

**Aus dem Department für Diagnostische Labormedizin  
der Universität Tübingen  
Institut für Medizinische Virologie  
und Epidemiologie der Viruskrankheiten**

**Epidemiologische und klinische  
Aspekte der Hantavirusinfektion  
im  
Einzugsgebiet des Universitätsklinikums Tübingen  
Zeitraum: 2001-2013**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des  
Doktorgrades der Medizin

der Medizinischen Fakultät der  
Eberhard Karls Universität zu Tübingen

Vorgelegt von:  
Wirth, Mario

2018

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. G. Jahn

2. Berichterstatter: Professor Dr. G. Kremsner

Tag der Disputation: 26.06.2017

**Widmung:**

Meinem verstorbenen väterlichen Freund

Dr. med. Christoph Steinle

Ludwigsburg-Neckarweihingen



<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>VII</b>
<b>TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>VIII</b>
<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS:.....</b>	<b>IX</b>
<b>1    <b>EINLEITUNG .....</b></b>	<b>1</b>
<b>1.1    <b>Das Hantavirus .....</b></b>	<b>1</b>
1.1.1    Virologische Grundlagen.....	1
1.1.2    Klinische Manifestationen .....	3
<b>1.2    <b>Epidemiologie .....</b></b>	<b>5</b>
1.2.1    In Deutschland.....	5
1.2.2    Ursachen der epidemiologischen Entwicklung.....	7
<b>1.3    <b>Diagnose einer Hantavirusinfektion, Typ PUUV.....</b></b>	<b>8</b>
1.3.1    Maßnahmen zur Infektionsvermeidung .....	9
<b>1.4    <b>Zielsetzung der Arbeit, Fragestellung .....</b></b>	<b>10</b>
<b>2    <b>MATERIAL UND METHODEN .....</b></b>	<b>12</b>
<b>2.1    <b>Patientenkollektiv, Erfassungszeitraum, Erfassungskriterien .....</b></b>	<b>12</b>
<b>2.2    <b>Untersuchungsmethoden .....</b></b>	<b>14</b>
<b>2.3    <b>Untersuchungsparameter.....</b></b>	<b>18</b>
<b>2.4    <b>Nachuntersuchung, Ethikvotum .....</b></b>	<b>18</b>
2.4.1    Antikörperbestimmung .....	20
<b>2.5    <b>Statistische Auswertungen .....</b></b>	<b>22</b>
<b>2.6    <b>Graphische Darstellungen.....</b></b>	<b>23</b>
<b>3    <b>ERGEBNISSE .....</b></b>	<b>25</b>
<b>3.1    <b>Jahreszeitliche Häufungen.....</b></b>	<b>25</b>
<b>3.2    <b>Wohnorte der Patienten .....</b></b>	<b>26</b>
<b>3.1    <b>Analysen des Patientenkollektivs .....</b></b>	<b>33</b>

3.1.1	Analysen 2001-2013.....	33
<b>3.2</b>	<b>Nachuntersuchungen 2014 und 2015.....</b>	<b>47</b>
3.2.1	Nachweis Puumalavirus-spezifischer Antikörper in der Nachuntersuchungskohorte.....	58
<b>4</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>60</b>
4.1	Charakterisierung der Analysen.....	60
4.2	Epidemiologische Entwicklung .....	61
4.3	Geographische Verteilung.....	62
4.4	Analysen 2001 - 2013 .....	63
4.5	Korrelationsanalysen der Nachuntersuchungskohorte .....	65
4.5.1	Analyse der Antikörperbestimmung .....	67
4.6	Schlussfolgerungen.....	68
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>69</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>72</b>
<b>7</b>	<b>ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL DER DISSERTATIONSSCHRIFT</b>	<b>79</b>

## **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Klinische Stadien .....	4
Abbildung 2: Epidemiologische Verteilung 2001-2013 .....	6
Abbildung 3: Gemeldete PUUV-Infektionen 2001-2013 .....	8
Abbildung 4: Aufstellung der Nachuntersuchungskohorte .....	19
Abbildung 5: Einzugsgebiet UKT .....	26
Abbildung 6: Hauptwaldgebiete .....	27
Abbildung 7: Wohnorte .....	27
Abbildung 8: Stadtgebiet Rottenburg am Neckar .....	29
Abbildung 9: Stadtgebiet Tübingen .....	30
Abbildung 10: Stadtgebiet Mössingen .....	31
Abbildung 11: Gemeindegebiet Dettenhausen .....	32

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Gemeldete PUUV-Infektionen im UKT, Zeitraum 2001-2013.....	12
Tabelle 2: Untersuchungen im Virologischen Labor des UKT.....	14
Tabelle 3: Untersuchungen im Zentrallabor des UKT .....	17
Tabelle 4: Testverfahren der Antikörperbestimmung .....	21
Tabelle 5: Mittelwerte der Temperaturen; Halbjahresfallzahlen .....	25
Tabelle 6: Biometrische Daten .....	35
Tabelle 7: Symptome bei der stationären Aufnahme .....	38
Tabelle 8: Nierenfunktionsparameter .....	41
Tabelle 9: Verlauf laborchemischer Parameter .....	44
Tabelle 10: Stichprobenübersicht der Thrombozyten.....	45
Tabelle 11: Biometrische Merkmale .....	49
Tabelle 12: Ergebnisse und Vergleich.....	52
Tabelle 13: Detaillierte Darstellung der Subgruppenanalyse .....	56
Tabelle 14: Zusammenfassung der serologischen Puumalavirus-spezifischen Antikörpernachweise .....	58
Tabelle 15: Auffällige Ergebnisse der serologischen Puumalavirus-spezifischen Antikörpernachweise .....	59

## Abkürzungsverzeichnis:

$\alpha_1$ -Mikroglob	=	$\alpha_1$ -Mikroglobulin
$\alpha_2$ -Makroglob	=	$\alpha_2$ -Makroglobulin
ANDV	=	Andes-Virus
ARDS	=	Acute Respiratory Distress Syndrom
CKD-EPI	=	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
DAF/CD55	=	Complement decay-accelerating factor
DOBV	=	Dobrava-Virus
ELISA	=	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
Ew <sub>qual</sub>	=	Eiweiß qualitativ
Ew-Konz	=	Eiweiß-Konzentration
FRNT	=	Fokusreduktions-Neutralisationstest
GPn	=	Glykoprotein n
GPc	=	Glykoprotein c
Glukqual	=	Glukose qualitativ
eGFR	=	berechnete glomeruläre Filtrationsrate
HFRS	=	Hämorrhagisches Fieber mit Renalem Syndrom
HV	=	Hantavirus / Hantaviren
HVI	=	Hantavirusinfektion
HNTV	=	Hantaanvirus
HPS/HCPS	=	Hantavirus-induziertes (kardio-)pulmonales Syndrom
IfSG	=	Infektionsschutzgesetz
Ig	=	Immunglobulin
IgA	=	Immunglobulin A
IgG	=	Immunglobulin G
IgG-AK	=	Immunglobulin G-Antikörper
IgG-Konz	=	IgG-Konzentration
IgM	=	Immunglobulin M
IgM-AK	=	Immunglobulin M-Antikörper
i.m.	=	intramuskulär
Krea-Konz	=	Kreatinin-Konzentration

## Abkürzungsverzeichnis:

NE	=	Nephropathia epidemica
NGAL	=	Neutrophilen Gelatinase-assoziiertes Lipocalin
NSAR	=	Nichtsteroidale Antirheumatika
PCR	=	Polymerase-Kettenreaktion
PHV	=	Prospect-Hill Virus
PUUV	=	Puumalavirus
Q	=	Quotient rechnerisch
Quot	=	Quotient im Text
RdRp	=	RNA-abhängige RNA-Polymerase
RNA/RNS	=	Ribonucleic acid/Ribonukleinsäure
Rodentizide	=	chemische Nagetierbekämpfungsmittel
SD	=	Standard Deviation (Standardabweichung)
SEOV	=	Seoulvirus
SNV	=	Sin Nombre Virus
T- Zelle	=	T-Lymphozyt des Immunsystems
TULV	=	Tulavirus
U-Alb	=	Albumin im Urin
U-Ew	=	Eiweiss im Urin
U-IgG	=	Immunglobulin G im Urin
UKT	=	Universitätsklinikum Tübingen
U-Krea	=	Kreatinin im Urin
WHO	=	Weltgesundheitsorganisation

# **1 Einleitung**

## **1.1 Das Hantavirus**

### **1.1.1 Virologische Grundlagen**

Die Charakterisierung und Isolierung der ersten Hantaviren (HV) in der Zellkultur erfolgte in den 1950er Jahren, nachdem während des Korea-Krieges über 3000 US-Soldaten in der Nähe des Flusses Hantan an schwerem hämorrhagischen Fieber erkrankten.

Ende der 1970er Jahre wurde das Hantaanvirus (HTNV) als Auslöser des koreanischen Hämorrhagischen Fiebers beschrieben; als Reservoir wurde die Brandmaus *Apodemus agrarius* identifiziert (1).

In den letzten Jahren wurde eine große Zahl neuer HV entdeckt. Ebenso wurden in zyklischen Abständen auftretende Häufungen und Ausbrüche humaner Erkrankungen durch HV festgestellt (2).

Natürliche Wirte von HV sind Nagetiere. Jedes HV wird mit einer Nagetierart assoziiert. Die Verbreitung der HV unterliegt der geographischen Verteilung des natürlichen Wirts. Durch HV wird eine Infektion verursacht, die dem natürlichen Wirt nicht schadet.

HTNV, Seoulvirus (SEOV) und Dobrava-Belgrad-Virus (DOBV) sind die typischen Viren, welche zu der Gruppe der Murinae-assoziierten HV gehören. Puumalavirus (PUUV), zählt zu den Arvicolinae-assoziierten HV, während die Hantavirus Cardiopulmonary Syndrome (HCPS) auslösenden Sin Nombre Virus (SNV) und Andes-Virus (ANDV) zu der Gruppe der Sigmodontinae-assoziierten HV gehören (3). Es gibt HV, deren humane Pathogenität unklar ist oder die als nicht-humanpathogen deklariert werden. Das Prospect Hill Virus (PHV) gilt als Beispiel für ein nicht-humanpathogenes HV. Es wurden weitere HV beschrieben, die mit Spitzmäusen und Maulwürfen assoziiert werden. Andere HV wurden in verschiedenen Fledermausarten in Amerika, Asien und Afrika gefunden (4-7). Deren Humanpathogenität ist momentan unklar und bedarf weiterer Untersuchungen (8, 9). Eine Mensch-zu-Mensch-Übertragung ist mit Ausnahme des südamerikanischen ANDV nicht belegt (10).

HV sind behüllte Viren mit sphärischer Gestalt. Die Viruspartikel variieren im Durchmesser zwischen 70 und 210 nm. Die Glykoproteine GPn und GPc sind in die Lipidmembran des Virus eingebaut. Im Inneren des

Viruspartikels finden sich drei Genomsegmente, bestehend aus Nukleoprotein und RNA. An diese Segmente ist jeweils die RNA-abhängige RNA-Polymerase (RdRp) angelagert. Diese drei Genomsegmente bilden das Virusgenom, welche der Größe nach als L- (large), M- (medium) und S-Segment (small) benannt werden. Das L-Segment kodiert die virale RNA-Polymerase und besitzt sowohl die Replikase- als auch die Transkriptasefunktion. Auf dem M-Segment befindet sich die kodierende Sequenz des Vorläuferglykoproteins, welches in die beiden Hüllproteine GPc und GPn kotranslational gespalten wird (11). Das Nukleoprotein wird von dem S-Segment kodiert, das ein Nichtstrukturprotein (NSs) kodiert und bei manchen HV überlappende Leserahmen besitzt (12).

Im Replikationszyklus bildet das Virus die Integrine der Wirtszelloberfläche. Als Ko-Rezeptoren wurden DAF/CD55 beschrieben. Pathogene und apathogene HV scheinen unterschiedliche Rezeptoren zu benutzen. Über einen Clathrin-abhängigen Endozytosemechanismus gelangt das Virus in das Zellinnere. Hochkonservierte 3'- und 5'-terminale Sequenzen scheinen für die Initiation der Transkription durch zelluläre Primer-Sequenzen und der Replikation durch virale RdRp bedeutsam zu sein. Den Transskripten fehlt ein polyA-Schwanz und die 5'-Caps stammen von zellulären messenger-RNA-Molekülen. Über eine zyklische RNA-Zwischenstufe erfolgt die Neusynthese der viralen RNA ohne Nutzung von zellulären Primern. Im Golgi-Apparat erfolgt die Reifung der Viruspartikel an Zellkompartimenten. Bei HNTV, die auf den amerikanischen Kontinenten vorkommen (Neuwelt-HV), wird angenommen, dass die Reifung direkt an der Zellmembran erfolgt. Die Viruspartikel werden vom Golgi-Apparat in Vesikeln direkt zur Zelloberfläche transportiert und exozytiert (13).

Endothel- und Epithelzellen, aber auch weitere Zelltypen, wie dendritische Zellen als wichtige Komponenten einer Immunantwort, stellen die Zielzellen der HV dar. Die Vermehrung der HV in Endothelzellen ruft keinen zytopathischen Effekt hervor. Immunpathologische Mechanismen im infizierten Organismus führen zu einer Schädigung infizierter Zellen und zu einer Verminderung der endothelialen Barrierefunktion (3). Die

Pathogenese der HVI manifestiert sich durch Vasodilatation und Störung der Barrierefunktion von Endothelzellen der Kapillaren. Es kann zu Blutungen, Veränderungen in der Gerinnungsfähigkeit durch vermehrte Aktivierung des Faktors XII und Entzündungsprozessen in den inneren Organen kommen, wie beispielsweise in Niere und Lunge (14).

### **1.1.2 Klinische Manifestationen**

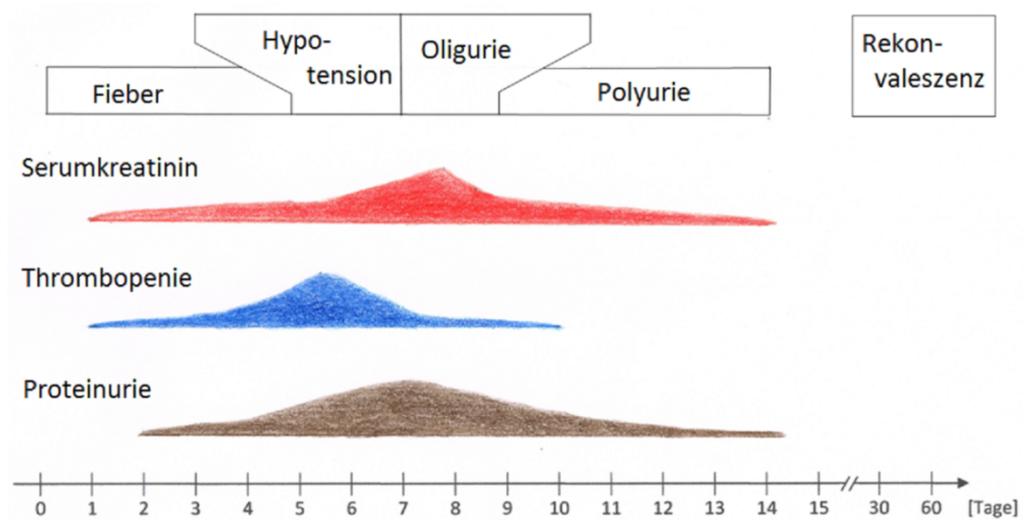
Die Nephropathia epidemica (NE), die Feldnephritis, die hämorrhagische Nephrose-Nephritis und das koreanische hämorrhagische Fieber sind in Europa und Asien seit den 1950-er Jahren bekannt.

Die NE wird durch das Puumalavirus übertragen und ist eine milde Form; sie wird begrifflich als „hämorrhagisches Fieber mit renalem Syndrom“ (HFRS) zusammengefasst (15-17). Manifestiert sich die Infektion nicht als NE, sondern mit einer (cardio-)pulmonalen Beteiligung wird sie als HV-induziertes (cardio-)pulmonales Syndrom (HPS/HCPS) beschrieben. Nach zwei bis drei Wochen ist die Inkubationszeit üblicherweise vorbei, wobei auch Fristen bis zu sechs Wochen beobachtet wurden (18).

In Deutschland werden die süd- und südwestlichen Gebiete seit Anfang der 90er-Jahre zu den Endemiegebieten gezählt, besonders Baden-Württemberg und Bayern (19).

Der Krankheitsverlauf lässt sich nach Aberle grob in fünf Phasen einteilen (Abb. 1). Die erste Phase ist eine febrile Phase. Diese beginnt abrupt und hält über drei bis vier Tage an, begleitet von möglichen Kopf-, Rücken-, Bauch- und Gliederschmerzen, sowie Schüttelfrost, Übelkeit, Erbrechen und Konjunktivitis. Nach den ersten drei bis vier Tagen folgt eine „Hypotensionsphase“. In dieser Phase kann es zu hämodynamischen Störungen kommen, die durch Gewebs- und konjunktivale Einblutungen sowie Petechien erkennbar sein können. Im Anschluss folgt eine „oligurische“ Phase, bevor es zu einer „polyurischen“ Phase kommt und der Verlauf schließlich mit der Rekonvaleszenzphase endet. In der Hypotensionsphase kann ein lebensbedrohlicher Schock auftreten.

Die HVI kann bei HCPS-Patienten zu einem Lungenversagen führen, während bei HFRS-Patienten ein akutes Nierenversagen auftreten kann. Sehr selten kann ein Patient dialysepflichtig werden (3, 20-23).



**Abbildung 1: Klinische Stadien**

Klinische Stadien und charakteristische Befunde beim Hämorrhagischen Fieber mit Renalem Syndrom modifiziert nach Aberle, J. et al. (24)

## **1.2 Epidemiologie**

### **1.2.1 In Deutschland**

Die Hantavirusinfektion gehört mit Influenzaviren, Hepatitis C-Virus, Rotavirus und Noro-Virus zu den fünf häufigsten diagnostizierten Viruserkrankungen in Deutschland (25). Hantaviren verbreiten sich über die ausgeschiedenen Exkreme (Stuhl und Urin) und Speichel des Nagers. Viruspartikel werden durch Einatmen auf den Menschen übertragen (26). Selten kann es durch Bissverletzung zu direkter Übertragung zwischen Reservoirtier und Mensch kommen (10).

In den 1980er Jahren wurde über die ersten humanen HVI in Deutschland berichtet (27). Durch sero-epidemiologische Studien konnten mindestens zwei verschiedene HV in Deutschland nachgewiesen werden (28). Eine Infektion durch Tulavirus (TULV), DOBV und PUUV kann mittels Neutralisationstests und molekularen Tests serologisch belegt werden. Durch serologische Testverfahren, wie Immunblot und Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), werden HVI in der Routinediagnostik nachgewiesen. Labordiagnostisch bestätigt sich eine HVI in der Regel durch den Nachweis von Immunglobulin M-Antikörpern (IgM-AK), einen Titer-Anstieg von Immunglobulin-G-Antikörpern (IgG-AK) und möglicherweise die Isolierung des Virus, sowie eine positive Polymerase-Kettenreaktion (PCR) (19, 29-35).

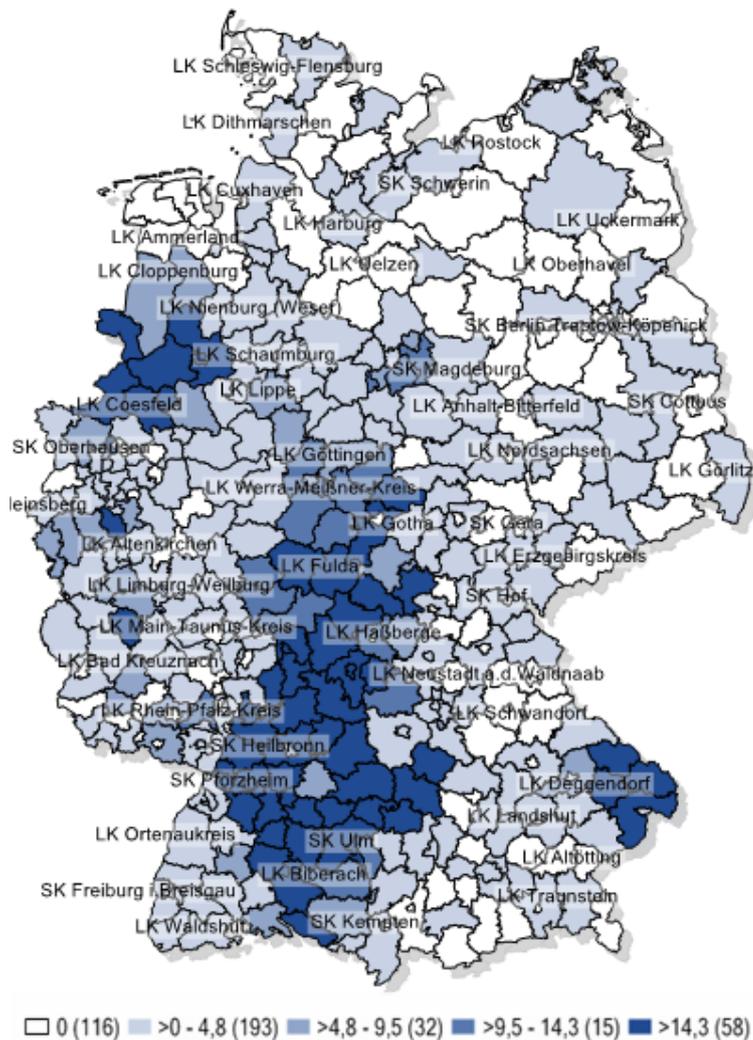
Im Zeitraum von 2001 bis 2013 wurden bisher 8370 humane HVI in Deutschland gemeldet (Stand 25.08.2014) (36).

