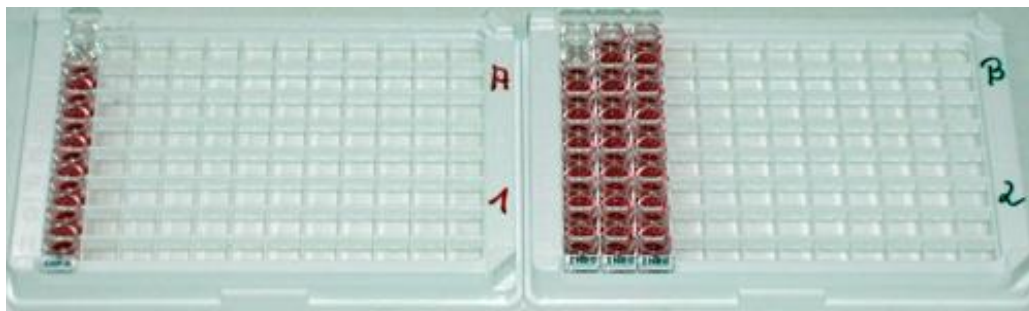


Abb. 15: Mikrotiterplatten für den Influenzavirus A- bzw. B-IgG-ELISA, Kontrollen (B1, C1, D1, E1) und Proben (Influenzavirus A-Nachweis: F1, G1, H1, Influenzavirus B-Nachweis: F1-H3) bestückt mit Influenzavirus A- bzw. B-Anti-IgG-Konjugat (Rotfärbung).

Es folgte eine Inkubation über 30 min bei Raumtemperatur. Dabei wurde eine direkte Sonnenlichteinwirkung vermieden. Um diesen Vorgang abzusichern, wurde die Mikrotiterplatte mit einer lichtundurchlässigen Abdeckung versehen. Im Anschluss wiederholte sich der bereits beschriebene Waschvorgang, und die Restflüssigkeit wurde aus den Vertiefungen entfernt. Zur Sichtbarmachung der gebildeten spezifischen Antigen-Antikörper-Komplexe in den Vertiefungen der Mikrotiterplatte wurde 100 µl TMB-Substratlösung in alle Vertiefungen pipettiert. Das Enzym Meerrettich-Peroxidase (MRP), das an die Anti-human-IgG-Antikörper gebunden ist, welche spezifisch die in den positiven Serumproben vorhandenen IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A/B detektieren bzw. sich an sie binden, katalysiert unter Zugabe von Wasserstoffperoxid die Reaktion von dem reduzierten farblosen TMB zu oxidiertem blau gefärbtem TMB unter der Bildung von Wasser (Abb. 16, S. 37). Dies erfolgte innerhalb einer Reaktionszeit von 15 min ebenfalls unter Vermeidung direkter Sonnenlichteinwirkung bei Raumtemperatur.



Abb. 16: Mikrotiterplatten für den Influenzavirus A- bzw. B-IgG-ELISA, Kontrollen (A1, B1, C1, D1, E1) und Proben (Influenzavirus A-Nachweis: F1, G1, H1, Influenzavirus B-Nachweis: F1-H3) bestückt mit TMB-Substratlösung (Blaufärbung).

Anschließend wurde die Reaktion durch die Zugabe von 100 μ l Stopplösung in der gleichen Reihenfolge und mit den gleichen Zeitintervallen wie bei der TMB-Substratlösung beendet. Durch den Zusatz der Stopplösung ließ sich ein Farbumschlag von blau nach gelb nachweisen (Abb. 17).



Abb. 17: Mikrotiterplatten für den Influenzavirus A-bzw. B-IgG-ELISA, eingefüllte Kontrollen (A1, B1, C1, D1, E1) und Proben (Influenzavirus A-Nachweis: F1, G1, H1, Influenzavirus B-Nachweis: F1-H3) bestückt mit Stopplösung (Gelbfärbung).

Die photometrische Auswertung erfolgte mit dem Labtec-Photometer. Die Extinktionen aller Kavitäten der Mikrotiterstreifen wurden mit dem 450 nm-Filter gegen den 620 nm-Filter als Referenz gemessen und die Ergebnisse ausgedruckt. Im Anschluss wurden die Messwerte der Kontrollen und Proben in das Ergebnisblatt eintragen. Die qualitative und semiquantitative Testauswertung wurde, wie unter 4.2.7. und 4.2.8. beschrieben, vorgenommen. Die Analyse der Proben erfolgte im Doppelansatz an zwei getrennten Untersuchungstagen. Bei diskrepanten Ergebnissen wurde eine Wiederholungsuntersuchung durchgeführt. Nur Proben mit zwei übereinstimmenden Resultaten wurden in die Studie einbezogen.

4.2.6. Testgültigkeitskriterien

Vom Testhersteller wurden die Testgültigkeitskriterien, wie in Tab. 12 zusammengefasst, festgelegt.

Tab. 12: Testgültigkeitskriterien des Influenzavirus A und B IgG-ELISAs

Kontrolle	Erforderliche Extinktion
Substrat-Leerwert in A1 (Blank)	< 0,100
Negativkontrolle in B1	< 0,200
Cut off-Kontrollen in C1 und D1	0,250 bis 0,900
Positivkontrolle in E1	> Extinktion Cut-off-Kontrollen

4.2.7. Qualitative Testauswertung

Serumproben galten als positiv, wenn der Extinktionswert mindestens 10% höher lag als der Cut-off, wobei als Cut-off-Wert der Mittelwert aus den ermittelten Extinktionen der beiden mitgeführten Cut-off-Kontrollen errechnet wurde. Getestete Proben mit Extinktionswerten von <10% über bzw. unter dem Cut-off konnten nicht eindeutig als positiv bzw. negativ eingeordnet werden und wurden als grenzwertig angesehen (Grauzone). Untersuchungsproben galten als negativ, wenn der Extinktionswert mindestens 10% unterhalb des Cut-off-Wertes lag (Tab. 13).

Tab. 13: Kriterien für die qualitative Ergebnisauswertung des Influenzavirus A und B IgG-ELISAs

Qualitatives Ergebnis	Extinktion der Proben im Vergleich zum Cut-off-Mittelwert
Positiv	\geq Cut-off plus 10%
Grenzwertig	$>$ Cut-off minus 10%, $<$ Cut-off plus 10%
Negativ	\leq Cut-off minus 10%

4.2.8. Semiquantitative Testauswertung

Zur semiquantitativen Testauswertung wurden die Extinktionen der Proben in arbiträre Nova-Tec-Units (NTU) umgerechnet. Als Bezugspunkt galt der Cut-off-Mittelwert. Auf diese Weise war eine relative Quantifizierung innerhalb des Tests möglich. Die NTU wurden entsprechend folgender Formel ermittelt:

$$\frac{\text{Mittlere Extinktion der Patientenprobe} \times 10}{\text{Cut-Off-Mittelwert}} = [\text{Nova-Tec-Einheiten} = \text{NTU}]$$

Den Bezug der semiquantitativen Testergebnisse zu den qualitativen Befunden stellt Tab. 14 (S. 39) dar.

Tab. 14: Bezug der qualitativen Ergebnisse zu den semiquantitativen Resultaten, NTU= Nova-Tec-Einheiten

Qualitative Ergebnisse	Semiquantitative Befunde (NTU)
Negativ	<9
Cut-off-Mittelwert	10
Grauzone	9-11
Positiv	>11

In der Untersuchung ließ sich ab einem Extinktionswert von 2,4 ein Plateau der ermittelten Extinktionskonzentrationskurve nachweisen. Das heißt, dass ab diesem Schwellenwert ohne zusätzliche Verdünnung der Probe keine exakte Bestimmung der NTU erfolgen konnte. Deshalb wurde bei einer Extinktion von $\geq 2,4$ zunächst eine Verdünnung von 1:2 der Probe mit physiologischer Kochsalzlösung getestet. Lag die Extinktion bei $< 2,4$, wurden die NTU berechnet. Ab einer Extinktion $\geq 2,4$ erfolgt eine erneute Testung der Probe nach Verdünnung von 1:5 und falls notwendig auch nach Verdünnung von 1:10.

4.3. Statistische Methoden

4.3.1. Zielgrößen

Das primäre Ziel der Studie war die Prävalenzschätzung der Influenzavirus A- und B-spezifischen Antikörper bei Kindern und Jugendlichen in den Altersgruppen von 0 bis 18 Jahren. Die sekundären Zielkriterien stellten die altersgruppenspezifische Prävalenzschätzung in der Kontrollgruppe der Erwachsenen, Vergleiche von Antikörperprävalenz und -konzentration in den Altersgruppen von Kindern und Jugendlichen mit der Kontrollgruppe sowie Prävalenzvergleiche der Geschlechtsgruppen bei den Kindern und mit den Erwachsenen dar.

4.3.2. Fallzahlschätzung

Die Grundlage der Fallzahlschätzung sind die erreichbaren Genauigkeiten der Schätzungen für die altersgruppenspezifischen IgG-Antikörperprävalenzen. Mit einem Mindestumfang von 150 Probanden pro Altersgruppe der Kinder und Jugendlichen kann abhängig von der Höhe der Prävalenzen eine Genauigkeit der Konfidenzintervallschätzung zwischen $\pm 3.5\%$ und $\pm 8\%$ erzielt werden (Fallzahlplanungsprogramm nQuery Advisor 6.01, Firma Statistical Solutions Ltd.).

4.3.3. Statistische Analysen

- Primäres Zielkriterium

Die qualitativen Befunde des IgG-Antikörpernachweises lagen in den Kategorien „negativ“, „positiv“ und „grenzwertig“ vor. Die Prävalenz wurde durch den prozentualen Anteil positiver Testbefunde bezogen auf die Gesamtzahl in der jeweiligen Gruppe geschätzt. Unter der Annahme einer Binominalverteilung wurden zweiseitige exakte 95%-Konfidenzintervalle ([95% CI mit Angabe der oberen und unteren Grenze]-in eckigen Klammern angegeben) berechnet.

- Sekundäre Zielkriterien

Mit Hilfe des Cochran-Armitage-Tests wurde innerhalb der Gruppe der Kinder und Jugendlichen bzw. innerhalb der Kontrollgruppe untersucht, ob die Prävalenz mit zunehmendem Alter ansteigt (linearer Trend). Der Mantel-Haenszel-Test wurde angewandt, um Unterschiede der Antikörperprävalenzen von männlichen und weiblichen Probanden hinsichtlich des Alters zu erfassen. Um die signifikant unterschiedlichen Prävalenzen in den Altersgruppen der Kinder- und Jugendlichen im Vergleich zur Kontrollgruppe auszuweisen, wurde auf logistische Regressionsmodelle, basierend auf der Wald-Statistik, zurückgegriffen. Neben der IgG-Antikörperprävalenz wurden die Antikörperkonzentrationen altersgruppen- und geschlechtsspezifisch mittels statistischer Kenngrößen beschrieben, das heißt mit Hilfe von Mittelwert, Standardabweichung, Interquartilabstand, Minimum, Maximum und Median charakterisiert. Für Regressionsmodelle und statistische Vergleiche wurde die Antikörperkonzentration logarithmisch transformiert, um eine Annäherung an eine Normalverteilung zu erzielen. Innerhalb der Gruppe der Kinder und Jugendlichen bzw. innerhalb der Kontrollgruppe wurde mittels linearer Regression der Einfluss von Alter (in Gruppen) und Geschlecht auf die Antikörperkonzentrationen untersucht. Mit Hilfe des Dunnett-Tests wurden die mittleren (logarithmierten) Antikörperkonzentrationen bei Kindern und Jugendlichen altersgruppenspezifisch mit der Kontrollpopulation verglichen. Die statistischen Analysen wurden mit den Programmen SAS Version 9.1 (deutsch) und SPSS Version 15.0 (deutsch) durchgeführt.

4.3.4. Datenmanagement

Im Institut für Medizinische Statistik, Information und Dokumentation des Universitätsklinikums Jena wurde eine Access-Datenbank mit Eingabemaske erstellt, validiert und im Institut für Virologie und Antivirale Therapie implementiert. Im Institut für Virologie und Antivirale Therapie wurden die Untersuchungsdaten erfasst und kontrolliert sowie Plausibilitätsprüfungen durchgeführt. Die statistische Datenauswertung erfolgte durch das Institut für Medizinische Statistik, Information und Dokumentation des Universitätsklinikums Jena (Hoyer und Dietrich 2007).

4.3.5. Erhobene Merkmale der analysierten Proben

Die Merkmale der analysierten Proben der Gruppen Kinder, Jugendlichen und der Kontrollen, die für die statistischen Berechnungen erfasst wurden, dokumentiert die Tab. 15.

Tab. 15: Merkmale der analysierten Proben von Kinder, Jugendliche und erwachsenen Kontrollen, NTU= Nova-Tec-Einheiten

Statistisch erfasste Merkmale der Studien- und Kontrollgruppe	Spezifizierung
Probandenidentifikation	Proben-Nummer
Herkunft der Probe	Kind bzw. Kontrolle
Erhebungszeitraum der Probe	1999 bis 2000 bzw. 2001 bis 2006
Alter der Probanden	Jahre (Monate)
Geschlecht	weiblich bzw. männlich
Antikörper gegen Influenzavirus A	positiv; negativ; grenzwertig
Antikörper gegen Influenzavirus B	positiv; negativ; grenzwertig
Antikörperkonzentration gegen Influenzavirus A	NTU
Antikörperkonzentration gegen Influenzavirus B	NTU

5. Ergebnisse

5.1. Qualitative IgG-Antikörperbefunde gegen Influenzavirus A

5.1.1. Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen

Die qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus A in der Gruppe der Kinder und Jugendlichen werden unabhängig vom Geschlecht in Tab. 16 zusammengefasst. Im 1. Lebensjahr betrug die Anzahl der positiv beurteilten Seren 62,6%, während 29,6% der Säuglinge negative Befundergebnisse gegen Influenzavirus A aufwiesen. Im Alter von >1 bis 3 Jahren nahm die Anzahl der Antikörper-positiven Probanden ab (53,3%). Die Anzahl der Kinder mit negativem Ergebnis lag bei 40,0%. In den folgenden Altersgruppen erhöhte sich der Prozentsatz positiver Ergebnisse von 74,8% zwischen dem >3. und 6. Lebensjahr auf 100,0% bei den >15- bis 18-jährigen Jugendlichen. Die Anzahl der Untersuchungsteilnehmer mit negativem Testbefund nahm in der Gruppe der > 3- bis 6 -Jährigen entsprechend ab (18,1%). Dieser Trend setzte sich fort, wobei im Alter zwischen >15 und 18 Jahren keine negativen Testergebnisse mehr auftraten. Die Anzahl der grenzwertig eingestuften Befunde betrug in der 1. Altersstufe 7,8%. In den folgenden Gruppen der >1- bis 3- und >3- bis 6-jährigen Kinder ließen sich Werte zwischen 6,7% und 7,1% nachweisen. In der Stufe vom >6. bis 9. Lebensjahr betrug der Prozentsatz grenzwertiger Befunde 0,7%. In den folgenden Altersgruppen wurden keine grenzwertigen Ergebnisse erhoben.

Tab. 16: Übersicht über die qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A in der Studiengruppe

IgG-Antikörper-Ergebnisse gegen Influenzavirus A			
Altersgruppen in Jahren	Negativ	Positiv	Grenzwertig
0-1	61 (29,61%)	129 (62,62%)	16 (7,77%)
>1-3	60 (40,00%)	80 (53,33%)	10 (6,67%)
>3-6	28 (18,06%)	116 (74,84%)	11 (7,10%)
>6-9	9 (6,00%)	140 (93,33%)	1 (0,67%)
>9-12	3 (2,00%)	147 (98,00%)	0 (0,00%)
>12-15	1 (0,67%)	149 (99,33%)	0 (0,00%)
>15-18	0 (0,00%)	150 (100,00%)	0 (0,00%)
Gesamt	162 (14,58%)	911 (82,00%)	38 (3,42%)

Die Abb. 18 (S. 43) vermittelt die grafische Darstellung der qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmungen gegen Influenzavirus A unabhängig vom Geschlecht.

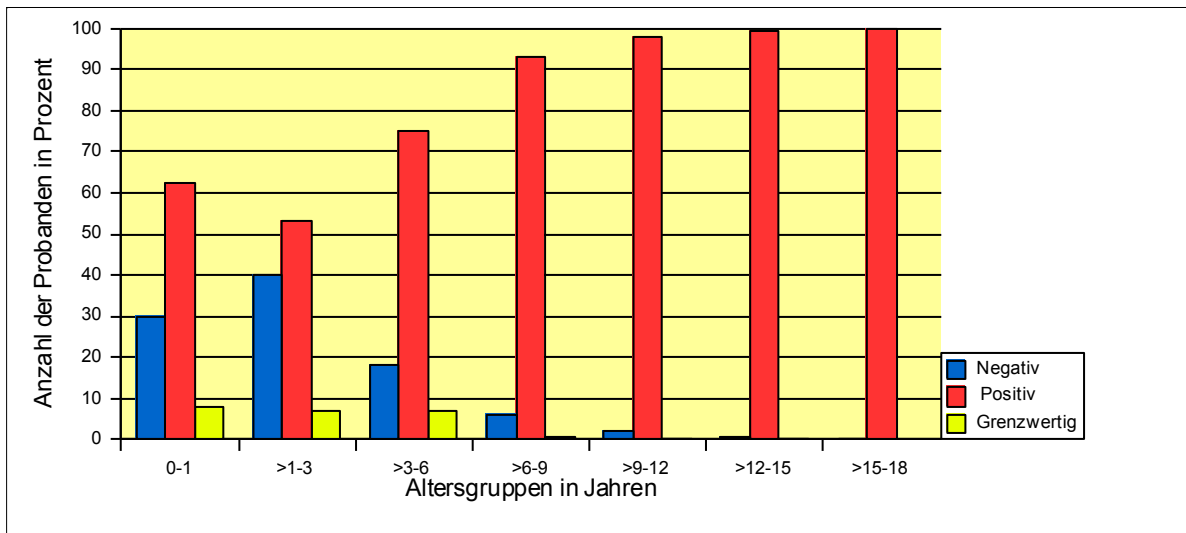


Abb. 18: Qualitative Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus A in der Studiengruppe

- Detaillierte Analyse der Kinder im ersten Lebensjahr

Wie Tab. 17 (S. 44) zusammenfasst, zeigten 129 der insgesamt 206 Neugeborenen und Säuglinge bis zum ersten Lebensjahr einen positiven Serumbefund der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A, was einem Prozentsatz von 62,6% entsprach. Im Vergleich dazu wiesen 61 Kinder (29,6%) einen negativen und 16 Säuglinge (7,8%) grenzwertig beurteilte Serumbefunde auf. Eine Unterteilung der Probanden nach dem Geschlecht war aufgrund der relativ geringen Fallzahlen (8-39 Seren) pro Lebensmonat nicht sinnvoll. Deshalb wurde auf diese Darstellung verzichtet. 83,9% der Neugeborenen zeigten zum Zeitpunkt der Geburt positive und 12,9% negative Antikörperbefunde. Die Rate der positiven Befunde bei Säuglingen im 1. Lebensmonat wies 87,2% auf. Bei 5,1% der Probanden wurden negative Serumergebnisse im gleichen Zeitraum erhoben. Im weiteren Verlauf reduzierte sich der Anteil der Influenza A-positiven Kinder auf 76,2% im 2. Lebensmonat und 78,9% im 3. Lebensmonat. In den Folgemonaten betrug der Anteil der als positiv beurteilten Probanden zwischen 22,2% (10. Lebensmonat) bis 50,0% (9. Lebensmonat), im Mittel 39,5%. Die Rate negativ beurteilter Proben lag im 1. Lebensmonat bei 5,1%. Anschließend nahm die Anzahl der negativen Antikörpernachweise gegen Influenzavirus A zu. Sie betrug 14,3% im 2. Lebensmonat und 21,1% im 3. Lebensmonat. Im Laufe des 1. Lebensjahres wurden bis zu 66,7% (7. Lebensmonat) der Probanden als Antikörper-negativ getestet. Die Anzahl der untersuchten Säuglinge mit grenzwertig beurteiltem Befund lag im Laufe des 1. Lebensjahres zwischen 0% und 18,2%. Die Abb. 19 (S. 44) stellt die qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus A in der Gruppe der Kinder im 1. Lebensjahr unabhängig vom Geschlecht grafisch dar.

Tab. 17: Übersicht über die qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A in der Gruppe der Kinder im 1. Lebensjahr

IgG-Antikörper-Ergebnisse gegen Influenzavirus A														
Altersgruppen (Monate)	0.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	Σ
Negativ (%)	4 (12,9)	2 (5,1)	3 (14,3)	4 (21,1)	5 (45,5)	6 (50,0)	4 (36,4)	6 (66,7)	5 (50,0)	4 (50,0)	6 (66,7)	4 (44,4)	8 (47,1)	61 (29,6)
Positiv (%)	26 (83,9)	34 (87,2)	16 (76,2)	15 (78,9)	5 (45,5)	4 (33,3)	5 (45,5)	3 (33,3)	4 (40,0)	4 (50,0)	2 (22,2)	4 (44,4)	7 (41,2)	129 (62,6)
Grenzwertig (%)	1 (3,2)	3 (7,7)	2 (9,5)	0 (0,0)	1 (9,1)	2 (16,7)	2 (18,2)	0 (0,0)	1 (10,0)	0 (0,0)	1 (11,1)	1 (11,1)	2 (11,8)	16 (7,8)
Gesamt (%)	31 (15,1)	39 (18,9)	21 (10,2)	19 (9,2)	11 (5,3)	12 (5,8)	11 (5,3)	9 (4,4)	10 (4,9)	8 (3,9)	9 (4,4)	9 (4,4)	17 (8,3)	206 (100,0)

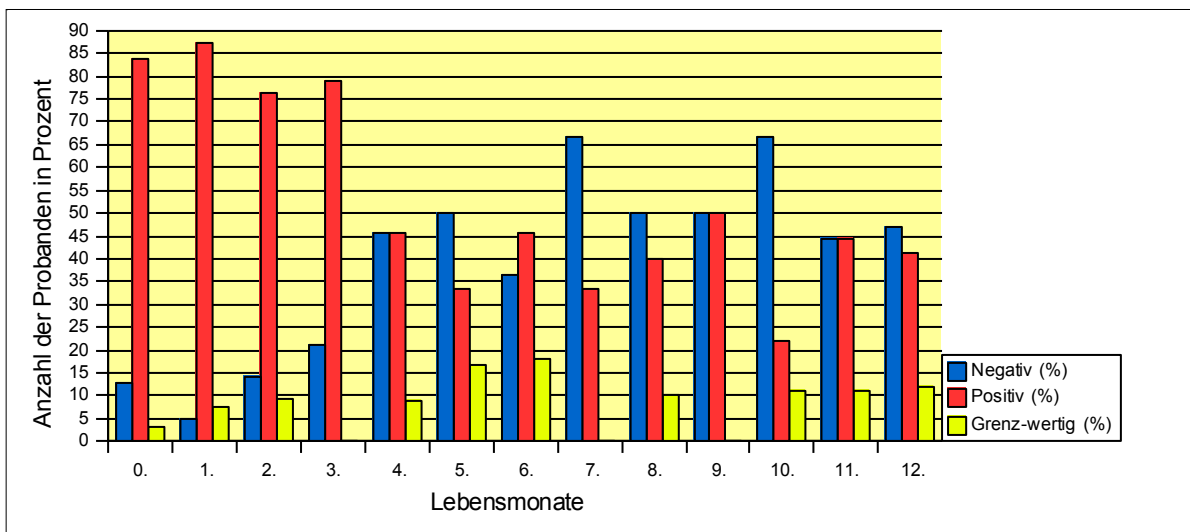


Abb. 19: Qualitative Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus A in der Gruppe der Kinder im 1. Lebensjahr

- Geschlechtsspezifische Analyse der Studiengruppe

In der Tab. 18 (S. 45) sind die qualitativen Ergebnisse (positiv, negativ, grenzwertig) der IgG-Antikörperbestimmungen gegen Influenzavirus A mit den jeweiligen prozentualen Anteilen in der Gruppe der Kinder und Jugendlichen erfasst. Zusätzlich erfolgte eine Unterteilung nach dem Geschlecht. 73 (61,3%) der insgesamt 119 Seren der männlichen Säuglinge wiesen vom Geburtszeitpunkt bis zum 1. Lebensjahr positive Beurteilungen auf. Negative Befunde ließen sich in der gleichen Altersgruppe bei 37 (31,1%) der Proben der männlichen Population erheben. Nach dem 1. bis zum 3. Lebensjahr sank die Rate der positiv bewerteten Proben auf 48,9% ab. Die Anzahl der negativ bewerteten Seren der Jungen in dieser Altersgruppe nahm zu und entsprach 45,6%.

Tab. 18: Übersicht über die qualitativen IgG-Antikörperbefunde (positiv, negativ, grenzwertig) gegen Influenzavirus A im männlichen und weiblichen Anteil der Studienpopulation

Altersgruppen in Jahren	IgG-Antikörper-Ergebnisse gegen Influenzavirus A					
	Negativ		Positiv		Grenzwertig	
	Männlich	Weiblich	Männlich	Weiblich	Männlich	Weiblich
0-1	37 (31,1%)	24 (27,6%)	73 (61,3%)	56 (64,4%)	9 (7,6%)	7 (8,1%)
>1-3	41 (45,6%)	19 (31,7%)	44 (48,9%)	36 (60,0%)	5 (5,6%)	5 (8,3%)
>3-6	18 (22,2%)	10 (13,5%)	58 (71,6%)	58 (78,4%)	5 (6,2%)	6 (8,1%)
>6-9	6 (7,1%)	3 (4,6%)	77 (91,7%)	63 (95,5%)	1 (1,2%)	0 (0,0%)
>9-12	0 (0,0%)	3 (3,5%)	63 (100,0%)	84 (96,6%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
>12-15	0 (0,0%)	1 (1,5%)	84 (100,0%)	65 (98,5%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
>15-18	0 (0,0%)	0 (0,0%)	60 (100,0%)	90 (100,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Gesamt	102 (17,6%)	60 (11,3%)	459 (79,0%)	452 (85,3%)	20 (3,4%)	18 (3,4%)

Wie Tab. 18 zeigt, waren 71,6% der Proben positiv und 22,2% negativ in der Altersgruppe vom >3. bis zum 6. Lebensjahr getestet worden. Dieser Trend setzte sich weiter fort, so dass 91,7% des Untersuchungsmaterials der männlichen Studienteilnehmer in der Altersgruppe der >6- bis 9-jährigen Kinder positiv und 7,1% der Proben negativ waren. Ab dem >9. bis zum 18. Lebensjahr wurden alle Seren der männlichen Testpersonen als positiv getestet (100,0%). 7,6% der Probanden zeigten ein grenzwertig gewertetes Ergebnis in der Altersstufe der Säuglinge bis zum 1. Lebensjahr. In den beiden folgenden Altersgruppen waren im Mittel 5,9% der untersuchten Seren grenzwertig beurteilt worden. Die Altersstufe der >6- bis 9-jährigen Jungen wies eine Rate grenzwertiger Seren von 1,2% auf, während in den folgenden Altersstufen bis zum 18. Lebensjahr keine grenzwertigen Befunde nachgewiesen wurden. In der Abb. 20 (S. 46) werden die qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus A für das männliche Geschlecht grafisch dargestellt. Die qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus A für den weiblichen Anteil der Studienpopulation werden, auf der Grundlage der Tab. 18, in der Abb. 21 (S. 46) als Diagramm dargestellt. Es zeigte sich, dass 64,4% der Seren der weiblichen Testpersonen bis zum ersten Lebensjahr als positiv und 27,6% negativ befundet wurden. Zwischen dem >1. und 3. Lebensjahr zeigten sich weniger positive Befunde (60,0%).

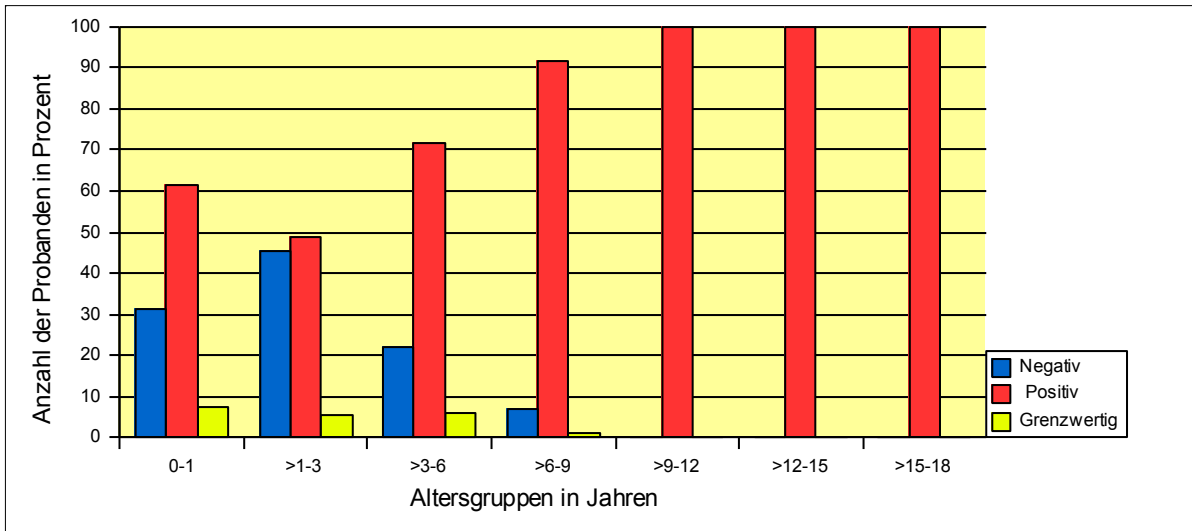


Abb. 20: Qualitative Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus A in der männlichen Population der Studiengruppe

Wie Tab. 18 (S. 45) zusammenfasst, wiesen 31,7% der 1- bis 3-jährigen Mädchen negative Ergebnisse auf. 78,4% der Mädchen in der Altersstufe der >3-bis 6-Jährigen wurden als positiv und 13,5% als negativ bewertet. Dieser ansteigende Trend setzte sich in den weiteren Altersgruppen fort. Ab dem >6. bis zum 18. Lebensjahr lag die Rate der positiven Resultate zwischen 95,5% und 100,0%. Lediglich 1,5% bis 4,6% der Probandinnen zeigten negative Ergebnisse. Die Anzahl der Studienteilnehmerinnen mit grenzwertiger Ergebnisbewertung betrug in den ersten 3 Altersstufen zwischen Geburtszeitpunkt bis zum 6. Lebensjahr zwischen 8,1% und 8,3%, im Mittel 8,2%. In den folgenden Altersgruppen wurden keine grenzwertigen Befunde erhoben.

