

Diplomarbeit

**Der Thr164Ile-Polymorphismus des
humanen β_2 -adrenergen
Rezeptorgens bei systemischer
Meningokokkenerkrankung**

**Einfluss der Variante auf die Erkrankung und Etablierung
einer Hochdurchsatzmethode zur Genotypisierung**

eingereicht von

Stephan Günther Schoiswohl

Geb. Dat.: 31. März 1984

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der gesamten Heilkunde
(Dr. med. univ.)**

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde

unter der Anleitung von

**Prof. Dr. Werner Zenz
Dr. Alexander Binder**

Graz, am _____

Unterschrift

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwende habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am _____

Unterschrift

Danksagung

Für die Betreuung dieser Arbeit, den äußerst lehrreichen Einblick in die Praxis des wissenschaftlichen Arbeitens und nicht zuletzt für die Beantwortung aller meiner fachlichen Fragen möchte ich mich bei meinen Betreuern Dr.rer.nat. Alexander Binder und ao.Univ.Prof.Dr.med.univ. Werner Zenz bedanken.

Der größte Dank gilt jedoch meinen Eltern Maria und Günther, sowie meiner Schwester Gabriele für die Unterstützung während der gesamten Schul- und Studienzeit.

Zusammenfassung

Hintergrund: Durch *Neisseria meningitidis* verursachte Erkrankungen betreffen zu einem Großteil Kinder und Jugendliche – somit ein Patientenkollektiv, das meist frei von Vorerkrankungen ist. Septische Verläufe dieser Erkrankung stellen eine der am raschesten fortschreitenden Ursachen eines septischen Schocks beim Menschen dar. Bereits in den 1980er-Jahren wurde festgestellt, dass genetische Faktoren einen bedeutenden Einfluss auf den Verlauf und den Outcome von Infektionskrankheiten haben können. Der β_2 -Adrenozeptor kommt ubiquitär im Körper vor und ist bereits Ziel therapeutischer Interventionen bei anderen Erkrankungen. Der β_2 -Adrenozeptor ist u.a. an der Regulation des Tonus der glatten Muskulatur der Gefäße und Bronchien, sowie der Kontraktilität und Frequenz des Herzens beteiligt. Die meisten Patienten, die an einer Sepsis versterben, sterben an der Kreislaufinsuffizienz, die im Rahmen des septischen Schocks auftritt.

Ziel: Diese Arbeit versucht die Bedeutung der Thr164Ile-Mutation des β_2 -Adrenozeptors im Zusammenhang mit durch Meningokokken verursachten Erkrankungen zu beschreiben. Bereits andere Forschungsgruppen konnten nachweisen, dass diese Mutation die Funktion des β_2 -Adrenozeptors erheblich beeinflusst. Ein weiteres Ziel war die Entwicklung einer Hochdurchsatzmethode zur Genotypisierung dieser Mutation.

Methoden: Zur Untersuchung dienten Proben und Datensätze, die im Rahmen des „Central European Meningococcal Network“ gesammelt wurden. Diese wurden mit zwei unterschiedlichen Verfahren genotypisiert – der TaqMan-PCR-Technologie und der Schmelzkurvenanalyse mit SYBR Green I als verwendetem Farbstoff.

Ergebnisse: Es wurde der statistisch signifikante Nachweis erbracht, dass heterozygote Träger der Ile164-Variante des β_2 -Adrenozeptors ein höheres Risiko haben an einer durch Meningokokken verursachten Erkrankung zu versterben (OR = 3,6; 95% C.I. = 1,0 – 13,8), sowie auch eine erhöhte Suszeptibilität für diese Erkrankungen zeigen (OR = 3,4; 95% C.I. = 1,2 – 9,5). Bei kontinuierlichen Variablen konnten keine signifikanten Auffälligkeiten gefunden werden. Womöglich auch durch die für derartige Zwecke noch zu geringe Anzahl an Proben und Datensätzen bedingt.

Abstract

Background: Sepsis is still a medical challenge. One third of all intensive-care patients suffer from sepsis. Of these one third dies from this condition. From a variety of possible pathogens one of the most notable is *Neisseria meningitidis*. Meningococcal disease often affects healthy children and teenagers, in contrast to the common intensive-care patients who suffer from sepsis and a multitude of underlying conditions. In addition, meningococcal disease shows a rapid onset and can lead to fatal outcome within hours. Already in the 1980s it has been shown that genetic mutations of the host influence the course and the outcome of infectious diseases. The β_2 -adrenergic receptor is ubiquitously present in organ systems and already target of therapeutic interventions in other diseases.

Objective: The objective of this diploma thesis was to describe the influence of the Thr164Ile-polymorphism of the β_2 -adrenergic receptor on meningococcal disease susceptibility and outcome. An additional aim was to develop a new assay for a high throughput method to detect this rare mutation.

Methods: Samples and data sets collected within the “Central European Meningococcal Network” were used in this project. Sample-DNA was genotyped by two different methods – the TaqMan-PCR-Technology and high resolution melting curve analysis using SYBR Green I as fluorescent dye. The aim of using two different methods was to establish the more cost efficient method of the high resolution melting curve analysis in genotyping this single-nucleotide-polymorphism.

Results: First it was shown that the two compared methods provide comparable results. Carriers of the Ile164 variant showed a 3.6 increased odds ratio (OR) for fatal outcome (95% C.I. = 1.0 – 13.8). In addition, the Ile164 variant conferred a significantly higher risk for meningococcal disease (3.5% in patients compared to 1.1% in healthy controls, OR = 3.4; 95% C.I. = 1.2 – 9.5). It was not possible to show a significant influence of the Thr164Ile-polymorphism on continuous variables probably due to the low incident of the variant in the studied cohort.

The data suggests a significant influence of the Thr164Ile polymorphism on susceptibility and outcome for meningococcal disease.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Infektionen durch Meningokokken.....	3
1.1.1	Klinik.....	9
1.1.2	Nachweis.....	15
1.1.3	Therapie.....	16
1.1.4	Prophylaxe.....	18
1.2	Sepsis.....	21
1.2.1	Definition.....	22
1.2.2	Pathophysiologie.....	24
1.2.3	Symptomatik und Diagnostik.....	26
1.2.4	Therapie.....	29
1.3	Adrenerge Rezeptoren.....	31
1.3.1	Wirkungen.....	31
1.3.2	β_2 -Adrenozeptor.....	33
1.3.2.1	Der Thr164Ile-Polymorphismus.....	35
2	Material und Methoden.....	38
2.1	Probenkollektiv.....	38
2.2	Labormethodik.....	40
2.2.1	TaqMan.....	40
2.2.2	Schmelzkurvenanalyse.....	43
2.3	Statistik.....	48
3	Ergebnisse – Resultate.....	50
4	Diskussion.....	52
5	Literaturverzeichnis.....	57
	Anhang.....	64

Glossar und Abkürzungen

ACTH	Adrenocorticotropes Hormon; Adrenocorticotropin
ADRB2	β_2 -Adrenozeptor
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome; erworbenes Immundefektsyndrom
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
Arg	Arginin
ATP	Adenosintriphosphat
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CD (z.B.CD14-Rezeptor) ..	Cluster of Differentiation
C.I.	Konfidenzintervall
CRP	C-reaktives Protein
C-Terminus	Carboxy-Terminus; das Ende eines Proteins bzw. Polypeptids mit einer freien Carboxygruppe
DIC	Disseminated Intravascular Coagulation; Disseminierte intravasale Koagulopathie
DNS	Desoxyribonukleinsäure
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control; Europäisches Zentrum für die Prävention und die Kontrolle von Krankheiten
FetA	Membranprotein der Meningokokken, welches für die Feintypisierung herangezogen wird
FFP	Fresh Frozen Plasma; gefrorenes Frischplasma
fmol	Femtomol; 10^{-15} Mol
FRET	Fluorescence Resonance Energy Transfer; Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer
GDP	Guanosindiphosphat
Gln	Glutamin
Glu	Glutaminsäure
Gly	Glycin
G-Protein	GTP-bindendes Protein
GTP	Guanosintriphosphat

IgG	Immunglobulin G
IL (z.B. IL-1, IL-6, IL-10) ...	Interleukin
Ile	Isoleucin
i.m.	Intramuskulär
i.v.	Intravenös
kPa	Kilopascal; 10^3 Pascal
l	Liter
LBP	Lipopolysaccharide binding Protein
LC Green I	Farbstoff zur Markierung doppelsträngiger DNS
LC Red 640	Farbstoff, der bei der Anwendung des FRET verwendet wird
LPS	Lipopolysaccharide
MAP	Mean Arterial Pressure; Mittlerer arterieller Blutdruck
mg	Milligramm; 10^{-3} Gramm
MgCl₂	Magnesiumchlorid
µl	Mikroliter; 10^{-6} Liter
min	Minute
mmHg	Millimeter-Quecksilbersäule; ca. 133,322 Pascal
mmol	Millimol; 10^{-3} Mol
µmol	Mikromol; 10^{-6} Mol
N-CAM	Human Neural Cell Adhesion Molecule; neurales Zelladhäsionsmolekül
N-Terminus	Amino-Terminus; das Ende eines Proteins bzw. Polypeptids mit einer freien Aminogruppe
OMV	Outer Membrane Vesicles
OR	Odds-Ratio
PaCO₂	arterieller Kohlendioxidpartialdruck
PAI-1	Plasminogen-Activator-Inhibitor-1
PCI	Percutaneous Coronary Intervention; perkutane Koronarintervention
PCR	Polymerase Chain Reaction; Polymerasekettenreaktion

PEEP	Positive end-expiratory pressure; positiver end-expiratorischer Druck
PorA	Protein der Meningokokken, welches für die Bestimmung der Serosubtypen mittels PCR herangezogen wird
PorB	Membranprotein der Meningokokken
R_n-Wert	normalisiertes Reportersignal; Wert zur Beurteilung der Fluoreszenzstärke des Reporterfarbstoffes bei der TaqMan-PCR-Technologie
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SNP	Single-Nucleotide-Polymorphism
SYBR Green I	Farbstoff zur Markierung doppelsträngiger DNS
Thr	Threonin
TNFα	Tumornekrosefaktor α
VIC	Reporterfarbstoff, der bei der TaqMan-PCR-Technologie Verwendung findet
6-FAM	6-Carboxyfluorescein; Reporterfarbstoff, der bei der TaqMan-PCR-Technologie Verwendung findet
°C	Grad Celsius; 0°C liegt bei etwa 273,15 Kelvin

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Mikroskopische Darstellung von <i>Neisseria meningitidis</i> [16].....	4
Abbildung 2:	geographische Verteilung der Serogruppen von <i>Neisseria meningitidis</i> [28].....	7
Abbildung 3:	Inzidenz der Meningokokkenerkrankungen nach Altersgruppen in Österreich, 2010; nach Nationale Referenzzentrale für Meningokokken[24].....	7
Abbildung 4:	Petechiale Hauteinblutungen im Rahmen einer Meningokokkensepsis[30].....	11
Abbildung 5:	Purpura fulminans im Rahmen einer Meningokokkensepsis[30]..	11
Abbildung 6:	Der Glasspateltest in der Anwendung bei einem petechialen Exanthem[31].....	13
Abbildung 7:	Funktionszyklus eines G-Protein gekoppelten Rezeptors.....	34
Abbildung 8:	Altersverteilung des Patientenkollektivs.....	39
Abbildung 9:	Beispiel für die graphische Darstellung einer Allelic Discrimination durch das Auswertungsprogramm der TaqMan-PCR-Technologie.....	43
Abbildung 10:	Vergleich der TaqMan-PCR und der Schmelzkurvenanalyse; nach Applied Biosystems[88].....	46

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Normalwerte für Herzfrequenz und Atemfrequenz bei Kindern; nach Meningitis Research Foundation[35].....	23
Tabelle 2:	TaqMan-Assay C__8950503_20.....	42
Tabelle 3:	Versuchsprotokoll von Roche Applied Science für Versuche mit dem LightCycler 480 unter Verwendung von SYBR Green I als Farbstoff[89].....	48
Tabelle 4:	Verteilung der Genotypen des SNP rs1800888 in der Patienten- und Kontrollgruppe.....	50
Tabelle 5:	Suszeptibilität der verschiedenen Thr164Ile Genotypen für eine Meningokokkenerkrankung.....	51
Tabelle 6:	Assoziation des Thr164Ile SNPs mit dem Outcome.....	51

1 Einleitung

Die Therapie der Sepsis und des septischen Schocks stellt auch heute noch, mehr als 100 Jahre nach den Arbeiten Louis Pasteurs und Robert Kochs, eine Herausforderung dar. Etwa ein Drittel aller Intensivpatienten leiden an einer Sepsis, von diesen überlebt ein Drittel die Erkrankung nicht. Von den verstorbenen Sepsispatienten wiederum erliegt die Hälfte den Folgen eines septischen Schocks. [1] Zwar konnte die Mortalität der Sepsis in den letzten Jahren reduziert werden, aber die Zahlen zeigen auf, dass sie immer noch ein erschreckendes Ausmaß annimmt. Die wirtschaftlichen Kosten, die durch die Sepsis entstehen sind zwar schwer abzuschätzen aber auf jeden Fall beträchtlich. So werden in den USA die jährlichen Kosten auf etwa 6,7 Milliarden US\$ geschätzt.[2]

