

Abteilung für Pädiatrie des Altonaer Kinderkrankenhauses in Hamburg
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. med. Frank Riedel

**Erregerdiagnostik mittels PCR und bakteriologischer Kultur aus
bronchoalveolärer Lavage bei Kindern mit
chronisch-obstruktiven Atemwegserkrankungen**

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin an
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:
Hans Bernhard Bachmann-Lepper
geboren in Hannover

Hamburg 2010

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Hamburg am: 27.04.2010

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: Professor Dr. F. Riedel

Prüfungsausschuss: 2. Gutachter/in: PD Dr. H. Rohde

Prüfungsausschuss: 3. Gutachter/in: Professor D. M. Aepfelbacher

Für

Dr. med. Elisabeth Lepper

*** 05.02.1914**

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 | Einleitung | 6 |
| 2 | Arbeitshypothese und Fragestellung..... | 18 |
| 3 | Material und Methoden | 20 |
| 3.1 | Erhobene Daten..... | 20 |
| 3.1.1 | Patientenanamnese | 20 |
| 3.1.2 | Familienanamnese..... | 21 |
| 3.1.3 | Sozialanamnese | 21 |
| 3.1.4 | Körperliche Untersuchung..... | 21 |
| 3.1.5 | Laborchemische Merkmale | 22 |
| 3.1.6 | Radiologische Befunde | 22 |
| 3.2 | Ablauf und Durchführung der Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage..... | 23 |
| 3.2.1 | Ablauf und Durchführung der Bronchoskopie | 23 |
| 3.2.2 | Ablauf und Durchführung der bronchoalveolären Lavage..... | 24 |
| 3.3 | Verarbeitung des durch bronchoalveoläre Lavage gewonnenen Materials | 25 |
| 3.3.1 | Mikrobiologische und zytologische Auswertung des Bronchialsekretes..... | 26 |
| 3.3.1.1 | Mikrobiologisch-bakteriologische Weiterverarbeitung | 27 |
| 3.3.1.2 | Weiterverarbeitung im Rahmen der PCR..... | 28 |
| 3.3.1.2.1 | Multiplex-PCR..... | 28 |
| 3.3.1.2.2 | CMV und EBV-PCR | 31 |
| 3.3.1.3 | Zytologische Weiterverarbeitung..... | 32 |
| 3.3.1.4 | Bewertung der mikrobiologischen Keimnachweise mit anschließender Therapieentscheidung | 34 |
| 3.4 | Statistische Bewertung der Relevanz der anamnestischen, klinischen, radiologischen und laborchemischen Merkmale..... | 35 |
| 3.4.1 | Auswertung der Daten mit metrischem Merkmal | 35 |
| 3.4.2 | Auswertung der Daten mit nominalem Merkmal | 37 |

| | | |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| 4 | Ergebnisse | 38 |
| 4.1 | Patientenanamnese | 38 |
| 4.1.1 | Alters- und Geschlechtsverteilung..... | 38 |
| 4.1.2 | Respirationstrakt-Anamnese..... | 40 |
| 4.2 | Familienanamnese und Sozialanamnese | 42 |
| 4.3 | Körperliche Untersuchung..... | 44 |
| 4.4 | Laborchemische Merkmale | 48 |
| 4.5 | Radiologische Befunde | 54 |
| 4.6 | Ergebnisse der Bronchoskopie | 57 |
| 4.7 | Ergebnisse der PCR und der Kultur aus der BAL | 58 |
| 4.8 | Ergebnisse der Bewertung mikrobiologischer Keimnachweise | 63 |
| 4.9 | Ergebnisse der BAL-Differentialzytologie..... | 64 |
| 4.10 | Zusammenhang zwischen erhobenen Daten und Kultur-/PCR- Ergebnissen | 67 |
| 5 | Diskussion..... | 68 |
| 6 | Zusammenfassung..... | 78 |
| 7 | Abkürzungsverzeichnis | 81 |
| 8 | Literaturverzeichnis | 83 |
| 9 | Danksagung..... | 94 |
| 10 | Eidesstattliche Versicherung..... | 95 |

1 Einleitung

Die große Zahl pädiatrischer Patienten mit chronisch-obstruktiven Atemwegsbeschwerden ist im klinischen wie im ambulanten Bereich Anlass für differentialdiagnostische Überlegungen. Dabei steht die Identifizierung der Ursache im Vordergrund, um dementsprechend die Therapie festlegen zu können. Anhand der sorgfältigen Anamneseerhebung und körperlichen Untersuchung lässt sich dabei das Spektrum der in Frage kommenden Erkrankungen meist bereits erheblich einschränken. Weitergehende, auf das klinische Bild und das Ergebnis der körperlichen Untersuchung abgestimmte, diagnostische Schritte ermöglichen es in vielen Fällen, die Diagnose zu stellen. Nachfolgend soll zunächst das Spektrum der in Frage kommenden Erkrankungen bei chronisch-obstruktiver Beschwerdesymptomatik im Kindesalter mit deren jeweiligen notwendigen diagnostischen Maßnahmen (Boudewyns et al. 2009, Weinberger und Abu-Hasan 2008, Marchant et al. 2006) dargelegt werden:

- Asthma bronchiale:
Asthma bronchiale im Kindesalter ist durch eine chronische Entzündung der Bronchialschleimhaut mit unspezifischer bronchialer Hyperreagibilität und variabler Obstruktion der unteren Atemwege gekennzeichnet. Die Hyperreagibilität besteht gegenüber exogenen oder endogenen Stimuli. So werden exogenes und intrinsisches Asthma unterschieden. Unter dem exogenen Asthma wird der Zusammenhang zwischen allergischen Erkrankungen und asthmatischen Beschwerden verstanden. Häufig ist in der Eigen- oder Familienanamnese eine allergische Rhinitis, Urtikaria oder ein atopisches Ekzem bekannt. Sind erhöhtes Serum-IgE, ein positiver Haut-Prick-Test oder ein positiver inhalativer Provokationstest mit einem spezifischen Antigen nachweisbar, gilt die allergische Genese als gesichert. Treten die typischen asthmatischen Beschwerden auf, fehlen aber allergische Befunde, so spricht man – nach Ausschluss aller anderen in Frage kommenden Differentialdiagnosen – vom „intrinsischen“ Asthma. Mischformen zwischen intrinsischem und exogenem Asthma sind häufig.

Die Diagnose ist häufig allein durch eine sorgfältige Anamneseerhebung möglich: rezidivierender, paroxysmal auftretender Husten, Kurzatmigkeit und Pfeifen mit bevorzugtem Auftreten nach körperlicher Belastung oder nachts spricht für ein Asthma bronchiale. Fällt länger als 6 Wochen nach einem Virusinfekt rezidivierend das klinische Bild eines chronischen Hustens auf, so lässt auch dies an ein Asthma bronchiale denken. Stellt sich zudem unter der Therapie mit einem inhalativen Bronchodilatator eine Besserung der Beschwerden ein, so untermauert dies die Diagnose. (Levy et al. 2008, Martinez et al. 1995, Wechsler 2009)

- Cystische Fibrose

Der Cystischen Fibrose liegt ein Defekt im CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator) – Gen zugrunde und hat zur Folge, dass das sekretorische Epithel aller exokrinen Drüsen in seiner Funktion gestört ist. Diese Erkrankung mit autosomal rezessivem Erbgang bewirkt einen Defekt des Wasser- und Salztransportes. Auswirkungen in Form von Störungen im Bereich des Pankreas, Darms, der Leber, Gallenwege, des Reproduktions- und besonders des Respirationstraktes bestimmen das klinische Bild. Chronische Infektionen im pulmonalen Bereich – insbesondere mit *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* und evtl. *Burkholderia cepacia* – führen zu Defekten und Umbauvorgängen des Lungengewebes, welche bei Fortschreiten der Krankheit zur respiratorischen Insuffizienz führen. Angesichts der verschiedenen Organsysteme, die im Rahmen der Cystischen Fibrose betroffen sind, ist auch das klinische Bild mannigfaltig: pulmonal imponieren obstruktive Atemwegserkrankungen und chronischer Husten.

Die Diagnose der Cystischen Fibrose ist mit Hilfe eines Schweißtestes möglich, bei dem die Chloridkonzentration gemessen wird. Liegt diese Konzentration auch bei dreimaliger Wiederholung des Schweißtestes über 60 mmol/l, so ist eine Cystische Fibrose gesichert. Gelingt die Identifizierung der CFTR-Mutation, so ist ebenfalls eine Cystische Fibrose bewiesen. (Rowe et al. 2005)

- **Tracheobronchomalazie**

Hierbei handelt es sich um Instabilitäten, Aplasien oder Hypoplasien im Bereich der Knorpelspangen der Trachea oder des Bronchus. Sie können anlagebedingt sein oder die Folge von druckbedingten Schäden z.B. durch Gefäße wie abnormale Pulmonalarterien. Aufgrund dieses Defektes ergibt sich in dem betroffenen Bereich eine funktionelle Stenose, die bei intrathorakaler Lage bei forcierter Expiration zu einem Giemen führt. Bei extrathorakaler Lage bei forcierter Inspiration hat sie einen Stridor zur Folge. In beiden Fällen kann es im Extremfall zu einem kompletten Kollaps dieses luftführenden Abschnittes kommen. Liegt der betroffene Bereich in der Trachea, so kann diese bei der Nahrungsaufnahme durch den Ösophagus komprimiert werden und Erstickungsanfälle auslösen. Die Diagnosesicherung ist im Rahmen einer Bronchoskopie möglich. (Carden et al. 2005)
- **Fremdkörperaspiration**

Hierunter wird das artifizielle Eindringen von Fremdkörpern jeglicher Art in den Larynxbereich, die Trachea oder das Bronchialsystem verstanden. Eine chronische Fremdkörperaspiration liegt vor, wenn sich der Fremdkörper mehrere Tage bis Wochen unerkannt in den Atemwegen befindet und dort zu einer lokalen Schleimhautschädigung oder einer Schädigung der distal gelegenen Lungenabschnitte führt. Der Ablauf, an dessen Ende die Fremdkörperaspiration steht, ähnelt sich häufig: hat das Kind den betreffenden Gegenstand im Mund und erschrickt es sich, holt es tief Luft und atmet dabei den Gegenstand ein. Heftiger Husten ist die Folge, der mit bedrohlichen Erstickungszeichen vergesellschaftet sein kann, wenn der Gegenstand im Larynxbereich verblieben ist. Nach wenigen Stunden folgt ein symptomarmes Intervall, wenn der Fremdkörper sich in tiefer gelegenen Atemwegsabschnitten verkeilt hat und der Hustenreiz ausbleibt. Ist der Fremdkörper in der Trachea verblieben, so kann dieser während eines Hustenstoßes bis zu der Stimmritze hochgehustet werden, was in einigen Fällen auskultatorisch zu hören ist. Die meisten Fremdkörper gelangen bis in den Hauptbronchusbereich, bewirken eine partielle Atemwegsobstruktion und führen über einen Ventilmechanismus zu einer

konsekutiven Überblähung der distal gelegenen Lungenabschnitte. In der Auskultation sind über diesen Lungenabschnitten ein abgeschwächtes Atemgeräusch, Giemen und Brummen zu hören. Bei der Perkussion fällt ein hypersonorer Klopfeschall auf. Besteht der Verdacht einer Fremdkörperaspiration, so ist eine Bronchoskopie dringlich indiziert, die auch die Diagnose sichert. Wenn die Aspiration nicht erkannt wird, ist eine chronisch-obstruktive Atemwegserkrankung die Folge. (Cohen et al. 2009, Fraga 2008, Tahir 2009)

- Primäre Ziliendyskinesie

Hierunter wird eine funktionell und ultrastrukturell bedingte angeborene Störung der Zilien verstanden. Diese hat eine reduzierte mukoziliäre Clearance im Bereich der Atemwege und somit optimierte Besiedlungsbedingungen verschiedener Erreger zur Folge und führt so zu rezidivierenden oder chronischen Infekten der zilientragenden Organe. Da Zilien unter anderem sowohl im nasalen Bereich, in den Sinus paranasales, den Bronchien als auch im Mittelohr vorkommen, lösen Ziliendyskinesien dementsprechend auch Störungen verschiedenster Organe aus: unter anderem rezidivierende Rhinitis, Sinusitis, Bronchitis, Otitis, Pneumonien und chronischen Husten. Lässt die Anamnese eine ziliäre Dysfunktion vermuten und liegt eine verminderte Schlagfrequenz der Zilien vor, so ist die Diagnose mit hoher Wahrscheinlichkeit richtig gestellt, be-weisend jedoch ist lediglich der zusätzliche elektronenmikroskopische Nachweis einer ultrastrukturellen Fehlbildung der Zilien aus einem Biopsat der respiratorischen Schleimhaut. (Plesec et al. 2008, Schrott-Fischer et al. 2008)

- Immundefekt

Liegt ein auf das Immunsystem beschränkter Defekt vor, so imponiert dieser durch rezidivierende und unüblich verlaufende Infektionen. Rezidivierende bakterielle Infektionen weisen dabei auf einen Defekt der B-Zellen hin. Liegt ein T-Zelldefekt vor, so hat dies ebenfalls auch eine Störung der humoralen Antwort zur Folge, da die Funktion der B-Zellen auch durch die T-Zellen beeinflusst wird. Zudem kommt es ebenso zu unüblich

verlaufenden Infektionen mit intrazellulär wachsenden Erregern wie *Pneumocystis jirovecii*, Mykobakterien und Viren.

Das diagnostische Vorgehen zur Identifizierung eines Immundefektes erfolgt in mehreren Schritten: Sofern nach sorgfältiger Beurteilung des klinischen Bildes und der Anamnese eine pathologische und somit abklärungsbedürftige Infektanfälligkeit besteht, lassen sich anhand der auf mikrobiologischem Weg identifizierten Erreger und der durch sie ausgelösten Entzündungsreaktionen Rückschlüsse ziehen, welcher Teil des Immunsystems von dem Defekt betroffen ist – das T-Zell-, das B-Zell- oder das Phagozytosesystem. Die dabei geäußerte Vermutung wird durch laboratorische Screeninguntersuchungen, bei denen die Funktion der beteiligten Systeme überprüft wird, bestätigt. Ist eindeutig nachgewiesen, welches Abwehrsystem vom Immundefekt betroffen ist, folgen in einem weiteren Schritt komplexe Spezialteste, um den spezifischen Defekt innerhalb dieses Abwehrsystems im Detail auszumachen. (Gruber und Wintergerst 2005)

- Gastroösophagealer Reflux

Darunter wird das spontane Rückfließen von Mageninhalt in den Ösophagus verstanden, was bei vielen Kindern und Erwachsenen auftritt und bei Säuglingen als physiologisch anzusehen ist. Es wird zwischen dem primären und dem sekundären gastroösophagealen Reflux unterschieden. Der primäre gastroösophageale Reflux ist auf funktionelle oder anatomische Störungen der ösophagogastralen Funktionseinheit zurückzuführen. Tritt der gastroösophageale Reflux in Folge von anderen Störungen wie z.B. Gastroenteritiden, Nahrungsmittelallergien oder Stoffwechselentgleisungen auf, so spricht man von einem sekundären gastroösophagealen Reflux. Eine gastroösophageale Refluxkrankheit liegt erst dann vor, wenn der gastroösophageale Reflux einen relevanten klinischen Krankheitswert hat. Das klinische Bild der gastroösophagealen Refluxkrankheit ist vielfältig, dabei werden intestinale und extraintestinale Manifestationen unterschieden. Zu den intestinalen Beschwerden werden u.a. Sodbrennen, Regurgitation, Erbrechen, Dysphagie, epigastrischer/retrosternaler Schmerz und Gedeihstörung gezählt. Zu den

extraintestinalen Beschwerden zählen u.a. Apnoe, Zyanose-Episoden, Husten, Stridor, bronchiale Obstruktion und Aspirationspneumonie. Im Rahmen der sorgfältigen Anamneseerhebung, körperlicher Untersuchung und Sonographie wird das notwendige Ausmaß weitergehender diagnostischer Maßnahmen entschieden. Zur Verfügung stehen dabei der Ösophagusbreischluck und Bernsteintest sowie die Szintigraphie, pH-Messung, Manometrie und intraluminale Impedanzmessung. Gerade bei jungen Kindern kann ein ausgeprägter gastroösophagealer Reflux eine chronisch-obstruktive Atemwegserkrankung bedingen. (Foroutan 2002, Jain et al. 2002)

- Chronisch neonatale Lungenerkrankung

Darunter wird eine chronische Lungenerkrankung frühgeborener Kinder verstanden, die oft wegen eines Atemnotsyndroms maschinell mit erhöhter Sauerstoffkonzentration beatmet werden mussten. Die chronische neonatale Lungenerkrankung hat das Potential zur Reversibilität und tritt bei Frühgeborenen häufig auf. Es existieren zwei Definitionen dieser Erkrankung: Eine bronchopulmonale Dysplasie liegt nach einer Phase maschineller Beatmung Frühgeborener von mehr als 28 Tagen vor, wenn die Kinder danach unter persistierender Dyspnoe leiden, sauerstoffabhängig bleiben und radiologisch entsprechende pulmonale Veränderungen nachweisbar sind. Eine andere Definition fasst unter dem Begriff der chronischen neonatalen Lungenerkrankung all jene Zustände bei Frühgeborenen zusammen, die im Alter von 36 vollendeten Gestationswochen zusätzlichen Sauerstoffbedarf haben und die entsprechenden klinischen und radiologischen Veränderungen vorweisen.

Aufgrund der verschiedenen Definitionen liegen unterschiedliche Daten zur Inzidenz vor. Die Erkrankung korreliert eindeutig mit dem Geburtsgewicht und dem Gestationsalter. Am häufigsten liegt sie bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von unter 1000 g vor. Während vor der Möglichkeit, Surfactantfaktor zu substituieren, das schwere Bild der chronischen neonatalen Erkrankung dominierte, zeigt sich heute unter der Therapie mit Surfactantfaktor nach einem meist milden Beatmungsverlauf eine zunehmende Verschlechterung der respiratorischen Situa-

tion mit typischen radiologischen Veränderungen. Grundlage dieser Veränderungen ist eine erhöhte alveolokapiläre Permeabilität auf dem Boden einer Entzündung. In der Folge entwickeln die Patienten eine chronisch-obstruktive Lungenerkrankung. (Christou und Brodsky 2005, Bhandari und Bhandari 2009)

In vielen Fällen lässt sich mit dem beschriebenen Vorgehen bei chronisch-obstruktiven Atemwegssymptomen eine spezifische Diagnose sichern. Lässt sich keine eindeutige Diagnose identifizieren, so ist ein Therapieversuch mit inhalativen Steroiden und Bronchodilantien gerechtfertigt. Häufig wird hierunter eine klinische Besserung der chronisch-obstruktiven Beschwerden beobachtet und in Folge dessen oft der Verdacht auf ein Asthma bronchiale oder eine bronchiale Hyperreaktivität geäußert. Die beschriebene Besserung der chronisch-obstruktiven Beschwerdesymptomatik tritt jedoch nicht bei allen Patienten ein. Um auszuschließen, dass eine anatomische Störung oder eine chronische Infektion die Ursache für die Beschwerden ist, wird eine intensivere Abklärung notwendig: Im Rahmen dessen wird eine Bronchoskopie, oft mit bronchoalveolärer Lavage (BAL), durchgeführt. Die Bronchoskopie dient nicht nur zum Ausschluss verschiedener differentialdiagnostisch in Erwägung zu ziehender Erkrankungen. Sie ermöglicht auch die bronchoalveoläre Lavage, um so peripheres Sekret, das anschließend mikrobiologisch aufbereitet und untersucht wird, zu gewinnen. Ziel ist dabei der Nachweis von Erregern, die im Rahmen einer Infektion chronisch-obstruktive Atemwegsbeschwerden verursachen (Saglani et al. 2006). Bakterielle Erreger können meist mittels einer kulturellen Anzucht in dem Material der bronchoalveolären Lavage nachgewiesen werden, für den Nachweis von viralen Erregern kommt das Verfahren der Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) zum Einsatz, meist in Form einer Multiplex-PCR, mit deren Hilfe mehrere Erreger in einem Untersuchungsansatz nachgewiesen werden können. Chronisch-obstruktive Atemwegsbeschwerden können durch die unterschiedlichsten Erreger ausgelöst werden. Im Folgenden wird dargestellt, welche Erreger üblicherweise mit obstruktiven Atemwegserkrankungen in Verbindung gebracht werden. Zudem wird auf die Therapiemöglichkeiten bei pädiatrischen Patienten eingegangen:

Das Parainfluenza-Virus kann obstruktive Atemwegsbeschwerden bei Kindern auslösen (Vega-Briceño et al. 2007), zudem werden Parainfluenza-Virus-assoziierte Pneumonien beschrieben. Bei Patienten mit Beschwerden der unteren Atemwege war das Parainfluenza-Virus der Gruppe 2 hierbei dasjenige Virus, das von Vega-Briceño et al. am häufigsten nachgewiesen werden konnte. Demgegenüber kommen Counihan et al. 2001 zu dem Schluss, dass das Parainfluenza-Virus 1 am häufigsten zu Krankenhauseinweisungen führt, wobei in dieser Studie das Parainfluenza-Virus 4 nicht berücksichtigt wurde. Insbesondere im Zusammenhang mit Parainfluenza-Virus 1 und 3 sind chronisch-obstruktive Atemwegsbeschwerden beschrieben (Maffey et al. 2008). Eine erregerspezifische Therapie existiert nicht.

Das Respiratory Syncytial Virus (RS-Virus) löst in der Akutphase ausgeprägte obstruktive Atemwegsbeschwerden mit u.a. Dyspnoe, Bronchitis, Husten und Zyanose aus (Peltola et al. 2009, Lazzaro et al. 2007). Es wird von den Betroffenen 3 Wochen lang ausgeschieden. In den Wochen, Monaten und Jahren nach der akuten Krankheitsphase treten rezidivierend obstruktive Atemwegsbeschwerden auf, die in ihrer Häufigkeit und Intensität mit der Schwere der Primärinfektion korrelieren (Eriksson et al. 2000). Für die Therapie steht Ribavirin zur Verfügung, es kommt selten bei schweren Krankheitsverläufen zum Einsatz, der therapeutische Benefit ist umstritten (Rodriguez et al. 1987, Meert et al. 1994).

Auch bei Infektionen durch das humane Metapneumovirus werden obstruktive Atemwegsbeschwerden beobachtet, die in ihrer Intensität aber meist weniger stark ausgeprägt sind als bei dem RS-Virus. Es konnte bei akuter Beschwerdesymptomatik (Smuts et al. 2008) wie auch bei chronisch-obstruktiven Atemwegsbeschwerden (Maffey et al. 2008) des unteren Respirationstrakts nachgewiesen werden. Eine erregerspezifische Therapie existiert nicht.

Adenoviren (Chen et al. 2004, Videla et al. 1998), Rhinoviren wie auch Enteroviren (Peltola 2009) können akute Obstruktionen der unteren Atemwege im Sinne einer Bronchitis, asthmatischer Beschwerden und Pneumonien (Chung et al. 2007, Jaques et al. 2006) ebenso wie chronisch-obstruktive Atemwegsbeschwerden im Rahmen einer persistierenden Infektion auslösen (Calvo et al. 2007, Jartti et al. 2004). Enteroviren – so haben Jartti et al. 2004

nachgewiesen – sind in der Lage 2 bis 3 Wochen in den Atemwegen zu persistieren, Rhinoviren 5 bis 6 Wochen. Bei Adenovirus-Infektionen kann ein Therapieversuch mit Ribavirin durchgeführt werden, es ist hierfür allerdings nicht zugelassen. Für Rhinovirus- ebenso wie für Enterovirus-Infektionen steht keine zugelassene erregerspezifische Therapie zur Verfügung.

Ebenso wie RS-Viren treten Infektionen ausgelöst durch Coronaviren schwerpunktmäßig saisonal auf. Coronaviren verursachen Infektionen des oberen wie gelegentlich des unteren Respirationstraktes (van der Hoek 2007, Han et al. 2007), hier sind vor allem Bronchitiden, chronisch-obstruktive Atemwegsbeschwerden und Pneumonien zu beobachten. Es steht keine effektive erregerspezifische Therapie zur Verfügung, die bei fehlender Immunsuppression und fehlender vitaler Gefährdung des pädiatrischen Patientenkontexts dieser Arbeit indiziert wäre.

Cytomegalieviren können chronisch-obstruktive Atemwegsbeschwerden verursachen (Morisawa et al. 2008). Zudem werden gelegentlich Pneumonien auch bei nicht-immunsupprimierten Kindern durch CMV ausgelöst. Die Therapie kann mit Ganciclovir bzw. Valganciclovir durchgeführt werden (Marshall und Koch 2009).

Das Epstein-Barr-Virus kann in seltenen Fällen interstitielle Pneumonien verursachen, die meist im Zusammenhang mit einer Immunsuppression stehen, jedoch werden auch vereinzelt Fälle von immunkompetenten Kindern geschildert, bei denen die interstitielle Pneumonie mit einer EBV-Infektion im Zusammenhang gebracht wird (Pfleger et al. 2000). Klinisch imponieren dabei Tachypnoe, trockener Husten und Zeichen der Hypoxie. Es steht keine gesicherte erregerspezifische Therapie zur Verfügung (Marzouk et al. 2005).

Sowohl das Influenza Virus A als auch das Influenza Virus B können Infektionen der unteren Atemwege mit rezidivierenden obstruktiven Atemwegsbeschwerden, Husten und Pneumonien auslösen (Meury et al. 2004, Calvo et al. 2005). Eriksson et al. haben 2000 die Folgen einer Influenza-Infektion untersucht: Hierbei zeigte sich, dass innerhalb eines Jahres nach einer Influenza A Infektion ein Grossteil der Kinder unter rezidivierenden obstruktiven Atemwegserkrankungen litt. Die Therapie der Influenza kann mit Aman-

tadin erfolgen. Darüber hinaus stehen Oseltamivir und Zanamivir zur Verfügung. Amantadin wird nicht für die Therapie der Influenza B eingesetzt.

Infektionen des unteren Respirationstraktes durch *Mycoplasma pneumoniae* sind gekennzeichnet durch Giemen und zunächst unproduktiven Husten, der später leicht produktiv wird. Das Vollbild einer *Mycoplasma-pneumoniae*-Infektion stellt die Pneumonie dar. Die Erkrankung kann gelegentlich bis zu 6 Wochen dauern, der Husten kann darüber hinaus einen sehr protrahierten Verlauf nehmen. Die Therapie erfolgt antibiotisch mit Makroliden oder ab dem 8. Lebensjahr mit Doxycyclin (Nelson 2002 und Principi et al. 2001).