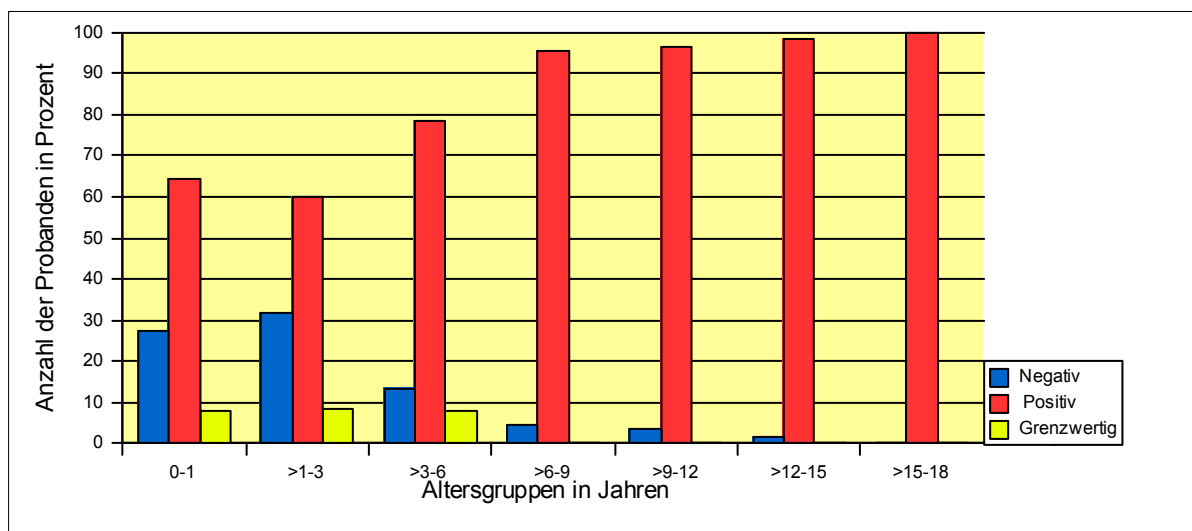


Abb. 21: Qualitative Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus A in der weiblichen Population der Studiengruppe

5.1.2. Kontrollgruppe der Erwachsenen

In der Tab. 19 werden die qualitativen Ergebnisse (positiv, negativ, grenzwertig) gegen Influenzavirus A unabhängig vom Geschlecht aufgeführt und den jeweiligen Altersgruppen zugeordnet.

Tab. 19: Übersicht über die qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A in der Kontrollgruppe

IgG-Antikörper-Ergebnisse gegen Influenzavirus A			
Altersgruppen in Jahren	Negativ	Positiv	Grenzwertig
>18-21	0 (0,00%)	201 (100,00%)	0 (0,00%)
>21-24	1 (0,50%)	197 (98,99%)	1 (0,50%)
>24-27	1 (0,50%)	198 (99,00%)	1 (0,50%)
>27-30	0 (0,00%)	208 (99,52%)	1 (0,48%)
Gesamt	2 (0,25%)	804 (99,38%)	3 (0,37%)

In der Abb. 22 erfolgt die bildliche Dokumentation der Befunde aus Tab. 19. Zwischen dem >18. bis 30. Lebensjahr der Testpersonen wurden positive Befunde der IgG-Antikörperbestimmungen gegen Influenzavirus A von 98,99% (>21-24 Jahre) bis 100,00% (>18-21 Jahre) nachgewiesen. Insgesamt zeigten 804 der 809 Seren der erwachsenen Probanden positive Ergebnisse im Test. Der Prozentsatz negativ bewerteter Befunde lag bei 0,25%. In der Altersgruppe der Probanden zwischen dem >21. bis 24. und dem >24. bis 27. Lebensjahr wurde bei jeweils einem Blutspender ein negatives Resultat erhoben. Je eine Probe in den Altersstufen der >21- bis 27-jährigen Studienteilnehmer wurde als grenzwertig eingestuft.

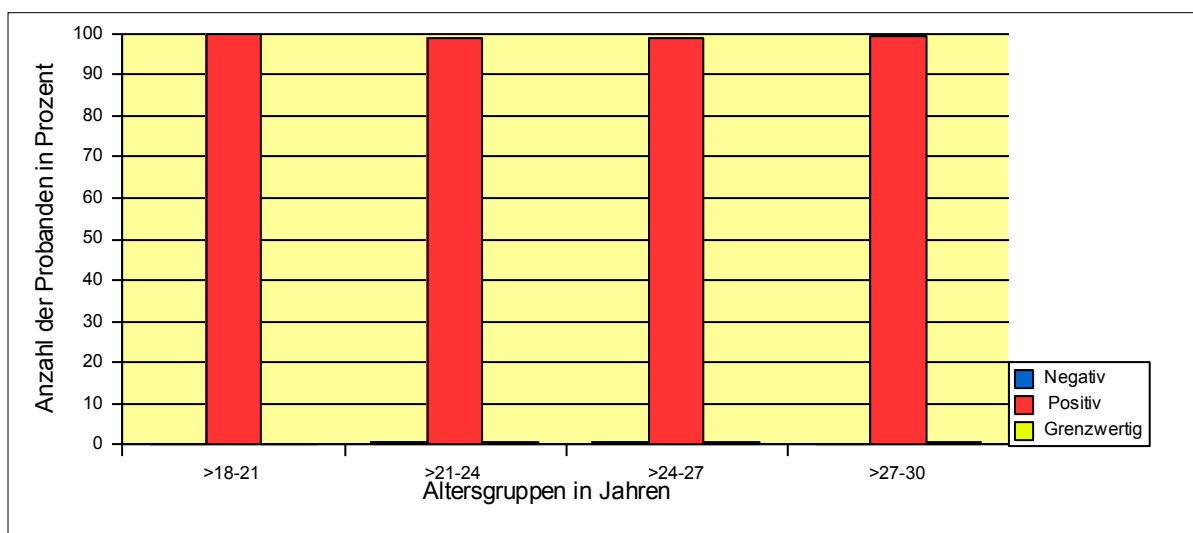


Abb. 22: Qualitative Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus A in der Kontrollgruppe

- Geschlechtsspezifische Analyse der Kontrollgruppe

Tabelle 20 fasst die qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmungen gegen Influenzavirus A in der Kontrollpopulation geschlechtsspezifisch zusammen. Insgesamt wurden zwischen 97,75% (männliche Probanden, >21-24 Jahre) und 100,00% an positiven Befunden bei den Untersuchungsteilnehmern zwischen dem >18. und 30. Lebensjahr erhoben.

Tab. 20: Übersicht über die qualitative IgG-Antikörperbefunde (positiv, negativ, grenzwertig) gegen Influenzavirus A im männlichen und weiblichen Anteil der Kontrollpopulation

IgG-Antikörper-Ergebnisse gegen Influenzavirus A						
Altersgruppen in Jahren	Negativ		Positiv		Grenzwertig	
	Männlich	Weiblich	Männlich	Weiblich	Männlich	Weiblich
>18-21	0 (0,00%)	0 (0,00%)	66 (100,00%)	135 (100,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
>21-24	1 (1,12%)	0 (0,00%)	87 (97,75%)	110 (100,00%)	1 (1,12%)	0 (0,00%)
>24-27	1 (1,01%)	0 (0,00%)	97 (97,98%)	101 (100,00%)	1 (1,01%)	0 (0,00%)
>27-30	0 (0,00%)	0 (0,00%)	103 (100,00%)	105 (99,06%)	0 (0,00%)	1 (0,94%)
Gesamt	2 (0,56%)	0 (0,00%)	353 (98,88%)	451 (99,78%)	2 (0,56%)	1 (0,22%)

Die grafische Darstellung der ermittelten qualitativen Befunde der IgG-Antikörperbestimmung in der männlichen Population der Blutspender aus Tab. 20 erfolgt in Abb. 23.

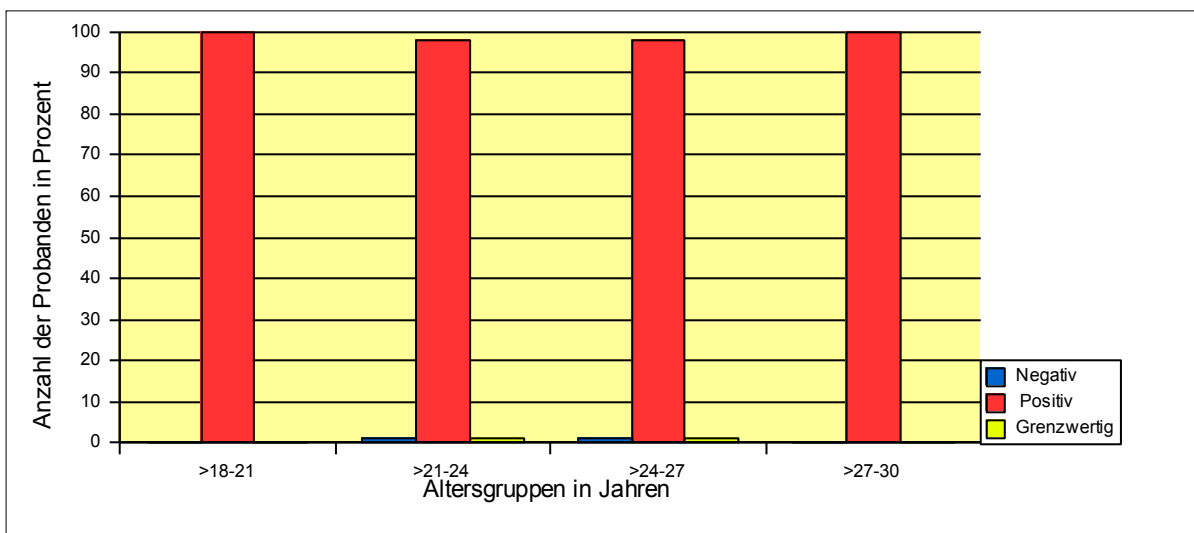


Abb. 23: Qualitative Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus A in der männlichen Population der Kontrollgruppe

Wie in Tab. 20 (S. 48) zusammengefasst, lag bei insgesamt 353 der 357 männlichen Untersuchungsteilnehmer über die Altersgruppen hinweg ein positiver Antikörperbefund gegen Influenzavirus A vor. Jeweils ein Blutspender im Alter zwischen dem >21. und 24. sowie im >24. bis zum 27. Lebensjahr wies einen als negativ beurteilten Serumbefund auf (1,12% bzw. 1,01%). Die Gesamtzahl der negativen Seren betrug lediglich 0,56%. Der Anteil der Erwachsenen mit einem grenzwertig bewertetem Ergebnis lag ebenfalls bei 0,56%. In der Altersstufe der >21- bis 24- sowie >24- bis 27-jährigen Männer wurde je ein grenzwertig beurteilter Wert erhoben.

Die qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus A im weiblichen Populationsanteil sind der Tab. 20 (S. 48) zu entnehmen. 451 der 452 Untersuchungsteilnehmerinnen wurden mit einem positiven Befund beurteilt. Dies entspricht einem Prozentsatz von 99,78%. Das Serum einer Probandin (0,22%) in der Gruppe der > 27- bis 30-jährigen Frauen war mit einem grenzwertigen Befund bewertet worden. Negativ beurteilte Seren waren in allen Altersgruppen nicht nachweisbar. Die Abb. 24 zeigt die qualitativen Ergebnisse der Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus A in der weiblichen Population der Kontrollgruppe.

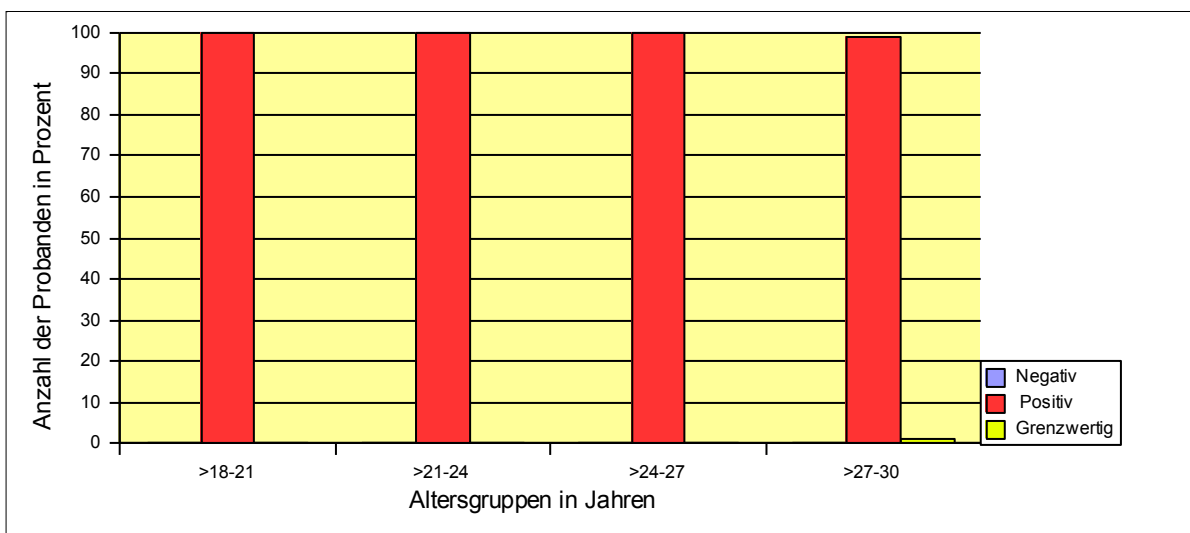


Abb. 24: Qualitative Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus A in der weiblichen Population der Kontrollgruppe

5.2. IgG-Antikörperprävalenzen gegen Influenzavirus A

5.2.1. Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen

In der Tab. 21 (S. 50) werden die Prävalenzen der IgG-Antikörperbestimmungen gegen Influenzavirus A in der Gruppe der Kinder und Jugendlichen aufgelistet. Bei Säuglingen vom 0. bis 1. Lebensjahr wurde eine Prävalenz von 62,6% [55,6%-69,2%] ermittelt. In der folgenden Altersstufe >1. bis zum 3. Lebensjahr betrug sie 53,3% [45,0%-61,5%]. Bei den Kindern zwischen dem >3.- 6.

Lebensjahr lag die Antikörperprävalenz bei 74,8% [67,2%-81,5%], zwischen dem >6. und 9. Lebensjahr bei 93,3% [88,1%-96,8%] und bei den >9- bis 12-jährigen Kindern bei 98,0% [94,3%-99,6%]. Jugendliche in der Altersgruppe zwischen dem >12. und dem 15. Lebensjahr zeigten eine Prävalenz von 99,3% [96,3%-100,0%] und schließlich 100% [97,6%-100,0%] die >15- bis 18-jährigen Jugendlichen. In der Gesamtpopulation der Studiengruppe betrug die Seroprävalenz qualitativer IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A 82,0% [79,6%-84,2%].

Tab. 21: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A in der Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Ergebnisse der Prävalenzbestimmung der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A				
Altersgruppen in Jahren	Anzahl der Probanden	Prävalenz (%)	95% CI untere Grenze (%)	95% CI obere Grenze (%)
0-1	206	62,6	55,6	69,2
>1-3	150	53,3	45,0	61,5
>3-6	155	74,8	67,2	81,5
>6-9	150	93,3	88,1	96,8
>9-12	150	98,0	94,3	99,6
>12-15	150	99,3	96,3	100,0
>15-18	150	100,0	97,6	100,0
Gesamt	1111	82,0	79,6	84,2

Die Abb. 25 zeigt eine Grafik zu den geschätzten Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A in den einzelnen Altersstufen der Studiengruppe. Wie die statistischen Untersuchungen ergaben, besteht ein signifikanter Anstieg der IgG-Antikörperprävalenzen gegen den Influenzavirus A mit fortschreitendem Alter der Kinder und Jugendlichen ($p < 0.001$).

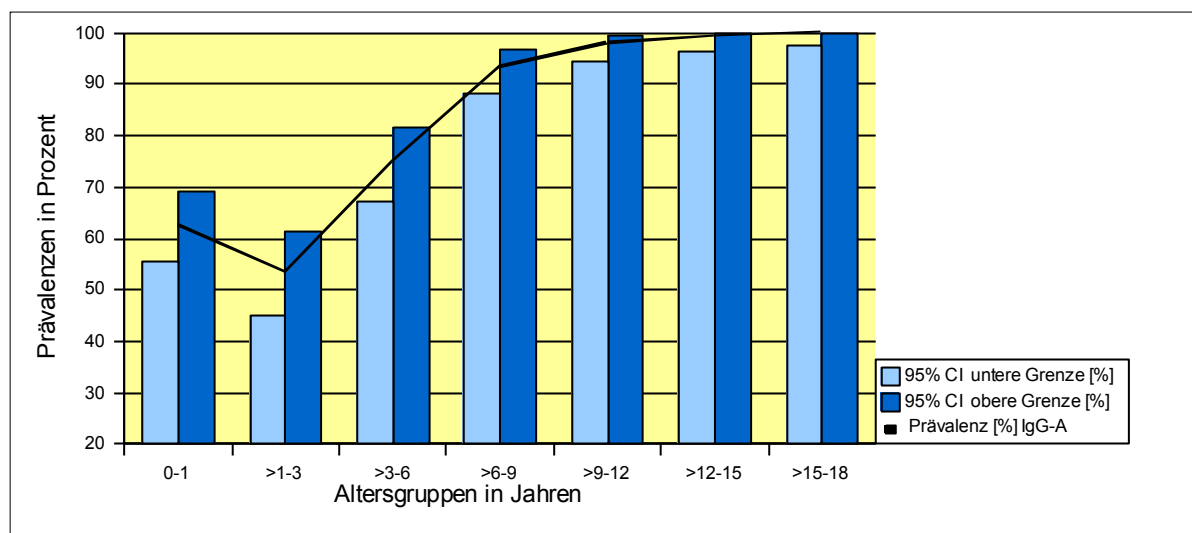


Abb. 25: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A in der Studiengruppe, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

- Detaillierte Analyse der Kinder im ersten Lebensjahr

Die Tab. 22 fasst die Prävalenzen der IgG-Antikörperbestimmungen gegen Influenzavirus A in der Gruppe der Kinder im 1. Lebensjahr zusammen. Zum Geburtszeitpunkt ließ sich eine Seroprävalenz von 83,9% [66,3%-94,5%] sichern. Im Laufe des 1. Lebensjahres zeigte sich bei der ermittelten Prävalenz ein abfallender Trend. Am Ende des 3. Lebensmonats wurde eine Prävalenz an positiven IgG-Antikörperbefunden von 78,9% [54,4%-93,9%] errechnet. Im 4. Lebensmonat betrug der ermittelte Wert 45,5% [16,7%-76,6%]. Seroprävalenzen zwischen 22,2 [2,8%-60,0%] und 50,0% [15,7%-84,3%] lagen im Zeitraum vom 5. bis 12. Lebensmonat vor.

Tab. 22: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A in der Studiengruppe im 1. Lebensjahr, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Ergebnisse der Prävalenzbestimmung der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A													
Alter in Monaten	0.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
Anzahl der Proben	31	39	21	19	11	12	11	9	10	7	9	9	17
Prävalenz (%)	83,9	87,2	76,2	78,9	45,5	33,3	45,5	33,3	40,0	50,0	22,2	44,4	41,2
95% CI untere Grenze (%)	66,3	72,6	52,8	54,4	16,7	9,9	16,7	7,5	12,2	15,7	2,8	13,7	18,4
95% CI obere Grenze (%)	94,5	95,7	91,8	93,9	76,6	65,1	76,6	70,1	73,8	84,3	60,0	78,8	67,1

- Geschlechtsspezifische Analyse der Studiengruppe

In Tab. 23 (S. 52) werden die ermittelten Prävalenzen in der männlichen Population der Studiengruppe zusammengefasst. Im ersten Lebensjahr betrug die Seroprävalenz der Influenzavirus A-spezifischen Antikörper 61,3% [52,0%-70,1%]. In der folgenden Altersgruppe der >1- bis 3-jährigen männlichen Kleinkinder lag die Prävalenz bei 48,9% [38,2%-59,7%]. Die ermittelten Werte stiegen in den höheren Altersstufen an und erreichten schließlich 100,0% [94,0%-100,0%] in der Gruppe der über >9-jährigen Kinder bis zur Stufe der >15- bis 18-jährigen Jugendlichen. Es wurde eine Gesamtprävalenz von 79,0% [75,5%-82,2%] bei den männlichen Studienteilnehmern nachgewiesen. In Abb. 26 (S. 52) werden Prävalenzen der männlichen Kinder und Jugendlichen grafisch dargestellt.

Tab. 23: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A im männlichen Anteil der Studiengruppe, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Ergebnisse der Prävalenzbestimmung der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A				
Altersgruppen in Jahren	Anzahl der Probanden	Prävalenz (%)	95% CI untere Grenze (%)	95% CI obere Grenze (%)
0-1	119	61,3	52,0	70,1
>1-3	90	48,9	38,2	59,7
>3-6	81	71,6	60,5	81,1
>6-9	84	91,7	83,6	96,6
>9-12	63	100,0	94,3	100,0
>12-15	84	100,0	95,7	100,0
>15-18	60	100,0	94,0	100,0
Gesamt	581	79,0	75,5	82,2

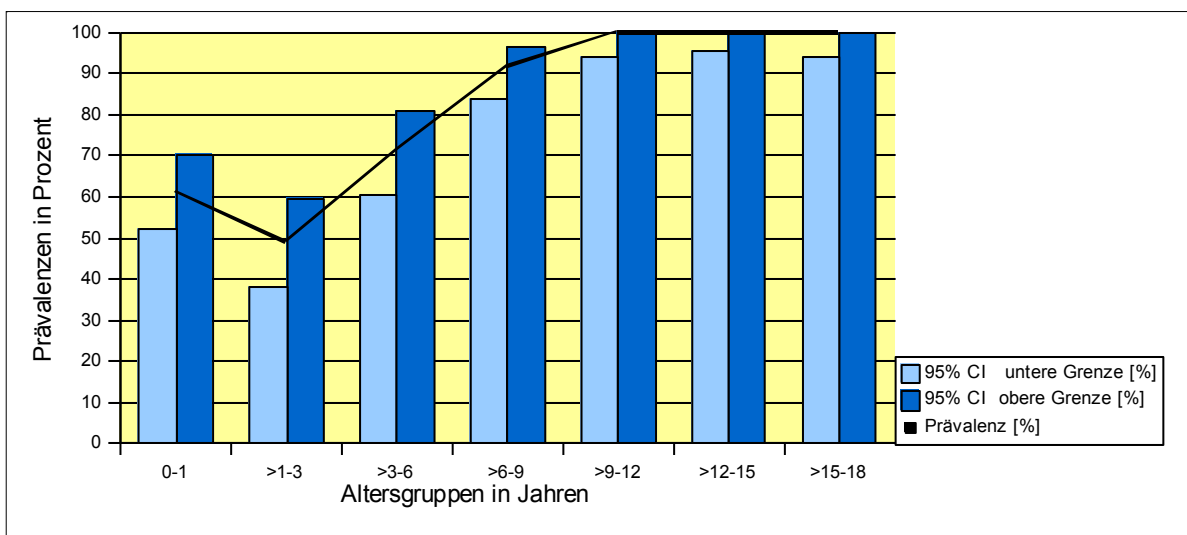


Abb. 26: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen von Influenzavirus A in der männlichen Population der Studiengruppe, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Tabelle 24 (S. 53) liefert die Prävalenzergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus A für den weiblichen Populationsanteil der Studiengruppe. Diese Gruppe wies eine Gesamtprävalenz von 85,3% [82,0%-88,2] vom Zeitpunkt der Geburt bis zum 18. Lebensjahr auf. Im ersten Lebensjahr wurde eine Seroprävalenz von 64,4% [53,4%-74,4%] ermittelt. In der Altersgruppe der >1- bis 3-jährigen weiblichen Kleinkinder wurde ein Wert von 60,0% [46,5%-72,4%] nachgewiesen. Mädchen im Alter zwischen >3 und 6 Jahren zeigte eine Seroprävalenz von 78,4% [67,3%-87,1%]. Dieser ansteigende Trend setzte sich fort. In der Gruppe der >15- bis 18-jährigen Jugendlichen wurde ein Wert von 100,0% [96,0%-100,0%] ermittelt. In der Abb. 27 (S. 53) werden ermittelten Prävalenzen in der weiblichen Population der Gruppe der Kinder und Jugendlichen grafisch dargestellt.

Tab. 24 : Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A im weiblichen Anteil der Studiengruppe,
95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Ergebnisse der Prävalenzbestimmung der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A				
Altersgruppen in Jahren	Anzahl der Probanden	Prävalenz (%)	95% CI untere Grenze (%)	95% CI obere Grenze (%)
0-1	87	64,4	53,4	74,4
>1-3	60	60,0	46,5	72,4
>3-6	74	78,4	67,3	87,1
>6-9	66	95,5	87,3	99,1
>9-12	87	96,6	90,3	99,3
>12-15	66	98,5	91,8	100,0
>15-18	90	100,0	96,0	100,0
Gesamt	530	85,3	82,0	88,2

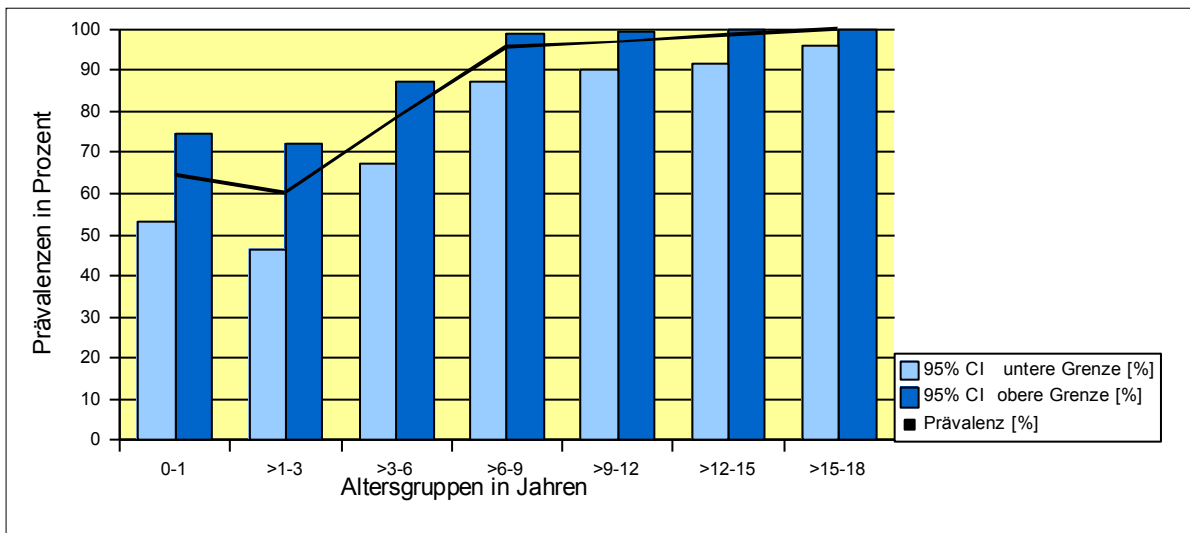


Abb. 27: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen von Influenzavirus A in der weiblichen Population der Studiengruppe, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Zwischen den männlichen und weiblichen Untersuchungsteilnehmern zeigten sich in den verschiedenen Altersgruppen der Gruppe Kinder und Jugendlichen keine signifikanten Unterschiede in den Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A ($p=0.169$).

5.2.2. Kontrollgruppe der Erwachsenen

Wie in Tab. 25 zusammengefasst, wurde in der Gruppe der Erwachsenen in den einzelnen Altersstufen vom >18. bis 30. Lebensjahr eine Prävalenz Influenzavirus A-spezifischer Antikörper zwischen 99,0% [96,4%-99,9%] und 100,0% [98,2%-100,0%] ermittelt. Die Gesamtprävalenz in der Kontrollgruppe in den Altersgruppen vom >18. bis 30. Lebensjahr betrug 99,4% [98,6%-99,8%].

Tab. 25: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A in der Kontrollgruppe, CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Ergebnisse der Prävalenzbestimmung der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A				
Altersgruppen in Jahren	Anzahl der Probanden	Prävalenz (%)	95% CI untere Grenze (%)	95% CI obere Grenze (%)
>18-21	201	100,0	98,2	100,0
>21-24	199	99,0	96,4	99,9
>24-27	200	99,0	96,4	99,9
>27-30	209	99,5	97,4	100,0
Gesamt	809	99,4	98,6	99,8

Die Abb. 28 zeigt die IgG-Antikörperprävalenzen gegen Influenzavirus A in der Erwachsenen-Gruppe in einem Diagramm.

Ein Einfluss des Alters auf die Seroprävalenz der positiven qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmungen gegen Influenzavirus A bestand in der Gruppe der Erwachsenen nicht (p=0.570).

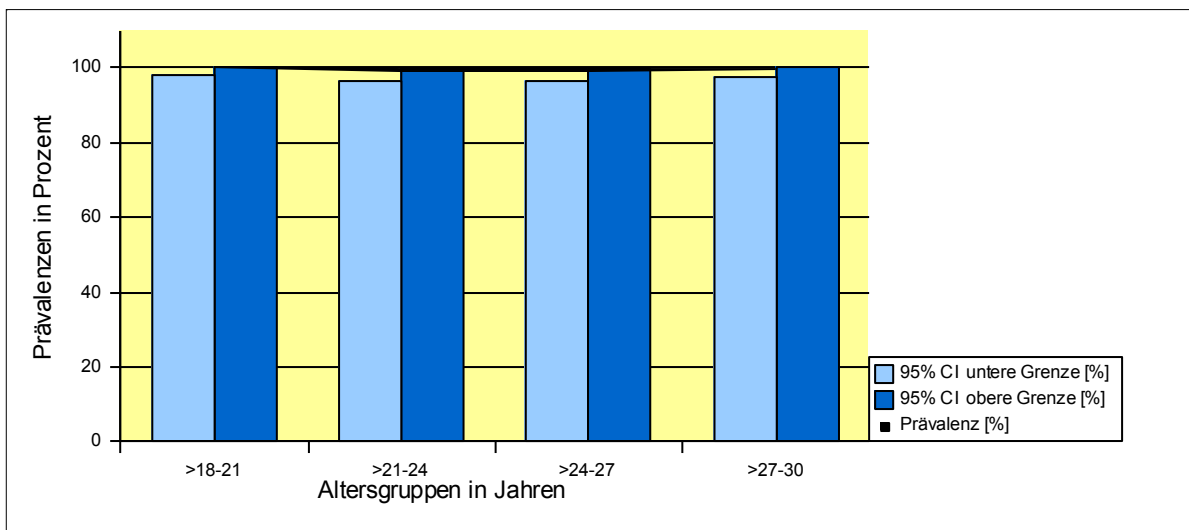


Abb. 28: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A in der Kontrollgruppe, 95% CI=95% Konfidenzintervalle in Prozent

- Geschlechtsspezifische Analyse der Kontrollgruppe

Die ermittelten Prävalenzen der Influenzavirus A-spezifischen Antikörper der männlichen Population der Erwachsenenengruppe werden in Tab. 26 erfasst. Es ließen sich Werte zwischen 97,8% [92,1%-99,7%] und 100,0% [94,6%-100,0%] sichern. Die Gesamtprävalenz betrug 98,9% [97,2%-99,7%]. Die Abb. 29 (S. 56) veranschaulicht die in Tab. 26 dokumentierten Seroprävalenzen und Konfidenzintervalle.

Tab. 26: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A im männlichen Anteil der Kontrollgruppe, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Ergebnisse der Prävalenzbestimmung der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A				
Altersgruppen in Jahren	Anzahl der Probanden	Prävalenz (%)	95% CI untere Grenze (%)	95% CI obere Grenze (%)
>18-21	66	100,0	94,6	100,0
>21-24	89	97,8	92,1	99,7
>24-27	99	98,0	92,9	99,8
>27-30	103	100,0	96,5	100,0
Gesamt	357	98,9	97,2	99,7

Die Tab. 27 (S. 56) zeigt die geschätzten Prävalenzen positiv bewerteter IgG-Antikörperbestimmungen und Konfidenzintervalle gegen Influenzavirus A bei den weiblichen Kontrollprobanden. Der Prozentsatz lag zwischen 99,1% [94,9%-100,0%] und 100,0% [96,4%-100,0%]. Es ließ sich eine Gesamtprävalenz von 99,8% [98,8%-100,0%] erheben. In der Abb. 30 (S. 56) werden die geschätzten Prävalenzen im weiblichen Populationsanteil grafisch dargestellt.

Die statistische Analyse ergab, dass kein Einfluss des Geschlechtes der erwachsenen Untersuchungsteilnehmer auf die erhobenen Prävalenzen Influenzavirus A-spezifischen Antikörper nachweisbar war ($p=0.145$). Signifikant niedrigere IgG-Antikörperprävalenzen gegenüber Influenzavirus A zeigten sich in den Altersgruppen der Säuglinge vom Zeitpunkt der Geburt bis zum 1. Lebensjahr bis zur Stufe der >6- bis 9-jährigen Kinder im Vergleich zu den Kontrollen der Erwachsenenpopulation ($p<0.001$).