Die Sepsis im Rahmen einer Infektion mit *Neisseria meningitidis* eignet sich für die wissenschaftliche Untersuchung der Sepsis wohl besonders. Dies ist leicht damit zu begründen, dass die Erkrankten durch die Häufung der Meningokokkeninfektion im Kindes- und Jugendalter vor Auftreten der Sepsis großteils gesund waren und auch sonstige die Auswertung der Ergebnisse erschwerende, weil möglicherweise beeinflussende, Faktoren seltener auftreten. Weiters ist von Vorteil, dass Patienten, die an einer durch Meningokokken hervorgerufenen Sepsis leiden, eben eine definierte Erkrankung haben, deren Diagnose obendrein auch noch absicherbar ist. Im Gegensatz dazu leiden erwachsene Sepsispatienten an einer Vielzahl verschiedener Krankheiten, hervorgerufen durch unterschiedlichste Erreger. Sepsisstudien bei Erwachsenen befassen sich somit in der Regel mit einem heterogenen Klientel.[3, 4]

Die Sepsis ist ein Syndrom oder ein Symptomenkomplex, aber keine eigenstehende Krankheit. Außerdem haben erwachsene Sepsispatienten oftmals diverse Grunderkrankungen, aufgrund derer die Auswertung von Ergebnissen im Rahmen von Studien erschwert wird. Die Abwesenheit von Grunderkrankungen bei den meisten Meningokokkensepsis-Patienten bringt des Weiteren den Vorteil mit sich, dass die lebenserhaltenden Therapien in der Regel so weit und so lange wie möglich durchgeführt werden. Im Gegensatz dazu zeigen Sepsisstudien bei

Erwachsenen, dass in 22% der Fälle die lebenserhaltenden Therapien aufgrund von schweren Grunderkrankungen abgebrochen wurden.[3 - 5]

Mögliche Nachteile der Meningokokkensepsis als Modellerkrankung für die Sepsis im allgemeinen, welche die Auswertung von Ergebnissen erschweren, sind die Seltenheit der Erkrankung aufgrund derer eine gute Planung der Studien notwendig ist um genügend Proben zu gewinnen, das rasante Fortschreiten der Erkrankung, das eine rasche Diagnose und Therapie erfordert, und auch der vergleichsweise häufige Einsatz von Therapieversuchen, deren Wirksamkeit nicht bewiesen ist, um Extremitäten oder das Leben der Patienten zu retten.[3, 4] Des Weiteren kann man durchaus in Frage stellen, ob Ergebnisse, die aus Untersuchungen stammen, die hauptsächlich an Kindern durchgeführt wurden, ohne weiteres auf Erwachsene übertragen werden können. Bei einer Übertragung von Erkenntnissen aus Untersuchungen an Patienten mit Meningokokkeninfektionen auf das Gesamtkollektiv der Sepsispatienten muss man auch bedenken, dass die Zytokinantwort, die maßgeblich am Schockgeschehen beteiligt ist, sich bei Infektionen durch grampositive und gramnegative Erreger unterscheidet.[4, 6]

Diese Arbeit konzentrierte sich auf den Faktor Patient und nicht direkt auf den Erreger der Erkrankung. Es konnte bereits in der Vergangenheit der Nachweis erbracht werden, dass diverse Mutationen der Patienten den Ausgang einer Infektion durch Meningokokken beeinflussen, so beispielsweise für Mutationen im Bereich der Gene für Plasminogen-activator-inhibitor-1 (PAI-1), Tumornekrosefaktor α (TNF α) oder Interleukin 10 (IL-10).[4, 7 - 10] Haralambous et al.[6] konnten 2003 zeigen, dass genetische Faktoren der Kinder in etwa zu einem Drittel zum Gesamtrisiko beitragen an einer Meningokokkeninfektion zu erkranken. In früheren Untersuchungen mit adoptierten Kindern wurde ein etwa fünffach erhöhtes Risiko an einer Infektionserkrankung zu versterben nachgewiesen, wenn ein biologischer Elternteil jung an einer Infektionskrankheit verstarb.[11] Weiters konnte in Zwillingsstudien zu Tuberkulose, Lepra, Malaria und *Helicobacter pylori* die Bedeutung genetischer Faktoren für die jeweiligen Erkrankungen nachgewiesen werden. Die Untersuchung von genetischen Faktoren, die das Risiko an Infektionskrankheiten zu erkranken beeinflussen, ist oft schwierig, da innerhalb von Familien die Gefahr mit den Erregern einer Krankheit eines

Verwandten in Kontakt zu kommen durch familiäre Nähe höher ist als das Risiko für den Erregerkontakt in der Normalbevölkerung.[5, 6]

In dieser Studie wurde untersucht, ob eine Mutation des β_2 -Adrenozeptors, welche zum Austausch der Aminosäure an Position 164 führt, Auswirkungen auf den Verlauf und die Suszeptibilität der Erkrankung hat. Der β_2 -Adrenozeptor eignet sich als Ziel derartiger Untersuchungen gut, da er im Körper ubiquitär vorkommt, mit einer Vielzahl physiologischer Prozesse zusammenhängt und seine Funktionen bereits gut beschrieben sind. Des Weiteren stellen β -Adrenozeptoren bereits bei anderen Erkrankungen Ziele der therapeutischen Interventionen dar. [12]

Die genetischen Untersuchungen dieser Diplomarbeit wurden an Proben durchgeführt, die im Rahmen des „Central European Meningococcal Network“ gesammelt wurden. In die Studie wurde ein Patientenkollektiv sowie eine etwa gleichgroße Kontrollgruppe aus konsekutiv gesammeltem Nabelschnurblut Neugeborener eingeschlossen.[13, 14]

1.1 Infektionen durch Meningokokken

Bakterien der Gattung *Neisseria* sind aerobe gramnegative Diplokokken. Sie sind unbeweglich und bilden keine Sporen.[15] Abbildung 1 zeigt eine mikroskopische Darstellung.[16]

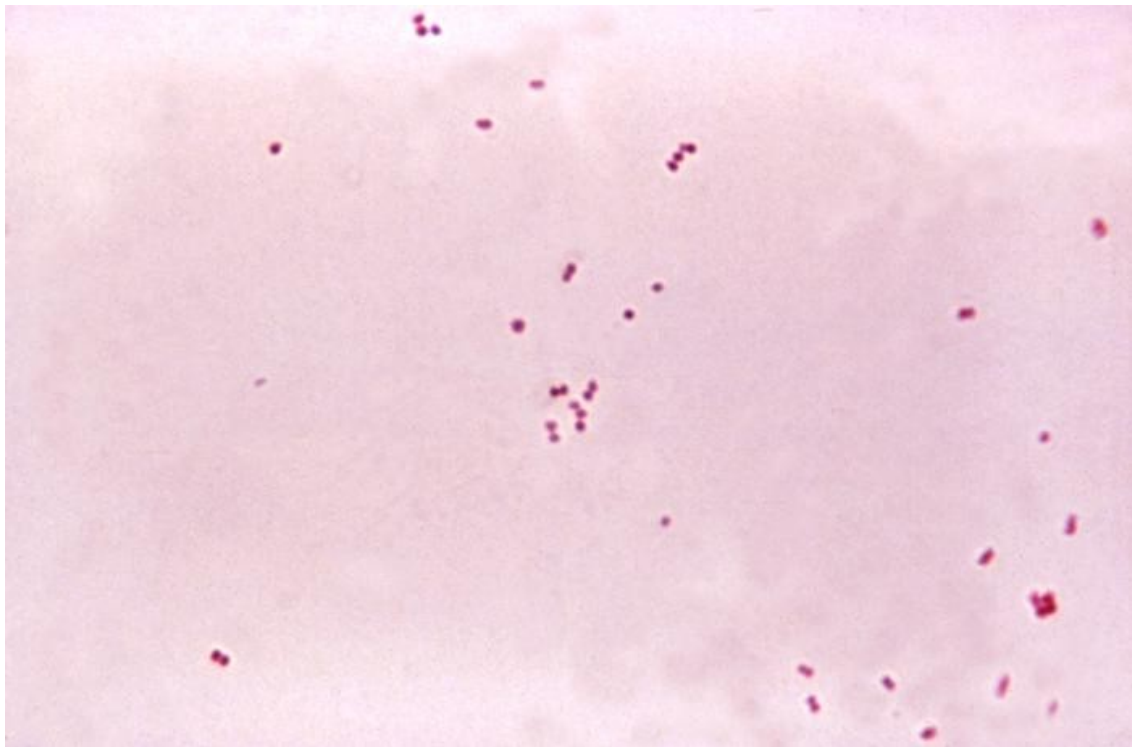


Abbildung 1: Mikroskopische Darstellung von *Neisseria meningitidis*[16]

Medizinisch hauptsächlich relevant sind die Arten *Neisseria gonorrhoeae* als Erreger der Gonorrhoe, sowie *Neisseria meningitidis*, auch unter der Bezeichnung Meningokokken bekannt. Gaspard Vieusseux lieferte 1805 in Genf die erste Beschreibung einer Meningokokkenerkrankung.[17] *Neisseria meningitidis* wurde 1887 erstmals vom Wiener Pathologen Anton Weichselbaum nachgewiesen und von ihm als *Diplococcus intracellularis meningitidis* bezeichnet. 1896 wurde erstmals erkannt, dass Gesunde Meningokokken in der Schleimhaut des Nasopharynx beherbergen können.[15] Als einziger Wirt für *Neisseria meningitidis* gilt der Mensch. Die Meningokokken besitzen im Gegensatz zu anderen Neisserien eine Polysaccharidkapsel, deren Antigenstruktur eine Einteilung in 13 Serogruppen erlaubt, dies sind A, B, C, D, X, Y, Z, 29E, W135, H, I, K und L. Im Nasopharynx sind manchmal auch Meningokokkenstämme zu finden, die keiner der 13 Serogruppen zuordbar sind, vermutlich sind diese Meningokokken nicht bekapselt. Erkrankungen durch nicht in Serogruppen einteilbare Meningokokken sind jedoch sehr selten. In Österreich gilt die Serogruppe B als die häufigste, gefolgt von der Serogruppe C. Die Inzidenz der Serogruppe B ist in Österreich rückläufig, jene der Serogruppe C im Ansteigen begriffen, obwohl für die

Serogruppe C ein Impfstoff vorhanden ist. Die Serogruppen A und C, sowie W135 und X treten häufig bei Epidemien auf. Die Erkrankungsfälle des sogenannten Meningitisgürtels, also der Subsaharazone, werden durch die Serogruppe A verursacht. Weltweit sind die fünf Serogruppen A, B, C, Y und W135 für mehr als 90% der Erkrankungsfälle verantwortlich.[15, 18 - 23] Nach Beschluss des European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) im März 2009 erfolgt die Feintypisierung der Meningokokken durch die Sequenzierung variabler Regionen der Gene für die äußeren Membranproteine PorA und FetA. Dieses Verfahren ersetzt die bis dahin übliche Typisierung mittels serologischer Bestimmung des Serotyps und Subserotyps.[24]

Meningokokken sind die Erreger der Meningokokkenmeningitis, der Meningokokkensepsis und der kombinierten Meningokokkenerkrankung, bestehend aus Sepsis und Meningitis. Weiters können sie Pneumonien, septische Arthritiden, eine Pericarditis, Urethritis, Osteomyelitis, Pharyngitis, Zervizitis und Konjunktivitiden auslösen.[18, 20] Per Schmier- und Tröpfcheninfektion können die Erreger übertragen werden. Etwa 5 – 10% der Bevölkerung sind asymptomatische Keimträger.[19, 20] Durch den Kontakt mit anderen Bakterien im Nasopharynx kann ein Austausch von genetischem Material stattfinden. Dadurch ergibt sich bei Isolaten von Keimträgern eine große genetische Heterogenität, während die Zahl der Klone bei Erkrankten meist gering ist.[15] Die meisten Isolate von Trägern weisen apathogene, nicht-invasive Meningokokken auf. Etwa die Hälfte der bei Keimträgern zu isolierenden Meningokokken weisen keine Polysaccharidkapsel auf.[15] Träger von hypervirulenten Stämmen sind selten, jedoch für beinahe alle Erkrankungsfälle verantwortlich.[20] Als Risikofaktoren für die Trägerschaft gelten ein gemeinsamer Haushalt mit Trägern oder an einer Infektion erkrankten Personen, aktive oder passive Tabakrauch-Exposition, Infektionen der oberen Atemwege in der jüngeren Vergangenheit, sowie Küssen mit häufig wechselnden Partnern. Diese Faktoren erhöhen auch das Risiko an einer Meningokokkeninfektion zu erkranken.[18, 25]

Meningokokken kommen weltweit vor. Infektionen sind in Europa und Nordamerika im Winter und Frühjahr gehäuft. Von Januar bis März kommt es in etwa zu 30 – 40% der Erkrankungsfälle. In Europa treten meist nur sporadische Fälle oder sich langsam entwickelnde Epidemien, ausgelöst durch die Serogruppe