Die gemeldeten Fälle sind geografisch ungleichmäßig verteilt (Abb. 2). In den Bundesländern Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen, Hessen, Baden-Württemberg und Bayern, in den Regionen Teutoburger Wald, Münsterland, Nordhessen, Spessart, Schwäbische Alb und Bayerischer Wald findet man ein deutlich häufigeres Auftreten von HVI. Sie sind bereits seit vielen Jahren als HV-Endemiegebiete bekannt (28, 37-41).

Das PUUV wird durch die Rötelmaus *Myodes glareolus* übertragen und kann bei Infektion eine NE verursachen [26, 37, 43, 44]. Verstärkte geografische Verbreitung der PUUV-Infektionen zeigt sich besonders im Süden, Westen und Nordwesten Deutschlands.

In verschiedenen Regionen weisen die PUUV-Stämme markante genetische Unterschiede auf, wobei PUUV-Stämme auf lokaler Ebene hohe genetische Ähnlichkeiten zeigen [39, 40, 45, 46].

Im Zeitraum Oktober 2011 bis April 2012 wurden in Deutschland 852 Fälle gemeldet, davon waren 580 Fälle aus dem südlichen Teil Baden-Württembergs (42).

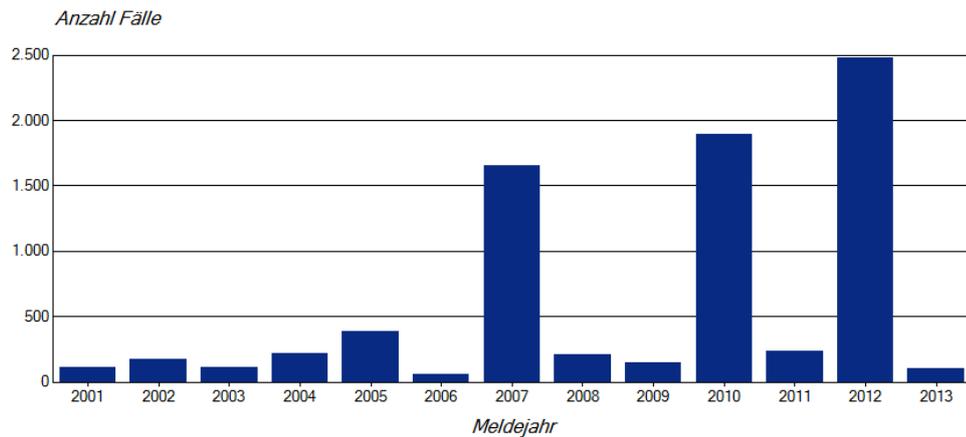


**Abbildung 2: Epidemiologische Verteilung 2001-2013**

Übermittelte PUUV-Infektionen pro 100 000 Einwohner nach Kreis, Deutschland, 2001-2013. Die runde Klammer beschreibt die Anzahl der Landkreise, davor ist die Inzidenz der gemeldeten Infektionen angegeben. Mit freundlicher Genehmigung des Robert-Koch-Institutes, Berlin (43)

### 1.2.2 Ursachen der epidemiologischen Entwicklung

Der wichtigste Hauptreservoir-Wirt für das humanpathogene Puumala-Virus ist die Rötelmaus. Das hohe Reproduktionspotenzial und das flexible Sozialsystem dieser Kleinnager tragen maßgeblich zur eruptiven Verbreitung von HV innerhalb der Population bei. Die fluktuierende Populationsdynamik dieser Kleinnager entsteht durch dichteabhängige Prozesse (44, 45). Norddahl und Korpimäki zeigten, dass in den hohen Breitengraden Nordeuropas vor allem die Räuber-Beute-Dynamik für die großflächige Synchronisierung von Populationsdynamiken verantwortlich ist (46). Für mitteleuropäische Landschaften ist dies als Erklärung nicht ausreichend und muss auf weitere Faktoren wie Klima, Landschaftsstruktur und Landnutzung ausgedehnt werden. Das Gebiet mit dem prozentual höchsten Buchenwaldanteil in Deutschland ist die Schwäbische Alb. Hier wird auch die höchste endemische Inzidenzrate gemeldet. Im Schwarzwald beispielsweise ist die Steilheit der Hänge unter den deutschen Mittelgebirgen am stärksten ausgeprägt. Dort wachsen hauptsächlich Nadelbäume, welche von den Rötelmäusen weniger bevorzugt werden (47, 48). Für die Überlebensrate der Rötelmaus im Winter ist die klimatisch beeinflusste Nahrungsverfügbarkeit je nach Menge der Buchenfruktifikation aus dem Vorjahr bedeutsam (49, 50). Es wird vermutet, dass milde (weniger Kälte) und schneereiche (besserer Kälteschutz) Winter eine größere Zahl von HVI begünstigen (50). Diese Klimavoraussetzungen erhöhen die Überlebensraten der Tiere und damit im Folgejahr ihre Populationsdichte. Es besteht ein klarer Zusammenhang zwischen Massenvermehrung der Rötelmaus und Häufigkeit von HVI-Ausbrüchen (19).



**Abbildung 3: Gemeldete PUUV-Infektionen 2001-2013**

Anzahl der übermittelten PUUV-Infektionen, Deutschland, 2001-2013. Mit freundlicher Genehmigung des Robert-Koch-Institutes, Berlin (43)

### 1.3 Diagnose einer Hantavirusinfektion, Typ PUUV

Für die virale Infektionsdiagnostik werden serologische Tests verwendet. Immunoblot und Immunfluoreszenz-Tests, sowie Enzymimmunoassays sind Tests, die häufig angewendet werden (3, 13). Können mit PUUV-Antigen Immunglobulin M (IgM) und Immunglobulin G (IgG) nachgewiesen werden, spricht dies für eine frische HVI.

Werden neutralisierende Antikörper gegen die viralen Hüllproteine bestimmt oder eine RNA-Sequenzanalyse durchgeführt, ist eine verlässlichere HV-Typisierung möglich (51).

Um Virusstämme unterschiedlicher Ausbruchsregionen in Deutschland noch feiner differenzieren zu können, sind die Amplifikation der Virus-Nukleinsäure und deren Sequenzanalyse erforderlich.

Das Virus wird nach den ersten Krankheitstagen aus dem Blut eliminiert. Daher ist eine Vollblut- bzw. Serumdiagnostik für den PCR-Nachweis nur in den ersten Tagen der HVI möglich (25). Im Regelfall beruht die Labordiagnostik einer PUUV-Infektion auf serologischen Verfahren; Sie ermöglichen den Nachweis von IgM, IgG und IgA (52).

Durch das vermehrte Aufkommen der Rötelmaus im Einzugsgebiet des Universitätsklinikums Tübingen (UKT) finden HVI durch PUUV mit größerer Häufigkeit statt ((53), Tab.1).

Durch eine schnelle Bindung des PUUV-IgM-AK an das Nukleokapsidprotein des PUUV können nach fünf Minuten PUUV-IgM-AK mit dem immunchromatischen Schnelltest Reagentia POC® PUUMALA IgM

nachgewiesen werden und bei einer frischen Infektion ein vorläufiges Ergebnis liefern. Die Spezifität und Sensitivität des Testergebnisses variiert nach Angaben des Herstellers zwischen 83% und 100% im Vergleich zu herkömmlichen ELISA-Tests (54).

Zur serologischen Diagnostik wird am UKT der „Hantavirus Puumala IgG/IgM ELISA Test“ der Firma Progen routinemäßig verwendet. Mit diesem Test können spezifische Antikörper gegen PUUV im Serum des Patienten nachgewiesen werden, wobei eine mit rekombinantem Nukleokapsidprotein des PUUV beschichtete Mikrotitrierplatte verwendet wird. Serologische Kreuzreaktionen mit anderen HV können auftreten. Bei der Immunfluoreszenz IgG-positiver Seren für PUUV beträgt die Sensitivität 99% und die Spezifität 97%; bei IgM-positiven Seren beträgt die Sensitivität und Spezifität 99% (Tab.2).

Mit dem Immunoblot „*recom*Line HantaPlus IgG/IgM Test“ der Firma Mikrogen (Tab.2) wird die Typisierungsdiagnostik weiterer Serotypen wie SNV, HNTV, DOBV, SEOV und PUUV durchgeführt. Dieser Test ist auch eine Bestätigung für positive oder fragliche Screening-Ergebnisse mit den zuvor aufgeführten Tests. Er kann ebenso als reiner Screening-Test eingesetzt werden. Beim Nachweis von anti-Hantavirus IgG-positiven Seren beträgt die Sensitivität 96,1% und die Spezifität 100%; bei anti-Hantavirus IgM-positiven Seren beträgt die Sensitivität 98,3% und Spezifität 94,1% (Tab.2).

Eine sichere Serotypisierung ist zusammen mit einer Reiseanamnese des Patienten in und außerhalb Europas bzw. Deutschlands möglich. Gegebenenfalls ist eine Bestätigung der Serotypisierung durch PCR und Sequenzierung nötig.

### **1.3.1 Maßnahmen zur Infektionsvermeidung**

Bis heute gibt es in Deutschland keinen Impfstoff, der von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) gegen HVI aller Serotypen empfohlen wurde (55). PUUV-Infektionen treten in Deutschland während des ganzen Jahres auf. Die Infektionsgipfel liegen im Frühjahr und im Sommer, also von Mai bis September (23). Der Expositionsprophylaxe kommt hohe Bedeutung zu, durch die der Kontakt zu Nagetieren und zu deren

Exkrementen vermieden werden kann (56). Durch das Einhalten bestimmter Ordnungs- und Hygienestandards kann das Einwandern von Mäusen in den Haushalt vermieden werden. Das Haus sollte abgedichtet sein, vor allem Fugen und Ritzen an Fenstern, Türen und Wänden. Bekämpfungsmaßnahmen sollten eingeleitet werden, falls sich Hinweise auf Mäuse im Haus- oder Wohnbereich zeigen. Mittels Schlagfallen und/oder Rodentiziden können unter Berücksichtigung des Artenschutzes nach dem Bundesnaturschutzgesetz Nager beseitigt werden (56).

Durch Desinfektion mit Alkohol wird die Hülle der HV zerstört und das Infektionsrisiko verringert. Allerdings gilt zu beachten, dass bei der Beseitigung toter Mäuse und deren Exkrementen besondere Vorsicht geboten ist. Experimentelle Untersuchungen haben gezeigt, dass HV in organischen Materialien eine außerordentlich hohe Stabilität haben und auch außerhalb des Nagetierwirts längere Zeit infektiös bleiben können. Die Dauer der Inkubationszeit hängt von mehreren Faktoren ab, wie Hüllprotein der HV-Spezies, Luftfeuchtigkeit und Temperatur, und kann sich zwischen mehreren Tagen und Wochen bewegen (57). Daher ist zu Beginn eine Sprühdesinfektion indiziert und es sollten Staubaufwirbelungen von Regalen und Böden durch z.B. Oberflächenbefeuchtung vermieden werden. Bei der vorsichtigen Entsorgung der Kadaver in verschließbaren Plastiktüten sollten Handschuhe und Mundschutz getragen werden. Häufig exponierte Personen, z.B. Forstarbeiter, sollten die eben genannten Vorschriften ganz besonders berücksichtigen (23, 56, 58).

#### **1.4 Zielsetzung der Arbeit, Fragestellung**

In diese retrospektive klinische Studie wurden 145 Patienten aus dem Zeitraum 2001-2013 aufgenommen, die mit der Diagnose einer NE im UKT behandelt wurden. Das Hauptaugenmerk wurde auf die klinischen Symptomverläufe von erhöhter Körpertemperatur, Rücken- und Flankenschmerzen, Kopfschmerzen, Gliederschmerzen, Übelkeit und Erbrechen, Visusminderung, abdominelle Schmerzen und die Korrelation von vorher definierten laborchemischen Blutparametern, sowie Entzündungs-, Nieren- und Leberwerte gerichtet.

Die epidemiologische Ausbreitung der NE im Einzugsgebiet des UKT ist eine ebenso wichtige Fragestellung. Es sollte gezeigt werden, wie sich die Patientenkohorte geografisch verteilt und ob sich regionale Inzidenzhäufungen feststellen lassen.

Ziel dieser Arbeit ist es zu zeigen, inwiefern sich Auffälligkeiten zwischen der Symptomatik und der Höhe einzelner laborchemischer Parameter ableiten lassen. Es sollte geprüft werden, ob es laborchemische Parameter gibt, die bei entsprechender Ausprägung mit der klinischen Symptomatik der Patienten korrelieren und ob sich daraus Zusammenhänge ableiten lassen.

Eine weitere Fragestellung dieser Arbeit ist, in wie weit die NE Spätfolgen oder Komplikationen zeigt. Hierzu wurde in einer Nachuntersuchung eine genaue Patientenanamnese erhoben, sowie bestimmte Nierenfunktionsparameter untersucht und ausgewertet. Dabei sollte ebenso der aktuelle Serostatus nach einer NE auch noch nach mehreren Jahren durch die Bestimmung von Antikörpern im Serum miterfasst werden.

Nachuntersuchungen von Patienten dieser Studie wurden durch ein positives Ethikvotum unterstützt.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Patientenkollektiv, Erfassungszeitraum, Erfassungskriterien

Die Datenerhebung erfolgte im Institut für Medizinische Virologie des UKT mittels einer Suchanfrage in der Datenbank des Laborinformationssystems SwissLab<sup>®</sup>. Es wurden alle Fälle von HVI im Zeitraum 2001 bis 2013 erfasst. 290 Fälle wurden in diesem Zeitraum gefunden (Tab. 2).

Jahr	Gemeldete Fälle nach IfSG:	Auswärtige Einsender:
2001	2	0
2002	7	1
2003	4	0
2004	12	2
2005	12	5
2006	1	1
2007	118	98
2008	0	0
2009	12	5
2010	35	8
2011	8	5
2012	79	19
2013	0	0
Gesamt	290	144

**Tabelle 1: Gemeldete PUUV-Infektionen im UKT, Zeitraum 2001-2013**

Übersicht der gemeldeten PUUV-Infektionen im UKT, Zeitraum 2001-2013 und auswärtige Einsender

Die Bestimmung der HV-IgG-AK wurde zwischen den Jahren 2001 bis 2004 routinemäßig in die serologische Diagnostik des UKT aufgenommen. Bei 19 Patienten waren nur IgM-AK positiv, während die IgG-AK nicht bestimmt worden waren. Da sich diese Patienten innerhalb des Intervalls von 2001 bis 2004 befanden, wurde jeder dieser Patienten darauf geprüft, ob die klinischen Zeichen und die Serologie zu einer HVI passen (vgl. 1.1.2 und 1.3). Nach dieser Plausibilitätsprüfung wurden zwei Patienten von der Studie ausgeschlossen.

Über das Krankenhausinformationssystem i.s.h.med. von SAP® wurden die Krankenakten der am UKT behandelten Patienten eingesehen.

144 Fälle von in umliegenden Krankenhäusern behandelten Patienten konnten nicht berücksichtigt werden, da deren Dokumentation am UKT nicht vorlag.

Somit wurden primär 146 Patienten in die Studie eingeschlossen.

Nachträglich musste noch ein weiterer Patient ausgeschlossen werden, da er an einer anderen Studie am UKT teilnahm, deren Studiendesign eine gleichzeitige Beteiligung an anderen Studien ausschloss. Somit konnten 145 Patienten in die Studie eingeschlossen und als Kohorte 1 bezeichnet werden.

## 2.2 Untersuchungsmethoden

Untersuchungen im Labor der Med. Virologie:

Analyt (Einheit)	Mess-instrument	Methode	Hersteller
IgG/IgM Test	ELISA	Hantavirus Puumala IgG/IgM ELISA Test Photometrie, Wellenlänge: 450 nm / 650 nm  Auswertung/Interpretation der Ergebnisse entsprechend der Herstellerangaben*	PROGEN Biotechnik GmbH, Maaßstr. 30, 69123 Heidelberg, Deutschland, www.progen.de; Hantavirus Puumala IgG/IgM ELISA, Artikelnummer: PR59156
IgG/IgM Test	Immunoblot	Immunoblot „recomLine Hanta Plus IgG/IgM Test“	MIKROGEN GmbH, Floriansbogen 2-4, 82061 Neuried, Deutschland, www.mikrogen.de; Item no. 7672 + 7673
IgM Test	Immunchromatographie	Immunchromatischer Schnelltest Reagena POC® PUUMALA IgM	REAGENA Int. Oy Ltd, Takojantie 18, 70900 Toivala, Finnland, www.reagena.fi, REF 114001

**Tabelle 2: Untersuchungen im virologischen Labor des UKT**

\*Zur Ermittlung des Ergebnisses wird der Quotient aus der optischen Dichte (OD) der Patientenprobe und der Referenzkontrolle bestimmt:  $OD_{\text{Patientenprobe}}/OD_{\text{Referenzkontrolle}} = Q$

Auswertung für IgG-AK und IgM-AK:

$Q < 1$  = Negativ: keine IgG-AK spezifisch gegen PUUV nachgewiesen.

$1 \leq Q \leq 1,5$ : Keine eindeutige Interpretation möglich. Verlaufskontrolle nach 10 Tagen sollte durchgeführt werden. Es wird bei bestehendem Verdacht auf HVI empfohlen, die Probe auf PUUV IgM-AK und/oder auf AK der Dobrava/Hantaan-Serotypen zu testen.

$Q > 1,5$  = Positiv: spezifische IgG-AK gegen PUUV nachgewiesen.

$Q < 1$  = Negativ: keine IgM-AK spezifisch gegen PUUV nachgewiesen.

$1 \leq Q \leq 2$ : Keine eindeutige Interpretation möglich. Es sollte eine Verlaufskontrolle nach 10 Tagen durchgeführt werden. Bei bestehendem Verdacht auf HVI wird empfohlen, die Probe im DOB/HTN-IgM ELISA zu testen.

$Q > 2$  = Positiv: spezifische IgM-AK gegen PUUV nachgewiesen.

### Untersuchungen im Zentrallabor:

Analyt (Einheit)	Mess-instrument	Methode	Hersteller
Leukozyten (Leukos / $\mu$ l)	ADVIA 2120	Durchflusszytometrie	Siemens Healthcare Diagnostics GmbH Ludwig-Erhard-Straße 12 65760 Eschborn
Thrombozyten (Tsd/ $\mu$ l)	ADVIA 2120	Durchflusszytometrie	Fa. Siemens
Hämoglobin (g/dl)	ADVIA 2120	HGB Reagenz, Spektrometrie	Fa. Siemens
Kreatinin (mg/dl)	ADVIA1800	enzymatische Creatinin_2-Methode	Fa. Siemens
Harnstoff (mg/dl)	ADVIA1800	enzymatische Harnstoff - Methode	Fa. Siemens
Gesamteiweiß (g/dl)	ADVIA1800	Gesamtprotein-II-Methode (Biuret)	Fa. Siemens
Bilirubin Gesamt (mg/dl)	ADVIA1800	Gesamtbilirubin_2-Methode (Vanadat)	Fa. Siemens
LDH (U/l)	ADVIA1800	LDH-Reagenz, enzymatische Messung	Fa. Siemens
GPT/ALT (U/l)	ADVIA1800	Alaninaminotransferase-Methode, enzymatische Messung	Fa. Siemens
GGT (U/l)	ADVIA1800	Gamma-Glutamyl-Transferase-Methode, enzymatische Messung	Fa. Siemens
GPT/ALT (U/l)	ADVIA1800	Alaninaminotransferase-Methode, enzymatische Messung	Fa. Siemens
Kalium (mmol/l)	ADVIA1800	Indirekte Potentiometrie mit ionenselektiver Elektrode	Fa. Siemens
Natrium (mmol/l)	ADVIA1800	Indirekte Potentiometrie mit ionenselektiver Elektrode	Fa. Siemens

<b>Analyt (Einheit)</b>	<b>Mess- instrument</b>	<b>Methode</b>	<b>Hersteller</b>
Calcium (mmol/l)	ADVIA1800	Calcium-Methode mit o- Kresolphthalein-Komplexon	Fa. Siemens
CRP (mg/dl)	ADVIA1800	Latex-verstärkte Immunturbidimetrie	Fa. Siemens
Quick-Wert / INR	ACL TOP	HemosIL, RecombiPlasTin 2G	Werfen GmbH, Klausnerring 4, 85551 Kirchheim bei München
PTT (sec.)	ACL TOP	HemosIL, APTT-SP (liquid)	Werfen GmbH
Urin-Kreatinin- Konzentration (mg/dl)	ADVIA1800	enzymatische Creatinin_2- Methode	Fa. Siemens
Urin-Eiweiß- Konzentration (g/l)	ADVIA1800	Turbidimetrische Methode mit Benzethoniumchlorid	Fa. Siemens
Urin-Albumin- Konzentration (mg/l)	BN PROSPEC	Immunnephelometrie	Fa. Siemens
Urin- $\alpha$ 1- Mikroglobulin- Konzentration (mg/l)	BN PROSPEC	Immunnephelometrie	Fa. Siemens
Urin- $\alpha$ 2- Makroglobulin- Konzentration (mg/l)	BN PROSPEC	Immunnephelometrie	Fa. Siemens
Urin-IgG- Konzentration [mg/l]	BN PROSPEC	Immunnephelometrie	Fa. Siemens
Urin-NGAL (ng/ml)	ADVIA 1800	Latex-verstärkte Immunturbidimetrie	BioPorto Diagnostics, Tuborg Havnevej 15, st., DK-2900 Hellerup, Denmark
Urin-Farbe	iChem- Velocity	Photodiodenarraysensor	Beckman Coulter GmbH, Europark, Fichtenhain B 13, 47807 Krefeld

<b>Analyt (Einheit)</b>	<b>Mess- instrument</b>	<b>Methode</b>	<b>Hersteller</b>
Urin-Trübung	iChem- Velocity	Messung von Streulicht	Beckman Coulter GmbH
Urin- spezifisches Gewicht	iChem- Velocity	Refraktometrie	Beckman Coulter GmbH
Urin-pH	iChem- Velocity	Teststreifen	Beckman Coulter GmbH
Urin-Eiweiß semi- quantitativ	iChem- Velocity	Teststreifen	Beckman Coulter GmbH
Urin- Leukozyten	iChem- Velocity	Teststreifen	Beckman Coulter GmbH
Urin-Nitrit	iChem- Velocity	Teststreifen	Beckman Coulter GmbH
Urin-Bilirubin	iChem- Velocity	Teststreifen	Beckman Coulter GmbH
Urin- Urobilinogen	iChem- Velocity	Teststreifen	Beckman Coulter GmbH
Urin-Ketone	iChem- Velocity	Teststreifen	Beckman Coulter GmbH
Urin-Glukose	iChem- Velocity	Teststreifen	Beckman Coulter GmbH
Urin- Erythrozyten	iQ200	Automatisierte digitale Mikroskopie	Beckman Coulter GmbH
Urin- Leukozyten	iQ200	Automatisierte digitale Mikroskopie	Beckman Coulter GmbH
Urin- Plattenepitheli en	iQ200	Automatisierte digitale Mikroskopie	Beckman Coulter GmbH
Urin-Bakterien	iQ200	Automatisierte digitale Mikroskopie	Beckman Coulter GmbH

**Tabelle 3: Untersuchungen im Zentrallabor des UKT**

### **2.3 Untersuchungsparameter**

Aus den im Krankenhausinformationssystem i.s.h.med von SAP® hinterlegten Dokumenten wurden von den 145 im UKT mit einer HVI behandelten Personen folgende Daten extrahiert. In eine Excel-Tabelle wurden

- der Wohnort,
- grundlegende biometrische Daten,
- mit einer HV-Infektion vereinbare klinische Symptome und
- Ergebnisse von Laboruntersuchungen

pseudonymisiert zusammengeführt, so dass bei der Datenauswertung kein Rückschluss auf einzelne Personen möglich war.