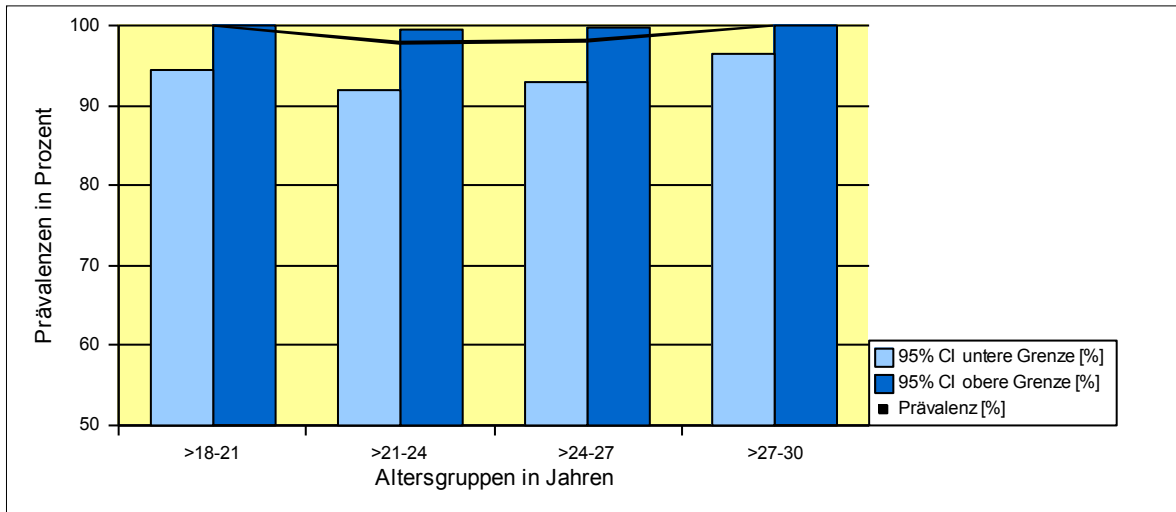


Abb. 29: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A im männlichen Anteil der Kontrollgruppe, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Tab. 27: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A im weiblichen Anteil der Kontrollgruppe, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Ergebnisse der Prävalenzbestimmung der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A				
Altersgruppen in Jahren	Anzahl der Probanden	Prävalenz (%)	95% CI untere Grenze (%)	95% CI obere Grenze (%)
>18-21	135	100,0	97,3	100,0
>21-24	110	100,0	96,7	100,0
>24-27	101	100,0	96,4	100,0
>27-30	106	99,1	94,9	100,0
Gesamt	452	99,8	98,8	100,0

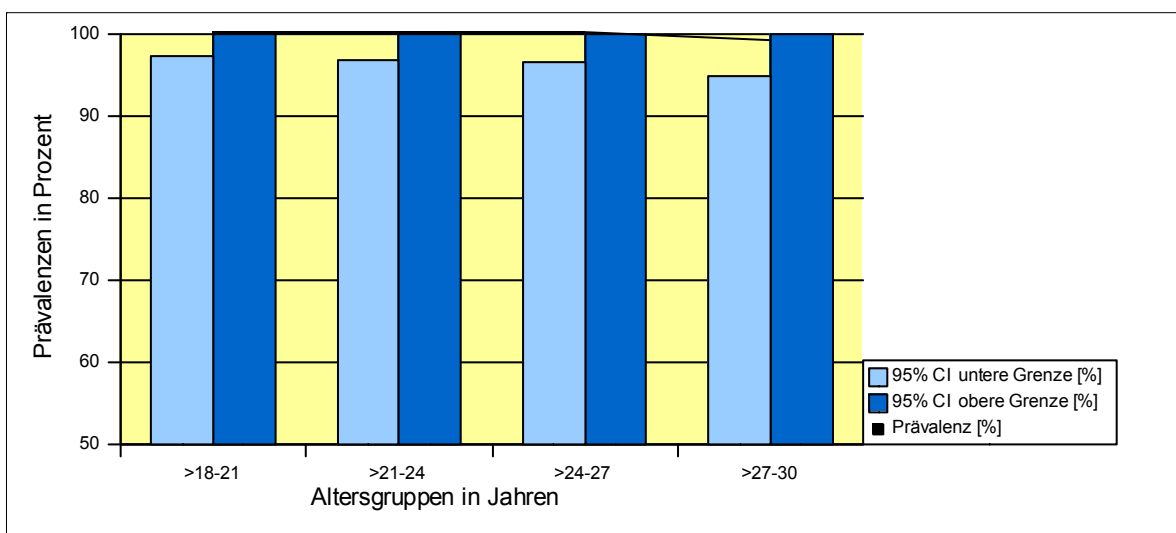


Abb. 30: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A im weiblichen Anteil der Kontrollgruppe, 95% CI=95% Konfidenzintervall in Prozent

5.3. Semiquantitative IgG-Antikörperbefunde gegen Influenzavirus A

5.3.1. Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen

Die Ergebnisse der semiquantitativen IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus A der Gesamtgruppe der Kinder und Jugendlichen sowie der männlichen und weiblichen Anteile werden in Tab. 28 zusammengefasst. 19,13 NTU (SD 22,5 NTU) betrug der Mittelwert in der Gruppe der Säuglinge vom Zeitpunkt der Geburt bis zum ersten Lebensjahr. In der Stufe der >1- bis 3-jährigen Kleinkinder lag der Mittelwert bei 17,08 NTU (SD 21,39 NTU). In den weiteren Altersstufen wurden höhere Mittelwerte gemessen. So wurde in der Gruppe der >3- bis 6-Jährigen ein Mittelwert von 33,52 NTU (SD 50,52 NTU) und in der Stufe der >6- bis 9-jährigen Kinder ein Wert von 38,26 NTU (SD 49,27 NTU) ermittelt. Ab dem >9. bis zum 12. Lebensjahr wurde ein Mittelwert von 33,92 NTU (SD 24,00 NTU), in der Altersgruppe der >12- bis 15-Jährigen 47,14 NTU (SD 46,14 NTU) und in schließlich in der Stufe der >15- bis 18-jährigen Jugendlichen ein Wert von 37,65 NTU (SD 30,73 NTU) erhoben. In der Gesamtgruppe der Kinder und Jugendlichen vom Geburtszeitpunkt bis zum 18. Lebensjahr lag die Konzentration Influenza-spezifischer Antikörper im Mittel bei 31,72 NTU (SD 37,77 NTU). Die altersspezifische Verteilung der IgG-Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus A der Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen wird in Abb. 31 (S. 58) unter Zuhilfenahme der Boxplots mit Darstellung des Medians, der 25. und 75. Perzentile, des Minimums, des Maximums sowie des >1,5- und >3fachen Interquartilabstandes grafisch zusammengefasst.

Tab. 28: IgG-Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus A in (NTU) in der gesamten, männlichen und weiblichen Population der Studiengruppe

Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus A								
Altersgruppen in Jahren	Probandenanzahl		Mittelwert	Standardabweichung	Mittelwert	Standardabweichung	Mittelwert	Standardabweichung
	männliche Population	weibliche Population	Gesamt NTU	Gesamt NTU	männliche Population NTU	männliche Population NTU	weibliche Population NTU	weibliche Population NTU
0-1	119	87	19,13	22,50	22,59	28,47	14,40	7,45
>1-3	90	60	17,08	21,39	17,03	24,94	17,16	14,74
>3-6	81	74	33,52	50,52	42,28	65,73	23,94	21,73
>6-9	84	66	38,26	49,27	36,70	49,34	40,25	49,48
>9-12	63	87	33,92	24,00	31,24	23,30	35,86	24,44
>12-15	84	66	47,14	46,14	46,88	46,62	47,46	45,88
>15-18	60	90	37,65	30,73	39,10	31,84	36,68	30,11
Gesamt	581	530	31,72	37,77	32,67	42,24	30,69	32,18

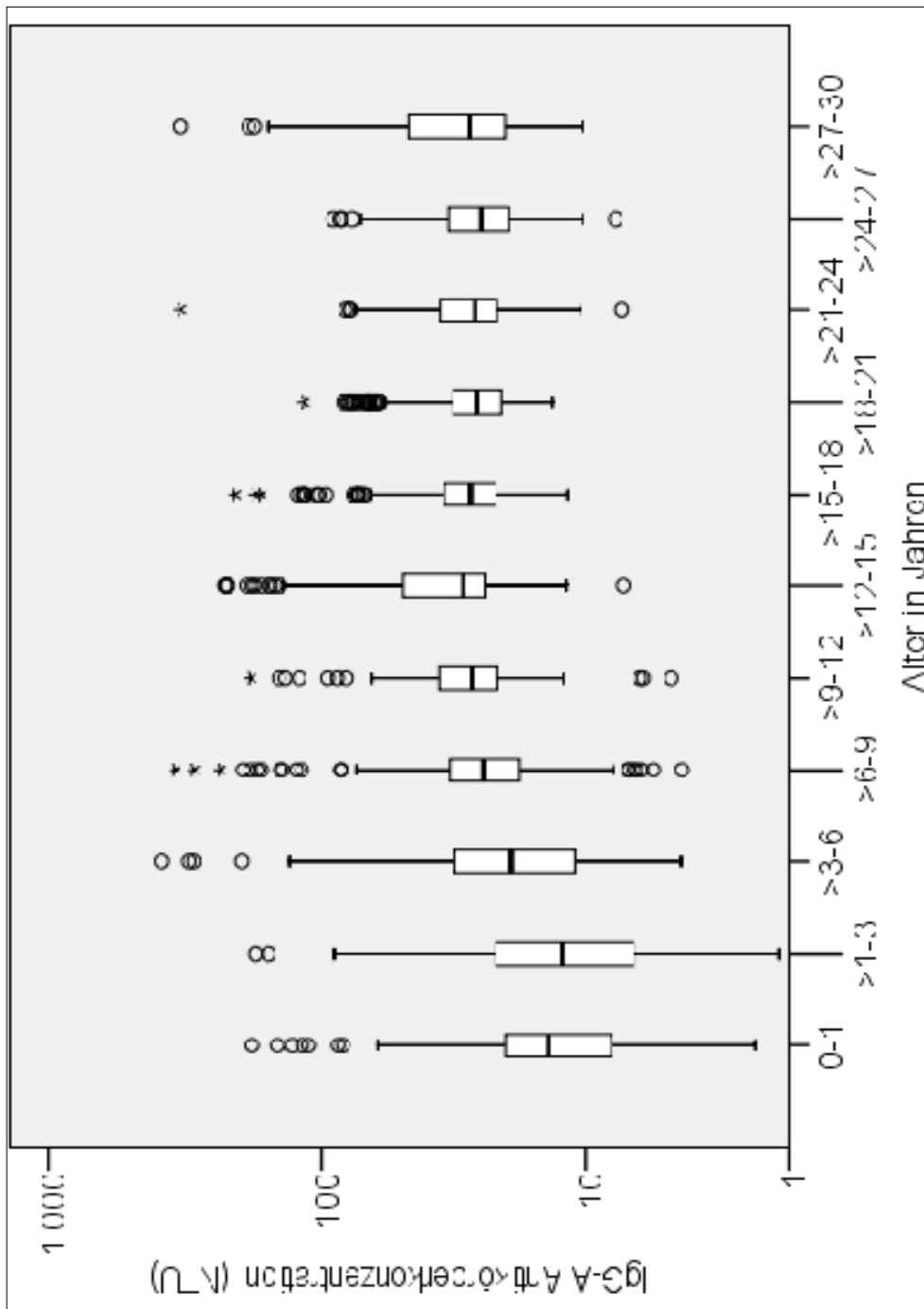


Abb. 31: Altersspezifische Verteilung der IgG-Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus A (IgG-A) der Erwachsenenengruppe mit Boxplotdarstellung (Median, 25. und 75. Perzentile, Minimum, Maximum, (o) >1,5facher Interquartilabstand ober-/unterhalb der Box, (*) >3facher Interquartilabstand ober-/unterhalb der Box)

Statistisch zeigte sich ein Anstieg der Konzentrationen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A mit dem Alter der untersuchten Kinder und Jugendlichen ($p < 0.001$). Die Altersgruppe der Kinder und Jugendlichen im Alter zwischen dem >3. und dem 6. Lebensjahr wies signifikant geringere IgG-Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus A als die erwachsene Kontrollpopulation auf ($p < 0.001$). Signifikant höhere IgG-Antikörpertiter wurden in der Stufe der >12- bis 15-jährigen Teenager im Vergleich zu der Erwachsenenengruppe im Alter zwischen dem >18. und 30. Lebensjahr gesichert ($p = 0.0014$).

- Geschlechtsspezifische Analyse der Studiengruppe

Tabelle 28 (S. 57) zeigt die quantitativen Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus A in der männlichen Population der Studiengruppe. In der Stufe der Säuglinge vom Geburtszeitpunkt bis zum ersten Lebensjahr wurde eine mittlere IgG-Antikörperkonzentration von 22,59 NTU (SD 28,47 NTU) erhoben. Vom >1. bis 3. Lebensjahr betrug der Mittelwert 17,03 NTU (SD 24,94 NTU). Bei den >3- bis 6-jährigen Kindern ließ sich ein Wert von 42,28 NTU (SD 65,73 NTU) und in der folgenden Stufe von 36,70 NTU (SD 49,34 NTU) nachweisen. Die >9- bis 12-jährigen Jungen zeigten einen Mittelwert von 31,24 NTU (SD 23,30 NTU). 46,88 NTU (SD 46,62 NTU) betrug die mittlere Antikörperkonzentration in der Stufe der >12- bis 15-Jährigen und 39,10 NTU (SD 31,84 NTU) in der Gruppe der >15- bis 18-jährigen Jugendlichen. Die mittlere IgG-Antikörperkonzentration gegen Influenzavirus A lag in der männlichen Population zwischen dem Geburtszeitpunkt und dem 18. Lebensjahr im Mittel bei 32,67 NTU (SD 42,24 NTU).

Die Tab. 28 (S. 57) fasst ebenso die IgG-Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus A in der weiblichen Population der Studiengruppe zusammen. Der Mittelwert der IgG-Antikörperkonzentrationen betrug in der Gruppe der Säuglinge vom Geburtszeitpunkt bis zum 1. Lebensjahr 14,40 NTU (SD 7,45 NTU). Die Gruppe der Kleinkinder vom >1. bis 3. Lebensjahr wies einen Wert von 17,16 NTU (SD 14,74 NTU) auf. Vom >3. bis 6. Lebensjahr wurde ein Mittelwert von 23,94 NTU (SD 21,73 NTU) und in der Gruppe der >6- bis 9-jährigen Mädchen von 40,25 NTU (49,48 NTU) erhoben. Kinder vom >9. bis 12. Lebensjahr zeigten einen Wert von 35,86 NTU (SD 24,44 NTU) und in der folgenden Altersstufe einen Wert von 47,46 NTU (SD 45,88 NTU). Die Jugendlichen zwischen dem >15. und 18. Lebensjahr wiesen einen Mittelwert von 36,68 NTU (SD 30,11 NTU) auf. Insgesamt wurde in der weiblichen Population der Kinder und Jugendlichen im Zeitraum zwischen der Geburt und dem 18. Lebensjahr eine mittlere IgG-Antikörperkonzentration von 30,69 NTU (SD 32,18 NTU) erhoben.

Altersadjustiert ließen sich keine statistischen Unterschiede in den IgG-Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus A zwischen Mädchen und Jungen der Studiengruppe nachweisen ($p = 0.667$).

5.3.2. Kontrollgruppe der Erwachsenen

Die Tab. 29 erfasst die ermittelten IgG-Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus A in der Gesamtpopulation sowie in den männlichen und weiblichen Anteilen der Kontrollgruppe. Als Mittelwerte der Antikörperkonzentrationen wurden in den verschiedenen Altersstufen der Erwachsenenwerte zwischen 30,23 NTU (SD 15,67 NTU) (>24-27 Jahre) und 36,80 NTU (SD 31,76 NTU) (>27-30 Jahre) erhoben. Die mittlere IgG-Antikörperkonzentration gegen Influenzavirus A betrug in der Erwachsenenengruppe zwischen dem >18. und 30. Lebensjahr 33,19 NTU (SD 23,78 NTU). Unter Zuhilfenahme der Boxplots mit Darstellung des Medians, der 25. und 75. Perzentile, des Minimums, des Maximums sowie des >1,5- und >3fachen Interquartilabstandes wird in Abb. 31 (S. 58) die altersspezifische Verteilung der IgG-Antikörperkonzentrationen in der Erwachsenenengruppe grafisch zusammengefasst. Statistisch ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Altersgruppen der Blutspender erheben ($p=0.214$).

Tab. 29: IgG-Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus A in Nova-Tec-Einheiten (NTU) in der Kontrollgruppe

Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus A								
Altersgruppen in Jahren	Probandenanzahl		Mittelwert	Standardabweichung	Mittelwert	Standardabweichung	Mittelwert	Standardabweichung
	männliche Population	weibliche Population	Gesamt NTU	Gesamt NTU	männliche Population NTU	männliche Population NTU	weibliche Population NTU	weibliche Population NTU
>18-21	66	135	31,68	16,88	31,27	18,03	31,89	16,36
>21-24	89	110	33,90	26,23	32,80	16,76	34,79	31,95
>24-27	99	101	30,23	15,66	32,12	16,60	28,38	14,53
>27-30	103	106	36,80	31,76	36,96	26,56	36,65	36,22
Gesamt	357	452	33,19	23,78	33,53	20,23	32,93	26,22

- Geschlechtsspezifische Analyse der Kontrollgruppe

Wie Tab. 29 ausweist, wurden in der Gesamtpopulation mittlere IgG-Antikörperkonzentrationen zwischen 31,27 NTU (SD 18,03 NTU) (>18-21 Jahr) und 36,96 NTU (SD 26,56 NTU) (>27-30 Jahre) bestimmt. Die mittlere Konzentration der Influenzavirus A-spezifischen Antikörper in der männlichen Population betrug 33,53 NTU (SD 20,23 NTU) im Zeitraum >18. bis 30. Lebensjahr. In der weiblichen Population der Kontrollgruppe lagen die mittleren Konzentrationen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A zwischen 28,38 NTU (SD 14,53 NTU) (>24-27 Jahre) und 36,65 NTU (SD 36,22 NTU) (>27-30 Jahre). Im Zeitraum vom >18. bis 30. Lebensjahr wurde in der weiblichen Kontrollpopulation ein Konzentrationsmittelwert von 32,93 NTU (SD 26,2 NTU) errechnet. Nach statistischer Analyse wurden keine signifikanten Unterschiede der IgG-Antikörperkonzentrationen zwischen Männern und Frauen in der Kontrollgruppe gesichert ($p=0.307$).

5.4. Qualitative IgG-Antikörperbefunde gegen Influenzavirus B

5.4.1. Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen

Die qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmungen gegen Influenzavirus B (positiv, negativ, grenzwertig) in der Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen werden in Tab. 30 zusammengefasst. Im Zeitraum von der Geburt bis zum 1. Lebensjahr wurden bei 10,7% der untersuchten Säuglinge positive und bei 82,5% negative Testergebnisse in den IgG-Antikörperbestimmungen gegen Influenzavirus B erhoben. In den folgenden Altersgruppen der Kleinkinder vom >1. Lebensjahr bis zur Stufe der <12 jährigen Kinder und Teenager wurden zwischen 1,3% (>1-3 Jahre) und 3,3% (>9-12 Jahre), im Mittel 2,0%, der Seren positiv beurteilt. Zwischen 93,3% (>9-12 Jahre) und 98,7% (>6-9 Jahre) der untersuchten Kinder vom >1. bis <12. Lebensjahr wiesen negative Testergebnisse im IgG-Antikörpernachweis gegen Influenzavirus B auf. In den folgenden Altersgruppen zeigte sich ein deutlicher Anstieg der Anzahl der positiv beurteilten Seren. Die Rate der negativ getesteten Untersuchungsmaterialien nahm dagegen ab. Ab dem >12. bis zum 18. Lebensjahr wurden höhere Prozentsätze an positiv beurteilten Untersuchungsproben erhoben (24,0%-24,7%). Bei 67,3% der Jugendlichen der Altersstufen vom >12. bis 18. Lebensjahr wurden die Seren dem negativen Wertebereich zugeordnet. Die Zahl der getesteten Probanden mit grenzwertig eingestuftem Befund lag zwischen 0% (>6-9 Jahre) und 8,7% (>12-15 Jahre), im Mittel bei 4,3%, über den Zeitraum von Geburt bis zum 18. Lebensjahr.

Tab. 30: Übersicht über die qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B in der Studiengruppe

IgG-Antikörper-Ergebnisse gegen Influenzavirus B			
Altersgruppen in Jahren	Negativ (%)	Positiv (%)	Grenzwertig (%)
0-1	170 (82,52%)	22 (10,68%)	14 (6,80%)
>1-3	146 (96,13%)	2 (1,33%)	2 (1,33%)
>3-6	149 (96,13%)	3 (1,94%)	3 (1,94%)
>6-9	148 (98,67%)	2 (1,33%)	0 (0,00%)
>9-12	140 (93,33%)	5 (3,33%)	5 (3,33%)
>12-15	101 (67,33%)	36 (24,00%)	13 (8,67%)
>15-18	101 (67,33%)	37 (24,67%)	12 (8,00%)
Gesamt	955 (85,96%)	107 (9,63%)	49 (4,41%)

Die Abb. 32 (S. 62) stellt die qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus B unabhängig vom Geschlecht grafisch dar.

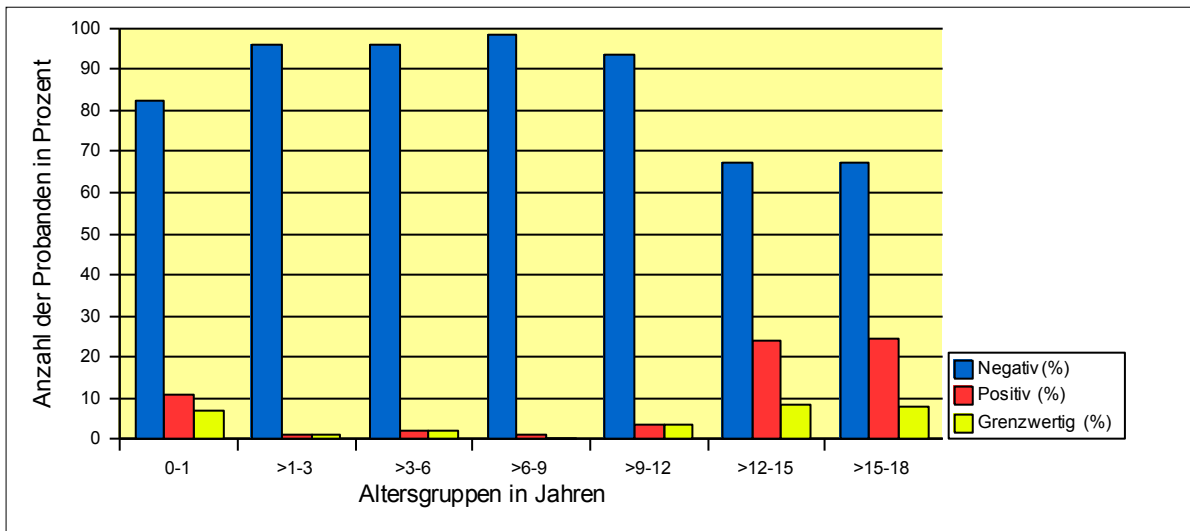


Abb. 32: Qualitative Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus B in der Studiengruppe

- Detaillierte Analyse der Kinder im ersten Lebensjahr

Die qualitativen IgG-Antikörperergebnisse gegen Influenzavirus B in der Gruppe der Kinder unter dem 1. Lebensjahr werden in Tab. 31 (S. 63) aufgeführt. Zum Zeitpunkt der Geburt waren 45,2% Untersuchungsmaterialien der Neugeborenen positiv und 41,9% negativ auf IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B getestet worden. 12,9% der Seren der Probanden konnten weder einer positiven noch einer negativen Wertung zugeordnet werden. Sie waren als grenzwertig eingestuft worden. Im 1. postpartalen Monat betrug die Rate der positiv eingeordneten Seren lediglich 2,6%. Dagegen zeigte sich, dass zu diesem Zeitpunkt 79,5% der untersuchten Seren eine negative Wertung aufwiesen. Im Zeitraum vom 2. Lebensmonat bis zum 1. Lebensjahr lagen bei 88,2% (12. Lebensmonat) bis 100% (4., 5. und 11. Lebensmonat) der Säuglinge negative Testergebnisse vor. Der Prozentsatz der positiv beurteilten Seren betrug zwischen 0% (2. bis 5. und 11. Lebensmonat) und 12,5% (9. Lebensmonat). Das Untersuchungsmaterial von 12,9% der Probanden wies zum Zeitpunkt der Geburt Werte im Grenzbereich auf. Im 1. Lebensmonat lag dieser Prozentsatz bei 17,9% und einen Lebensmonat später bei 4,8%. Im 3. Monat wurden die Seren von 10,5% der Säuglinge und in den weiteren Lebensmonaten (4. bis 12. Lebensmonat) 0% als grenzwertig bewertet. Die grafische Darstellung der qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus B in der Gruppe der Kinder bis zum ersten Lebensjahr erfolgt in Abb. 33 (S. 63).

Tab. 31: Übersicht über die qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B in der Gruppe der Kinder im 1. Lebensjahr

IgG-Antikörper-Ergebnisse gegen Influenzavirus B														
Altersgruppen (Monate)	0.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	Σ
Negativ (%)	13 (41,9)	31 (79,5)	20 (95,2)	17 (89,5)	11 (100,0)	12 (100,0)	10 (90,9)	8 (88,9)	9 (90,0)	7 (87,5)	8 (88,9)	9 (100,0)	15 (88,2)	170 (82,5)
Positiv (%)	14 (45,2)	1 (2,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (9,1)	1 (11,1)	1 (10,0)	1 (12,5)	1 (11,1)	0 (0,0)	2 (11,8)	22 (10,7)
Grenzwertig (%)	4 (12,9)	7 (17,9)	1 (4,8)	2 (10,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	14 (6,8)
Gesamt (%)	31 (15,1)	39 (18,9)	21 (10,2)	19 (9,2)	11 (5,3)	12 (5,8)	11 (5,3)	9 (4,4)	10 (4,9)	8 (3,9)	9 (4,4)	9 (4,4)	17 (8,3)	206 (100,0)

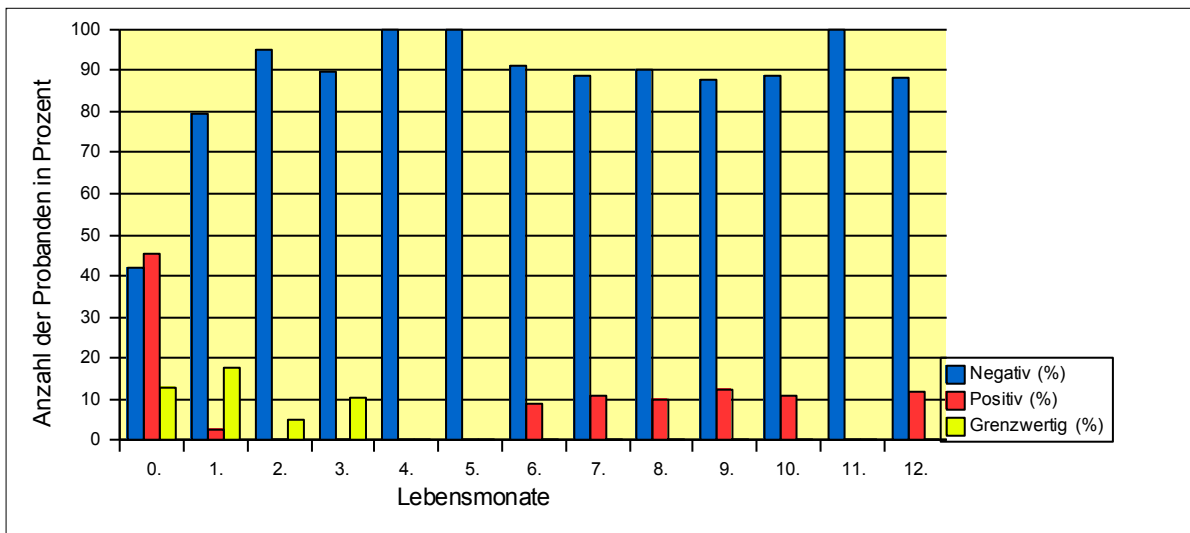


Abb. 33: Qualitative Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus B in der Gruppe der Kinder im 1. Lebensjahr

- Geschlechtsspezifische Analyse der Studiengruppe

Tab. 32 (S. 64) zeigt die qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus B in der Gruppe der Kinder und Jugendlichen in Abhängigkeit vom Alter und Geschlecht. In der Gruppe der männlichen Säuglinge im 1. Lebensjahr wurden 13,5% der Seren positiv und 80,0% negativ eingestuft. Vom >1. bis 12. Lebensjahr reduzierte sich die Anzahl der positiv beurteilten männlichen Probanden und erreichte einen Prozentsatz zwischen 1,2% (>6-9 Jahre) und 3,7% (>3-6 Jahre), durchschnittlich 2,6%. In diesem Zeitraum wiesen 95,6% (>1-3 Jahre) bis 98,8% (>6-9 Jahre) der Untersuchungsmaterialien der männlichen Probanden negative Ergebnisse auf. Ab der Altersstufe der >12- bis 15-jährigen männlichen Teenager wurden deutlich höhere Raten an positiv beurteilten Seren gesichert. So ließen sich der Altersgruppe der >12- bis 15-jährigen Jungen bei

17,9% und in der Stufe der >15- bis 18-jährigen Jugendlichen bei 18,3% der Proben positive Ergebnisse sichern. Dagegen wies die Quote der negativ bewerteten Seren noch 90,5% in der Altersstufe der Teenager vom > 9. bis 12. Lebensjahr und 76,2% in der Gruppe der >12- bis 15-jährigen Probanden auf. In der Gruppe der Jugendlichen zwischen dem >15. bis 18. Lebensjahr betrug die Anzahl der negativ bewertete Seren 70,0%. Bei 7,6% der Proben der männlichen Säuglinge lagen die Ergebnisse im grenzwertigen Bereich. Im Kleinkindalter wiesen 2,2% der untersuchten Seren grenzwertige Ergebnisse auf. Im Untersuchungsmaterial der männlichen Probanden im Alter zwischen dem >3. und 9. Lebensjahr wurden keine, in der Stufe der >9- bis 15-Jährigen zu 6,2% und schließlich in der Altersgruppe >15- bis 18-jährigen Jugendlichen zu 11,7% grenzwertig eingestufte Seren ermittelt. In der Abb. 34 (S. 65) werden die qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus B für die männliche Population der Studiengruppe grafisch dargestellt.

Es wurden bei 6,9% der Seren untersuchter weiblicher Säuglinge im Zeitraum von der Geburt bis zum 1. Lebensjahr positive und 87,4% negative Testbewertungen erhoben. In den Altersstufen >1. bis 3. und >3. bis 6. Lebensjahr lagen keine positiven Probenergebnisse vor. Im Vergleich dazu wiesen 95,4% (>9-12 Jahre) bis 100,0% (>1-3 Jahre) der Proben in den Altersstufen vom >1. bis zum 12. Lebensjahr negative Ergebnisse auf.