B, auf. Im sogenannten Meningitisgürtel der Subsaharazone und Asien treten häufig Epidemien auf, deren Auslöser meist die Serogruppe A ist. In der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts löste die Serogruppe A große Epidemien aus.[18 - 20] Die jährliche Inzidenz lag in Österreich in den Jahren von 1995 bis 2010 zwischen 0,73 und 1,41 Fällen pro 100.000 Einwohner. Etwa 60 – 70% dieser Fälle entfallen auf die Serogruppe B und 20 – 30% auf die Serogruppe C.[23, 24, 26, 27] Weltweit kommt es jährlich zu etwa 300.000 bis 500.000 Fällen. Große Epidemien können diese Zahlen jedoch deutlich in die Höhe treiben. So kam es 1996 und 1997 im afrikanischen Meningitisgürtel zum größten Ausbruch in der Geschichte mit mehr als 300.000 Erkrankten und mehr als 30.000 Toten. In den Jahren 2000, 2001 und 2002 kam es weltweit zu Epidemien, die durch die Serogruppe W135 ausgelöst wurden und in Zusammenhang mit muslimischen Mekka-Pilgern standen.[18] Die weltweiten Inzidenzwerte liegen je nach Region zwischen 0,2 und 1000 Erkrankungsfällen pro 100.000 Einwohnern.[23] Einen Überblick über die aktuelle geographische Verteilung der Serogruppen zeigt Abbildung 2.[28] Im Jahr 2010 verstarben 10 der 80 Patienten in Österreich. Das ergibt eine Letalität von 12,5%. 30% der Erkrankungsfälle präsentierten sich als Meningitis, 46% als Sepsis, 24% als Sepsis mit Meningitis.[24] Zwar kann eine Meningokokkeninfektion in jedem Alter auftreten, dennoch gibt es zwei Gipfel bei der Altersverteilung. Die höchste Inzidenz haben Kinder im Säuglingsalter, aber auch bei Jugendlichen zwischen 15 und 19 Jahren ist die Inzidenz etwa auf das drei bis vierfache erhöht. Dieser Zusammenhang wird in Abbildung 3 dargestellt. [20, 23, 24]

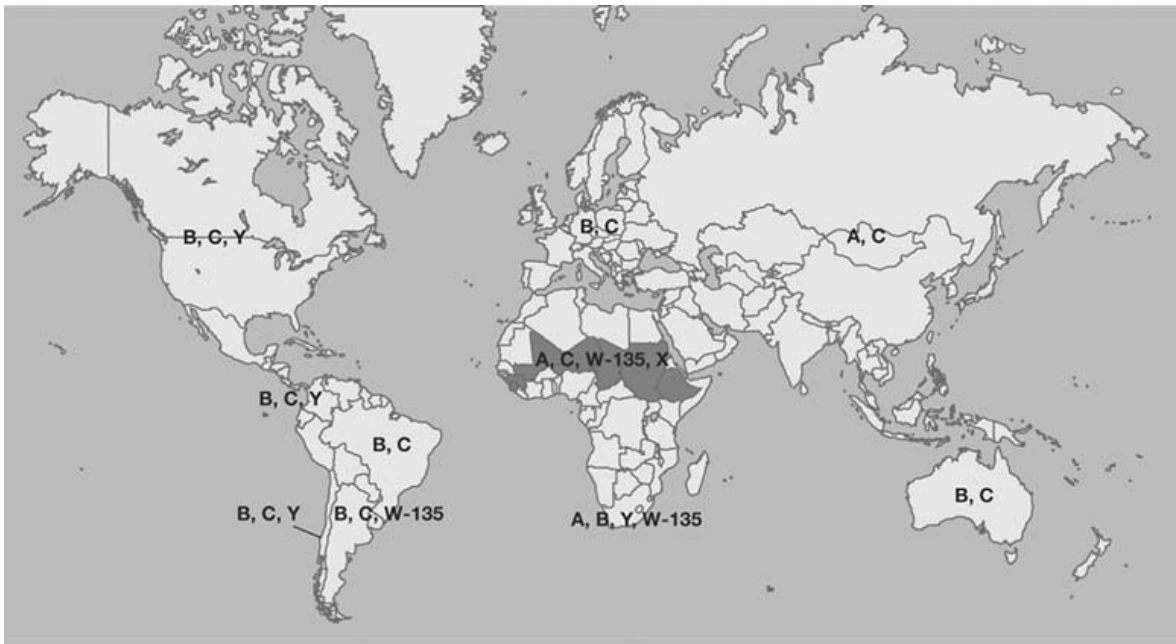


Abbildung 2: geographische Verteilung der Serogruppen von *Neisseria meningitidis*[28]

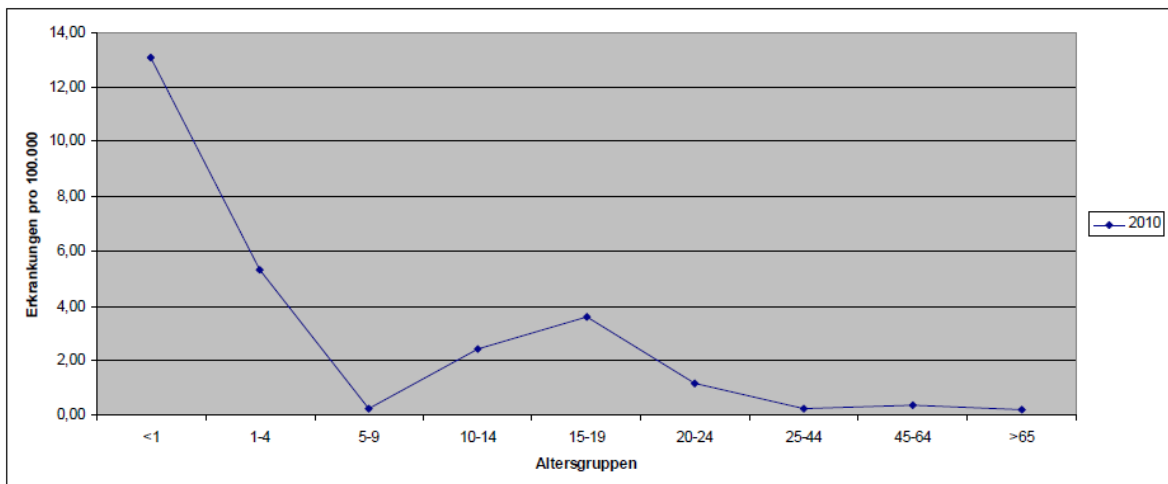


Abbildung 3: Inzidenz der Meningokokkenerkrankungen nach Altersgruppen in Österreich, 2010; nach Nationale Referenzzentrale für Meningokokken[24]

Die Meningokokken gelangen über Mukosazellen des Respirationstraktes zur Submukosa, von wo aus sie in die Blutbahn gelangen können. Die Invasion in die Blutbahn hat für den Erreger keinen evolutionären Vorteil. Daher ist auch die Ursache im Sinne einer evolutionär entstandenen Begründung dafür, dass manche Stämme schwerere Erkrankungen als andere auslösen können, noch nicht geklärt. Beim Durchdringen der Epithelbarriere im Nasopharynx kommt es zu

keinen lokalen Immunreaktionen. Nach Invasion in die Blutbahn können die Meningokokken lokale Infektionen auslösen, wie dies etwa bei der Meningitis der Fall ist, aber auch andere Organe können befallen werden. Bei rascherer Vermehrung der Meningokokken kann es zur Meningokokkensepsis kommen. Diese erscheint mit den typischen Hauteinblutungen, disseminierter intravasaler Gerinnung bis hin zum Schock. Im Blutkreislauf geben die Meningokokken sogenannte Blebs ab. Blebs sind Fragmente der äußeren Zellwand, die Lipopolysaccharide (LPS), sogenanntes Endotoxin, beinhalten. Die Blebs binden daraufhin Antikörper, die sonst die Bakterien angreifen würden. Wahrscheinlich spielen die Blebs eine wichtige Rolle bei der Pathogenese des Schocks bei der Meningokokkensepsis.[15, 17, 18]

Die Endotoxinspiegel im Blut der Patienten korrelieren direkt mit der Schwere und dem Verlauf der Meningokokken-Erkrankung. Das Endotoxin führt zur Freisetzung proinflammatorischer Mediatoren durch Makrophagen, Monozyten und Endothelzellen im Rahmen einer Sepsis durch gramnegative Keime. Die Serumspiegel proinflammatorischer Zytokine sind bei Patienten mit einer Meningokokkensepsis signifikant erhöht und korrelieren direkt mit der Schwere und dem Outcome der Erkrankung.[15, 17, 18]

Zu den Virulenzfaktoren, welche die Pathogenität mitbestimmen, gehören die Adhäsine mit deren Hilfe den Meningokokken eine Überwindung der Epithelbarriere ermöglicht wird, Rezeptoren für humanes Transferrin, die den Bakterien im Blutkreislauf ermöglichen Eisenionen vom Transferrin zu übernehmen, das Endotoxin, welches über Auslösung einer Zytokinkaskade Fieber, Gerinnungsstörungen und schließlich einen Schock auslösen kann, sowie vor allem die Polysaccharidkapsel, welche den Meningokokken einen Schutz vor Phagozytose und Opsonisation durch Komplementfaktoren bietet.[19] Die Polysaccharidkapsel bietet außerdem einen Schutz vor Austrocknung, was für die Verbreitung der Meningokokken von Bedeutung ist.[18]

Aufgrund der Empfindlichkeit von *Neisseria meningitidis* gegenüber Umweltfaktoren sterben sie außerhalb des Wirts rasch ab. Daher kann eine Infektion nur bei engem Kontakt mit einem Erkrankten oder Keimträger durch Übertragung von Sekret aus dem Nasen-Rachen-Raum erfolgen.[20]

Obwohl Meningokokken gut mit Antibiotika therapiert werden können und es für manche Serogruppen gut wirksame Impfstoffe gibt, sind sie dennoch immer noch eine der weltweit führenden Ursachen für Meningitis und rasch verlaufender Sepsis, häufig bei Patienten, die zuvor als gesund galten.[18]

1.1.1 Klinik

Die Inkubationszeit liegt zwischen zwei und zehn Tagen, in der Regel bei etwa drei bis vier Tagen. Am typischerweise plötzlichen Beginn der Erkrankung stehen ein schweres Krankheitsgefühl in Verbindung mit hohem Fieber, Schüttelfrost, Kopfschmerzen, Lichtempfindlichkeit und Meningismus. Die Meningokokken-Erkrankung ist als Allgemeininfektion aufzufassen, da immer eine Bakteriämie vorliegt. Die Erkrankung kann als alleinige Meningitis, alleinige Sepsis oder als Mischform in Erscheinung treten. Bei der Meningitis kann es außerdem zu neurologischen Symptomen wie Reizbarkeit, Schläfrigkeit, Krampfanfällen, Stupor bis hin zum Koma und Hirnnervenlähmungen kommen.[15, 20]

Wie die Meningokokken die Blut-Hirn-Schranke überwinden und in den Liquor gelangen ist unklar.[18] Es gibt Hinweise, dass die Gewebeschäden im Rahmen der Meningitis durch endotoxininduzierte Zytokine wie TNF α , IL-1 und IL-6 im Liquor verursacht werden. TNF α - und IL-1-Spiegel korrelieren auch mit dem Outcome der Erkrankung. In Tierversuchen konnte durch die Injektion von TNF α und IL-1 in den Liquor eine Meningitis ausgelöst werden.[4]

Prodromalerscheinungen mit Zeichen eines Infektes des oberen Respirationstraktes wie eine Pharyngitis, oder Schnupfen bis zu zwei Wochen vor dem eigentlichen Krankheitsbeginn sind möglich.[15, 29] Thompson et al.[29] konnten anhand einer systematischen Befragung der Eltern von Kindern, die an einer Meningokokkenerkrankung litten, die zeitliche Abfolge der Entwicklung der Symptomatik einer Meningokokkenerkrankung darstellen. Diese Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass die meisten Kinder in den ersten vier bis sechs Stunden nach retrospektiv betrachtetem Krankheitsbeginn nur unspezifische Symptome aufwiesen. Die klassischen Zeichen der Meningokokkenerkrankung wie petechiale Hauteinblutungen, Meningismus oder Bewusstseinsveränderungen entwickelten sich erst relativ spät mit einem Median von 13 – 22 Stunden nach

Krankheitsbeginn. Jedoch zeigten 72% der Kinder bereits relativ früh, mit einem Median von 8 Stunden, Zeichen der Sepsis mit kalten Händen und Füßen, Schmerzen in den Beinen und einer abnormen Hautfarbe, die als blass oder marmoriert beschrieben wurde. Bei Kindern unter 5 Jahren war Fieber das erste Symptom. Appetitverlust, Übelkeit und Erbrechen wurde bei Patienten aller Altersgruppen beschrieben. Bei kleineren Kindern wurden auch Schläfrigkeit, Atembeschwerden und Durchfall beschrieben. Das zuerst auftretende klassische Symptom der Meningokokkenerkrankung waren die petechialen Hauteinblutungen. In allen Altersgruppen entwickelte sich die Symptomatik in der Reihenfolge Fieber, gefolgt von den bereits beschriebenen Sepsissymptomen, erst zuletzt kamen die klassischen Symptome der Meningokokkenerkrankung, wie petechiale Hauteinblutungen, Meningismus, oder Bewusstseinsveränderungen, hinzu.[29] Thompson et al.[29] schlossen daraus, dass zur Früherkennung mehr Wert auf die Sepsissymptome bestehend aus kalten Extremitäten, Schmerzen in den Beinen und abnormaler Hautfarbe gelegt werden sollte.[29]

Eine Infektion der Endothelzellen kann eine Thrombosierung der Kapillaren und als deren Folge Mikrozirkulationsstörungen verursachen. Endothelschäden führen auch zur kapillären Leakage, ein Prozess der zum Teil auch durch die zirkulierenden Mediatoren vorangetrieben wird.[17] Dadurch kommt es zu Hauteinblutungen, deren Ausmaß zwischen petechial und großflächig liegen kann. [20] Die Abbildungen 4 und 5 zeigen Beispiele dieser Hauteinblutungen.[30]