### **2.4 Nachuntersuchung, Ethikvotum**

Um zu evaluieren, ob eine NE ohne Spätfolgen abheilt, wurde eine Nachuntersuchung der 145 im UKT behandelten Personen geplant.

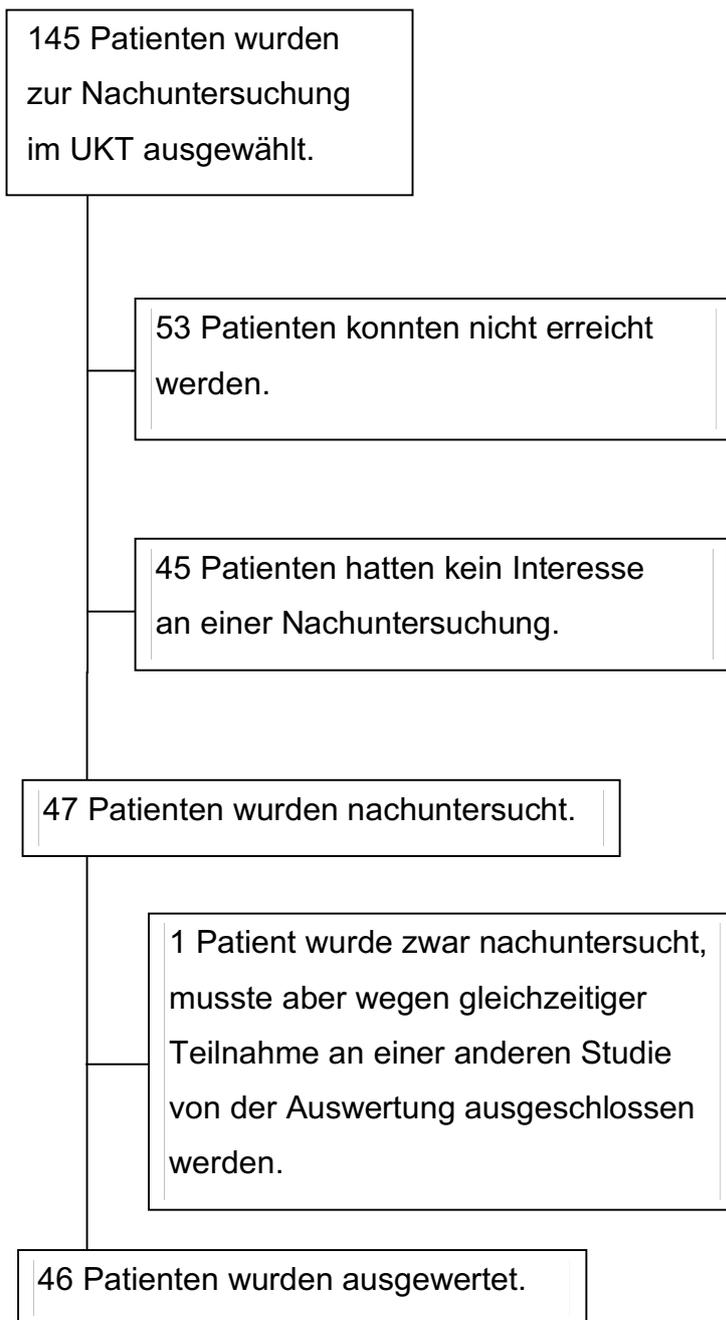
Es wurde ein Ethikantrag verfasst, zu dem ein positives Votum ausgesprochen wurde (226/2014BO2).

Es wurde eine Adress-, sowie Telefonliste aller Patienten erstellt, ein Patientenanschreiben verfasst und dieses an die Patienten versandt. Wenige Tage nach Erhalt des Anschreibens wurden die Patienten telefonisch kontaktiert und es wurde versucht, Termine zu vereinbaren.

47 Patienten entschlossen sich, an der Nachuntersuchung teilzunehmen und wurden als Kohorte 2 zusammengefasst. Ein Patient musste wegen der Teilnahme an einer anderen Studie ausgeschlossen werden. Die Daten von 46 nachuntersuchten Patienten konnten ausgewertet werden.

Im Vorfeld der Nachbeobachtung wurden verschiedene Untersuchungen festgelegt.

Jeder Patient füllte einen Erhebungsbogen zu seinem aktuellen Gesundheitszustand aus. Im Rahmen der Nachuntersuchung wurden diese Erhebungsbögen gemeinsam mit dem Patienten analysiert, die Vitalwerte erhoben, eine venöse Blutentnahme durchgeführt und der Patient zur Abgabe einer Urinprobe angeleitet.



**Abbildung 4: Aufstellung der Nachuntersuchungskohorte**

### 2.4.1 Antikörperbestimmung

Unmittelbar nach der venösen Blutentnahme im Rahmen der Nachuntersuchung wurden die Patientenserumproben pseudonymisiert in das Labor gebracht. Diese wurden dort unmittelbar bei -20°C tiefgefroren, gelagert und am 04. September 2014 in einer zusätzlichen Nachuntersuchung im Labor des Instituts für Medizinische Virologie des UKT auf Antikörper IgM und IgG gegen PUUV untersucht und ausgewertet.

Dabei wurden die aufgetauten Patientenproben (Serumproben) im Testverfahren „Hantavirus Puumala IgG/IgM ELISA“ der Firma Progen ELISA nach den Arbeitsanweisungen zur Methodendurchführung bestimmt.

Testverfahren entsprechend der Herstellerangaben:

1.	Vorbereitung der Komponenten	<i>Hierzu werden die Testkits und der Waschpuffer auf Raumtemperatur (20-26°C) gebracht. Der Proben- und Waschpuffer werden verdünnt. Der Probenpuffer mit 1 ml SB + 19 ml Aqua dest., der Waschpuffer mit 1 ml WP + 19 ml Aqua dest. verdünnen.</i>
2.	Serumverdünnung	<i>Die IgG-AK im ersten Eppendorfhütchen mit 1 ml SB und mit 5 µl Serum verdünnen. Die IgM-AK in einem zweiten Eppendorfhütchen werden mit 250 µl aus dem ersten Eppendorfhütchen und mit 15 µl ABS mischen und anschließend 30 Minuten bei Raumtemperatur (20-26°C) inkubieren.</i>
3.	Zentrifugation	<i>Danach erfolgt eine Zentrifugation bei 12.000 Umdrehungen/Minute (16099 G für 3 Minuten).</i>
4.	Probeninkubation	<i>100 µl der Negativkontrolle, 100 µl Referenzkontrolle (Kalibrator), 100 µl Positivkontrolle, sowie 100 µl der verdünnten Patientenproben laut Arbeitsprotokoll (siehe Arbeitsplatzliste) pipettieren und 45 Minuten bei 37°C inkubieren.</i>

5.	Waschen	<i>Alle Proben werden danach 4-mal mit je 200 µl Waschpuffer gewaschen. Kurz vor Gebrauch wird die Konjugatverdünnung für IgG und IgM hergestellt (950 µl Waschpuffer plus 50 µl IgG-, bzw. IgM-Konjugat).</i>
6.	Konjugatinkubation	<i>In jede Vertiefung der ELISA-Platte wird 100µl der entsprechenden Konjugatverdünnung pipettiert. Die Patientenproben werden nun 45 Minuten bei 37 °C inkubiert.</i>
7.	Waschen	<i>Die Patientenproben erneut 4-mal mit 200ml Waschpuffer waschen.</i>
8.	Substratreaktion	<i>Den Patientenproben 100 µl Substrat hinzugegeben und bei Raumtemperatur in absoluter Dunkelheit 10 Minuten inkubieren.</i>
9.	Stoppen	<i>Die Mikrotiterplatten werden per BEP III photometriert und ausgewertet. Intensität der Farbreaktion innerhalb von 20 Min. bei 450 nm messen (Referenzwellenlänge 650 nm).</i>

**Tabelle 4: Testverfahren der Antikörperbestimmung**

Ablauf der Antikörperbestimmung Hantavirus Puumala IgG/IgM ELISA im Labor des Instituts für Medizinische Virologie des UKT

Für die Auswertung müssen die Kontrollwerte bestimmte Freigabekriterien erfüllen, ansonsten darf der Test nicht ausgewertet werden. Die Proben wurden nach der Auswertungsformel (Quotient aus optischer Dichte der Patientenprobe und der Referenzkontrolle) bestimmt. Die Bewertung erfolgte entsprechend der vorgegebenen Kriterien des Herstellers. Bei IgG-positiven Seren für PUUV beträgt die Sensitivität 99% und die Spezifität 97%; Bei IgM-positiven Seren betragen Sensitivität und Spezifität 99% (siehe Tab. 2 Hantavirus Puumala IgG/IgM ELISA Test).

## 2.5 Statistische Auswertungen

Alle erhobenen Daten und Parameter wurden im Tabellenkalkulationsprogramm Excel 2007<sup>®</sup> pro Patient zusammengetragen und im Anschluss mit Hilfe von SPSS<sup>®</sup> für Windows<sup>®</sup>, Version 23.0 (SPSS Inc., USA) statistisch ausgewertet. Zur Darstellung der metrischen Variablen wurden die Mittelwerte und Mediane ausgewählt, Streumaße als Standardabweichung (SD) und Quartile angegeben.

Die metrischen Variablen wurden hinsichtlich ihrer Normalverteilung mit zwei Tests, dem Kolmogorow-Smirnov- und dem Shapiro-Wilk-Test überprüft.

Mit dem Kolmogorow-Smirnov-Test konnte für manche Variablen keine Normalverteilung berechnet werden ( $p < 0,05$ ). Für andere Variablen konnte dagegen eine Normalverteilung berechnet werden ( $p \geq 0,05$ ).

Mit dem Shapiro-Wilk-Test konnte für einige der getesteten Variablen keine Normalverteilung nachgewiesen werden ( $p < 0,05$ ), für andere Variablen konnte jedoch eine Normalverteilung berechnet werden ( $p \geq 0,05$ ).

Aus diesem Grund wurden Tests für normalverteilte Stichproben und nichtparametrische Tests für nicht normalverteilte Stichproben für die Vergleiche der Stichproben angewendet.

Der t-Test wurde für den Vergleich von zwei unabhängigen, normalverteilten Stichproben verwendet. Zuvor wurde die Homogenität der Varianzen mittels des Levene-Tests überprüft. Bei nachgewiesener Homogenität der Varianzen wurde der Student t-Test durchgeführt, bei fehlender Einheitlichkeit der Varianzen der Welch-Test als Modifikation des t-Tests. Bei nicht normalverteilten Stichproben kam der Mann-Whitney-U-Test als nichtparametrisches Verfahren zur Anwendung.

Zwei unabhängige, nicht normalverteilte Stichproben wurden mittels des Mann-Whitney-U-Tests verglichen. Wenn mehr als zwei unabhängige, nicht normalverteilte Stichproben vorlagen, erfolgte der Vergleich mittels des H-Tests nach Kruskal und Wallis.

Mit der einfaktoriellen ANOVA wurden mehr als zwei unabhängige, normalverteilte Stichproben verglichen. Zur weiteren Differenzierung, welche Parameter der ANOVA sich unterschieden wurde bei signifikantem Ergebnis der ANOVA als Post-hoc-Test der Bonferroni-Test mit multipler t-Testung durchgeführt.

Zwei verbundene Stichproben wurden bei Normalverteilung mittels des t-Tests für gepaarte Stichproben, bei nicht gegebener Normalverteilung dagegen mit dem Wilcoxon-Test verglichen.

Mehr als zwei verbundene Stichproben wurden bei Normalverteilung mittels des allgemeinen linearen Modells mit Messwiederholungen, bei nicht gegebener Normalverteilung dagegen mit dem Friedman -Test verglichen.

Der Vergleich Patienten zu gesundem Kontrollkollektiv wurde mithilfe des t-Tests für Einzelstichproben durchgeführt.

Die Gleichheit der Geschlechterverteilung wurde mittels des Binominaltests überprüft.

Die Signifikanzüberprüfung erfolgte bei allen Tests zweiseitig, wobei immer ein p-Wert  $< 0,05$  als statistisch signifikant angenommen wurde.

## **2.6 Graphische Darstellungen**

Jedem Patientenwohnort wurde die entsprechende Postleitzahl zugeordnet. Die in einem Postleitzahlenbereich an einer HVI Erkrankten wurden summiert und in eine Umgebungskarte der Region südlich von Stuttgart übertragen, um die geografische Verteilung der Erkrankungen abzubilden und Häufungen zu erfassen.

Die Erstellung der Karte erfolgte in Zusammenarbeit mit © TomTom International BV, PTV GmbH, DDS Digital Data Services GmbH, Karlsruhe 2014, [www.maps-on-demand.com](http://www.maps-on-demand.com).

Die Waldgebiete des Einzugsgebietes der am UKT behandelten Patienten mit einer HVI wurden mit Satellitenkarten und mit dem Grafikprogramm Paint® (Version 1511 © 2015 Microsoft Corporation) modifiziert dargestellt. Die Satellitenkarten stammen alle von Google© und wurden entsprechend modifiziert (Bild © 2016 Google, DigitalGlobe, GeoBasis-DE/BKG, Kartendaten © GeoBasis-DE/BKG (© 2009), Google).

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Jahreszeitliche Häufungen

Im Beobachtungszeitraum von 2001 bis 2013 wurden von den insgesamt 145 Patienten 102 Patienten (70,3%) vorwiegend während der warmen Monate März bis August stationär aufgenommen.

Jahre	Temperaturmittelwerte [°C] pro Jahreszeit				Temperaturmittelwerte [°C] pro Halbjahr mit Fallzahlen (n)	
	Herbst Oktober - Dezember	Winter Januar - März	Frühling April - Juni	Sommer Juli - September	Herbst/ Winter	Frühling/ Sommer
2000/2001	10,4	3,1	9,9	18	6,7 (0)	13,9 (0)
2001/2002	9,4	1,8	9,5	18,3	5,6 (2)	13,9 (4)
2002/2003	9,8	0,4	10,3	<b>21,5</b>	5,1 (2)	15,9 (1)
2003/2004	9	1,6	8,8	17,9	5,3 (3)	13,3 (4)
2004/2005	10	0,2	9,4	17,7	5,1 (6)	13,5 (5)
2005/2006	10,2	<b>-0,7</b>	8,5	18,6	4,7 (2)	13,5 (0)
2006/2007	12,2	<b>4,4</b>	11,5	17,9	8,3 (0)	<b>14,7 (15)</b>
2007/2008	8,4	2,7	9,7	18,1	<b>5,5 (5)</b>	13,9 (0)
2008/2009	9	-0,2	10,7	18,3	4,4 (0)	14,5 (3)
2009/2010	10,5	0,1	8,8	18,6	5,3 (4)	<b>13,7 (19)</b>
2010/2011	8,9	0,6	11,4	17,9	<b>4,7 (6)</b>	14,6 (0)
2011/2012	10,3	1,5	10,9	18,8	5,9 (3)	<b>14,8 (51)</b>
2012/2013	10,1	1,0	7,7	18,7	<b>5,5 (10)</b>	13,2 (0)

**Tabelle 5: Mittelwerte der Temperaturen; Halbjahresfallzahlen**

Mittelwerte der Temperaturen [°C] (Region Stuttgart) und Fallzahlen aller Jahreszeiten, Zeitraum 2001-2013 (60)

Diese Tabelle zeigt, dass es:

- im Frühling/Sommer über die Jahre weitgehend gleich warm ist, mit einer Ausnahme im Sommer 2003 von durchschnittlich 21,5°C
- die mittlere Temperatur im Winter über die Jahre unterschiedlich ist
- im Anschluss an einen kalten Winter (z. B. 2005/6) mit einer Durchschnittstemperatur von -0,7°C und einen wärmeren darauffolgenden Winter (z. B. 2006/7) mit einer mittleren Temperatur von 4,4°C die Fallzahl zunimmt (vgl. 4.2)

### 3.2 Wohnorte der Patienten



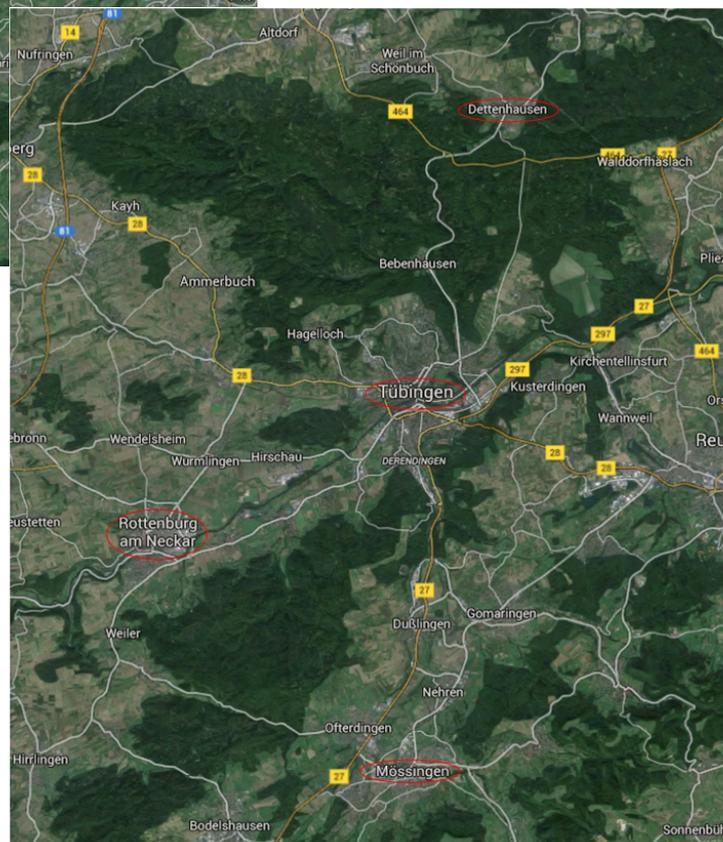
**Abbildung 5: Einzugsgebiet UKT**  
 Wohnorte der am UKT behandelten Patienten mit HVI im Zeitraum 2001-2013

Die Wohnorte der Patienten, die am UKT wegen einer HVI behandelt wurden, liegen im Wesentlichen in der Umgebung der beiden großen Waldgebiete Schönbuch, nördlich von Tübingen zwischen Stuttgart und Tübingen, und Rammert, südöstlich von Tübingen zwischen Rangendingen und Tübingen.