Tab. 32: Übersicht über die qualitativen IgG-Antikörperbefunde (positiv, negativ, grenzwertig) gegen Influenzavirus B im männlichen und weiblichen Anteil der Studiengruppe

IgG-Antikörper-Ergebnisse gegen Influenzavirus B						
Altersgruppen in Jahren	Negativ		Positiv		Grenzwertig	
	Männlich	Weiblich	Männlich	Weiblich	Männlich	Weiblich
0-1	94 (78,99%)	76 (87,36%)	16 (13,45%)	6 (6,90%)	9 (7,56%)	5 (5,75%)
>1-3	86 (95,56%)	60 (100,00%)	2 (2,22%)	0 (0,00%)	2 (2,22%)	0 (0,00%)
>3-6	8 (96,30%)	71 (95,95%)	3 (3,70%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	3 (4,05%)
>6-9	83 (98,81%)	65 (98,48%)	1 (1,19%)	1 (1,52%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
>9-12	57 (90,48%)	83 (95,40%)	2 (3,17%)	3 (3,45%)	4 (6,35%)	1 (1,15%)
>12-15	64 (76,19%)	37 (56,06%)	15 (17,86%)	21 (31,82%)	5 (5,95%)	8 (12,12%)
>15-18	42 (70,00%)	59 (65,56%)	11 (18,33%)	26 (28,89%)	7 (11,67%)	5 (5,56%)
Gesamt	504 (86,75%)	451 (85,09%)	50 (8,61%)	57 (10,75%)	27 (4,65%)	22 (4,15%)

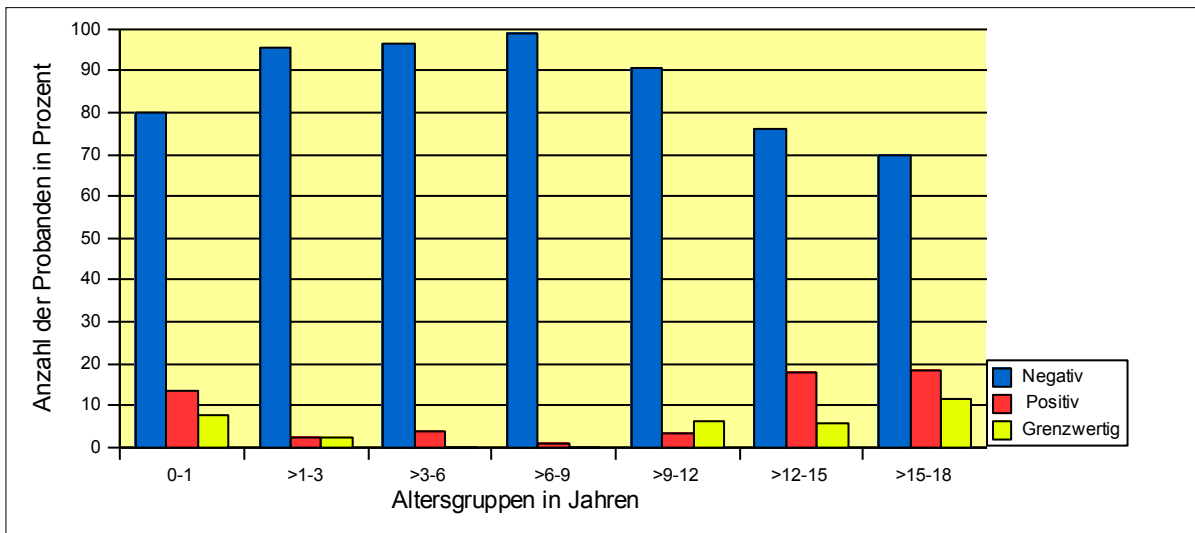


Abb. 34: Qualitative Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus B im männlichen Anteil der Studiengruppe

Wie Tab. 32 (S. 64) zeigt, wiesen die folgenden Altersgruppen der >6- bis 12- jährigen Mädchen zwischen 1,5% und 3,5% positiv beurteilte Seren auf. Ein sprunghafter Anstieg der positiv gewerteten Proben auf 31,8% und 28,9% ließ sich in den Altersstufen der >12- bis 15- und >15- bis 18-jährigen weiblichen Jugendlichen nachweisen. In diesen beiden Altersgruppen zeigten nur noch 56,1% und 65,6% der Seren negative Resultate. Vom Zeitpunkt der Geburt bis zum 1. Lebensjahr wurden 5,8 % der weiblichen Seren im grenzwertigen Bereich beurteilt. In den Altersstufen zwischen dem >1. und 12. Lebensjahr betrug die Rate der grenzwertig eingestuft Proben 0% (>1-3 Jahre, >6-9 Jahre) bis 4,1% (>3-6 Jahre) und 5,6% (>15-18 Jahre) bis 12,1% (>12-15 Jahre) zwischen dem >12. und 18. Lebensjahr. Die qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus B für den weiblichen Anteil der Studienpopulation werden grafisch in Abb. 35 dargestellt.

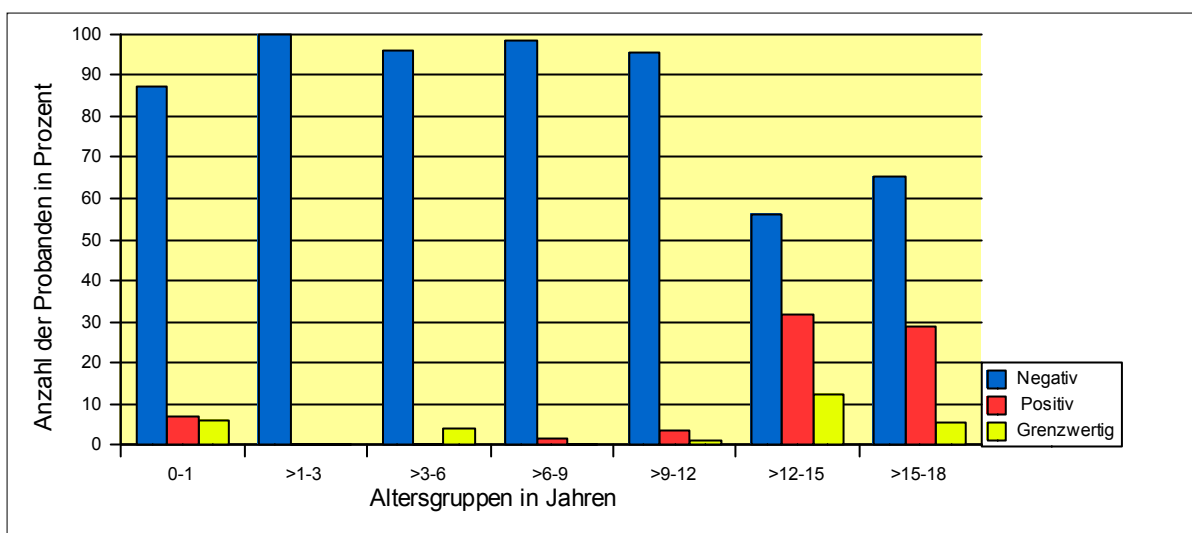


Abb. 35: Qualitative Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus B in der weiblichen Population der Studiengruppe

5.4.2. Kontrollgruppe der Erwachsenen

Tabelle 33 fasst die qualitativen IgG-Antikörperergebnisse gegen Influenzavirus B (positiv, negativ, grenzwertig) in der gesamten Kontrollpopulation zusammen. In der Altersgruppe der >18- bis 21-jährigen Erwachsenen ließen sich 38,8% positiv und 41,3% negativ beurteilte Seren nachweisen. Mit steigendem Alter zeigte sich in den folgenden Altersstufen ein Anstieg der Anzahl der positiven Probenergebnisse. Die Rate der negativen Befunde nahm dagegen ab. In der Stufe der >21- bis 24-jährigen Erwachsenen betrug der Anteil positiv bewerteter Proben 58,8%. Negative Testergebnisse wiesen 24,1% der untersuchten Materialien in dem gleichen Zeitraum auf. Der ansteigende Trend setzte sich fort. Die Gruppe der >24- bis 27-jährigen Probanden zeigte einen Prozentsatz positiver Testergebnisse von 62,0%. Ein Prozentsatz von 67,0% ließ sich in der Stufe der >27- und 30-jährigen Untersuchungsteilnehmer nachweisen. Die Rate der negativen Befunde lag zwischen 17,5% (>24-27 Jahre) und 17,7% (>27-30 Jahre). Der Prozentsatz der als grenzwertig ermittelten Ergebnisse betrug zwischen 15,3% (>27-30 Jahre) und 20,5% (>24-27 Jahre), im Mittel 18,2%.

Tab. 33: Übersicht über qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B in der Kontrollgruppe

IgG-Antikörper-Ergebnisse gegen Influenzavirus B			
Altersgruppen in Jahren	Negativ	Positiv	Grenzwertig
>18-21	83 (41,29%)	78 (38,81%)	40 (19,90%)
>21-24	48 (24,12%)	117 (58,79%)	34 (17,09%)
>24-27	35 (17,50%)	124 (62,00%)	41 (20,50%)
>27-30	37 (17,70%)	140 (66,99%)	32 (15,31%)
Gesamt	203 (25,09%)	459 (56,74%)	147 (18,17%)

Die qualitativen IgG-Antikörperergebnisse gegen Influenzavirus B werden in Abb. 36 dargestellt.

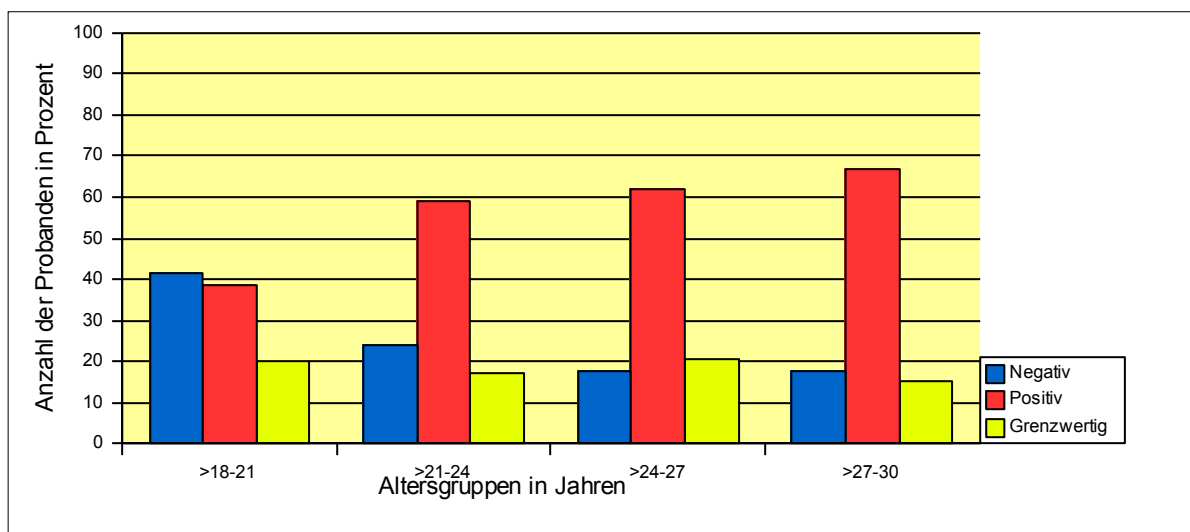


Abb. 36: Qualitative Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus B in der Kontrollgruppe

- Geschlechtsspezifische Analyse der Kontrollgruppe

Tabelle 34 zeigt die geschlechtsspezifischen qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmungen gegen Influenzavirus B in der Kontrollgruppe mit den jeweiligen prozentualen Anteilen. In der Altersstufe der >18- bis 21-jährigen Männer ließen sich 43,9% positiv und 36,4% negativ bewertete Serumbefunde sichern. In den folgenden Altersgruppen nahm die Anzahl der positiven Ergebnisse zu, die der negativen ab. Der Prozentsatz positiver bewerteter Seren betrug 62,9% in der Gruppe der >21- bis 24-jährigen Probanden. 18,0% der untersuchten Proben zeigten negative Ergebnisse. Im Alter zwischen >24 und 27 Jahren wurden bei 64,7% der Probanden positive und bei 13,1% negative Analysen erhoben. Zwischen dem >27. und 30. Lebensjahr lag der Anteil der positiven Wertungen der Blutspenderseren bei 73,8%, die der negativen bei 9,7%. Die als grenzwertig eingestuften Serumbefunde lagen zwischen 16,5% (>27-30 Jahre) und 22,2% (>24-27 Jahre) der Probanden. Die Abb. 37 (S. 68) stellt die in Tab. 34 dokumentierten Werte der qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmungen gegen Influenza B in der männlichen Population bildlich dar.

Tab. 34: Übersicht über die qualitativen IgG-Antikörperbefunde (positiv, negativ, grenzwertig) gegen Influenzavirus B im männlichen und weiblichen Anteil der Kontrollpopulation

Altersgruppen in Jahren	IgG-Antikörper-Ergebnisse gegen Influenzavirus B					
	Negativ		Positiv		Grenzwertig	
	Männlich	Weiblich	Männlich	Weiblich	Männlich	Weiblich
>18-21	24 (36,36%)	59 (43,70%)	29 (43,94%)	49 (36,30%)	13 (19,70%)	27 (20,00%)
>21-24	16 (17,98%)	32 (29,09%)	56 (62,92%)	61 (55,45%)	17 (19,10%)	17 (15,45%)
>24-27	13 (13,13%)	22 (21,78%)	64 (64,65%)	60 (59,41%)	22 (22,22%)	19 (18,81%)
>27-30	10 (9,71%)	27 (25,47%)	76 (73,79%)	64 (60,38%)	17 (16,50%)	15 (14,15%)
Gesamt	63 (17,65%)	140 (30,97%)	225 (63,03%)	234 (51,77%)	69 (19,33%)	78 (17,26%)

In Tab. 34 werden die geschlechtsspezifischen qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmungen gegen Influenzavirus B in der weiblichen Population der Kontrollgruppe zusammengefasst. In der Altersstufe >18. bis 21. Lebensjahr wurden 36,3% der Seren positiv und 43,7% negativ bewertet. In den folgenden Altersgruppen nahm der Anteil der positiv beurteilten Proben zu, und die negativen Befunde nahmen ab. So wurden in der Gruppe der >21- bis 24-Jährigen bei 55,5% der Untersuchungsmaterialien positive Ergebnisse erhoben. Bei 29,1% der Seren lagen negative Wertungen vor. Die Population der Frauen wies zwischen dem >24. und 27. Lebensjahr zu 59,4%

positive und zu 21,8% negative Befunde auf. Schließlich ließ sich in der Stufe der >27- bis 30-jährigen Probandinnen ein Prozentsatz von 60,4% an positiven Befunden nachweisen. 25,5% der Proben wiesen eine negative Beurteilung auf. Der Prozentsatz der als grenzwertig eingestuften Seren lag zwischen 14,2% (>27-30 Jahre) und 20,0% (>18-21 Jahre), im Mittel bei 17,3%. Die qualitativen Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmungen im weiblichen Anteil der Kontrollgruppe sind in der Abb. 38 grafisch dargestellt.

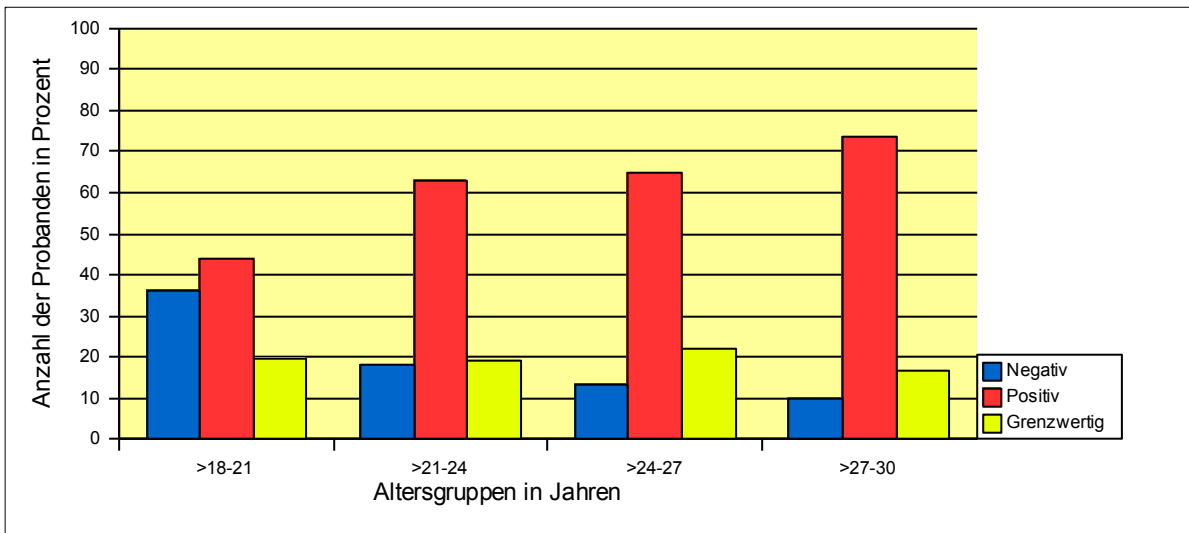


Abb. 37: Qualitative Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus B in der männlichen Population der Kontrollgruppe

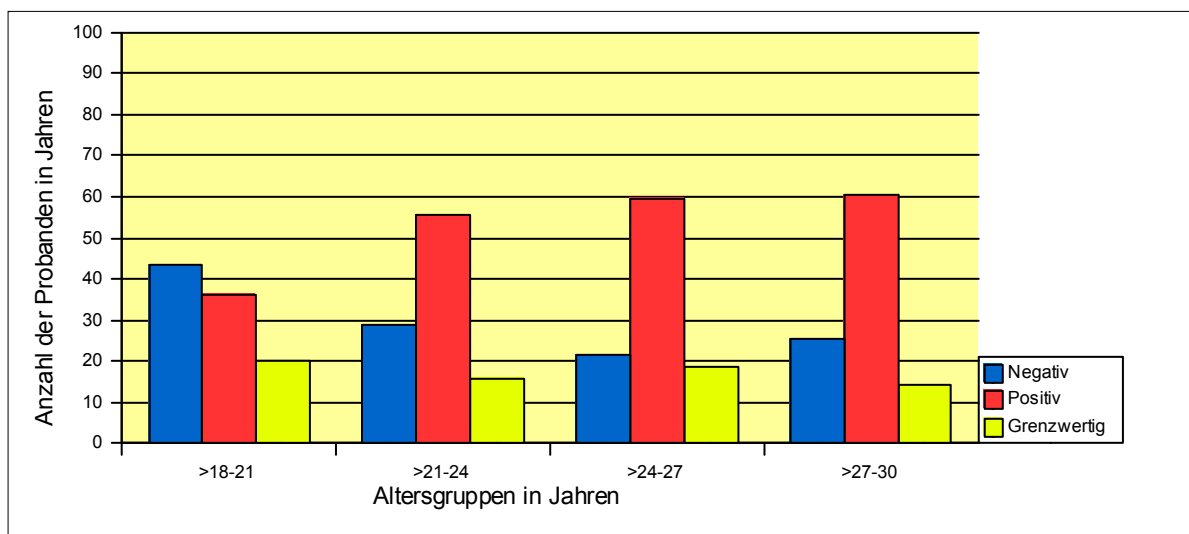


Abb. 38: Qualitative Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus B in der weiblichen Population der Kontrollgruppe

5.5. IgG-Antikörperprävalenzen gegen Influenzavirus B

5.5.1 Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen

Wie in Tab. 35 aufgeführt, ließ sich in der Altersgruppe der Säuglinge vom Zeitpunkt der Geburt bis zum 1. Lebensjahr eine Prävalenz von 10,7% [6,8%-15,7%] an IgG-Antikörpern gegen Influenzavirus B sichern. In der Altersgruppe der Kinder vom >1. bis zum 9. Lebensjahr wurden deutlich niedriger Prävalenzen ermittelt. So betrug die Prävalenz zwischen 1,3% [0,2%-4,7%] in der Stufe der >1-bis 3-jährigen Kleinkinder, 1,9% [0,4%-5,6%] im Alter von >3 bis 6 Jahren und 3,3% [1,1%-7,6%] bei den >9- bis 12-jährigen Kindern. Der ansteigende Trend setzte sich fort. Bei den >12- bis 15-jährigen Kindern lag die Prävalenz bei 24,0% [17,4%-31,6%]. In der Altersgruppen der >15- bis 18- jährigen Jugendlichen betrug die Influenzavirus B-Seroprävalenz 24,7% [18,0%-32,4%]. In der Gruppe der Kinder und Jugendlichen wurde eine Gesamtseroprävalenz gegen Influenzavirus B von 9,6% [8,0%, 11,5%] ermittelt. Abb. 39 (S. 70) stellt die geschätzten Prävalenzen der IgG-Antikörperbestimmungen gegen Influenzavirus B grafisch dar. Statistisch wurde ein signifikanter Anstieg der IgG-Antikörperprävalenzen gegen Influenzavirus B mit zunehmendem Alter der Probanden der Studiengruppe gesichert ($p < 0.001$).

Tab. 35: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B in der Studiengruppe, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Ergebnisse der Prävalenzbestimmung der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B				
Altersgruppen in Jahren	Anzahl der Probanden	Prävalenz (%)	95% CI untere Grenze (%)	95% CI obere Grenze (%)
0-1	206	10,7	6,8	15,7
>1-3	150	1,3	0,2	4,7
>3-6	155	1,9	0,4	5,6
>6-9	150	1,3	0,2	4,7
>9-12	150	3,3	1,1	7,6
>12-15	150	24,0	17,4	31,6
>15-18	150	24,7	18,0	32,4
Gesamt	1111	9,6	8,0	11,5

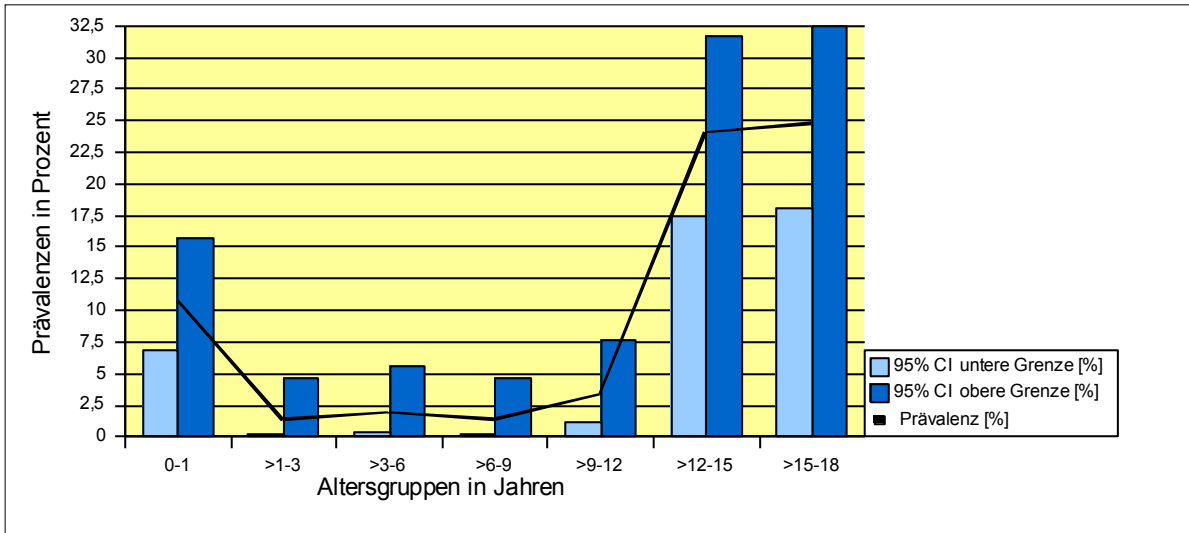


Abb. 39: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B in der Studiengruppe, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

- Detaillierte Analyse der Kinder im ersten Lebensjahr

Tab. 36 fasst die ermittelten Prävalenzen der IgG-Antikörperbestimmungen gegen Influenzavirus B in der Gruppe der Kinder im 1. Lebensjahr zusammen. Zum Zeitpunkt der Geburt zeigte sich eine Prävalenz der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B von 45,2% [27,3%-64,0%]. In den folgenden Lebensmonaten wurden deutlich niedrigere Werte zwischen 0% [0,0%-16,1%] (3. bis 5. Lebensmonat) und 2,6% [0,1%-13,5%] (1. Lebensmonat) gesichert. Im 6. Lebensmonat lagen höhere Prävalenzergebnisse von 9,1% [0,2%-41,3%] vor. Im Zeitraum zwischen dem 7. und 12. Lebensmonat wurden Werte zwischen 10,0% [0,3%-44,5%] (8. Lebensmonat) und 12,5 % [0,3%-52,7%] (9. Lebensmonat) erhoben. Eine grafische Darstellung ist aufgrund der geringen Fallzahlen nicht sinnvoll.

Tab. 36: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B in der Studiengruppe im 1. Lebensjahr, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Ergebnisse der Prävalenzbestimmung der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B													
Alter in Monaten	0.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
Anzahl der Proben	31	39	21	19	11	12	11	9	10	8	9	9	17
Prävalenz (%)	45,2	2,6	0,0	0,0	0,0	0,0	9,1	11,1	10,0	12,5	11,1	0,0	11,8
95% CI untere Grenze (%)	27,3	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,0	1,5
95%CI obere Grenze (%)	64,0	13,5	16,1	17,6	28,5	26,5	41,3	48,2	44,5	52,7	48,2	33,6	36,4

- Geschlechtsspezifische Analyse der Studiengruppe

In Tab. 37 werden die IgG-Antikörperprävalenzen gegen Influenzavirus B in den verschiedenen Altersgruppen der männlichen Population in der Gruppe der Kinder und Jugendlichen erfasst (Abb. 40). Im Zeitraum von der Geburt bis zum 1. Lebensjahr war eine Prävalenz von 13,4% [7,9%-20,9%] ermittelt worden. In den folgenden Altersgruppen zwischen > 1 bis 3 und > 9 bis 12 Jahren wurden niedrigere Werte zwischen 1,2% [0,0%-6,5%] (>6-9 Jahre) und 3,7% [0,8%-10,4%] (>3-6 Jahre) erhoben. In der Folge ließen sich höhere Prävalenzwerte nachweisen. So betrug die Prävalenz 17,9% [10,4%-27,7%] in der Gruppe der >12- bis 15-jährigen männlichen Teenager. In der Gruppe der >15- bis 18-jährigen Jugendlichen war eine Prävalenz von 18,3% [9,5%-30,4%] zu registrieren. Die Gesamtprävalenz in der männlichen Studiengruppe betrug 8,6% [6,5%-11,2%].

Tab. 37: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B im männlichen Anteil der Studiengruppe, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Ergebnisse der Prävalenzbestimmung der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B				
Altersgruppen in Jahren	Anzahl der Probanden	Prävalenz (%)	95% CI untere Grenze (%)	95% CI obere Grenze (%)
0-1	119	13,4	7,9	20,9
>1-3	90	2,2	0,3	7,8
>3-6	81	3,7	0,8	10,4
>6-9	84	1,2	0,0	6,5
>9-12	63	3,2	0,4	11,0
>12-15	84	17,9	10,4	27,7
>15-18	60	18,3	9,5	30,4
Gesamt	581	8,6	6,5	11,2

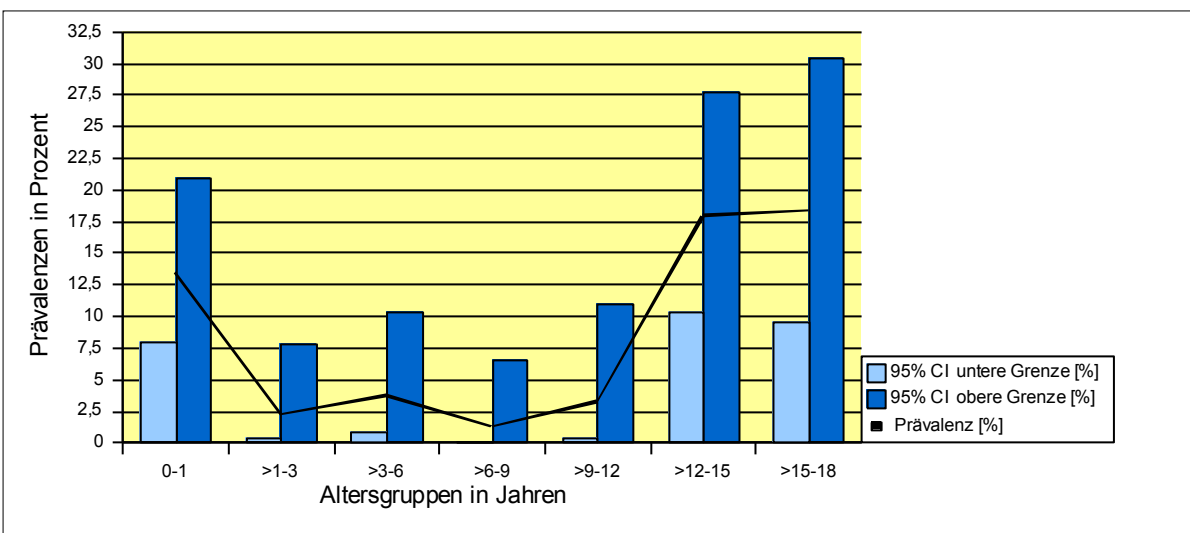


Abb. 40: Prävalenzen der IgG- Antikörper gegen Influenzavirus B im männlichen Anteil der Studiengruppe, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Die Tab. 38 zeigt die IgG-Antikörperprävalenzen gegen Influenzavirus B in der weiblichen Population der Studiengruppe (Abb. 41). Die Prävalenz der Altersstufe zwischen dem Geburtszeitpunkt und dem vollendeten 1. Lebensjahr betrug 6,9% [2,6%-14,4%]. In den folgenden Gruppen der Mädchen vom >1. bis 12. Lebensjahr wurden niedrigere IgG-Antikörperprävalenzen zwischen 0% [0,0%-6,0%] bis 3,4% [0,7%-9,7%] gesichert, während nach dem >12. Lebensjahr die Prävalenz der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B deutlich zunahm. So lag die Prävalenz in der Altersstufe der >12- bis 15-jährigen weiblichen Teenager bei 31,8% [20,9%- 44,4%] und den Jugendlichen zwischen dem >15. und 18. Lebensjahr bei 28,9% [19,8%-39,4%]. In der Gesamtgruppe der weiblichen Kinder und Jugendlichen lag die Influenza B-Seroprävalenz bei 10,8% [8,2%-13,7%].

Tab. 38: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B im weiblichen Anteil der Studiengruppe, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Ergebnisse der Prävalenzbestimmung der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B				
Altersgruppen in Jahren	Anzahl der Probanden	Prävalenz (%)	95% CI untere Grenze (%)	95% CI obere Grenze (%)
0-1	87	6,9	2,6	14,4
>1-3	60	0,0	0,0	6,0
>3-6	74	0,0	0,0	4,9
>6-9	66	1,5	0,0	8,2
>9-12	87	3,4	0,7	9,7
>12-15	66	31,8	20,9	44,4
>15-18	90	28,9	19,8	39,4
Gesamt	530	10,8	8,2	13,7

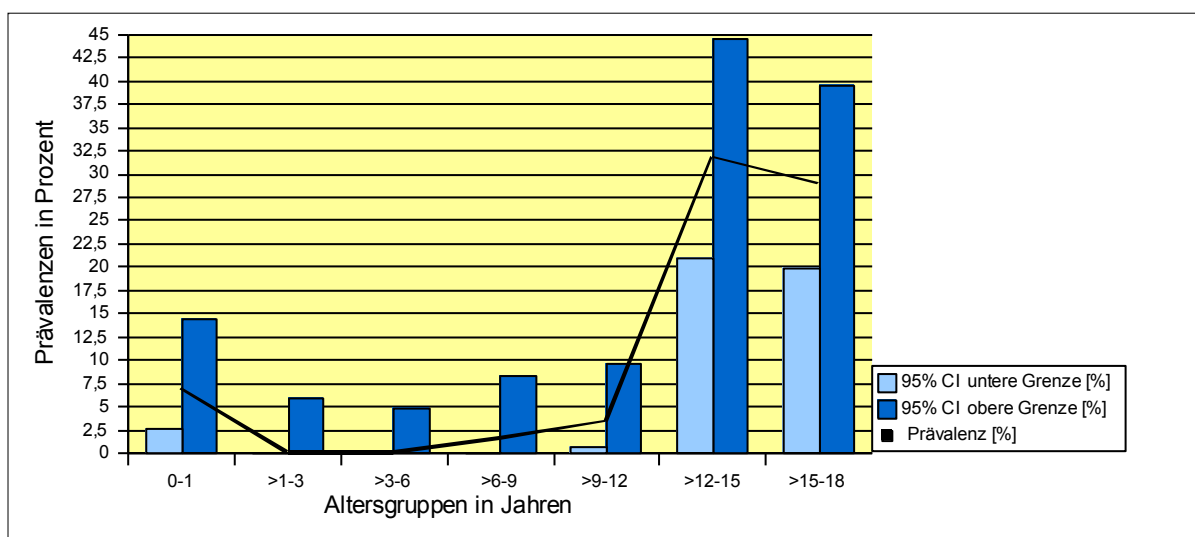


Abb. 41: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B im weiblichen Anteil der Studiengruppe, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Die statistische Untersuchungen konnten keine signifikanten Unterschiede der IgG-Antikörperprävalenzen gegen Influenzavirus B in der Studiengruppe zwischen dem männlichen und weiblichen Geschlecht in Abhängigkeit vom Alter erfassen ($p=0.427$).