Chlamydia pneumoniae verursacht ebenfalls Infektionen der unteren Atemwege, die jedoch häufig milde bis hin zu asymptomatischen Verläufen aufweisen. Im Falle des symptomatischen Verlaufs werden milde Pneumonien beschrieben. Noch lange Zeiträume nach der akuten Infektion mit *Chlamydia pneumoniae* konnte der Erreger in den Atemwegen nachgewiesen werden, sehr häufig jedoch bei beschwerdefreien Kindern, so dass die Bedeutung des prolongierten Erregernachweises nach einer Infektion unklar bleibt (Wolf und Daley 2007). Die Therapie erfolgt antibiotisch mit Makroliden oder ab dem 8. Lebensjahr mit Doxycyclin.

Pseudomonas aeruginosa, *Klebsiella pneumoniae* und *Escherichia coli* (Ruiz et al. 2008) lösen in Einzelfällen ambulant erworbene Pneumonien aus (Wolf und Daley 2007), im Großteil der Fälle sind sie im Zusammenhang mit nosokomialen Pneumonien oder bei immunsupprimierten Kindern zu finden, keinem Patientenklientel, mit dem sich diese Arbeit auseinandersetzt. Chronische Infektionen, die chronisch-obstruktive Atemwegsbeschwerden verursachen, werden bei dem Patientenklientel dieser Arbeit nicht beschrieben. Angesichts vieler Resistenzen von *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* und *Escherichia coli* sollte die antibiotische Therapie nach Vorliegen eines Resistogramms erfolgen.

Streptococcus pneumoniae, *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis* und *Haemophilus influenzae* können bei Kindern Infektionen der unteren Atemwege verursachen. Im Rahmen dessen kommt es zu Dyspnoe, obstruktiven Atemwegsbeschwerden, Husten und zu Pneumonien, letztere treten bei

M. catarrhalis jedoch nur selten auf. Alle vier Erreger kolonisieren häufig bei klinisch gesunden Trägern die oberen Atemwege. Bisgaard et al. (2007) konnten in diesem Zusammenhang nachweisen, dass Säuglinge, bei denen *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* oder *Haemophilus influenzae* im Hypopharynx nachweisbar war und die von durch Asthma bronchiale belasteten Müttern geboren wurden, ein deutlich erhöhtes Risiko für obstruktive Atemwegsbeschwerden in den nachfolgenden 5 Jahren haben. *Streptococcus pneumoniae* kann in der Regel mit Penicillinen, Erythromycin oder Cephalosporinen therapiert werden. Die Therapie von *Staphylococcus aureus* sollte nach Vorliegen des Resistogrammes erfolgen, da viele Resistenzen existieren. Da zahlreiche *Moraxella catarrhalis*-Stämme Betalaktamasen bilden, ist eine antibiotische Therapie bestehend aus einem Aminopenicillin mit Betalaktamasen-Inhibitor oder mit einem entsprechenden Cephalosporin erforderlich. *Haemophilus influenzae* kann antibiotisch mit Ampicillin therapiert werden, es existieren jedoch Resistenzen hiergegen, so dass der Einsatz von Cephalosporinen der III. Generation zu erwägen ist.

Stenotrophomonas maltophilia kommt ubiquitär in der Umwelt vor, inwieweit eine Kolonisation der oberen Atemwege verbreitet ist, ist unklar (Denton und Kerr 1998). Bezüglich der verursachten Beschwerden, sind im Bereich der Atemwege vor allem nosokomiale Pneumonien bei länger hospitalisierten und/oder chronisch erkrankten Patienten (del Toro et al. 2002) beschrieben, vereinzelt wurden auch ambulant erworbene Pneumonien beobachtet (Denton und Kerr 1998). Aufgrund multipler Resistenzen sollte eine antibiotische Therapie nur nach Vorliegen eines Resistogrammes erfolgen.

Haemophilus parainfluenzae gehört zu der Standortflora des oberen Respirationstraktes und ist in der Lage, im Bereich der Atemwege zu Infektionen zu führen.

Für den Erregernachweis sind Diagnoseverfahren erforderlich, die in der Lage sind, sowohl die in Frage kommenden bakteriellen Erreger als auch viralen Erreger nachzuweisen. Der bakterielle Erregernachweis erfolgt meist mittels bakteriologischer Kultur, für den viralen Erregernachweis dient die seit einigen Jahren zur Verfügung stehende Multiplex-PCR, mit deren Hilfe ein Untersuchungsansatz auf mehrere Erreger untersucht werden kann. Da im

Rahmen der Multiplex-PCR technisch bedingt nicht jeder Erreger nachgewiesen werden kann, der in der Lage ist, chronisch-obstruktiven Atemwegsbeschwerden auszulösen, müssen für die übrigen wichtigen Erreger weitere einzelne PCR-Untersuchungen durchgeführt werden.

Der therapeutische und diagnostische Gewinn dieses aufwendigen Verfahrens ist bisher noch nicht untersucht worden, ebenso wenig, ob sich bisher aus diesen diagnostischen Schritten relevante therapeutische Konsequenzen ergeben haben. Auch existieren keine Daten, auf deren Grundlage eine präzisere Indikationsstellung für die Durchführung einer PCR möglich ist. So könnte, lägen solche Daten vor, etwa bei persistierenden chronisch-obstruktiven Atemwegserkrankungen abgeschätzt werden, ob im Rahmen der mikrobiologischen Diagnostik ein wegweisender pathologischer Befund zu erwarten ist und somit, ob die aufwändige und kostenintensive Diagnostik einen diagnostischen und therapeutischen Gewinn bedeutet. So wäre es möglich, diese Diagnostik gezielter und ökonomischer einzusetzen. Als Datengrundlage für eine solche Vorhersage kommen insbesondere anamnestische, klinische, laborchemische und radiologische Befunde in Frage. Folglich ist es wünschenswert, solcherlei Befunde oder Befund-Konstellationen zu identifizieren, die auf eine chronische Infektion als Ursache einer chronisch-obstruktiven Atemwegserkrankung hinweisen.

In der Zusammenschau ist es aus medizinischer Sicht und nicht zuletzt auch aufgrund der Belastungen durch die Bronchoskopie mit BAL für die Patienten sowie aus ökonomischer Sicht wichtig, Antworten auf diese Fragen zu finden.

Wenn nicht ausdrücklich darauf hingewiesen wird, dass nur ein bestimmtes Geschlecht gemeint ist, so beziehen sich die Aussagen grundsätzlich auf beide Geschlechter.

2 Arbeitshypothese und Fragestellung

In dem Altonaer Kinderkrankenhaus/Hamburg wurden im Zeitraum von März 1998 bis Juli 2004 98 Patienten untersucht, deren chronisch-obstruktive Symptomatik über mehr als drei Monate angehalten hatte und die auf die gängige antiobstruktive Therapie inklusive des Einsatzes von inhalativen Steroiden nicht ansprachen. Ein eindeutig allergisches Asthma bronchiale, eine Cystische Fibrose, ein Immundefekt oder eine chronisch neonatale Lungenerkrankung waren als Ursache für diese Symptomatik im Vorfeld ausgeschlossen worden. Stellt sich unter der anti-obstruktiven und anti-inflammatorischen Therapie keine Besserung ein, wird üblicherweise eine Bronchoskopie mit einer bronchoalveolären Lavage (BAL) durchgeführt. Das dabei gewonnene Lavage-Material wird mikrobiologisch mit Hilfe von bakteriologischen Kulturen und Polymerase-Kettenreaktion¹ (PCR) untersucht, um eine möglicherweise vorliegende chronische Infektion als Ursache für die Symptomatik nachzuweisen oder auszuschließen.

In dieser Arbeit wurden die anamnestischen, klinischen, radiologischen, laborchemischen und mikrobiologischen Daten von diesen 98 Patienten ausgewertet, um anhand dessen Antworten auf folgende Fragen zu finden:

1. Ist das beschriebene und bisher angewandte Procedere bezüglich der BAL und der nachfolgenden PCR-Untersuchung medizinisch sinnvoll?
2. Ist das beschriebene und bisher angewandte Procedere bezüglich der BAL und der nachfolgenden PCR-Untersuchung angesichts der erheblichen ökonomischen Belastungen vertretbar?
3. Werden mit dem beschriebenen Procedere tatsächlich chronische Infektionen identifiziert, die potentiell eine erregerspezifische medikamentös-therapeutische Konsequenz haben?

¹ Die PCR wurde durchgeführt vom

- Labor für Pädiatrische Infektiologie der Klinik für Allgemeine Pädiatrie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein/Campus Kiel (PD Dr. med. J. Weigl)
- Labor Keeser/Arndt und Partner, Hamburg

4. In wie vielen Fällen haben sich aus den dieser Arbeit zugrunde liegenden BALs therapeutische Konsequenzen ergeben, wie viele Patienten haben somit davon profitiert?
5. Gibt es demnach Hinweise, die eine Änderung des o.g. bisherigen Procederes rechtfertigen?
6. Gibt es eine Möglichkeit, anhand von anamnestischen, klinischen, radiologischen und/oder laborchemischen Merkmalen vorherzusagen, ob wahrscheinlich eine chronische Infektion vorliegt und somit eine BAL sinnvoll ist?
7. Ist mit Hilfe von anamnestischen, klinischen, radiologischen oder laborchemischen Befunden oder Befundkonstellationen die Vorhersage des Nachweises eines Erregers mit potentiell besonderen therapeutischen Konsequenzen in Form einer erregerspezifischen medikamentösen Therapie (CMV, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia pneumoniae oder Influenza A und B) in der PCR-Analyse der BAL möglich?
8. Ist eine evidenzbasierte Entscheidung möglich, ob eine Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage und anschließender mikrobiologischer Aufbereitung des gewonnenen Sekrets inklusive PCR sinnvoll ist?
9. Welche anamnestischen, klinischen, laborchemischen und/oder radiologischen Kriterien sollten herangezogen werden, um diese Entscheidung zu ermöglichen?

Als Erreger mit potentiell besonderen therapeutischen Konsequenzen werden in dieser Arbeit nur all jene verstanden, die mit Hilfe der PCR nachgewiesen werden können, deren Nachweis die Beschwerdesymptomatik der Patienten hinreichend erklärt und evtl. eine nach sorgfältiger Nutzen-Risiko-Abwägung und auf das pädiatrische Patientenkontinuum abgestimmte, erregerspezifische medikamentöse Therapie zur Folge hat. Dazu zählen nur CMV (evtl. Therapie mit Ganciclovir), Mycoplasma pneumoniae und Chlamydia pneumoniae (antibiotische Therapie) und Influenza A und B (evtl. Therapie mit Amantadin). Erreger, die mit Hilfe der bakteriologischen Kultur nachgewiesen werden können, haben natürlich auch therapeutische Konsequenzen zur Folge, diese stellen aber keinen neuen Aspekt dar.

3 Material und Methoden

In dieser Arbeit werden retrospektiv die Daten von 98 Patienten untersucht, die folgende Einschlusskriterien erfüllt haben: eine mehr als drei Monate bestehende chronisch-obstruktive Symptomatik, die auf die gängige anti-obstruktive Therapie inkl. des Einsatzes von inhalativen Steroiden nicht anspricht. Ausschlusskriterien waren ein eindeutig allergisches Asthma bronchiale, eine Cystische Fibrose, ein Immundefekt oder eine chronisch neonatale Lungenerkrankung. In dem Zeitraum März 1998 bis Juli 2004 wurden im Altonaer Kinderkrankenhaus bei 155 Patienten Bronchoskopien mit bronchoalveolärer Lavage durchgeführt. Von diesen 155 Patienten erfüllten 98 Patienten die o.g. Kriterien. Ein zu Beginn dieser Arbeit erstellter Fragebogen mit 56 Merkmalen diente als Grundlage, um die bei der Bronchoskopie gewonnenen Daten, die Ergebnisse aus den mikrobiologischen Untersuchungen des Lavage-Materials und ergänzend dazu die Daten aus der Patienten-, Familien- und Sozialanamnese, der körperlichen Untersuchung bei Aufnahme sowie laborchemische und radiologische Befunde zu erheben.

3.1 Erhobene Daten

3.1.1 Patientenanamnese

Im Rahmen der Patientenanamnese wurde das Geschlecht der Patienten dokumentiert, um nachvollziehen zu können, ob ein Geschlecht in besonderer Weise von den beschriebenen Symptomen betroffen ist. Ebenso wurde das Alter der Patienten in Monaten dokumentiert.

Um die chronisch-obstruktive Symptomatik detaillierter beschreiben zu können, wurde die Hustendauer in Tagen erfasst. Um die Ätiologie des Hustens nachvollziehbar zu machen, wurde nach Tagesabschnitten gefragt, in denen der Patient überwiegend hustet. Bei einem rein nächtlichen Husten wäre differentialdiagnostisch an einen gastroösophagealen Reflux, eine Milbenallergie sowie eine chronische Sinusitis mit „Post-Nasal-Drip“ zu denken. Tritt der Husten überwiegend tagsüber auf, liegt eine asthmatische Bronchitis oder ein belastungsabhängiger Husten nahe. Hustet der Patient sowohl tagsüber als auch nachts, ist eine chronische Infektion denkbar.

Als Kriterien der obstruktiven Atemwegserkrankung wurde das Auftreten von Giemen, Pfeifen, Brummen und Kurzatmigkeit in der Patientenanamnese dokumentiert.

3.1.2 Familienanamnese

Nach atopischen Erkrankungen bei Familienmitgliedern ersten Grades wie Asthma, allergische Rhinitis und atopisches Ekzem wurde als möglicher Hinweis für einen asthmatischen Hintergrund der obstruktiven Atemwegserkrankung gefragt.

3.1.3 Sozialanamnese

Um eine pulmonale Schadstoffbelastung als mögliche Ursache für die obstruktiven Atemwegsbeschwerden identifizieren zu können, wurde dokumentiert, ob im Haushalt des Patienten geraucht wird.

3.1.4 Körperliche Untersuchung

Bei der körperlichen Untersuchung wurden diejenigen Kriterien erfragt und dokumentiert, die insbesondere für eine Infektion sprechen: Dazu zählen der Allgemeinzustand und die höchste Körpertemperatur innerhalb der ersten 24 Stunden während des stationären Aufenthaltes. Ebenso wurde besonderes Augenmerk auf jene Kriterien gelegt, die bei der körperlichen Untersuchung für einen pathologischen respiratorischen Befund sprachen und eine obstruktive Symptomatik vermuten ließen: O₂-Sättigung in % bei Aufnahme mit Angabe, ob der O₂-Sättigungswert unter Raumluft gemessen wurde; Zyanose, intercostale Einziehungen, grobblasige Rasselgeräusche, feinblasige Rasselgeräusche, abgeschwächtes Atemgeräusch (wie bei einer Atelektase im Rahmen einer ausgeprägten Obstruktion), Obstruktion im Sinne eines Stridors (inspiratorisch, tritt bei einer Obstruktion mit Lokalisation oberhalb der oberen Thoraxapertur auf), Obstruktion im Sinne eines Giemens (expiratorisch, tritt bei einer Obstruktion mit Lokalisation unterhalb der oberen Thoraxapertur auf).

3.1.5 Laborchemische Merkmale

Bei der Erhebung der laborchemischen Merkmale wurden insbesondere jene Kriterien erfragt, die Rückschlüsse auf...

- a) ein infektiöses Geschehen zuließen: Dabei wurde zum einen der höchste Wert des C-reaktiven Proteins in mg/l innerhalb der ersten 24 Stunden nach stationärer Aufnahme ebenso wie der höchste Wert des C-reaktiven Proteins während des gesamten stationären Aufenthaltes dokumentiert. Zum anderen wurde dokumentiert, ob die Blut-senkungsgeschwindigkeit nach der 1. Stunde pathologisch erhöht war ($> 10\text{mm}$). Als weiterer Entzündungsparameter wurde im Rahmen des Differentialblutbildes die Leukozytenanzahl pro μl und die Anzahl der Stabkernigen in % festgehalten. Als Nachweis für eine chronische Infektion wurde, sofern im Serum die Immunglobulin-G-Konzentration bestimmt worden war, dokumentiert, ob sie in einem physiologischen oder pathologisch-erhöhten Ausmaß gemessen worden waren.
- b) das Ausmaß der Obstruktion zuließen: pCO_2 im Blut wurde neben der Sauerstoffsättigung entsprechend in mmHg dokumentiert, zudem wurde der pH-Wert festgehalten.
- c) eine atopische Diathese oder Allergie zuließen: Dazu wurden im Rahmen des Differentialblutbildes die Zahl der eosinophilen Granulozyten ermittelt. Sofern im Serum die IgE-Antikörper und die spezifischen IgE-Antikörper bestimmt worden waren, wurde dokumentiert, ob sie in einem physiologischen oder pathologisch-erhöhten Ausmaß gemessen worden waren. Wurde ein Prickverfahren durchgeführt, so wurde dokumentiert, ob eine allergische Sensibilisierung nachgewiesen werden konnte.

3.1.6 Radiologische Befunde

Sofern eine konventionelle Thorax-Röntgenaufnahme gemacht worden war, wurde dokumentiert, ob Brochialwandverdickungen im Sinne einer Peribronchitis nachweisbar waren. Ebenso wurden Lobär- und Segmentinfiltrate in die Dokumentation aufgenommen, wobei noch differenziert wurde, wie viele

Lappen befallen waren. Es wurde bei diffusen Infiltraten unterschieden, ob sie einseitig, beidseitig oder im Sinne einer atypischen Pneumonie auftraten. Die Unterscheidung zwischen Bronchopneumonie/zentrale Pneumonie und einseitiger Pneumonie half zu unterscheiden, ob die Ätiologie eher bakteriell oder viral war. Darüber hinaus wurde dokumentiert, ob eine Obstruktion, A-/Dystelektasen, ein Pleuraerguss oder vergrößerte hiläre Lymphknoten im Röntgenbild nachweisbar waren.

3.2 Ablauf und Durchführung der Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage

Sowohl die Bronchoskopie als auch die bronchoalveoläre Lavage erfolgte in Anlehnung an die Leitlinien (European Respiratory Society Task Force 2000).

3.2.1 Ablauf und Durchführung der Bronchoskopie

Nachdem das Vorliegen von Kontraindikationen ausgeschlossen wurde, die Eltern des Kindes ausführlich aufgeklärt wurden und sie ihre schriftliche Einwilligung in die Untersuchung gegeben hatten, wurde das Kind mit Chloralhydrat oder Midazolam gewichtsadaptiert prämediziert und ununterbrochen überwacht. Abschwellende Nasentropfen – ebenfalls gewichtsadaptiert – dienten später der besseren Passage des Bronchoskops durch die Nase. Die Analgosedierung erfolgte unter kontinuierlichem Monitoring (EKG, Sauerstoffsättigung, vereinzelt auch transkutan gemessenem $p\text{CO}_2$) mit gewichtsadaptierter Bolusgabe von Pethidin, gefolgt von Propofol. Während der Untersuchung wurde die Atemluft mit Sauerstoff angereichert. Da die Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage bei den Patienten dieser Arbeit stets im symptomarmen Intervall angestrebt wurde, erfolgte die Bronchoskopie bei nicht-intubierten Patienten mit einem flexiblen Bronchoskop. Bei Kindern unter 9 Jahren diente hierfür ein Bronchoskop mit einem Außendurchmesser von 3,5 mm, für Kinder, die älter als 9 Jahre waren, kam ein Bronchoskop mit einem Außendurchmesser von 4,6 mm zum Einsatz. Für die Lokalanästhesie im Bereich der Nase wurde Lidocain lokal appliziert. An-

schließlich wurde das Bronchoskop dem sedierten Patienten unter Sicht und möglichst atraumatisch, den unteren Nasengang passierend, bis zum Oropharynx vorgeschoben. Vom Larynx aus wurden der Hypopharynx sowie die Funktion und Anatomie der Plicae und Ligamenti vocales untersucht. Letztere wurden vor der Passage mit einer 1%iger Lidocainlösung besprüht. Durch die geöffneten Ligamenti vocales wurde das Bronchoskop bis in die Trachea geführt. Dort erfolgte erneut die Instillation mit dem Lokalanästhetikum, bevor das gesamte Tracheobronchialsystem untersucht wurde. Bei der Gabe des Lokalanästhetikums wurde beachtet, dass die gewichtsadaptierte Höchstmenge von 7 mg/kg Körpergewicht nicht überschritten wurde. Die Subglottis wurde am Ende der Untersuchung beim Rückzug des Instruments nochmals inspiziert.

Komplikationen treten bei der Fiberglasbronchoskopie im allgemeinen selten auf, können aber schwerwiegend sein, da es unter der Untersuchung zu Laryngo- und Bronchialspasmen, kardialen Arrhythmien, Infektionen und im Rahmen der Prämedikation und der Analgosedierung zu einem Abfall des Sauerstoffpartialdrucks kommen kann. Sehr selten treten andere Komplikationen wie ein Pneumothorax, Mediastinalemphysem oder Lungenblutung auf – meist in Folge von transbronchialen Biopsien (Nicolai 2007 und 1999).

3.2.2 Ablauf und Durchführung der bronchoalveolären Lavage

Die BAL wurde während einer Fiberglasbronchoskopie und zeitlich vor möglicherweise weiteren geplanten diagnostischen Untersuchungen wie Biopsie oder Bürstenzytologie durchgeführt, um eine Kontamination der Lavageflüssigkeit mit Blut zu vermeiden. Vor Durchführung der bronchoalveolären Lavage wurde auf eine suffiziente Lokalanästhesie der Atemwege geachtet, um wiederholtes Husten während der Untersuchung zu verhindern. Vor Beginn der Lavage wurde überflüssiges Lokalanästhetikum wieder weitestgehend abgesaugt, um einen Einfluss auf die Zellvitalität zu vermeiden (Baser et al. 1982).

Für die BAL wurde das Bronchoskop in eine „Wedge-Position“ eingestellt, in der das Bronchoskop das Bronchuslumen verschließt. Dazu wurde es so weit wie möglich in die Peripherie des Segmentbronchus eingeführt, bis das

Lumen abgedichtet war. Anschließend wurde – um einen Bronchospasmus bei Patienten mit hyperreagiblem Bronchialsystem zu vermeiden – vorgewärmte (37°C) sterile physiologische Kochsalzlösung instilliert. Pro Einzelfraktion kam dabei eine Flüssigkeitsmenge von 1ml/kg Körpergewicht zum Einsatz. Nach jeder Einzelfraktion wurde sofort, ohne die Position des Bronchoskops zu verändern, vorsichtig aspiriert. Dieser Vorgang wurde vier Mal wiederholt, wobei jede Einzelfraktion in einem gesonderten Gefäß aufbewahrt wurde. In Abhängigkeit von Lungenfunktionswerten war ein Rückgewinn von 40 bis 75% der Lavageflüssigkeit zu erreichen. Um eine fundierte Beurteilbarkeit der bronchoalveolären Lavage zu gewährleisten, sollte der Rückgewinn nicht unter 40% der Gesamtmenge liegen (Ratjen und Costabel 1997, Costabel 1988, 1994).

An Komplikationen wird in der Literatur beschrieben, dass innerhalb der ersten 24 Stunden nach der bronchoalveolären Lavage ein uncharakteristisches Fieber beobachtet werden kann. Das Auftreten von Fieber ist aber abhängig von der Spülmenge und wurde je nach Autor in 10-30% der Fälle beobachtet (Hemmers et al. 2006, European Society of Pneumology Task Group on BAL 1989). Die Ursache für das Fieber ist unklar. Üblicherweise kommt es innerhalb von 24 Stunden zu einer Normalisierung der Körpertemperatur. Ebenso bilden sich die nach der bronchoalveolären Lavage im Thoraxröntgen sichtbaren flüchtigen Verschattungen des lavagierten Segments zurück. Endobronchiale Blutungen können bei bekannter Blutungsneigung oder bei einer Thrombozytopenie von unter 50.000 Thrombozyten/ μ l auftreten.

3.3 Verarbeitung des durch bronchoalveoläre Lavage gewonnenen Materials

Um einen Verlust der Gesamtzellzahl oder eine Veränderung der Zellmorphologie zu vermeiden, wurde das in der bronchoalveolären Lavage gewonnene Material in sterilen Röhrchen nativ noch am Tag der Untersuchung bei Raumtemperatur an das Labor geschickt. Bei Ankunft im Labor wurde das Material sofort verarbeitet oder – wenn es aus organisatorischen Gründen nicht sofort verarbeitet werden konnte – bei 4°C gelagert, um es dann innerhalb von 24 Stunden zu verarbeiten.

3.3.1 Mikrobiologische und zytologische Auswertung des Bronchialsekretes

Das gewonnene Bronchialsekret wurde mit Hilfe der PCR-Technik (siehe Kapitel 3.3.1.2 „Weiterverarbeitung im Rahmen der PCR“) auf verschiedene Erreger hin untersucht (Tabelle 3.1). Darüber hinaus wurden im Rahmen der bakteriologischen Diagnostik Kulturen angelegt, um zu überprüfen, ob sich bakteriologische Erreger anzüchten ließen (Tabelle 3.2).

| Nachweisverfahren | Erreger |
|-------------------|-----------------------------|
| PCR | Cytomegalievirus |
| PCR | Epstein-Barr-Virus |
| Multiplex-PCR | Adenoviren |
| | Chlamydia pneumoniae |
| | Enteroviren |
| | Influenza A Virus |
| | Influenza B Virus |
| | Mycoplasma pneumoniae |
| | Parainfluenzavirus 1 |
| | Parainfluenzavirus 3 |
| | Respiratory-Syncytial-Virus |
| | Bordetella parapertussis |
| | Bordetella pertussis |
| | Legionella pneumophila |
| | Metapneumovirus |
| | Parainfluenzavirus 2 |
| | Parainfluenzavirus 4 |
| | Rhinoviren |
| Coronaviren | |
| Reoviren | |

Tabelle 3.1: Erreger, auf die die BAL mit Hilfe der PCR-Technik untersucht wurde.

| Nachweisverfahren | Erreger |
|-------------------|------------------------------|
| Kultur | Pseudomonas aeruginosa |
| | Escherichia coli |
| | Streptococcus pneumoniae |
| | Vergrünende Streptokokken |
| | Staphylococcus aureus |
| | Haemophilus influenza |
| | Moraxella catarrhalis |
| | Stenotrophomonas maltophilia |
| | Haemophilus parainfluenzae |

Tabelle 3.2: Erreger, die mit Hilfe der bakteriologischen Kultur in der BAL nachgewiesen werden konnten.

Ergänzend dazu wurde das Lavagematerial im Rahmen einer Zelldifferenzierung nach Zentrifugation und Färbung mikroskopisch auf Makrophagen, Lymphozyten sowie neutrophile- und eosinophile Granulozyten hin untersucht.

3.3.1.1 Mikrobiologisch-bakteriologische Weiterverarbeitung²

Dabei erfolgte ein mikrobiologischer Kulturansatz auf folgenden Medien: Blutagar mit Optochin-Plättchen, Kochblutagar mit Oleandomycin-Plättchen, MacConkey-Agar (gramnegative Keime), Schaedler (anaerob, bei Verdacht auf Aspirationspneumonie), Thioglykolatbouillon zur Keimanreicherung.