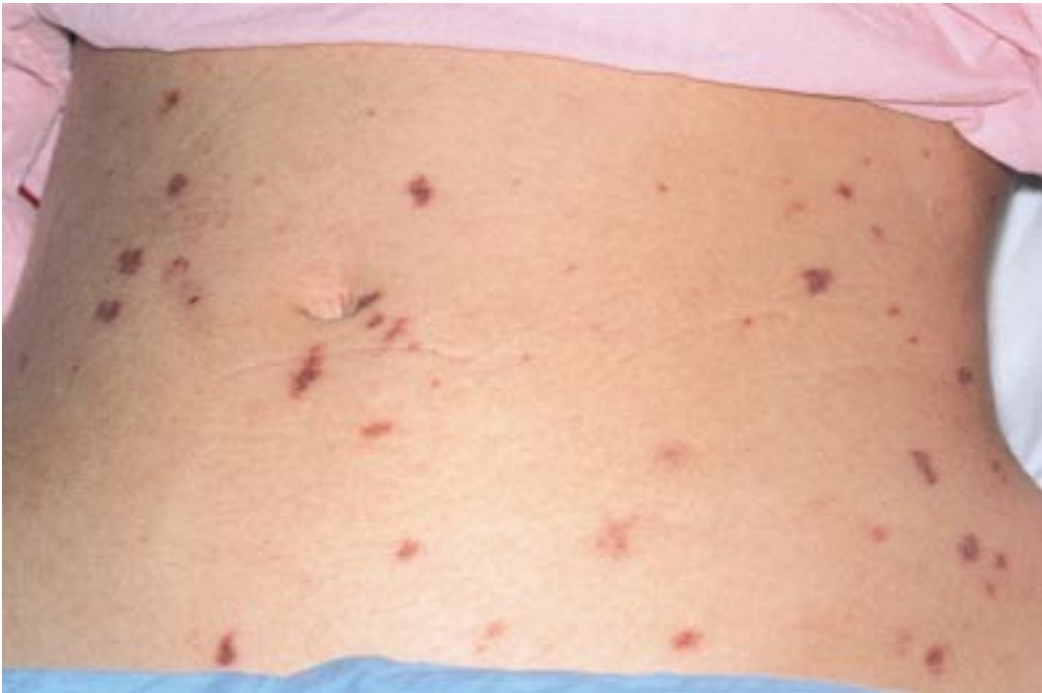


Abbildung 4: Petechiale Hauteinblutungen im Rahmen einer Meningokokkensepsis[30]



Abbildung 5: Purpura fulminans im Rahmen einer Meningokokkensepsis[30]

Als klinisch und vor allem für die Früherkennung der Erkrankung durch medizinische Laien bedeutsam kann der Umstand angesehen werden, dass sich

diese Hauteinblutungen im Gegensatz zu Exanthenen, die durch eine Vasodilatation entstehen, nicht wegdrücken lassen, was man klassischerweise mit einem Glasspatel überprüfen kann.[20] Abbildung 6 zeigt die Anwendung des Glasspateltestes.[31] Dieses petechiale Exanthem ist charakteristisch und bei septischen Verläufen stark ausgeprägt, kann jedoch am Beginn der Erkrankung noch diskret sein.[20] Die Hauteinblutungen treten typischerweise am Stamm und an den unteren Extremitäten auf, können jedoch auch das Gesicht, die Arme und die Schleimhäute betreffen.[18] Hauteinblutungen finden sich bei etwa 70% der Patienten mit einer Meningokokkeninfektion.[15] Die Hauteinblutungen können nekrotisieren und sogar ulzerieren. Es kann auch zu Thrombosen kleiner und mittelgroßer Arterien und dadurch zu Nekrosen der Akren sowie Organe kommen. Diese Patienten zeigen oft eine scharfe Grenze zwischen ischämischen und normal durchbluteten Arealen. Das Waterhouse-Friderichsen-Syndrom ist die hämorrhagische Nekrose der Nebennieren in Folge der disseminierten intravasalen Gerinnung.[18 - 20] Bei beinahe allen Patienten, die an einer fulminanten Meningokokkensepsis versterben, können bei der Autopsie Einblutungen in die Nebennieren gefunden werden.[18] Der zeitliche Zusammenhang zwischen dem erstmaligen Auftreten der Petechien und dem Beginn der Therapie korreliert negativ mit dem Outcome, das heißt je früher die Blutungen auftreten, umso schlechter ist die Prognose.[17]

Die fulminante Meningokokkensepsis, oder Purpura fulminans, gehört möglicherweise zu den am raschesten fortschreitenden Ursachen für einen septischen Schock beim Menschen. Sie unterscheidet sich von anderen Formen des septischen Schocks durch die markanten Hauteinblutungen, sowie dem regelmäßigen Vorhandensein einer disseminierten intravasalen Gerinnung. Meningokokken können sich im Blutkreislauf stark vermehren, wodurch die Konzentration von Endotoxin bei Patienten mit einer fulminanten Meningokokkensepsis 10- bis 1000-mal so hoch ist wie bei Patienten mit einer Bakteriämie durch andere gramnegative Bakterien.[18] Die durch das Endotoxin hervorgerufene systemische Immunreaktion trägt auch zu der Entstehung von Gewebeschäden bei. Das Endotoxin führt zur massiven Störung der Fibrinolyse, aber auch gerinnungsfördernder Faktoren, des Komplementsystems, des Kallikrein-Kinin-Systems und der Zytokinproduktion, sowie zur Aktivierung von

Neutrophilen und Thrombozyten. Das Ausmaß dieser Reaktionen auf Endotoxin ist dosisabhängig. Das Endotoxin bindet im Blut an diverse Proteine. Manche von diesen Proteinen vermindern die Wirkung des Endotoxins, Lipopolysaccharid-binding-Protein (LBP) hingegen verstärkt die Wirkung, da es Endotoxin am CD14-Rezeptor von Makrophagen und Granulozyten präsentiert.[17, 32]



Abbildung 6: Der Glasspateltest in der Anwendung bei einem petechialen Exanthem[31]

Patienten mit einer fulminanten Meningokokkensepsis zeigen einen Flüssigkeitsverlust in den extravaskulären Raum durch kapilläre Leakage, Schock, eine Dysregulation des Gefäßtonus und multiple Organdysfunktionen, wie beispielsweise des Herzens. Initial gibt es zwei Erscheinungsformen des septischen Schocks. Kinder zeigen oftmals einen sogenannten kalten Schock mit einer Vasokonstriktion und dadurch Erhöhung des peripheren Gefäßwiderstandes, später kommt es zur Vasodilatation und Hypotonie. Dies ist durch die geringere kardiale Reserve von Kindern im Vergleich zu Erwachsenen bedingt, daher besteht die Gegenreaktion des kindlichen Organismus hauptsächlich aus einer Erhöhung des peripheren Gefäßwiderstandes. Im Gegensatz dazu zeigen Erwachsene und Adoleszente häufiger einen sogenannten warmen Schock mit

niedrigem peripheren Gefäßwiderstand, normaler oder erhöhter Herzauswurfleistung und Tachykardie.[17, 18, 33]

Der Hauptmechanismus, der zum Tod durch eine Meningokokkensepsis führt ist der Zusammenbruch des Kreislaufs durch intravaskulären Volumenmangel in Folge der Vasodilatation und kapillären Leakage, und des Versagens der ausreichenden Pumpfunktion des Herzens. Die dadurch hervorgerufene Minderdurchblutung führt zur Hypoxie und Azidose.[17, 18]

Patienten mit einer fulminanten Meningokokkensepsis zeigen oft einen normalen Liquorbefund. Die Abwesenheit einer Meningitis geht mit einer schlechten Prognose einher. Offenbar vermehren sich die Erreger bei diesen Patienten so rasch, dass in der kurzen Zeit eine Besiedlung der Meningen noch nicht erfolgen kann. Die meisten dieser Patienten zeigen anfangs auch keine Akute-Phase-Reaktion, so können beispielsweise das C-reaktive Protein (CRP) oder die Blutsenkungsgeschwindigkeit noch normal sein.[18]

Säuglinge und Kleinkinder zeigen eine uncharakteristischere Klinik. Sie können an Fieber, Erbrechen, Reizbarkeit, Schläfrigkeit, Aufschreien, Nahrungsverweigerung und Krämpfen leiden. Die Fontanelle kann bei einer Meningitis vorgewölbt sein. Der Meningismus kann fehlen.[15, 20]

Komplikationen treten in 10 – 20% aller Fälle auf. Als Folge einer Meningitis können ein Hirnödem mit einer Hirnstammeinklemmung, Hirnnervenlähmungen, eine Hemiplegie, Krampfanfälle, ein Hydrocephalus, Einschränkungen des Intellekts, Lernschwierigkeiten, eine Taubheit durch Innenohrschädigung und psychosomatische Entwicklungsstörungen auftreten. Durch eine Sepsis kann es zu begrenzten Nekrosen, aber auch gangränösen Akren und Gliedmaßen kommen. Durch evtl. notwendige Amputationen können schwere Behinderungen entstehen.[20] An einer alleinigen Meningitis verstarb in Österreich im Jahr 2010 einer von 23 Patienten, was in etwa einer Letalität von 4,3% entspricht. An einer Meningokokkensepsis verstarben im Jahr 2010 in Österreich 8 von 37 Patienten, dies entspricht in etwa einer Letalität von 22%. Die kombinierte Erkrankung bestehend aus einer Sepsis und Meningitis führte bei einem von 19 Patienten zum Tod, das entspricht in etwa einer Letalität von 5,3%.[23] Hierzu ist jedoch anzumerken, dass durch die kleinen Fallzahlen Einzelfälle die Angaben zur Letalität stark beeinflussen. Unter den Patientendatensätzen, die im Rahmen des

„Central European Meningococcal Network“ gesammelt wurden, liefern 449 Rückschlüsse auf die Erkrankungsform. Dies beinhaltet auch Fälle, die im Rahmen dieser Diplomarbeit nicht untersucht werden konnten, da entweder keine Genotypisierung möglich war, oder die Proben und Datensätze erst nach Abschluss der Untersuchung eingelangt sind. Darunter sind 184 alleinige Meningitisfälle, 78 Fälle einer Meningokokkensepsis und 187 Fälle einer kombinierten Erkrankung. In diesem Kollektiv verstarb keiner der Patienten an einer alleinigen Meningitis. Jedoch starben 23 der Meningokokkensepsispatienten, was einer Letalität von 29,5% entspricht. An der kombinierten Erkrankung verstarben 19 Patienten, dies entspricht einer Letalität von 10,2%.

Wenn bei der Erstuntersuchung ein Schock vorliegt, Purpura oder Ekchymosen gefunden werden, eine niedrige oder normale Leukozytenzahl vorliegt, der Patient über 60 Jahre alt ist, oder bereits im Koma liegt, ist ein tödlicher Ausgang häufiger als in anderen Fällen. Ebenso mit einer Erhöhung der Letalität gehen die Abwesenheit einer Meningitis, eine Thrombozytopenie, niedrige Konzentrationen von Protein S, Protein C oder Antithrombin, hohe PAI-1-Konzentrationen, eine niedrige Blutsenkungsgeschwindigkeit und ein niedriges CRP einher.[18] Die meisten Patienten mit tödlichem Ausgang der Meningokokkensepsis versterben innerhalb der ersten 24 Stunden.[3]

1.1.2 Nachweis

Die frühe Verdachtsdiagnose aufgrund der klinischen Symptomatik ist für die rasche Einleitung der Therapie entscheidend. Beim Verdacht auf eine Infektion mit Meningokokken sollte keine Liquorpunktion durchgeführt werden. Der mikroskopische Nachweis einer Granulozyteninvasion in einer Liquorprobe kann erst einige Stunden nach Beginn erfolgen. Das Ergebnis der Liquorpunktion hätte des Weiteren keinen Einfluss auf die Akuttherapie. Demgegenüber steht das Risiko einer Liquorpunktion bei Kindern mit erhöhtem Hirndruck, Blutgerinnungsstörungen oder Schock, die allesamt Kontraindikationen einer Liquorpunktion darstellen und bei einer Meningokokkenerkrankung auftreten können. Eine Liquorpunktion bei Patienten mit erhöhtem Hirndruck kann

beispielsweise eine Hirnstammeinklemmung mit potentiell tödlichem Ausgang verursachen.[34, 35]

Die Meningokokken liegen sowohl intra- als auch extrazellulär in Gruppen. Ein kultureller Nachweis der Erreger ist möglich. Abstriche von Hautläsionen werden selten, jene vom Nasopharynx häufig verwendet. Abstriche aus dem Nasopharynx können bei einer bereits vor der Probennahme begonnenen Penicillintherapie und dadurch evtl. negativen Kulturen aus Blut oder Liquor Hinweise auf den auslösenden Stamm liefern. Die Aussagekraft eines Antigennachweises im Nativliquor, der beispielsweise mittels Latexagglutination erfolgen kann, ist begrenzt. Bei dem kulturellen Nachweis ist zu beachten, dass Meningokokken äußerst empfindlich gegenüber Umwelteinflüssen sind. Aus diesem Grund hat der Transport ungekühlt und in geeigneten Transportmedien zu erfolgen. Sowohl in Liquor als auch Blut kann die Meningokokken-DNS mittels PCR nachgewiesen werden. Dieses Verfahren ermöglicht auch die Bestimmung der Serogruppen und die Feintypisierung. Der Nachweis von Antikörpern gegen Kapselpolysaccharide der Meningokokken ist im Akutstadium zur Diagnose ungeeignet, eignet sich jedoch für die Kontrolle des Impfstatus bei immunsupprimierten Patienten. [15, 19, 20]