5.5.2. Kontrollgruppe der Erwachsenen

In der Tab. 39 werden die Prävalenzen der IgG-Antikörperbestimmungen gegen Influenzavirus B aufgeführt (Abb. 42). Die Gruppe der Erwachsenen vom >18. bis 21. Lebensjahr zeigte eine Prävalenz von 38,8% [32,0%-45,9%]. In den folgenden Altersgruppen nahmen die Prävalenzwerte stetig zu. So ließ sich ein Wert von 58,8% [51,6%-65,7%] in der Altersgruppe der >21- bis 24-jährigen Erwachsenen und 62,0% [54,9%-68,8%] zwischen dem >24. bis 27. Lebensjahr sichern. Die Erwachsenen vom >27. bis 30. Lebensjahr wiesen ein Ergebnis von 67,0% [60,2%-73,3%] auf. Die Gesamtprävalenz der Kontrollgruppe betrug 56,7% [53,2%-60,2%]. Nach statistischer Auswertung zeigte sich, dass die IgG-Antikörper-Prävalenz gegen Influenzavirus B signifikant mit dem Alter der erwachsenen Probanden zunahm ($p<0.001$).

Tab. 39: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B in der Kontrollgruppe, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Ergebnisse der Prävalenzbestimmung der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B				
Altersgruppen in Jahren	Anzahl der Probanden	Prävalenz (%)	95% CI untere Grenze (%)	95% CI obere Grenze (%)
>18-21	201	38,8	32,0	45,9
>21-24	199	58,8	51,6	65,7
>24-27	200	62,0	54,9	68,8
>27-30	209	67,0	60,2	73,3
Gesamt	809	56,7	53,2	60,2

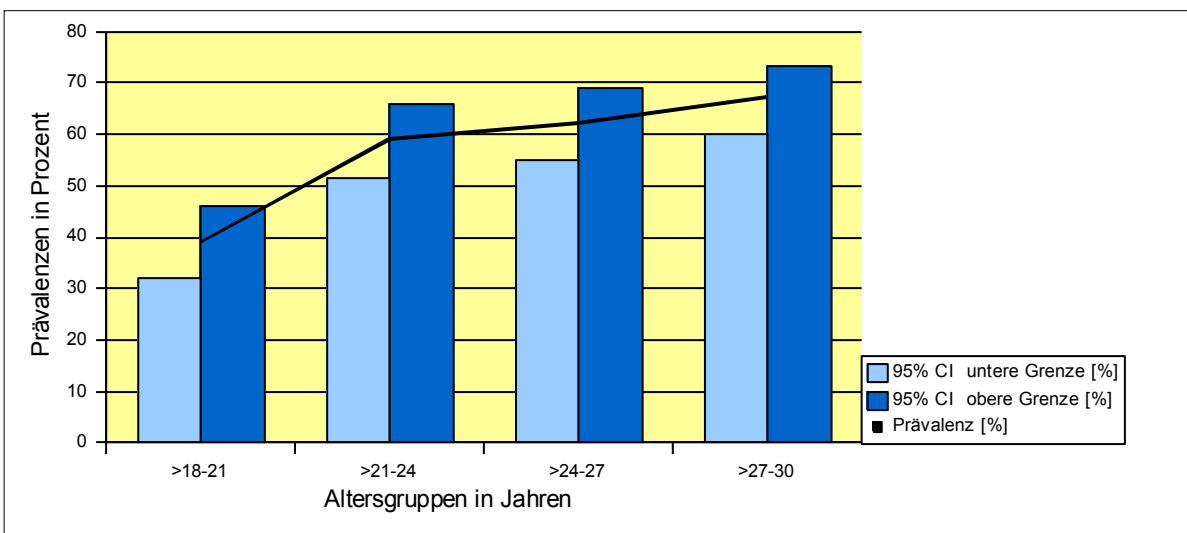


Abb. 42: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B in der Kontrollgruppe, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

- Geschlechtsspezifische Analyse der Kontrollgruppe

Tabelle 40 fasst die ermittelten Prävalenzen der IgG-Antikörperbestimmungen gegen Influenzavirus B in der männlichen Population zusammen. Die Abb. 43 zeigt die entsprechende Grafik. Vom >18. bis 21. Lebensjahr wurde bei den untersuchten Männern eine Prävalenz von 43,9% [31,7%-56,7%] ermittelt. In den folgenden Altersstufen zwischen dem >21. und 30. Lebensjahr nahm die Prävalenz kontinuierlich zu. So wurde ein Wert von 62,9% [52,0%-72,9%] in der Altersstufe der >21- bis 24-jährigen Studienteilnehmern nachgewiesen. Zwischen dem >24. bis 27. Lebensjahr wurden Ergebnisse von 64,6% [54,4%-74,0%] und schließlich in der Stufe der >27- bis 30-jährigen Männer von 73,8% [64,2%-82,0%] erzielt. Die Gesamtprävalenz betrug in der männlichen Population der Kontrollgruppe 63,0% [57,8%-68%].

Tab. 40: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B in der männlichen Population der Kontrollgruppe, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Ergebnisse der Prävalenzbestimmung der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B				
Altersgruppen	Anzahl der Probanden	Prävalenz (%)	95% CI untere Grenze (%)	95% CI obere Grenze (%)
>18-21	66	43,9	31,7	56,7
>21-24	89	62,9	52,0	72,9
>24-27	99	64,6	54,4	74,0
>27-30	103	73,8	64,2	82,0
Gesamt	357	63,0	57,8	68,0

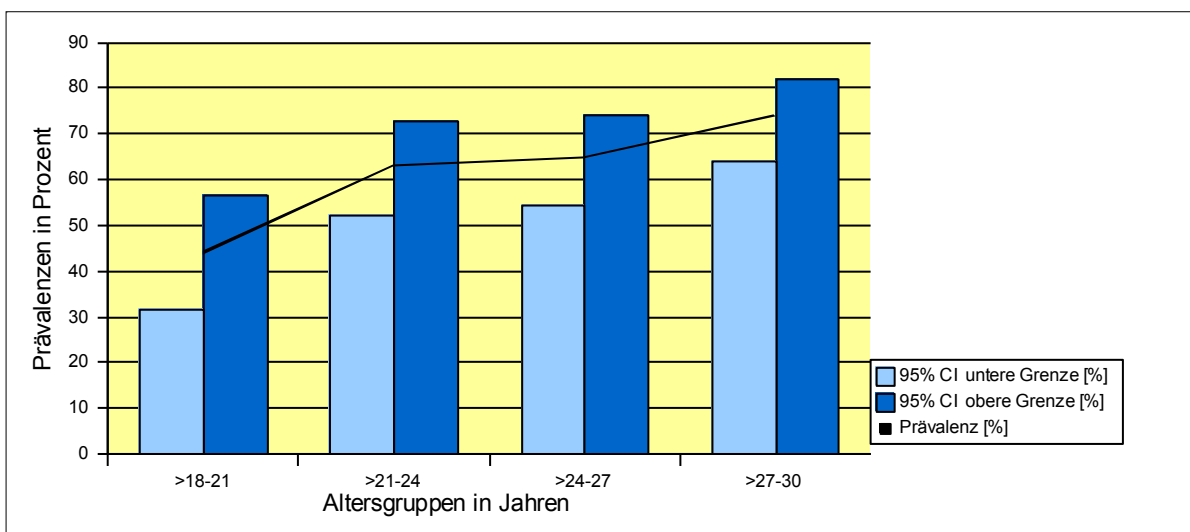


Abb. 43: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B im männlichen Anteil der Kontrollgruppe, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Tabelle 41 zeigt die Prävalenzen positiver IgG-Antikörperergebnisse gegen Influenzavirus B in der weiblichen Population der Kontrollpersonen. Die Prävalenz in der Gruppe der jungen Frauen vom >18. bis 21. Lebensjahr betrug 36,3% [28,2%-45,0%]. In den folgenden Altersgruppen ließen sich höhere Werte ermitteln. So wurde in der Gruppe der >21- bis 24-jährigen Blutspenderinnen eine Prävalenz von 55,5% [45,7%-64,9%] erhoben. Frauen zwischen dem >24. und 27. Lebensjahr wiesen einen Wert von 59,4% [49,2%-69,1%] und die Gruppe der >27- bis 30-jährigen Untersuchungsteilnehmerinnen ein Ergebnis von 60,4% [50,4%-69,7%] auf. In der Gesamtgruppe der weiblichen Testpersonen betrug die Prävalenz positiver IgG-Antikörperergebnisse gegen Influenzavirus B im Zeitraum vom >18. bis 30. Lebensjahr 51,8% [47,1%-56,5%]. Die ermittelten Prävalenzen und Konfidenzintervalle in der weiblichen Population der Kontrollgruppe stellt die Abb. 44 grafisch dar.

Tab. 41: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B in der weiblichen Kontrollen der Kontrollgruppe, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Ergebnisse der Prävalenzbestimmung der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B				
Altersgruppen in Jahren	Anzahl der Probanden	Prävalenz (%)	95% CI untere Grenze (%)	95% CI obere Grenze (%)
>18-21	135	36,3	28,2	45,0
>21-24	110	55,5	45,7	64,9
>24-27	101	59,4	49,2	69,1
>27-30	106	60,4	50,4	69,7
Gesamt	452	51,8	47,1	56,5

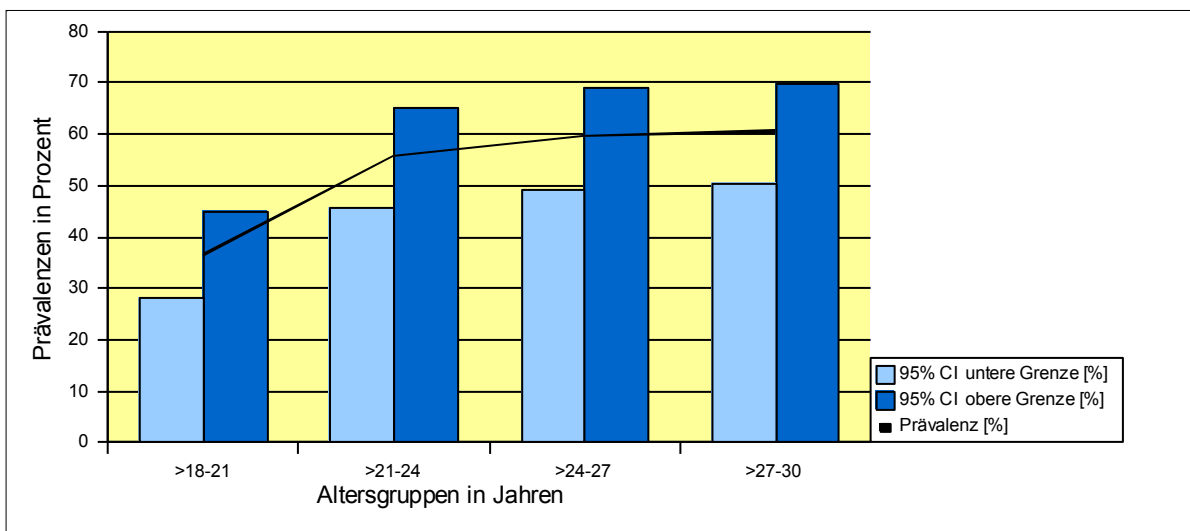


Abb. 44: Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B in der weiblichen Population der Kontrollgruppe, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

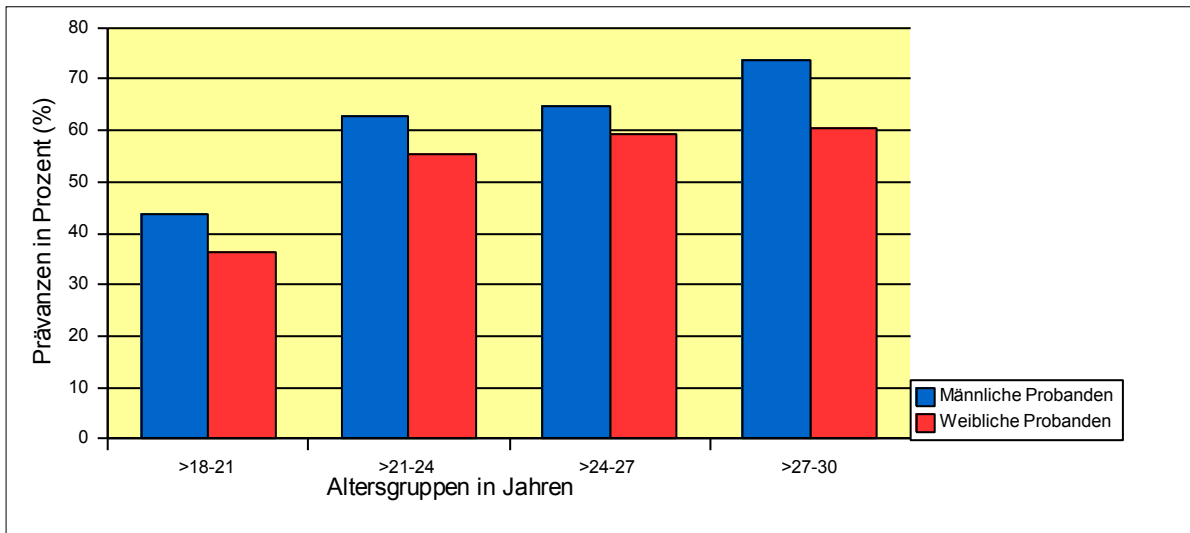


Abb. 45: Gegenüberstellung der geschlechtsspezifischen IgG-Antikörperprävalenzen gegen Influenzavirus B in der Kontrollgruppe, 95% CI= 95% Konfidenzintervalle in Prozent

Die statistische Analyse ergab einen signifikanten Unterschied bezüglich der Antikörperprävalenz gegen Influenzavirus B zwischen Frauen und Männern. Es zeigte sich, dass die Prävalenz positiver IgG-Antikörper bei dem weiblichen Populationsanteil der Kontrollgruppe altersadjustiert geringer ist als bei den Männern ($p < 0.014$). In der Abb. 45 werden die Prävalenzen des männlichen und weiblichen Anteils der Kontrollpopulation im Diagramm gegenüber gestellt. Die ermittelten positiven IgG-Antikörperbefunde gegen Influenzavirus B in der Studiengruppe zeigten in der Statistik signifikant geringere Werte als in der Erwachsenengruppe ($p < 0.001$).

5.6. Semiquantitative IgG-Antikörperbefunde gegen Influenzavirus B

5.6.1. Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen

Die Ergebnisse der semiquantitativen IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus B der Gesamtgruppe der Kinder und Jugendlichen sowie der männlichen und weiblichen Anteile werden in Tab. 42 (S. 77) zusammenfasst. In der Gruppe der Säuglinge vom Zeitpunkt der Geburt bis zum vollendeten 1. Lebensjahr betrug der Mittelwert 5,44 NTU (SD 4,66 NTU). Die Kleinkindgruppe vom > 1. bis 3. Lebensjahr wies einen Wert von 2,40 NTU (SD 2,32 NTU) auf. Ab dem >3. bis zum 6. Lebensjahr wurde eine mittlere Antikörperkonzentration von 2,96 NTU (SD 2,40 NTU) bestimmt. Der Mittelwert in der Gruppe der >6- bis 9-Jährigen betrug 3,77 NTU (SD 2,03 NTU) und in der Stufe der >9- bis 12-Jährigen 5,01 NTU (SD 3,49 NTU). Die Gruppe der >12- bis 15-Jährigen zeigte einen Mittelwert von 8,39 NTU (SD 5,70 NTU), und in der Gruppe der Jugendlichen vom > 15. bis 18. Lebensjahr wurde ein Wert von 8,18 NTU (SD 4,01 NTU) erhoben. Die mittlere IgG-Antikörperkonzentration gegen Influenzavirus B betrug 5,17 NTU (SD 4,2 NTU).

In Abb. 46 (S. 78) wird die altersspezifische Verteilung der IgG-Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus B der Erwachsenenengruppe unter Zuhilfenahme der Boxplots mit Darstellung des Medians, der 25. und 75. Perzentile, des Minimums, des Maximums sowie des >1,5- und >3fachen Interquartilabstandes grafisch zusammengefasst. Mittels statistischer Analyse wurde gesichert, dass die Antikörperkonzentration gegen Influenzavirus B mit zunehmendem Alter der Kinder und Jugendlichen signifikant ansteigt ($p=0.002$).

Tab. 42: IgG-Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus B in Nova-Tec-Einheiten (NTU) in der gesamten, männlichen und weiblichen Population der Studiengruppe

Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus B								
Altersgruppen in Jahren	Probandenanzahl		Mittelwert	Standardabweichung	Mittelwert	Standardabweichung	Mittelwert	Standardabweichung
	<i>männliche Population</i>	<i>weibliche Population</i>	<i>Gesamt NTU</i>	<i>Gesamt NTU</i>	<i>männliche Population NTU</i>	<i>männliche Population NTU</i>	<i>weibliche Population NTU</i>	<i>weibliche Population NTU</i>
0-1	119	87	5,44	4,66	5,83	5,15	4,90	3,87
>1-3	90	60	2,40	2,32	2,60	2,70	2,10	1,57
>3-6	81	74	2,96	2,40	2,90	2,57	3,02	2,21
>6-9	84	66	3,77	2,03	3,68	2,02	3,88	2,06
>9-12	63	87	5,01	3,49	5,39	4,33	4,73	2,72
>12-15	84	66	8,39	5,70	8,22	6,56	8,62	4,40
>15-18	60	90	8,18	4,01	7,52	3,86	8,62	4,08
Gesamt	581	530	5,17	4,34	5,08	4,66	5,26	3,97

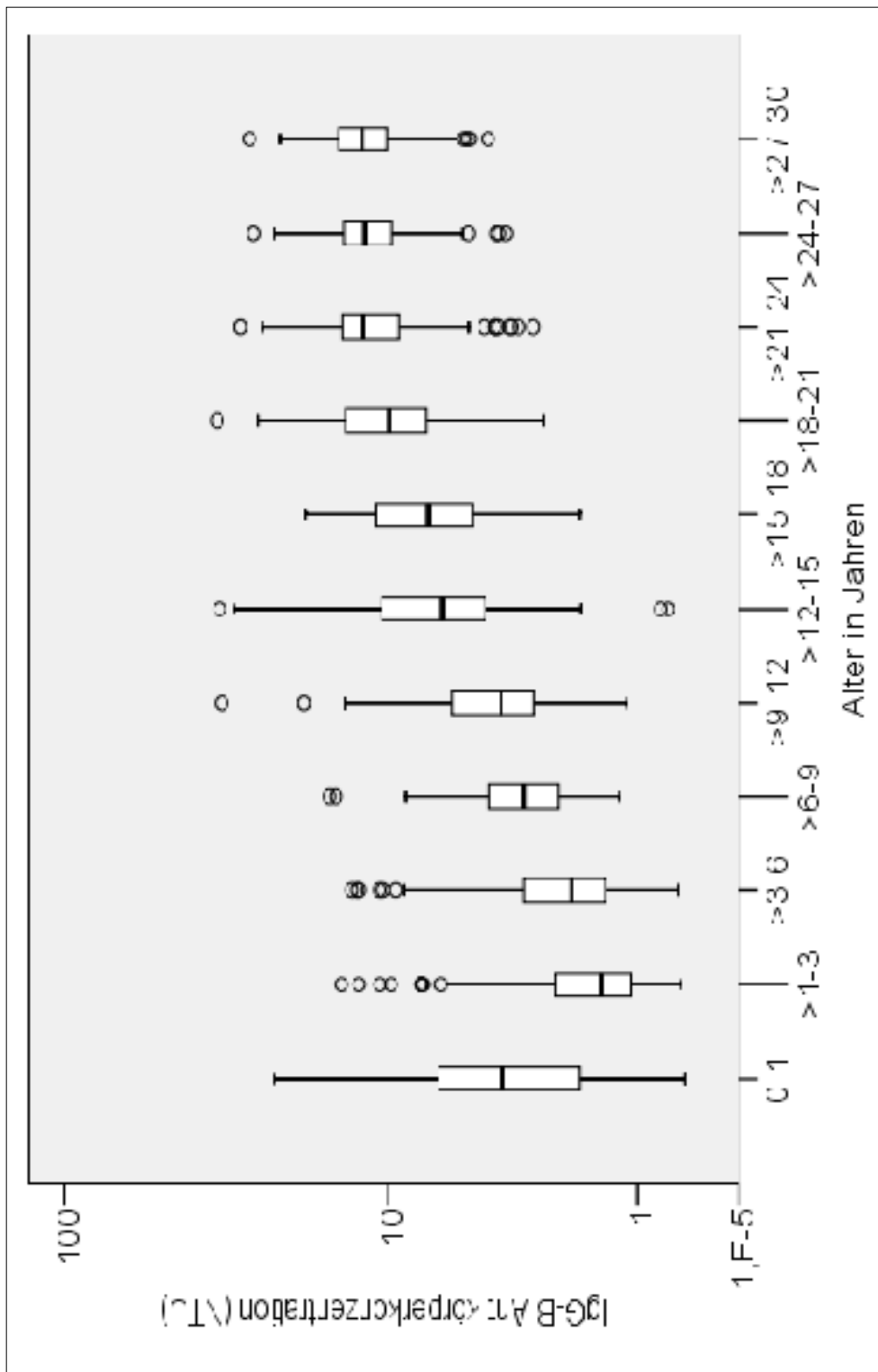


Abb. 46: Altersspezifische Verteilung der IgG-Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus B (IgG-B) der Erwachsenenengruppe mit Boxplotdarstellung (Median, 25. und 75. Perzentile, Minimum, Maximum, (o) >1,5facher Interquartilabstand ober-/unterhalb der Box, (*) >3facher Interquartilabstand ober-/unterhalb der Box)

- Geschlechtsspezifische Analyse der Studiengruppe

Die Ergebnisse der IgG-Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus B im männlichen Anteil der Studienpopulation werden in der Tab. 42 (S. 77) erfasst. In der Altersstufe der Kinder vom Zeitpunkt der Geburt bis zum vollendeten 1. Lebensjahr wurde eine mittlere Antikörperkonzentration von 5,83 NTU (SD 5,15 NTU) ermittelt. Die folgende Altersstufe (>1-3 Jahre) wies einen Wert von 2,60 NTU (SD 2,70 NTU) auf. In der Altersstufe der >3- bis 6-jährigen Kinder betrug die mittlere Antikörperkonzentration 2,90 NTU (SD 2,57 NTU). Zwischen dem >6. und 9. Lebensjahr wurde ein Wert von 3,68 NTU (SD 2,02 NTU) und in der folgenden Altersstufe von 5,39 NTU (SD 4,3 NTU) (>9-12 Jahre) bestimmt. 8,22 NTU (SD 6,56 NTU) betrug der Mittelwert in der Gruppe der >12- bis 15-jährigen Kinder und 7,52 NTU (SD 3,86 NTU) in der Stufe der >15- bis 18-jährigen Jugendlichen. In der männlichen Population lag die mittlere Gesamtkonzentration Influenzavirus-spezifischer IgG-Antikörper bei 5,08 NTU (SD 4,66 NTU).

Tabelle 42, S. 77, zeigt ebenfalls die Ergebnisse der Bestimmung der IgG-Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus B im weiblichen Anteil der Studiengruppe. In der Altersstufe der Säuglinge vom Zeitpunkt der Geburt bis zum vollendeten 1. Lebensjahr wurde ein Mittelwert 4,90 NTU (SD 3,87 NTU) erhoben. Bei den weiblichen Probanden im Alter zwischen dem >1. und dem 3. Lebensjahr betrug der Mittelwert 2,10 NTU (SD 1,57 NTU). Die Kinder zwischen dem >3. und 6. Lebensjahr wiesen eine mittlere Antikörperkonzentration von 3,02 NTU (SD 2,21 NTU) und die Gruppe der >6- bis 9-jährigen Mädchen einen Wert von 3,88 NTU (SD 2,06 NTU) auf. In der Altersgruppe der >9- bis 12-Jährigen wurde eine mittlere IgG-Antikörperkonzentration von 4,73 NTU (SD 2,72 NTU) und in der Population der >12- bis 15-jährigen Kinder von 8,62 NTU (SD 4,40 NTU) ermittelt. In der Gruppe der Jugendlichen zwischen dem 15. und 18. Lebensjahr lag die mittlere Antikörperkonzentration bei 8,62 NTU (SD 4,08 NTU). Der Mittelwert der IgG-Konzentrationen gegen Influenzavirus B in der Gesamtgruppe der weiblichen Säuglinge, Mädchen und jungen Frauen betrug 5,26 NTU (SD 4,0 NTU). Nach statistischer Auswertung der Befunde der Kinder und Jugendlichen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in den IgG-Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus B bezüglich des Geschlechtes ($p=0.101$).

5.6.2. Kontrollgruppe der Erwachsenen

Die Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus B der gesamten Kontrollgruppe sowie deren geschlechtliche Differenzierung werden in Tab. 43 (S. 80) zusammengefasst. Es wurden in den Altersstufen vom >18. bis zum 30. Lebensjahr mittlere Antikörperkonzentrationen zwischen 10,74 NTU (SD 4,88 NTU) und 12,29 NTU (SD 3,49 NTU) erhoben. 11,72 NTU (SD 4,04 NTU) betrug der Wert der durchschnittlichen Antikörperkonzentration gegen Influenzavirus B in der Erwachsenenpopulation. Die altersspezifische Verteilung der IgG-

Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus B der Erwachsenenengruppe wird in Abb. 46 (S. 78) unter Zuhilfenahme der Boxplots mit Darstellung der Medians, der 25. und 75. Perzentile, des Minimums, des Maximums sowie des >1,5- und >3fachen Interquartilabstandes grafisch zusammengefasst. Statistisch signifikante Unterschiede der Antikörperkonzentrationen zwischen den einzelnen Altersgruppen der Erwachsenen liegen nicht vor ($p=0.194$).

Tab. 43: IgG-Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus B in Nova-Tec-Einheiten (NTU) in der gesamten, männlichen und weiblichen Population der Kontrollgruppe

Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus B								
Altersgruppen in Jahren	Probandenanzahl		Mittelwert	Standardabweichung	Mittelwert	Standardabweichung	Mittelwert	Standardabweichung
	männliche Population	weibliche Population	Gesamt NTU	Gesamt NTU	männliche Population NTU	männliche Population NTU	weibliche Population NTU	weibliche Population NTU
>18-21	66	135	10,74	4,88	11,55	5,53	10,34	4,50
>21-24	89	110	11,83	3,99	12,62	4,52	11,19	3,40
>24-27	99	101	11,99	3,52	12,51	3,65	11,48	3,32
>27-30	103	106	12,29	3,49	12,87	3,36	11,71	3,54
Gesamt	357	452	11,72	4,04	12,47	4,21	11,12	3,80

- Geschlechtsspezifische Analyse der Kontrollgruppe

Die Ergebnisse der IgG-Antikörperbestimmung gegen Influenzavirus B in der männlichen Population der Blutspender werden in der Tab. 43 zusammengefasst. Es ließen sich mittlere IgG-Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus B zwischen 11,55 NTU (SD 5,53 NTU) (>18-21 Jahre) und 12,87 NTU (SD 3,36 NTU) (>27-30 Jahre) nachweisen. Die mittlere Gesamtkonzentration der Antikörper gegen Influenzavirus B betrug 12,47 NTU (SD 4,21 NTU) bei den männlichen Probanden der Kontrollgruppe. Die im weiblichen Populationsanteil erhobenen IgG-Konzentrationen gegen Influenzavirus B werden ebenfalls in der Tab. 43 aufgeführt. Die mittleren Antikörperkonzentrationen lagen zwischen 10,34 NTU (SD 4,50 NTU) (>18-21 Jahre) und 11,71 NTU (SD 3,54 NTU) (>27-30 Jahre). Es wurde eine mittlere IgG-Antikörperkonzentration von 11,12 NTU (SD 3,8 NTU) in der Gruppe der untersuchten Blutspenderinnen gesichert. Zwischen den Gruppen der erwachsenen männlichen und weiblichen Kontrollprobanden bestanden keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich der IgG-Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus B ($p=0.536$). In allen Altersstufen der Studiengruppe von Kindern und Jugendlichen waren signifikant geringere Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus B im Vergleich zur Kontrollgruppe der Erwachsenen nachweisbar ($p<0.001$).

Diskussion

Serologische Daten liefern wichtige Informationen zur Krankheitslast und Immunität einer Infektion in der Bevölkerung. In der vorliegenden Arbeit werden epidemiologische Informationen zur Antikörperprävalenz gegen Influenzavirus A und B in den Bevölkerungsgruppen der Kinder, Jugendlichen und jungen Erwachsenen aus dem Thüringer Einzugsgebiet von Erfurt erhoben (Sauerbrei et al. 2009). Diese sind insofern von Bedeutung, da aus den zurückliegenden Jahren keine aktuellen Daten vorliegen.

Als Grundlage dieser Arbeit diente der Nachweis von virusspezifischen Immunglobulinen der Klasse G gegen Influenzavirus A und B mittels ELISA-Technik, dessen Einsatz bereits 1976 durch Leinikki und Pässilä (1976) als sensitives Verfahren zum Influenzavirus A-Antikörpernachweis beschrieben wurde. Mehrere Studien bescheinigten dem ELISA-Testverfahren eine höhere Sensitivität bei der Bestimmung Influenzavirus-spezifischer IgG-Antikörper im Serum im Vergleich zu den bis dahin etablierten Verfahren des Hämagglutinationshemmtests (HHT)- oder der Komplementbindungsreaktion (KBR) (Bishai und Galli 1978, Julkunen et al. 1984). In dem in dieser Studie angewandten ELISA-Testverfahren wurden IgG-Antikörper im Probenmaterial gegen Influenzavirus A- und B-spezifische Matrix- (M-Protein) und Nukleoproteine (NP) detektiert, die festphasenfixiert vorlagen. M-Proteine und NP gelten genetisch als hoch konserviert und unterliegen im Vergleich zu Hämagglutinin (H) und Neuraminidase (N) nur wenigen genetischen Veränderungen (Londo et al. 1983, Watanabe et al. 2003, Heiny et al. 2007, Tompkins et al. 2007). In der vorliegenden Studie, die auf dem Testprinzip der indirekten ELISA-Technik beruht, wurde der qualitative und semiquantitative Nachweis von IgG-Antikörpern gegen Influenzavirus A und B in humanem Serum mit dem Influenzavirus A IgG-ELISA und Influenzavirus B IgG-ELISA der Firma Nova-Tec-Immundiagnostica GmbH durchgeführt. Bereits 1983 wurde von Joassin et al. die Anti-M-Protein-Antikörper-Reaktion zum serologischen Nachweis von Influenza A und B-Infektionen beschrieben. Bei dem untersuchten Probenmaterial zeigte sich das gleichzeitige Vorliegen der Antikörper gegen M-Protein und NP im Serum. Influenzavirus A wies eine höhere Menge an Antikörpern gegenüber dem M-Protein im Vergleich zu NP auf, während Influenzavirus B höhere Antikörperkonzentrationen gegen NP als gegen das M-Protein zeigte. Durch die Verwendung von M-Protein und NP als Antigen ist prinzipiell eine universelle Bestimmung von Antikörpern gegen alle Influenzavirus A-Viren unabhängig vom Subtyp möglich. Aus diesem Grunde ist eine jährliche Anpassung des viralen Antigens im Gegensatz zum HHT-Test nicht erforderlich (Voeten et al. 1998). Da die saisonale Influenza-Schutzimpfung in Deutschland derzeit nur mit Split-Vakzinen erfolgt, zeigen die eingesetzten ELISAs keine Interferenz mit Impfantikörpern gegen H und N. Von Nachteil war, dass für die serologischen Untersuchungen keine

Standardseren mit definierten Antikörperkonzentrationen zur Verfügung standen. Aus diesem Grunde konnte bei der quantitativen Auswertung der Befunde nur mit arbitrativen Einheiten in Form von NovaTec-Einheiten (NTU) gearbeitet werden.