**Abbildung 6: Hauptwaldgebiete**  
Hauptwaldgebiete in der  
Umgebung Tübingens Schönbuch  
und Rammert<sup>1</sup>

**Abbildung 7: Wohnorte**  
43% der am UKT wegen  
einer HVI behandelten  
Patienten wohnen in den vier  
größten Orten Tübingen,  
Mössingen, Rottenburg am  
Neckar und Dettenhausen<sup>1</sup>



<sup>1</sup> Bild © 2016 Google, DigitalGlobe, GeoBasis-DE/BKG, Kartendaten © GeoBasis-DE/BKG (© 2009), Google



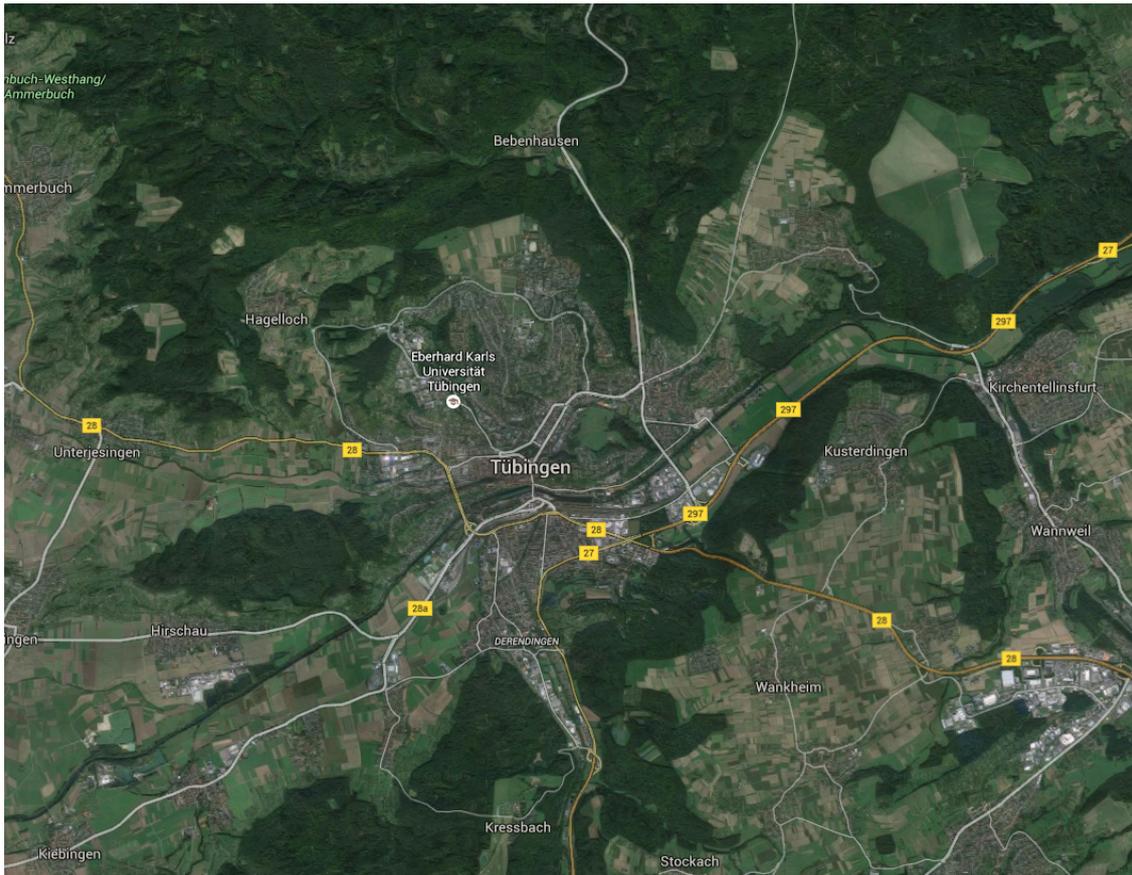


**Abbildung 8: Stadtgebiet Rottenburg am Neckar**

Die Gemarkung Rottenburg am Neckar grenzt südöstlich an das Waldgebiet Rammert

Von 41.402 Einwohnern der großen Kreisstadt Rottenburg am Neckar wurden 8 Patienten im Zeitraum von 2001-2013 mit einer HVI diagnostiziert. Dies entspricht einem prozentualen Anteil von 0,02%. Das Stadtgebiet von Rottenburg am Neckar hat eine Fläche von 142,27 km<sup>2</sup> (63).

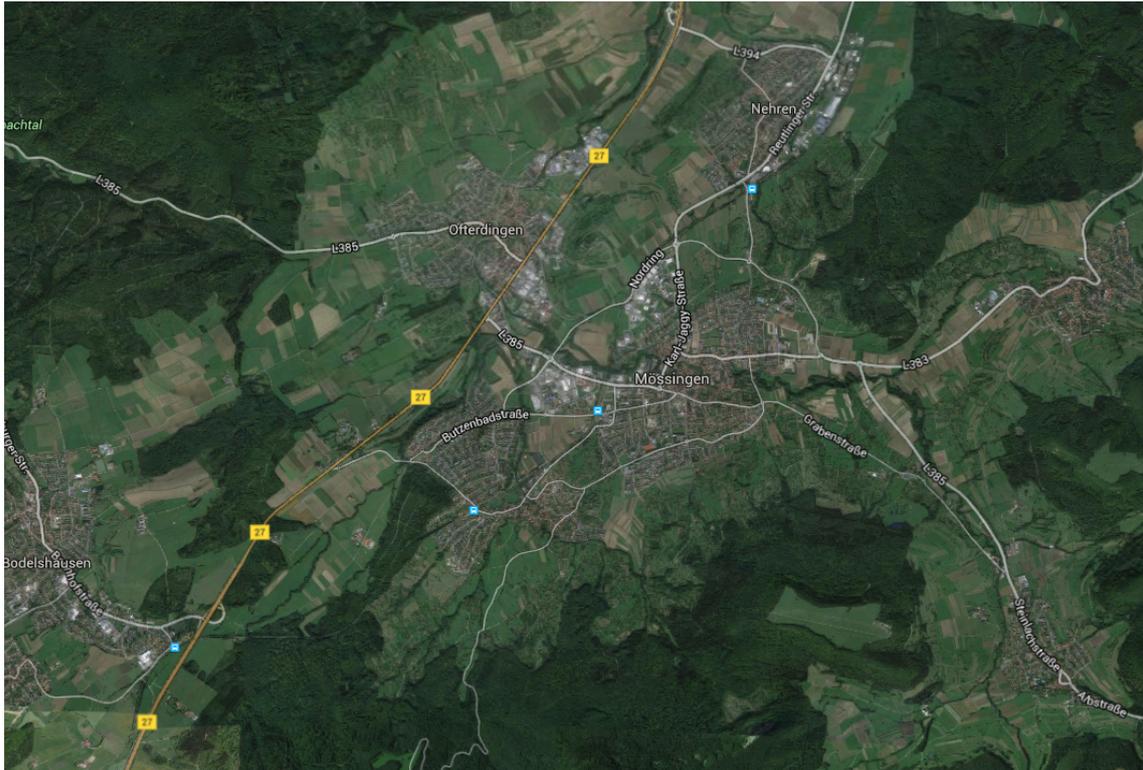
Das Satellitenbild der Umgebung von Rottenburg zeigt, dass Rottenburg relativ offen innerhalb bewirtschafteter Acker- und Wiesenflächen liegt. Lediglich im Südosten besteht die Nähe zum Waldgebiet Rammert.



**Abbildung 9: Stadtgebiet Tübingen**

Tübingen nördlich umgeben vom Schönbuch, südlich und östlich umgeben vom Rammert

Von 84.469 Einwohnern der Stadt Tübingen wurden 32 Patienten im Zeitraum 2001-2013 mit einer HVI diagnostiziert. Dies entspricht einem prozentualen Anteil von 0,04%. Das Stadtgebiet von Tübingen hat eine Fläche von 108,19 km<sup>2</sup> (61). Das Satellitenbild der Umgebung von Tübingen zeigt, dass Tübingen im Norden vom Schönbuch und im Süden und Westen von den nordöstlichen Ausläufern des Rammert eingeschlossen ist. Zusätzlich befindet sich im Westen noch das Waldschutzgebiet Spitzberg.



**Abbildung 10: Stadtgebiet Mössingen**

Mössingen wird nordwestlich vom Rammert, südlich und östlich von den Waldgebieten im Vorland des Altabsturzes umgeben.

Von 19.414 Einwohnern der Stadt Mössingen wurden 16 Patienten im Zeitraum 2001-2013 mit einer HVI diagnostiziert. Dies entspricht einem prozentualen Anteil von 0,08%. Das Stadtgebiet von Mössingen hat eine Fläche von 50,05 km<sup>2</sup> (62). Das Satellitenbild der Umgebung von Mössingen zeigt, dass Mössingen zwischen Rammert im Nordwesten und den Waldgebieten im Vorland des Albraufs im Süden und Osten liegt.



**Abbildung 11: Gemeindegebiet Dettenhausen**

Dettenhausen ist zu zwei Dritteln vom Schönbuch umgeben

Von 5.370 Einwohnern der Gemeinde Dettenhausen wurden 7 Patienten mit einer HVI diagnostiziert. Dies entspricht einem prozentualen Anteil von 0,13%. Das Gemeindegebiet von Dettenhausen hat eine Fläche von 11,02 km<sup>2</sup> (64). Die Gemeinde Dettenhausen ist zu zirka zwei Dritteln sehr nah vom Schönbuch eingeschlossen und nur nach Norden hin liegt offenes Land. Die Wohnbebauung grenzt über große Strecken vor allem im Osten sogar direkt an das Waldgebiet. Optisch fällt auf, dass im Vergleich dieser vier Orte ein Zusammenhang zwischen einerseits Nähe zu und Inklusion durch Waldgebiete und andererseits der Häufigkeit von HV-Infektionen zu bestehen scheint.

Weiterhin muss bedacht werden, dass wahrscheinlich auch viele Patienten in anderen Kliniken der Region behandelt wurden, die damit nicht in diese Untersuchung Eingang fanden. Hierbei kommen in erster Linie die Kliniken in Reutlingen, Filderstadt, Stuttgart, Böblingen, Sindelfingen, Albstadt und Villingen-Schwenningen in Frage.

### **3.1 Analysen des Patientenkollektivs**

#### **3.1.1 Analysen 2001-2013**

Im Zeitraum von 2001 bis 2013 wurden am UKT 145 Personen wegen einer HVI behandelt. 107 waren überwiegend normalgewichtige männliche Patienten im mittleren Alter von 40 Jahren, 38 überwiegend normalgewichtige weibliche Patienten im mittleren Alter von 43 Jahren. Dies entspricht einem ungefähren Verhältnis zwischen männlichen und weiblichen Patienten von 3:1 (♂:♀).

Das Intervall zwischen der ersten Konsultation des Hausarzt und der stationären Aufnahme im UKT betrug im Mittel 2 Tage, bei männlichen Patienten 2,3 Tage, bei weiblichen Patienten 1,2 Tage.

Die stationäre Aufenthaltsdauer betrug durchschnittlich 7,5 Tage (männliche Patienten 7,2 Tage, weibliche Patienten 8,5 Tage).

Bei der Aufnahme bzw. der Entlassung wurden folgende biometrische Daten von männlichen und weiblichen Patienten erhoben und die gültigen Fallzahlen mit Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung, dem Median, sowie der statistischen Signifikanz (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben) angegeben.

	<b>Männer (n=107)</b>		<b>Frauen (n=38)</b>	
	<b>bei Aufnahme</b>	<b>bei Entlassung</b>	<b>bei Aufnahme</b>	<b>bei Entlassung</b>
<u>Alter [a]</u>				
N gültig	107		38	
N fehlend	0		0	
Mittelwert	39,6	Keine Daten	42,7	Keine Daten
±SD	± 14,5		± 13,7	
Median	41		44	
<u>Größe [cm]</u>				
N gültig	96		36	
N fehlend	11		2	
Mittelwert	179	Keine Daten	166	Keine Daten
±SD	± 8,2		± 10,1	
Median	179		168	
<u>Gewicht [kg]</u>				
N gültig	103	96	38	33
N fehlend	4	11	0	5
Mittelwert	81,5	79,3	67,4	65,7
±SD	± 16,4	± 16,7	± 14,3	± 11,75
Median	79	77,1	66,5	63,3
Wilcoxontest		p<0,001		p=0,004
<u>BMI [kg/m<sup>2</sup>]</u>				
N gültig	96	89	36	32
N fehlend	11	18	2	6
Mittelwert	25,8	25,1	24,4	23,8
±SD	± 4,7	± 4,8	± 4,3	± 4,1
Median	25,2	24,5	23,9	23,5
Wilcoxontest		p<0,001		p=0,005

	Männer (n=107)		Frauen (n=38)	
	bei Aufnahme	bei Entlassung	bei Aufnahme	bei Entlassung
<u>Temp [°C]</u>				
N gültig	98	92	37	32
N fehlend	9	15	1	6
Mittelwert	37,9	36,7	37,4	36,2
±SD	± 5,2	± 0,5	± 1	± 0,5
Median	37,2	36,8	37,2	36,7
Wilcoxonstest		p<0,001		p<0,001
<u>RR systol. [mm Hg]</u>				
N gültig	99	94	36	33
N fehlend	8	13	2	5
Mittelwert	132,9	129,4	124,4	122,7
±SD	± 15,6	± 15,9	± 19	± 16,7
Median	135	130	126,5	120
Wilcoxonstest		p=0,05		p=0,658
<u>RR diastol. [mm Hg]</u>				
N gültig	99	94	36	33
N fehlend	8	13	2	5
Mittelwert	77,5	76,8	73,5	72,7
±SD	± 10,7	± 10	± 12	± 9,2
Median	80	80	71,5	70
Wilcoxonstest		p=0,379		p=0,782

**Tabelle 6: Biometrische Daten**

Biometrische Daten zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme und Entlassung

Die männlichen Patienten waren bei der Aufnahme im Mittel 3,1 Jahre jünger und 13 cm größer als die weiblichen Patienten. Aufgrund zu geringer Anzahl von Gewichtsangaben konnte kein statistischer Vergleich durchgeführt werden.

Bei männlichen Patienten kam es im Verlauf zu einer signifikanten Körpergewichtsreduktion im Mittel um 2,2 Kg (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben: p<0,001). Bei weiblichen Patienten kam es im Verlauf

zu einer signifikanten Körpergewichtsreduktion im Mittel um 1,7 Kg (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p=0,004$ ).

Bei männlichen Patienten kam es im Verlauf zu einer signifikanten Reduktion des Body-Mass-Index (BMI) im Mittel um  $0,9 \text{ kg/m}^2$  (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p<0,001$ ). Bei weiblichen Patienten kam es im Verlauf zu einer signifikanten Reduktion des Body-Mass-Index (BMI) im Mittel um  $0,6 \text{ kg/m}^2$  (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p=0,005$ ).

Bei männlichen Patienten kam es im Verlauf zu einer signifikanten Reduktion der Körpertemperatur im Mittel von  $1,2^\circ\text{C}$  (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p<0,001$ ). Bei weiblichen Patienten kam es im Verlauf zu einer signifikanten Reduktion der Körpertemperatur im Mittel von  $1,2^\circ\text{C}$  (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p<0,001$ ).

Bei männlichen Patienten kam es im Verlauf zu einer grenzwertig signifikanten Reduktion des systolischen Blutdruckes (RR syst.) (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p=0,05$ ). Dies kann durch den höheren Anteil von männlichen Patienten am Gesamtkollektiv erklärt werden. Die Reduktion des systolischen Blutdruckes (RR syst.) im Verlauf betrug bei den männlichen Patienten im Mittel  $3,5 \text{ mm Hg}$ . Bei weiblichen Patienten kam es im Verlauf zu keiner signifikanten Reduktion des systolischen Blutdruckes (RR syst.) (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p=0,658$ ). Dies kann durch den geringeren Anteil von weiblichen Patienten am Gesamtkollektiv erklärt werden. Die Reduktion des systolischen Blutdruckes (RR syst.) im Verlauf betrug bei den weiblichen Patienten im Mittel nur  $1,7 \text{ mm Hg}$ .

Bei männlichen Patienten kam es im Verlauf zu keiner signifikanten Reduktion des diastolischen Blutdruckes (RR diast.) (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p=0,379$ ). Die Reduktion des diastolischen Blutdruckes (RR diast.) im Verlauf betrug im Mittel  $0,7 \text{ mm Hg}$ . Bei weiblichen Patienten kam es im Verlauf zu keiner signifikanten Reduktion des diastolischen Blutdruckes (RR diast.) (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p=0,782$ ).

Die Reduktion des diastolischen Blutdrucks (RR diast.) im Verlauf betrug im Mittel 0,8 mm Hg.

**Symptome bei der Aufnahmeuntersuchung:**

Symptom	Häufigkeit	Relative Häufigkeit bezogen auf Symptom [%]	Relative Häufigkeit bezogen auf Gesamtkollektiv [%]
<u>Erhöhte Körpertemperatur</u>			
N männlich	107	73,8	100
N weiblich	38	26,2	100
Gesamt	145	100	100
<u>Rücken- und Flankenschmerzen</u>			
N männlich	63	76,8	58,9
N weiblich	19	23,2	50
Gesamt	82	100	56,6
<u>Kopfschmerzen</u>			
N männlich	51	81	47,7
N weiblich	12	19	31,6
Gesamt	63	100	43,4
<u>Gliederschmerz</u>			
N männlich	40	71,4	37,4
N weiblich	16	28,6	42,1
Gesamt	56	100	38,6
<u>Übelkeit und Erbrechen</u>			
N männlich	32	69,6	29,9
N weiblich	14	30,4	36,8
Gesamt	46	100	31,7

Symptom	Häufigkeit	Relative Häufigkeit bezogen auf Symptom [%]	Relative Häufigkeit bezogen auf Gesamtkollektiv [%]
<u>Visusminderung</u>			
N männlich	20	71,4	18,7
N weiblich	8	28,6	21,1
Gesamt	28	100	19,3
<u>Abdominelle Schmerzen</u>			
N männlich	18	72	16,8
N weiblich	7	28	18,4
Gesamt	25	100	17,2

**Tabelle 7: Symptome bei der stationären Aufnahme**

Symptome bei der stationären Aufnahme von männlichen und weiblichen Patienten

Das Gesamtkollektiv besteht aus 146 Patienten, davon 107 männliche Patienten und 38 weibliche Patienten. Alle 146 Patienten hatten eine erhöhte Körpertemperatur (100%).

Rücken- und Flankenschmerzen hatten etwas mehr als die Hälfte aller Patienten (56,6%). Es ließ sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen Geschlecht der Patienten und Rücken- und Flankenschmerzen nachweisen (Test auf Binominalverteilung bei einer Stichprobe:  $p=0,323$ ).

Weniger als die Hälfte aller Patienten hatten Kopfschmerzen (43,4%). Es ließ sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen Geschlecht der Patienten und Kopfschmerzen nachweisen (Test auf Binominalverteilung bei einer Stichprobe:  $p=0,133$ ).

Gliederschmerzen waren bei rund 39% aller Patienten vorhanden (38,6%). Es ließ sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen Geschlecht der Patienten

und Gliederschmerzen nachweisen (Test auf Binominalverteilung bei einer Stichprobe:  $p=0,387$ ).

Übelkeit und Erbrechen war bei ca. einem Drittel aller Patienten vorhanden (31,7%). Es ließ sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen Geschlecht der Patienten und Übelkeit und Erbrechen nachweisen (Test auf Binominalverteilung bei einer Stichprobe:  $p=0,302$ ).

Eine Visusminderung war bei ca. einem Fünftel aller Patienten vorhanden (19,9%). Es ließ sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen Geschlecht der Patienten und Visusminderung nachweisen (Test auf Binominalverteilung bei einer Stichprobe:  $p=0,462$ ).

Abdominelle Schmerzen beklagten weniger als ein Fünftel aller Patienten (17,2%). Es ließ sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen Geschlecht der Patienten und abdominalen Schmerzen nachweisen (Test auf Binominalverteilung bei einer Stichprobe:  $p=0,485$ ).

Es ließ sich insgesamt bei allen Patienten kein signifikanter Zusammenhang zwischen Geschlecht der Patienten und Häufigkeit der oben genannten Symptome nachweisen.

Laboratoriumsmedizinische Untersuchungsergebnisse der Patienten wurden anhand der in Arztbriefen und im Archiv des Laborsystems dokumentierten Messwerte erfasst und ausgewertet.

Dabei zeigte sich bei der Betrachtung von Nierenfunktionsparametern:

Analyt	Männer (n=107)		Frauen (n=38)	
	bei Aufnahme	bei Entlassung	bei Aufnahme	bei Entlassung
<u>eGFR-CKD-EPI</u> [ml/min/1,73m <sup>2</sup> ]				
N gültig	103	101	38	37
N fehlend	4	6	0	1
Mittelwert	38,1	57,2	35,9	60,0
±SD	± 29,3	± 28,8	± 35,8	± 32,3
Median	28,3	51,8	22,7	58,0
Wilcoxontest		p<0,001		p<0,001
<u>Urin-Eiweiß-Konzentration</u> [g/l]				
N gültig	64	25	20	8
N fehlend	43	82	18	30
Mittelwert	2,2	0,4	4,3	0,9
±SD	± 4,1	± 0,8	± 7,7	± 1,6
Median	0,9	0,1	0,8	0,2
Wilcoxontest		p<0,001		p=0,138
<u>Urin-Albumin - Konzentration</u> [mg/l]				
N gültig	55	17	15	7
N fehlend	52	90	23	31
Mittelwert	2066,5	1599,5	4367,2	274,7
±SD	± 4916,7	± 5535,0	± 6279,3	± 464,8
Median	458,3	60,0	1160,0	118,0
Wilcoxontest		p=0,155		p=0,600

	Männer (n=107)		Frauen (n=38)	
Analyt	bei Aufnahme	bei Entlassung	bei Aufnahme	bei Entlassung
<u>Urin-α1-Mikroglobulin - Konzentration [mg/l]</u>				
N gültig	48	17	17	08
N fehlend	59	90	21	30
Mittelwert	36,4	11,6	28,9	8,5
±SD	± 67,8	± 9,3	± 49,6	± 3,0
Median	10,6	7,0	10,1	7,8
Wilcoxon-test		p=0,128		p=0,068
<u>Urin-NGAL [ng/l]</u>				
N gültig	31	8	12	2
N fehlend	76	99	26	36
Mittelwert	150,8	29,1	187,4	114,5
±SD	± 190,5	± 37,2	± 218,7	± 109,6
Median	85	11,5	109,5	114,5
Wilcoxon-test		p=0,128		p=0,655

**Tabelle 8: Nierenfunktionsparameter**

Nierenfunktionsparameter von männlichen und weiblichen Patienten zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme und Entlassung.