1.1.3 Therapie

Für den Therapieerfolg ist eine rasche Antibiose essentiell. Antibiotika der ersten Wahl sind Ceftriaxon oder Cefotaxim, Cephalosporine der dritten Generation. Cephalosporine der dritten Generation schließen in ihrem Wirkspektrum auch andere Meningitiserreger mit ein, was durch das oftmalige Fehlen des Keimnachweises bedeutsam ist.[15, 35, 36] Auch Penicillin G ist wirksam gegen Meningokokken, jedoch sind Resistenzen gegen Penicillin G im Zunehmen begriffen.[18] 2009 wurde in Österreich ein Penicillin G-resistenter Stamm nachgewiesen, der aus den Niederlanden importiert wurde.[26] Um auch die Erreger im Nasen-Rachen-Raum zu eradizieren, sollten Patienten, die mit Penicillin G oder Cephalosporinen der ersten Generation behandelt wurden, welche nur in begrenztem Ausmaß in den nasopharyngealen Schleim eindringen, nach der Akuttherapie ebenso eine Chemoprophylaxe mit Rifampicin,

Ciprofloxacin oder Ceftriaxon erhalten, wie es für Kontaktpersonen empfohlen ist. Aufgrund des chondrotoxischen Potentials ist bei der Anwendung von Ciprofloxacin jedoch zu beachten, dass es bei Schwangeren, in der Stillzeit sowie bei Kindern und Jugendlichen bis zum Abschluss der Wachstumsphase kontraindiziert ist.[15, 19, 20, 37] Die Antibiotikagabe bei Patienten mit einer Meningokokken-Meningitis sollte über sieben Tage erfolgen.[36]

Die Gabe von Glukokortikoiden bei Meningitispatienten ist umstritten.[18] Da das Outcome einer Meningitis von der Schwere der entzündlichen Reaktionen im Subarachnoidalraum abhängt und Glukokortikoide diese entzündlichen Prozesse vermindern, liegt die Vermutung nahe, dass die Gabe von Glukokortikoiden auch das Outcome verbessern sollte. Erste Ergebnisse bzgl. der durch *Haemophilus influenzae B* verursachten Meningitis schienen diese Vermutung zu bestätigen.[38] Dennoch konnten beispielsweise van de Beek et al.[38] in einer Metaanalyse keine Verringerung der Letalität oder neurologischen Komplikationen für die zusätzliche Gabe von Glukokortikoiden nachweisen. Es gab jedoch in einer Post-Hoc-Analyse Hinweise auf geringe Raten an Hörschäden unter den mit Glukokortikoiden behandelten Überlebenden. Jedoch konnte auch keine erhöhte Rate an Nebenwirkungen durch die Gabe von Glukokortikoiden nachgewiesen werden.[38] Die Metaanalyse von van den Beek et al.[38] kam zum Schluss, dass es weder einen Vorteil noch einen Schaden durch die Gabe von Glukokortikoiden bei einer Meningitis gibt. Es ist jedoch in diesem Zusammenhang darauf hinzuweisen, dass sich van de Beek et al.[38] mit der bakteriellen Meningitis im Allgemeinen und nicht mit der Meningokokkenmeningitis im Speziellen befassten.[38]

Davon abzugrenzen ist die niedrig dosierte Gabe von Glukokortikoiden bei Patienten mit septischem Schock. Für diese Maßnahme zeigten mehrere Studien einen positiven Effekt auf das Überleben. Der positive Effekt von Glukokortikoiden bei der Therapie von Patienten mit septischem Schock hängt jedoch von der Schwere der Erkrankung ab. Die Mortalität sank durch die niedrig dosierte Gabe von Glukokortikoiden bei jenen Patienten, die zum Zeitpunkt der Therapie ein hohes Risiko hatten zu sterben. Dies galt für Patienten, die trotz Volumen- und Vasopressorgabe hypotensiv blieben. Für die hoch dosierte Gabe von Glukokortikoiden bei Patienten mit septischem Schock konnte eine Erhöhung der

Mortalität gezeigt werden.[39 - 41] Sprung et al.[41] konnten jedoch in einer Multicenter-Studie keine positiven Effekte hinsichtlich der Mortalität von Sepsispatienten für eine niedrig dosierte Glukokortikoidgabe nachweisen. Der therapeutische Effekt einer niedrig dosierten Glukokortikoidgabe bei Sepsispatienten ist derzeit nicht geklärt.[41, 42]

Naturgemäß müssen auch möglicherweise auftretende Komplikationen, wie etwa ein Schock, Gerinnungsstörungen und ein Hirnödem etc. entsprechend behandelt werden.[20] Bei Bedarf in Form von ausreichender Flüssigkeitssubstitution, Beatmung und Katecholamingabe. Wenn trotz großzügiger Flüssigkeitssubstitution und Vasopressorgabe der Schock persistiert, kann man Glukokortikoide in niedriger Dosierung geben, wenngleich der Effekt dieser Maßnahme nicht letztlich geklärt ist.[18, 39 - 42] Die hochdosierte Gabe von Antithrombin III bei Sepsispatienten zeigte, trotz der Hinweise auf einen therapeutischen Vorteil aus Tierversuchen und Phase 2 Studien, bei einer Phase 3 Studie keinen therapeutischen Effekt.[43] Bei Patienten mit Blutungen sollte man FFP geben, wenngleich es keine Beweise gibt, dass eine FFP-Gabe die Sterblichkeit beeinflusst.[18, 44]

1.1.4 Prophylaxe

Antikörper gegen Kapselantigene und Oberflächenstrukturen von Meningokokken werden durch Kolonisation mit *Neisseria meningitidis*, sowie anderer nicht-pathogener Neisserien induziert.[15, 17, 19] Da die Antikörper gegen Antigene der Polysaccharidkapsel gerichtet sind, sind sie serogruppenspezifisch. Antikörper gegen subkapsuläre Strukturen wie etwa PorA oder PorB können evtl. mit anderen Serogruppen kreuzreagieren. Kinder werden in den ersten Lebensmonaten durch mütterliche IgG-Antikörper geschützt.[18]

Die aktive Immunisierung kann mit Totimpfstoffen aus gereinigtem Kapselpolysaccharid erfolgen. Bei Verfügbarkeit und Zulassung sind jedoch konjugierte Impfstoffe den Polysaccharid-Impfstoffen vorzuziehen, da Konjugat-Impfstoffe einen länger anhaltenden Schutz bieten als Polysaccharid-Impfstoffe, ein immunologisches Gedächtnis induzieren und die Trägerrate verringern. Impfstoffe stehen jedoch nur für die Serogruppen A, C, Y und W135 zur Verfügung, hingegen nicht für die in Österreich für etwa 60 – 70% der Fälle verantwortliche Serogruppe

B.[19, 27, 45] Diese Impfung wird im österreichischen Impfplan des Jahres 2011 empfohlen.[44] Seit 1995 verstarben in Österreich 23 Personen, davon 19 Kinder und Jugendliche, an einer Infektion mit Meningokokken der Serogruppe C. Für Kinder ab dem vollendeten zweiten Lebensmonat stehen konjugierte Impfstoffe gegen die Serogruppe C zur Verfügung. Ab dem vollendeten zweiten Lebensjahr kann auch ein tetravalenter Polysaccharid-Impfstoff gegen die Serogruppen A, C, W135 und Y verwendet werden.[44] Laut österreichischem Impfplan[44] des Jahres 2011 wird empfohlen zwei Dosen des konjugierten Impfstoffes gegen die Serogruppe C im ersten Lebensjahr im Abstand von acht Wochen zu verabreichen, sowie eine dritte Impfung im zweiten Lebensjahr. Falls die Erstimpfung nach dem vollendeten ersten Lebensjahr erfolgt, genügt eine Impfdosis. Zwischen dem 11. und 13. Lebensjahr wird eine erneute Impfung empfohlen, bei dieser sollte der tetravalente Konjugat-Impfstoff verwendet werden. Die einmalige Applikation des tetravalenten Polysaccharid-Impfstoffes führt bei 80 – 95% der immunkompetenten Erwachsenen zur Immunität.[18] Die Empfehlung zur Impfung gilt für alle Kinder und Jugendliche, vor allem aber wenn diese in eine Gemeinschaftswohneinrichtung eintreten, wie etwa Studentenwohnheime oder Kasernen. Zwar wird auch Kontaktpersonen eines Erkrankten eine Impfung empfohlen, wenn die auslösende Serogruppe im Spektrum eines Impfstoffes enthalten ist, jedoch ist hervorzuheben, dass die Impfung eine postexpositionelle Antibiotikaphylaxe nicht ersetzen kann. Beruflich exponierten Personen wird eine Impfung mit einem tetravalenten Konjugat-Impfstoff empfohlen. Weiters wird Reisenden in Meningokokken-Endemiegebiete empfohlen sich entsprechend der in dem betreffenden Gebiet vorhandenen Serogruppen impfen zu lassen. Unter den Endemiegebieten ist Saudiarabien hervorzuheben, da die Hadj-Pilger die dort vorherrschende Serogruppe W135 immer wieder in ihre Heimatländer, und somit auch nach Europa, einschleppen.[27, 45]

Das Fehlen eines Impfstoffes gegen die Serogruppe B ist damit zu erklären, dass die Polysaccharidstrukturen der Kapsel dieser Serogruppe der Struktur des human neural cell adhesion molecule (N-CAM) auf menschlichen Nervenzellen ähnelt, was die Entwicklung von Impfstoffen, die auf Kapselantigenen basieren, erschwert.[18] Einen Ansatz um dieses Problem zu lösen bieten die sogenannten

Outer-Membrane-Vesicle (OMV) Vakzine, die auf dem Membranprotein PorA basieren. Derartige Impfstoffe wurden in verschiedenen Ländern, wie etwa Kuba, Norwegen oder Neuseeland, verwendet. Der Nachteil dieser Impfstoffe ist, dass sie stammspezifisch sind und dadurch nur einen Teil der Meningokokken der Serogruppe B abdecken. Derzeit befinden sich Impfstoffe in Entwicklung, die mehrere Membranproteine enthalten um das Wirkspektrum des Impfstoffes zu vergrößern.[20]

Kontaktpersonen haben ein deutlich erhöhtes Risiko zu erkranken, vor allem wenn sie im Rahmen von Reanimationsmaßnahmen einem Aerosol aus großen Erregermengen ausgesetzt waren. Aus diesem Grund ergibt sich die Notwendigkeit der Chemoprophylaxe für Angehörige des Patienten und medizinisches Personal, das Reanimationsmaßnahmen durchgeführt hat, mit Rifampicin für zwei Tage, oder bei Erwachsenen einer Einmalgabe von 500 mg Ciprofloxacin. Weiters ist zur Prophylaxe eine einmalige i.m.-Gabe von Ceftriaxon möglich. Die Chemoprophylaxe sollte hingegen nicht mit einem Penicillin erfolgen, da die Ausscheidung des Penicillins in den Schleim des Nasen-Rachen-Raumes nicht ausreicht um die Meningokokken zu eradizieren. In der Schwangerschaft ist das Mittel der Wahl Ceftriaxon. Obwohl das in diesem Präparat enthaltene Lidocain in der Schwangerschaft kontraindiziert ist, gilt das Präparat als unbedenklich. Darüber hinaus müssen Kontaktpersonen über die Charakteristik der Frühsymptome informiert werden und darauf hingewiesen werden bei Verdacht unbedingt einen Arzt aufzusuchen. Jedoch sind nur ein bis zwei Prozent aller Erkrankungsfälle sekundäre Fälle. Das höchste Risiko hierfür haben enge Haushaltskontaktpersonen, deren Risiko zwischen 400- und 1200-fach erhöht ist, sofern sie keine Chemoprophylaxe erhalten.[19, 20] Nach der ständigen Impfkommission der Bundesrepublik Deutschland[45] zählen zu den engen Kontaktpersonen alle Haushaltsmitglieder, Personen, die Kontakt zu oropharyngealem Sekret eines Patienten hatten, Personen mit Kontakt in Kindereinrichtungen mit Kindern unter sechs Jahren, wobei man bei guter Gruppentrennung nur die betroffene Gruppe hierzu zählen muss, sowie Personen mit engem Kontakt in Gemeinschaftswohneinrichtungen. Der enge Kontakt darf maximal sieben Tage vor Ausbruch der Erkrankung erfolgt sein, um als Kontaktperson zu gelten. Die Chemoprophylaxe sollte so rasch wie möglich

erfolgen. Als sinnvoll gilt sie bis maximal zehn Tage nach dem letzten Kontakt. Für die Chemoprophylaxe ist der Impfstatus unerheblich, sie sollte auf jeden Fall durchgeführt werden.[15, 20]

Etwa 24 Stunden nach Therapiebeginn mit einem Antibiotikum besteht keine Ansteckungsgefahr mehr. Bis dahin müssen jedoch strenge hygienische Maßnahmen beachtet werden, wie etwa eine konsequente Händehygiene, die Verwendung von Schutzhandschuhen, sowie Schutzkitteln, die im Patientenzimmer verbleiben. Bei engem Kontakt zum Patienten ist auch ein Atemschutz zu verwenden.[20]

Nach §1 Abs. 1 des österreichischen Epidemiegesetzes in der zum Zeitpunkt der Erstellung dieser Arbeit gültigen Fassung unterliegt eine Meningitis oder Sepsis, die durch Meningokokken hervorgerufen wurde, genauso wie jede andere bakterielle Meningitis oder Sepsis im Erkrankungs- oder Todesfall einer Anzeigepflicht. Die Anzeige hat entsprechend §2 Abs. 1 des Epidemiegesetzes bei der Bezirksverwaltungsbehörde, in der sich der Kranke aufhält bzw. der Tod eingetreten ist, innerhalb von 24 Stunden zu erfolgen.