In der Studiengruppe wurden Kinder und Jugendliche bis zum 18. Lebensjahr untersucht. Bei etwa drei Viertel handelte es sich um gesunde Untersuchungsteilnehmer, und ein Viertel wiesen Adipositas und Wachstumsstörungen auf. Diese Erkrankungen stellen keine Einschränkungen dar, da nach derzeitigem Kenntnisstand mit hoher Wahrscheinlichkeit keine Assoziation zwischen Adipositas und einer Immundysfunktion gegenüber viralen Infektionen besteht. Im allgemeinen ließ sich zwar feststellen, dass bei übergewichtigen Personen ein leicht erhöhtes Niveau an zirkulierenden Interferon-alpha und Interleukin (IL-6) besteht, was dem Zustand einer chronischen Entzündung entspricht (Coppack 2001, Weisberg et al. 2003, Berg und Scherer 2005, Bastard et al. 2006). Zudem zeigte sich im Tierversuch bei adipösen Versuchstieren eine veränderte Sekretion von Interleukin (IL-4) und Interferon-gamma (Mito et al. 2000). Darüber hinaus weisen Daten von Smith et al. (2007) darauf hin, dass Fettleibigkeit zu einer erhöhten Morbidität und Mortalität von Virusinfektionen führen kann. Es gibt jedoch keine Belege dafür, dass die virusspezifische Antikörper-Antwort signifikant durch die Grunderkrankung verändert wird. Infektionen wie die HIV-Infektion (Arpadi 2000, Shikuma et al. 2004) oder seltene angeborene Virusinfekte (Lansdown 1977, Khoury et al. 1988) können mit Fettstoffwechsel- oder Wachstumsstörungen einhergehen. Das Vorliegen dieser Erkrankungen wurde jedoch bei der Untersuchungspopulation durch laboranalytische und anamnestische Daten ausgeschlossen.

In die Untersuchung wurden 1.111 Serumproben von Kindern und Jugendlichen aus dem Stadtgebiet und der Umgebung von Erfurt einbezogen. 52,3% der Analysate stammten von Jungen und 47,7% der Proben von Mädchen. Zum Vergleich wurden 809 gesunde Blutspender als Kontrollgruppe herangezogen. Diese Population umfasste 44,1% Männer und 55,9% Frauen im Alter zwischen 18 und 30 Jahren. 88,5% der Untersuchungsmaterialien der Studiengruppe und 100% der Proben der Kontrollgruppe wurden in den Jahren 1999 und 2000 gewonnen. 11,5% der Seren der Studiengruppe wurden zwischen 2001 und 2006 entnommen, wobei die überwiegende Anzahl der Analysate das Probandenalter vom Zeitpunkt der Geburt bis zum 1. Lebensjahr umfasste (36,9%). 28% der Proben der Kleinkinder vom 1. bis 3. Lebensjahr und 6,5% der Seren der 3- bis 6-jährigen Kinder stammten aus dem Zeitraum 2001 bis 2006. Alle in die Studie einbezogenen Proben wurden mit dem Influenza A IgG-ELISA- und Influenza B IgG-ELISA-Test der Firma Nova Tec-Immundiagnostica GmbH getestet.

Im Ergebnis dieser Arbeit ließ sich eine Prävalenz von IgG-Antikörpern gegen Influenzavirus A in der Gruppe der Kinder und Jugendlichen in Höhe von 82,0% nachweisen. Es bestand ein

signifikanter Anstieg der ermittelten Prävalenzen mit dem Alter der Untersuchten. Ein Einfluss des Geschlechtes auf die Prävalenzen wurde dagegen ausgeschlossen. In der Erwachsenenpopulation wurde eine signifikant höhere Antikörperprävalenz von 99,4% im Vergleich zur Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen ermittelt. Die hohe Antikörperprävalenz gegenüber Influenza A-Virus steht im Einklang mit der epidemiologischen Situation in Deutschland vor bzw. zum Zeitpunkt der Gewinnung der Serumproben zwischen 1999 und 2006. In diesem Zeitraum wurde durch das Surveillancesystem der AGI eine durchschnittliche bzw. gewöhnliche Influenzaaktivität mit verschiedenen Influenzavirus A Subtypen erfasst (AGI 2007/08). In der Saison 1998/99 lag der Anteil des Influenzavirus A/H3N2 bei 67%. Während dieser Zeit betrug der Anteil der Influenza B-Virus-Analysate 33%. Im Winterhalbjahr 1999/2000 fielen 98,8% aller Influenzavirusnachweise auf den Subtyp A/H3N2 und 1% aller Bestimmungen auf den Subtyp A/H1N1. Dagegen wurden nur bei 0,2% der untersuchten Materialien Influenza B-Viren isoliert. Der Subtyp A/H1N1 war in der Saison 2000/2001 zu 95,2% in den Abstrichen nachgewiesen worden. Lediglich 0,3% zeigten den Subtyp A/H3N2 und 4,5% Influenzavirus B auf. Die Seren der an dieser Studie beteiligten Kinder und Jugendlichen stammten zu 88,5% aus den Jahren 1999/2000, wobei der überwiegende Anteil der Kinder älter als 3 Jahre war. Der Rest von 11,5% der Proben ist den folgenden Jahren bis 2006 zu zuordnen. Alle untersuchten Personen in der Gruppe der Blutspender im Alter zwischen 18 und 30 Jahren wurden im Zeitraum 1999/2000 gewonnen. In der Saison 2001/02 waren 46,6% der Materialien des Surveillancesystems positiv auf H3N2, 0,1% auf H1N1 und 0,3% auf Rekombinanten vom Subtyp H1N2. Ein besonderes Kennzeichen dieser Saison war der relativ hohe Anteil an Influenzavirus B-Nachweisen von 53%, wobei 42,4% Viren der Yamagata- und erstmalig 10,6% der Victoria-Linie zugehörig waren. Der Prozentsatz des Influenzasubtyps H3N2 nahm im Jahr 2002/03 auf 86,1% weiter zu und betrug im Jahr 2003/04 99%. In der Saison 2002/03 wurden bei 13,9% der untersuchten Proben Influenzavirus B der Victoria-Linie erhoben. Eine Saison später wurde nur in 1% der Fälle Influenzavirus B der Yamagata-Linie gesichert. In den Jahren 2004/05 lag der Anteil der H3N2-Nachweise bei 54% und der H1N1-Nachweis bei 26%. Der Prozentsatz der Influenza B-Viren der Yamagata-Linie betrug 5,4%, der der Victoria-Linie 14,6%. In der folgenden Saison wurden 20% der Abstriche positiv auf A/H3N2 und 10% auf H1N1 nachgewiesen. Ein Überwiegen der Influenza B-Viren war in dieser Saison 2005/06 zu verzeichnen. 66,5% der Proben wiesen Influenzaviren der Yamagata- und 3,5% der Victoria-Linie auf. Letztlich betrug in der Saison 2006/07 der Anteil an H3N2-Nachweisen 84,9% und an H1N1-Befunden 13,6%. Lediglich 0,8% der Untersuchungsmaterialien waren positiv auf Influenzavirus B der Yamagata- und 0,7% der Victoria-Linie (Biere und Schweiger 2008). Zusammenfassend belegen diese Daten ein deutliches Überwiegen der Influenza A- im Vergleich zur Influenza B-Virus-Aktivität im Untersuchungszeitraum.

Vergleicht man die eigenen Ergebnisse mit Daten aus der Literatur, so lässt sich feststellen, dass ähnlich hohe Prävalenzen Influenzavirus A-spezifischer Antikörper auch in Ländern anderer Kontinente nachgewiesen wurden. Die Pilotstudie von Michael und Sridharan (2002) erhob eine Prävalenz an IgG-Antikörpern gegen Influenzavirus A von 99,5% in der erwachsenen Population von Vellore, Südindien (Michael und Sridharan 2002).

In der vorgelegten Studie betrug bei Neugeborenen zum Zeitpunkt der Geburt die Prävalenz positiver IgG-Ergebnisse gegen Influenzavirus A 83,9%. Diese Befunde sprechen dafür, dass ein Großteil der Neugeborenen über die Plazenta mütterliche Antikörper erworben hatte. Dieser Transfer wird durch aktive Mechanismen des Fc- γ -Rezeptor an der Oberfläche des Synthiotrophoblasten der Plazenta unterstützt (Saji et al. 1999, Ben-Hur et al. 2005, Takizawa et al. 2005). Im 2. Lebensmonat der Säuglinge wurden niedrigere Prävalenzwerte der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A gesichert (76,2%). Während des 5. bis 7. Lebensmonats wurde eine Prävalenz von 33,3% registriert. Dies spricht dafür, dass der Abbau der mütterlichen Leihantikörper höchstwahrscheinlich bis zum 7. Lebensmonat erfolgte (Billington 1992, Irving et al. 2000, Gall 2005), wobei zu diesem Zeitpunkt vermutlich auch schon selbstproduzierte Antikörper der Kinder in Antwort auf natürliche Influenza A-Virus-Infektionen erfasst wurden (Adinolfi und Lessof 1972). Da die Anzahl der Kinder im ersten Lebensjahr mit 8-39 pro Lebensmonat starken Schwankungen unterworfen war, kann von diesen Ergebnissen jedoch keine genaue Aussage abgeleitet werden. Von anderen Virusinfektionen wie beispielsweise den Varizellen und Masern ist jedoch bekannt, dass die virusspezifischen mütterlichen Leihantikörper gewöhnlich bis zum 7. Lebensmonat persistieren (Sauerbrei und Wutzler 2000, Heininger et al. 2006, Gagneur et al. 2008).

Die mütterlichen Leihantikörper scheinen während der ersten sechs Lebensmonate zumindest teilweise einen Schutz vor der Influenza darzustellen. In einer Familienstudie wurden Säuglinge vom Zeitpunkt der Geburt bis zum 1. Lebensjahr auf das Auftreten einer Influenza hin überwacht (Glezen et al. 1997). Die überwiegende Anzahl an Infektionen und fieberhaften Erkrankungen wurden in der zweiten Hälfte des ersten Lebensjahres beobachtet. Da eine Immunisierung des Säuglings mit TIV-Impfstoff wegen der Unreife des kindlichen Immunsystems erst ab dem 6. Lebensmonat möglich ist, kommt den mütterlichen Leihantikörpern für den Schutz des Neugeborenen in den ersten 6 Lebensmonaten eine große Bedeutung zu. In den eigenen Untersuchungen wurden während des zweiten Lebenshalbjahres IgG-Antikörperprävalenzen gegen Influenzavirus A zwischen 22,2% im 10. Lebensmonat und 50,0% im 9. Lebensmonat erhoben. Der Durchschnittswert für die zweite Hälfte des ersten Lebensjahres betrug 39,5%. Zu einem ähnlichen Ergebnis gelangte eine französische epidemiologische Studie aus dem Jahr 2002. Die ermittelte Seroprävalenz der Influenzavirus A-spezifischen Antikörper betrug bei Säuglingen vom 6. bis 12.

Lebensmonat ebenfalls 39% (Ploin et al. 2007). Dagegen wurden in der Studie von Irving et al. (2000) bei Säuglingen in diesem Alter keine Antikörper gegen Influenzaviren nachgewiesen. Ein besonderes Kennzeichen der Kinder zwischen dem 6. und 12. Lebensmonat besteht in der hohen Anfälligkeit gegenüber einer Influenza und deren Komplikationen. Nach Neuzil et al. (2000) wurde die höchste Anzahl influenzabedingter ärztlichen Vorstellungen in dieser Altersgruppe mit 23% erhoben. Die Hospitalisierungsraten lagen im ersten Lebensjahr zwischen 50 und 160 pro 10.000 Kinder. In typischen Influenzasaisonen waren 14% mehr Antibiotikaverschreibungen nötig als in vergleichbaren Zeiträumen ohne Influenzanachweis (Couch et al. 1986, Neuzil et al. 2000). Innerhalb des ersten Lebensjahres liegt bei den Säuglingen das gleiche Hospitalisierungsrisiko vor wie bei älteren Erwachsenen und Personen mit Risikofaktoren, denen eine jährliche Influenzaschutzimpfung empfohlen wird (Neuzil et al. 2000).

In der Stufe der 1- bis 3-Jährigen lag die Rate positiver Influenza-Antikörperrnachweise bei 53,3%. Dies bedeutet, dass fast die Hälfte aller Kleinkinder dieser Altersgruppe, die in der Regel zu einem hohen Prozentsatz öffentliche Einrichtungen zur Kinderbetreuung besuchen, keine serologischen Zeichen eines zurückliegenden Kontaktes mit dem Influenzavirus A aufwiesen. Diese Kinder ohne serologisch nachweisbaren Kontakt mit Influenzavirus A müssen als hochgradig empfänglich für diese Infektion eingestuft werden. Vermutlich sind diese Kinder nicht in der Lage, über die Immunantwort eine Influenza abzumildern. Sie haben deshalb ein erhöhtes Risiko, an einer besonders schweren Infektion zu erkranken (Reuman et al. 1987, Munoz 2003). Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen die von Ploin et al. (2007) erhobenen Daten. In dieser Studie waren insgesamt 575 Kinder bis zu einem Alter von 36 Monaten einbezogen worden. Die Altersstufe zwischen dem 1. bis 3. Lebensjahr wies eine ähnlich hohe Seroprävalenz von durchschnittlich 57% während der Influenzasaison 2002 auf. Ein weiteres Kennzeichen der Altersgruppe der 1- bis 3-Jährigen ist eine hohe Infektionsrate mit Influenzavirus A von ca. 30% (Wright et al. 1977). Damit ist nahezu ein Drittel der zuvor seronegativen Kinder, die bis zu diesem Zeitpunkt keinen Kontakt mit dem Influenzavirus aufwiesen, von einer akuten Infektion betroffen. Die Folge sind hohe Influenza-bedingte Hospitalisierungsraten. Die Quoten liegen zwischen 10 und 45 pro 10.000 Kinder im Alter von 1- 4 Jahren und sind somit geringer als die im ersten Lebensjahr (Couch et al. 1986, Mullooly und Barker 1982, Fischer et al. 1997, Neuzil et al. 2000). Trotzdem ist die Altersgruppe der 2- bis 5-jährigen Kinder durch eine erhöhte Morbidität mit Influenza-Erkrankungen, eine erhöhte Frequenz ambulanter ärztlicher Besuche und den verstärkten Einsatz von Antibiotika gekennzeichnet (Neuzil et al. 2000, Poehling et al. 2006). Der vergleichbare Anteil der Influenza-assoziierten Krankenhausaufenthalte lag in Deutschland vom Zeitpunkt der Geburt bis zum 5. Lebensjahr bei ca. 120/100.000 Kindern. Nachweislich besitzen Frühgeborene und Kinder mit chronischen Herz- oder Lungenerkrankungen ein erhöhtes Hospitalisierungsrisiko (Forster 2003).

Die Altersstufe der 3- bis 6-jährigen Kinder wies einen signifikanten Anstieg der Antikörperprävalenzen gegen Influenzavirus A im Vergleich zur Gruppe der 1- bis 3-jährigen Kleinkinder bis auf 74,8% auf. Ein Viertel der in dieser Studie untersuchten Kinder, die höchstwahrscheinlich in zunehmender Zahl und Dauer außerhalb der Familie in Kindertageseinrichtungen betreut wurden, zeigte somit keine serologischen Hinweise auf eine durchgemachte Infektion. Charakteristisch für diese Altersgruppe ist ebenfalls eine hohe Inzidenz symptomatischer Influenzaerkrankungen, die in unabhängigen Studien zwischen 36,7% und 37% angegeben wurde (Glezen et al. 1997, Adams et al. 1994). In Influenzasaisonen kann die influenzabedingte Morbidität über 30 bis 40% bei den Vorschulkindern betragen (Wright et al. 1977, Glezen und Couch 1978, Glezen et al. 1997), während Hospitalisierungsrate und Mortalität deutlich niedriger als bei den Säuglingen sind (CDC 2004, Bhat et al. 2005, D'Onise et al. 2008). Jedoch sind insbesondere Kinder mit chronischen Erkrankungen bezüglich schwer verlaufender Influenzainfektionen gefährdet (Neuzil et al. 2000, Louie et al. 2006).

Schulkinder im Alter zwischen dem 6. und 9. Lebensjahr wiesen in den vorliegenden Untersuchungen ebenfalls signifikant höhere Antikörperprävalenzen gegen Influenzavirus A im Vergleich zur Voraltersgruppe auf. Dabei bestanden wie bei allen Kindern unter dem 9. Lebensjahr signifikant niedrigere Prävalenzwerte im Vergleich zur Gruppe der Erwachsenen. Während in der Gruppe der 3- bis 6-jährigen Kindergartenkinder 74,8% der Untersuchten Antikörper-positiv waren, zeigten in der folgenden Altersgruppe 93,3% der Schulkinder Influenzavirus A-spezifische Antikörper. Im Umkehrschluss hatten lediglich 6,7% der Kinder noch keinen Kontakt zu dieser Infektionskrankheit. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit bisher veröffentlichten Daten. In der Studie von Schmidt-Ott et al. (2007) wiesen 78% der ungeimpften 6- bis 9-jährigen Kinder positive Antikörperbefunde gegen Influenzavirus A Subtyp H2N3 im HHT auf. Für diese Altersgruppe wurden in zurückliegenden Untersuchungen die höchsten altersspezifischen Infektionsraten beschrieben (Fox et al. 1982). Sie lagen zwischen 15% und nahezu 50% bei Vorschul- und Schulkindern (Glezen und Couch 1978, Neuzil et al. 2002), wobei die Influenza-Erkrankung bei diesen Kindern eine „bunte“ Symptomatik annehmen kann und vom inapparenten bis zum hochsymptomatischen Infekt reicht. Bei bis zu 18% der Kinder zwischen dem 5. und dem 9. Lebensjahr kommt es in jeder Saison zu akut fieberhaften Atemwegserkrankungen mit einem Influenzavirus-Nachweis (Glezen 1982). Diese Influenza-Infektionen führen in einem hohen Ausmaß zu Schulfehlzeiten, Arbeitsbefreiungen der Eltern und weiterer Familienangehöriger, die die Betreuung der Kinder übernehmen (Neuzil et al. 2002). In einer Familienstudie mit schulpflichtigen Kindern in Seattle (Washington) wurden bei Kindern im Alter zwischen 5 und 9 Jahren überwiegend Influenza-Infektionen des Subtyps A/H3N2 beobachtet. Bei Epidemien mit dem Influenzavirus A/H3N2 waren 38% bis 53% der in Studie einbezogenen Haushalte von der Influenza-Infektion

betroffen (Fox et al. 1982). Nachweislich nimmt die Infektionsrate mit dem Alter der Kinder zu, dagegen sinkt die Hospitalisierungsrate. In einer Untersuchung von Mullooly und Barker (1982) betrug die Anzahl der influenzabedingten Krankenhauseinweisungen zwischen 5 und 14 Jahren nur noch 2 pro 10.000 Kinder. Waren zwischen dem 1. und 4. Lebensjahr noch 26 bis 45 influenza-bedingte Hospitalisierungen pro 10.000 Kinder erforderlich, lag die Zahl der Krankenhauseinweisungen bei Vorschülern und Jugendlichen zwischen dem 5. und 19. Lebensjahr bei 3 bis 7 pro 10.000 Kinder (Couch et al. 1986, Fischer et al. 1997). Bei Kindern mit chronischen Grunderkrankungen besteht dagegen weiterhin eine hohe Zahl von Krankenhauseinweisungen und Ambulanzbesuchen (Neuzil et al. 2000, Glezen et al. 2000).

Nach dem 9. Lebensjahr lagen bei Kindern aus dem Thüringer Raum die Antikörper-Prävalenzen gegen Influenzavirus A in „postinfektiösen“ Bereichen (s. Tab. 21, S. 50). Serologisch wies nahezu jedes Kind einen zurückliegenden Kontakt mit Influenzavirus A auf. Im Zeitraum zwischen 1974 bis 1981 beschrieb Glezen (1982) bei Kindern und Jugendlichen zwischen dem 10. und 19. Lebensjahr zu 18,3% positive Influenzanachweise mit dem klinischen Bild eines fieberhaften pulmonalen Infektes. Dieser Wert war vergleichbar mit der Gruppe der 5- bis 9-jährigen Vorschüler und Schüler. Insbesondere Infektionen mit dem Influenzavirus A Subtyp A/H1N1 und Typ B zeigten die höchsten Infektionsraten unter den Jugendlichen. Dabei verursachte Influenzavirus A/H1N1 die bedeutendsten Epidemien im analysierten Zeitabschnitt. Ca. 31% der Bevölkerung waren infiziert und 72% der untersuchten Haushalte mit schulpflichtigen Kindern waren betroffen (Fox et al. 1982).

In der untersuchten Gruppe der Kinder und Jugendlichen betrug die mittlere IgG-Antikörperkonzentration gegen den Influenzavirus A 31,7 NTU. Bis zum 6. Lebensjahr wurden unabhängig vom Geschlecht zunächst niedrigere Antikörperkonzentrationen im Vergleich zur Kontrollgruppe der Erwachsenen ermittelt. Wesentlich für die Betrachtung der Antikörpersituation ist die zusätzliche Beachtung der Prävalenz in diesen Altersstufen. Sie lag in der Gruppe der Säuglinge bis zum 1. Lebensjahr bei 62,6%, 53,3% in der Gruppe der 1- bis 3-jährigen Kleinkindern und 74,8% bei den >3- bis 6-Jährigen. Während die niedrige Antikörperprävalenz für einen relativ hohen Anteil an empfänglichen Kindern spricht, sind die niedrigeren Antikörper-Konzentrationen Ausdruck einer relativ geringen Anzahl an Booster-Infektionen bei Kleinkindern bis zum 6. Lebensjahr. Nach dem 6. Lebensjahr wurden höhere IgG-Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus A nachgewiesen (s. Tab. 28, S. 57). Damit einher ging ein signifikanter Anstieg der Antikörper-Prävalenz von 74,8% bei den 3- bis 6-jährigen Kindergartenkindern und auf 100% bei den 15- bis 18-jährigen Jugendlichen (s. Tab. 21, S. 50). Im Vergleich zur Kontrollgruppe der Erwachsenen bestanden in der Teenagergruppe vom 12. bis 15. Lebensjahr signifikant höhere Antikörperkonzentrationen

gegenüber Influenzavirus A. Daraus kann geschlussfolgert werden, dass diese Altersgruppe von einer erhöhten Anzahl an Influenza A-Reinfektionen betroffen ist. Nach sozioökonomischen Gesichtspunkten liegt in dieser Altersgruppe während einer Influenzasaison eine erhebliche Mehrbelastung durch Schulfehlzeiten, zusätzliche ambulante Arztbesuche (Glezen et al. 1980, Long et al. 1997, Smits et al. 2002), erhöhte Antibiotikaverschreibungen, akute Exazerbationen von chronischen Grunderkrankungen (Kempe et al. 1989, Glezen et al. 2000) und die Infektionsübertragung auf die Erwachsenenpopulation (Frank et al. 1981, Hurwitz et al. 2000) vor.

Neben der Analyse der Prävalenzen und Konzentrationen der gegen Influenzavirus A gerichteten Antikörper wurde in dieser Arbeit auch die Verteilung der gegen Influenzavirus B gerichteten Immunglobuline bestimmt. Dabei sollten die Ergebnisse auch hinsichtlich von Gemeinsamkeiten und Unterschieden in den verschiedenen Altersgruppen eingestuft werden. In der Studiengruppe wurde eine Antikörperprävalenz gegen Influenzavirus B von 9,6 % nachgewiesen. Sie lag damit deutlich unter der ermittelten Prävalenz Influenzavirus A-spezifischer Antikörper von 82,0%. Weniger als ein Zehntel der Kinder und Jugendlichen bis zum 18. Lebensjahr wiesen serologische Hinweise auf einen zurückliegenden Kontakt mit Influenzavirus B auf. Dagegen zeigte die Mehrheit der Kinder und Heranwachsenden bis zum 18. Lebensjahr serologische Hinweise auf einen zurückliegenden Kontakt mit Influenzavirus A. In der Gruppe der jungen Erwachsenen vom 18. bis 30. Lebensjahr wurde die Prävalenz Influenzavirus B-spezifischer Antikörper mit 56,7% und Influenzavirus A-spezifischer Antikörper mit 98,9% ermittelt. Für die durchschnittliche Prävalenz der Influenzavirus B-spezifischen Antikörper in der erwachsenen Kontrollgruppe sind ursächlich Infektionen in den zurückliegenden Influenzasaisonen verantwortlich. Beispielsweise zeigten die Influenzasaisonen 1990/91, 1992/93, 1994/95 und 1996/97 ein deutliches Überwiegen der Influenza B-Viren. Im Zeitraum von 1989/90 bis 2000/01 wurden Influenza B-Viren der Yamagata-Linie nachgewiesen, seit 2001/02 werden auch Influenza B-Viren der Victoria-Linie, die zuvor isoliert auf der Südhalbkugel zirkulierten, bestimmt (Biere und Schweiger 2008). In dem Zeitraum, in dem die untersuchten Proben entnommen wurden, lagen unterschiedliche Influenzavirus B-Aktivitäten vor. Die erhobenen Erregernachweise des Influenzavirus B in der Bevölkerung differierten in den 8 Jahren der Probensammlung zwischen 1,5% und 70% und im Durchschnitt bei 24,5%. Die AGI konnte in der Saison 1998/99 zu 33% der nachgewiesenen Infekte des oberen Atemtraktes Influenzavirus B als Erreger sichern. In der Saison 1999/2000 liess sich dagegen lediglich ein Prozentsatz von 0,2% symptomatischer Influenzavirus B-bedingter Infekte durch das Surveillance-System nachweisen. In der folgenden Saison waren ca. 4,5% der Proben auf Influenzavirus B getestet worden. Während der Wintermonate 2001/02 lag ein Prozentsatz von 53% an positiven Nasenabstrichen vor, die durch das Sentilsystem erfasst wurden. Im Jahr 2002/03 lag der Anteil der Influenzavirus B- positiven Bestimmungen bei 13,9% aller Proben. Anschließend wurden in den

Jahren 2004/05 und 2005/06 deutschlandweit in 20% bzw. 70% der eingesendeten Proben Influenzavirus B nachgewiesen. In der Saison 2006/07 betrug der Prozentsatz der positiven Nachweise von Influenzavirus B lediglich 1,5% (AGI 2007/08). Diesen Daten stehen im Einklang mit der relativ niedrigen Antikörperprävalenzrate gegen Influenzavirus B, wenn man sie mit den Influenzavirus A-spezifischen Prävalenzen der einzelnen Altergruppen vergleicht.

In dieser Studie zeigten zum Geburtszeitpunkt 45,2% der Neugeborenen IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B. Der Prozentsatz ist deutlich niedriger als der der Influenzavirus A-spezifischen Antikörpern mit 83,9%. Damit ist der Anteil der maternal übertragenen Antikörper gegen Influenzavirus B wesentlich geringer als der Anteil, der gegen Influenzavirus A gerichtet ist. Ursache hierfür sind die geringeren Antikörper-Titer und Prävalenzen gegen Influenzavirus B bei Erwachsenen. In einer Studie von Wutzler et al. (2009), in der der transplazentare Transport Influenzavirus-spezifischer Antikörper untersucht wurde, wurden diese Befunde bestätigt. Während 92,3% der Mutter-Kind-Seren, die zum Zeitpunkt der Geburt entnommen worden waren, IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A enthielten, waren es nur 42,1% der Probenpaare für Influenzavirus B. In der eigenen Studie wurden im weiteren Verlauf des ersten Lebensjahres ebenfalls niedrige Prävalenzen Influenzavirus B-spezifischer Antikörper gemessen. Somit waren im 1. Lebensmonat lediglich 2,6% der Neugeborenen Antikörper-positiv, und zwischen dem 2. bis zum 5. Lebensmonat waren keine Antikörper nachweisbar. Im Gegensatz dazu wiesen 87,2% der Neugeborenen im 1. Lebensmonat und 76,2% bis 33,3% der Säuglinge vom 2. bis 5. Lebensmonat positive Ergebnisse gegen Influenzavirus A auf. Zwischen dem 6. und 12. Lebensmonat lag die Antikörperprävalenz gegen Influenzavirus B bei 12,5%, während die gegen Influenzavirus A 39,5% betrug. Betrachtet man das gesamte erste Lebensjahr, so lag die Antikörperprävalenz gegenüber Influenzavirus B bei 10,7% im Vergleich zu 62,6% gegen Influenzavirus A. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Prävalenzwerte für Influenzavirus A in den ersten Lebenswochen fast doppelt so hoch waren wie die für Influenzavirus B. Durchschnittlich wurde im ersten Lebensjahr eine sechsfach höhere Antikörperprävalenz gegen Influenzavirus A im Vergleich zum Influenzavirus B erhoben. In Übereinstimmung mit Influenzavirus A weisen die höheren Antikörperprävalenzwerte für Influenzavirus B im 2. Lebenshalbjahr auf das Einsetzen einer autochthonen Antikörperproduktion hin, nachdem es zum Abbau der mütterlichen Antikörper gekommen ist. Allerdings bewegt sich die Infektionsrate mit Influenzavirus B im Vergleich zu Influenzavirus A auf einem sehr niedrigen Niveau.

Bei den Probanden der Studiengruppe im Alter von >1 bis 12 Jahren wurden sehr geringe Antikörperprävalenzen gegen Influenzavirus B zwischen 1,3% und 3,3% (s. Tab. 35, S. 69) erhoben. 96,7% bis 98,7% der Kinder vom Säuglings- bis zum Teenageralter boten somit

serologisch keine Hinweise auf eine zurückliegende Infektion mit dem Influenzavirus B. Dagegen lag die Antikörperprävalenz gegenüber Influenzavirus A im gleichen Zeitraum zwischen 53,3% und 98,0% (s. Tab. 21, S. 50). In einer Studie von Frank et al. (1983), in der Familien mit Kindern in Houston, Texas, über zwei Influenzasaisonen beobachtet wurden, waren Infektionsraten von 24% und 20% aufgetreten. Die höchsten Infektionsraten von 35/100 Personenjahre wurden in der Gruppe der Schüler zwischen 6 und 19 Jahren erhoben. Ursache ist vermutlich eine erhöhte Aktivität der Influenza B-Viren in den beiden von Frank et al. (1983) beobachteten Influenzasaisonen. In der Zeit von 1970 bis 1979 ereigneten sich mehrere Influenza-B-Epidemien in den USA, die zu einer Krankheitshäufung bei Kinder und jungen Erwachsenen führten (CDC 1987).