Zusätzlich wurde zum normalen Plattensatz eine Columbia-III-Platte und eine Schokoladen-Agarplatte zur Keimzahlbestimmung beimpft. Dafür wurde mit der kalibrierten 1µl Öse jeweils eine Füllung auf die Columbia- bzw. Schokoladenplatte ausplattiert. Nach 18 bis 24-stündiger Bebrütung bei 36°C±1°C im CO₂-Schrank wurden die Kolonien ausgezählt.

Zur Diagnostik von Pneumokokken wurden Optochinplättchen auf den Agar gelegt, da Pneumokokken Optochin-empfindlich sind. Bei nicht eindeutigen Hemmhöfen folgten weitere biochemische Untersuchungen.

² durchgeführt von Labor Keeser/Arndt und Partner, Hamburg

Zur Diagnostik von Haemophilus Spezies wurde Oleandomycin eingesetzt. Die meisten Keime der normalen Rachenflora werden im Gegensatz zu Haemophilus Spezies von Oleandomycin im Wachstum gehemmt, so dass eine Differenzierung zwischen physiologischer und pathologischer Besiedlung auf der Schokoladen-Agarplatte möglich ist.

Nach der Inkubation wurden die Proben weiterverarbeitet: Bei Wachstum von pathogenen Keimen erfolgte die Differenzierung der Keime über Spezialmedien bzw. biochemische Reaktionen und ggf. über Sequenzierung und das Erstellen eines Antibiogramms mittels Agardiffusion, Breakpoint oder über die minimale Hemmstoffkonzentration.

3.3.1.2 Weiterverarbeitung im Rahmen der PCR

3.3.1.2.1 Multiplex-PCR³

Für die Multiplex-Reverse-Transkriptase-PCR-ELISA war zunächst die Extraktion der in den Proben enthaltenen Nukleinsäuren erforderlich (Gröndahl et al. 1999). Daran anschließend wurde zunächst eine reverse Transkription durchgeführt, um die Erbinformation von RNA-Viren einer Amplifikation mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zugänglich zu machen. In der angeschlossenen PCR wurden in einem Multiplex-Ansatz konservierte Genomabschnitte der gesuchten Erreger mit Hilfe spezifischer Primer (Gröndahl et al. 1999) amplifiziert. Diese PCR-Produkte wurden mit erregerspezifischen Sonden (Gröndahl et al. 1999) an ELISA-Platten (Enzyme linked Immuno-Assay) gebunden und durch eine enzymkatalysierte Farbreaktion detektiert.

Im Detail wurden diese Verfahrensschritte wie folgt durchgeführt:

Die Patientenproben wurden zunächst unter Beachtung spezifischer Hygiene-Maßnahmen zur Reduktion der Kontaminationsgefahr aufgeteilt. Ein Teil wurde direkt für den RSV- und Influenza A- Virusantigen-Nachweis mittels Enzyme linked Immunoassay (ELISA) verwendet, ein weiterer Teil für den Nachweis von CMV und EBV mittels PCR (siehe 3.3.1.2.2). Der Rest wurde

³ Die PCR wurde vom Labor für Pädiatrische Infektiologie der Klinik für Allgemeine Pädiatrie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein/Campus Kiel (PD Dr. med. J. Weigl) durchgeführt.

für die Durchführung der Multiplex-Reverse-Transkriptase-PCR (m-RT-PCR) verwendet bzw. bei -80 °C asserviert.

100 µl Probe wurden mit 100 µl physiologischer Kochsalzlösung (0,9 %) und 0,1 % Natriumdodecylsulfat versetzt. Die Extraktion von Nukleinsäuren aus diesem Gemisch erfolgte mit Hilfe eines industriell gefertigten Anwendungspaketes⁴. Zur Extraktionskontrolle wurden den Untersuchungsserien bekannt positive Proben hinzugefügt. Als Negativkontrolle dienten Proben gesunder Probanden. Im Fall eines positiven Ergebnisses bei der Negativkontrolle wurde die gesamte Untersuchung für alle Proben dieser Serie mit positivem Testergebnis wiederholt. Dafür wurde ein bis dahin unbenutzter Anteil der Patientenprobe verwendet.

5 bis 6 µl der aus den Proben gewonnenen Nukleinsäuren wurden für die Reverse-Transkriptase Reaktion in einem 20 µl Ansatz mit 50 mmol/l Tris-HCl (pH von 8,3), 75 mmol/l KCl, 3 mmol/l MgCl₂, 10 mmol/l Dithiothreitol, je 1 mmol/l dATP, dCTP, dGTP und dTTP⁵, 4 µg einer Hexanucleotid-Mischung⁶, 20 U RNasin^{®7} und 10 U Reverse Transkriptase des Moloney murine leukemia virus⁸ vermischt. Die Reverse-Transkriptase-Reaktion erfolgte für die Dauer von 60 Minuten bei einer Temperatur von 37°C. Nach Inaktivierung der Reversen Transkriptase durch fünfminütiges Erhitzen auf 90°C wurde der gesamte Reaktionsansatz als Nukleinsäuresubstrat in der folgenden Multiplex-PCR eingesetzt. Die 20 µl wurden dazu mit 60 µl Reaktionspuffer (10 mmol/l Tris-HCl mit einem pH von 8,3, 50 mmol/l KCl, 1,5 mmol/l MgCl₂, 0,001% Gelatine, 0,2 mmol/l dATP, 0,2 mmol/l dCTP, 0,2 mmol/l dGTP, 0,2 mmol/l dTTP, 0,01 mmol/l digoxigenin-11-dUTP⁹, 1 µmol/l Primer¹⁰ und 5 U Ampli-Taq-Gold-Polymerase¹¹) vermengt. Die PCR wurde auf einem PE 9600 Thermocycler¹² in 40 Zyklen mit folgenden Schritten durchgeführt: De-

⁴ Boehringer High Pure Viral Nucleic Acid Kit, Boehringer Mannheim, Mannheim, Deutschland

⁵ Produziert von Pharmacia Biotech, Uppsala, Schweden

⁶ Produziert von Boehringer Mannheim, Mannheim, Deutschland

⁷ Produziert von Promega, Madison, USA

⁸ Produziert von Eurogentec, Seraing, Belgien

⁹ Produziert von Boehringer Mannheim, Mannheim, Deutschland

¹⁰ Produziert von Eurogentec, Seraing, Belgien

¹¹ Produziert von Perkin Elmer, Branchburg, USA

¹² Produziert von Perkin Elmer, Branchburg, USA

naturierung bei 94 °C für 30 Sekunden (im ersten Zyklus 10 Minuten), Primerhybridisierung bei 50°C für 30 Sekunden und Elongation bei 72°C für 30 Sekunden (im letzten Zyklus 7 Minuten). Als Negativkontrolle für die PCR dienten Ansätze mit Wasser an Stelle des Nukleinsäuresubstrats, in den Positivkontrollen wurden virale oder bakterielle Nukleinsäurepräparationen eingesetzt.

Die PCR-Produkte wurden anschließend mittels Gelelektrophorese für 30 Minuten bei 130-160 mA in 2%igen Agarosegelen aufgetrennt, mit Ethidiumbromid gefärbt und anschließend mit UV-Licht visualisiert.

Zusätzlich wurde zur spezifischen Detektion der PCR-Produkte eine Microwell-Hybridisierung mit dem PCR-ELISA-System von Boehringer Mannheim durchgeführt. Dafür wurden, entsprechend der Anzahl der untersuchten Erreger (siehe unten), je 5 µl des PCR-Produkts in die Näpfe einer Streptavidin-beschichteten Microtiterplatte gegeben und durch Zugabe von 25 µl Natriumhydroxid (0,2 mol/l) denaturiert. Nach 5 Minuten wurden 200 µl Hybridisierungs-Puffer hinzugefügt, der 2 pmol einer erregerspezifischen 3'-biotinylierten DNA-Sonde¹³ enthielt. Durch Interaktion der jeweiligen Sonde mit der Zielsequenz (Basenpaarung) im PCR-Produkt einerseits und dem Streptavidin der Microtiterplatte (Biotin-Streptavidin-Bindung) andererseits konnte in jedem Ansatz ein bestimmtes PCR-Produkt immobilisiert werden. Nach einer Stunde bei 37 °C wurden ungebundene Amplifikationsprodukte durch viermaliges Waschen mit je 200 µl Waschlösung¹⁴ entfernt. Anschließend wurden die Proben für 30 Minuten bei 37 °C mit 2 µU Antidigoxigeninperoxidase-Antikörper¹⁵ in 200 µl Reaktionspuffer (100 mmol/l Tris-HCl, 150 mmol/l NaCl) inkubiert. Nach vier weiteren Waschschritten mit je 200 µl Waschlösung wurden 200 µl des ABTS-Substrats (Azinodiethylbenzithiazolinsulfonat)¹⁶ hinzugefügt und die Platte für 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Die abschließende Messung der optischen Dichte erfolgte bei einer Wellenlänge von 405 nm (495 nm Referenz). Die Messung wurde als valide angesehen, wenn bei den Negativkontrollen eine optische Dichte unter 0,2 Einheiten und bei den Positivkontrollen eine optische Dichte über 1,0 Einheiten

¹³ Produziert von Eurogentec, Seraing, Belgien

¹⁴ Produziert von Boehringer Mannheim, Mannheim, Deutschland

¹⁵ Produziert von Boehringer Mannheim, Mannheim, Deutschland

¹⁶ Produziert von Boehringer Mannheim, Mannheim, Deutschland

gemessen wurden. Eine Probe wurde nur dann als positiv bewertet, wenn die optische Dichte über 0,5 Einheiten lag und bei der Gel-Elektrophorese in dem betreffenden Bereich mindestens eine schwache Bande sichtbar war. Proben mit einer optischen Dichte von 0,2 bis 0,5 wurden als nicht eindeutig interpretierbar eingeordnet und wurden erst nach erneuter einzelner Testung mit speziellen Primern als positiv oder negativ eingestuft.

Während des Zeitraumes, in dem das gewonnene Sekret aus der bronchoalveolären Lavage mit Hilfe der Multiplex-PCR untersucht wurde, konnte das Spektrum der Multiplex-PCR bezüglich der zu untersuchenden Erreger durch laufende Fortschritte in der PCR-Diagnostik ständig erweitert werden. So wurde im Rahmen der Multiplex-PCR das Lavagematerial bei 52 Patienten zunächst auf lediglich 9 Erreger¹⁷ hin untersucht. Später wurde dies Verfahren erst um 7 weitere Erreger¹⁸ ergänzt – hiervon waren 32 Patienten betroffen. Abschließend wurde die Multiplex-PCR noch mal um 2 weitere Erreger¹⁹ ergänzt – davon waren 14 Patienten betroffen (siehe Tabelle 3.1).

3.3.1.2.2 CMV und EBV-PCR²⁰

Die bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit wurde ebenso auf CMV und EBV hin mittels PCR untersucht, jedoch nicht im Rahmen der Multiplex-PCR, sondern in gesonderten PCR-Untersuchungen:

Die CMV-PCR wurde mit Primern durchgeführt, die vom CMV major immediate-early gene (UL 122-123) abgeleitet wurden. EBV-DNA wurde durch die Verwendung von Primern aus dem BLRF-2-Gen für das virale Kapsidprotein vervielfältigt.

Die DNA wurde aus 200 µl BAL mit Hilfe von Säulen der Firma Qiagen extrahiert und in 100 µl Elutionspuffer ausgewaschen. Sowohl für die CMV- als auch für die EBV-PCR wurden 25 µl der DNA-Lösung mit 5 µl 10-fach PCR-Puffer (0,5 mol/l KCl; 0,1 mol/l Tris-HCl; pH 8,3; 20 mmol/l MgCl₂; 0,1% Gela-

¹⁷ Adenoviren, Chlamydia pneumoniae, Enteroviren, Influenza Virus A, Influenza Virus B, Mycoplasma pneumoniae, Parainfluenza Virus 1, Parainfluenza Virus 3, RSV.

¹⁸ Bordetella parapertussis, Bordetella pertussis, Legionella pneumophila, Metapneumovirus, Parainfluenza 2, Parainfluenza 4, Rhinoviren.

¹⁹ Coronaviren, Reoviren.

²⁰ Die PCR wurde vom Labor Keeser/Arndt und Partner, Hamburg durchgeführt.

tine), 8 µl einer Desoxyribonukleotidtriphosphatmischung, je 50 picomol Primer, 1 U Taq-DNA-Polymerase (*Thermophilus aquaticus*) kombiniert und mit sterilem Wasser auf ein Gesamtvolumen von 50 µl aufgefüllt. Die PCR wurde in 40 Zyklen bestehend aus Denaturierung (94 °C für 1 Minute, im ersten Zyklus für 15 Minuten), Primerhybridisierung (57°C für 1 Minute) und Elongation (72°C für 1 Minute, im letzten Zyklus 10 Minuten) durchgeführt. Die Spezifität des PCR-Ergebnisses wurde mit Hilfe einer Southernblot-Hybridisierung mit biotinylierten CMV- und EBV-spezifischen Sonden überprüft.

3.3.1.3 Zytologische Weiterverarbeitung

Die BAL wurde, um Zellverluste möglichst gering zu halten, unmittelbar nach Eintreffen in dem Labor weiterverarbeitet. Zur Dokumentation der Rohdaten wurde ein Protokollbogen verwendet, mit dessen Hilfe die optische Beschaffenheit (klar, trüb, gefärbt, blutig tingiert, Beimengungen) sowie die Menge der BAL festgehalten wurde. Zudem wurde die Anzahl der in der BAL enthaltenen Erythrozyten mit Hilfe eines Combur 10- Teststreifens ermittelt und auf dem Protokollbogen dokumentiert. Zur Entfernung von Schleimflocken wurde die gesamte BAL durch Nylongaze mit einem Kunststoff-Filter in ein Kunststoffgefäß filtriert. Anschließend wurden 2 Zytocentrifugate erstellt. Hierfür wurde die Zytokammer der Zentrifuge mit 250 µl der durchmischten BAL beschickt und daraufhin bei 291 g für 10 Minuten (1700 Umdrehungen/min., Hettich-Zentrifuge, Typ 1200/Universal) zentrifugiert, um die Zellen auf einem vorinstallierten Objektträger zu sedimentieren. Der Überstand wurde vorsichtig von oben bis auf einen geringen Flüssigkeitsrest abpipettiert. Für die Trockenfixierung wurde eine erneute Zentrifugation bei 1163 g für 10 Minuten (3400 Umdrehungen/min., Hettich-Zentrifuge, Typ 1200/Universal) durchgeführt. Dabei wurde die Flüssigkeit weggepresst und von einer zuvor installierten Filterkarte aufgesogen, die Zellen hingegen fanden sich nun gut erhalten im Sediment. Das trockene Präparat wurde im Anschluss nach Pappenheim gefärbt.

Die lichtmikroskopische Beurteilung des Differentialzellbildes an mindestens 400 Zellen ermittelte den Anteil an Alveolarmakrophagen, Lymphozyten, Monozyten, Neutrophilen und Eosinophilen.

Da die existierenden Angaben für die Normbereiche der Differentialzytologie-Werte aus bronchoalveolärer Lavage bei Kindern bis zum 3. Lebensjahr zum Teil sehr divergent sind (Grigg und Riedler 2000), war die Interpretation der gewonnenen Ergebnisse nur unter Berücksichtigung des Patientenalters möglich. Nachfolgende Tabelle 3.3 (Modifiziert nach: European Respiratory Society Task Force 2000) stellt die in verschiedenen Studien (Ratjen et al. 1994, Riedler et al. 1995, Midulla et al. 1995) ermittelten Normbereiche in Abhängigkeit von der Altersspanne der Patienten und der Anästhesieart dar.

| | Ratjen et al. | Riedler et al. | Midulla et al. |
|--------------------------------------------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| N | 48 | 18 | 16 |
| Alter in Jahren | 3-5 | $\frac{1}{12}$ - 10 | $\frac{2}{12}$ - 3 |
| Anästhesieverfahren | VN | VN | LA |
| Anzahl der Teilproben | 3 | 3 | 2 |
| Applizierte Lavageflüssigkeit | $\frac{3ml}{kgKG}$ | $\frac{3ml}{kgKG}$ | 20 ml |
| Rückgewinnung der Lavageflüssigkeit Median in % | k. A. | 62,5 | 42,5 |
| Alveolarmakrophagen Median in % | 84 | 91 | 87 |
| Lymphozyten Median in % | 12,5 | 7,5 | 7 |
| Neutrophile Granulozyten Median in % | 0,9 | 1,7 | 3,5 |
| Eosinophile Granulozyten Median in % | 0,2 | 0,2 | 0 |

VN: Vollnarkose

LA: Lokalanästhesie

k. A.: keine Angabe

Tabelle 3.3: Referenzbereiche für die Ergebnisse der BAL-Differentialzytologie.

3.3.1.4 Bewertung der mikrobiologischen Keimnachweise mit anschließender Therapieentscheidung

Nach erfolgreichem Keimnachweis erfolgte eine Bewertung, ob der nachgewiesene Keim zur Standortflora der luftführenden Atemwege zu zählen und als physiologische Kolonisation anzusehen ist oder ob es sich um den Nachweis eines fakultativ oder obligat pathologischen Erregers handelt. Hierfür wurden die Eigenschaften als auch die Keimzahl des nachgewiesenen Erregers zu Grunde gelegt. Wurde ein Keim der physiologischen Mund-, Nasen-, Rachen- oder Kehlkopf-Flora in geringen Mengen in dem Material der bronchoalveolären Lavage nachgewiesen, so wurde von einer Verschleppung dieses Keimes durch das Bronchoskop und dadurch von einer Kontamination des gewonnenen Materials ausgegangen, sofern laborchemische Parameter oder das klinische Gesamtbild des Patienten nicht dagegen sprachen. Wurden große Mengen eines dieser Keime nachgewiesen, so wurde von einer klinisch relevanten Infektion ausgegangen.

Des Weiteren musste entschieden werden, ob der nachgewiesene Erreger die Beschwerdesymptomatik des Patienten hinreichend erklärte. Diese Beurteilung erfolgte mit Hilfe der in der Literatur beschriebenen pathogenen Erregerereigenschaften (siehe Kapitel „Einleitung“). Bezüglich der therapeutischen Möglichkeit der nachgewiesenen Erreger lag bei einem mit kultureller Anzucht nachgewiesenem Erreger ein Resistogramm vor, mit dessen Hilfe eine geeignete antibiotische Therapie festgelegt werden konnte. Beim Nachweis viraler Erreger standen die im Kapitel „Einleitung“ genannten medikamentösen antiviralen Therapieansätze zur Verfügung. Ob nach erfolgreichem Erregernachweis eine medikamentöse Therapie notwendig war, hing von den pathogenen Eigenschaften des Erregers ab, ob die medikamentöse Therapie auch durchgeführt wurde, hing von der abschließenden Risiko-Nutzen-Bewertung der medikamentösen Therapie ab. Hierbei musste einerseits das pädiatrische Patientenkind ebenso wie die individuelle Situation des Kindes berücksichtigt werden: so flossen in die individuelle Therapieentscheidung wichtige Aspekte wie die bisherige Krankheitsschwere, das Alter und Gewicht des Kindes, Begleiterkrankungen sowie Medikamentenunverträglich-

keiten und –wechselwirkungen ein. Hieraus ergaben sich Einschränkungen bezüglich der zur Auswahl stehenden Antiinfektiva.

3.4 Statistische Bewertung der Relevanz der anamnestischen, klinischen, radiologischen und laborchemischen Merkmale

Die erhobenen Daten, bestehend aus 56 Merkmalen, wurden zunächst gemäß ihrer Eigenschaften in qualitative und quantitative Merkmale unterteilt. In der Gruppe der qualitativen Merkmale fanden sich ausschließlich Daten, die nominale Eigenschaften hatten. Dagegen traten in der Gruppe der quantitativen Merkmale sowohl Daten mit metrischen Eigenschaften auf.

Die Fälle, bei denen im Rahmen der bronchoalveolären Lavage Erreger nachgewiesen werden konnten, wurden genauer spezifiziert: Dabei wurden zunächst alle jene bronchoalveoläre Lavagen für die weitere Auswertung herangezogen, in denen überhaupt ein Erreger nachgewiesen werden konnte. Im weiteren Verlauf wurden nur diejenigen BALs für die weitere Auswertung herangezogen, in denen mittels PCR Erreger nachgewiesen werden konnten, welche die klinischen Beschwerden der Patienten erklären konnten und potentiell erregerspezifische medikamentös-therapeutische Konsequenzen zur Folge hatten. Für diese beiden Fall-Gruppen erfolgte die statistische Auswertung gemäß der Merkmale ihrer Daten. Das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha < 0,05$ festgelegt.

Abschließend fand die Tatsache Berücksichtigung, dass bei 56 untersuchten Merkmalen zwangsläufig zufällige Signifikanzen auftreten. Aus diesem Grunde wurde mit Hilfe der Statistik-Software SSPS untersucht, wie weit das Signifikanzniveau aufgrund der Vielzahl der untersuchten Merkmale adjustiert werden muss.

3.4.1 Auswertung der Daten mit metrischem Merkmal

Es konnten für die metrischen Merkmale die Mediane, Rangsumme n_1 , Rangsumme n_2 , 0,025-Quantil von n_1 , 0,975-Quantil von n_2 ermittelt werden. Zudem konnte untersucht werden, ob ein signifikanter Unterschied im

Mann-Whitney-Wilcoxon-Test (U-Test) besteht. Abschließend wurden zu den jeweiligen untersuchten Merkmalen P-Werte errechnet.

Der Mann-Whitney-Wilcoxon-Test (U-Test) ist ein nicht-parametrischer Zweistichprobentest, anzuwenden auf unverbundene Stichproben und stetige Merkmale. Die Verteilung betreffend sollen beiden Grundgesamtheiten des betrachteten Merkmals die gleiche Varianz haben. Sind diese Bedingungen erfüllt, so prüft der Mann-Whitney-Wilcoxon-Test, ob die beiden Verteilungen auch bezüglich der Lage übereinstimmen. Er macht eine Aussage darüber, ob sich die Lagemaße zweier Stichproben mit der gleichen Varianz signifikant oder nur zufällig voneinander unterscheiden.

Der Test wird folgendermaßen durchgeführt:

Zunächst werden die Hypothesen festgelegt:

- Nullhypothese: Es besteht kein signifikanter Unterschied der Verteilung der beiden Reihen.
- Alternativhypothese: Es besteht ein signifikanter Unterschied der Verteilung der beiden Reihen.

n_1 und n_2 seien zwei verschiedene Stichproben. Sortiert man diese zwei Stichproben gemeinsam der Größe nach und ordnet man aufsteigend den sortierten Datenreihen die natürlichen Zahlen von 1 bis n zu, so erhält man für jeden Wert eine zugehörige Rangzahl. Die Summe der Rangzahlen von n_1 sei R_1 . Die Summe der Rangzahlen von n_2 sei R_2 . Die Prüfgröße P ergibt sich aus der Summe der Rangzahlen der Stichprobe mit dem kleineren Stichprobenumfang. Abschließend wird das 0,925-Quantil und das 0,025-Quantil auf n_1 und n_2 bezogen. Liegt P in dem aus den beiden Quantilen gebildeten Intervall, kann die Nullhypothese nicht verworfen werden, liegt die Prüfgröße nicht in dem Intervall, wird sie mit der Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha = 0,05$ verworfen.

Ein konkreter P-Wert lässt sich mit Hilfe folgender Formel ermitteln:

$$z = \frac{\left| U - \frac{n_1 \cdot n_2}{2} \right|}{\sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2 (n_1 + n_2 + 1)}{12}}}$$

wobei U der kleinere der beiden Größen von U_1 und U_2 ist:

$$U_1 = n_1 \cdot n_2 + \frac{n_1(n_1 + 1)}{2} - R_1$$

$$U_2 = n_1 \cdot n_2 + \frac{n_2(n_2 + 1)}{2} - R_2$$

Ist z bekannt, so lässt sich der P-Wert mit Hilfe einer Tabelle (Ramm 1987) für kumulative Wahrscheinlichkeiten F(z) der Wahrscheinlichkeitsdichte f(z) der standardisierten Gaußverteilung ermitteln.

3.4.2 Auswertung der Daten mit nominalem Merkmal

Für die zu untersuchenden Daten mit nominalen Merkmalen wurden mit Hilfe der Vierfeldertafel die Patienten, bei denen ein oder mehrere Erreger in der BAL nachgewiesen wurden, zu den Patienten in Bezug gesetzt, bei denen kein Erreger nachgewiesen wurde. Abschließend wurden P-Werte errechnet. Dafür wird jedoch zunächst Chi² errechnet.

Allgemeine Vierfeldertafel:

| | Spalte 1 | Spalte 2 | Zeilensumme |
|---------------------|-----------------|-----------------|--------------------|
| Zeile 1 | N ₁₁ | N ₁₂ | n _{1x} |
| Zeile 2 | N ₂₁ | N ₂₂ | n _{2x} |
| Spaltensumme | n _{x1} | n _{x2} | N |

Aus der Vierfeldertafel lässt sich Chi² ermitteln:

$$\chi^2 = \frac{(n_{11} \cdot n_{22} - n_{12} \cdot n_{21})^2 \cdot n}{n_1 \cdot n_2 \cdot n_{1x} \cdot n_{2x}}$$

Der entsprechende P-Wert lässt sich anschließend mit Hilfe von Statistik-Software ermitteln.

Die P-Werte wurden ab der vierten Dezimalstelle mathematisch gerundet.

4 Ergebnisse

Die eingangs im Kapitel „Arbeitshypothese und Fragestellung“ genannten Fragen sollen im Folgenden beantwortet werden.

Sollte bei der Untersuchung eines bestimmten Merkmals in der Summe eine kleinere Patientenzahl als 98 auftreten, so waren bezüglich des zu untersuchenden Merkmals keine oder nur ungenaue Angaben eruierbar.

Als Erreger mit potentiell besonderen therapeutischen Konsequenzen werden in dieser Arbeit nur all jene verstanden, die mit Hilfe der PCR nachgewiesen werden können, deren Nachweis die Beschwerdesymptomatik der Patienten hinreichend erklärt und evtl. eine, nach sorgfältiger Nutzen-Risiko-Abwägung und auf das pädiatrische Patientenkontinuum abgestimmte, erregerspezifische medikamentöse Therapie zur Folge hat. Zur besseren Lesbarkeit werden Erreger, welche diese Bedingungen erfüllen, als Erreger mit potentiell besonderen therapeutischen Konsequenzen zusammengefasst.

In diesem Kapitel werden sämtliche ermittelten Ergebnisse detailliert aufgeführt. Es werden sowohl die signifikanten und der Vollständigkeit halber auch die nicht-signifikanten Ergebnisse genannt, damit, sollte auf diesem Gebiet weiter geforscht werden, alle Ergebnisse zum Vergleich vorliegen.

4.1 Patientenanamnese

4.1.1 Alters- und Geschlechtsverteilung

Unter den 98 Patienten waren 33 weibliche Patienten und 65 männliche, der Altersmedian lag bei 15 Monaten, wobei der jüngste Patient zum Zeitpunkt der bronchoalveolären Lavage 3 Monate und der mit Abstand älteste Patient 18 Jahre und 4 Monate alt war (Abbildung 1).