1.2 Sepsis

Die Inzidenz der Sepsis und des septischen Schocks nahm in den letzten beiden Jahrzehnten zu. Etwa zwei Drittel der Fälle treten bei Patienten auf, die sich aus anderen Gründen stationär im Krankenhaus befinden. Der Anstieg der Inzidenz hat mehrere Ursachen, so den Umstand, dass die Bevölkerung älter wird, auch chronisch kranke Menschen älter werden, Therapien mit Immunsuppressiva häufiger wurden und die Sepsis bei AIDS-Patienten relativ häufig auftritt. Ein weiterer Einflussfaktor ist der zunehmende Einsatz von Venenverweilkanülen, Dauerkathetern, oder auch Beatmungsmaschinen, die allesamt als Streuherde für Keime dienen können.[1, 47 - 49]

1.2.1 Definition

Bis vor nicht allzu langer Zeit wurden die Begriffe Sepsis, Bakteriämie und Septikämie mit Überschneidungen benutzt.[46] Als Bakteriämie versteht man den Nachweis von Bakterien im Blut.[47 - 50] Das sogenannte Syndrom der systemischen Entzündungsreaktion, besser unter der englischen Bezeichnung Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) bekannt, wird laut Goldstein et al.[50] im pädiatrischen Zusammenhang definiert als eine generalisierte systemische Reaktion aufgrund einer Entzündung, auf die mindestens zwei der Kriterien:

- Körperkerntemperatur über 38,5°C oder unter 36°C
- Tachykardie mit einer Herzfrequenzerhöhung über die doppelte Standardabweichung des altersbezogenen Normwertes hinaus. Externe Stimuli für eine Tachykardie wie etwa Medikamente oder Schmerzen dürfen nicht vorhanden sein
- Bei Kindern unter einem Jahr: Bradykardie mit einer Herzfrequenz unter der 10. Perzentile. Auch hier dürfen keine anderen Ursachen für die Bradykardie vorhanden sein
- Tachypnoe mit einer Atemfrequenzerhöhung über die doppelte Standardabweichung des altersbezogenen Normwertes hinaus, oder die Notwendigkeit einer Beatmung, sofern keine anderen Ursachen für die Beatmung vorhanden sind, wie etwa eine neuromuskuläre Erkrankung, oder eine Narkose
- Bezüglich des altersbezogenen Normwertes erhöhte oder erniedrigte Leukozytenzahl, oder mehr als 10% stabkernige, also unreife neutrophile Granulozyten

zutreffen.[50] Tabelle 1 stellt die Normalwerte für die Herz- und Atemfrequenz von Kindern kurz dar.[35]

Alter	Herzfrequenz (Schläge/Minute)	Atemfrequenz (Atemzüge/Minute)
< 1	110 – 160	30 – 40
1 – 2	100 – 150	25 – 35
2 – 5	95 – 140	25 – 30
5 – 12	80 – 120	20 – 25
> 12	60 – 100	15 - 20

Tabelle 1: Normalwerte für Herzfrequenz und Atemfrequenz bei Kindern; nach Meningitis Research Foundation[35]

Die Sepsis ist als SIRS mit zusätzlichem Nachweis einer Infektion definiert. Ein SIRS kann auch ohne Infektion auftreten, mögliche nichtinfektiöse Ursachen sind z.B. ein schweres Trauma oder ausgedehnte Verbrennungen. Unter schwerer Sepsis versteht man eine Sepsis in Verbindung mit einer Organdysfunktion. Der septische Schock ist eine Sepsis mit einer Hypotonie, die trotz ausreichender Flüssigkeitssubstitution aufrecht bleibt. Die Hypotonie wird bei Erwachsenen in diesem Fall mit einem systolischen Blutdruck unter 90 mmHg, einem mittleren arteriellen Druck (MAP) unter 60 mmHg oder einem Abfall des systolischen Blutdruckes um mehr als 40 mmHg ohne andere Gründe definiert. Bei Kindern liegen die Grenzwerte für Hypotonie in diesem Fall bei systolischen Blutdruckwerten, die um mehr als zwei Standardabweichungen geringer sind als der altersbezogene Normalwert, der wiederum bei etwa $80 + (\text{Alter in Jahren} \times \text{zwei})$ mmHg liegt. Wenn gleichzeitig positiv inotrope oder vasokonstriktive Substanzen eingesetzt werden, muss die Hypotonie für die Diagnose des septischen Schocks nicht bestehen. Hinweis auf Perfusionsstörungen im Rahmen des septischen Schocks liefern unter anderem eine Laktatazidose, Oligurie oder eine Bewusstseinsveränderung. Vom refraktären septischen Schock spricht man, wenn der septische Schock trotz Therapie über mehr als eine Stunde anhält. [35, 47 - 51]

1.2.2 Pathophysiologie

Am besten untersucht ist die Bakteriämie durch gramnegative Erreger, wie dies auch Meningokokken sind. Das Endotoxin der äußeren Zellmembran gramnegativer Bakterien löst eine Kaskade von proinflammatorischen Reaktionen aus. Das Endotoxin wird dem CD14-Rezeptor auf Makrophagen, Monozyten und Neutrophilen präsentiert. Es kommt zur Ausschüttung von Mediatoren, der Aktivierung des Komplementsystems, des Kallikrein-Kinin-Systems, der Aktivierung der Fibrinolyse, aber auch Gerinnung und der Aktivierung von neutrophilen Granulozyten und Thrombozyten. Die lokale Produktion und Freisetzung von Chemokinen, Prostanoiden, Leukotrienen und anderen Zytokinen führt außerdem zur Verbesserung der Durchblutung im betroffenen Gewebe, Erhöhung der Gefäßpermeabilität und Schmerzen. Für einen Großteil der augenscheinlichen Symptome der Sepsis sind TNF α und IL-1 verantwortlich. Diese beiden Mediatoren sind wahrscheinlich die stärksten Pyrogene. Bei Tierversuchen konnte die Klinik eines septischen Schocks durch Gabe von TNF α und IL-1 imitiert werden, obwohl keine Infektion bestand. Es gibt die Hypothese, dass die Reaktion im Rahmen der Sepsis eine Überreaktion sei und den Patienten unter Umständen mehr schädige als die Infektion selbst.[17, 47, 48]

Die Zytokinantwort des Körpers auf eine Infektion ist sehr komplex. Bei Patienten mit septischem Schock konnten erhöhte Blutkonzentrationen von mehr als 50 Substanzen nachgewiesen werden. Man kann pro- und antiinflammatorische Mediatoren finden. Leukozyten von Patienten mit schwerer Sepsis zeigen eine verminderte Antwort auf Endotoxin und andere Agonisten. Wenn diese verminderte Antwort auf Agonisten persistiert, ist das für Patienten mit schwerer Sepsis mit einem erhöhten Risiko zu versterben verbunden. Wie die pro- und antiinflammatorischen Faktoren zur Hypotonie und Dysfunktion von Organen, die fern ab des eigentlichen Infektionsherdes liegen, führen ist noch nicht bis ins Detail bekannt. Man geht davon aus, dass ausgedehnte Endothelschäden den wichtigsten Mechanismus darstellen, der zum Multiorganversagen führt. Die Sauerstoffversorgung des Gewebes nimmt ab durch Verengung der Kapillarlumina aufgrund anschwellender Endothelzellen, verringerter Verformbarkeit der zirkulierenden Erythrozyten, Leukozyten-Thrombozyten-Fibrin-Thromben und

durch eine Kompression, die durch ein Ödem des umliegenden Gewebes entsteht.
[48, 52]

Glukokortikoide können in vitro die Zytokinsynthese durch Monozyten hemmen. Auch in der frühen Phase der systemischen Immunreaktion steigen die Blut-Cortisolspiegel an. Des Weiteren ist bekannt, dass Adrenalin die TNF α -Freisetzung nach einer Endotoxininfusion hemmen kann und im Gegenzug jene von IL-10 fördert, ähnlich ist der Effekt von Prostaglandin E₂. Cortisol, Adrenalin, IL-10 und C-reaktives Protein vermindert die Fähigkeit von neutrophilen Granulozyten sich am Endothel anzuheften.[47]

Die Zytokinkaskade führt zur Dilatation peripherer Gefäße und dadurch zum Abfall des peripheren Widerstandes. Als Kompensationsmechanismus für das Absinken des peripheren Widerstandes wird das Herzzeitvolumen erhöht. Wenn die Kompensationsmechanismen nicht ausreichen, kommt es zur Minderperfusion von Organen und Muskulatur. Das wiederum hat durch den Sauerstoffmangel im Gewebe metabolische Konsequenzen, die man beispielsweise in Form einer Laktatazidose erkennen kann. Die Laktatazidose entsteht zum Teil auch durch eine verstärkte Glykolyse und die verminderte Clearance von Laktat und Pyruvat durch Leber und Nieren.[47, 48]

Blutkulturen sind nur in 20 – 40% bei schwerer Sepsis und in 40 – 70% beim septischen Schock positiv auf Bakterien. Bei Patienten mit negativen Blutkulturen können die Erreger der Sepsis oftmals durch Kulturen von Proben von lokalen Infektherden bestimmt werden. Im Gegensatz zu Patienten mit einer Meningokokkensepsis, bei der der Ausgang der Erkrankung mit den Endotoxinspiegeln im Blut korreliert, haben die Erreger bei nosokomialen Infekten oft nur einen geringen oder gar keinen Einfluss auf die Schädigung von infektherdfernen Organen. Hier scheinen die Mediatoren die maßgeblichen Trigger der Erkrankung zu sein und führen durch überschießende Lokalreaktionen zum septischen Zustandsbild.[47]

Die meisten Fälle einer schweren Sepsis werden durch Bakterien oder Pilze verursacht, die bei immunkompetenten Menschen im Normalfall keine systemische Erkrankung auslösen. Die Erreger nutzen Schwächen der Immunabwehr um im Wirt zu überleben. Obligat pathogene Keime können durch diverse Virulenzfaktoren die Immunabwehr des Wirts umgehen.[47]

1.2.3 Symptomatik und Diagnostik

Die Symptomatik der Sepsis ist oftmals von Grunderkrankungen des Patienten und Ort der Primärinfektion beeinflusst. Auch gibt es zwischen den Patienten deutliche Unterschiede. Ein Fehlen von Fieber ist charakteristisch bei Neugeborenen, älteren Patienten, Patienten mit Urämie und Alkoholikern.[47] Dennoch ist die rasche Diagnose der Sepsis wichtig für das Überleben des Patienten. Verzögerungen bei der Diagnose und damit der Therapie gehören zu den wichtigsten Gründen für die hohe Letalität der Sepsis. Mit jeder Stunde Verzögerung der Antibiose nimmt die Sterblichkeit der Sepsis um etwa 7% zu.[52] Eines der ersten Symptome der Sepsis ist die Hyperventilation in Verbindung mit einer respiratorischen Alkalose, später kommen häufig Fieber, Schüttelfrost und Bewusstseinsveränderungen hinzu. Durch metastatische Absiedelungen der auslösenden Bakterien können fokale Hautveränderungen auftreten. Petechiale Hautblutungen geben gute Hinweise auf die Ursache der Sepsis, so ist vor allem eine Meningokokkensepsis in Betracht zu ziehen, aber auch seltener eine Sepsis durch *Haemophilus influenzae*, oder, falls der Patient in einem Endemiegebiet einen Zeckenstich erlitt, Rocky-Mountain-Fleckfieber. Bei ausgeprägter Erythrodermie muss ein Toxic-Shock-Syndrom durch *Staphylokokkus aureus* oder *Staphylokokkus pyogenes* als Ursache erwogen werden.[47, 48]

Durch die Verminderung der Gewebedurchblutung kommt es zur Hypoxie der peripheren Gewebe und in deren Folge zur metabolischen Azidose. Die Blutglukosespiegel steigen an, besonders stark bei Patienten mit Diabetes mellitus als Vorerkrankung. Jedoch kann es auch durch Beeinträchtigung der Glukoneogenese und durch exzessive Insulinproduktion zum Absinken der Glukosespiegel kommen.[47]

Durch ein Ventilations-Perfusions-Missverhältnis in den Lungen kommt es zum Absinken des arteriellen Sauerstoffpartialdruckes. Die Sauerstoffaufnahme wird auch dadurch beeinträchtigt, dass sich durch die erhöhte Permeabilität der alveolären Kapillaren Flüssigkeit in der Lunge anreichert, was die Diffusionskapazität für Sauerstoff und die Compliance der Lungen vermindert. Wenn auch die Atemmuskulatur im Rahmen der Sepsis schwächer wird, verschlimmert sich die Situation in Bezug auf Hypoxie und Hyperkapnie.[47]