Ein weiterer wesentlicher Gesichtspunkt beim Vergleich der eigenen Ergebnisse mit denen aus der Literatur ist die Abweichung der zentralen Untersuchungsziele der Studien. Ziel der vorgelegten Studie war der Nachweis vorhandener Immunglobuline, die gegen Influenza B-Viren gerichtet sind und nach erfolgtem Kontakt mit dem Virus gebildet werden. Die Antikörper könnten jedoch bei zu geringer immunologischer Reaktionen, inadäquater Antikörperbildung und unreifem Immunsystem im Säuglings- und Kleinkindesalter unterhalb der Nachweisgrenze bleiben und somit der Erfassung entgehen. In einer Studie von Schmidt-Ott et al. (2007) wurden zur Ermittlung der altersspezifischen Influenzavirus-Impfstoff-Dosierungen serologische Untersuchungen durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass erst ab dem 9. Lebensjahr eine ausreichende Antwort des Immunsystems auf eine einmalige Impfstoff-Applikation vorlag. Bis zum Alter von 9 Jahren erwies sich eine zweimalige Vakzination zum Aufbau eines ausreichenden Impfschutzes als erforderlich. Desweiteren wurden in dieser Studie Seroprävalenzraten gegen Influenzavirus B bei den 6- bis 9-Jährigen von 37,1% und bei den 10- bis 13-jährigen Teenagern von 66% nachgewiesen, die in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigt werden konnten. In einer weiteren Studie wurden die Einwohner von Tecumseh, Michigan, untersucht (Monto und Kioumehr 1975), wobei bei den 5- bis 14-Jährigen, insbesondere jedoch unter den 5- bis 9-jährigen Schülern die höchsten Infektionsraten für Influenzavirus B auftraten. Diese Befunde zeigen, dass die Ergebnisse stark von der Influenza B-Virus-Aktivität abhängig sind, die in den Jahren unmittelbar vor der Gewinnung der Probandenserien herrschte. Die in der Studie von Schmidt-Ott et al. (2007) beschriebene erhöhte Seroprävalenz gegen Influenzavirus B bei Schulkindern ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass die erfassten Kinder gehäuft Influenza-B-Virusinfektionen während der Saison 2001/2002 erworben hatten. Auch hier scheint die Virusaktivität in der Influenzasaison, die Auswahl und Anzahl der Studienteilnehmer möglicherweise einen Einfluss auf die erhobenen Daten auszuüben. Die Seren der an dieser Studie beteiligten Kinder und Jugendlichen stammten zu 88,5% aus den Jahren 1999/2000, wobei der überwiegende Anteil der Kinder älter als 3 Jahre war. Alle untersuchten Personen in der Gruppe der Blutspender im Alter zwischen 18 und 30 Jahren wurden ebenfalls im

Zeitraum 1999/2000 gewonnen. In diesem Jahr lag der Anteil des Influenzavirus B an den zirkulierenden Influenzaviren bei 0,2%, was die niedrige Antikörperprävalenz erklärt.

Im Teenageralter ab dem 12. Lebensjahr wurden Prävalenzwerte gegen Influenzavirus B von durchschnittlich 24,4% (s. Tab. 35, S. 69) ermittelt. Folglich wiesen drei Viertel aller Jugendlichen vom Teenager- bis zum Erwachsenenalter keine Antikörper auf, die einer zurückliegenden Infektion mit Influenzavirus B entsprachen. Die Prävalenzen der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus A betrug in diesen Altersgruppen dagegen durchschnittlich 99,7% (s. Tab. 21, S. 50). In der Studie von Fox et al. (1982) wurden Familien mit Kindern im schulpflichtigen Alter im Raum Seattle, Washington, während den Jahren 1975-1979 auf Influenzavirus-Infektionen untersucht. Je nach vorliegendem zirkulierenden Influenzavirus B wurden verschiedene jährliche Infektionsraten zwischen 22,9% bei den 5- bis 9-Jährigen in der Saison 1975/76 und 2,3% in der gleichen Altersgruppe in der Zeit 1976/77 verzeichnet. In der Saison 1975/76 lag die Infektionsquote an Influenzavirus B in der Gruppe der Teenager im Alter zwischen 10 und 19 Jahren bei 33,9%, dagegen waren nur 1,0% der gleichaltrigen Jugendlichen in der Saison 1976/77 betroffen. Während einer Influenzavirus B-Saison scheinen in der Gruppe der Jugendlichen höhere Infektionsraten vorzuliegen.

Zusammenfassend weisen die eigenen Ergebnisse jedoch darauf hin, dass nur eine relativ geringe Anzahl von Kindern und Jugendlichen aus dem Thüringer Einzugsgebiet Influenza-B-Virusinfektionen durchgemacht hat und der überwiegende Teil ohne immunologischen Schutz ist. In der Kontrollgruppe betrug die Gesamtprävalenz positiver IgG-Antikörper gegen Influenzavirus B 56,7%. Mit dem Alter der Probanden konnte ein signifikanter Anstieg der Prävalenzen erhoben werden. Lag die Prävalenz der IgG-Antikörper gegen Influenzavirus bei den >18- bis 21-Jährigen noch bei 38,8%, waren es bereits 58,8% bei den >21- bis 24-Jährigen, 62% bei den > 24- bis 27-Jährigen und schließlich 67% bei den >27- bis 30-jährigen Studienteilnehmern (s. Tab. 39, S.73). Diese Befunde zeigen, dass es vermutlich erst im Laufe des Erwachsenenalters zu einer hohen Durchseuchung mit Influenza B-Virus kommt. Im Vergleich dazu betrug die durchschnittliche Prävalenz gegenüber Influenzavirus A in der Gruppe der Erwachsenen 99,4% (s. Tab. 25, S. 54). Statistisch wurde ein signifikanter Unterschied der Antikörperprävalenzen gegen Influenzavirus B zwischen Männern und Frauen erhoben. Altersjustiert traten bei Frauen signifikant niedrigere Werte als bei Männern auf. Da Frauen häufiger als Männer in die Kinderbetreuung eingebunden sind, könnte die signifikant niedrigere Antikörperprävalenz gegen Influenza B-Virus bei Frauen Folge der geringen Infektionsrate bei Kindern sein. Die prinzipiell niedrigere Antikörper-Prävalenz gegen Influenzavirus B im Vergleich zu Influenzavirus A in der Gesamtbevölkerung könnte z.T. auch durch eine geringere Rate an Re- bzw. Boosterinfektionen mit Influenzavirus B bedingt sein. Infolge einer durchgemachten Influenzavirus B-Infektion besteht nach 4-5 Jahren nur noch zu 50%

ein Schutz vor der Infektion, und nach 7 Jahren liegt keine Immunität mehr vor (Frank et al. 1987). Die mittlere Antikörperkonzentration gegen Influenzavirus B betrug in der Studiengruppe 5,2 NTU. Im Vergleich dazu lag die IgG-Konzentration gegen Influenzavirus A in der Population der Kinder und Jugendlichen bei 31,7 NTU. Zwischen dem Säuglingsalter und dem 1. Lebensjahr wurde eine mittlere IgG-Konzentration gegen Influenzavirus B von 5,44 NTU und gegen Influenzavirus A von 19,13 NTU ermittelt. In den folgenden Altersgruppen der Kinder bis zum 9. Lebensjahr wurden geringe Antikörper-Konzentrationen gegen Influenzavirus B zwischen 2,4 und 3,8 NTU gesichert (s. Tab. 42, S. 77) während die Konzentrationen der Influenzavirus A-spezifischen Antikörper zwischen 17,1 und 38,3 NTU betrug (s. Tab. 28, S. 57). Erst ab dem > 9. bis 12. Lebensjahr wurden höhere Antikörper-Konzentrationen gegen Influenzavirus B erhoben. Zwischen dem 12. und 18. Lebensjahr betrug die Konzentration der IgG-Antikörper 8,2 NTU bis 8,4 NTU (s. Tab. 42, S.77). Diese Befunde belegen, dass es mit zunehmendem Alter zum Anstieg der Antikörperkonzentration gegen Influenzavirus B kommt. Dieser Trend setzte sich bis zum Erwachsenenalter von > 21-24 Jahren fort. Insgesamt wies damit die Studiengruppe der Kinder und Jugendlichen im Vergleich zur erwachsenen Kontrollpopulation signifikant niedrigere IgG-Konzentrationen gegen Influenzavirus B auf (s. Tab. 42, S. 77, s. Tab. 43, S. 80). Dieser Anstieg der Antikörperkonzentrationen mit zunehmendem Lebensalter kann als Folge sich wiederholender Reinfektionen mit dem Influenza B-Virus interpretiert werden. Auf Grund der deutlichen Unterschiede in den Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus A und B kann angenommen werden, dass ein Kontakt mit Influenza A-Viren bereits in frühesten Kindheit erfolgt und durch ständige Booster-Reaktionen zur Persistenz hoher Antikörperkonzentrationen kommt. Zwischen dem 3. und 30. Lebensjahr lassen sich lediglich geringe Unterschiede in den Antikörperkonzentrationen nachweisen. Dagegen deuten die niedrigen Antikörperkonzentrationen gegen Influenzavirus B auf ein verzögertes Einsetzen der Influenza B-Infektionen im Kindes- und Jugendalter hin. Darüber hinaus scheinen Influenza B-Infektionen wesentlich seltener zu sein.

Die in dieser Arbeit erhobenen Antikörpertiter widerspiegeln den Durchseuchungsgrad mit Influenza A- und B-Virus bei Kindern, Jugendlichen und jungen Erwachsenen im Thüringer Raum unabhängig vom Durchimpfungsgrad dieser Altersgruppen. Zusammenfassend lässt sich dabei feststellen, dass mehr als ein Drittel der Kinder im Thüringer Raum bis zum 6. Lebensjahr keine serologischen Hinweise auf einen zurückliegenden Kontakt mit Influenzavirus A hat. Nahezu alle Kinder bis zum 12. Lebensjahr und mehr als drei Viertel der >12- bis 18-jährigen Jugendlichen zeigen keine serologischen Veränderungen, die auf eine zurückliegende Infektion mit Influenza B-Viren hindeuten. Derzeit besteht in Deutschland keine Influenza-Impfempfehlung für die Altersgruppen der gesunden Kinder, Jugendlichen, Heranwachsenden und Erwachsenen unter dem 60.

Lebensjahr (RKI 7/2008). Schwangeren Frauen, deren voraussichtlicher Entbindungstermin in eine Influenzasaison fällt, wird eine Influenzaschutz-Impfung angeraten. Eine offizielle Empfehlung liegt jedoch derzeit nicht vor. Obwohl die vorliegenden Prävalenzbestimmungen der Antikörper gegen Influenzaviren keine Schlussfolgerungen auf einen Schutz vor der Erkrankung zulassen, weist ein Fehlen der Antikörper auf die Empfänglichkeit für Influenzavirus-Erkrankungen hin. Unterstützt werden die vorliegenden Befunde durch Untersuchungen, die hohe Infektionsraten mit Influenzaviren bei Kindern im vorschul- und schulpflichtigen Alter belegen (Glezen et al. 1980, Szucs 1999, Nichol et al. 2003, Block 2004, Esposito et al. 2006). Die Impfung schützt nachweislich vor einer Influenzainfektion und deren Komplikationen. Sie stellt die wirksamste und kostengünstigste Maßnahme für die Prophylaxe der Influenza dar (Fiore et al. 2009, Esposito und Principi 2009). Zur Vakzination gegen die saisonale Influenza steht in Deutschland der trivalente inaktivierte Grippe-Impfstoff zur Verfügung. Er verringert wirksam die Anzahl der Influenzafälle, insbesondere wenn der Impfstoff gut mit dem zirkulierenden Wildtyp übereinstimmt (Jefferson et al. 2007). Der eingesetzte Impfstoff ist sehr gut verträglich und ausreichend immunogen (Zangwell und Belshe 2004, Piedra et al. 2005, Wright 2006, Ohmit et al. 2008, Fiore et al. 2009 a). Durch die Einbeziehung von Kindern und Jugendlichen in die jährlichen Impfungen gegen Influenza könnte der Schutz vor dieser epidemisch auftretenden Infektion wesentlich verbessert werden.

7. Schlussfolgerungen

1. Die Influenza stellt weltweit eine der bedeutendsten Infektionskrankheiten dar. Jederzeit können Neumutationen der Influenza-A-Viren entstehen. Die Variabilität dieser Influenzaviren ist durch die hohe antigene Instabilität der verschiedenen Virussubtypen, ihr umfassendes Reservoir sowie die Möglichkeit der Mischinfektionen in geeigneten Wirten bedingt. Durch Rekombination neu entstandene Viren können zu massenhaft auftretenden Erkrankungen der menschlichen Population führen.
2. Eine Influenzaimpfung schützt vor einer Influenza-Infektion und deren Komplikationen. Die Impfung stellt die wirksamste und kostengünstigste Prophylaxe für die Influenza dar. Der eingesetzte Impfstoff ist sehr gut verträglich und ausreichend immunogen.
3. Die derzeitige Impfempfehlung der Ständigen Impfkommision am Robert Koch-Institut (STIKO) sieht eine Influenzaschutzimpfung bei Menschen mit Grunderkrankungen und Personen über dem 60. Lebensjahr, nach einer bekannten Influenzaexposition und bei Menschen mit Öffentlichkeitsarbeit und beruflicher Gefährdung vor.
4. Seroprävalenzstudien der Influenza können Rückschlüsse auf die Häufigkeit und Verteilung der Erkrankung in den untersuchten Altersgruppen geben.
5. Enzyme-linked Immuno Sorbent Assays (ELISA) auf der Basis von Influenzavirus-typspezifischen Ribonukleoprotein- und Matrixprotein-Antigen sind empfindliche Methoden zur universellen Bestimmung von Antikörpern gegen Influenzaviren eines Typs. Die Antikörper sind unabhängig vom Virussubtyp und interferieren nicht mit durch Impfung induzierten Antikörpern gegen das Hämagglutinin und die Neuraminidase der Influenza A-Viren.
6. Die Infektion mit dem Influenza A-Virus setzt im Thüringer Raum schon frühzeitig im Kindesalter ein. Nahezu alle Kinder von >9 Jahren hatten schon Kontakt mit dem Influenzavirus A.
7. Demgegenüber vollzieht sich die Infektion mit dem Influenza B-Virus erst nach dem 12. Lebensjahr.
8. Mehr als ein Drittel der Kinder im Thüringer Raum weisen bis zum 6. Lebensjahr keine serologischen Hinweise auf einen zurückliegenden Kontakt mit Influenzavirus A auf.
9. Nahezu alle Kinder bis zum 12. Lebensjahr und mehr als drei Viertel der >12- bis 18-jährigen Jugendlichen zeigen keine serologischen Veränderungen, die auf eine zurückliegende Infektion mit Influenza B-Viren hinweisen.

10. Kinder und Jugendliche, die keine Antikörper gegen Influenzaviren besitzen, sind als empfänglich für Influenzavirus-Erkrankungen und deren Komplikationen einzustufen.
11. Kleinkinder im Alter bis zu 6 Jahren machen deutlich weniger Influenzavirus-A-Infektionen durch als Erwachsene. Die am häufigsten betroffene Altersgruppe scheinen Kinder und Jugendliche im Alter von 12 bis 15 Jahren zu sein.
12. Kinder und Jugendliche sind in Abhängigkeit von der Viruszirkulation deutlich weniger von Influenzavirus-B-Infektionen betroffen als Erwachsene.
13. Frauen scheinen im Vergleich zu Männern weniger häufig Infektionen mit Influenzavirus B durchzumachen.
14. Die Einführung der jährlichen Influenzaschutzimpfung bei Kindern und Jugendlichen könnte den Schutz dieser Altersgruppen vor der Influenza insbesondere bei epidemiologischen Ausbrüchen wesentlich verbessern.

Danksagung

Mein Dank gilt dem Herrn Prof. Dr. med. habil. P. Wutzler für die Vergabe des interessanten Themas der Promotionsarbeit sowie Herrn Prof. Dr. med. habil. A. Sauerbrei für die intensive und freundliche Betreuung, fachliche Beratung, konstruktive Unterstützung bei der Auswertung der Untersuchungsergebnisse sowie den Diskussionen und Anregungen bei der Erstellung des Manuskriptes.

Bedanken möchte ich mich bei Frau Rosemarie Carius, die mich als Medizinisch-technische Laborassistentin bei Untersuchungen sowie deren Auswertung tatkräftig unterstützte.

Weiterhin danke ich dem Institut für Medizinische Statistik, Information und Dokumentation des Universitätsklinikums Jena, insbesondere Frau Dr. H. Hoyer und Frau Dipl.-Chem. Ch. Dietrich, für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Untersuchungsergebnisse.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. habil. G. Oltmanns, ehem. Ärztlicher Direktor und Chefarzt der Inneren Abteilung des DRK-Krankenhauses Sömmerda. Ohne seine kompetente und überzeugende Unterstützung bei der Planung und Durchführung der Doktorarbeit wäre eine Realisierung des Vorhabens nicht möglich gewesen.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir genutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

Prof. Dr. A. Sauerbrei (Institut für Virologie und Antivirale Therapie),

Frau Dr. H. Hoyer, Frau Dipl.-Chem. Ch. Dietrich (Institut für Medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation)

die Hilfe des Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwertige Leistungen von mir für die Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Ort	Datum	Unterschrift des Verfassers
Jena	23.12.2009	
Jena	09.09.2010	

Literaturverzeichnis

1. Adinolfi M, Lessof MH. 1972. Development of humoral and cellular immunity in man. *J Med Genet*, 9(1):86-91.
2. AGI 2007/08. 2008. Arbeitsgemeinschaft Influenza Abschlußbericht der Influenzasaison 2007/08. Berlin.
3. Alford RH, Kasel JA, Gerone PJ, et al. 1966. Human influenza resulting from aerosol inhalation. *Proc Soc Exp Biol Med*, 122:800–804.
4. American Academy of Pediatrics. 2002. Policy statement. Reduction of the influenza burden in children. *Pediatrics*, 110(6):1246-1252.
5. Arpadi SM. 2000. Growth failure in children with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 25 Suppl 1:S37-42.
6. Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H, Capeau J, Feve B. 2006. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw*, 17(1):4-12.
7. Bayer W.H.. Influenza B Encephalitis. 1987. *West J Med*, 147:466.
8. Belay ED, Bresee JS, Holman RC et al. 1999. Reye's syndrome in the United States from 1981 through 1997. *N Engl J Med*. 340:1377-1382.
9. Bell DM. 2006. Non-pharmaceutical interventions for pandemic influenza, national and community measures. *Emerg Infect Dis*, 12(1):88-94.
10. Belshe RB, Mendelman PM, Treanor J, King J, Gruber WC, Piedra P, Bernstein DI, Hayden FG, Kotloff K, Zangwill K, Iacuzio D, Wolff M. 1998. The efficacy of live attenuated, cold-adapted, trivalent, intranasal influenza virus vaccine in children. *N Engl J Med*, 338(20):1405-1412.
11. Belshe RB, Gruber WC, Mendelman PM, Mehta HB, Mahmood K, Reisinger K, Reanor J, Zangwill K, Hayden FG, Bernstein DI, Kotloff K, King J, Piedra PA, Block SL, Yan L, Wolff M. 2000. Correlates of immune protection induced by live, attenuated, cold-adapted, trivalent, intranasal influenza virus vaccine. *J Infect Dis*, 181(3):1133-1137.
12. Belshe RB, Edwards KM, Vesikari T, Black SV, Walker RE, Hultquist M, Kemble G, Connor EM. 2007. CAIV-T-Comparative Efficacy Study Group. *N Engl J Med*, 356(7):685-696.
13. Ben-Hur H, Gurevich P, Elhayany A, Avinoach I, Schneider DF, Zusman I. 2005. Transport of maternal immunoglobulins through the human placental barrier in normal pregnancy and during inflammation. *Int J Mol Med*, 16(3):401-407.
14. Berg AH, Scherer PE. 2005. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res*, 96(9):939-949.
15. Bhat N, Wright JG, Broder KR, Murray EL, Greenberg ME, Glover MJ, Likos AM, Posey DL, Klimov A, Lindstrom SE, Balish A, Medina MJ, Wallis TR, Guarner J, Paddock CD, Shieh WJ, Zaki SR, Sejvar JJ, Shay DK, Harper SA, Cox NJ, Fukuda K, Uyeki TM; Influenza Special Investigations Team. Influenza-associated deaths among children in the United States, 2003-2004. *N Engl J Med*. 2005 Dec 15;353(24):2559-67.
16. Biere B, Schweiger B. 2008. Robert Koch-Institut. Berlin. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 51:1050-1060.
17. Billington WD. 1992. The normal fetomaternal immune relationship. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol*, 6(3):417-438.
18. Bishai FR, Galli R. 1978. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to influenza A and B and parainfluenza type 1 in sera of patients. *J Clin Microbiol*, 8(6):648-656.
19. Bisno AL, Griffin JP, Van Epps KA et al.: Pneumonia and Hong Kong influenza :a prospective study of the 1968-1969 epidemic. *AM J Med Sci* 1971; 261:251-263.
20. Block, S. L. 2004. Role of influenza vaccine for healthy children in the US. *Paediatr Drugs*

- 6:199-209.
21. Bridges CB, Harper SA, Fukuda K, Uyeki TM, Cox NJ, Singleton JA. 2003. Advisory Committee on Immunization Practice. Prevention and control of influenza. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practice (ACIP). *MMWR Recomm Rep*, 52(RR-8):1-34.
 22. Bridges CB, Kuehnert MJ, Hall CB. 2003. Transmission of influenza: implications for control in health care settings. *Clin Infect Dis*, 37(8):1094-1101.
 23. Cady S, Hong M. 2008. Amantadine-induced conformational and dynamical changes of the influenza M2 transmembrane proton channel. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105(5):1483-1488.
 24. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 1987. Update on Influenza Activity--Worldwide. *MMWR*, 36(43):711-713.
 25. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2004. Update: influenza-associated deaths reported among children aged <18 years--United States, 2003-04 influenza season. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 52(53):1286-1288.
 26. Chen B.J., Leser GP., Morita E., Lamb RA. 2007. Influenza Virus Hemagglutinin and Neuraminidase, but Not the Matrix Protein, Are Required for Assembly and Budding of Plasmid-Derived Virus-Like Particles. *J Virol*, 81(13):7111-7123
 27. Chen BJ, Leser GP, Jackson D, Lamb RA. 2008. The influenza virus M2 Protein cytoplasmic tail interacts with the M1 protein and influences virus assembly at the site of virus budding. *J Virol*, 82(29):10059-70.
 28. Chiu SS, Tse CY, Lau YL, Peiris M. 2001. Influenza A infection is an important cause of febrile seizures. *Pediatr*, 108:e63.
 29. Clerx JP, Fuller F, Bishop DH. 1983. Tick-borne viruses structurally similar to Orthomyxoviruses. *Virology*, 127(1):205-219.
 30. Colman PM. 1994. Influenza virus neuraminidase: structure, antibodies, and inhibitors. *Protein Sci*, 3(10):1687-1696.
 31. Cooper NJ, Sutton AJ, Abrams KR, Wailoo A, Turner D, Nicholson KG. 2003. Effectiveness of neuraminidase inhibitors in treatment and prevention of influenza A and B: systematic review and meta-analyses of randomised controlled trials. *BMJ*, 326(7401):1235.
 32. Coppack SW. 2001. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. *Proc Nutr Soc*, 60(3):349-56.
 33. Couch RB. 1975. Assessment of immunity to influenza using artificial challenge of normal volunteers with influenza virus. *Dev Biol Stand*, 28:295-306.
 34. Couch RB, Kasel JA. 1983. Immunity to influenza in man. *Annu Rev Microbiol*, 37:529-549.
 35. Couch RB, Kasel JA, Glezen WP, et al. 1986. Influenza: its control in persons and populations. *J Infect Dis*, 153:431-440.
 36. Couch RB. 1999. Measures for control of influenza. *Pharmacoeconomics*, 16 Suppl 1:41-45.
 37. Da Silva EV, Da Rosa AP, Nunes MR, Diniz JA, Tesh RB, Cruz AC, Vieira CM, Vasconcelos PF. 2005. Araguari virus, a new member of the family Orthomyxoviridae: serologic, ultrastructural, and molecular characterisation. *Am J Trop Med Hyg*, 73(6):1050-1058.
 38. Deng T, Engelhardt OG, Thomas B, Akoulitchev AV, Brownlee GG, Fodor E. 2006. Role of Ran binding protein 5 in nuclear import and assembly of the influenza virus RNA polymerase complex. *J Virol*, 80(24):11911-11919.
 39. Dietzmann DE, Schaller JG, Ray CG, Reed ME. 1976. Acute myositis associated with influenza B infection. *Pediatrics*, 57(2):255-258.
 40. D'Onise K, Raupach JC. 2008. The burden of influenza in healthy children in South Australia. *Med J Aust*, 188(9):510-513.
 41. Doucette KE, Aoki FY. 2001. Oseltamivir: a clinical and pharmacological perspective. *Expert Opin Pharmacother*, 2(10):1671-1683.
 42. Dowdle WR, Downie JC, Laver WG. 1974. Inhibition of virus release by antibodies to

- surface antigens of influenza viruses. *J. Virol*, 13(2):269-275.
43. Engblom E, Ekfors TO, Meurman OH, Toivanen A, Nikoskelainen J. 1983. Fatal influenza A myocarditis with isolation of virus from myocardium. *Acta Med Scand*, 213(1):75-78.
 44. Englund JA. 2002. Antiviral therapy of influenza. *Semin Pediatr Infect Dis*, 13(2):120-128.
 45. Esposito, S., P. Marchisio, S. Bosis, L. Lambertini, L. Claut, N. Faelli, C. Bianchi, G. L. Colombo, and N. Principi. 2006. Clinical and economic impact of influenza vaccination on healthy children aged 2-5 years. *Vaccine*, 24:629-635.
 46. Esposito S, Principi N. 2009. The rational use of influenza vaccines in healthy children and children with underlying conditions. *Curr Opin Infect Dis*, 22(3):244-249.
 47. Falcon AM, Marion RM, Zürcher T, Gomez P, Portela A, Nieto A, Ortin J. 2004. Defective RNA replication and late gene expression in temperature-sensitive influenza viruses expressing deleted forms of the NS1 protein. *J Virol*, 78(8):3880-3888.
 48. Falk K, Namork E, Rimstad E, Mjaaland S, Dannewig BH. 1997. Characterisation of Infectious Salmon Anemia Virus, an Orthomyxo-Like Virus Isolated from Atlantic Salmon (*Salmon salar* L.). *Journal of Virology*, 9016-9023.
 49. Fiore AE, Bridges CB, Cox NJ. 2009. Seasonal influenza vaccines. *Curr Top Microbiol Immunol*, 333:43-82.
 50. a Fiore AE, Shay DK, Broder K, Iskander JK, Uyeki TM, Mootrey G, Bresee JS, Cox NJ. 2009. Prevention and control of seasonal influenza with vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep*, 58(RR-8):1-52.
 51. Fisher RG, Gruber WC, Edwards KM, et al. 1997. Twenty years of outpatient respiratory syncytial virus infection: a framework for vaccine efficacy trial. *Pediatrics*, 99:E7-E7.
 52. Fock R, Bergmann H, Bußmann H, Fell G, Finke E.J, Koch U, Niedrig M, Peters M, Scholz D, Wirtz A. 2001. Management und Kontrolle einer Influenzapandemie. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 44:969-980.
 53. Fodor E, Smith M. 2004. The PA subunit is required for efficient nuclear accumulation of the PB1 subunit of the influenza A virus RNA polymerase complex. *J Virol*, 78(17):9144-9153.
 54. Forster J. 2003. Influenza in children: the German perspective. *Pediatr Infect Dis J*, 22(10 Suppl):S215-S217.
 55. Fouchier R.A.M, Munster V, Wallenstein A, Bestebroer T.M., Herfst S, Smith D, Rimmelzwan G.F., Plsen B., Osterhaus A.D.M.E. 2005. Characterization of a Novel Influenza A Virus Hemagglutinin Subtyp (H16) Obtained from Black-Headed Gulls. *Journal of Virology*, p.2814-2822, Vol 79, No. 5.
 56. Fox JP, Hall CE, Cooney MK, Foy HM. 1982. Influenzavirus infections in Seattle families, 1975-1979. I. Study design, methods and the occurrence of infections by time and age. *Am J Epidemiol*, 116(2):212-227.
 57. Frank AL, Taber LH, Glezen WP, Paredes A, Couch RB. 1979. Reinfection with influenza A(H3N2) virus in young children and their families. *J Infect Dis*, 140(6):829-836.
 58. Frank AL, Taber LH, Wells CR, Wells JM, Glezen WP, Paredes A. 1981. Patterns of shedding of myxoviruses and paramyxoviruses in children. *J Infect Dis*, 144(5):433-441.
 59. Frank AL, Taber LH, Glezen WP, Geyer EA, McIlwain S, Paredes A. 1983. Influenza B virus infections in the community and the family. The epidemics of 1976-1977 and 1979-1980 in Houston, Texas. *Am J Epidemiol*, 118(3):313-325.
 60. Frank AL, Taber LH, Porter CM. 1987. Influenza B virus reinfection. *Am J Epidemiol*, 125(4):576-586.
 61. Franzen D, Mertens T, Waidner T, Kruppenbächer J, Höpp HW, Hilger HH. 1991. Perimyokarditis in influenza A virus infection. *Klin Wochenschrift*, 69(9):404-408.
 62. Gagneur A, Pinquier D, Aubert M, Balu L, Brissaud O, De Pontual L, Gras Le Guen C, Hau-Rainsard I, Mory O, Picherot G, Stephan JL, Cohen B, Caulin E, Soubeyrand B, Reinert P. 2008. Kinetics of decline of maternal measles virus-neutralizing antibodies in

- sera of infants in France in 2006. *Clin Vaccine Immunol*, 15(12):1845-1850.
63. Gall SA. 2005. Maternal immunization to protect the mother and neonate. *Expert Rev Vaccines*, 4(6):813-818.
 64. Glezen WP, Couch RB. 1978. Interpandemic influenza in the Houston area, 1974-76. *N Engl J Med*, 298(11):587-592.
 65. Glezen WP. 1980. Consideration of the risk of influenza in children and indications for prophylaxis. *Rev Infect Dis*, 2:408-420.
 66. Glezen WP, Paredes A, Taber LH. 1980. Influenza in children: relationship to other respiratory agents. *JAMA*, 243:1345-1349.
 67. Glezen P. 1982. Serious Morbidity and Mortality associated with Influenza Epidemics. *Epidemiologic Reviews*, Vol.4:25-44.
 68. Glezen PW. 1996. Emerging infections: pandemic influenza. *Epidemiologic Reviews*, 18(1):64-76.
 69. Glezen WP, Taber LH, Frank AL, Gruber WC, Piedra PA. 1997. Influenza virus infections in infants. *Pediatr Infect Dis J*, 16(11):1065-1068.
 70. Glezen WP, Greenberg SB, Atmar RL, Piedra PA, Couch RB. 2000. Impact of respiratory virus infections on persons with chronic underlying conditions *JAMA*, 283 :499-505.
 71. Gomez-Puertas P, Albo C, Perez- Pastrana E, Vivo A, Portela A. 2000. Influenza Virus Matrix Protein Is the Major Driving Force in Virus Budding. *J Virol*, 74(24):11538-11547.
 72. Guarner J, Paddock CD, Shieh WJ et al. 2006. Histopathologic and immunohistochemical features of fatal influenza virus infection in children during the 2003-2004 season. *Clin Infect Dis*, 43:132-140.
 73. Gubareva LV, Kaiser L, Hayden HG. 2000. Influenza virus neuraminidase inhibitors. *Lancet*, 355(9206):827-835.
 74. Hall CB, Douglas RG Jr, Geiman JM, Meagher MP. 1979. Viral shedding patterns of children with influenza B infection. *J Infect Dis*, 140(4):610-613.
 75. Hannoun C, Megas F, Piercy J. 2004. Immunogenicity and protective efficacy of influenza vaccination. *Virus Res*, 103:133-138.
 76. Harris A, Forouhar F, Qiu S, Sha B, Luo M. 2001. The crystal structure of the influenza matrix protein M1 at neutral pH: M1-M1 protein interfaces can rotate in the oligomeric structures of M1. *Virology*, 289(1):34-44.
 77. Hayden FG, Belshe RB, Clover RD, Hay AJ, Oakes MG, Soo W. 1989. Emergence and apparent transmission of rimantadine-resistant influenza A virus in families. *N Engl J Med*, 321(25):1696-1702.
 78. Hayden FG, Hay AJ. 1992. Emergence and transmission of influenza A viruses resistant to amantadine and rimantadine. *Curr Top Microbiol Immunol*, 176:119-130.
 79. Hayden FG, Atmar RL, Schilling M, Johnson C, Poretz D, Paar D, Huson L, Ward P, Mills RG. 1999. Use of the selective oral neuraminidase inhibitor oseltamivir to prevent influenza. *N Engl J Med*, 341(18):1336-1343.
 80. Heikkinen T, Silvennoinen H, Peltola V, Ziegler T, Vainionpaa R, Vuorinen T, Kainulainen L, Puhakka T, Jartti T, Toikka P, Lehtinen P, Routi T, Juven T. 2004. Burden of influenza in children in the community. *J Infect Dis*, 190(8):1369-1373.
 81. Heininger U, Desgrandchamps D, Schaad UB. 2006. Seroprevalence of Varicella-Zoster virus IgG antibodies in Swiss children during the first 16 months of age. *Vaccine*, 24(16):3258-3260.
 82. Heiny AT, Miotto O, Srinivasan KN, Khan AM, Zhang GL, Brusica V, Tan TW, August JT. 2007. Evolutionarily conserved protein sequences of influenza A viruses, avian and human, as vaccine targets. *PLoS ONE*, 2(11):e1190.
 83. Hinshaw VS, Olsen CW, Dybdahl-Sissoko N, Evans D. 1994. Apoptosis: a mechanism of cell killing by influenza A and B viruses. *Virology*, 68:3667-3673.
 84. Hite LK, Glezen WP, Demmler GJ, Munoz FM. 2007. Medically attended pediatric influenza during the resurgence of the Victoria lineage of influenza B virus. *Int J Infect Dis*,