Bei der Aufnahme hatten männliche Patienten eine hochsignifikant niedrigere approximierte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR-CKD-EPI) als bei der Entlassung (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p < 0,001$ ). Bei der Aufnahme hatten weibliche Patienten eine signifikant niedrigere approximierte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR-CKD-EPI) als bei der Entlassung (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p < 0,001$ ). Die Nierenschädigung ist rückläufig und die Nierenfunktion hat sich während des stationären Aufenthaltes verbessert. Bei Entlassung ist die Nierenfunktion nahezu wieder normal.

Eine Reduktion der bei der Aufnahme erheblichen Proteinurie konnte belegt werden. Die initiale Proteinurie war weitgehend durch eine Albuminurie (U-Alb.) als Hinweis für einen glomerulären Nierenschaden bedingt, was der Vergleich der Analyseergebnisse für Urin-Eiweiß und U-Alb-Konzentration zeigt. Während des stationären Aufenthalts konnte statistisch eine hochsignifikante Reduktion der Proteinurie (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p < 0,001$ ) und eine signifikante Abnahme der Albuminurie bei männlichen Patienten festgestellt werden (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p = 0,155$ ). Bei weiblichen Patienten konnte aufgrund der großen Streuung und geringen Fallzahlen keine Signifikanz, sondern nur ein Reduktionstrend festgestellt werden (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p = 0,600$ ).

Als Zeichen eines zusätzlichen tubulären Nierenschadens fand sich bei der Aufnahme meist eine mild gesteigerte  $\alpha 1$ -Mikroglobulin-Konzentration im Urin, die vor Entlassung bei männlichen Patienten tendenziell rückläufig war (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p = 0,128$ ) und bei weiblichen Patienten trotz großer Streuung jedoch signifikant rückläufig war (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p = 0,068$ ).

Als zusätzlichen Marker für einen tubulären Nierenschaden konnte NGAL (Neutrophilen Gelatinase-assoziiertes Lipocalin) bei männlichen und weiblichen Patienten bei der Aufnahme in deutlich höherer Konzentration im Urin als vor Entlassung nachgewiesen werden. Bei männlichen Patienten konnte aufgrund der geringen Fallzahl und der großen Streuung keine signifikante NGAL-Reduktion festgestellt werden (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p = 0,128$ ). Bei weiblichen Patienten konnte keine signifikante NGAL-Reduktion festgestellt werden (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p = 0,655$ ).

Analyt	Prästationär		Bei Aufnahme		Vor Entlassung	
	Männer	Frauen	Männer	Frauen	Männer	Frauen
<u>Leukozyten</u> [x 10 <sup>3</sup> /μl]						
N gültig	21	5	103	38	99	37
N fehlend	86	33	4	0	8	1
Mittelwert	10,7	10,2	9,6	8,8	8,3	8,1
SD	± 5,9	± 2,8	± 3,1	± 3,3	± 2,2	± 2,5
Median	8,9	9,1	9,3	8,4	8,3	7,7
Friedman-Test					p=0,056	p=0,022
<u>Thrombozyten</u> [x 10 <sup>3</sup> /μl]						
N gültig	20	5	105	38	100	37
N fehlend	87	33	2	0	7	1
Mittelwert	124,0	161,8	167,3	181,6	332,5	328,4
SD	± 61,8	± 84,7	± 101,0	± 132,8	± 132,9	± 134,8
Median	106,0	147,0	154,0	135,5	325,0	326,0
Friedman-Test					p<0,001	p=0,041
<u>Natrium</u> [mmol/L]						
N gültig	16	2	103	38	100	36
N fehlend	91	36	4	0	7	2
Mittelwert	135,1	133,0	136,6	137,3	142,0	146,6
SD	± 8,4	± 1,4	± 6,0	± 5,7	± 5,3	± 33,4
Median	138,0	133,0	137,0	138,5	143,0	142,0
Friedman-Test					p=0,056	p=0,368
<u>Kalium</u> [mmol/L]						
N gültig	17	2	101	38	97	36
N fehlend	90	36	6	0	10	2
Mittelwert	4,3	4,1	3,9	3,8	4,2	4,0
SD	± 0,5	± 0,4	± 0,4	± 0,5	± 0,5	± 0,4
Median	4,3	4,1	3,9	3,9	4,1	4,1
Friedman-Test					p=0,239	p=0,135

Analyt	Prästationär		Bei Aufnahme		Vor Entlassung	
	Männer	Frauen	Männer	Frauen	Männer	Frauen
<u>Calcium</u> [mmol/L]						
N gültig	13	2	95	34	67	21
N fehlend	94	36	12	4	40	17
Mittelwert	2,2	2,2	2,1	2,1	2,2	2,1
SD	± 0,2	± 0,1	± 0,2	± 0,2	± 0,2	± 0,3
Median	2,2	2,2	2,1	2,1	2,2	2,2
Friedman-Test					p=0,435	p=0,368
<u>LDH [U/l]</u>						
N gültig	5	2	94	30	57	16
N fehlend	102	36	13	8	50	22
Mittelwert	380,4	249,5	283,5	247,5	256,7	212,6
SD	±83,8	± 27,6	±79,9	± 66,6	±78,0	± 40,1
Median	388,0	249,5	271,0	236,5	243,0	205,5
Friedman-Test					p=0,368	p=0,368
<u>GGT</u> [U/l]						
N gültig	14	4	87	28	35	14
N fehlend	93	34	20	10	72	24
Mittelwert	31,4	24,4	46,87	32,11	60,0	43,1
SD	± 22,9	± 10,1	± 51,9	± 20,4	± 47,6	± 33,7
Median	28,0	26,3	34,0	26	34,0	40
Friedman-Test					p=0,368	p=0,368
<u>GPT/ALT</u> [U/l]						
N gültig	15	4	95	34	49	17
N fehlend	92	34	12	4	58	21
Mittelwert	39,7	46,5	45,0	35,2	59,1	38,8
SD	± 15,5	± 52,0	± 43,2	± 23,9	± 54,3	± 24,4
Median	37	24,5	34,0	25,5	42,0	35
Friedman-Test					p=0,420	p=0,223

**Tabelle 9: Verlauf laborchemischer Parameter**

Verlauf laborchemischer Parameter vor und während der stationären Aufnahme, sowie Entlassung.

Es zeigte sich prästationär und bei Aufnahme der männlichen und weiblichen Patienten keine Leukozytose. Bei großer Streuung wurden leicht abfallende grenzwertig signifikante Leukozytenwerte im Verlauf des stationären Aufenthalts bei männlichen und weiblichen Patienten nachgewiesen (Friedmans zweifaktorielle Varianzanalyse nach Rang bei verbundenen Stichproben:  $p=0,056$  und  $p=0,022$ ).

Dagegen zeigte sich prästationär und bei Aufnahme der männlichen und weiblichen Patienten eine Thrombozytopenie die mit einer Begleithepatitis assoziiert werden kann. Bei männlichen und weiblichen Patienten fand sich eine statistisch signifikante Zunahme der Anzahl der Thrombozyten vor der Entlassung gegenüber der Aufnahme (Friedmans zweifaktorielle Varianzanalyse nach Rang bei verbundenen Stichproben:  $p<0,001$  und  $p=0,041$ ).

Der hochsignifikante Thrombozytenanstieg bei männlichen Patienten bestätigt sich in der Subanalyse durch post-hoc-Test mittels des Bonferroni-Tests mit multipler t-Testung in allen drei Phasen:

Stichprobe1 - Stichprobe2	Teststatisti k	Std.Fehle r	Standard Teststatisti k	Signifikan z	Angep. Signifikan z
Thrombozyte n 1-2 [x 10 <sup>5</sup> /μl]	-1000	0,324	-3,082	0,002	<u>p&lt;0,006</u>
Thrombozyte n 1-3 [x 10 <sup>5</sup> /μl]	-1,842	0,324	-5,678	0,001	<u>p&lt;0,001</u>
Thrombozyte n 2-3 [x 10 <sup>5</sup> /μl]	-0,842	0,324	-2,596	0,009	<u>p&lt;0,028</u>

**Tabelle 10: Stichprobenübersicht der Thrombozyten.**

Jede Zeile testet die Nullhypothese, dass die Verteilungen von Stichprobe 1 und Stichprobe 2 gleich sind. Asymptotische Signifikanzen (2 seitige Tests) werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist 0,05.

Es zeigten sich prästationär und bei Aufnahme der männlichen und weiblichen Patienten keine Anzeichen auf eine Elektrolytentgleisung.

Signifikante Konzentrationsveränderungen des Natriums konnten im Verlauf des stationären Aufenthalts nicht nachgewiesen werden (Friedmans zweifaktorielle Varianzanalyse nach Rang bei verbundenen Stichproben:  $p=0,056$  und  $p=0,368$ ).

Signifikante Konzentrationsveränderungen des Kaliums konnten im Verlauf des stationären Aufenthalts nicht nachgewiesen werden (Friedmans zweifaktorielle Varianzanalyse nach Rang bei verbundenen Stichproben:  $p=0,239$  und  $p=0,135$ ).

Signifikante Konzentrationsveränderungen des Calciums konnten im Verlauf des stationären Aufenthalts nicht nachgewiesen werden (Friedmans zweifaktorielle Varianzanalyse nach Rang bei verbundenen Stichproben:  $p=0,435$  und  $p=0,368$ ).

Es zeigten sich prästationär und bei Aufnahme der männlichen und weiblichen Patienten keine Anzeichen auf eine etwaige Hämolyse durch eine Begleithepatitis. Die Veränderung der Aktivität der LDH im Verlauf des stationären Aufenthalts bei männlichen und weiblichen Patienten zeigte keine statistische Signifikanz (Friedmans zweifaktorielle Varianzanalyse nach Rang bei verbundenen Stichproben:  $p=0,368$ ).

Trotz leicht ansteigender Werte zeigten sich keine statistisch signifikanten Veränderungen für die Aktivität der GGT im Verlauf des stationären Aufenthalts bei männlichen und weiblichen Patienten (Friedmans zweifaktorielle Varianzanalyse nach Rang bei verbundenen Stichproben:  $p=0,368$ ).

Es zeigten sich bei den männlichen und weiblichen Patienten Hinweise auf eine Begleithepatitis. Bei einer großen Streuung wurden keine statistisch signifikanten Veränderungen für die Aktivität der GPT/ALT im Verlauf des stationären Aufenthalts bei männlichen und weiblichen Patienten nachgewiesen (Friedmans zweifaktorielle Varianzanalyse nach Rang bei verbundenen Stichproben:  $p=0,420$  und  $p=0,223$ ).

### **3.2 Nachuntersuchungen 2014 und 2015**

34 männlichen Patienten (31,8%) und 11 weiblichen Patienten (28,9%) - also insgesamt 46 (32%) der 145 (100%) an einer Puumula-Virus-induzierten Nephritis erkrankten und im Universitätsklinikum Tübingen stationär behandelten Personen wurden im Rahmen dieser Arbeit ambulant nachuntersucht.

Die Kontrolluntersuchung der männlichen und weiblichen Patienten erfolgte im Durchschnitt 7,4 Jahre nach der Erkrankung.

Biometrische Merkmale wie Alter, Größe und Gewicht sowie die mittleren systolischen und diastolischen Blutdruckwerte von Zeitpunkt der Entlassung eben dieser Personen wurden mit denen der selbigen Personen aus der Nachuntersuchung verglichen:

## Biometrische Daten

	Männer		Frauen	
	bei Entlassung g	bei Nachbeobachtung g	bei Entlassung g	bei Nachbeobachtung g
<u>Alter [a]</u>				
N gültig	107	34	38	11
N fehlend	0	73	0	27
Mittelwert	39,6	49,7	42,7	47,3
SD	± 14,5	± 16,4	± 13,8	± 12,0
Median	41	50	44	49,0
<u>Größe [cm]</u>				
N gültig	96	34	36	11
N fehlend	11	73	2	27
Mittelwert	178,6	180,2	166,3	167,9
SD	±8,2	± 6,7	± 10,1	± 7,5
Median	179,0	180,0	168,0	167,0
<u>Gewicht [kg]</u>				
N gültig	103	34	38	11
N fehlend	4	73	0	27
Mittelwert	81,5	85,9	67,4	69,2
SD	± 16,4	± 16,5	± 14,3	± 12,6
Median	79,0	82,0	66,5	65,0
Wilcoxon test		p=0,650		p=0,374
<u>RR systol. [mm Hg]</u>				
N gültig	99	34	36	11
N fehlend	8	73	2	27
Mittelwert	132,9	125,0	124,4	118,1
SD	± 15,5	± 12,6	± 19,0	± 11,0
Median	135,0	122,0	126,5	120,0
Wilcoxon test		p<0,001		p=0,959

	Männer		Frauen	
	bei Entlassung	bei Nachbeobachtung	bei Entlassung	bei Nachbeobachtung
RR diastol. [mm Hg]				
N gültig	99	34	36	11
N fehlend	8	73	2	27
Mittelwert	77,5	78,4	73,5	75,2
SD	± 10,7	± 10,0	± 12,0	± 13,5
Median	80,0	80,0	71,5	70,0
Wilcoxon- t		p=0,863		p=0,779

**Tabelle 11: Biometrische Merkmale**

Vergleich der biometrischen Merkmale, sowie der Blutdruckwerte bei Entlassung und der Nachuntersuchung

Bei den männlichen Patienten kam es im Verlauf zu einem nicht signifikanten Anstieg des Körpergewichts im Mittel von 4,4 kg (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p=0,650$ ). Bei den weiblichen Patienten kam es im Verlauf zu einem nicht signifikanten Anstieg des Körpergewichts im Mittel von 1,8 kg (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p=0,374$ ).

Der systolische Blutdruck verbesserte sich bei den männlichen und weiblichen Patienten. Bei den männlichen Patienten kam es im Verlauf zwischen der Entlassung und der Nachuntersuchung zu einer hochsignifikanten Reduktion des systolischen Blutdruckes (RR syst.) (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p<0,001$ ). Die Reduktion des systolischen Blutdrucks (RR syst.) betrug bei den männlichen Patienten im Verlauf im Mittel 7,9 mm Hg. Dagegen zeigte der diastolische Blutdruck (RR diast.) der männlichen Patienten einen nichtsignifikanten Anstieg im Mittel von 0,9 mm Hg (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p=0,863$ ). Der systolische Blutdruck (RR syst.) änderte sich bei den weiblichen Patienten im Verlauf nicht signifikant (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:

p=0,959). Die Reduktion des systolischen Blutdrucks (RR syst.) im Verlauf betrug bei den weiblichen Patienten im Mittel 6,3 mm Hg. Dahingegen zeigte der diastolische Blutdruck (RR diast.) der weiblichen Patienten einen nichtsignifikanten Anstieg im Mittel von 1,7mmHg (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben: p=0,779).

Die quantitativen laboratoriumsmedizinischen Untersuchungsergebnisse der nachuntersuchten männlichen und weiblichen Patienten zum Zeitpunkt der Entlassung und Nachbeobachtung wurden in Tabelle 12 zusammengefasst:

<b>Tab. 12:</b>	<b>Männer</b>		<b>Frauen</b>	
<b>Analyte</b>	<b>bei Ent- lassung</b>	<b>bei Nach- beobachtung</b>	<b>bei Ent- lassung</b>	<b>bei Nach- beobachtung</b>
Plasma:				
<u>Kreatinin</u> [mg/dl]				
N gültig	104	34	37	11
N fehlend	3	73	1	27
Mittelwert	2,5	0,8	1,6	0,8
SD	± 6,6	± 0,1	± 1,7	± 0,1
Median	1,5	0,8	1,2	0,7
Wilcoxon-test		p<0,001		p=0,007
<u>Harnstoff</u> [mg/dl]				
N gültig	100	34	34	11
N fehlend	7	73	4	27
Mittelwert	57,8	35,6	52,6	30,6
SD	± 38,6	± 9,7	± 54,0	± 8,5
Median	43	35,0	34,0	30,0
Wilcoxon-test		p=0,030		p=0,050
<u>eGFR-CKD epi</u> [ml/min/1.73m <sup>2</sup> ]				
N gültig	101	34	37	11
N fehlend	6	73	1	27
Mittelwert	57,2	102,2	60,0	98,6
SD	± 28,8	± 15,3	± 32,3	± 15,2
Median	51,8	100,6	58,0	101,0
Wilcoxon-test		p<0,001		p=0,007
Spontanurin:				
Kreatinin [mg/dl]				
N gültig	9	34	4	11
N fehlend	98	73	34	27
Mittelwert	74,4	86,6	18,2	61,6
SD	± 47,6	± 65,9	± 18,0	± 34,1
Median	63,0	80,0	14,0	50,0
Wilcoxon-test		p=0,465		p=0,317

<b>Tab. 12:</b>	<b>Männer</b>		<b>Frauen</b>	
<b>Analyte</b>	<b>bei Ent- lassung</b>	<b>bei Nach- beobachtung</b>	<b>bei Ent- lassung</b>	<b>bei Nach- beobachtung</b>
<b>Eiweiß [g/l]</b>				
N gültig	25	34	8	11
N fehlend	82	73	30	27
Mittelwert	0,4	0,1	0,9	0,1
SD	± 0,8	± 0,1	± 1,6	± 0,1
Median	0,1	0,0	0,2	0,0
Wilcoxon-test		p=0,593		p=0,317
<b>Albumin [mg/l]</b>				
N gültig	17	35	7	11
N fehlend	90	72	31	27
Mittelwert	1599,2	18,4	274,7	19,4
SD	± 5535,0	± 31,4	± 464,8	± 45,7
Median	60,0	5,5	118,0	5,0
Wilcoxon-test		p=0,116		Berechnung nicht möglich
<b>α1- Mikroglobulin [mg/l]</b>				
N gültig	17	34	8	11
N fehlend	90	73	30	27
Mittelwert	11,6	6,9	8,5	4,6
SD	± 9,3	± 6,6	± 3,0	± 2,9
Median	7,0	3,0	7,8	3,0
Wilcoxon-test		p=0,588		p=0,180

**Tabelle 12: Ergebnisse und Vergleich**

Ergebnisse und Vergleich der quantitativen laboratoriumsmedizinischen Untersuchungen von nachbeobachteten männlichen und weiblichen Patienten vor der Entlassung und bei der Nachuntersuchung

Bei männlichen und weiblichen Patienten kam es zu einer Normalisierung des Plasmakreatinins. Bei männlichen Patienten kam es im Verlauf zu einer hochsignifikanten Reduktion des Plasmakreatinins im Mittel von 1,8 mg/dl (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p < 0,001$ ). Bei Frauen kam es im Verlauf zu einer signifikanten Reduktion des Plasmakreatinins

im Mittel von 0,8 mg/dl (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p=0,007$ ).

Bei männlichen und weiblichen Patienten kam es zu einer Normalisierung des Plasmaharnstoffs. Bei männlichen Patienten kam es im Verlauf zu einer signifikanten Reduktion des Plasmaharnstoffs im Mittel von 22,2 mg/dl (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p=0,030$ ). Bei weiblichen Patienten kam es im Verlauf zu einer signifikanten Reduktion des Plasmaharnstoffs im Mittel von 22 mg/dl (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p=0,050$ ).

Bei männlichen und weiblichen Patienten kam es zu einer Normalisierung der eGFR-CKD-Epi. Bei männlichen Patienten kam es im Verlauf zu einer signifikanten Steigerung der eGFR-CKD-Epi im Mittel von 45 ml/min./1,73m<sup>2</sup> (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p<0,001$ ). Bei weiblichen Patienten kam es im Verlauf zu einer signifikanten Steigerung der eGFR-CKD-Epi im Mittel von 38,6 ml/min./1,73m<sup>2</sup> (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p=0,007$ ).

Bei männlichen und weiblichen Patienten zeigte sich ein ansteigender Trend des Kreatinins im Spontanurin. Bei männlichen Patienten kam es im Verlauf zu keinem signifikanten Anstieg des Kreatinins im Spontanurin, sondern zu einem steigenden Trend von im Mittel 12,2 mg/dl (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p=0,465$ ). Bei weiblichen Patienten kam es im Verlauf zu keinem signifikanten Anstieg des Kreatinins im Spontanurin, sondern zu einem steigenden Trend von im Mittel von 43,4 mg/dl (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p=0,317$ ).

Bei männlichen und weiblichen Patienten kam es zu keiner erheblichen Normalisierung der Eiweißkonzentration im Spontanurin. Bei männlichen Patienten kam es im Verlauf zu keiner signifikanten Reduktion der Eiweißkonzentration im Spontanurin, sondern zu einem Reduktionstrend von im Mittel 0,3 g/l (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p=0,593$ ). Bei weiblichen Patienten kam es im Verlauf zu keiner signifikanten

Reduktion der Eiweißkonzentration im Spontanurin, sondern zu einem Reduktionstrend von im Mittel 0,8 g/l (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p=0,317$ ).

Bei männlichen Patienten kam es im Verlauf zu einer nicht signifikanten Reduktion der U-Alb-Konzentration im Spontanurin im Mittel von 1581,1 mg/l (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p=0,116$ ). Aufgrund mangelnder Daten konnte im Verlauf bei weiblichen Patienten keine Signifikanz berechnet, jedoch ein Reduktionstrend der U-Alb-Konzentration im Spontanurin von im Mittel 255,3 mg/l beobachtet werden (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben: Berechnung aufgrund mangelnder Daten nicht möglich).