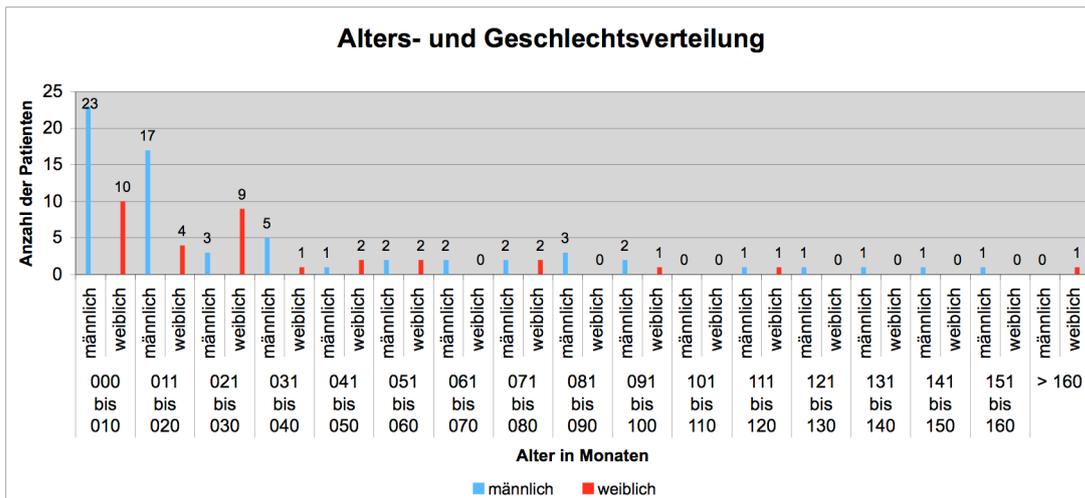


Abbildung 1: Alters- und Geschlechtsverteilung der 98 Patienten in Monaten.

Abbildung 2 stellt die Altersverteilung in Abhängigkeit vom Erregernachweis in der BAL dar, wobei sich ein hochsignifikanter Zusammenhang ($p < 0,004$) zwischen jungem Alter der Patienten und positivem Erregernachweis in der BAL ergibt. Bei Vorliegen eines positiven Erregernachweises wurde hier nicht weitergehend differenziert, ob es sich um Erreger handelt, die potentiell eine besondere therapeutische Konsequenz hatten.

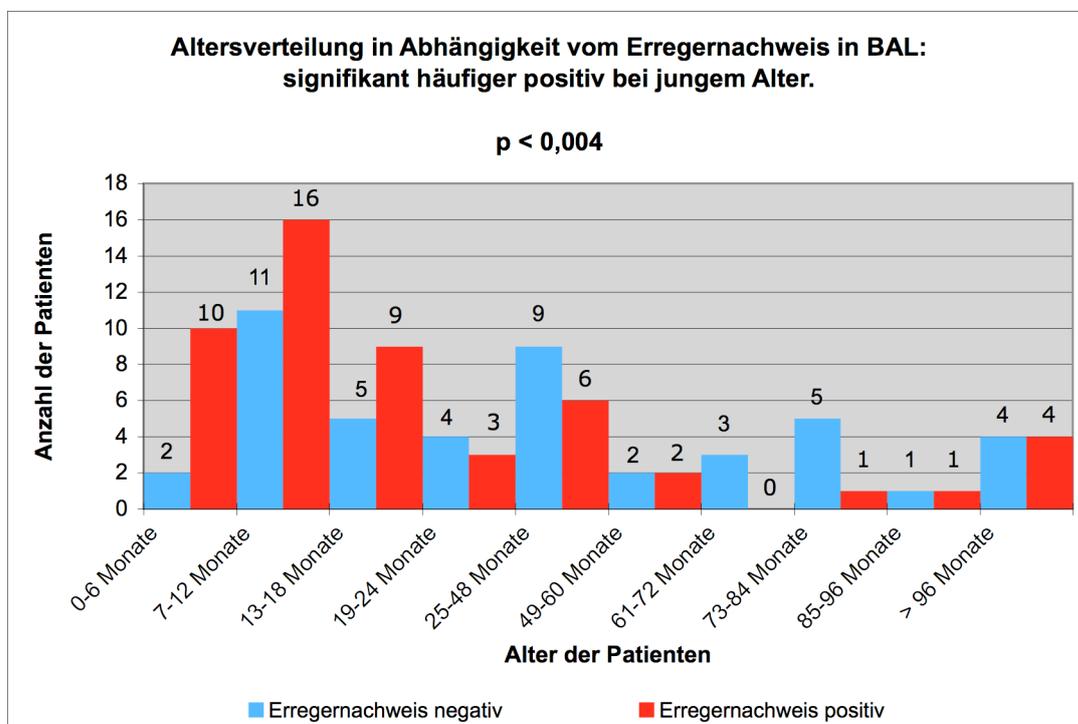


Abbildung 2: Alter der Patienten in Abhängigkeit vom Erregernachweis in der BAL. Es erfolgte keine Differenzierung dahingehend, ob Erreger mit oder ohne potentiell besondere therapeutische Konsequenzen nachgewiesen wurden.

4.1.2 Respirationstrakt-Anamnese

Bei der näheren Befragung wurde bei 83 Patienten angegeben, in der Vergangenheit Husten bemerkt zu haben. Davon konnten bei 16 Patienten genauere Angaben über den Zeitpunkt des Hustens eruiert werden: 10 Patienten husteten vornehmlich nachts, 2 Patienten husteten ausschließlich tagsüber. 2 Patienten husteten tagsüber und nachts. Körperliche Belastung war bei 2 Patienten mit vermehrtem Husten in Verbindung gebracht worden. Bei 15 Patienten wurde kein Husten angegeben.

Zusätzlich wurden Angaben über die Dauer des bestehenden Hustens – unabhängig von der Tageszeit und der Situation des Hustens – erhoben (Abbildung 3).

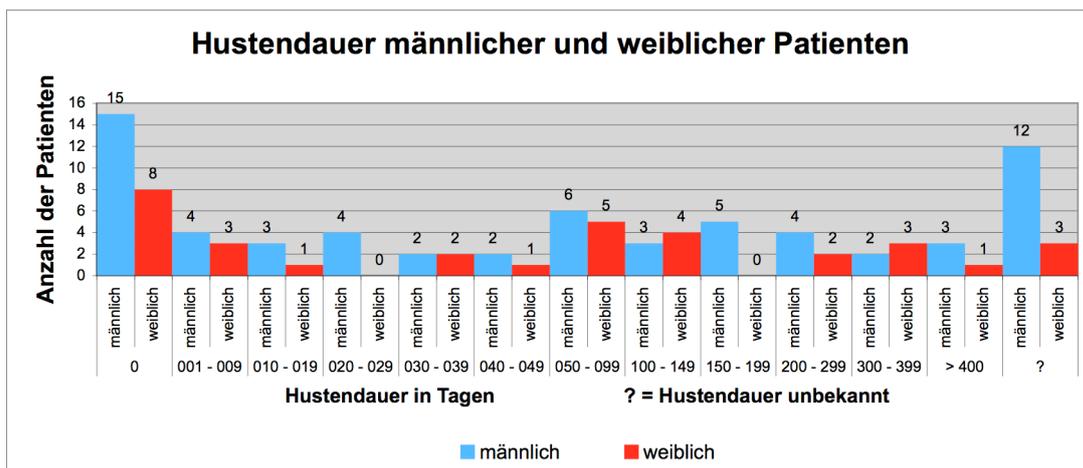


Abbildung 3: Hustendauer in Tagen in Abhängigkeit vom Geschlecht.

Bei 45 Patienten ist in der Patientenanamnese hörbares Giemen verneint worden, wohingegen bei 53 Patienten Giemen in der Vergangenheit dokumentiert worden ist. Bei 77 Patienten wird in der Anamnese Pfeifen verneint, bei 20 Patienten wurde es beobachtet.

Bei 54 Patienten wurde in der Patientenanamnese Kurzatmigkeit verneint, bei 43 Patienten war davon berichtet worden. Bei 28 von diesen 43 Patienten konnten mit Hilfe der PCR und/oder bakteriologischer Kultur ein oder mehrere Erreger nachgewiesen werden, wobei sich in der statistischen Auswertung ein signifikanter Zusammenhang ($p < 0,042$) zwischen Kurzatmigkeit und positivem Erregernachweis ergab. Es erfolgte hierbei keine Differenzierung

dahingehend, ob Erreger mit oder ohne potentiell besondere therapeutische Konsequenzen nachgewiesen wurden (siehe Abbildung 4). Bei 15 von diesen 43 Patienten konnte kein Erreger nachgewiesen werden. Von den 54 Patienten, bei denen keine Kurzatmigkeit angegeben wurde, gelang in 24 Fällen ein Erregernachweis mit Hilfe von PCR und/oder bakteriologischer Kultur, in 30 Fällen konnte kein Erreger nachgewiesen werden.

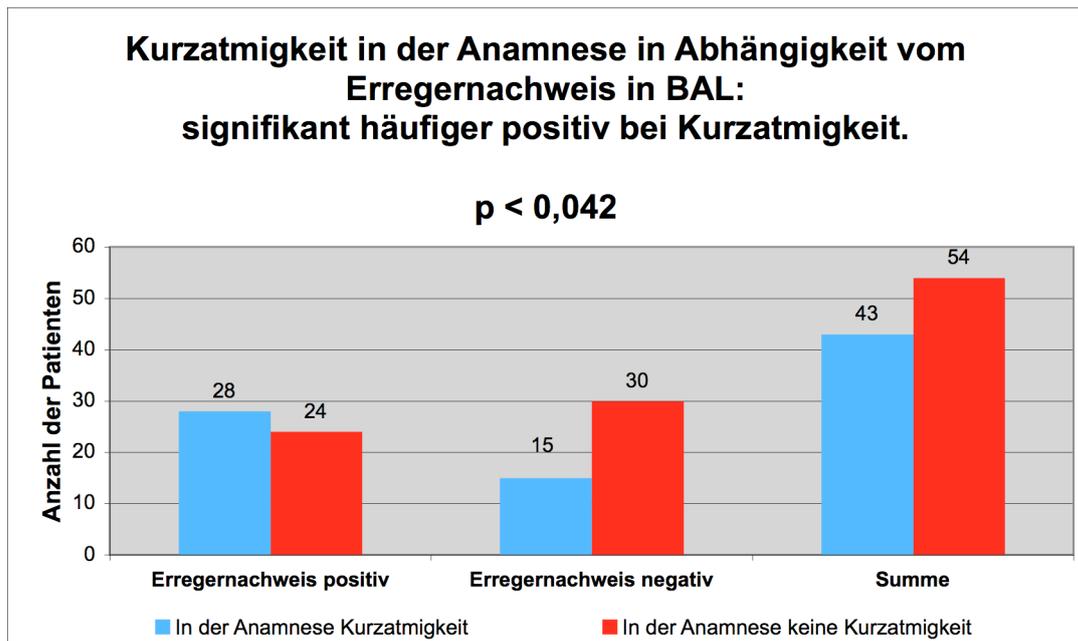


Abbildung 4: Kurzatmigkeit in der Anamnese von Patienten mit Erregernachweis in der BAL. Es erfolgte keine Differenzierung dahingehend, ob Erreger mit oder ohne potentiell besondere therapeutische Konsequenzen nachgewiesen wurden.

4.2 Familienanamnese und Sozialanamnese

44 Patienten hatten eine negative Familienanamnese bezüglich atopischer Erkrankungen. Bei 33 Patienten war sie positiv.

Bei 10 Patienten wurde in der häuslichen Umgebung innerhalb der Räume geraucht. Bei 21 Patienten wurde dies verneint. Bei 67 Patienten war aufgrund des retrospektiven Studiendesigns nicht eruierbar, ob die Patienten Tabakrauch exponiert waren (siehe Abbildung 5).

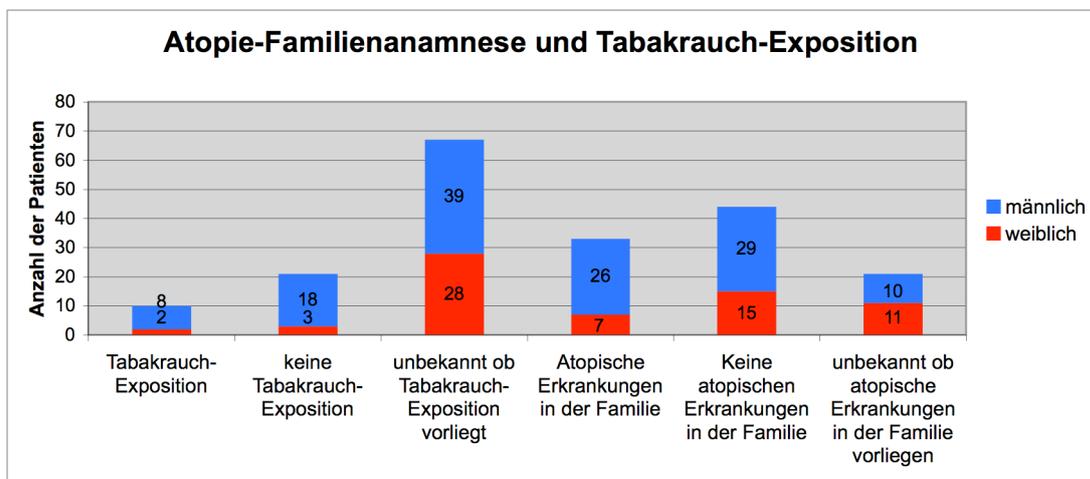


Abbildung 5: Anzahl der Patienten, die Tabakrauch-Exposition ausgesetzt sind und die Anzahl der Patienten mit Erkrankungen aus dem atopischen Formenkreis in der Familie.

Abbildung 6 vergleicht Patienten, bei denen entweder laborchemische Hinweise für eine atopische Erkrankung vorlagen und/oder bei denen in der Familie atopische Erkrankungen aufgetreten waren mit solchen Patienten, bei denen weder laborchemische Hinweise auf eine atopische Erkrankung vorlagen noch eine atopische Erkrankung in der Familie vorkam. Es werden Patienten mit Erregernachweis in der BAL mit Patienten ohne Erregernachweis in der BAL verglichen. Es erfolgt dabei keine Differenzierung dahingehend, ob Erreger mit oder ohne potentiell besondere therapeutische Konsequenzen nachgewiesen wurden. Im Rahmen der statistischen Auswertung zeigte sich ein hoch-signifikanter Zusammenhang ($p < 0,00001$) zwischen dem Fehlen von laborchemischen Hinweise für eine atopische Erkrankung und/oder atopischen Erkrankungen in der Familie und dem positivem Erregernachweis.

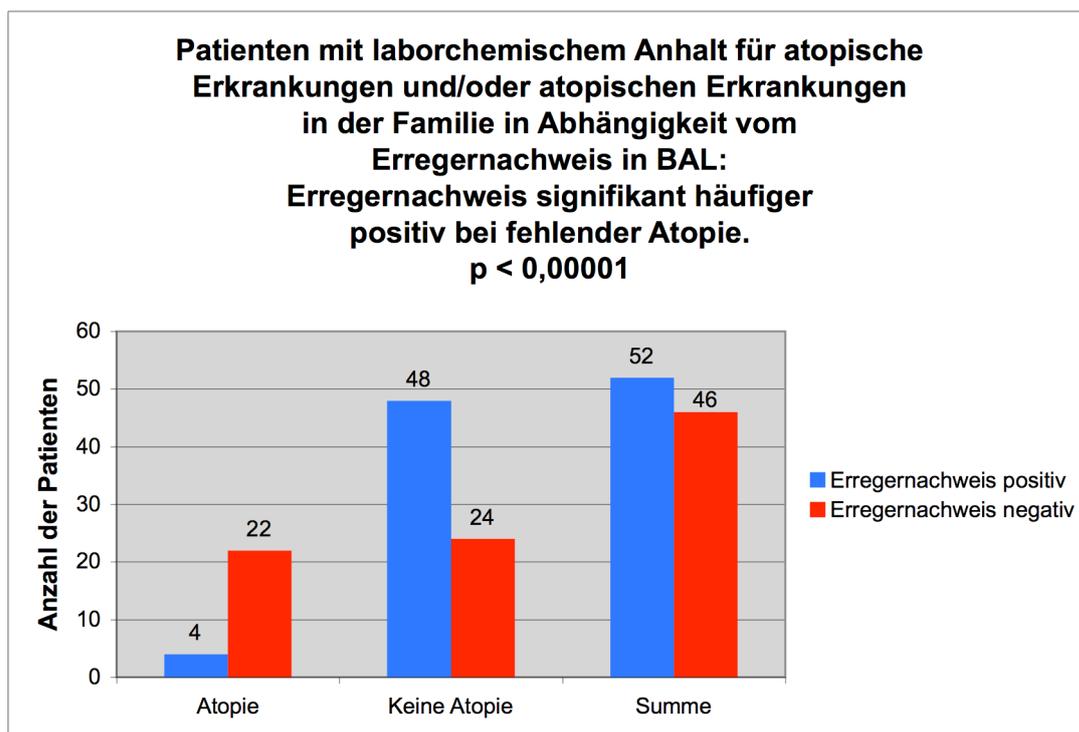


Abbildung 6: Vergleich von Patienten, bei denen entweder laborchemische Hinweise für eine atopische Erkrankung vorlagen und/oder bei denen in der Familie atopische Erkrankungen aufgetreten waren mit solchen Patienten, bei denen weder laborchemische Hinweise auf eine atopische Erkrankung vorlagen noch eine atopische Erkrankung in der Familie vorkam. Es erfolgte keine Differenzierung dahingehend, ob Erreger mit oder ohne potentiell besondere therapeutische Konsequenzen nachgewiesen wurden.

4.3 Körperliche Untersuchung

Bei Aufnahme waren 74 Patienten in gutem und 24 Patienten in reduziertem Allgemeinzustand.

Die höchste Körpertemperatur in den ersten 24 Stunden des Krankenhausaufenthaltes betrug im Median 37,5°C. Die niedrigste Temperatur betrug 36°C, die höchste gemessene 40,5 °C. Im Rahmen der statistischen Auswertung zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang ($p < 0,045$) zwischen der Höhe der Körpertemperatur innerhalb der ersten 24 Stunden nach stationärer Aufnahme und dem positiven Erregernachweis, wobei keine Differenzierung dahingehend erfolgte, ob Erreger mit oder ohne potentiell besondere therapeutische Konsequenz nachgewiesen wurden (siehe Abbildung 7).

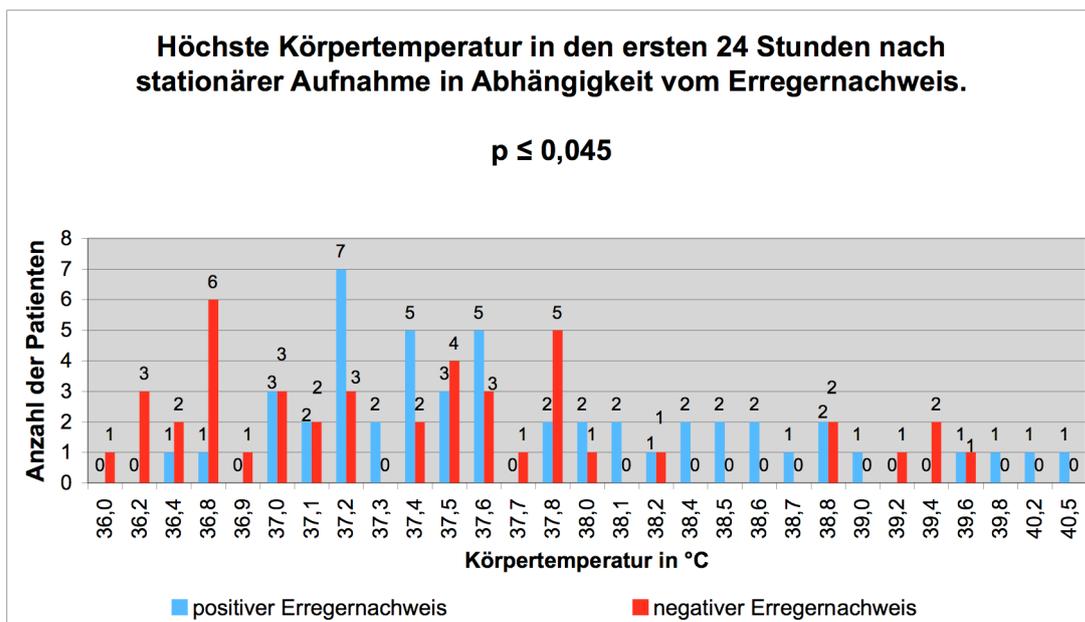


Abbildung 7: Höchste Körpertemperatur in den ersten 24 Stunden nach stationärer Aufnahme in Abhängigkeit von Erregernachweisen in der BAL. Es erfolgte keine Differenzierung dahingehend, ob Erreger mit oder ohne potentiell besondere therapeutische Konsequenzen nachgewiesen wurden.

Der Median der O₂-Sättigung bei Aufnahme lag bei 96%. Die niedrigste Sauerstoffsättigung betrug 87%, die höchste 100%, wobei bei 37 Patienten die Sauerstoffsättigung unter Raumluf gemessen wurde. Bei 5 Patienten wurde dagegen die Sauerstoffsättigung unter Sauerstoffgabe dokumentiert. Bei 56 Patienten war eine Sauerstoffsättigung bei Aufnahme nicht dokumentiert.

Eine Zyanose war bei einem Patienten zu beobachten gewesen. Intercostale Einziehungen waren im Rahmen der Aufnahmeuntersuchung bei 23 Patienten vermerkt worden, bei 74 Patienten waren diese nicht zu beobachten (siehe Abbildung 8). Im Rahmen der statistischen Auswertung zeigte sich hierbei eine deutliche Signifikanz ($p < 0,041$) zwischen dem Vorliegen von intercostalen Einziehungen und positivem Erregernachweis, wobei es sich hier um Erreger handelte, die potentiell besondere therapeutische Konsequenzen zur Folge hatten. Hierzu werden – wie bereits dargelegt – CMV, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia pneumoniae, Influenza A und Influenza B gezählt.

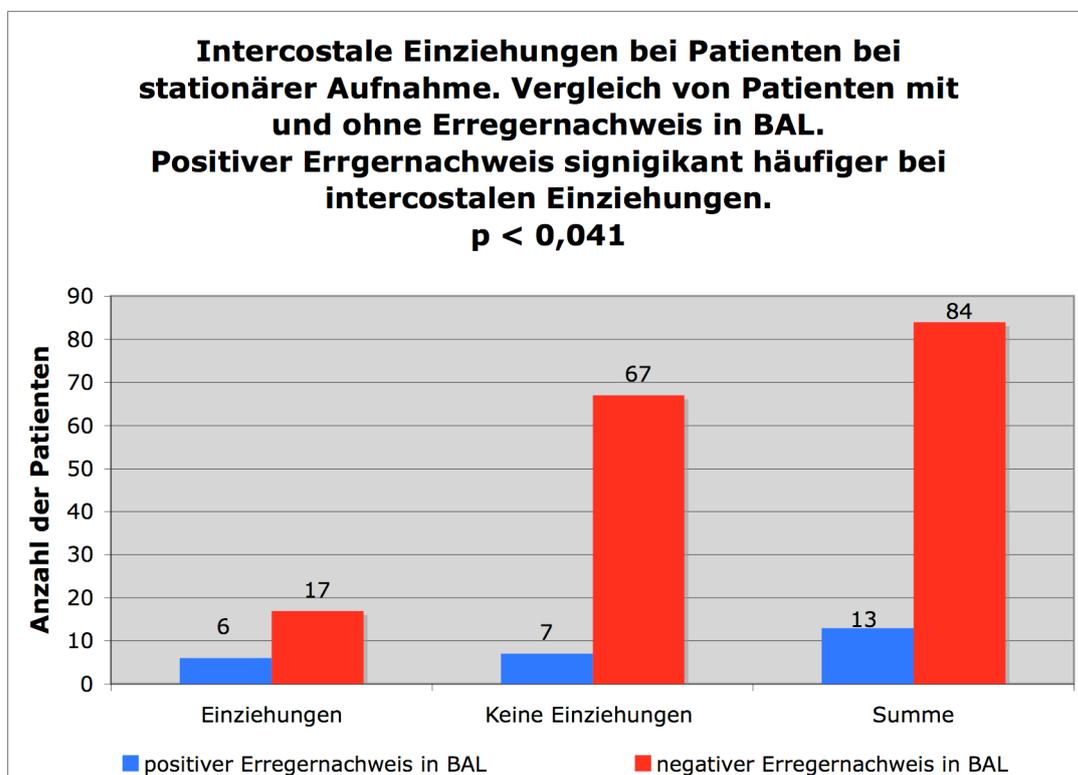


Abbildung 8: Anzahl der Patienten mit intercostalen Einziehungen bei stationärer Aufnahme in Abhängigkeit vom Erregernachweis in der BAL mit potentiell besonderen therapeutischen Konsequenzen.

Grobblasige Rasselgeräusche waren im Rahmen der Aufnahmeuntersuchung bei 17, feinblasige Rasselgeräusche waren lediglich bei 10 Patienten auszukultivieren. Bei 80 Patienten waren erstere nicht zu hören. Feinblasige Rasselgeräusche waren bei 87 Patienten nicht zu hören.

Ein abgeschwächtes Atemgeräusch wurde bei 6 Patienten dokumentiert. Bei den restlichen Patienten ist dies nicht auskultierbar gewesen.

Ein inspiratorischer Stridor ist bei 5 Patienten vermerkt. Alle übrigen Patienten waren diesbezüglich beschwerdefrei.

Obstruktives Giemen wurde bei 40 Patienten bemerkt (siehe Abbildung 9), bei 28 von diesen ließen sich mit Hilfe von PCR und/oder bakteriologischer Kultur ein oder mehrere Erreger nachweisen. Bei 12 von diesen 40 Patienten gelang dies nicht. Bei 58 Patienten wurde bei stationärer Aufnahme kein Giemen festgestellt, bei 24 von diesen 58 Patienten gelangen ein oder mehrere Erregernachweise, bei 34 konnte kein Erreger nachgewiesen werden. In der statistischen Auswertung zeigte sich ein hoch-signifikanter Zusammenhang ($p < 0,005$) zwischen obstruktiven Giemen bei Aufnahme und positivem Erregernachweis in der BAL, wobei keine Differenzierung dahingehend erfolgte, ob Erreger mit oder ohne potentiell besondere therapeutische Konsequenzen nachgewiesen wurden.