Die Zytokinkaskade und Minderperfusion im Rahmen der Sepsis können sämtliche Organe schädigen. Mit einer hohen Letalität geht das Adult-Respiratory-Distress-Syndrom (ARDS), das Lungenversagen, einher. Das ARDS entwickelt sich bei etwa 50% der Patienten mit schwerer Sepsis oder septischem Schock.[47 - 49]

Als Kennzeichen des septischen Schocks gilt die Hypotonie durch verminderten peripheren Widerstand. Der Körper versucht zwar mit ansteigenden Katecholaminspiegeln gegenzusteuern, dies bleibt jedoch ohne Wirkung. Als Folge steigt die Auswurfleistung des Herzens um die Versorgung sicher zu stellen. Die Sauerstoffversorgung des Gewebes wird jedoch durch die mangelhafte Verteilung des Blutstromes, sowie durch Mikrozirkulationsstörungen beeinträchtigt. Zusätzlich nimmt das für den Kreislauf zur Verfügung stehende Flüssigkeitsvolumen ab, da Flüssigkeit durch kapilläre Leakage ins Gewebe diffundiert. Des Weiteren ist bei Sepsispatienten häufig noch ein Flüssigkeitsmangel aufgrund der Vorgeschichte vorhanden, etwa durch Diarrhö, Polyurie oder starke Blutverluste. Patienten mit septischem Schock zeigen häufig eine Vasodilatation trotz hoher Katecholaminspiegel. Dieser Effekt wurde bisher einer Downregulation der adrenergen Rezeptoren, sowie erhöhten Stickstoffmonoxidspiegeln im Rahmen des septischen Schocks zugeschrieben.[48, 54, 55] Beim septischen Schock steigt die Plasma-Vasopressinkonzentration zunächst an, im weiteren Verlauf der Erkrankung sinkt sie jedoch wieder stark und nimmt gegenüber einer Hypotonie ähnlichen Ausmaßes, die durch verminderten kardialen Auswurf bedingt ist, vergleichsweise niedrige Werte an.[55, 56] Die meisten Patienten mit einer schweren Sepsis zeigen innerhalb von 24 Stunden eine Verminderung der Herzfunktion, die sich durch erhöhte enddiastolische und systolische Ventrikelfüllungen sowie reduzierter Ejection-Fraction bemerkbar macht. Die Auswurfleistung des Herzens bleibt jedoch aufgrund einer Dilatation der Ventrikel aufrecht. Bei den Überlebenden normalisiert sich die Herzfunktion innerhalb einiger Tage. Die verminderte Herzfunktion ist nicht hypoxischer Genese, da aufgrund der Weitstellung der Koronarien der Blutfluss in den Herzkranzgefäßen hoch ist. Obwohl die reduzierte Herzfunktion sicher auch zur Hypotonie beiträgt, ist die Hauptursache für das Abfallen des Blutdruckes im Rahmen des septischen Schocks sicherlich der niedrige periphere Gefäßwiderstand. Patienten, welche den septischen Schock nicht überleben, versterben hauptsächlich am refraktären

Schock oder am multiplen Organversagen, jedoch nur selten direkt an der Herzinsuffizienz.[48, 54]

Die Hypotonie und Endothelschäden der Kapillaren können auch zu Nierenschäden führen. Auch die medikamentöse Therapie kann die Nieren schädigen, so beispielsweise wenn bereits hypotonen Patienten zur Therapie der Infektion Aminoglykosid-Antibiotika verabreicht werden.[47]

Eine Nebenniereninsuffizienz sollte bei einer anhaltenden Hypotonie in Betracht gezogen werden, ebenso bei einer fulminanten Meningokokkensepsis, einer disseminierten Tuberkulose, AIDS, oder einer vorausgehenden Glukokortikoidtherapie. Die Diagnose der Nebenniereninsuffizienz kann mit Hilfe des ACTH-Stimulations-Tests erfolgen. Im Falle einer Nebenniereninsuffizienz sollte Hydrocortison verabreicht werden, dies kann auch bei Verdacht bis zum Erhalt des Ergebnisses des ACTH-Stimulations-Tests erfolgen.[47]

Bei Patienten mit septischem Schock ist es wichtig andere Schockursachen als mögliche Verursacher des Patientenzustandes auszuschließen. Die Hypotonie durch verminderten peripheren Widerstand bei gleichzeitig normaler oder erhöhter Auswurfleistung des Herzens unterscheidet den septischen Schock von den meisten anderen Schockformen. Andere Ursachen für ein derartiges Zustandsbild sind beispielsweise eine Anaphylaxie oder eine Nitroprussid-Überdosis.[47, 48]

Weiters muss versucht werden den Erreger samt Ausgangsherd zu identifizieren um den Herd sanieren zu können. Hierfür nimmt man sowohl aerobe als auch anaerobe Blutkulturen ab, die in kurzem Abstand an zwei unterschiedlichen Stellen gewonnen werden sollten. Wegen der hohen Kontaminationsgefahr sollte die Abnahme aus zentralen Venenkathetern oder arteriellen Zugängen vermieden werden. Blutkulturen können negative Ergebnisse liefern, wenn bereits vor Entnahme der Proben mit der Antibiose begonnen wurde, ein langsam wachsender Keim vorliegt, oder keine Invasion des Keims in den Blutkreislauf stattgefunden hat. Andererseits können auch unbedeutende Kolonisationen oder Kontaminationen positive Ergebnisse der Blutkulturen verursachen ohne für die Erkrankung des Patienten verantwortlich zu sein.[47 - 49, 53]

Laborbefunde, die im Rahmen einer Sepsis erhoben werden können, sind unter anderem eine Leukozytose mit Linksverschiebung, evtl. eine Leukopenie, eine Thrombozytopenie, Hyperbilirubinämie und Proteinurie. Später verschlechtert sich

die Thrombozytopenie, häufig kommt es dann auch zur Verlängerung der Thrombin-Zeit, niedrigen Fibrinogenspiegeln, und dem Auftreten von D-Dimer, diese Befunde sprechen für eine disseminierte intravasale Gerinnung (DIC). In den frühen Phasen der Sepsis herrscht die respiratorische Alkalose vor, später kommt es zur metabolischen Azidose.[47]

1.2.4 Therapie

Die Sepsis gestaltet sich nach wie vor als schwierig und teuer zu therapieren und ist mit einer schlechten Prognose assoziiert.[1, 2, 47]

Die Prognose hängt von der richtigen und schnellen Antibiose ab. Da meist zu Beginn der Therapie der ursächliche Keim noch nicht bekannt ist, muss die Antibiose die wichtigsten in Frage kommenden Keime abdecken. Lokale Resistenzen oder lokale Erregerproblematiken müssen bei der Wahl der Antibiotika ebenfalls bedacht werden. Nach Identifikation und Resistenztestung des Erregers kann die antibiotische Therapie angepasst werden. Im Falle eines Abszesses, einer Peritonitis, oder einer Osteomyelitis ist eine chirurgische Herdsanierung indiziert, ebenso wenn die Erreger trotz antibiotischer Therapie persistieren und der Streuherd bekannt ist.[47, 48] Wie bereits weiter oben beschrieben besteht die Therapie der Wahl bei Infektionen durch Meningokokken aus Ceftriaxon, einem Cephalosporin der dritten Generation. Cephalosporine der dritten Generation schließen in ihrem Spektrum zusätzlich auch andere Meningitiserreger ein, was bei einem Therapiebeginn ohne Erregernachweis von Vorteil ist.[15, 19, 35, 36]

Zur Aufrechterhaltung der Organdurchblutung ist oftmals eine kreislaufunterstützende Therapie notwendig. Als Zielwert für den mittleren arteriellen Blutdruck bei Erwachsenen gilt ein Wert von mindestens 65 mmHg bzw. ein systolischer Blutdruck von mindestens 90 mmHg.[47] Bei Kindern gilt als normaler systolischer Blutdruck in mmHg ein Druck von etwa $80 + (\text{Alter in Jahren} \times \text{zwei})$. [35] Von Hypotonie spricht man bei Kindern, wie bereits weiter oben erwähnt, bei systolischen Blutdruckwerten, die um mehr als zwei Standardabweichungen geringer sind als der altersbezogene Normalwert.[49] Jedoch ist bei Kindern zu beachten, dass ein Blutdruckabfall ein präterminales Zeichen ist. Initial steht die

Gabe von Flüssigkeit im Vordergrund, wenn das nicht ausreicht um den Blutdruck auf ein akzeptables Maß zu heben, sollten vasopressorische Substanzen eingesetzt werden. Aufgrund der Möglichkeit der peripheren Applikation benützt man hierzu zunächst Dopamin, wenn die Wirkung nicht ausreichen sollte Noradrenalin und auch Adrenalin. Zur Adrenalin und Noradrenalin-Applikation wird ein zentraler Venenkatheter benötigt. Zur Überwachung der Ausfuhr von Patienten im Schockzustand ist ein Blasenkatheter zu setzen. Des Weiteren sollte eine nasogastrale Sonde gelegt werden. Eine Intubation und Beatmung der Patienten mit Einstellung eines entsprechenden PEEP-Niveaus zur Reduktion bzw. Vermeidung eines Lungenödems ist ebenso durchzuführen. Bei erhöhtem Hirndruck sollte zur Senkung desselben ein PaCO_2 zwischen 4 und 4,5 kPa angestrebt werden. Die Therapie des Schocks sollte neben der Kreislaufunterstützung durch entsprechende Überwachung auf die Vermeidung oder Korrektur von Hypoglykämie, Azidose, Hypokaliämie, Hypocalciämie, Hypomagnesiämie, Anämie und Koagulopathien ausgerichtet sein.[35, 47 - 49] Das Therapieschema zur Behandlung der Meningokokkensepsis der pädiatrischen Intensivstation der Grazer Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde befindet sich im Anhang.

Bis zum Erhalt erster Ergebnisse der PROWESS-SHOCK-Studie ging man davon aus, dass aktiviertes Protein C in der Sepsistherapie die Prognose bei Erwachsenen deutlich verbessert.[33, 47 - 49, 57, 58] Da bei der Studie zur Wirksamkeit von aktiviertem Protein C in der Sepsistherapie bei Erwachsenen Patienten unter 18 Jahren ausgeschlossen wurden, erschienen die Wirksamkeit und Unbedenklichkeit des Einsatzes von aktiviertem Protein C bei Kindern zunächst nicht eindeutig geklärt.[33, 57, 59] Im Rahmen der RESOLVE-Studie[58] konnte kein signifikanter Unterschied zwischen der mit aktiviertem Protein C behandelten Gruppe und der Placebo-Gruppe festgestellt werden. Jedoch traten in der mit Protein C behandelten Gruppe fünf Hirnblutungen auf. Vier der fünf von einer Hirnblutung betroffenen Patienten waren jünger als 60 Tage und wogen weniger als 4 kg. Da kein therapeutischer Vorteil gezeigt werden konnte, der das Risiko der Nebenwirkungen aufhob, wird aktiviertes Protein C in der Sepsistherapie bei Kindern derzeit nicht empfohlen.[33, 40, 59]

Im Zuge der PROWESS-SHOCK-Studie konnte kein Unterschied hinsichtlich der Mortalität zwischen jenen Sepsispatienten, die mit Placebo behandelt wurden, und jenen, die mit aktiviertem Protein C behandelt wurden, festgestellt werden. Aufgrund des fraglichen Nutzen-Risiko-Profiles zog Eli Lilly and Company das aktivierte Protein C unter dem Handelsnamen Xigris® Ende des Jahres 2011 vom Markt zurück.[57]

1.3 Adrenerge Rezeptoren

Da Katecholamine hydrophile Hormone sind, können sie die Zellmembran im Gegensatz zu den lipophilen Hormonen nicht passieren. Sie benötigen um ihre Wirkung zu entfalten einen membranständigen Rezeptor, der das Signal über einen Second-Messenger in den Intrazellulärraum weitergibt. Man unterscheidet α - und β -Rezeptoren, die ihrerseits wiederum in Subtypen aufgeteilt sind. Die Unterscheidung der einzelnen Rezeptoren ist sowohl für das physiologische Verständnis als auch für die Therapie mit Katecholaminen, anderen Agonisten und Antagonisten wichtig. Verschiedene Gewebe besitzen unterschiedliche Verteilungen der einzelnen Rezeptortypen, was deren Reaktion auf Reize durch Katecholamine bestimmt.[59]

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde eine Mutation des β_2 -Adrenozeptors untersucht, weshalb auf diesen speziell eingegangen wird.