Hinweise auf einen tubulären Nierenschaden ergeben sich bei den männlichen und weiblichen Patienten nicht. Bei männlichen Patienten kam es im Verlauf zu einer nicht signifikanten Reduktion der  $\alpha_1$ -Mikroglob-Konzentration im Spontanurin im Mittel von 4,6 mg/l (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p=0,588$ ). Bei weiblichen Patienten kam es im Verlauf zu einer nicht signifikanten Reduktion der  $\alpha_1$ -Mikroglobulin-Konzentration im Spontanurin von im Mittel 3,9 mg/l (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben:  $p=0,180$ ).

Subgruppenanalyse von Probanden der Nachuntersuchungskohorte mit zusätzlichen Erkrankungen

Nr.	Alter [a]	♂ ♀	BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	eGFR-CKD-EPI [ml/min/1.73m <sup>2</sup> ]		U-Alb-Konz.[mg/l]		a1-Mikroglobulin-Konz. im Urin [mg/l]		HTN	DM	wKVE	Sonstiges	Medikation
				Kohorte		Kohorte		Kohorte						
				1	2	1	2	1	2					
2	73	♂	33,1	45,5	88,2	382	<10	35	17	+	-	KHK, CVD	HLP, SAS	Acetylsalicylsäure, Candesartan, Metoprolol
9	20	♂	29,2	53,8	128,6	496	42	6	3	-	-	-	NKT [5/d], regelm. Alkohol	-
20	64	♂	28,7	54,7	89,9	610	32	9	11	+	-	-	SAS, THE	Amlodipin, Simvastatin
25	50	♂	26,0	42,8	101	677	157	20	7	+	-	-	NKT [5/d]	Ramipril
57	66	♂	24,1	37,8	81,4	436	25	9	3	+	-	KHK,	Vit.B12M, PHP	Acetylsalicylsäure, Bisoprolol, HCT, Olmesartan, Medoxomil, Vit.B12
73	57	♀	31,6	3,5	62,7	23200	5	213	6	+	-	KHK, CKD	NKT [19/d]	Acetylsalicylsäure, Bisoprolol, Allopurinol
79	52	♂	34,8	104,2	108,5	725	133	42	2,5	+	-	KHK, VHF	HLP	Metoprolol, Ramipril, Novodigal, Simvastatin, Phenprocoumon

Nr.	Alter [a]	♂ ♀	BMI [kg/ m <sup>2</sup> ]	eGFR-CKD-EPI [ml/min/1.73m <sup>2</sup> ]		U-Alb- Konz.[mg/l]		a1-Mikroglobulin- Konz. im Urin [mg/l]		HTN	DM	wKVE	Sonstiges	Medikation
				Kohorte		Kohorte		Kohorte						
				1	2	1	2	1	2					
82	78	♂	29,7	22,1	64,0	349	5,5	93	7	+	-	THE, VHF	-	Amlodipin/Valsartan, Phenoprocoumon, Simvastatin
105	76	♂	26,3	8,9	82,7	526	24	11	8	-	+	NTR	PHP	Metformin, Glibenclamid, Dutasterid, Tamsulosin
109	60	♂	35,1	50,2	97,1	101	33	12	16	+	+	KHK	NKT	-
139	46	♂	21,5	109,5	113,2	71	44	8	14	-	-	-	NKT [5/d]	-
31	29	♂	24,2	92,2	120,7	3300	139*	14	6	-	-	-	-	-

**Tabelle 13: Detaillierte Darstellung der Subgruppenanalyse**  
Auffällige Probanden mit zusätzlichen Erkrankungen

**Legende:**

Kohorte 1 = Patienten bei Entlassung aus stationärer Behandlung, Kohorte 2 = Nachuntersuchungskohorte, HTN = Hypertonie, DM = Diabetes mellitus, wKVE = Weitere Kardiovaskuläre Erkrankungen, Sonst. = Sonstiges, Med. = Medikamente (Dauermedikation), KHK = Koronare-Herzkrankheit, CVD = Cerebrovascular Disease (Erkrankung), HLP = Hyperlipidämie, SAS = Schlafapnoe-Syndrom, NKT = Nikotin [Zigaretten/Tag], THE = Thyreoidektomie, Vit.B12M = Vitamin-B12 Mangel, PHP = Prostatahyperplasie, CKD = Chronic Kidney Disease, VHF = Vorhofflimmern, HTE = Hypertensive Entgleisung, NTR = Nierenteilresektion

\*Quotient von U-Alb/g Kreatinin beträgt 112 mg/g Kreatinin

Hinweise für eine Nephropathie fanden sich bei der Entlassung bei elf der 34 männlichen Patienten und einer der zwölf weiblichen Patienten der später Nachuntersuchten (n=46).

Deren Untersuchungsergebnisse wurden unter besonderer Berücksichtigung ausgewählter kardiovaskulärer Risikofaktoren (anhaltender Nikotinkonsum, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus) und der von ihnen regelmäßig eingenommenen Medikamenten (Antihypertensiva, Antidiabetika, Lipidsenker) separat betrachtet.

Während die eGFR bei acht der elf männlichen Patienten vor der Entlassung noch deutlich eingeschränkt festgestellt worden war (im Mittel bei  $56,5 \pm 30,9$  ml/min/1,73m<sup>2</sup>, [50,2 ml/min/1,73m<sup>2</sup>]), lag bei allen männlichen Patienten bei der Nachuntersuchung im Mittel eine altersentsprechend normale eGFR vor ( $96,1 \pm 18,9$  ml/min/1,73m<sup>2</sup>, [89,9 ml/min/1,73m<sup>2</sup>]).

Bei allen elf männlichen Patienten fand sich vor Entlassung noch eine erhöhte U-Alb-Ausscheidung von im Mittel  $698 \pm 847$  mg/l [496 mg/l]. Bei vier von diesen fand sich nur eine geringe (<10 mg/l)  $\alpha_1$ -Mikroglobulin-Ausscheidung von im Mittel  $8 \pm 1,2$  mg/l, [8,5 mg/l]. Bei den restlichen sieben Patienten fand sich eine  $\alpha_1$ -Mikroglobulin-Ausscheidung von im Mittel  $32,4 \pm 27,1$  mg/l [20 mg/l]. Bei der Nachuntersuchung wurde bei neun männlichen Patienten ein Mikroalbumin von im Mittel  $69,9 \pm 52,4$  mg/l [42 mg/l] dokumentiert, während bei nur drei männlichen Patienten eine geringfügig gesteigerte  $\alpha_1$ -Mikroglobulin-Ausscheidung von im Mittel  $15,7 \pm 1,2$  mg/l [16 mg/l] festgestellt wurde.

Bei einer der zwölf weiblichen Patienten wurde zum Zeitpunkt der Entlassung noch eine erhebliche reduzierte GFR berechnet ( $3$  ml/min/1,73m<sup>2</sup>), die bei der Nachuntersuchung altersentsprechend ( $62,7$  ml/min/1,73m<sup>2</sup>) gering eingeschränkt auffiel. Diese Patientin hatte vor Entlassung eine erhebliche vorwiegend glomeruläre Proteinurie (U-Alb 23200 mg/l) mit im Verhältnis geringem tubulären  $\alpha_1$ -Mikroglobulin-Anteil (213 mg/l). Bei der Nachuntersuchung waren bei ihr weder eine U-Albumin- noch eine vermehrte  $\alpha_1$ -Mikroglobulin-Ausscheidung nachweisbar.

Sieben von 46 Patienten haben eigenständige kardiovaskuläre Erkrankungen und Risikofaktoren. Davon hat eine Patientin (Nr.73) auch eine altersentsprechend inadäquat gering eingeschränkte Nierenfunktion von 62,7 [ml/min/1,73m<sup>2</sup>].

Setzt man die hier betrachteten Nierenfunktionsparameter in Relation zu den erhobenen anamnestischen Daten, wie chronische Erkrankungen, Medikation und Substanzkonsum, so ist kein Zusammenhang mit der PUUV-Infektion festzustellen.

### 3.2.1 Nachweis Puumalavirus-spezifischer Antikörper in der Nachuntersuchungskohorte

Befundbericht des serologischen Nachweisverfahrens (n = 46, davon sind 34 männliche und 12 weibliche Patienten).

Zusammenfassung der PUUV-spezifischen Antikörpernachweise, n=46:

Analyt	Methode	Ergebnis		
		positiv	grenzwertig	negativ
Puumalavirus IgG	ELISA	44	1	1
Puumalavirus IgM	ELISA	2	1	43

**Tabelle 14: Zusammenfassung der serologischen Puumalavirus-spezifischen Antikörpernachweise**

Die PUUV-spezifischen IgG-AK waren 44-mal positiv, einmal grenzwertig und einmal negativ. Die PUUV-spezifischen IgM-AK waren zweimal positiv, einmal grenzwertig und 43-mal negativ.

Bei IgG-positiven Seren für PUUV beträgt die Sensitivität 99% und die Spezifität 97% (siehe Tab. 2 Hantavirus Puumala IgG/IgM ELISA Test). Rechnerisch ergibt sich nach dem Satz von Bayes eine bedingte Wahrscheinlichkeit von 3% falsch positiver Testergebnisse bei PUUV-IgG-AK. Bei IgM-positiven Seren beträgt die Sensitivität und Spezifität 99% (Tab. 2 Hantavirus Puumala IgG/IgM ELISA Test). Rechnerisch ergibt sich nach dem Satz von Bayes eine bedingte Wahrscheinlichkeit von 1% falsch

positiver Testergebnisse bei PUUV-IgM-AK. Auffällige Ergebnisse sind in nachfolgender Tabelle detailliert zusammengefasst:

Patient	Alter	Geschlecht	Analyt	Ergebnis	Zeitpunkt der Infektion und der Nachuntersuchung	Analyte zum Zeitpunkt der Akutinfektion
73	57	Weiblich	Puumalavirus IgM	Positiv	31.07.2012 16.06.2014	IgM: Q=5* IgG: Q=3,5*
84	47	Männlich	Puumalavirus IgM	Grenzwertig	02.08.2012 18.06.2014	IgM: Q=5,1* IgG: Q=3*
30	36	Männlich	Puumalavirus IgM	Positiv	27.05.2010 26.06.2014	IgM: Q=2,1* IgG: Q=5,1*
146	62	Männlich	Puumalavirus IgG	Grenzwertig	29.07.2002 23.06.2014	Rohdaten der Testergebnisse nicht mehr verfügbar
124	56	Männlich	Puumalavirus IgG	Negativ	05.11.2005 16.07.2014	IgM: +** IgG: +**

**Tabelle 15: Auffällige Ergebnisse der serologischen Puumalavirus-spezifischen Antikörpernachweise**

Eine PUUV-spezifische IgM-Antikörper-Persistenz konnte bei Patient Nr. 30 nach vier Jahren und 30 Tagen nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis ist im Rahmen einer bedingten Wahrscheinlichkeit von 1% falsch positiver Testergebnisse (siehe oben) auch als potenziell falsch positives Ergebnis zu betrachten.

Die PUUV-spezifischen IgG-AK und IgM-AK der restlichen 30 männlichen Patienten und elf weiblichen Patienten zeigten keine auffälligen Ergebnisse.

*\*Auswertung/Interpretation der Ergebnisse aus Hantavirus Puumala IgG/IgM ELISA Test (siehe Tab. 2 Hantavirus Puumala IgG/IgM ELISA Test)*

*\*\*Angaben über die Höhe des Immunnachweises nicht mehr verfügbar*

## **4 Diskussion**

### **4.1 Charakterisierung der Analysen**

Im Untersuchungszeitraum von 2001 bis 2013 konnten 145 der insgesamt 290 im Institut für Medizinische Virologie Tübingen diagnostizierten Fälle in diese Studie einbezogen werden. Ab dem Jahr 2004 wurden auch virusserologische Untersuchungen aus den Zollernalb Kliniken als externe Einsender in das Institut für Medizinische Virologie versandt. Diese Patienten wurden jedoch extern behandelt, so dass deren Daten nicht am UKT verfügbar waren. Im Jahr 2013 wurden keine Patienten mit HVI am UKT behandelt, deren Akten in dieser Studie auswertbar waren.

Es bleibt zu betonen, dass die von den Ärzten im UKT veranlassten Laboruntersuchungen bei HVI keinem standardisierten Algorithmus unterliegen und daher die Anzahl und die Art der zur Verfügung stehenden Laborparameter unterschiedlich waren.

## 4.2 Epidemiologische Entwicklung

Es ist eine Korrelation zwischen Buchenfruktifikation und PUUV-Infektion im Einzugsbereich des UKT anzunehmen. Von den insgesamt 145 Patientenaufnahmen im UKT waren die drei größten Ballungsgebiete Dettingen (Anteil der Patienten/Anteil der Stadtbevölkerung  $\sim 0,13\%$ ), Mössingen (Anteil der Patienten/Anteil der Stadtbevölkerung  $\sim 0,08\%$ ), Tübingen (Anteil der Patienten/Anteil der Stadtbevölkerung  $\sim 0,04\%$ ) und Rottenburg am Neckar (Anteil der Patienten/Anteil der Stadtbevölkerung  $\sim 0,02\%$ ) (vgl. 3.2 und Abb.5).

Die Schwäbische Alb und somit eines der Einzugsgebiete des UKT verzeichnet eine hohe Inzidenzrate von PUUV-Infektionen (47, 48).

Die Gegenüberstellung der jahreszeitlichen Durchschnittstemperaturen und der Patientenaufnahmen zeigt, dass die Anzahl von PUUV-Infektionen nach einem milderen Winter zunimmt und davon auszugehen ist, dass in kalten Wintermonaten die Rötelmauspopulation abnimmt (vgl. 3.1, Tab. 5). Es ist anzunehmen, dass die hohe Anzahl der behandelten Patienten der Jahre 2007, 2010 und 2012 mit der Buchenmast in Zusammenhang zu bringen ist (vgl. 2.1, 3.1, Tab. 1 + 5). Aus dem Waldzustandsbericht 2011 und 2012 der Forstlichen Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg geht hervor, dass die drei stärksten Mastjahre der Buche auf die Jahre 2006, 2009, und 2011 fallen (65, 66). Im Jahr 2006 lagen keine Einweisungen von Patienten mit PUUV-Infektion im UKT vor (vgl. 2.1, 3.1, 4.3, Tab. 1 + 5). Aus dem Waldzustandsbericht Baden-Württemberg der Jahre 2004 bis 2005 geht hervor, dass sich der Kronenzustand der Buchen im Jahr 2004 drastisch verschlechterte. Dies wird als Folge der abiotischen Schäden durch das außergewöhnliche Klima mit deutlich erhöhten Temperaturen im Jahre 2003 gewertet, als in Baden-Württemberg ein Niederschlagsdefizit von 70 % des langjährigen Mittels verzeichnet wurde (internationale klimatologische Referenzperiode 1961 bis 1990). Das hohe Schadniveau bewirkte an den Buchen im Folgejahr 2005 Trockenstresssymptome, wodurch fast 60 % der Buchenflächen Baden-Württembergs erheblich geschädigt waren (66-68). Dies erklärt die niedrige Buchenfruktifikation im Jahr 2004 und 2005, was als eine Ursache für den möglichen Rückgang der Rötelmauspopulation mit konsekutiv geringerer Anzahl von PUUV-

Infektionen im Jahr 2006 interpretiert werden kann (vgl. 2.1, 3.1, Tab. 1 + 5) (68).

Acht Fälle einer PUUV-Infektion wurden im Dezember 2011 verzeichnet, was mit der niedrigen Buchenfruktifikation aus dem Vorjahr 2010 zusammenpasst (vgl. 2.1, 3.1, 4.3, Tab. 1 + 5). Die Rötelmaus verbreitet sich vor allem in Gebieten mit einem hohen Buchenwaldanteil (59). Die Buche ist in fast allen Regionen Baden-Württembergs mit einem Waldflächenanteil von knapp 21 % die häufigste Laubbaumart (69). Waldgebiete Schönbuch, Rammert und Albtrauf gehören zu den bedeutendsten Wäldern im Landkreis Tübingen (70). Der Schönbuch hat einen Buchenanteil von knapp 28 % (71).

Tersago et al. beschreiben einen Zusammenhang zwischen klimatisch bedingter Buchenfruktifikation und der Populationsdynamik der Rötelmaus (50). Sie kamen zu dem Schluss, dass die Dynamik der Rötelmauspopulation viel stärker mit der klimatisch beeinflussten Nahrungsverfügbarkeit durch massenhafte Buchenfruktifikationen aus den Vorjahren als mit anderen Klimaparametern korreliere. Ein bis zwei Jahre nach warmen Sommer- und Herbstmonaten folge eine erhöhte Anzahl von PUUV-Infektionen (50). Die von Tersago et. al gefundenen Zusammenhänge können auch in unserem Beobachtungszeitraum gefunden werden und bestätigen die Annahme der Korrelation zwischen Buchenfruktifikation und PUUV-Infektion im Einzugsbereich des UKT (vgl. 2.1, 3.1, 4.3, Tab. 1 + 5).

### **4.3 Geographische Verteilung**

Der Landkreis Tübingen hat einen Bestand von insgesamt 18.300 Hektar Wald und dieser nimmt ungefähr 35% der Fläche ein. Das Bewaldungsprozent liegt knapp unter dem Landesdurchschnitt von 39%. Laubbäume (52%) überwiegen bei der Baumartenzusammensetzung gegenüber den Nadelbäumen (48%). Rotbuche, Eiche, Fichte und Waldkiefer sind am stärksten vertreten (72). Bei der Analyse der geografischen Kohortenverteilung konnte gezeigt werden, dass der Großteil des Patientenkollektivs aus waldnahen Gebieten des Landkreises Tübingen stammt, wobei die exakte Bestimmung des Infektionszeitpunkts und damit

des exakten Infektionsortes aufgrund der stark variierenden Inkubationszeit der PUUV-Infektion nicht möglich ist (vgl. 3.2, 4.2, Abb. 5-11) (73). Wie bereits Pilaski et al. bestätigten, ist die Schwäbische Alb als HV-Endemiegebiet bekannt (28).

#### **4.4 Analysen 2001 - 2013**

Die Gesamtkohorte wurde nach unterschiedlichen Merkmalen kategorisiert und zunächst die demografische Verteilung beobachtet. Hierbei konnte festgestellt werden, dass der Altersdurchschnitt sowohl bei männlichen Patienten, als auch bei weiblichen Patienten zwischen dem 40. und 50. Lebensjahr liegt (vgl. 3.1.1, Tab. 6). Demnach sind Kinder und Jugendliche weniger von einer PUUV-Infektion betroffen, als Erwachsene. Aufenthalte im Wald oder Gartenarbeiten könnten als Hauptursache der Exposition angenommen werden und dies würde mit den anamnestischen Angaben der Patienten während der Nachuntersuchung übereinstimmen (37, 74, 75). Es zeigt sich eine statistisch hochsignifikante Gewichtsabnahme der männlichen Patienten und eine signifikante Gewichtsabnahme der weiblichen Patienten im Zeitraum zwischen Aufnahme und Entlassung. Dieser Signifikanzunterschied ergibt sich statistisch aus den erheblich niedrigeren Fallzahlen von weiblichen Patienten. Das initial erhöhte Körpergewicht kann als Folge der oligurischen Phase interpretiert werden, da die Patienten bei gleichbleibendem Trinkverhalten aufgrund des nachlassenden Miktionsvolumens leichte Ödeme entwickeln. Die Gewichtsabnahme folgt aufgrund der im Verlauf einsetzenden polyurischen Phase, in der vermehrt Flüssigkeit ausgeschieden wird (vgl. 1.1.2, 3.1.1, Abb.1, Tab. 6).

Es wurden die unterschiedlichen Symptome der Patienten zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme erfasst und ausgewertet (145 Patienten, davon 107 männliche Patienten und 38 weibliche Patienten). Die klinischen Symptome haben sich im Verlauf des stationären Aufenthaltes weitgehend normalisiert (vgl. 1.1.2, Abb.1) (3, 20-23, 76). Tabelle 7 zeigt, dass alle männlichen und weiblichen Patienten eine erhöhte Körpertemperatur (100% des Gesamtkollektivs) hatten. 58,9% aller männlichen Patienten und 50 % aller weiblichen Patienten hatten Rücken-und Flankenschmerzen

(56,6% des Gesamtkollektivs), während 47,7% aller männlichen Patienten und 31,6% aller weiblichen Patienten Kopfschmerzen (43,4% des Gesamtkollektivs) angegeben haben. 37,4% aller männlichen Patienten und 42,1% aller weiblichen Patienten hatten Gliederschmerzen (38,6% des Gesamtkollektivs) und 29,9% aller männlichen Patienten und 36,8% aller weiblichen Patienten hatten Übelkeit- und Erbrechen (31,7% des Gesamtkollektivs). 18,7% aller männlichen Patienten und 21,1% aller weiblichen Patienten gaben eine Visusminderung (19,3% des Gesamtkollektivs) an und 16,8% aller männlichen Patienten und 18,4% aller weiblichen Patienten gaben abdominale Schmerzen (17,2% des Gesamtkollektivs) an und (vgl. 3.1.1, Tab. 7). Theiler et al. stellten fest, dass die Visusminderung bei PUUV-Infektionen zwar häufig auftritt, aber sich unabhängig von der Infektionsstärke manifestiert (77). Vermutungen zufolge könnte die Visusminderung mit Ödembildung in der Linse oder einer Beteiligung des zentralen Nervensystems in Zusammenhang gebracht werden (77-82).