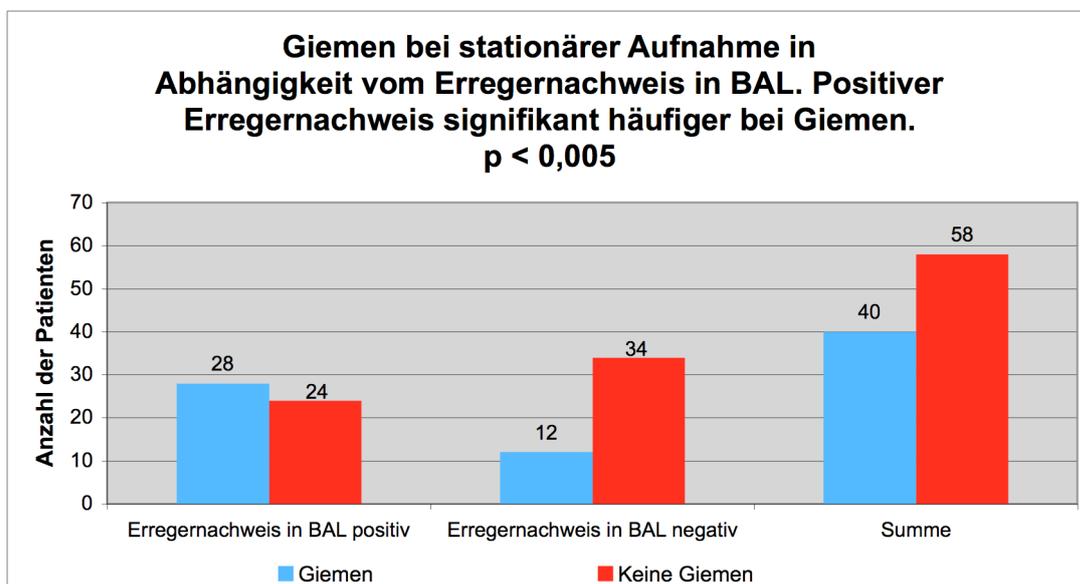


Abbildung 9: Anzahl der Patienten mit Giemen bei stationärer Aufnahme in Abhängigkeit vom Erregernachweis in der BAL. Es erfolgte keine Differenzierung dahingehend, ob Erreger mit oder ohne potentiell besondere therapeutische Konsequenzen nachgewiesen wurden.

In Gegenüberstellung zu Abbildung 9 stellt Abbildung 10 die Patienten mit obstruktivem Giemen bei stationärer Aufnahme dar, bei denen mit Hilfe von PCR und/oder bakteriologischer Kultur Erreger nachgewiesen wurden, die potentiell besondere therapeutische Konsequenzen zur Folge hatten: von den 40 Patienten, bei denen Giemen festgestellt wurde, waren bei 9 Patienten Erreger nachgewiesen worden. Von den 58 Patienten, bei denen kein Giemen festgestellt worden war, gelang in 4 Fällen der Nachweis von Erregern, die potentiell besondere therapeutische Konsequenzen zur Folge hatten. Hier zeigte sich in der statistischen Auswertung ein deutlich signifikanter Zusammenhang ($p < 0,025$) zwischen obstruktivem Giemen und positivem Erregernachweis in der BAL.

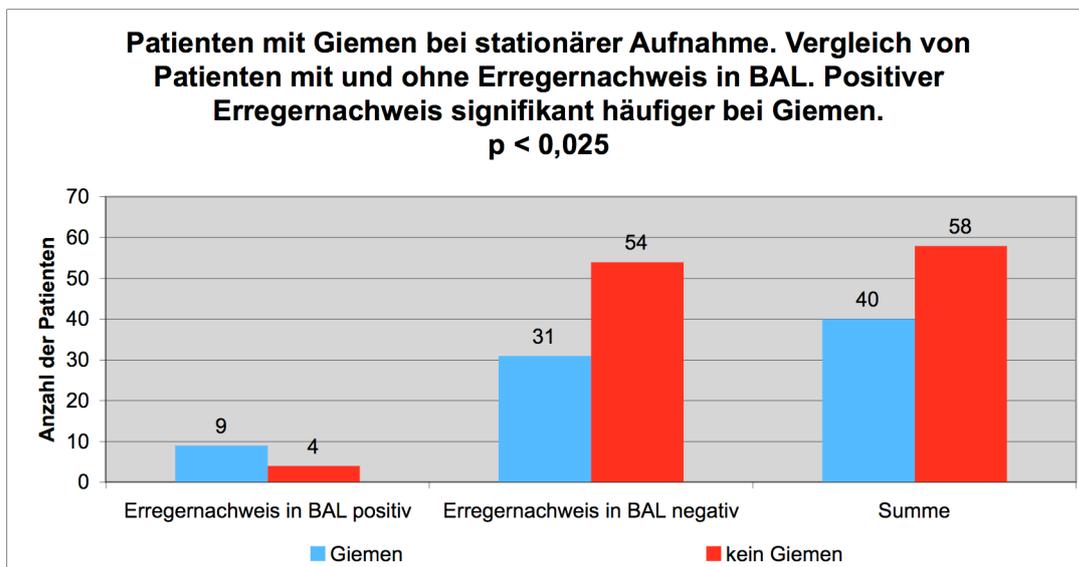


Abbildung 10: Anzahl der Patienten mit Giemen bei stationärer Aufnahme in Abhängigkeit vom Erregernachweis in der BAL mit potentiell besonderen therapeutischen Konsequenzen.

4.4 Laborchemische Merkmale

Der Blut-pH-Wert lag im Median bei 7,399. Der niedrigste pH-Wert betrug 7,23. Der höchste Wert lag bei 7,48.

Der niedrigste pCO₂ betrug 28,9 mmHg, der höchste 59 mmHg. Im Median lag der pCO₂ bei 38,25 mmHg.

Das CRP in den ersten 24 Stunden nach stationärer Aufnahme betrug im Median 1,87 mg/l. Der höchste und niedrigste Wert betrug 0,9 mg/l und 78,4 mg/l. Abbildung 11 setzt die höchsten, innerhalb der ersten 24 Stunden gemessenen CRP-Werte in Bezug zu den in der BAL nachgewiesenen Erregern, wobei keine Differenzierung dahingehend erfolgte, ob Erreger mit oder ohne potentiell besondere therapeutische Konsequenzen nachgewiesen wurden. Bei der statistischen Auswertung zeigte sich ein hoch-signifikanter Zusammenhang ($p < 0,011$) zwischen der Höhe des CRP-Wertes in den ersten 24 Stunden nach stationärer Aufnahme und dem positivem Erregernachweis.

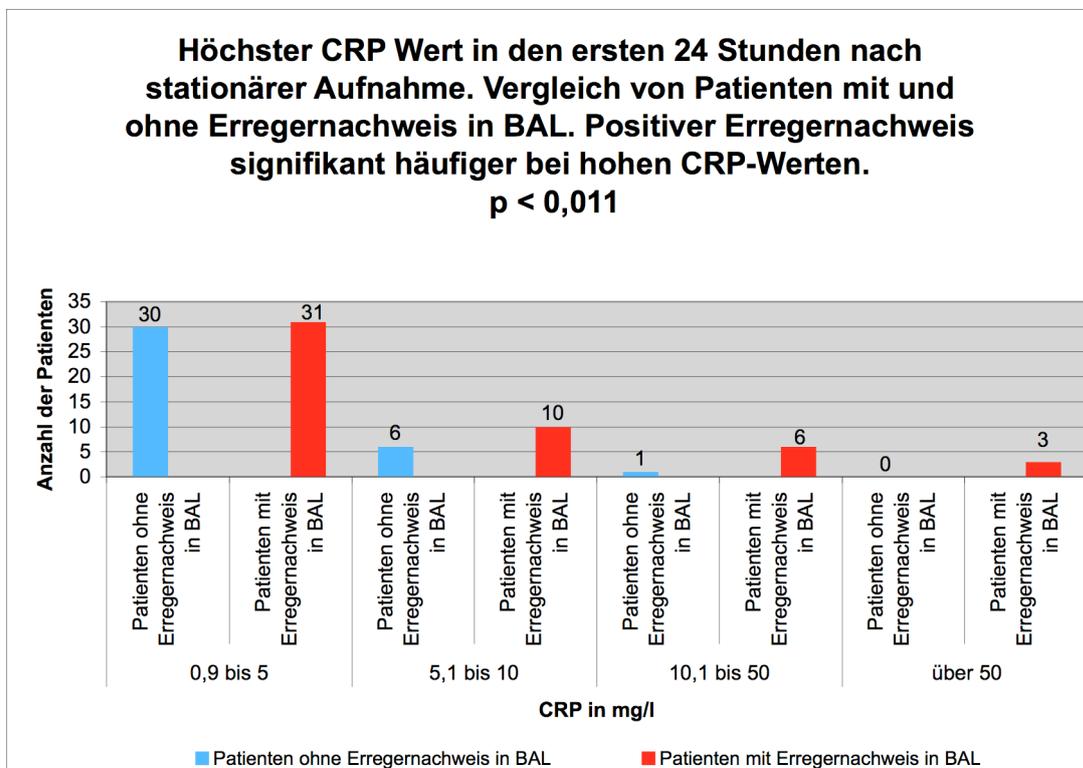


Abbildung 11: Höchste CRP-Werte innerhalb der ersten 24 Stunden nach stationärer Aufnahme. Vergleich von Patienten mit und ohne Erregernachweis in der BAL. Es erfolgte keine Differenzierung dahingehend, ob Erreger mit oder ohne potentiell besondere therapeutische Konsequenzen nachgewiesen wurden.

Das mittlere CRP während des gesamten stationären Aufenthaltes betrug im Median 2 mg/l. Der niedrigste Wert wurde mit 1 mg/l gemessen. Der höchste Wert betrug 78,4 mg/l. Bei der statistischen Auswertung zeigte sich ein hochsignifikanter Zusammenhang ($p < 0,009$) zwischen der Höhe des CRP-Wertes während des gesamten stationären Aufenthaltes und dem positivem Erregernachweis, wobei keine Differenzierung dahingehend erfolgte, ob Erreger mit oder ohne potentiell besondere therapeutische Konsequenzen nachgewiesen wurden (Abbildung 12).

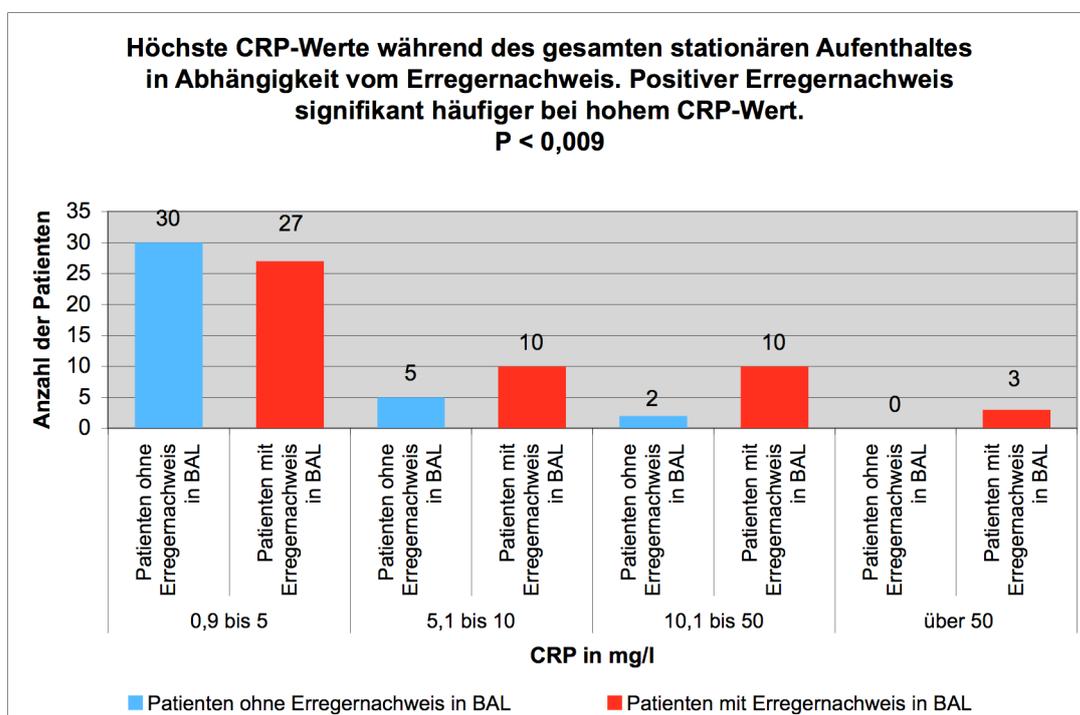


Abbildung 12: Höchste CRP-Werte während des gesamten stationären Aufenthaltes. Vergleich von Patienten mit und ohne Erregernachweis in der BAL. Es erfolgte keine Differenzierung dahingehend, ob Erreger mit oder ohne potentiell besondere therapeutische Konsequenzen nachgewiesen wurden.

Demgegenüber stellt Abbildung 13 die während des stationären Aufenthaltes gemessenen CRP-Werte in Bezug zu den nachgewiesenen Erregern dar, im Unterschied zu Abbildung 12 jedoch bezogen auf Erreger mit potentiell besonderen therapeutischen Konsequenzen. Bei der statistischen Auswertung zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang ($p < 0,042$) zwischen dem während des gesamten stationären Aufenthaltes höchsten gemessenen CRP-Wertes und dem positivem Erregernachweis.

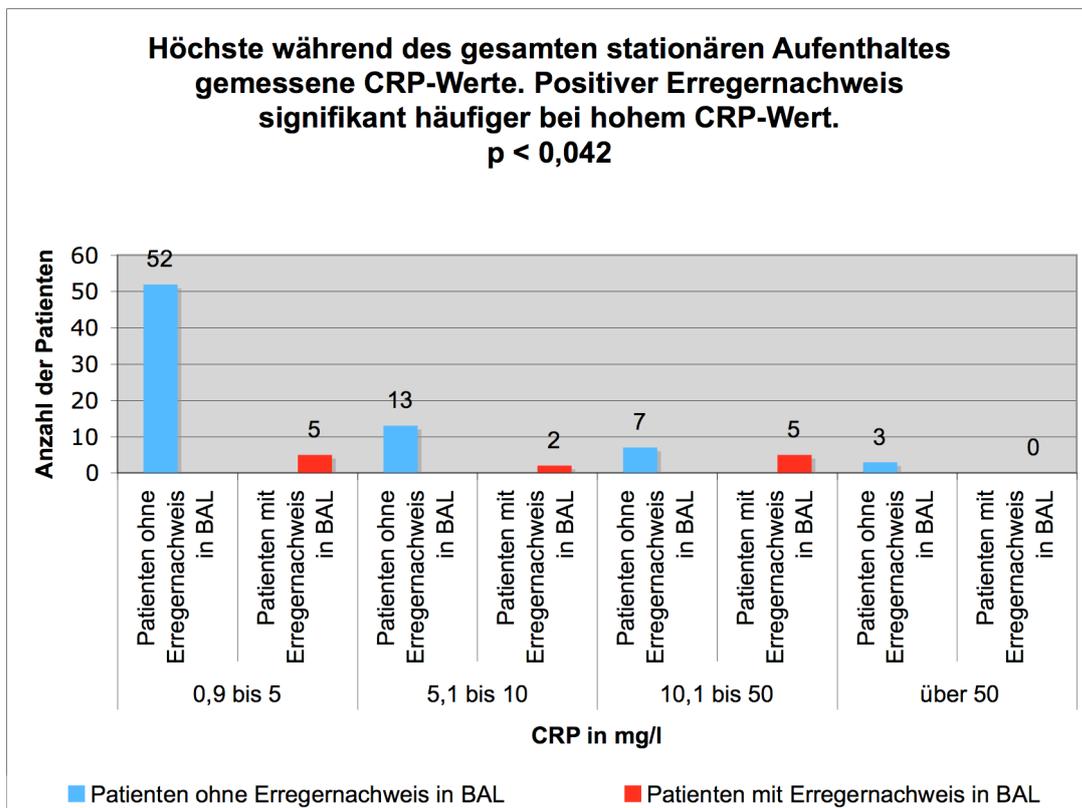


Abbildung 13: Höchste CRP-Werte während des gesamten stationären Aufenthaltes. Vergleich von Patienten mit und ohne Erregernachweis in der BAL, jeweils bezogen auf Erreger mit potentiell besonderen therapeutischen Konsequenzen.

Die Zusammenfassung der Differentialblutbilder stellt sich folgendermaßen dar (Tabelle 4.1):

| | Median | Höchster Wert | Niedrigster Wert |
|-----------------------------------------|---------------|----------------------|-------------------------|
| Leukozyten Tsd/μl | 10,4 | 25,8 | 1,6 |
| Stabkernige in % | 0 | 15 | 0 |
| Segmentkernige in % | 38 | 79 | 7 |
| Lymphozyten in % | 54 | 88 | 12 |
| Monozyten in % | 4 | 15 | 0 |
| Basophile in % | 0 | 2 | 0 |
| Eosinophile in % | 2 | 8 | 0 |
| Atypische in % | 0 | 3 | 0 |
| Lymphatische Reizform in % | 0 | 9 | 0 |

Tabelle 4.1: Differentialblutbild-Wert: Median, höchster und niedrigster Wert.

Abbildung 14 stellt im Detail die Anzahl der Leukozyten im Differentialblutbild in Bezug zur Patientenanzahl dar. Dabei werden Patienten mit Erregernachweis in der BAL mit Patienten ohne Erregernachweis in der BAL verglichen, es erfolgt dabei keine Differenzierung dahingehend, ob Erreger mit oder ohne potentiell besondere therapeutische Konsequenzen nachgewiesen wurden. Bei der statistischen Auswertung zeigte sich ein deutlich signifikanter Zusammenhang ($p < 0,011$) zwischen der Höhe der Leukozyten und dem positiven Erregernachweis.

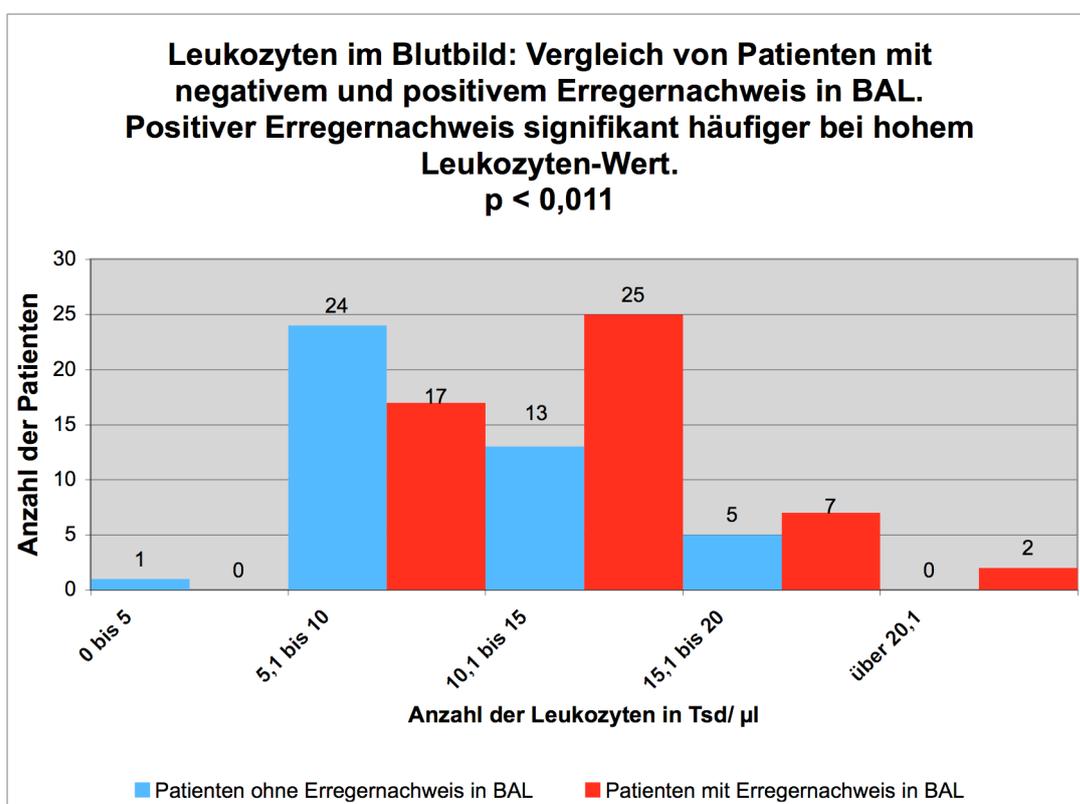


Abbildung 14: Leukozyten im Blutbild: Vergleich von Patienten mit negativem und positivem Erregernachweis in der BAL. Es erfolgte keine Differenzierung dahingehend, ob Erreger mit oder ohne potentiell besondere therapeutische Konsequenzen nachgewiesen wurden.

Abbildung 15 stellt die Höhe der Monozyten in Bezug zum positiven Erregernachweis in der BAL dar. Bei der statistischen Auswertung zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang ($p < 0,05$) zwischen der Höhe der Monozyten und dem positivem Erregernachweis, wobei keine Differenzierung dahingehend erfolgte, ob Erreger mit oder ohne potentiell besondere therapeutische Konsequenzen nachgewiesen wurden.

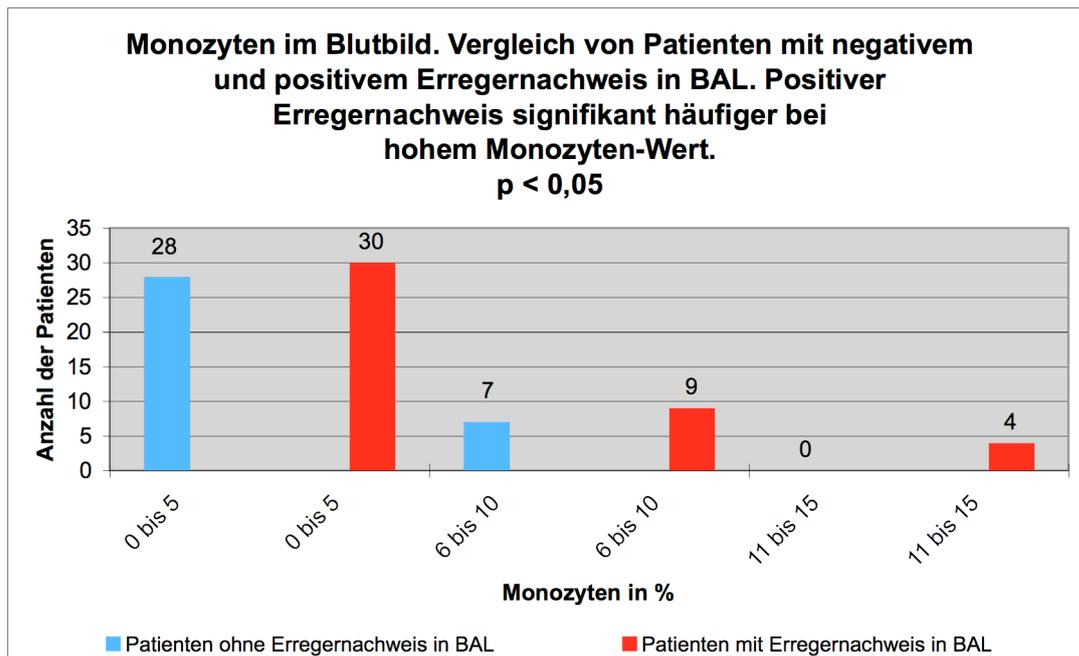


Abbildung 15: Monozyten im Blutbild: Vergleich von Patienten mit negativem und positivem Erregernachweis in der BAL. Es erfolgte keine Differenzierung dahingehend, ob Erreger mit oder ohne potentiell besondere therapeutische Konsequenzen nachgewiesen wurden.

Bei 80 Patienten wurde das Serum IgE bestimmt, wobei es bei 20 Patienten erhöht war.

Spezifische IgE-Antikörper wurden bei 40 Patienten bestimmt – bei 3 von ihnen waren spezifische IgE-Antikörper nachweisbar.

Ein Pricktest wurde bei 48 Patienten durchgeführt, wobei sich bei 8 von ihnen ein positiver Befund erheben ließ.

4.5 Radiologische Befunde

Bei 58 der Patienten wurde eine Thorax-Röntgenaufnahme angefertigt. Bei 31 von Ihnen wurden dabei Bronchialwandverdickungen im Sinne einer Peribronchitis diagnostiziert. Lobär-/Segmentinfiltrate waren dagegen nur bei 3 Patienten radiologisch zu sehen, bei 2 von den 3 Patienten war ein Lappen, bei einem Patienten waren 2 Lappen betroffen. Dagegen waren bei 2 Patienten beidseitige diffuse, atypische Infiltrate nachgewiesen worden. Eine Bronchopneumonie oder zentrale Pneumonie ließ sich bei 17 Patienten radiologisch nachweisen.

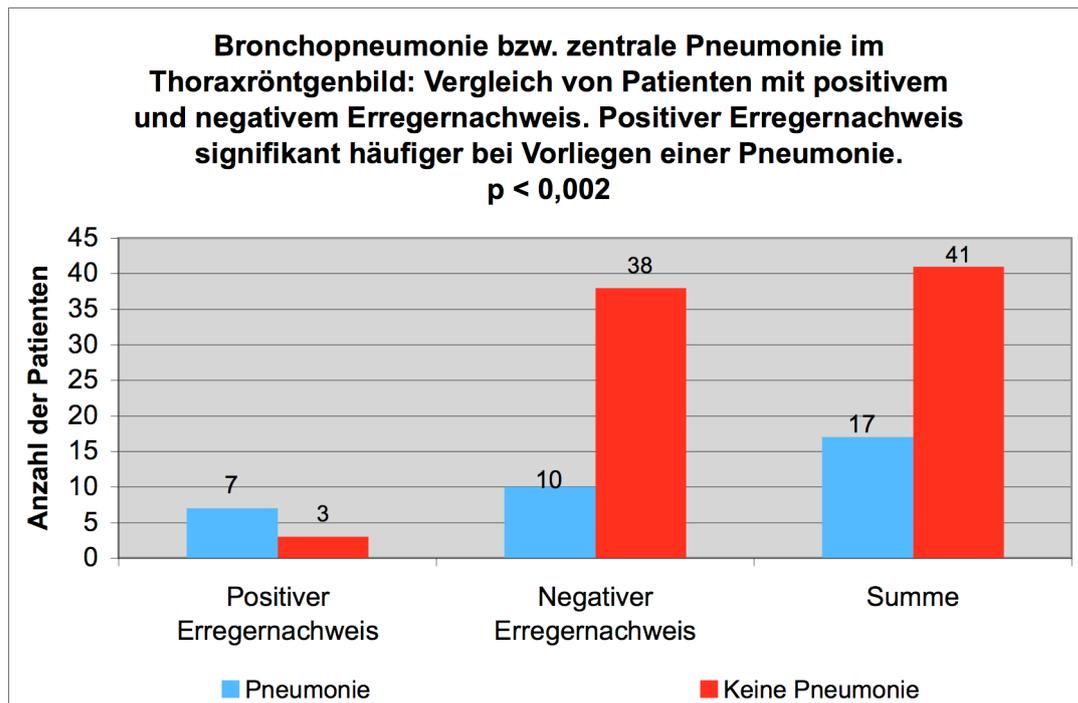


Abbildung 16: Bronchopneumonie bzw. zentrale Pneumonie, diagnostiziert im Thorax-Röntgenbild: Vergleich von Patienten mit und ohne Erregernachweis in der BAL, jeweils bezogen auf Erreger mit potentiell besonderen therapeutischen Konsequenzen.