- 11(1):40-47.
85. Hobson D, Curry RL, Beare AS, et al. 1972. The role of serum haemagglutination-inhibiting antibody in protection against challenge infection with influenza A2 and B viruses. *J Hyg Camb* 70:767-777.
 86. Hongo S, Sugawara K, Muraki Y, Kitame F, Nakamura K. 1997. Characterisation of the second protein (CM2) encoded by RNA segment 6 of influenza C virus. *J Virol*, 71 (4): 2786-2792.
 87. Hoppe JD, Köhler A, Müller-Oerlinghausen B. 2005. Saisonale Influenza, Vogelgrippe und potentielle Influenzapandemien. *Deutsches Ärzteblatt*, 102(49):A3444-A3.
 88. Hoyer H, Dietrich C. Retrospektive Bestimmung der Prävalenz Influenzavirus-spezifischer IgG-Antikörper bei Kindern und Jugendlichen im Alter von 0 bis 18 Jahren. Biometrischer Abschlussbericht. Institut für Medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation, Universitätsklinikum Jena. Version Final 20.12.2007.
 89. Huang IC, Li W, Sui J, Marasco W, Choe H, Farzan M. 2008. Influenza A virus neuraminidase limits viral superinfection. *J Virol*, 82(10):4834-4843.
 90. Hurt AC, Alexander R, Hibbert J, Deed N, Barr IG. 2007. Performance of six influenza rapid tests in detecting human influenza in clinical specimens. *J Clin Virol*, 39(2):132-135.
 91. Irving WL, James DK, Stephenson T, Laing P, Jameson C, Oxford JS, Chakraverty P, Brown DW, Boon AC, Zambon MC. 2000. Influenza virus infection in the second and third trimesters of pregnancy: a clinical and seroepidemiological study. *BJOG*, 107(10):1282-1289.
 92. Ito T, Couceiro JN, Kelm S, Baum LG, Krauss S, Castrucci MR, Donatelli I, Kida H, Paulson JC, Webster RG, Kawaoka Y. 1998. Molecular basis of the generation in pigs of influenza A viruses with pandemic potential. *J Virol*, 72(9):7367-7373.
 93. Izurieta HS, Thompson WW, Kramarz P, Shay DK, Davis RL, DeStefano F, Black S, Shinefield H, Fukuda K. 2000. Influenza and the rates of hospitalization for respiratory disease among infants and young children. *N Engl J Med*, 342(4):232-239.
 94. Jefferson TO, Demicheli V, Deeks JJ, Rivetti D. 2000. Amantadine and rimantadine for preventing and treating influenza A in adults. *Cochrane Database Syst Rev*, (2):CD001169.
 95. Jefferson T, Demicheli V, Jones M, Di Pietrantonj C, Rivetti A. 2006. Antivirals for influenza in healthy adults: systematic review. *Lancet*, 367(9507):303-313.
 96. Jefferson TO, Rivetti D, Di Pietrantonj C, Rivetti A, Demicheli V. 2007. Vaccines for preventing influenza in healthy adults. *Cochrane Database Syst Rev*, (2):CD001269.
 97. Joassin L, Reginster M, Vaira D. 1983. Anti M-protein antibody response to type A or B natural influenza detected by solid phase enzyme linked immunosorbent assay and by complement fixation. *Arch Virol*, 76(1):15-23.
 98. Johnson PR Jr, Feldman S, Thompson JM, Mahoney JD, Wright PF. 1985. Comparison of long-term systemic and secretory antibody responses in children given live, attenuated, or inactivated influenza A vaccine. *J. Med Virol*, 17(4):325-335.
 99. Johnson NP, Mueller J. 2002. Updating the accounts: global mortality of the 1918-1920 "Spanish" influenza pandemic. *Bull Hist Med*, 76(1):105-115.
 100. Julkunen I, Kleemola M, Hovi T. 1984. Serological diagnosis of influenza A and B infections by enzyme immunoassay. Comparison with the complement fixation test. *J Virol Methods*, 9(1):7-14.
 101. Kaufmann WR, Nuttall PA. 2003. *Rhipicephalus appendicularis* (Acari: Ixodidae): dynamics of Thogoto virus infection in female ticks during feeding on guinea pigs. *Experimental Parasitology*, 104(1-2):20-25.
 102. Kempe A, Daley MF, Barrow J, Allred N, Hester N, Beaty BL, Crane LA, Pearson K, Berman S. 2005. Implementation of Universal Influenza Immunization Recommendations for Healthy Young Children: Results of a Randomized, Controlled Trial With Registry-Based Recall. *Pediatrics* 115:146-154.
 103. Keyser LA, Karl M, Nafziger AN, Bertino JS. 2000. Comparison of central nervous system

- adverse effects of amantadine and rimantadine used as sequential prophylaxis of Influenza A in elderly nursing home patients. *Arch Intern Med*, 160:1485-1488.
104. Kilbourne ED. 2006. Influenza pandemics of the 20th century. *Emerg Infect Dis*, 12(1):9-14.
 105. Kingsbury DW, Webster RG. 1969. Some Properties of Influenza Virus Nucleocapsids. *J Virol*, 4(3):219-225.
 106. Khoury MJ, Erickson JD, Cordero JF, McCarthy BJ. 1988. Congenital malformations and intrauterine growth retardation: a population study. *Pediatrics*, 82(1):83-90.
 107. Lansdown AB. 1977. Coxsackievirus B3 infection in pregnancy and its influence on foetal heart development. *Br J Exp Pathol*, 58(4):378-385.
 108. Laver WG, Kilbourne ED. 1966. Identification in a recombinant influenza virus of structural proteins derived from both parents. *Virology*, 30(3):493-501.
 109. Leinikki P, Pässilä S. 1976. Solid phase antibody assay by means of enzyme conjugated to anti-immunoglobulin. *J Clin Pathol*, 29(12):1116-1120.
 110. Letouze N, Jokic M, Maragnes P, Rouleau V, Flais F, Vabret A, Freymuth F. 2006. Fulminant influenza type A associated myocarditis: a fatal case in an 8 year old child. *Arch Mal Coeur Vaiss*, 99(5):514-516.
 111. Li WC, Shih SR, Huang YC et al. 2008. Clinical and genetic characterization of severe influenza B-associated diseases during an outbreak in Taiwan. *J Clin Virol*, 42:45-51.
 112. Londo DR, Davis AR, Nayak DP. 1983. Complete nucleotide sequence of the nucleoprotein gene of influenza B virus. *J Virol*, 47(3):642-648.
 113. Louie JK, Schechter R, Hoarmand S, Guevara HF, Shoemaker TR, Madrigal NY, Woodfill CJ, Backer HD, Glaser CA. 2006. Severe pediatric influenza in California, 2003-2005. *Pediatrics*, 117(4):e610-618.
 114. MacDonald KL, Osterholm MT, Hedberg CW, Schrock CG, Peterson GF, Jentzen JM, Leonard SA, Schlievert PM. 1987. Toxic shock syndrome. A newly recognized complication of influenza and influenzalike illness. *JAMA*, 257(8):1053-1058.
 115. Mandler J, Gorman OT, Ludwig S, Schroeder E, Fitch WM, Webster RG, Scholtissek C. 1990. Derivation of the nucleoproteins (NP) of influenza A viruses isolated from marine mammals. *Virology*, 176(1):255-261.
 116. Maricich SM, Neul JL, Lotze TE et al. 2004. Neurologic complications associated with influenza A in children during the 2003-2004 influenza season in Houston, Texas. *Pediatrics*, 114:e626-e633.
 117. Martin K, Helenius A. 1991. Transport of incoming influenza virus nucleocapsid into the nucleus. *J Virol*, 65(1):232-244.
 118. Marsh M, Helenius A. 1989. Virus entry into animal cells. *Adv Virus Res*, 36:107-151.
 119. Matheson NJ, Symmonds-Abrahams M, Sheikh A, Shepperd S, Harnden A. 2003. Neuraminidase inhibitors for preventing and treating influenza in children. *Cochrane Database Syst Rev*, (3):CD002744.
 120. Matlin KS, Reggio H, Helenius A, Simons K. 1981. Infectious entry pathway of influenza virus in a canine kidney cell line. *J Cell Biol*, 91(3 Pt 1):601-613.
 121. McClure CA, Hammell KL, Dohoo IR. 2005. Risk factors for outbreaks of infectious salmon anemia in farmed Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Prev Vet Med*, 72(3-4):263-280.
 122. McCrown MF, Pekosz A. 2005. The influenza A virus M2 cytoplasmic tail is required for infectious virus production and efficient genome packing. *J. Virol*, 79(6):3595-3605.
 123. McKimm-Breschkin JL. 2000. Resistance of influenza viruses to neuraminidase inhibitors- a review. *Antiviral Res*, 47(1):1-17.
 124. Michael JS, Sridharan G. 2002. A pilot study of seroprevalence of influenza virus type A in Vellore, south India. *Indian J Med Res*, 115:173-175.
 125. Min JY, Li S, Sen GC, Krug RM. 2007. A site on the influenza A virus NS1 protein mediates both inhibition of PKR activation and temporal regulation of viral RNA synthesis. *Virology*, 363(1):236-243.
 126. Mito N, Hosoda T, Kato C, Sato K. 2000. Change of cytokine balance in diet-induced obese

- mice. *Metabolism*, 49:1295–1300.
127. Mizuguchi M, Yamanouchi H, Ichiyama T, Shiomi M. 2007. Acute encephalopathy associated with influenza and other viral infections. *Acta Neurol Scand Suppl*, 186:45-56.
 128. Montalto NJ. 2003. An office-based approach to influenza: clinical diagnosis and laboratory testing. *Am Fam Physician*, 67(1):111-118.
 129. Monto AS, Robinson DP, Herlocher ML, Hinson JM Jr, Elliott MJ, Crisp A. 1999. Zanamivir in the prevention of influenza among healthy adults: a randomized controlled trial. *JAMA*, 282:31-35.
 130. Monto AS, Rotthoff J, Teich E, Herlocher ML, Truscon R, Yen HL, Elias S, Ohmit SE. 2004. Detection and control of influenza outbreaks in well-vaccinated nursing home populations. *Clin Infect Dis*, 39(4):459-464.
 131. Mullooly JP, Barker WH. 1982. Impact of type A influenza on children: a retrospective study. *Am J Public Health*, 72:1008-1016.
 132. Mould JA, Paterson RG, Takeda M, Ohigashi Y, Venkataraman P, Lamb RA, Pinto LH. 2003. Influenza B virus BM2 protein has ion channel activity that conducts protons across membranes. *Dev Cell*, 5(1):175-184.
 133. Monto AS, Kioumeh F. 1975. The Tecumseh study of respiratory illness. IX. Occurrence of influenza in the community, 1966--1971. *Am J Epidemiol*, 102:553-563.
 134. Moscona A. 2005. Neuraminidase inhibitors for influenza. *N Engl J Med*, 353(13):1363-1373.
 135. Mullooly JP, Barker WH. 1982. Impact of type A influenza on children: a retrospective study. *Am J Public Health*, 72:1008-1016.
 136. Munoz FM. 2002. The impact of influenza in children. *Seminars Ped Infect Dis*, 13:72-78.
 137. Munoz FM. 2003. Influenza virus infection in infancy and early childhood. *Paediatr Respir Rev*, 4(2):99-104.
 138. Neumann G, Brownlee GG, Fodor E, Kawaoka Y. 2004. Orthomyxovirus replication, transcription, and polyadenylation. *Curr Top Microbiol Immunol*, 283:121-143.
 139. Neuzil KM, Mellen BG, Wright PF, Mitchel EF Jr, Griffin MR. 2000. The effect of influenza on hospitalizations, outpatient visits, and courses of antibiotics in children. *N Engl J Med*, 342(4):225-231.
 140. Neuzil KM, Wright PF, Mitchel EF Jr, Griffin MR. 2000. The burden of influenza illness in children with asthma and other chronic medical conditions. *J Pediatr*, 137:856-864.
 141. Neuzil KM, Edwards KM. 2002. Influenza vaccines in children. *Semin Pediatr Infect Dis*, 13(3):174-181.
 142. Nichol KL, Mendelman PM, Mallon KP, Jackson LA, Gorse GJ, Belshe RB, Glezen WP, Wittes J. 1999. Effectiveness of live, attenuated intranasal influenza virus vaccine in healthy, working adults: a randomized controlled trial. *JAMA*, 282(2):137-144.
 143. Noble GR, Kaye HS, O'Brien RJ, Kendal AP, Bregman DJ, Wright PF, Amler RW, Dowdle WR. 1977. Persistence of influenza A/New Jersey/76 (Hsw1N1) antibody one year after vaccination. *Dev Biol Stand*, 39:253-260.
 144. Noda T, Sagara H, Yen A, Takada A, Kida H, Cheng RH, Kawaoka Y. 2006. Architecture of ribonucleoprotein complexes in influenza A virus particles. *Nature*, 439(7075):490-492.
 145. Nolte KB, Alakija P, Oty G, Shaw MW, Subbarao K, Guarner J, Shieh WJ, Dawson JE, Morken T, Cox NJ, Zaki SR. 2000. Influenza A virus infection complicated by fatal myocarditis. *Am J Forensic Med Pathol*, 21(4):375-379.
 146. Nichol KL. 2003. The efficacy, effectiveness and cost-effectiveness of inactivated influenza virus vaccine. *Vaccine*, 21(16):1769-1775.
 147. Nunoi H, Mercado MR, Mizukami T, Okajima K, Morishima T, Sakata H, Nakayama S, Mori S, Hayashi M, Mori H, Kagimoto S, Kanegasaki S, Watanabe K, Adachi N, Endo F. 2005. Apoptosis under hypercytokinemia is a possible pathogenesis in influenza-associated encephalopathy. *Pediatr Int*, 47(2):175-179.
 148. Ohmit SE, Victor JC, Teich ER, Truscon RK, Rotthoff JR, Newton DW, Campbell SA, Boulton ML, Monto AS. 2008. Prevention of symptomatic seasonal influenza in 2005-2006 by

- inactivated and live attenuated vaccines. *J Infect Dis*, 198(3):312-317.
149. Olgar S, Ertugrul T, Nisli K, Aydin K, Caliskan M. 2006. Influenza a-associated acute necrotizing encephalopathy. *Neuropediatrics*, 37(3):166-168.
 150. Patterson KD, Pyle GF. 1991. The geography and mortality of the 1918 influenza pandemic. *Bull Hist Med*, 65(1):4-21.
 151. Peltola V, Ziegler T, Ruuskanen O. 2003. Influenza A and B virus infections in children. *Clin Infect Dis*, 36:299-305.
 152. Piedra PA, Gaglani MJ, Riggs M, et al. 2005. Live attenuated influenza vaccine, trivalent, is safe in healthy children 18 months to 4 years, 5 to 9 years, and 10 to 18 years of age in a community-based, nonrandomized, open-label trial. *Pediatrics*, 116(3):e397-407.
 153. Pinto LH., Holsinger LJ, Lamb RA. 1992. Influenza virus m2 protein has ion channel activity. *Cell*, 69(3):517-528.
 154. Ploin D, Gillet Y, Morfin F, Fouilhoux A, Billaud G, Liberas S, Denis A, Thouvenot D, Fritzell B, Lina B, Floret D. 2007. Influenza burden in febrile infants and young children in a pediatric emergency department. *Pediatr Infect Dis*, 26(2):142-147.
 155. Poehling KA, Edwards KM, Weinberg GA, Szilagyi P, Staat MA, Iwane MK, Bridges CB, Grijalva CG, Zhu Y, Bernstein DI, Herrera G, Erdman D, Hall CB, Seither R, Griffin MR. 2006. New Vaccine Surveillance Network. The underrecognized burden of influenza in young children. *N Engl J Med*, 355(1):31-40.
 156. Portela A, Digard P. 2002. The influenza virus: a multifunctional RNA-binding protein pivotal to virus replication. *J Gen Virol*, 83(Pt):723-734.
 157. Principi N, Esposito S, Marchisio P, Gasparini R, Crovari P. 2003. Socioeconomic impact of influenza on healthy children and their families. *Pediatr Infect Dis J*, 22(10 Suppl):S207-210.
 158. Pringle CR. 1996. Virus taxonomy 1996- a bulletin from the Xth International Congress of Virology in Jerusalem. *Arch Virol*, 141(11):2251-2256.
 159. Quach C, Piché-Walker L, Platt R, Moore D. 2003. Risk factors associated with severe influenza infections in childhood: implication for vaccine strategy. *Pediatrics*, 112(3 Pt 1):e197-201.
 160. Reichert TA, Sugaya N, Fedson DS, Glezen WP, Simonsen L, Tashiro M. 2001. The Japanese experience with vaccinating schoolchildren against influenza. *NEJM*, 344:889-896.
 161. Reid AH, Taubenberger JK, Fanning TG. 2001. The 1918 Spanish influenza: integrated history and biology. *Microbes. Infect*, 3(1):81-87.
 162. Reuman PD, Ayoub EM, Small PA. 1987. Effect of passive maternal antibody on influenza illness in children: a prospective study of influenza A in mother-infant pairs. *Pediatr Infect Dis J*, 6(4):398-403.
 163. Richardson JC, Akkina RK. 1991. NS2 protein of influenza virus is found in purified virus and phosphorylated in infected cells. *Arch Virol*, 116(1-4):69-80.
 164. Robert Koch Institut. 2002. Teilnahme an Influenza- und Pneumokokken-Schutzimpfung. *Epidemiologisches Bulletin* 16/2002, 19. April 2002/Nr.16. Berlin
 165. a Robert Koch Institut. 2007. *Infektionsepidemiologisches Jahrbuch für 2006*. Berlin.
 166. RKI, Nationaler Pandemieplan Teil III, Ein Bericht der Expertengruppe 'Influenza-Pandemieplanung am Robert-Koch-Institut 15.05.2007
 167. Robert Koch-Institut: Zur Situation bei wichtigen Infektionskrankheiten in Deutschland: Rückblick auf die Influenzasaison 2007/08: Oktober 2008; *Epidemiologisches Bulletin* 43/2008.
 168. a Robert Koch-Institut: Empfehlung der ständigen Impfkommision (STIKO) am Robert Koch-Institut/Stand: Juli 2009; *Epidemiologisches Bulletin* 30/2009, Nr. 30. Berlin
 169. b Robert Koch Institut. 2009. *Epidemiologischer Wochenbericht des RKI zur Situation A/H1N1 Kalenderwoche 44, 26.Oktober-1.November 2009 (Datenstand: 05. November 2009)*. Berlin.
 170. c Robert Koch Institut. 2009. *Zur Situation in Deutschland Todesfälle in Deutschland mit Neuer Influenza H1N1, Stand 10.November.2009, 15.00Uhr*.
 171. Robert Koch-Institut: Empfehlung der ständigen Impfkommision (STIKO) am Robert Koch-

- Institut/vorläufige Empfehlungen, Epidemiologisches Bulletin 41/2009, 425. Berlin
172. Ruigrok RW, Calder LJ, Wharton SA. 1989. Electron microscopy of the influenza virus submembranal structure. *Virology*, 173(1):311-316.
173. Ruuskanen O, Arola M, Putto-Laurila A et al. 1989. Acute otitis media and respiratory virus infections. *Pediatr Infect Dis J*, 8:94-99.
174. Saji F, Samejima Y, Kamiura S, Koyama M. 1999. Dynamics of immunoglobulins at the fetomaternal interface. *Rev Reprod*, 4(2):81-89.
175. Sasaki S, Jaimes MC, Holmes TH, Dekker CL, Mahmood K, Kemble GW, Arvin AM, Greenberg HB. 2007. Comparison of the Konfluenz virus-specific effector and memory B-cell responses to immunization of children and adults with live attenuated or inactivated influenza virus vaccines. *J Virol*, 81(1):215-228.
176. Sauerbrei A, Wutzler P. 2000. The Congenital Varicella Syndrome. *J Perinatol* 20(8Pt1):548-554.
177. Sauerbrei A, Schmidt-Ott R, Hoyer H, Wutzler P. 2009. Seroprevalence of Influenza A and B in German infants and adolescents. *Med Microbiol Immunol*, 198:93-101.
178. Schild GS. 1979. The influenza virus: Antigenic composition and immune response. *Postgrad Med J*, 55(640):87-97.
179. Schmid SL. 1997. Clathrin-coated vesicle formation and protein sorting: an integrated process. *Annu Rev Biochem*, 66:511-548.
180. Schmidt-Ott R, Schwarz T, Haase R, Sander H, Walther U, Fourneau M, Htun-Myint L, Sanger R, Schuster V. 2007. Immunogenicity and reactogenicity of a trivalent influenza split vaccine in previously unvaccinated children aged 6-9 and 10-13 years. *Vaccine*, 26(1):32-40.
181. Schwarzmann SW, Adler JL, Sullivan RJ, Jr., Marine WM. 1971. Bacterial pneumonia during the Hong Kong influenza epidemic of 1968-1969. *Arch Intern Med*, 127:1037-1041.
182. Sever S, Muhlberg AB, Schmid SL. 1999. Impairment of dynamin's GAP domain stimulates receptor-mediated endocytosis. *Nature*, 398 (6727):481-486.
183. Sidwell RW, Huffman JH, Barnard DL, Bailey KW, Wong MH, Morrison A, Syndergaard T, Kim CU. 1998. Inhibition of influenza virus infections in mice by GS4104, an orally effective influenza virus neuraminidase inhibitor. *Antiviral Res*, 37(2):107-120.
184. Shikuma CM, Zackin R, Sattler F, Mildvan D, Nyangweso P, Alston B, Evans S, Mulligan K. 2004. AIDS Clinical Trial Group 892 Team. Changes in weight and lean body mass during highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis*, 39(8):1223-1230.
185. Skehel, J.J., D.C. Wiley 2000. Receptor binding and membrane fusion in the virus entry: the influenza hemagglutinin. *Annu Rev Biochem*, 69:531-569.
186. Smith AG, Sheridan PA, Harp JB, Beck MA. 2007. Diet-induced obese mice have increased mortality and altered immune responses when infected with influenza virus. *J Nutr*, 137(5):1236-1243.
187. Stellungnahme der Zentralen Ethikkommission. Die (Weiter-)Verwendung von menschlichen Korpermaterialien fur Zwecke medizinischer Forschung (20.02.2003)
188. Storch GA. 2003. Rapid diagnostic tests for influenza. *Curr Opin Pediatr*, 15(1):77-84.
189. Szucs, T. D. 1999. Influenza. The role of burden-of-illness research. *Pharmacoecoon* 16:(Suppl. 1):27-32.
190. Takizawa T, Anderson CL, Robinson JM. 2005. A novel Fc gamma R-defined, IgG-containing organelle in placental endothelium. *J Immunol*, 15;175(4):2331-2339.
191. Tang TT, Siegesmund KA, Sedmak GV, Casper JT, Varma RR, McCreadie SR. 1975. Reye syndrome. A correlated electron-microscopic, viral, and biochemical observation. *JAMA*, 232(13):1339-1346.
192. Tarendeau F, Boudet J, Guilligary D, Mas PJ, Bougault CM, Boulo S, Baudin F, Ruigrok RW, Daigle N, Ellenberg J, Cusack S, Simorre JP, Hart DJ. 2007. Structure and nuclear import function of the C-terminal domain of influenza virus polymerase PB2 subunit. *Nat Struct Mol Biol*, 14(3):229-233.
193. Tellier R. 2006. Review of aerosol transmission of influenza A virus. *Emerg Infect Dis*,

- 12(11):1657-1662.
194. Templeton KE, Scheltinga SA, Beersma MF, Kroes AC, Class EC. 2004. Rapid and sensitive method using multiplex real-time PCR for diagnosis of infections by influenza A and influenza B virus, respiratory syncytial virus, and parainfluenza viruses 1,2,3, and 4. *J Clin Microbiol*, 42(4):1564-1569.
 195. Thompson WW, Shay DK, Weintraub E, Brammer L, Cox N, Anderson LJ, Fukuda K. 2003. Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States. *JAMA*, 289(2):179-186.
 196. Thompson WW, Shay DK, Weintraub E, Brammer L, Bridges CB, Cox NJ, Fukuda K. 2004. Influenza-associated hospitalizations in the United States 2004. *JAMA*, 292(11):1333-1340.
 197. Tompkins SM, Zhao ZS, Lo CY, Mispion JA, Liu T, Ye Z, Hogan RJ, Wu Z, Benton KA, Tumpey TM, Epstein SL. 2007. Matrix protein 2 vaccination and protection against influenza viruses, including subtype H5N1. *Emerg Infect Dis*, 13(3):426-435.
 198. Tolan RW Jr. 1993. Toxic shock syndrome complicating influenza A in a child: case report and review. *Clin Infect Dis*, 17(1): 43-45.
 199. Treanor J, Hayden F, Peters S, Barbarash R, Bettis R, Riff D, Singh S, Kinnersley N, Ward P, Mills R. 2000. Efficacy and safety of the oral Neuraminidase Inhibitor Oseltamivir in Treating acute Influenza. *JAMA*, 283:1016-1024.
 200. Uphoff H., Stilianakis N. 2001. Zur Rolle von Kindern bei der Ausbreitung von Influenza. Ein Diskussionsbeitrag. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 44:1162-1168.
 201. Wang C, Takeuchi K, Pinto LH, Lamb RA. 1993. Ion channel activity of influenza A virus M² protein: characterization of the amantadine block. *J Virol*, 67(9):5585-5594.
 202. Wang P, Palese P, O'Neill RE. 1997. The NP1/NP3 (karyopherin alpha) binding site on the influenza A virus nucleoprotein NP is a nonconventional nuclear localization signal. *J Virol*, 71(3):1850-1856.
 203. Wang X, Li M, Zheng H, Muster T, Palese P, Beg AA, Garcia-Sastre A. 2000. Influenza A virus NS1 protein prevents activation of NF-kappaB and induction of alpha/beta interferon. *J Virol*, 74 (24):11566-11573.
 204. Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y. 1992. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev*, 56 (1):152-179.
 205. Weigl JAI, Puppe W, Schmitt HJ. 2002. The incidence of influenza-associated hospitalizations in children in Germany. *Epidemiol Infect*, 129: 525-534.
 206. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. 2003. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest*, 112(12):1796-1808.
 207. White J, Kartenbeck J, Helenius A. 1982. Membrane fusion activity of influenza virus. *EMBO J*, 1(2):217-222.
 208. Wiley DC, Skehel JJ. 1987. The structure and function of the hemagglutinin membrane glycoprotein of influenza virus. *Annu Rev Biochem*, 56:365-394.
 209. Wilson IA, Skehel JJ, Wiley DC. 1981. Structure of the haemagglutinin membrane glycoprotein of influenza virus at 3 Å resolution. *Nature*, 289(5796):366-373.
 210. World Health Organization. Influenza factsheet. 2007. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/>
 211. Wright PF, Ross KB, Thompson J, Karzon DT. 1977. Influenza A infections in young children. Primary natural infection and protective efficacy of live-vaccine-induced or naturally acquired immunity. *N Engl J Med*, 296:829-834.
 212. Varghese JN, Laver WG, Colman PM. 1983. Structure of the influenza virus glycoprotein antigen neuraminidase at 2.9 Å resolution. *Nature*, 303 (5912):35-40.
 213. Viboud C, Alonson WJ, Simonsen L. 2006. Influenza in tropical regions. *PloS Med*, 3(4):e89.
 214. Voeten JT, Groen J, van Alphen D, Claas EC, de Groot R, Osterhaus AD, Rimmelzwaan GF. 1998. Use of recombinant nucleoproteins in enzyme-linked immunosorbent assays for detection

- of virus-specific immunoglobulin A (IgA) and IgG antibodies in influenza virus A- or B-infected patients. *J Clin Microbiol*, 36(12):3527-3531.
215. Yasuda J, Nakada S, Kato A, Toyoda T, Ishihama A. 1993. Molecular assembly of influenza virus: association of the NS2 protein with virion matrix. *Virology*, 196(1):249-255.
216. Yamazaki M, Mitamura K, Kimura K, Komiyama O, Nirasawa M, Yamamoto K, Ichikawa M, Someya K, Nakano T, Hashimoto Y, Hagiwara N, Maezawa T, Watanabe S, Shimizu H, Sugaya N. 2001. Clinical evaluation of an immunochromatography test for rapid diagnosis of influenza. *Kansenshogaku Zasshi*, 75(12):1047-1053.
217. Watanabe S, Shimizu H, Kawakami C, Imai M. 1999. Evaluation of an optical immunoassay test for rapid detection of influenza A and B viral antigen. *Kansenshogaku Zasshi*, 73(12):1199-1204.
218. World Health Organization. Influenza factsheet. 2007. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/>)
219. Wright PF. 2006. The use of inactivated influenza vaccine in children. *Semin Pediatr Infect Dis*, 17(4):200-205.
220. Wolf T, Brodt HR. 2009. Die „Schweinegrippe“ Influenza A/H1N1- eine Probe Pandemie?. *Dtsch Med Wochenschr*, 134:1539-1541.
221. Wright PF, Ross KB, Thompson J, Karzon DT. 1977. Influenza A infections in young children. Primary natural infection and protective efficacy of live-vaccine-induced or naturally acquired immunity. *N Engl J Med*, 296:829-834.
222. Wutzler P, Schmidt-Ott R, Hoyer H, Sauerbrei A. 2009. Seroprevalence of influenza A and B in pregnant women and their offspring. *J Clin Virol*, 46:161-164.
223. Zangwell KM, Belshe RB. 2004. Safety and efficacy of trivalent inactivated influenza vaccine in young children: a summary for the new era of routine vaccination. *Pediatr Infect Dis J*, 23:189-197.
224. Zucs P, Buchholz U, Haas W, Uphoff H. 2005. Influenza associated excess mortality in Germany, 1985 – 2001. *Emerg Themes Epidemiol*, 2:6.