Als Zeichen der Erholung der Nieren nahm der Blutdruck im Verlauf milde ab (vgl. 3.1.1, Tab. 6 + 9).

Bei stationärer Aufnahme war die Nierenfunktion überwiegend eingeschränkt (83), wobei sich diese im Verlauf in den meisten Fällen wieder besserte (vgl. 3.1.1, Tab. 8).

Eine Proteinurie konnte bei der Mehrzahl der Patienten nachgewiesen werden.  $\alpha$ 1-Mikroglobulin im Urin war bei Aufnahme deutlich erhöht und weist somit auf eine interstitielle Nephritis mit Tubulusläsion hin (vgl. 3.1.1, Tab. 8).

Die Urin-NGAL-Konzentrationen zeigten sich wechselnd erhöht und konnten als zusätzlichen Hinweis auf eine tubuläre Nierenläsion bei einer PUUV-Infektion gewertet werden (vgl. 3.1.1, Tab. 8).

Urin-NGAL ist in Verbindung mit Kreatinin, ein sehr empfindlicher Wert zur Bewertung der Nierenfunktion und kann sowohl eine sich anbahnende Nierenschädigung anzeigen, als auch als sensibler Marker zur Einschätzung des Ausmaßes einer bestehenden Nierenschädigung bei

einer PUUV-Infektion dienen (17, 84, 85). Kein Patient dieser Untersuchungskohorte wurde aufgrund der PUUV-Infektion dialysepflichtig. Bei Aufnahme konnte keine Leukozytose, aber eine Thrombozytopenie festgestellt werden. Im Verlauf der Krankenhausbehandlung normalisierte sich die Thrombozytenzahl (vgl. 3.1.1, Tab. 9 + 10) (25).

Zwischen Aufnahme und Entlassung wurden keine Elektrolytentgleisungen beobachtet. Es zeigten sich keine klinisch relevanten Veränderungen der LDH.

Erhöhte Transaminasen deuteten auf eine milde Leberbeteiligung hin, was im Rahmen dieser Untersuchung keine diagnostische Relevanz für eine PUUV-Infektion zeigte (vgl. 3.1.1, Tab. 9).

Bisher werden die Hantaviren in Altwelt- und Neuwelt-Hantaviren unterteilt. Diese Unterteilung wurde anhand der Symptomkomplexe vorgenommen. Altwelt-Hantaviren verursachen eine NE, Neuwelt-Hantaviren verursachen eine HPS/HPCPS. In Skandinavien wurde nun von einem Fall einer PUUV-Infektion berichtet, der einen HPS/HPCPS Symptomkomplex aufwies und nicht eine zu erwartende NE (86). Dies deutet daraufhin, dass eine Veränderung der bisherigen HVI Einteilung zwischen Neuwelt-Hantavirus und Altwelt-Hantavirus auch in Deutschland zu überlegen wäre (87). Bei einem Fall einer PUUV-Infektion mit starker pulmonaler Beteiligung zeigte der Bradykinin-Rezeptor-Antagonist Icatibant therapeutische Wirkung. Es fehlen jedoch noch Studienergebnisse, die die generelle Wirksamkeit einer Behandlung mit Icatibant belegen und bisher gibt es keine antivirale Therapie mit belegter Wirksamkeit bei einer PUUV-Infektion (88).

#### **4.5 Korrelationsanalysen der Nachuntersuchungskohorte**

Die Nierenschädigung im Rahmen einer akuten HVI mit PUUV zeigt keine Folgeschäden (vgl. 3.2). Die glomeruläre Filtrationsrate gibt Aufschluss über die Nierenfunktion (83, 89). Hier konnte festgestellt werden, dass elf der insgesamt 34 männlichen Patienten und eine der insgesamt zwölf weiblichen Patienten bei Entlassung eine noch eingeschränkte Nierenfunktion aufwiesen. Die glomeruläre Filtrationsrate der Niere nimmt physiologisch mit zunehmendem Alter ab (90). Die Patienten mit auffälliger

Nierenfunktion wurden bei der Nachuntersuchung genauer analysiert und dargestellt (vgl. 3.2, Tab. 13). Auffällig niedrige Nierenfunktionswerte der Patienten wie in der Nachuntersuchungskohorte können als Folge von Begleiterkrankungen betrachtet werden und nicht als Folge der Nephropathie einer HVI bei einer Puumala Nephritis (90). Sieben Patienten der Nachuntersuchungskohorte hatten kardiovaskuläre Begleiterkrankungen und Risikofaktoren. Davon hatte eine Patientin (Nr.73) eine altersentsprechend auffällig eingeschränkte Nierenfunktion von 62,7 ml/min/1,73m<sup>2</sup>. Hier sollte berücksichtigt werden, dass diese kardiovaskulären Begleiterkrankungen ebenfalls zu Mikroangiopathien sowie tubulärer Dysfunktion führen können und auch dadurch die Nierenfunktion in erheblichem Maße eingeschränkt werden kann (vgl. 3.2, Tab. 13) (91).

Signifikante Anhaltspunkte für die Entwicklung einer Hypertonie konnten im Vergleich der Mittelwerte von Kohorte 1 und 2 bei männlichen und weiblichen Patienten nicht festgestellt werden (vgl. 3.2, Tab. 11).

Die hochsignifikante Reduktion des systolischen Blutdruckes bei männlichen Patienten im Gegensatz zu weiblichen Patienten erklärt sich statistisch durch den höheren Anteil männlicher Patienten am Gesamtkollektiv mit konsekutiv höherer Anzahl von Vergleichswerten.

Der demografische Vergleich der beiden Kohorten zeigte anhand des Patientenalters eine durchschnittliche Zeitdifferenz zwischen Erkrankung und Nachuntersuchung von 7,4 Jahren (vgl. 3.2, Tab. 11). Bei der Körpergröße ist erwartungsgemäß kein signifikanter Unterschied festzustellen. Allerdings nahmen die männlichen Patienten der Kohorte 2 zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung im Mittel 4,4 kg an Körpergewicht zu und die weiblichen Patienten im Mittel 1,8 kg (vgl. 3.2, Tab. 11). Diese Gewichtszunahme ist teilweise auch im Rahmen einer Rehydratation zu bewerten. Laut dem Berlin-Institut für Bevölkerung und Entwicklung hat Deutschland einen prozentual höheren Anteil an übergewichtigen Menschen als die USA. Die Menschen in Deutschland nehmen an Körpergewicht mit steigender Tendenz zu (92). Es liegt nahe, dass die Gewichtszunahme zwischen dem Zeitraum der Entlassung und der

Nachuntersuchung größtenteils diesem allgemeinen Trend zuzuschreiben ist.

Es kann anhand der Analyse zusammenfassend festgestellt werden, dass die Nephropathien als Folge von Risikofaktoren und Begleiterkrankungen zu interpretieren sind und nicht als Folgeschäden einer PUUV-Infektion (vgl. 3.2, Tab. 13).

#### **4.5.1 Analyse der Antikörperbestimmung**

In der Nachuntersuchungskohorte konnte festgestellt werden, dass bei 46 Patienten IgG-AK einmal grenzwertig und einmal überraschenderweise gar nicht mehr nachweisbar waren. Die IgM-AK konnten bei 46 Patienten einmal grenzwertig und zweimal positiv nachgewiesen werden (vgl. 3.2.1, Tab. 14 und 15, Anhang 3). Bei IgG-positiven Seren für PUUV beträgt die Sensitivität 99% und die Spezifität 97%. Bei IgM-positiven Seren beträgt die Sensitivität und Spezifität 99% (Tab. 2 Hantavirus Puumala IgG/IgM ELISA Test).

In dieser Analyse war der Nachweis von PUUV spezifischen IgM-AK in Einzelfällen länger als vier Jahre möglich, nämlich genau vier Jahre und 30 Tage (vgl. 3.2.1, Tab. 15, Pat. Nr. 30) (52). Aktuell ist in Deutschland bei ungefähr 2-5% der PUUV-Infektionen eine isolierte IgM-AK Persistenz von über vier Jahren nachweisbar (87). IgM-AK konnten mit wenigen Ausnahmen (ca. 5%) in den untersuchten Fällen nicht mehr nachgewiesen werden (vgl. 3.2.1, Tab. 14 und 15). Dies kann als einen Hinweis auf rückläufige IgM-AK in der überwiegenden Anzahl von Fällen gedeutet werden und es ist davon auszugehen, dass IgM-Titer bereits nach wenigen Monaten nicht mehr nachweisbar sind. Doerr et al. berichten, dass das adaptive Immunsystem bei einer Mehrheit von HVI Patienten bereits zu Beginn der klinischen Symptomatik IgM-AK bilde, wobei diese nach wenigen Monaten wieder verschwinden. In wenigen Fällen werden auch verzögerte IgM-Antworten verzeichnet und es gebe Fälle, bei denen IgM-AK bis zu zwei Jahren nach der akuten Infektion nachgewiesen werden konnten (51).

Die Immunantwort gegen HVI des Typs PUUV, gekennzeichnet durch IgG-AK, persistiert über viele Jahre (vgl. 3.2.1, Tab. 14 und 15) (52). Es ist davon auszugehen, dass die Gedächtnis-B-Zellen bei einem erneuten Kontakt mit dem Antigen eine rasche Immunantwort auslösen und somit nachweislich eine höhere Immunität gegenüber einer Reinfektion mit HV besteht. Der IgG-AK ist ein stabiler Antikörper, der zur Verifikation der Infektion mitbestimmt wird. Erfahrungsgemäß persistieren HV IgG-AK ein Leben lang (52).

Es sind bisher keine Daten von einem großen, repräsentativen Kollektiv mit PUUV-Infektion bekannt, das auf den serologischen Nachweis von Puumalavirus-spezifischen Antikörpern im süddeutschen Raum nachuntersucht wurde (93). Als orientierende und ergänzende Maßnahme im Rahmen der Nachuntersuchung der Patientenkohorte 2 wurde in dieser Studie der serologische Nachweis von Puumalavirus-spezifischen Antikörpern der Kohorte 2 (n = 46) mittels ELISA erbracht (vgl. 2.4.1, 3.2.1, Tab. 14 + 15).

#### **4.6 Schlussfolgerungen**

In dieser Arbeit konnte bestätigt werden, dass die Prävalenz von PUUV-Infektion im Einzugsgebiet des UKT am ehesten mit der Buchenfruktifikation unmittelbar zusammenhängt, da diese sich erheblich auf die Populationsdynamik der Rötelmaus, als Hauptreservoirwirt der PUUV bekannt, auswirkt. Der Großteil unserer untersuchten Patientenkohorte wohnt in der Nähe von walddreichen Gebieten. Durch die variierende Inkubationszeit und die hohe Mobilität der Patienten ließ sich der genaue Infektionsort der HVI nur vermuten. Als Hauptexposition werden Aufenthalte im Wald und/oder Garten genannt. Die Patienten wurden im Regelfall mit erhöhter Körpertemperatur im Krankenhaus aufgenommen. Die Patienten nahmen im Verlauf des stationären Aufenthaltes an Körpergewicht ab. Bedeutsame laborchemische Veränderungen zeigten sich bei der Nierenfunktion, NGAL,  $\alpha$ 1-Mikroglobulin- und der Eiweiß-Konzentration im Urin.

Die Nachuntersuchungskohorte wurde im Durchschnitt nach 7,4 Jahren untersucht. Diese Patienten hatten ihren Gewichtsverlust, der während des stationären Aufenthalts feststellbar gewesen war, in den dazwischenliegenden Jahren aufgeholt und fühlten sich wohl. Es zeigte sich eine durchschnittliche Gewichtszunahme zwischen Entlassung und Nachuntersuchung von 3,1 kg. Bei 89 % war die Nierenfunktion normal. Bei 11% lag eine geringfügig eingeschränkte Nierenfunktion vor, mit kardiovaskulären Begleiterkrankungen und Risikofaktoren.

Bei der Bestimmung der PUUV-Antikörper ließen sich bei 96% der Patienten die nachuntersucht wurden PUUV-IgG-AK nach durchschnittlich 4,3 Jahren im Serum nachweisen. Somit konnte eine Immunantwort nach dieser Zeit festgestellt werden. IgM-AK waren zu 95% nicht mehr vorhanden. In einem Fall konnten IgM-AK noch nach etwas mehr als vier Jahren post infectionem nachgewiesen werden.

## **5 Zusammenfassung**

Hantavirusinfektionen sind im süddeutschen Raum endemisch verbreitet. Es wurden Patienten mit einer HVI im Einzugsgebiet des UKT im Zeitraum 2001 bis 2013 im Hinblick auf klinische Symptomverläufe und spezifische laborchemische Blutparameter untersucht. Das Ziel dieser Arbeit lag darin, Korrelationen zwischen der Symptomatik und der Höhe einzelner laborchemischer Blutparameter darzustellen und zu zeigen, ob sich signifikante Gemeinsamkeiten in diesem Patientenkollektiv abzeichnen. Durch eine genaue Analyse, unter Berücksichtigung der geografischen Besonderheiten, sollte gezeigt werden, ob sich Prävalenzhäufungen in der Region ergeben. Darüber hinaus sollte untersucht werden, ob die Nephropathia epidemica mehrere Jahre nach der Akutinfektion komplikationslos abheilt. Dabei sollte eine Bestimmung noch vorhandener Antikörper im Blut erfolgen.

Im Zeitraum von 2001-2013 wurden 290 Fälle einer HVI vom Institut für Medizinische Virologie Tübingen entsprechend dem Infektionsschutzgesetz §7 dem zuständigen Gesundheitsamt gemeldet. Davon wurden die Dokumentationen von 145 im UKT hospitalisierten Fällen ausgewertet. Dabei wurden von jedem Patienten retrospektiv biometrische Daten,

klinische Symptome und laborchemische Parameter erfasst und diese Daten in pseudonymisierter Form zusammengestellt, mit statistischen Verfahren ausgewertet und grafisch dargestellt. Die Durchführung einer Nachuntersuchung von Patienten erforderte ein Ethikvotum. Nach dem positiven Votum wurden im Rahmen der Nachuntersuchung 145 Patienten schriftlich eingeladen und anschließend telefonisch kontaktiert. Bei 46 Patienten konnte eine Nachuntersuchung erfolgen, wobei ein Patient aufgrund der Teilnahme an einer anderen Studie von dieser Untersuchung ausgeschlossen werden musste. Bei jedem Patienten wurden der allgemeine Gesundheitszustand, biometrische Daten, Vitalwerte, Medikamente, sowie Laborparameter anhand eines festgelegten Schemas erhoben, statistisch ausgewertet und tabellarisch dargestellt.

Die Häufigkeit von HVI im Einzugsgebiet des UKT stand in direktem Zusammenhang mit der Buchenfruktifikation des Vorjahres. Der Großteil des Patientenkollektivs kam aus waldnahen Gebieten des Landkreises Tübingen. Es musste jedoch eine gewisse Ungenauigkeit in der Lokalisation des Infektionsortes durch die hohe Mobilität in der heutigen Zeit und der Unsicherheit bezüglich des Infektionszeitpunktes der HVI berücksichtigt werden. Die häufigsten klinischen Symptome waren: Fieber (♂ 100%, ♀ 100%), Rücken- und Flankenschmerzen (♂ 58,9%, ♀ 50%) und Kopfschmerzen (♂ 47,7%, ♀ 31,6%). Die Patienten nahmen während der stationären Behandlung im Durchschnitt 2 kg Körpergewicht ab. Die Retentionsparameter stabilisierten sich im Behandlungsverlauf. NGAL im Urin war in 50% der Fälle initial erhöht. Das  $\alpha$ 1-Mikroglobulin und U-Alb waren rückläufig. Die Transaminasen zeigten eine eher milde Leberbeteiligung. Leukozytose und Thrombozytopenie normalisierten sich im Behandlungsverlauf. Die Patienten waren im Zeitintervall der Nachuntersuchung im Mittel 7,4 Jahre älter geworden und hatten durchschnittlich 3,1 kg Körpergewicht zugenommen. Die Retentionsparameter waren weitgehend altersentsprechend unauffällig. Eine persistierende spezifische IgG-AK Immunantwort konnte bei 98% nachgewiesen werden. IgM-AK konnten im Rahmen der Nachuntersuchung bei 44 Patienten (95,7%) im Serum nicht mehr nachgewiesen werden und

bei zwei Patienten (4,3%) waren IgM-AK im Serum noch nach weiteren Jahren post infectionem nachweisbar.

Die Buchenfruktifikation des Vorjahres hat sich als prädiktives Merkmal für die Vorhersage der Infektionshäufigkeit der HVI im Einzugsgebiet des UKT herausgestellt. Für den klinischen Alltag ist die Bestimmung der Nierenfunktionsparameter, NGAL und der korpuskulären Blutbestandteile sinnvoll und kann zur Abschätzung der Schwere einer HVI dienen. Die Nephropathia epidemica heilt folgenlos ab. Eine spezifische Immunantwort ist auch nach mehreren Jahren im Serum nachweisbar.

Die Arbeit belegt, dass die HVI eine selbstlimitierende Erkrankung ist, die weitgehend folgenlos ausheilt. Ein stationärer Aufenthalt mit parenteraler Flüssigkeitssubstitution ist nur dann notwendig, wenn eine erhebliche Polyurie (>10 l/d) vorliegt und ein peroraler Flüssigkeitsausgleich nicht möglich ist.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Lee HW, Lee PW, Johnson KM. Isolation of the Etiologic Agent of Korean Hemorrhagic Fever. *Journal of Infectious Diseases*. 1978;137(3):298-308.
2. Reusken C, Heyman P. Factors driving hantavirus emergence in Europe. *Curr Opin Virol*. 2013;3(1):92-9.
3. Krüger DH, Schonrich G, Klempa B. Human pathogenic hantaviruses and prevention of infection. *Hum Vaccin*. 2011;7(6):685-93.
4. de Araujo J, Thomazelli LM, Henriques DA, Lautenschlager D, Ometto T, Dutra LM, et al. Detection of hantavirus in bats from remaining rain forest in Sao Paulo, Brazil. *BMC research notes*. 2012;5:690.
5. Sumibcay L, Kadjo B, Gu SH, Kang HJ, Lim BK, Cook JA, et al. Divergent lineage of a novel hantavirus in the banana pipistrelle (*Neoromicia nanus*) in Cote d'Ivoire. *Virology journal*. 2012;9:34.
6. Weiss S, Witkowski PT, Auste B, Nowak K, Weber N, Fahr J, et al. Hantavirus in bat, Sierra Leone. *Emerging infectious diseases*. 2012;18(1):159-61.
7. Guo WP, Lin XD, Wang W, Tian JH, Cong ML, Zhang HL, et al. Phylogeny and origins of hantaviruses harbored by bats, insectivores, and rodents. *PLoS pathogens*. 2013;9(2):e1003159.
8. Krüger D, Klempa B. Dobrava-Belgrade Virus. In: Liu D, Ed. *Molecular detection of human viral pathogens*. Boca Raton: CRC Press. 2011 631-8.
9. Klempa B, Tkachenko EA, Dzagurova TK, Yunicheva YV, Morozov VG, Okulova NM, et al. Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome Caused by 2 Lineages of Dobrava Hantavirus, Russia. *Emerging infectious diseases*. 2008;14(4):617-25.
10. Padula PJ, Edelstein A, Miguel SD, Lopez NM, Rossi CM, Rabinovich RD. Hantavirus pulmonary syndrome outbreak in Argentina: molecular evidence for person-to-person transmission of Andes virus. *Virology*. 1998;241(2):323-30.
11. Schmaljohn CS, Hasty SE, Dalrymple JM, LeDuc JW, Lee HW, von Bonsdorff CH, et al. Antigenic and genetic properties of viruses linked to hemorrhagic fever with renal syndrome. *Science*. 1985;227(4690):1041-4.
12. Plyusnin A, Kruger DH, Lundkvist A. Hantavirus infections in Europe. *Advances in virus research*. 2001;57:105-36.
13. Aberle J, Bartenschlager R, Becker S, Berger A, Braun RW, Brierley I, et al. *Medizinische Virologie*. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag; 2010. Available from: <https://www.thieme-connect.de/products/ebooks/book/10.1055/b-001-2163>.
14. Taylor SL, Wahl-Jensen V, Copeland AM, Jahrling PB, Schmaljohn CS. Endothelial cell permeability during hantavirus infection involves factor XII-dependent increased activation of the kallikrein-kinin system. *PLoS pathogens*. 2013;9(7):e1003470.
15. Johnson KM. Hantaviruses: history and overview. *Current topics in microbiology and immunology*. 2001;256:1-14.
16. Sirotin BZ, Keiser NP. On the history of the study of haemorrhagic fever with renal syndrome in eastern Russia. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2001;16(6):1288-90.
17. Bunz H, Weyrich P, Peter A, Baumann D, Tschritter O, Guthoff M, et al. Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) and proteinuria

predict severity of acute kidney injury in Puumala virus infection. *BMC infectious diseases*. 2015;15:464.

18. Kramski M, Achazi K, Klempa B, Kruger DH. Nephropathia epidemica with a 6-week incubation period after occupational exposure to Puumala hantavirus. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2009;44(1):99-101.

19. Ulrich R, Meisel H, Schutt M, Schmidt J, Kunz A, Klempa B, et al. [Prevalence of hantavirus infections in Germany]. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz*. 2004;47(7):661-70.

20. Lee HW, van der Groen G. Hemorrhagic fever with renal syndrome. *Progress in medical virology Fortschritte der medizinischen Virusforschung Progres en virologie medicale*. 1989;36:62-102.