Abbildung 16 stellt die Anzahl der Patienten mit positivem und negativem Erregernachweisen in der BAL aufgeschlüsselt in Bezug auf das Vorliegen einer Bronchopneumonie bzw. zentralen Pneumonie dar. Dabei werden Patienten mit und ohne Erregernachweis in der BAL verglichen, jeweils aber in Bezug auf Erreger, die potentiell besondere therapeutische Konsequenzen zur Folge hatten. Bei der statistischen Auswertung zeigte sich ein hochsignifikanter Zusammenhang ($p < 0,002$) zwischen dem Vorliegen einer Bronchopneumonie bzw. zentraler Pneumonie und dem positivem Erregernachweis.

Bei 40 Patienten war radiologisch eine Überblähung nachweisbar.

A- oder Dystelektasen waren bei 14 Patienten diagnostiziert worden (siehe Abbildung 17). Bei 5 von diesen 14 Patienten konnten mit Hilfe der PCR und/oder bakteriologischer Kultur ein oder mehrere Erreger nachgewiesen werden, die potentiell besondere therapeutische Konsequenzen zur Folge hatten. Bei 9 von diesen 14 Patienten gelang kein Erregernachweis. Bei 5 von den 44 Patienten, bei denen keine A- oder Dystelektasen diagnostiziert worden waren, konnten Erreger nachgewiesen werden, die potentiell besondere therapeutische Konsequenzen zur Folge hatten. In der BAL der übrigen 39 Patienten konnten keine Erreger nachgewiesen werden. Im Rahmen der statistischen Auswertung zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang ($p < 0,036$) zwischen dem Vorliegen von A- oder Dystelektasen und dem positivem Erregernachweis.

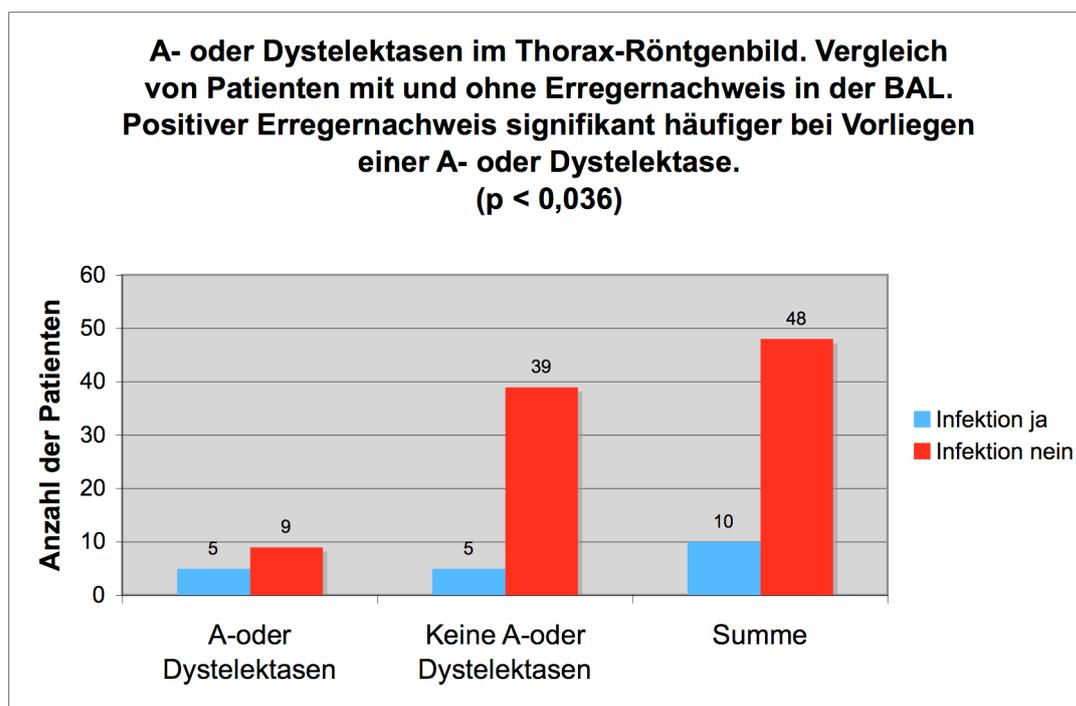


Abbildung 17: A- oder Dystelektasen im Thorax-Röntgenbild. Vergleich von Patienten mit und ohne Erregernachweis in der BAL, jeweils bezogen auf Erreger mit potentiell besonderen therapeutischen Konsequenzen.

Weder ein Pleuraerguss noch ein Intraseptalerguss ließ sich bei den Patienten radiologisch sichern.

Hiläre Lymphknoten waren bei keinem Patienten im Röntgenbild vergrößert zu sehen.

4.6 Ergebnisse der Bronchoskopie

Bei der Durchführung der Bronchoskopie konnten bei 20 Patienten anatomische Stenosen im Bereich des Bronchialsystems ausgemacht werden. Bei 12 Patienten zeigte sich eine Hauptbronchusstenose, bei 6 Patienten eine Tracheomalazie und bei 2 Patienten eine Bronchomalazie. Bei welchen dieser Patienten ein Erregernachweis mittels Kultur und/oder PCR gelang, zeigt Tabelle 4.2.

| | Patienten mit positivem Erregernachweis in Kultur und/oder PCR in BAL | Davon: Patienten mit Erregernachweis mit potentiell besonderen therapeutischen Konsequenzen | Patienten ohne Erregernachweis in BAL | Summe |
|----------------------|-----------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|-------|
| Hauptbronchusstenose | 6 | 2 | 6 | 12 |
| Tracheomalazie | 5 | 1 | 1 | 6 |
| Bronchomalazie | 1 | 0 | 1 | 2 |
| Summe | 12 | 3 | 8 | 20 |

Tabelle 4.2: Stenosen im Bereich des Bronchialsystems mit Ergebnissen der Kultur und/oder PCR

In der statistischen Auswertung konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer anatomischen Stenose bzw. einer Malazie (unabhängig von der Lokalisation) und dem Nachweis von Erregern in der BAL nachgewiesen werden – weder für Erreger mit potentiell besonderen therapeutischen noch für Erreger ohne potentiell besondere therapeutische Konsequenzen.

4.7 Ergebnisse der PCR und der Kultur aus der BAL

Die in der BAL nachgewiesenen Erreger sind in Tabelle 4.3 (für PCR) und Tabelle 4.4 (für die bakteriologische Kultur) dargestellt.

| Nachweisverfahren | Erreger | Anzahl der positiven Erregernachweise |
|----------------------|-----------------------------|---------------------------------------|
| PCR | Cytomegalievirus | 10 |
| PCR | Epstein-Barr-Virus | 4 |
| Multiplex-PCR | Adenoviren | 10 |
| | Chlamydia pneumoniae | 0 |
| | Enteroviren | 8 |
| | Influenza A Virus | 3 |
| | Influenza B Virus | 0 |
| | Mycoplasma pneumoniae | 2 |
| | Parainfluenzavirus 1 | 2 |
| | Parainfluenzavirus 3 | 2 |
| | Respiratory-Syncytial-Virus | 1 |
| | Bordetella parapertussis | 1 |
| | Bordetella pertussis | 0 |
| | Legionella pneumophila | 0 |
| | Metapneumovirus | 0 |
| | Parainfluenzavirus 2 | 2 |
| | Parainfluenzavirus 4 | 0 |
| | Rhinoviren | 9 |
| | Coronaviren | 0 |
| | Reoviren | 0 |
| Summe | 54 | |

Tabelle 4.3: Ergebnisse der PCR-Untersuchungen

| Nachweisverfahren | Erreger | Anzahl der positiven Erregernachweise |
|-------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|
| Kultur | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 4 |
| | <i>Escherichia coli</i> | 2 |
| | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 5 |
| | Vergrünende Streptokokken | 4 |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | 4 |
| | <i>Haemophilus influenza</i> | 9 |
| | <i>Moraxella catarrhalis</i> | 4 |
| | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | 1 |
| | <i>Haemophilus parainfluenzae</i> | 1 |
| | Summe | 34 |

Tabelle 4.4: Ergebnisse der mikrobiologischen Kulturen

Während des Zeitraumes, in dem die gewonnene Flüssigkeit aus der bronchoalveolären Lavage mit Hilfe der Multiplex-PCR untersucht wurde, erweiterte sich aufgrund technischer Fortschritte das Spektrum der mit Hilfe einer Multiplex-PCR nachweisbaren Erreger ständig. So wurde im Rahmen der Multiplex-PCR das Lavagematerial zunächst auf lediglich 9 Erreger²¹ hin untersucht. Später wurde dies Verfahren erst um 7 weitere Erreger²² und abschließend noch einmal um 2 weitere Erreger²³ ergänzt. 42 der 54 Infektionen konnten mit Hilfe der Multiplex-PCR nachgewiesen werden, die das Lavagematerial auf 9 Erreger hin untersucht hat. 12 der 54 Infektionen wurden mit der um 7 Erreger erweiterten Multiplex-PCR nachgewiesen werden. Die

²¹ Adenoviren, *Chlamydia pneumoniae*, Enteroviren, Influenza Virus A, Influenza Virus B, *Mycoplasma pneumoniae*, Parainfluenza Virus 1, Parainfluenza Virus 3, RSV.

²² *Bordetella parapertussis*, *Bordetella pertussis*, *Legionella pneumophila*, Metapneumovirus, Parainfluenza 2, Parainfluenza 4, Rhinoviren.

²³ Coronaviren, Reoviren.

Ausweitung des Erregerspektrums um weitere 2 Erreger erbrachte keinen weiteren Erregernachweis.

Insgesamt gelangen mit Hilfe der PCR 54 Erregernachweise (Tabelle 4.3, Abbildung 18), wobei es auch zu mehreren Erregernachweisen in einer BAL-Probe kam: In der BAL von 9 Patienten wurden im Rahmen der PCR zwei verschiedene Erreger nachgewiesen. In der BAL von einem Patienten wurde im Rahmen der PCR sogar 7 verschiedene Erreger nachgewiesen.

Somit gelangen bei 39% der Patienten mit Hilfe der PCR ein oder mehrere Erregernachweise (siehe Abbildung 18).

Bei 13 Patienten konnten mit Hilfe der PCR Erreger nachgewiesen werden, die potentiell eine besondere therapeutische Konsequenz hatten: *Mycoplasma pneumoniae* (2 Patienten) mit nachfolgender antibiotischer Therapie, Influenza A (3 Patienten) und B (0 Patienten) mit einer potentiellen Amantadinbehandlung als Therapieoption, CMV (10 Patienten) mit einer Ganciclovir-Behandlung als Therapieoption, wobei bei einem Patienten CMV und Influenza A sowie bei einem anderen Patienten *Mycoplasma pneumoniae* und Influenza A gleichzeitig nachgewiesen worden sind. *Chlamydia pneumoniae* konnte bei keinem der Patienten nachgewiesen werden.

Ergebnisse der 54 PCR-Untersuchungen mit positiven Erregernachweisen

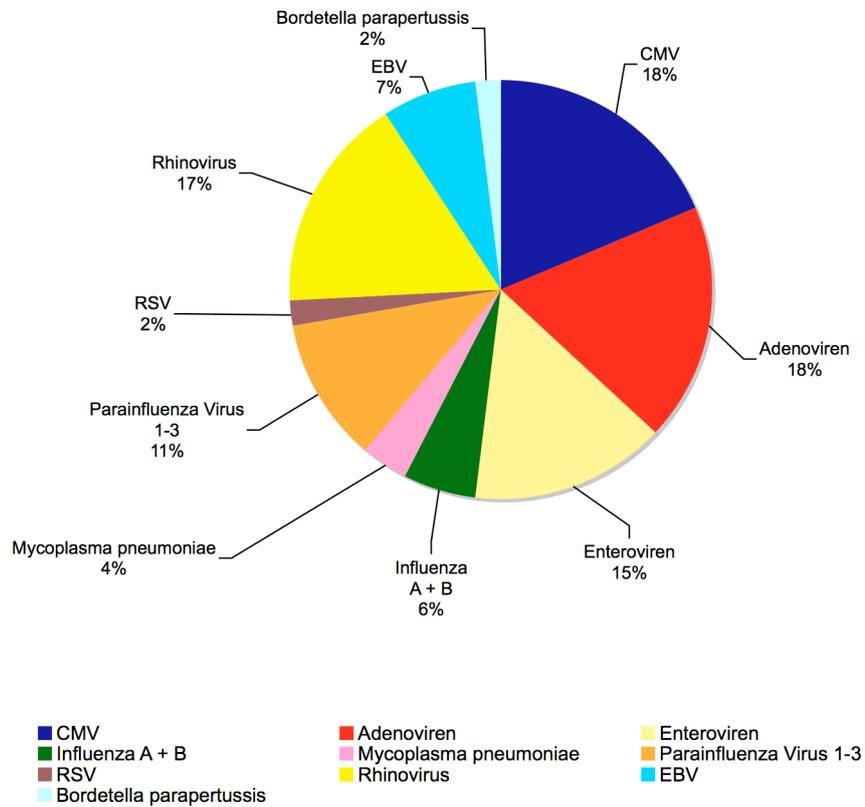


Abbildung 18: Prozentuale Verteilung der mit den PCR nachgewiesenen Erreger, unabhängig von potentiellen therapeutischen Konsequenzen.

Mit Hilfe der Kultur gelangen 34 Erregernachweise (Tabelle 4.4, Abbildung 19), wobei es auch hier bei einigen Patienten zu mehreren Erregernachweisen innerhalb einer BAL-Probe kam: Bei 8 Patienten wurden mit Hilfe der Kultur 2, bei 2 Patienten wurden 3 und bei einem Patient wurden 4 verschiedene Erreger nachgewiesen. Dies berücksichtigend wurden bei 19,4% der Patienten durch die Kultur Erreger nachgewiesen.

Durch das vereinzelte Vorkommen von mehreren Erregern innerhalb einer BAL-Probe ergibt sich ein Anteil von 53% der Patienten, bei denen mit PCR-Analysen und/oder Kultur ein Erregernachweis gelang.

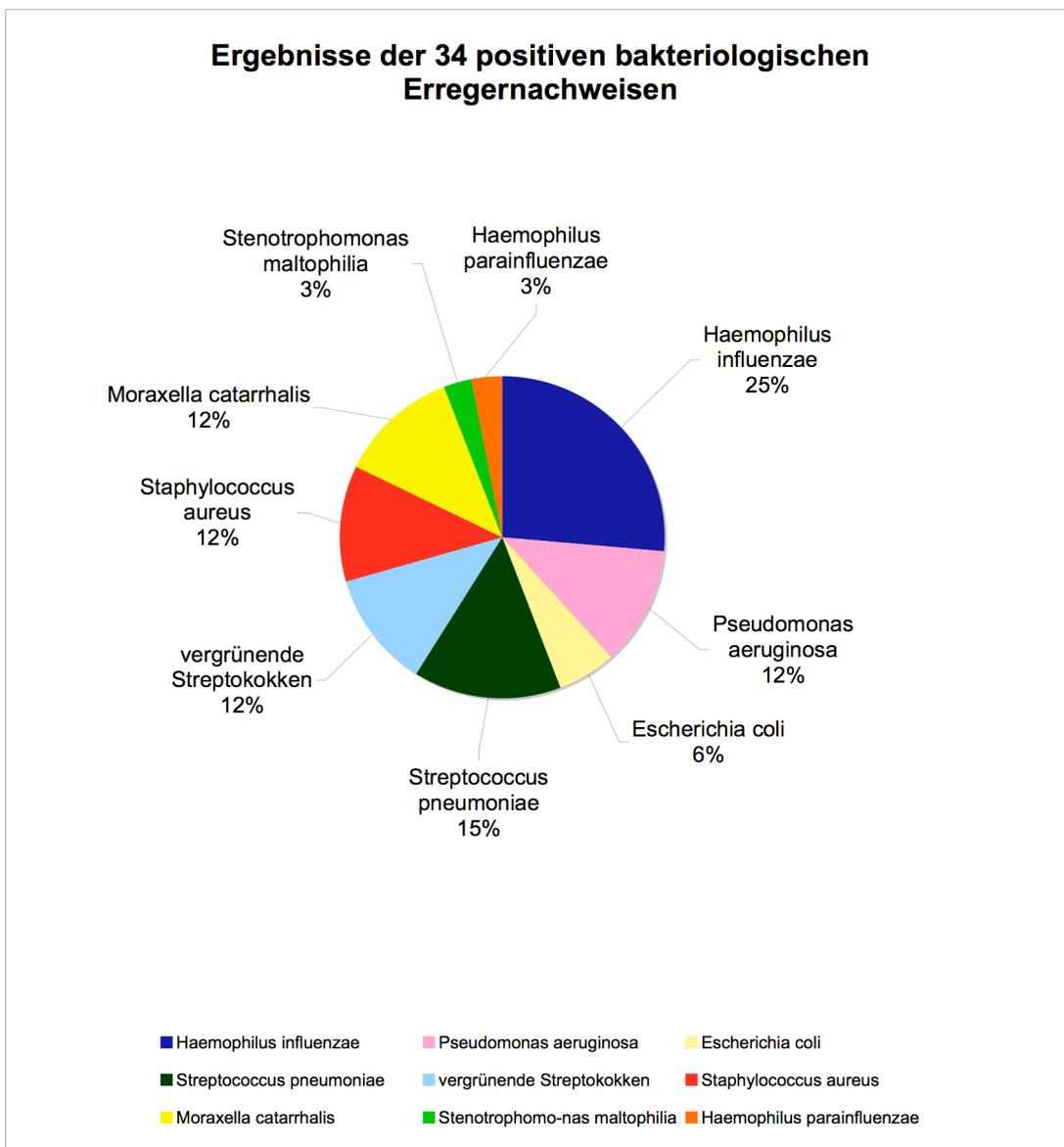


Abbildung 19: Prozentuale Verteilung der mit den bakteriologischen Kulturen nachgewiesenen Erreger, unabhängig von potentiellen therapeutischen Konsequenzen.

4.8 Ergebnisse der Bewertung mikrobiologischer Keimnachweise

Nachfolgend werden die Interpretationsergebnisse der nachgewiesenen Erreger (siehe Tabelle 4.3 und 4.4) dargestellt. Keiner der hier genannten Erreger gehört zur physiologischen Standortflora des tiefen bronchoalveolären Systems.

Wurden folgende Erreger in geringer Keimmenge in der BAL nachgewiesen, so war eine Kontamination des Lavage-Materials durch Verschleppung mit dem Bronchoskop vom Nasen-/Rachen/Kehlkopfbereich ausgehend wahrscheinlich. Es wurde in dem Fall nicht von einer klinisch relevanten Infektion ausgegangen. Wurden diese Erreger jedoch in großen Mengen nachgewiesen, so wurde von einer klinisch relevanten Infektion ausgegangen.

War nur eine geringe Keimmenge dieser Erreger nachgewiesen worden und sprachen die laborchemischen Parameter und das klinische Gesamtbild des Patienten jedoch gegen eine Kontamination, so musste der Erregernachweis ggf. neu und als klinisch relevante Infektion beurteilt werden.

- *Haemophilus influenza*
- *Haemophilus parainfluenzae*
- *Moraxella catarrhalis*
- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Escherichia coli*

Waren folgende Erreger nachgewiesen, so wurde unabhängig von der nachgewiesenen Keimmenge von einer klinisch relevanten Infektion ausgegangen.

- Cytomegalievirus
- Epstein-Barr-Virus
- Adenoviren
- Enteroviren
- Influenza A Virus
- *Mycoplasma pneumoniae*

- Chlamydia pneumoniae
- Parainfluenzavirus 1-4
- Respiratory-Syncytial-Virus
- Rhinoviren
- Pseudomonas aeruginosa
- Stenotrophomonas maltophilia
- Bordetella pertussis/parapertussis

Vergrünende Streptokokken wurden unabhängig von der nachgewiesenen Keimmenge als Kontamination der bronchoalveolären Lavage durch Verschleppung der physiologischen Standortflora der Schleimhäute mit dem Bronchoskop gewertet.

4.9 Ergebnisse der BAL-Differentialzytologie

Die in der BAL gemessenen Makrophagen betragen im Median 82,65%, im Maximum 97,3%, das Minimum betrug 2,3%. Die Lymphozyten waren im Median mit 8,15%, im Maximum mit 47% und im Minimum mit 0,3% nachweisbar. Die neutrophilen Granulozyten betragen im Median 4,3%, im Maximum 96% und im Minimum 0%. Die eosinophilen Granulozyten betragen im Median ebenso wie im Minimum 0%, im Maximum betragen sie 6%. (Siehe Tabelle 4.5)

| | Minimum | Maximum | Median |
|---------------------------------|----------------|----------------|---------------|
| Makrophagen | 2,3% | 97,3%, | 82,65% |
| Lymphozyten | 0,3% | 47% | 8,15% |
| Neutrophile Granulozyten | 0% | 96% | 4,3% |
| Eosinophile Granulozyten | 0% | 6% | 0% |

Tabelle 4.5: Ergebnisse der BAL-Differentialzytologie

Abbildung 20 stellt im Detail die Anzahl der neutrophilen Granulozyten in der BAL in Bezug zur Patientenanzahl dar. Es werden Patienten mit Erregernachweis in der BAL mit Patienten ohne Erregernachweis in der BAL verglichen. In Gegenüberstellung zu Abbildung 21 erfolgt hier keine Differenzierung dahingehend, ob Erreger mit oder ohne potentiell besondere therapeutische Konsequenzen nachgewiesen wurden. Im Rahmen der statistischen Auswertung zeigte sich ein hoch-signifikanter Zusammenhang ($p < 0,001$) zwischen der Höhe der neutrophilen Granulozyten in der BAL und dem positivem Erregernachweis.

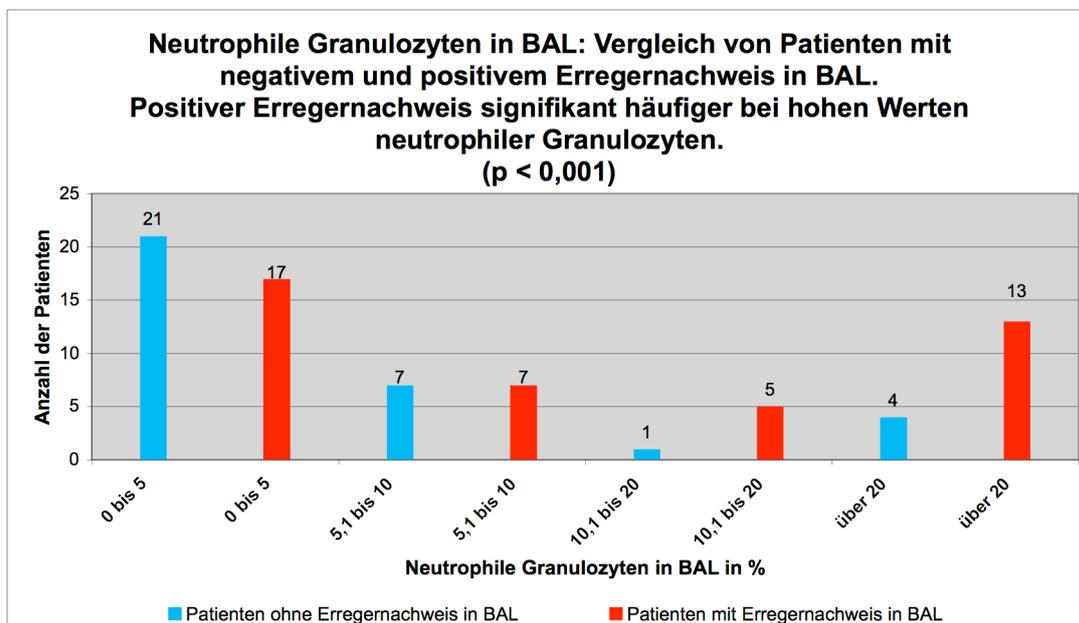


Abbildung 20: Neutrophile Granulozyten in der BAL: Vergleich von Patienten mit negativem und positivem Erregernachweis in der BAL. Es erfolgte keine Differenzierung dahingehend, ob Erreger mit oder ohne potentiell besondere therapeutische Konsequenzen nachgewiesen wurden.

Abbildung 21 stellt im Detail die Anzahl der neutrophilen Granulozyten in der BAL in Bezug zur Patientenanzahl dar. Dabei werden Patienten mit und ohne Erregernachweis in der BAL verglichen, jeweils mit Bezug auf Erreger, mit potentiell besonderen therapeutischen Konsequenzen. In der statistischen Auswertung konnte ein signifikanter Zusammenhang ($p < 0,038$) nachgewiesen werden zwischen der Höhe der neutrophilen Granulozyten in der BAL und dem positiven Erregernachweis in der BAL.

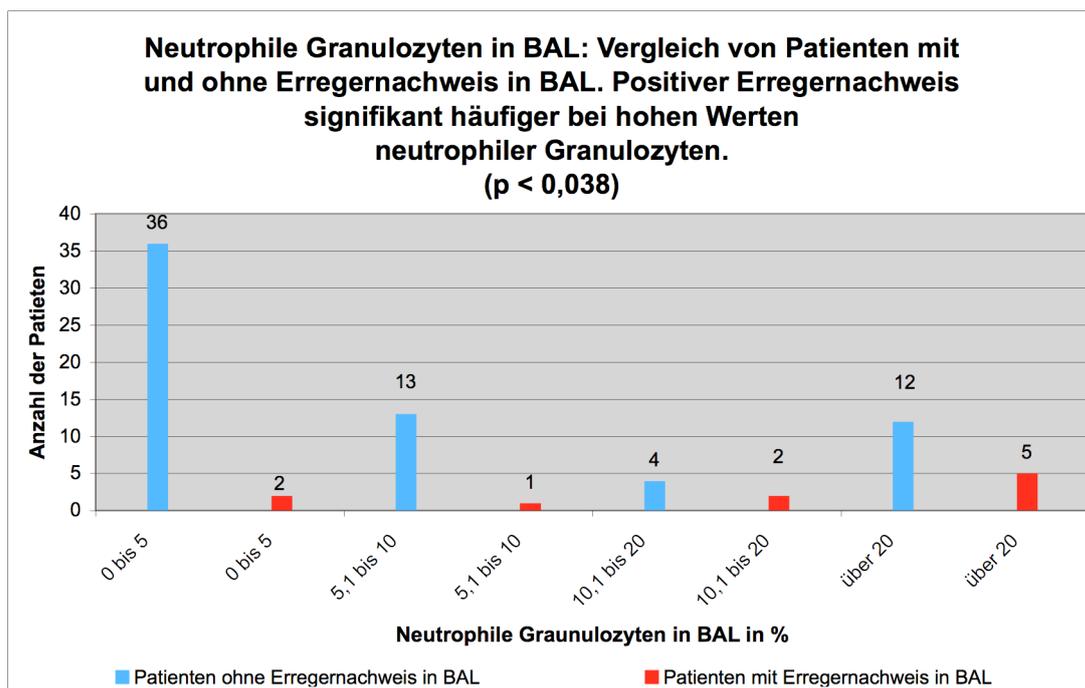


Abbildung 21: Neutrophile Granulozyten in der BAL: Vergleich von Patienten mit und ohne Erregernachweis in der BAL, jeweils bezogen auf Erreger mit potentiell besonderen therapeutischen Konsequenzen.