21. Peters CJ, Simpson GL, Levy H. Spectrum of hantavirus infection: hemorrhagic fever with renal syndrome and hantavirus pulmonary syndrome. *Annual review of medicine*. 1999;50:531-45.

22. Krüger DH, Ulrich R, Lundkvist AA. Hantavirus infections and their prevention. *Microbes and infection / Institut Pasteur*. 2001;3(13):1129-44.

23. Robert Koch-Institut RfÄ. Infektionskrankheiten A-Z: Hantavirus-Infektionen 2015 [updated 02.07.2015; cited 2016 10.08.2016]. Available from: [http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber\\_Hantaviren.html#doc2397634bodyText8](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Hantaviren.html#doc2397634bodyText8).

24. Aberle J, Bartenschlager R, Becker S, Berger A, Braun RW, Brierley I, et al. *Medizinische Virologie*. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag; 2010. Available from: <https://www.thieme-connect.de/products/ebooks/book/10.1055/b-001-2163>.

25. Krüger DH, Ulrich RG, Hofmann J. Hantaviruses as zoonotic pathogens in Germany. *Deutsches Arzteblatt international*. 2013;110(27-28):461-7.

26. Mustonen J, Brummer-Korvenkontio M, Vaheri A. [Clinical aspects and diagnosis of nephropathia epidemica]. *Duodecim; laaketieteellinen aikakauskirja*. 1995;111(15):1419-25.

27. Antoniadis A PJ, Klein H, Zoeller L, Gorschewski O. Serologic evidence for Korean Haemorrhagic Fever in Western Germany. *Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg A* 260: 459. 1985.

28. Pilaski J, Ellerich C, Kreutzer T, Lang A, Benik W, Pohl-Koppe A, et al. Haemorrhagic fever with renal syndrome in Germany. *Lancet*. 1991;337(8733):111.

29. Pilaski J, Feldmann H, Morzunov S, Rollin PE, Ruo SL, Lauer B, et al. Genetic identification of a new Puumala virus strain causing severe hemorrhagic fever with renal syndrome in Germany. *The Journal of infectious diseases*. 1994;170(6):1456-62.

30. Meisel H, Lundkvist A, Gantzer K, Bar W, Sibold C, Kruger DH. First case of infection with hantavirus Dobrava in Germany. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 1998;17(12):884-5.

31. Mentel R, Bordihn N, Wegner U, Wendel H, Niklasson B. Hantavirus Dobrava infection with pulmonary manifestation. *Medical microbiology and immunology*. 1999;188(1):51-3.

32. Klempa B, Meisel H, Rath S, Bartel J, Ulrich R, Kruger DH. Occurrence of renal and pulmonary syndrome in a region of northeast Germany where Tula hantavirus circulates. *Journal of clinical microbiology*. 2003;41(10):4894-7.

33. Klempa B, Schutt M, Auste B, Labuda M, Ulrich R, Meisel H, et al. First molecular identification of human Dobrava virus infection in central Europe. *Journal of clinical microbiology*. 2004;42(3):1322-5.
34. Rasche FM, Uhel B, Kruger DH, Karges W, Czock D, Hampl W, et al. Thrombocytopenia and acute renal failure in Puumala hantavirus infections. *Emerging infectious diseases*. 2004;10(8):1420-5.
35. Mertens M, Hofmann J, Petraityte-Burneikiene R, Ziller M, Sasnauskas K, Friedrich R, et al. Seroprevalence study in forestry workers of a non-endemic region in eastern Germany reveals infections by Tula and Dobrava-Belgrade hantaviruses. *Medical microbiology and immunology*. 2011;200(4):263-8.
36. Robert Koch-Institut: SurvStat@RKI 2.0-Anwendung hsrđ, Datenstand: 02.09.2014. <https://survstatrki.de>.
37. Zoller L, Faulde M, Meisel H, Ruh B, Kimmig P, Schelling U, et al. Seroprevalence of hantavirus antibodies in Germany as determined by a new recombinant enzyme immunoassay. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 1995;14(4):305-13.
38. Essbauer S, Schmidt J, Conraths FJ, Friedrich R, Koch J, Hautmann W, et al. A new Puumala hantavirus subtype in rodents associated with an outbreak of Nephropathia epidemica in South-East Germany in 2004. *Epidemiology and infection*. 2006;134(6):1333-44.
39. Schilling S, Emmerich P, Klempa B, Auste B, Schnaith E, Schmitz H, et al. Hantavirus disease outbreak in Germany: limitations of routine serological diagnostics and clustering of virus sequences of human and rodent origin. *Journal of clinical microbiology*. 2007;45(9):3008-14.
40. Hofmann J, Meisel H, Klempa B, Vesenbeckh SM, Beck R, Michel D, et al. Hantavirus outbreak, Germany, 2007. *Emerging infectious diseases*. 2008;14(5):850-2.
41. Ettinger J, Hofmann J, Enders M, Tewald F, Oehme RM, Rosenfeld UM, et al. Multiple synchronous outbreaks of Puumala virus, Germany, 2010. *Emerging infectious diseases*. 2012;18(9):1461-4.
42. Boone I, Wagner-Wiening C, Reil D, Jacob J, Rosenfeld UM, Ulrich RG, et al. Rise in the number of notified human hantavirus infections since October 2011 in Baden-Württemberg, Germany. *Euro surveillance : bulletin European sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*. 2012;17(21).
43. Robert Koch-Institut SR-A. 2001-2013 [02.09.2014]. Available from: <https://survstat.rki.de>.
44. Olsson GE, Hjertqvist M, Lundkvist A, Hornfeldt B. Predicting high risk for human hantavirus infections, Sweden. *Emerging infectious diseases*. 2009;15(1):104-6.
45. J. KC. *Population Fluctuations in Rodents*. The University of Chicago Press. 2013.
46. Norrdahl K, Korpimäki E. Do nomadic avian predators synchronize population fluctuations of small mammals? a field experiment. *Oecologia*. 1996;107(4):478-83.
47. Hansson L, Jedrzejewska, B. & Jerzejewski, W. Regional differences in dynamics of bank vole populations in Europe. *Polish Journal of Ecology* 2000;48:Supplementum 163-77.

48. Verhagen R, Leirs H, Tkachenko E, van der Groen G. Ecological and epidemiological data on Hantavirus in bank vole populations in Belgium. *Archives of virology*. 1986;91(3-4):193-205.
49. Imholt C, Esther A, Perner J, Jacob J. Identification of weather parameters related to regional population outbreak risk of common voles (*Microtus arvalis*) in Eastern Germany. *Wildlife Research*. 2011;38(7):551-9.
50. Tersago K, Verhagen R, Servais A, Heyman P, Ducoffre G, Leirs H. Hantavirus disease (nephropathia epidemica) in Belgium: effects of tree seed production and climate. *Epidemiology and infection*. 2009;137(2):250-6.
51. Aberle J, Bartenschlager R, Becker S, Berger A, Braun RW, Brierley I, et al. *Medizinische Virologie*. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag; 2010. Available from: <https://www.thieme-connect.de/products/ebooks/book/10.1055/b-001-2163>.
52. Aberle J, Bartenschlager R, Becker S, Berger A, Braun RW, Brierley I, et al. *Medizinische Virologie*. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag; 2010. Available from: <https://www.thieme-connect.de/products/ebooks/book/10.1055/b-001-2163>.
53. Kimmig P, Wagner-Wiening C, Hassler D. [Hantaviruses--"exotic" viruses in Germany]. *Deutsche medizinische Wochenschrift*. 2002;127(45):2369-70.
54. Hujakka H, Koistinen V, Eerikainen P, Kuronen I, Laatikainen A, Kauppinen J, et al. Comparison of a new immunochromatographic rapid test with a commercial EIA for the detection of Puumala virus specific IgM antibodies. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2001;23(1-2):79-85.
55. Maes P, Clement J, Van Ranst M. Recent approaches in hantavirus vaccine development. *Expert review of vaccines*. 2009;8(1):67-76.
56. Ulrich R. ES, Schmidt J., Schütt M., Koch J., Conraths F.J., Pelz H.-J. und Wenk M. Zunehmende Gefährdung durch von Nagetieren übertragene Hantaviren? *AFZ-Der Wald*2006 [02.09.2014]. Available from: <http://www.kwf-online.de/deutsch/lohnunternehmer/pdf/arbeitschutz/hantavieren.pdf>.
57. Hardestam J, Simon M, Hedlund KO, Vaheri A, Klingstrom J, Lundkvist A. Ex vivo stability of the rodent-borne Hantaan virus in comparison to that of arthropod-borne members of the Bunyaviridae family. *Applied and environmental microbiology*. 2007;73(8):2547-51.
58. Stefan B. Hantavirus-Erkrankungen Epidemiologische Situation in Baden-Württemberg. Regierungspräsidium Stuttgart, Baden-Württemberg, Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg. 2010(Referta 95 Epidemiologie und Gesundheitsberichterstattung).
59. Braun N, Haap M, Overkamp D, Kimmel M, Alscher MD, Lehnert H, et al. Characterization and outcome following Puumala virus infection: a retrospective analysis of 75 cases. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2010;25(9):2997-3003.
60. Schmidt D-MJ. Rückblick - Monats- und Jahreswerte für Stuttgart: WetterKontor GmbH Gartenfeldstraße 2 55218 Ingelheim; 2014 [cited 2014 19.09.2014]. Available from: <http://www.wetterkontor.de/de/monatswertestation.asp?id=10738>.
61. Baden-Württemberg SL. Vierteljährlicher Bevölkerungsstand Fortschreibung Basis Zensus 2011 Bevölkerung und Gebiet im Überblick

- Tübingen, Stadt: Statistisches Landesamt Baden-Württemberg, Stuttgart, 2015; 04/2012 [cited 2016 24.01.2016]. Available from: <http://www.statistik-bw.de/SRDB/Tabelle.asp?H=BevoelkGebiet&U=02&T=01035055&E=GE&K=416&R=GE416041>
62. Baden-Württemberg SL. Vierteljährlicher Bevölkerungsstand seit 2011 Fortschreibung Basis Zensus 2011 Bevölkerung und Gebiet im Überblick Mössingen, Stadt: Statistisches Landesamt Baden-Württemberg, 2015; 04/2012 [cited 2016 24.01.2016]. Available from: <http://www.statistik-bw.de/SRDB/Tabelle.asp?H=1&U=02&T=01035055&E=GE&K=416&R=GE416025>
63. Baden-Württemberg SL. Vierteljährlicher Bevölkerungsstand Fortschreibung Basis Zensus 2011 Bevölkerung und Gebiet im Überblick Rottenburg am Neckar, Stadt: Statistisches Landesamt Baden-Württemberg, Stuttgart; 04/2012 [cited 2016 24.01.2016]. Available from: <http://www.statistik-bw.de/SRDB/Tabelle.asp?H=1&U=02&T=01035055&E=GE&K=416&R=GE416036>
64. Baden-Württemberg SL. Vierteljährlicher Bevölkerungsstand Fortschreibung Basis Zensus 2011 Bevölkerung und Gebiet im Überblick Dettenhausen (Kreis Tübingen) 04/2012 [cited 2016 24.01.2016]. Available from: <http://www.statistik-bw.de/SRDB/Tabelle.asp?H=1&U=02&T=01035055&E=GE&K=416&R=GE416009>
65. Stefan Meining (Büro für Umweltüberwachung F, Klaus v. Wilpert JS, Peter Hartmann, Jörg Schumacher, Horst Delb (alle FVA Baden-Württemberg), Nicole Augustin (University of Bath E. Waldzustandsbericht 2012 für Baden-Württemberg Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg; 2012 [19.09.2014]. Available from: <http://www.fva-bw.de/publikationen/wzb/ws2012.pdf>
66. Stefan Meining (Büro für Umweltüberwachung F, Klaus v. Wilpert HSaFB-W, Nicole Augustin (University of Bath E, Freiburg) PKR. Waldzustandsbericht 2011 für Baden-Württemberg: Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg 2011 [cited 2014 19.09.2014]. Available from: <http://www.fva-bw.de/publikationen/wzb/ws2011.pdf>
67. Meining S, Schröter DH, Wilpert DKv. Waldzustandsbericht 2004 der forstlichen Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg 2004 [cited 2014 19.09.2014]. Available from: <http://www.fva-bw.de/publikationen/wzb/ws2004.pdf>
68. Stefan Meining (Büro für Umweltüberwachung F, Baden-Württemberg) DKvWF, Baden-Württemberg) DHSF. Waldzustandsbericht 2005 der forstlichen Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt

- Baden-Württemberg 2005 [cited 2014 19.09.2014]. Available from: <http://www.fva-bw.de/publikationen/wzb/ws2005.pdf>.
69. Stefan Meining (Büro für Umweltüberwachung F, Klaus v. Wilpert JS, Horst Delb, Peter Hartmann, Lisa Rubin, Reinhold John, Berthold Metzler,, Baden-Württemberg) TBaF, Nicole Augustin (University of Bath E. Waldzustandsbericht 2014: Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg (FVA); 2014 [cited 2015 19.04.2015]. Available from: [https://mlr.baden-wuerttemberg.de/fileadmin/redaktion/m-mlr/intern/dateien/PDFs/Wald/Waldzustandsbericht\\_2014.pdf](https://mlr.baden-wuerttemberg.de/fileadmin/redaktion/m-mlr/intern/dateien/PDFs/Wald/Waldzustandsbericht_2014.pdf).
70. Tübingen L. PLENUM im Landkreis Tübingen: Landkreis Tübingen; 2012 [cited 2015 19.04.2015]. Available from: [http://www.kreis-tuebingen.de/site/LRA-Tuebingen-Internet-Root/get/2750050/plenum\\_projektskizze\\_lkr\\_tue\\_2012.pdf](http://www.kreis-tuebingen.de/site/LRA-Tuebingen-Internet-Root/get/2750050/plenum_projektskizze_lkr_tue_2012.pdf).
71. Mathias Allgäuer NS, Julia Glaser NS, Rebecca Hurlebaus NS, Julia Werdermann NS. Baumartzusammensetzung: Geschäftsstelle Naturpark Schönbuch; 2014 [cited 2015 19.04.2015]. Available from: <http://naturpark-schoenbuch.de/de/wissen/naturerlebnis/wald-im-schoenbuch/baumartenzusammensetzung/>.
72. Landratsamt Tübingen AF. Waldstruktur und Waldbesitzarten Dienstleistungen: Landratsamt; 2016 [13.08.2016]. Available from: <http://www.kreis-tuebingen.de/Lde/310076.html>.
73. Faber MS, Ulrich RG, Frank C, Brockmann SO, Pfaff GM, Jacob J, et al. Steep rise in notified hantavirus infections in Germany, April 2010. Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin. 2010;15(20).
74. Clement J, Underwood P, Ward D, Pilaski J, LeDuc J. Hantavirus outbreak during military manoeuvres in Germany. Lancet. 1996;347(8997):336.
75. Kimmig P, Silva-González R, Backe H, Brockmann S, Oehme R, Ernst E, et al. Epidemiologie von Hantaviren in Baden-Württemberg. Gesundheitswesen. 2001;63(02):107-12.
76. Mertz GJ, Hjelle B, Crowley M, Iwamoto G, Tomicic V, Vial PA. Diagnosis and treatment of new world hantavirus infections. Current opinion in infectious diseases. 2006;19(5):437-42.
77. Theiler G, Langer-Wegscheider B, Zollner-Schwetz I, Valentin T, Honigl M, Schnedl W, et al. Blurred vision and myopic shift in Puumala virus infections are independent of disease severity. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2012;18(10):E435-7.
78. Hautala T, Hautala N, Mahonen SM, Sironen T, Paakko E, Karttunen A, et al. Young male patients are at elevated risk of developing serious central nervous system complications during acute Puumala hantavirus infection. BMC infectious diseases. 2011;11:217.
79. Krause R, Aberle S, Haberl R, Daxbock F, Wensch C. Puumala virus infection with acute disseminated encephalomyelitis and multiorgan failure. Emerging infectious diseases. 2003;9(5):603-5.
80. Hoier S, Aberle SW, Langner C, Schnedl W, Hogenauer C, Reisinger EC, et al. Puumala virus RNA in patient with multiorgan failure. Emerging infectious diseases. 2006;12(2):356-7.
81. Alexeyev OA, Morozov VG. Neurological manifestations of hemorrhagic fever with renal syndrome caused by Puumala virus: review of 811 cases. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 1995;20(2):255-8.

82. Ahlm C, Linden C, Linderholm M, Alexeyev OA, Billheden J, Elgh F, et al. Central nervous system and ophthalmic involvement in nephropathia epidemica (European type of haemorrhagic fever with renal syndrome). *The Journal of infection*. 1998;36(2):149-55.
83. Bertram L Kasiske DCW. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease *Kidney International Supplements: International Society of Nephrology*; 2013 [cited 2014 18.09.]. Available from: [http://www.kdigo.org/clinical\\_practice\\_guidelines/pdf/CKD/KDIGO\\_2012\\_CKD\\_GL.pdf](http://www.kdigo.org/clinical_practice_guidelines/pdf/CKD/KDIGO_2012_CKD_GL.pdf).
84. UKT Zentrallaboratorium. NGAL (Neutrophilen Gelatinase-assoziiertes Lipocalin) Leistungsverzeichnis (extern): Zentrallaboratorium Abteilung Medizin IV Universitätsklinikum Tübingen; 2011. Available from: <http://www.medizin.uni-tuebingen.de/extweb/labor/LabUnta.asp>.
85. Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): A new marker of kidney disease. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation Supplementum*. 2008;241:89-94.
86. Gizzi M, Delaere B, Weynand B, Clement J, Maes P, Vergote V, et al. Another case of "European hantavirus pulmonary syndrome" with severe lung, prior to kidney, involvement, and diagnosed by viral inclusions in lung macrophages. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2013;32(10):1341-5.
87. Hofmann J. Persönliche Mitteilung aus dem Konsiliarlabor für Hantaviren, Charité Berlin, Deutschland. In: Wirth M, editor. 2016.
88. Laine O, Leppanen I, Koskela S, Antonen J, Makela S, Sinisalo M, et al. Severe Puumala virus infection in a patient with a lymphoproliferative disease treated with icatibant. *Infectious diseases (London, England)*. 2015;47(2):107-11.
89. Foundation NK. FREQUENTLY ASKED QUESTIONS ABOUT GFR ESTIMATES: National Kidney Foundation; 2014 [cited 2014 25.09.2014]. Available from: [http://www.kidney.org/sites/default/files/docs/12-10-4004\\_abe\\_faqs\\_aboutgfrrev1b\\_singleb.pdf](http://www.kidney.org/sites/default/files/docs/12-10-4004_abe_faqs_aboutgfrrev1b_singleb.pdf).
90. Coresh J, Astor BC, Greene T, Eknoyan G, Levey AS. Prevalence of chronic kidney disease and decreased kidney function in the adult US population: Third National Health and Nutrition Examination Survey. *American journal of kidney diseases* : the official journal of the National Kidney Foundation. 2003;41(1):1-12.
91. Bazzi C, Petrini C, Rizza V, Arrigo G, Beltrame A, Pisano L, et al. Urinary excretion of IgG and [alpha ]1-microglobulin predicts clinical course better than extent of proteinuria in membranous nephropathy. *American Journal of Kidney Diseases*. 2001;38(2):240-8.
92. Köhncke Y. Übergewicht Online-Handbuch Demografie: Berlin-Institut für Bevölkerung und Entwicklung; 2010 [cited 2014 24.09.2014]. Available from: [http://www.berlin-institut.org/online\\_handbuchdemografie/bevoelkerungsdynamik/auswirkungen/uebergewicht.html](http://www.berlin-institut.org/online_handbuchdemografie/bevoelkerungsdynamik/auswirkungen/uebergewicht.html).
93. Latus J, Schwab M, Tacconelli E, Pieper FM, Wegener D, Dippon J, et al. Clinical course and long-term outcome of hantavirus-associated nephropathia epidemica, Germany. *Emerging infectious diseases*. 2015;21(1):76-83.

## **7 Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift**

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. med. Gerhard Jahn, sowie den Betreuern Herrn Dr. med. Ingo Rettig und Herrn Dr. med. Stefan Jürgens.

Die Antikörperbestimmung der Nachuntersuchung wurde nach Einarbeitung durch Herrn Dr. med. Stefan Jürgens von mir in Zusammenarbeit mit Frau Verena Müller (MTA) durchgeführt. Alle weiteren laborchemischen Untersuchungen wurden durch das Zentrallabor des UKT durchgeführt.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Beratung durch das Institut für Biometrie durch mich.

Ich versichere, das Manuskript eigenständig nach Anleitung durch Herrn Prof. Dr. med. Gerhard Jahn, Herrn Dr. med. Ingo Rettig und Herrn Dr. med. Stefan Jürgens verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, den

## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Gerhard Jahn, Ärztlicher Direktor des Instituts für Medizinische Virologie und Epidemiologie der Viruskrankheiten, Eberhard-Karls-Universität Tübingen, sehr herzlich bedanken, der mir die Möglichkeit gegeben hat, diese Arbeit unter seiner Leitung durchzuführen.

Ebenso bedanke ich mich in besonderer Weise bei den Herren Dr. med. Ingo Rettig und Dr. med. Stefan Jürgens für die fachliche Betreuung. Frau Verena Müller gebührt Dank für die Unterstützung bei der Arbeit im diagnostischen Labor des Instituts.

Ein besonderer Dank geht auch an Frau Aline Naumann aus dem Institut für Biometrie für die kompetente Beratung und an Frau Irene Haag aus dem Sekretariat der Virologie, sowie an das Team der Inneren IV Ambulanz.

Herzlich bedanke ich mich bei meiner Familie für die Unterstützung in allen Belangen.