4.10 Zusammenhang zwischen erhobenen Daten und Kultur-/PCR-Ergebnissen

Bei der statistischen Auswertung der anamnestischen, klinischen, radiologischen und laborchemischen Merkmale zeigten sich Zusammenhänge mit den Kultur- und PCR-Ergebnissen: Zum einen ergaben sich signifikante p-Werte bei der Betrachtung der einzelnen Merkmale und einem positiven Kultur- und/oder PCR-Ergebnis:

| | |
|--------------------------------------------------------------|---------------|
| Jüngerer Alter des Patienten | (p < 0,004) |
| Obstruktive Symptome (Giemen) bei Aufnahme | (p < 0.005) |
| Kurzatmigkeit in der Anamnese | (p < 0,042) |
| Höhe der Körpertemperatur in den ersten 24h nach Aufnahme | (p < 0,045) |
| Fehlende Hinweise für eine atopische Erkrankung | (p < 0,00001) |
| Zahl der neutrophilen Granulozyten in BAL | (p < 0.001) |
| Zahl der Leukozyten im Blutbild | (p < 0.011) |
| Zahl der Monozyten im Blutbild | (p < 0,05) |
| Höhe des CRP-Wertes innerhalb der ersten 24h nach Aufnahme | (p < 0.011) |
| Höhe des CRP-Wertes während d. ges. stationären Aufenthaltes | (p < 0,009) |

Zum anderen ergaben sich signifikante p-Werte bei der Betrachtung der einzelnen Merkmale und einem positiven Erregernachweis, welcher potentiell eine besondere therapeutische Konsequenz in Form einer erregerspezifischen medikamentösen Behandlung (CMV, Mycoplasma pneumoniae und Chlamydia pneumoniae sowie Influenza) nach sich ziehen könnte:

| | |
|--------------------------------------------------------------|-------------|
| Obstruktives Giemen bei Aufnahme | (p < 0.025) |
| Intercostale Einziehungen bei Aufnahme | (p < 0,041) |
| A- oder Dystelektasen im Thoraxröntgen | (p < 0.036) |
| Pneumonie im Thoraxröntgen | (p < 0.002) |
| Zahl der neutrophilen Granulozyten in BAL | (p < 0.038) |
| Höhe des CRP-Wertes während d. ges. stationären Aufenthaltes | (p < 0,042) |

5 Diskussion

Die große Zahl pädiatrischer Patienten mit chronisch-obstruktiver Beschwerdesymptomatik stellt eine therapeutische Herausforderung im ambulanten wie im klinischen Bereich dar. Wie in der Einleitung dieser Arbeit detailliert beschrieben, wird bei diesen Patienten eine den Beschwerden entsprechende Diagnostik durchgeführt. Lässt sich hierbei keine Diagnose stellen, wird eine Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage (BAL) durchgeführt, um eine anatomische Störung oder eine chronische Infektion als Ursache für die Beschwerden auszuschließen. Im Rahmen der BAL wird peripheres Sekret gewonnen, das anschließend mikrobiologisch aufbereitet und untersucht wird. Die mikrobiologische Auswertung erfolgt mit Hilfe von bakteriologischen Kulturen und evtl. auch einer Polymerase-Kettenreaktionen (PCR).

Eine Untersuchung, inwieweit diese Analyse der BAL, insbesondere der Einsatz der PCR, einen diagnostischen und therapeutischen Gewinn in dieser Patientengruppe bedeutet, fehlt bislang. Da dieses Vorgehen für den Patienten eine – wenngleich geringe – Belastung darstellt und zudem hohe Kosten verursacht, ist es aus medizinischer Sicht für die Patienten und aus finanzieller Sicht für das Gesundheitssystem wichtig, Antworten auf die im Kapitel „Arbeitshypothese und Fragestellung“ genannten Fragen zu finden.

Hierfür wurde mit Hilfe von den im Kapitel „Material und Methoden“ definierten Kriterien ein Patientenkollektiv gebildet, bei dem eine Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage und anschließender mikrobiologischer Untersuchung des Lavage-Materials durchgeführt wurde. Es wurden Merkmale aus der Patienten-, Familien- und Sozialanamnese, der körperlichen Untersuchung bei Aufnahme, radiologische Befunde sowie laborchemische Merkmale erhoben. Diese wurden den Ergebnissen der bakteriologischen Kultur und den PCR-Untersuchungen, die im Rahmen der mikrobiologischen Auswertung des Lavage-Materials gewonnen wurden, gegenübergestellt und bilden die Grundlage für die statistische Auswertung. Die statistische Auswertung sollte zwei grundlegende Fragen beantworten: Zum einen, ob mit Hilfe der erhobenen anamnestischen, klinischen, radiologischen und laborchemischen Merkmalen positive Erregernachweise in der bakteriologischen Kultur und/oder PCR vorhersagbar sind. Zum anderen, ob mit Hilfe der gleichen

Merkmale jenseits der klassischen Bakterien Nachweise von Erregern mit potentiell besonderen therapeutischen Konsequenzen (CMV, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia pneumoniae bzw. Influenza A und/oder B) vorher-sagbar sind. Als Erreger mit potentiell besonderen therapeutischen Konsequenzen wurden nur all jene eingestuft,

- die mit Hilfe der PCR nachgewiesen werden konnten,
- deren Nachweis die Beschwerdesymptomatik der Patienten hinreichend erklären konnten
- und deren Nachweis evtl. eine – nach sorgfältiger Risiko-Nutzen-Abwägung und auf das pädiatrische Patienten Klientel abgestimmte – erregerspezifische medikamentöse Therapie zur Folge haben konnte.

Nachfolgend wird dargelegt, warum lediglich CMV, Mycoplasma pneumoniae und Chlamydia pneumoniae sowie Influenza A und B zu den Erregern mit erregerspezifischen medikamentösen Konsequenzen gezählt werden:

Für die folgenden, mit Hilfe der PCR nachgewiesenen Erreger steht keine erregerspezifische medikamentöse Therapie zur Verfügung, weshalb sie nicht zu der Gruppe jener Erreger gezählt werden konnten, die solche potentiell besonderen therapeutischen Konsequenzen hatten: EBV, Parainfluenza-Viren 1-4, Metapneumoviren, Enteroviren, Rhinoviren.

Eine weitere Gruppe stellt jene Erreger dar, für die – wie im Kapitel „Einleitung“ dargelegt – theoretisch eine Therapie zur Verfügung steht. Die Anwendung dieser Therapien war in der Praxis aber angesichts möglicher schwerer Nebenwirkungen und aufgrund des pädiatrischen Patienten Klientels – zudem ohne vitale Gefährdung – nicht indiziert. Zu dieser Gruppe zählen: Adenoviren, RSV und Coronaviren.

Abschließend bleibt noch die Gruppe jener Erreger, für die zum Teil eine dem pädiatrischen Patienten Klientel entsprechend geeignete spezifische Therapie zur Verfügung steht, die Erreger aber die chronische Beschwerdesymptomatik der Patienten nicht hinreichend erklären können: Bordetella parapertussis, Bordetella pertussis, Legionella pneumophila und Reoviren.

Da diese Arbeit u.a. speziell den Nutzen der kostenintensiven PCR-Methodik untersuchen will, wurden Erreger, die mit Hilfe der bakteriologischen Kultur

nachgewiesen wurden, nicht zur Gruppe der Erreger mit potentiell besonderen therapeutischen Konsequenzen gezählt. Dennoch hatte ihr Nachweis natürlich therapeutische Konsequenzen zur Folge.

In der Gesamtschau aller in Frage kommenden, die klinischen Beschwerden erklärenden und bei dem pädiatrischen Patientenkollektiv therapierbaren Erregern, zählen nur CMV, Mycoplasma pneumoniae und Chlamydia pneumoniae sowie Influenza A und B zu jenen Erregern mit potentiell besonderen therapeutischen Konsequenzen.

Bei 53% der Patienten gelangen mit PCR-Analyse und/oder bakteriologischer Kultur ein oder mehrere Erregernachweise: bei 19,4% der Patienten konnten mit Hilfe der bakteriologischen Kultur und bei 39% der Patienten mit Hilfe der PCR Erreger nachgewiesen werden.

Erreger, die potentiell eine besondere erregerspezifisch-medikamentöse Therapie als Konsequenz haben, sind im Rahmen der PCR-Analyse – wie die statistische Auswertung ergeben hat – am ehesten bei Patienten nachweisbar, die durch

- A-/ Dystelektasen oder Pneumonie im Thorax-Röntgenbild
- obstruktives Giemen bei Aufnahme
- intercostale Einziehungen bei Aufnahme
- die Zahl der neutrophilen Granulozyten in BAL
- die Höhe des CRP-Wertes während des stationären Aufenthaltes

auffallen.

Erreger mit potentiell erregerspezifischer medikamentös-therapeutischer Konsequenz konnten mit Hilfe der PCR-Analyse bei 13 Patienten nachgewiesen werden, eine solche Therapie wurde in diesen Fällen jedoch nur bei Mycoplasma pneumoniae-Nachweis durchgeführt. Bei den 10 Patienten mit CMV-Nachweis wurde nach gründlicher Abwägung des Nutzen-Risiko-Verhältnisses zunächst wegen des hohen Nebenwirkungspotentials von Ganciclovir von einer spezifischen Therapie abgesehen. Unter Berücksichtigung der hohen Kosten für die PCR-Analyse einerseits und der geringen An-

zahl von Patienten andererseits, bei denen eine Anpassung der Therapie aus der PCR resultierte, ist der Einsatz der PCR bei Patienten sinnvoll, bei denen pulmonale Symptome zum Aufnahmezeitpunkt (Obstruktion, Dyspnoe, pathologisches Thorax-Röntgenbild), laborchemische Infektzeichen und Anstieg der neutrophilen Granulozyten in der BAL zu beobachten sind.

Aufgrund der Tatsache, dass zum einen allein mit der bakteriologischen Kultur 34 Erregernachweise bei 19,4% der Patienten gelangen und zum anderen, dass die Kultur ein kostengünstiges Verfahren ist, sollte bei jedem Patienten, bei dem eine Bronchoskopie bzw. BAL durchgeführt wird, eine Kultur angelegt werden – insbesondere bei jüngeren Patienten, wenn die Zeichen einer akuten Infektion (laborchemische Infektzeichen, erhöhte neutrophile Granulozyten in der BAL) vorliegen oder über Kurzatmigkeit in der Anamneseerhebung berichtet wird. Bestehen darüber hinaus akute pulmonale Symptome wie Dyspnoe und liegt ein pathologisches Thorax-Röntgenbild vor, ist zudem eine PCR oft weiterführend und deshalb sinnvoll.

Wird die Entscheidung, eine PCR durchzuführen, mit Hilfe dieser statistisch gesicherten Parameter getroffen, so ist folgender Verlauf denkbar: Die anamnestischen, klinischen, laborchemischen und radiologischen Befunde lassen aufgrund der o.g. statistischen Überlegungen erwarten, dass mit Hilfe der PCR ein die klinischen Beschwerden des Kindes erklärender Erreger nachgewiesen werden kann, der eine erregerspezifische medikamentöse Therapie zur Folge hat. Wird dann eine PCR tatsächlich durchgeführt und lässt sich ein solcher Erreger nachweisen, so konnte die PCR ergebnisorientiert und ökonomisch sinnvoll eingesetzt werden. Wird aber entgegen der statistischen Wahrscheinlichkeit ein Erreger nachgewiesen, für den entweder keine medikamentöse Therapie zur Verfügung steht oder die zur Verfügung stehende medikamentöse Therapie kann aufgrund eines unausgeglichene Risiko-Nutzen-Verhältnis nicht zum Einsatz kommen, so besteht dennoch der Vorteil, einen Grund für die klinischen Beschwerden des Kindes gefunden zu haben. So gesehen stellt die PCR auch in letzterem Fall einen diagnostischen Gewinn dar und hat im weitesten Sinne eine therapeutische Konsequenz, auch wenn sie keine medikamentöse Therapie zur Folge hat. Sie rechtfertigt die abwartende Haltung des behandelnden Arztes in dem

Wissen, dass das Kind die medikamentös nicht therapierbare Infektion im Laufe seiner weiteren Entwicklung meist selbst bewältigen wird.

Im Falle eines Erregernachweises besteht der erhebliche Vorteil darin – unerheblich ob er therapiert werden kann oder nicht – eine Ursache für die klinischen Beschwerden des Kindes gefunden zu haben. Wird kein Erreger nachgewiesen, so hat der behandelnde Arzt alle diagnostischen Möglichkeiten ausgenutzt, um die Ursache der chronisch-obstruktiven Beschwerden zu detektieren, da die BAL mit nachfolgender PCR den Endpunkt der diagnostischen Kette der chronisch-obstruktiven Atemwegserkrankungen darstellt. Dies ist ein wichtiger Aspekt in der Kommunikation mit den Eltern des Kindes, für die die seit Monaten bestehenden und therapieresistenten chronisch-obstruktiven Atemwegsbeschwerden im Vordergrund stehen. Die Kommunikation mit besorgten Eltern stellt sich wesentlich einfacher dar, wenn unabhängig von statistischen Wahrscheinlichkeiten jede mögliche Diagnostik im Rahmen der Ursachenforschung durchgeführt wurde.

Aufgrund technischer Fortschritte in der Multiplex-PCR-Diagnostik konnte während des Zeitraumes, aus dem die Daten dieser Arbeit stammen, das Spektrum der Multiplex-PCR bezüglich der zu untersuchenden Erreger entsprechend ihrer Relevanz für pulmonale Infektionen ständig erweitert werden (siehe Kapitel „3.3.1.2.1. Multiplex PCR“). Diese aktuellen Fortschritte in der Multiplex-PCR-Diagnostik bedeuten jedoch offenbar keinen Gewinn in dem Streben, Erreger nachzuweisen, die potentiell eine besondere erregerspezifische medikamentöse Therapie als Konsequenz haben, da diese Erreger entweder bereits mit der alten Multiplex-PCR nachgewiesen werden konnten, oder es waren ohnehin einzelne PCR Untersuchungen (CMV, EBV) erforderlich.

Da die Durchführung der Multiplex-PCR im Rahmen des Drittmittel-finanzierten Projektes PID-ARI.net in Kiel erfolgte, bestand keine Möglichkeit der Einflussnahme auf die zu untersuchenden Erreger in der Multiplex PCR. Vielmehr waren die Erreger, auf die die Multiplex-PCR das Bronchialsekretmaterial hin untersuchte, festgelegt und konnten nicht der Fragestellung dieser Arbeit entsprechend angepasst werden. Insofern wäre es wünschenswert, wenn das Spektrum der im Rahmen der Multiplex-PCR nachweisbaren

Erreger lediglich auf jene Erreger beschränkt wäre, die bei chronisch-obstruktiven Atemwegserkrankungen eine klinische Relevanz haben. So ließe sich gezielter und kostensparender arbeiten als bisher.

Alternativ hierzu könnte ein zweistufiges Modell etabliert werden: in einer ersten Stufe wird die BAL auf jene Erreger hin untersucht, die eine medikamentös-therapeutische Konsequenz haben. Wird hierbei ein Erreger identifiziert, so erfolgt keine weitere Diagnostik, sondern die medikamentöse Therapie des Erregers. Kann in diesem ersten Schritt aber kein Erreger identifiziert werden, so wird die BAL in einem zweiten Schritt auf all jene Erreger hin untersucht, die zwar keine medikamentös-therapeutische Konsequenz haben, die klinischen Beschwerden aber erklären können. Auf diese Weise würden die diagnostischen Vorteile der PCR ökonomischer eingesetzt als bisher.

Aufgrund des retrospektiven Charakters dieser Untersuchung ergeben sich in der Güte der gewonnenen Daten Probleme: Bei den Merkmalen Gestationsalter, O₂-Sättigung bei Aufnahme, Atopische Erkrankungen in der Familie, Raucher im Haushalt und dem Tagesabschnitt, in dem der Husten auftritt, konnten nicht bei allen Patienten konkrete Antworten erhoben werden. Da diese Untersuchungskriterien bei der statistischen Auswertung genauso berücksichtigt wurden wie Merkmale mit robuster Datenlage, ist die schwache Datenlage der o.g. Untersuchungskriterien bei der Interpretation der Ergebnisse besonders zu berücksichtigen, da sich Fehler 2. Ordnung ergeben (falsch negativ) könnten.

Weiterhin muss kritisch berücksichtigt werden, dass sich bei einer explorativen Untersuchung von 56 anamnestischen, klinischen, radiologischen und laborchemischen Merkmalen zwangsläufig auch zufällige Signifikanzen ergeben. Die in der statistischen Auswertung festgestellten signifikanten Zusammenhänge zwischen untersuchtem Merkmal und positivem Erregernachweis in dem Lavagematerial können zum Teil also auch zufälliger Natur sein. Es wurde versucht dieser Tatsache gerecht zu werden, in dem das Signifikanzniveau mit Hilfe einer α -Adjustierung dementsprechend angepasst wurde. Dabei wurde festgelegt, dass aufgrund der großen Anzahl der untersuchten Merkmale und der sich zwingenderweise daraus ergebenden zufälli-

gen Signifikanzen nicht $\alpha < 0,05$ als signifikant gilt, sondern erst $\alpha < 0,0009$. Würde man dieses neue Signifikanzniveau zugrunde legen, dann wäre bei keinem Merkmal von einem signifikanten Zusammenhang zwischen Merkmal und positivem Erregernachweis in dem Lavagematerial auszugehen und somit die Frage zu klären, ob zwischen dem positiven Erregernachweis und den untersuchten Merkmalen tatsächlich ein Zusammenhang besteht. Um dem Problem der zufälligen Signifikanz nicht nur auf mathematischer Ebene zu begegnen, bedarf es in der Zukunft weiterer Forschung: Die in dieser Arbeit untersuchten Merkmale mit signifikanten p-Werten sollten mit einem neuen Patientenkollektiv, welches den gleichen Ausschlusskriterien unterliegt, erneut und gezielt prospektiv untersucht werden.

Da in dem Forschungsbereich, mit dem sich diese Arbeit beschäftigt, wenig Veröffentlichungen existieren, ist es kaum möglich, die Ergebnisse dieser Arbeit vergleichend in den Literaturkontext einordnen zu können. So wäre es wünschenswert, wenn Daten zu den Ergebnissen von Bronchoskopien mit BAL bei Gesunden existierten. Da jedoch aus ethischen Gründen Normwertstudien in der Pädiatrie schwer realisierbar sind, liegen nur in Bezug auf einzelne Merkmale Untersuchungen zu Normwerten vor. So finden sich bei Ratjen et al. 1994, Riedler et al. 1995, Midulla et al. 1995 (Tabelle 3.3) und Ahrens et al. 1997 Angaben zu BAL-Differentialzytologie-Werten von gesunden Kindern. Allerdings sind die Angaben zum Teil uneinheitlich, was u.a. durch die Wahl der Anästhesie und durch das Alter der Patienten bedingt sein mag. Heaney et al. (1996) wie auch Grigg et al. (1999) konnten belegen, dass sich nach dem 3. Lebensjahr die Leukozyten-Konstellation in der BAL nicht mehr maßgeblich verändert, während in dem Zeitraum vor dem 3. Lebensjahr von unterschiedlichen Werten ausgegangen werden muss (Grigg und Riedler 2000). Weiter konnten Baser et al. bereits 1982 nachweisen, dass das bei der Bronchoskopie benutzte Lidocain in Abhängigkeit von seiner Konzentration und Dauer der Einwirkzeit einen Einfluss auf die Zellzahl und die Vitalität der einzelnen Zellgruppen in der BAL hat. Die in der vorliegenden Arbeit gewonnenen Differentialzytologie-Ergebnisse weichen ebenfalls zum Teil von den Referenzwerten der o.g. Autoren ab. Dieses uneinheitliche Bild ist sicherlich auf die unterschiedlichen Weisen zurückzuführen, wie die Bronchoskopien mit BAL durchgeführt wurden. Nicht nur das Anästhesieverfahren

und das Alter der Patienten, auch die Anzahl der Einzelfraktionen, die Menge der dabei applizierten Lavageflüssigkeit und die Auswahl des Patientenkollektivs scheinen einen Einfluss auf die Ergebnisse der Differentialzytologie zu haben (ERS Task Force 2000). Dies veranschaulicht, was die European Respiratory Society Task Force 2000 gefordert hat: Ein standardisiertes Vorgehen, um vergleichbare Ergebnisse zu erzielen.

Bei der Betrachtung einzelner Ergebnisse dieser Studien fällt zum einen auf, dass Bronchialwandverdickungen im Thorax-Röntgen nur bei sehr wenigen Patienten festgestellt wurden. Dies ist sicher darauf zurückzuführen, dass die Patienten meist im symptomarmen Intervall zu Durchführung der Bronchoskopie stationär aufgenommen wurden und in eben diesem Zeitraum das Thorax-Röntgenbild gemacht wurde.

Zum anderen fällt auf, dass deutlich mehr männliche als weibliche Patienten untersucht wurden. Dies ergibt sich aus der in der Literatur beschriebenen normalen Verteilung: Im frühen Kindesalter gibt es 2/3 Jungen und 1/3 Mädchen, die an chronisch obstruktiven Atemwegs-Krankheiten leiden. Später kehrt sich das Verhältnis um (Schatz et al. 2006). Da der Altersmedian in dieser Studie 15 Monate beträgt, stimmt das Geschlechter-Verhältnis in dieser Studie (2/3 Jungen, 1/3 Mädchen) exakt mit dem in der Literatur beschriebenen Verhältnis überein.

In dieser Studie wurde auch bei Patienten, bei denen ein erhöhter IgE-Wert im Serum nachgewiesen werden konnte, eine Bronchoskopie mit BAL durchgeführt. Die Sinnhaftigkeit, bei Atopie-belasteten Patienten eine Bronchoskopie durchzuführen, haben Severien et al. (1996) in ihrer Arbeit gezeigt. Dabei wurden 43 Kindern mit therapieresistenter obstruktiver Bronchitis bronchoskopiert. Es konnte bei 16 Patienten eine Hauptbronchusstenose, bei 12 Patienten eine Tracheomalazie, bei 2 Patienten ein eingeengter Trachealbronchus und bei 9 Kindern eine chronische Bronchitis ohne anatomische Enge nachgewiesen werden. Eine Atopie lag bei 17 der 43 Patienten vor, es zeigte sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Häufigkeit von Atemwegsstenosen zwischen Atopikern und Nicht-Atopikern.

Die Arbeit von Severien et al. zeigt, dass es sinnvoll ist, auch bei bereits nachgewiesener Atopie eine Bronchoskopie durchzuführen, da durch dieses diagnostische Vorgehen in einer relevanten Anzahl von Fällen eine die klini-

schen Beschwerden erklärende anatomische Enge nachgewiesen werden konnte.

Diese Arbeit kann im Vergleich mit der Arbeit von Severien et al. bei einem ähnlichen Patientenkollektiv nicht nur eine deutlich größere Anzahl an Patienten vorweisen, sondern es wurde zusätzlich auch eine bronchoalveoläre Lavage durchgeführt. Severien et al. konnten bei 79% der untersuchten Patienten eine anatomische Stenose nachweisen – in dieser Arbeit fand sich jedoch nur bei 20 (19,6%) der untersuchten Patienten eine Stenose.

Im Rahmen der statistischen Auswertung konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer anatomischen Stenose (unabhängig von der Lokalisation) und dem Nachweis von Erregern in der BAL nachgewiesen werden – weder für Erreger mit, noch für Erreger ohne potentiell erregerspezifische medikamentös-therapeutische Konsequenzen.

Sowohl diese Arbeit als auch die Arbeit von Severien et al. kommt zu dem Ergebnis, dass das Vorliegen einer Atopiebelastung unter der Vorstellung eines beginnenden Asthma bronchiale nicht dazu führen darf, weitere diagnostische Schritte zu unterlassen. Das Gegenteil ist indiziert: Bei einem relevanten Prozentsatz der Patienten mit Atopiebelastung konnten allein mit Hilfe der Bronchoskopie – über die bekannte Atopie hinaus – weitere Gründe (Stenosen des Bronchialsystems oder Infektionen) für die chronisch-obstruktive Beschwerdesymptomatik gefunden werden. Die Durchführung einer BAL mit nachfolgender PCR und/oder bakteriologischer Kultur hingegen stellt nur bei Vorliegen einer bekannten Atopie keinen diagnostischen Gewinn dar.

Ein Anstieg der neutrophilen Granulozyten in der BAL wurde nicht nur im Rahmen dieser Arbeit bei Patienten mit chronisch-obstruktiver Beschwerdesymptomatik ohne akute Krankheitszeichen gefunden, sondern auch von Le Bourgeois et al. (2002) beobachtet. Im Gegensatz zu der Altersgruppe dieser Arbeit untersuchten Le Bourgeois et al. jedoch ausschließlich Patienten, die jünger als 3 Jahre waren. Die Autoren konnten keinen Zusammenhang zwischen dem Anstieg der neutrophilen Granulozyten und einem Erregernachweis – unabhängig ob bakteriell oder viral – feststellen. Der vermehrte Nachweis von neutrophilen Granulozyten in der BAL außerhalb einer akuten

Krankheitsphase sprach für die Autoren für das Vorliegen einer chronischen Entzündungsreaktion, die sie für die chronisch obstruktiven Beschwerden verantwortlich machten. Der genaue Mechanismus dafür konnte von den Autoren jedoch nicht abschließend geklärt werden. Ähnliche Beobachtungen wurden von Schellhase et al. (1998) gemacht: Auch sie beobachteten im Rahmen der BAL einen Anstieg der neutrophilen Granulozyten im Zusammenhang mit entzündlichen oder infektiösen Prozessen.

Schellhase et al. (1998) untersuchten ebenso wie Snijders et al. (2007) darüber hinaus, inwieweit die Bronchoskopie mit BAL einen diagnostischen Nutzen hat. Im Gegensatz zu der vorliegenden Arbeit konnten sie dabei jedoch nicht auf die Ergebnisse von PCR-Untersuchungen zurückgreifen, da diese im Rahmen der Arbeit von Schellhase et al. als auch von Snijders et al. nicht durchgeführt wurden. Trotz dieser Unterschiede kommen alle Arbeiten wie auch die vorliegende Arbeit zu dem gleichen Schluss: Die Bronchoskopie mit anschließender BAL ist ein wertvolles Instrument bei der Diagnostik kindlicher chronisch-obstruktiver Beschwerden. Darüber hinaus kann aufgrund dieser Arbeit die Durchführung einer bakteriellen Kultur generell empfohlen werden, die deutlich teureren PCR-Untersuchungen sollten aber nur bei Vorliegen der o.g. Kriterien durchgeführt werden.

6 Zusammenfassung

Chronisch-obstruktive Atemwegserkrankungen pädiatrischer Patienten bedürfen einer ausführlichen Abklärung. Die diagnostischen Maßnahmen umfassen bei Nicht-Ansprechen auf die üblichen Therapieansätze (antiasthmatische Therapie einschließlich inhalativer Steroide) eine Bronchoskopie, um anatomische oder funktionelle Stenosen der luftführenden Atemwege oder chronische Infektionen auszuschließen. Hierfür erfolgt im Rahmen der Bronchoskopie oft eine bronchoalveoläre Lavage. Der Nutzen dieser teuren bronchoalveolären Lavage mit anschließender Auswertung des Lavage-Materials ist bei pädiatrischen Patienten bisher nicht untersucht worden.

Es wurden retrospektiv Patienten-Daten und die Ergebnisse der Auswertung der bronchoalveolären Lavage von 98 Kindern mit chronisch-obstruktiven Atemwegserkrankungen ausgewertet. Der Altersmedian der Patienten betrug 15 Monate, das jüngste Kind war 3 Monate, das älteste war 18 Jahre. Chronisch-obstruktive Beschwerden bestanden seit mindestens 3 Monaten.

Das Lavagematerial wurde mit bakteriologischer Kultur und PCR untersucht, um eine chronische Infektion als Ursache für die Beschwerden auszuschließen. Es wurden 56 anamnestische, klinische, radiologische und laborchemische Merkmale daraufhin untersucht, ob sich hiermit ein positiver Erregernachweis in der Kultur und/oder PCR bzw. bei letzterer ein Ergebnis mit potentiell therapeutischer Konsequenz in Form einer erregerspezifischen medikamentösen Behandlung vorhersagen lässt.

Mit Hilfe der PCR gelangen 54 Erregernachweise. CMV: 10, EBV: 4, Adenoviren: 10, Enteroviren: 8, Influenza A und B: 3, Mycoplasma pneumoniae: 2, Chlamydia pneumoniae: 0, Parainfluenza I-III: 6, RSV: 1, Bordetella pertussis: 1, Rhinoviren: 9. Dabei wurden bei 10 Patienten 2 oder mehr Erreger nachgewiesen. Potentiell erregerspezifisch-medikamentöse therapeutische Konsequenzen aus den PCR-Daten hatten ausschließlich die Nachweise von CMV (Ganciclovir), Mycoplasma pneumoniae und Chlamydia pneumoniae (Antibiotika) und Influenza A und B (Amantadin).

Mit Hilfe der Kultur gelangen 34 Erregernachweise: Haemophilus influenza: 9, Pseudomonas aeruginosa: 4, Escherichia coli: 2, Streptococcus pneumoniae: 5, vergrünende Streptokokken: 4, Staphylococcus aureus: 4, Moraxella

catarrhalis: 4, *Stenotrophomonas maltophilia*: 1, *Haemophilus parainfluenzae*: 1. In den meisten Fällen wurde eine entsprechende antibiotische Therapie eingeleitet.

Merkmale, die für eine statistisch gesicherte erhöhte Wahrscheinlichkeit einer positiven bakteriologischen Kultur und/oder eines positiven PCR-Befundes sprechen, sind:

- Jüngerer Alter des Patienten
- Obstruktives Giemen bei Aufnahme
- Kurzatmigkeit in der Anamnese
- Fehlende Hinweise für eine atopische Erkrankung
- Erhöhte neutrophile Granulozyten in der BAL
- Erhöhte Leukozyten im Blutbild
- Erhöhte Monozyten im Blutbild
- Erhöhter CRP-Wert innerhalb der ersten 24h nach Aufnahme
- Erhöhter CRP-Wert während des gesamten stationären Aufenthaltes
- Erhöhte Körpertemperatur in den ersten 24h nach Aufnahme

Aus diesen Daten und Korrelationen kann folgende Schlussfolgerung abgeleitet werden: Angesichts der geringen Kosten und der häufigen therapeutischen Folgen (Antibiotikum) im Falle eines Erregernachweises mit Hilfe einer bakteriologischen Kultur sollte diese im Rahmen jeder Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage angelegt werden.

Besondere therapeutische Konsequenzen in Form einer erregerspezifischen medikamentösen Behandlung ergaben sich aus einer PCR nur in wenigen Fällen. Erregernachweise in der PCR, die eine erregerspezifisch-medikamentöse therapeutische Konsequenz hatten, gelangen signifikant häufiger bei Patienten, die folgende pathologische Befunde aufzeigten:

- A-/ Dystelektasen oder Pneumonie im Thorax-Röntgenbild
- Obstruktive Symptome wie Giemen bei Aufnahme
- Intercostale Einziehungen bei Aufnahme

- Erhöhte neutrophile Granulozyten in der BAL
- Erhöhter CRP-Wert während des gesamten stationären Aufenthaltes

Aus diesen Daten lässt sich schlussfolgern, dass eine PCR aus der BAL aufgrund der hohen Kosten und bei fehlenden anderen Indikationen vor allem bei Vorliegen der o.g. Kriterien durchgeführt werden sollte.

7 Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---------------------|-----------------------------------------|
| BAL: | Bronchoalveoläre Lavage |
| °C: | Grad Celsius |
| CFTR: | Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator |
| CMV: | Cytomegalievirus |
| CO ₂ : | Kohlenstoffdioxid |
| CRP: | C-reaktives Protein |
| dATP: | Desoxyadenosintriphosphat |
| dCTP: | Desoxycytidintriphosphat |
| dGTP: | Desoxyguanosintriphosphat |
| DNA: | Deoxyribonucleic acid |
| dTTP: | Desoxythymidintriphosphat |
| dUTP: | Desoxyuridintriphosphat |
| EBV: | Epstein-Barr-Virus |
| EKG: | Elektrokardiogramm |
| ELISA: | Enzyme linked Immunoassay |
| et al.: | et alii |
| f: | folgend |
| ff: | fortfolgend |
| g: | Gramm |
| g: | Erdschwerebeschleunigung |
| h: | Stunden |
| IgE: | Immunglobulin E |
| KCl: | Kaliumchlorid |
| kg: | Kilogramm |
| l: | Liter |
| mA: | Milliampere |
| mg: | Milligramm |
| MgCl ₂ : | Magnesiumchlorid |
| µl: | Mikroliter |
| mmHg: | Millimeter Quecksilbersäule |
| min: | Minute |
| µmol: | Mikromol |
| mm: | Millimeter |

| | |
|--------------------|-------------------------------------------|
| mmol: | Millimol |
| m-RT-PCR: | Multiplex-Reverse-Transkriptase-PCR |
| Multiplex-PCR: | Multiplex-Polymerase Kettenreaktion |
| o.g.: | Oben genannt |
| O ₂ : | Sauerstoff |
| p: | Wahrscheinlichkeit |
| pCO ₂ : | Kohlenstoffdioxid-Partialdruck |
| PCR: | Polymerase Kettenreaktion |
| pmol: | Pikomol |
| RNA: | Ribonukleinsäure |
| RSV: | Respiratory Syncytial Virus |
| RT: | Reverse Transkriptase |
| S.: | Seite |
| Serum-IgE: | Serum Immunglobulin E |
| Tris-HCl: | Trishydroxymethylaminomethan Hydrochlorid |
| Tsd: | Tausend |
| U: | Enzymeinheit |

8 Literaturverzeichnis

Ahrens P, Zielen S, Kitz R, Hofmann D (1997) Die Differentialzytologie der bronchoalveolären Lavage bei gesunden Kindern mit Vergleich zu Kindern mit Kolonisation von pneumotropen Erregern. *Pneumologie*. 51(2): 99-103.

Antón-Pacheco JL, García-Hernández G, Villafruela MA (2009) The management of tracheobronchial obstruction in children. *Minerva Pediatr*. 61(1): 39-52.

Baser Y, deShazo RD, Barkman HW, Nordberg Jr, Nordberg J (1982) Lidocaine effects on immunocompetent cells. *Chest*. 82(3): 323-328.

Bhandari A, Bhandari V (2009) Pitfalls, problems, and progress in bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics*. 123(6): 1562-73.

Bisgaard H, Hermansen MN, Buchvald F, Loland L, Halkjaer LB, Bønnelykke K, Brasholt M, Heltberg A, Vissing NH, Thorsen SV, Stage M, Pipper CB (2007) Childhood asthma after bacterial colonization of the airway in neonates. *N Engl J Med*. 357(15): 1487-95.

Black CP (2003) Systematic review of the biology and medical management of respiratory syncytial virus infection. *Respir Care*. 48(3): 209-31.

Boudewyns A, Claes J, Van de Heyning P (2010) Clinical practice: An approach to stridor in infants and children. *Eur J Pediatr*. 169(2): 135-41.

Calvo C, García-García ML, Blanco C, Pozo F, Flecha IC, Pérez-Breña P. (2007) Role of rhinovirus in hospitalized infants with respiratory tract infections in Spain. *Pediatr Infect Dis J*. 26(10): 904-8.

Carden KA, Boiselle PM, Waltz DA, Ernst A (2005) Tracheomalacia and tracheobronchomalacia in children and adults: an in-depth review. *Chest*. 127(3): 984-1005.

Chen HL, Chiou SS, Hsiao HP, Ke GM, Lin YC, Lin KH, Jong YJ (2004) Respiratory adenoviral infections in children: a study of hospitalized cases in southern Taiwan in 2001--2002. *J Trop Pediatr*. 50(5): 279-84.

Christou H, Brodsky D (2005) Lung injury and bronchopulmonary dysplasia in newborn infants. *J Intensive Care Med*. 20(2): 76-87.

Chung JY, Han TH, Kim SW, Hwang ES (2007) Respiratory picornavirus infections in Korean children with lower respiratory tract infections. *Scand J Infect Dis*. 39(3): 250-4.

Cohen S, Avital A, Godfrey S, Gross M, Kerem E, Springer C (2009) Suspected foreignbody inhalation in children: what are the indications for bronchoscopy? *J Pediatr*. 155(2): 276-80.

Costa C, Bergallo M, Sidoti F, Terlizzi ME, Astegiano S, Botto S, Elia M, Cavallo R (2009) What role for human rhinoviruses in the lower respiratory tract? *New Microbiol*. 32(1): 115-7.

Costa C, Elia M, Astegiano S, Sidoti F, Terlizzi ME, Solidoro P, Botto S, Libertucci D, Bergallo M, Cavallo R (2008) Quantitative detection of Epstein-Barr virus in bronchoalveolar lavage from transplant and nontransplant patients. *Transplantation*. 86(10): 1389-94.

Costabel U (1988) Methode und Technik der bronchoalveolären Lavage. *Prax Klin Pneumol*. 42: 218-221.

Costabel U (1994) Atlas der bronchoalveolären Lavage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Counihan ME, Shay DK, Holman RC, Lowther SA, Anderson LJ (2001) Human parainfluenza virus-associated hospitalizations among children less than five years of age in the United States. *Pediatr Infect Dis J.* 20(7): 646-53.

de Blic J, Midulla F, Barbato A, Clement A, Dab I, Eber E, Green C, Grigg J, Kotecha S, Kurland G, Pohunek P, Ratjen F, Rossi G (2000) European Respiratory Society Task Force on bronchoalveolar lavage in children. *Eur Respir J.* 15: 217-231.

del Toro MD, Rodríguez-Bano J, Herrero M, Rivero A, García-Ordoñez MA, Corzo J, Pérez-Cano R; Grupo Andaluz para el Estudio de las Enfermedades Infecciosas (2002) Clinical epidemiology of *Stenotrophomonas maltophilia* colonization and infection: a multicenter study. *Medicine (Baltimore).* 81(3): 228-39.

Denton M, Kerr KG (1998) Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clin Microbiol Rev.* 11(1): 57-80.

Eriksson M, Bennet R, Nilsson A (2000) Wheezing following lower respiratory tract infections with respiratory syncytial virus and influenza A in infancy. *Pediatr Allergy Immunol.* 11(3): 193-7.

Foroutan HR, Ghafari M (2002) Gastroesophageal reflux as cause of chronic respiratory symptoms. *Indian J Pediatr.* 69(2): 137-9.

Fraga Ade M, Reis MC, Zambon MP, Toro IC, Ribeiro JD, Baracat EC (2008) Foreign body aspiration in children: clinical aspects, radiological aspects and bronchoscopic treatment. *J Bras Pneumol.* 34(2): 74-82.

Fry AM, Curns AT, Harbour K, Hutwagner L, Holman RC, Anderson LJ (2006) Seasonal trends of human parainfluenza viral infections: United States, 1990-2004. *Clin Infect Dis.* 43(8): 1016-22.

Grigg J (2009) New insights into preschool wheeze. *Clin Exp Allergy*. 39(2): 179-80.

Grigg J, Riedler J (2000) Developmental airway cell biology. The „normal“ young child. *Am J Respir Crit Care Med*. 162(2): 52-55.

Grigg J, Riedler J, Robertson CF, Boyle W, Uren S (1999) Alveolar macrophage immaturity in infants and young children. *Eur Respir J*. 14(5): 1198-205.

Gröndahl B, Puppe W, Hoppe A, Kühne I, Weigl JAI, Schmitt HJ (1999) Rapid identification of nine microorganisms causing acute respiratory tract infections by single-tube multiplex reverse transcription-PCR: feasibility study. *J Clin Microbiol*. 37(1): 1-7.

Gruber R, Wintergerst U (2005) Could it be an immune defect? Background and diagnosis. *MMW Fortschr Med*. 147(5): 27-31.

Hadaya K, Kaiser L, Rubbia-Brandt L, Gervaix A, Diana A (2004) Ganciclovir for severe cytomegalovirus primary infection in an immunocompetent child. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 23(3): 218-20.

Han TH, Chung JY, Kim SW, Hwang ES (2007) Human Coronavirus-NL63 infections in Korean children, 2004-2006. *J Clin Virol*. 38(1): 27-31.

Heaney LG, Stevenson EC, Turner G, Cadden IS, Tayler R, Shields MD, Ennis M (1996) Investigating paediatric airways by non-bronchoscopic lavage: normal cellular data. *Clin Exp Allergy*. 26(7): 799-806.

Hemmers T, Nüsslein T, Teig N, Rieger C, Stephan V (2006) Prospective study of fever after bronchoalveolar lavage in children. *Klin Padiatr*. 218(2): 74-78.

- Horak E (2004) Wheezing in infants and toddlers: new insights. *Wien Klin Wochenschr.* 116(1-2): 15-20.
- Jain A, Patwari AK, Bajaj P, Kashyap R, Anand VK (2002) Association of gastroesophageal reflux disease in young children with persistent respiratory symptoms. *J Trop Pediatr.* 48(1): 39-42.
- Jacques J, Bouscambert-Duchamp M, Moret H, Carquin J, Brodard V, Lina B, Motte J, Andréoletti L (2006) Association of respiratory picornavirus with akute bronchiolitis in French infants. *J Clin Virol.* 35(4): 463-6.
- Jartti T, Lehtinen P, Vuorinen T, Koskenvuo M, Ruuskanen O (2004) Persistence of rhinovirus and enterovirus RNA after acute respiratory illness in children. *J Med Virol.* 72(4): 695-9.
- Kleeh H, Pohl W (1989) Report of the European Society of Pneumology Task Group on bronchoalveolar lavage: Technical recommendations and guidelines for bronochalveolar lavage. *Eur Respir J.* 2(6): 561-585.
- Koetz A, Nilsson P, Lindén M, van der Hoek L, Ripa T (2006) Detection of human coronavirus NL63, human metapneumovirus and respiratory syncytial virus in children with respiratory tract infections in south-west Sweden. *Clin Microbiol Infect.* 12(11): 1089-96.
- Korppi M (2007) Are responses to treatment virus-specific in wheezing children? *J Allergy Clin Immunol.* 119(6): 1561-2.
- Lazzaro T, Hogg G, Barnett P (2007) Respiratory syncytial virus infection and recurrent wheeze/asthma in children under five years: an epidemiological survey. *J Paediatr Child Health.* 43(1-2): 29-33.

Le Bourgeois M, Goncalves M, Le Clainche L, Benoist MR, Fournet JC, Scheinmann P, de Blic J (2002) Bronchoalveolar cells in children < 3 years old with severe recurrent wheezing. *Chest*. 122(3): 761-763.

Levy ML, Thomas M, Small I, Pearce L, Pinnock H, Stephenson P (2009) Summary of the 2008 BTS/SIGN British Guideline on the management of asthma. *Prim Care Respir J*. 18 Suppl 1: S1-16.

Linsuwanon P, Payungporn S, Samransamruajkit R, Theamboonlers A, Poovorawan Y (2009) Recurrent human rhinovirus infections in infants with refractory wheezing. *Emerg Infect Dis*. 15(6): 978-80.

Lu G, Xie ZD, Zhao SY, Ye LJ, Wu RH, Liu CY, Yang S, Jin YK, Shen KL (2009) Clinical analysis and follow-up study of chronic active Epstein-Barr virus infection in 53 pediatric cases. *Chin Med J (Engl)*. 122(3): 262-6.

Marchant JM, Masters IB, Taylor SM, Cox NC, Seymour GJ, Chang AB (2006) Evaluation and outcome of young children with chronic cough. *Chest*. 129(5): 1132-1141.

Maffey AF, Venialgo CM, Barrero PR, Fuse VA, Márques Mde L, Saia M, Villalba A, Teper AM, Mistchenko AS (2008) New respiratory viruses in children 2 months to 3 years old with recurrent wheeze. *Arch Argent Pediatr*. 106(4): 302-9.

Marshall BC, Koch WC (2009) Antivirals for cytomegalovirus infection in neonates and infants: focus on pharmacokinetics, formulations, dosing, and adverse events. *Paediatr Drugs*. 11(5): 309-21.

Martinez FD, Wright AL, Taussig LM, Holberg CJ, Halonen M, Morgan WJ, The Group Health Medical Associates (1995) Asthma and wheezing in the first six years of life. *N Engl J Med*. 332(3):133-8.

Marzouk K, Corate L, Saleh S, Sharma OP (2005) Epstein-Barr-virus – induced interstitial lung disease. *Curr Opin Pulm Med.* 11(5): 456-60.

Meert KL, Sarnaik AP, Gelmini MJU, Lieh-Lai MW (1994) Aerosolized ribavirin in mechanically ventilated children with respiratory syncytial virus lower respiratory tract disease: a prospective, double-blind, randomized trial. *Crit Care Med.* 22(4): 566-572.

Meury S, Zeller S, Heininger U (2004) Comparison of clinical characteristics of influenza and respiratory syncytial virus infection in hospitalised children and adolescents. *Eur J Pediatr.* 163(7): 359-63.

Midulla F, Villani A, Merolla R, Bjermer L, Sandstrom T, Ronchetti R (1995) Bronchoalveolar lavage studies in children without parenchymal lung disease: cellular constituents and protein levels. *Pediatr Pulmonol.* 20(2): 112-118.

Morisawa Y, Maeda A, Sato T, Hisakawa H, Fujieda M, Wakiguchi H (2008) Cytomegalovirus infection and wheezing in infants.

Nelson CT (2002) Mycoplasma and Chlamydia pneumonia in pediatrics. *Semin Respir Infect.* 17(1): 10-4.

Nicolai T (2007) Bronchoskopie bei Kindern. *Pneumologe.* 4: 249-260.

Nicolai T (1999) Technik der Bronchoskopie bei Kindern. *Monatsschr Kinderheilkd.* 147: 139-149.

Peltola V, Jartti T, Putto-Laurila A, Mertsola J, Vainionpää R, Waris M, Hyypiä T, Ruuskanen O (2009) Rhinovirus infections in children: a retrospective and prospective hospital-based study. *J Med Virol.* 81(10): 1831-8.

Pfleger A, Eber E, Popper H, Zach MS (2000) Chronic interstitial lung disease due to Epstein-Barr virus infection in two infants. *Eur Respir J.* 15(4): 803-6.

Piotrowska Z, Vázquez M, Shapiro ED, Weibel C, Ferguson D, Landry ML, Kahn JS (2009) Rhinoviruses are a major cause of wheezing and hospitalization in children less than 2 years of age. *Pediatr Infect Dis J.* 28(1): 25-9.

Plesec TP, Ruiz A, McMahon JT, Prayson RA (2008) Ultrastructural abnormalities of respiratory cilia: a 25-year experience. *Arch Pathol Lab Med.* 132(11): 1786-91.

Principi N, Esposito S, Blasi F, Allegra L; Mowgli study group (2001) Role of *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* in children with community-acquired lower respiratory tract infections. *Clin Infect Dis.* 32(9): 1281-9.

Ramm B, Hofmann G (1987) *Biomathematik.* 3. Auflage. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.

Ratjen F (2000) Reference values for bronchoalveolar lavage in children. *Monaldi Arch Chest Dis.* 55(3): 247-250.

Ratjen F, Bredendiek M, Brendel M, Meltzer J, Costabel U (1994) Differential cytology of bronchoalveolar lavage fluid in normal children. *Eur Respir J.* 7(10): 1865-1870.

Ratjen F, Costabel U (1997) Die bronchoalveoläre Lavage im Kindesalter: Technische Aspekte und Referenzwerte. *Pneumologie.* 51(2): 93-98.

Riedler J, Grigg J, Stone C, Tauro G, Robertson CF (1995) Bronchoalveolar lavage cellularity in healthy children. *Am J Respir Crit Care Med.* 152(1): 163-168.

Rodriguez WJ, Kim HW, Brandt CD, Fink RJ, Getson PR, Arrobio J, Murphy TM, McCarthy V, Parrott RH (1987) Aerosolized ribavirin in the treatment of patients with respiratory syncytial virus disease. *Pediatr Infect Dis J.* 6(2): 159-163.

Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ (2005) Cystic fibrosis. *N Engl J Med.* 352(19): 1992-2001.

Ruiz LA, Zalacain R, Gómez A, Camino J, Jaca C, Núñez JM (2008) *Escherichia coli*: an unknown and infrequent cause of community acquired pneumonia. *Scand J Infect Dis.* 40(5): 424-7.

Saglani S, Nicholson AG, Scallan M, Balfour-Lynn I, Rosenthal M, Payne DN, Bush A (2006) Investigation of young children with severe recurrent wheeze: any clinical benefit? *Eur Respir J.* 27(1): 29-35.

Schatz M, Clark S, Camargo CA (2006) Sex differences in the presentation and course of asthma hospitalizations. *Chest.* 129(1): 50-55.

Schellhase DE, Fawcett DD, Schultze GE, Lensing SY, Tryka AF (1998) Clinical utility of flexible bronchoscopy and bronchoalveolar lavage in young children with recurrent wheezing. *J Pediatr.* 132(2): 312-318.

Schrott-Fischer A, Rieger G, Morass B, Bitsche M, Horak E, Riechelmann H, Glückert R (2008) Diagnostics of primary ciliary dyskinesia. *Laryngorhinologie.* 87(11): 809-20.

Severien C, Rietschel E, Riedel F, Rieger C (1996) Atopie und Stenosen der zentralen Atemwege bei Säuglingen mit persistierender obstruktiver Bronchitis. *Monatsschr Kinderheilkd.* 144: 127-130.

Shields MD, Riedler J (2000) Bronchoalveolar lavage and tracheal aspirate for assessing airway inflammation in children. *Am J Respir Crit Care Med.* 162(2): 15-17.

Smuts H, Workman L, Zar HJ (2008) Role of human metapneumovirus, human coronavirus NL63 and human bocavirus in infants and young children with acute wheezing. *J Med Virol.* 80(5): 906-12.

Snijders D, Cattarozzi A, Panizzolo C, Zanardo V, Guariso G, Calabrese F, Faggian D, Monciotti C, Barbat A (2007) Investigation of children with chronic nonspecific cough: Any clinical benefit of bronchoscope and bronchoalveolar lavage? *Allergy Asthma Proc.* 28(4): 462-467.

Tahir N, Ramsden WH, Stringer MD (2009) Tracheobronchial anatomy and the distribution of inhaled foreign bodies in children. *Eur J Pediatr.* 168(3): 289-95.

van der Hoek L (2007) Human coronaviruses: what do they cause? *Antivir Ther.* 12(4): 651-8.

van der Hoek L, Pyrc K, Berkhout B (2006) Human coronavirus NL63, a new respiratory virus. *FEMS Microbiol Rev.* 30(5): 760-73.

Vega-Briceño LE, Pulgar B D, Potin S M, Ferres G M, Sánchez D I. (2007) Clinical and epidemiological manifestations of parainfluenza infection in hospitalized children. *Rev Chilena Infectol.* 24(5): 377-83.

Videla C, Carballal G, Misirlian A, Aguilar M (1998) Acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus and adenovirus among hospitalized children from Argentina. *Clin Diagn Virol.* 10(1): 17-23.

Wechsler ME (2009) Managing asthma in primary care: putting new guideline recommendations into context. *Mayo Clin Proc.* 84(8): 707-17.

Weinberger M, Abu-Hasan M (2007) Pseudo-asthma: when cough, wheezing and dyspnea are not asthma. *Pediatrics.* 120(4): 855-64.

Wolf J, Daley AJ (2007) Microbiological aspects of bacterial lower respiratory tract illness in children: typical pathogens. *Paediatr Respir Rev.* 8(3): 204-10.

Wolf J, Daley AJ (2007) Microbiological aspects of bacterial lower respiratory tract illness in children: atypical pathogens. *Paediatr Respir Rev.* 8(3): 212-9

Wright AL (2002) Epidemiology of asthma and recurrent wheeze in childhood. *Clin Rev Allergy Immunol.* 22(1): 33-44.

9 Danksagung

Danksagen möchte ich für die mikrobiologischen Untersuchungen des Lava-ge-Materials und für die Bereitstellung von Informationen bezüglich der Arbeitsabläufe hierbei dem Labor Keeser/Arndt und Partner in Hamburg, dem Labor für Pädiatrische Infektiologie der Klinik für Allgemeine Pädiatrie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein/Campus Kiel sowie dem Labor Dr. Fenner und Kollegen in Hamburg.

Insbesondere bin ich meinen Eltern, Dres. Jochen und Ingeborg Lepper, ebenso wie meiner Großmutter, Frau Dr. med. Elisabeth Lepper, für ihre liebevolle Anteilnahme und großzügige Unterstützung auf allen Etappen meiner Entwicklung, Ausbildung und beruflichen Weiterbildung dankbar.

Ebensolche Unterstützung habe ich auch durch meine Ehefrau Iris und Tochter Nele erfahren, die mit großer Geduld Ehemann und Vater entbehren mussten. Vor allem meiner Frau bin ich für Ihren liebevollen Rückhalt von Herzen dankbar.

Besonderer Dank gebührt meinem Doktorvater, Professor Dr. med. Frank Riedel, der mir äußerst hilfsbereit und geduldig während der Promotion mit Rat und Unterstützung zur Seite stand.

10 Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.