1.3.1 Wirkungen

Unter den körpereigenen Katecholaminen wirkt Adrenalin auf alle adrenergen Rezeptoren. Noradrenalin hingegen reagiert praktisch nicht mit β_2 -Rezeptoren. Das Hormon Adrenalin dient dem Körper als Stresshormon. Die Stresssituation kann sowohl physisch, durch Kälte, Hitze, Hypoglykämie etc., als auch psychisch, etwa durch Angst, ausgelöst werden.[59]

Über β_2 -Rezeptoren vermittelt das Adrenalin seine Wirkung auf den Stoffwechsel. Adrenalin löst eine Bereitstellung von Energiestoffen aus, was zur Überwindung von Stresssituationen von Bedeutung ist. Der Blutglukosespiegel steigt an, da in

der Muskulatur und der Leber vermehrt Glykogen abgebaut wird. In der Leber wird darüber hinaus die Glukoneogenese gestartet. Das Pankreas besitzt an seinen A-Zellen β -Rezeptoren, die eine verstärkte Glukagon-Sekretion bewirken. Die B-Zellen des Pankreas weisen wiederum überwiegend α_2 -Rezeptoren auf, welche die Insulinfreisetzung hemmen. Im Fettgewebe wird die Lipolyse gestartet um freie Fettsäuren zur Verfügung zu stellen. Dieser Effekt läuft hauptsächlich über β_3 -Rezeptoren, aber auch über β_2 -Rezeptoren.[12, 60, 61]

Am Herzen herrschen β_1 -Rezeptoren vor. Die Adrenalinwirkung ist hier positiv chronotrop, bathmotrop, dromotrop und inotrop.[59]

Über β_2 -Rezeptoren wirkt Adrenalin bronchodilatatorisch. Aus diesem Grund werden β_2 -Sympathomimetika zur Asthmatherapie eingesetzt. Die bronchodilatatorische Komponente der β_2 -Rezeptoren wird jedoch erst bei stärkerer Anstrengung relevant. Bei leichter Anstrengung kommt es zunächst zur Hemmung des Parasympathikus, was ebenfalls eine Bronchodilatation zur Folge hat, ähnlich verhält es am Herzen.[60, 61]

Die Adrenalinwirkung auf das Gefäßgebiet hängt von der betreffenden Region ab. In den meisten Organen, hier vor allem im Verdauungstrakt, herrschen α_1 -Rezeptoren vor, die eine Vasokonstriktion bewirken. Dies geschieht um den peripheren Gefäßwiderstand anzuheben und den Blutdruck dadurch ansteigen zu lassen. In anderen Organen wiederum, wie beispielsweise der Skelettmuskulatur, überwiegen β_2 -Rezeptoren. Diese führen zu einer Vasodilatation, welche die Versorgung der Skelettmuskeln mit Nährstoffen im Falle eines raschen Einsatzes sicherstellt.[60 - 62]

In den Nieren bewirken β_1 -Rezeptoren eine zusätzliche Renin-Sekretion, was über das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System ebenfalls den Blutdruck anhebt und sich dadurch synergistisch mit den anderen Wirkungen verhält.[59]

Bei chronischem Reiz werden die adrenergen Rezeptoren desensibilisiert. Dies geschieht zum Teil über die Phosphorylierung des Rezeptors, oder über die Endozytose und den Abbau des Rezeptors. Die phosphorylierten Rezeptoren können bei Bedarf durch Phosphatasen wieder aktiviert werden.[60]

1.3.2 β_2 -Adrenozeptor

Die β -Adrenozeptoren gelten als klassische Beispiele für G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, auch als Typ-III-Rezeptoren bezeichnet. G-Protein ist die Abkürzung für GTP-bindendes Protein. Charakteristischerweise besitzen sie sieben transmembrane α -Helices mit drei intra- und drei extrazellulären Schleifen. Der N-Terminus liegt extrazellulär, der C-Terminus intrazellulär. Durch Ligandenbindung kommt es zur Konformationsänderung von intrazellulär an den Rezeptor gekoppelten G-Proteinen. Die großen heterotrimeren G-Proteine bestehen aus je einer α -, β - und γ -Untereinheit. An die α -Untereinheit ist im inaktiven Zustand ein GDP gebunden im aktiven ein GTP. Nach der Aktivierung des G-Proteins durch Ligandenbindung, darauffolgender Konformationsänderung und Austausch des GDP gegen GTP an der α -Untereinheit löst sich das G-Protein vom Rezeptor und zerfällt in die α -Untereinheit mit dem gebundenen GDP und in die $\beta\gamma$ -Einheit. In weiterer Folge vermittelt die α -Untereinheit die intrazellulären Effekte über eine Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentration. Das cAMP wird nach Aktivierung durch die α -Untereinheit von der membranständigen Adenylatzyklase aus ATP produziert.[63 - 65]

Eine intrinsische GTPase-Aktivität der α -Untereinheit führt nach einiger Zeit zur Hydrolyse des GTP. Die dadurch inaktivierte α -Untereinheit verbindet sich in der Folge wieder mit der $\beta\gamma$ -Einheit.[62] Abbildung 7 zeigt die Funktionsweise eines G-Protein gekoppelten Rezeptors.[65]

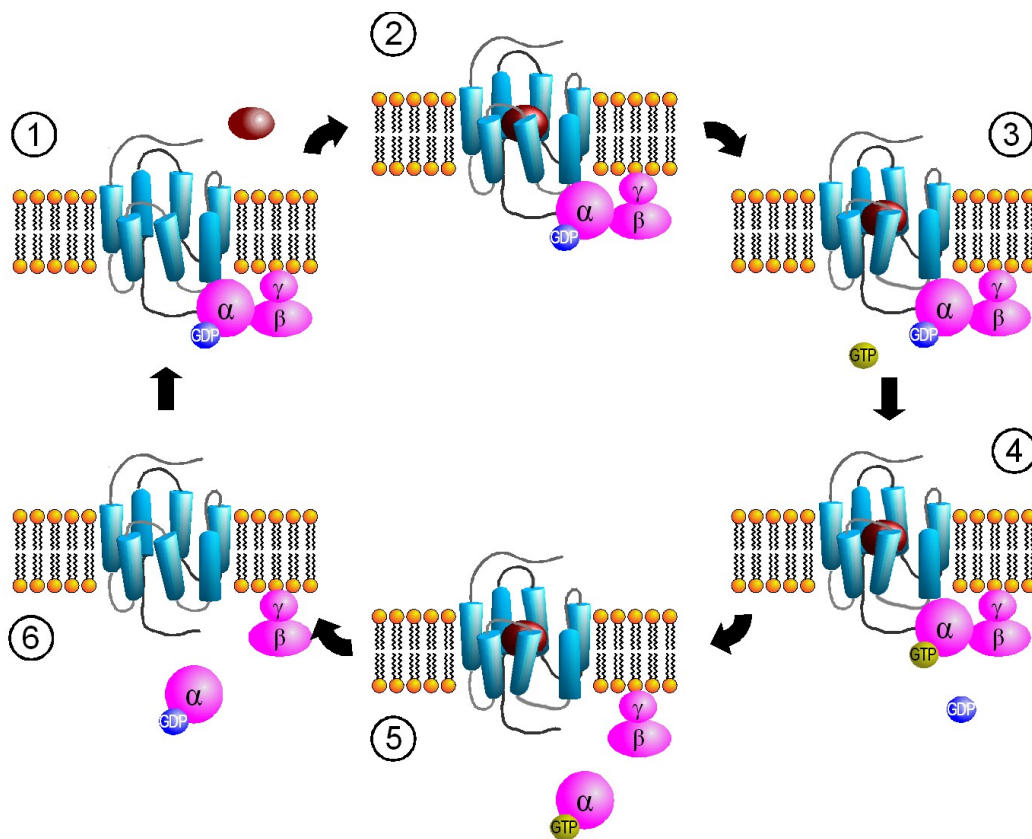


Abbildung 7: Funktionszyklus eines G-Protein gekoppelten Rezeptors

1: Rezeptor mit gebundenem G-Protein – 2: Bindung des Liganden – 3: Aktivierung des Rezeptors – 4: Aktivierung des G-Proteins – 5: Abspaltung der α -Untereinheit mit gebundenem GTP und der $\beta\gamma$ -Einheit – 6: Inaktivierung des G-Proteins; nach Wikipedia[65]

Da ein Rezeptor mehrere G-Proteine binden kann und diese in der Folge auch mehrere Enzyme aktivieren können, führt das System zur Signalverstärkung.[62]

Das Gen für den β_2 -Rezeptor ist auf dem langen Arm des Chromosoms 5 (5q31-32) lokalisiert. Es hat keine Introns. Der β_2 -Rezeptor besteht aus 413 Aminosäuren. Es gibt drei funktionell bedeutsame Single-Nukleotid-Polymorphismen (SNPs): der Austausch der Aminosäure Arginin durch Glycin an der 16. Stelle im Protein (Arg16Gly), der Austausch von Glutamin durch Glutaminsäure an Position 27 (Gln27Glu), sowie der Austausch von Threonin durch Isoleucin an Position 164 (Thr164Ile). Das unter Kaukasiern am weitesten verbreitete Allel des β_2 -Rezeptors weist also an Position 16 Arginin, an Position 27 Glutamin und an Position 164 Threonin auf. Glycin an Position 16 führt zu einer schnelleren Desensibilisierung des Rezeptors, ebenso Glutaminsäure an Position 27.[12, 61, 67, 68]

Der β_2 -Adrenozeptor ist wichtig für die Regulation des Tonus der glatten Muskulatur der Gefäße und Bronchien, hat aber auch Einfluss auf die Herzfrequenz und Kontraktilität des Herzens.[66] Die Bedeutung des β_2 -Rezeptors für die Herzfunktion konnte unter anderem bereits anhand der Gly16Arg-Mutation gezeigt werden. Die Ventrikelfunktion in Bezug auf Ejection-Fraction und Wandverkürzung war sowohl bei heterozygoten als auch bei homozygoten Trägern von Arg16 schlechter als bei Glycin-Homozygoten.[12]

Beim Gesunden ist die Verteilung von β_1 - zu β_2 -Rezeptoren im Herzen etwa 80:20. Bei chronischen Herzerkrankungen kann sich dieses Verhältnis durch die chronische Aktivierung des sympathischen Nervensystems zu 60:40 verschieben, was eine zunehmende Bedeutung des β_2 -Rezeptors in diesem Kontext nahelegt. Die Verschiebung des Verhältnis geschieht durch eine Abnahme der Dichte der β_1 -Rezeptoren bei gleichzeitig gleichbleibender Dichte an β_2 -Rezeptoren. Jedoch reduziert sich auch die Antwort der β_2 -Rezeptoren auf Agonisten durch Uncoupling des G-Proteins um etwa 30%. Beide Faktoren gemeinsam bewirken eine Verringerung der Antwort auf Reize durch Agonisten um etwa 50%. Im Myokard vermitteln die β_2 -Rezeptoren inotrope und chronotrope Reaktionen.[61, 69, 70]

Im Herzen liegt die Dichte von β_2 -Rezeptoren bei etwa 85 fmol/mg, in der Lunge bei etwa 182 fmol/mg. Dies führt dazu, dass das Herz aufgrund der geringeren Reserve von Mutationen des β_2 -Rezeptors stärker betroffen ist als die Lunge.[60]

1.3.2.1 Der Thr164Ile-Polymorphismus

Der Thr164Ile-Polymorphismus des β_2 -Adrenozeptors kommt durch einen Austausch der Position 491 im Gen des β_2 -Adrenozeptors zustande. Thymin steht im Falle der Mutation an Stelle von Cytosin. Diese Mutation hat zur Folge, dass an der 164. Position des Endprodukts, also des β_2 -Adrenozeptors, Isoleucin an Stelle von Threonin zu finden ist. Die Referenz-SNP-Nummer dieses Polymorphismus ist rs1800888. Bisher wurden nur heterozygote Träger der Isoleucin-Variante auf Position 164 gefunden. Dies legt die Vermutung nahe, dass homozygote Individuen nicht überlebensfähig sind. Selbst die heterozygote Variante ist selten und betrifft nur etwa 0,5 – 2,3% der Bevölkerung. Die Thr164Ile-Mutation

beeinflusst sowohl die Ligandenbindung als auch die Kopplung mit dem G-Protein.
[12, 61, 64, 67, 71]

Die Thr164Ile-Mutation liegt in der vierten Transmembrandomäne des β_2 -Rezeptors. Von dieser Stelle nimmt man an, dass sie die Ligandenbindungsstelle darstellt. Die Isoleucin-Variante zeigt eine geringere Affinität zu Adrenalin, Isoproterenol und Noradrenalin als der Wildtyp. Die Wirkung von Dobutamin und Dopamin auf den Rezeptor bleibt jedoch unverändert, da diese keine β -Hydroxylgruppen besitzen. Man geht davon aus, dass das der Mutation benachbarte Serin an Position 165 bei der Ligandenbindung mit dieser Hydroxylgruppe durch Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung interagiert. Auch Antagonisten ohne polare Substituenten am aromatischen Ring zeigen eine geringere Affinität zur Ile164-Variante. Auch die maximale Stimulation der Adenylatzyklase, also der dem β_2 -Rezeptor nachgeschalteten Station der Informationskaskade, ist bei der Ile164-Variante vermindert. Ebenfalls vermindert sind die basale und die agonisteninduzierte Aktivierung der Adenylatzyklase. Bei der Ile164-Variante tritt eine Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve der Agonistenwirkung auf. Die Ile164-Variante zeigt eine etwa 65% geringere maximale Rate von Abtrennung des G-Proteins nach Agonistenbindung als der Wildtyp. Die Verminderung der Reaktion auf Agonisten und Antagonisten der Ile164-Variante kommt jedoch nicht durch eine geringere Expressierung des Rezeptors zustande. Diese ist normal.[64, 67]

Heterozygotie im Bereich des Thr164Ile-Polymorphismus führt zu verminderter Venodilatation, verminderter Herzfrequenz und schlechterer inotroper Antwort auf Terbutalingabe im Vergleich zum Wildtyp.[12] Die dosisabhängige Sensibilität gegenüber Terbutalin beträgt bei der Ile164-Variante lediglich etwa ein Viertel jener des Wildtyps. Die maximale Venodilatation ist jedoch unabhängig vom Genotyp sowohl bei den Homozygoten für die Thr164-Variante als auch für die heterozygoten Ile164-Träger gleich. Die Reaktion auf Isoproterenol ist ebenfalls verringert. Durch die reduzierte Reaktion des β_2 -Rezeptors kommt es in den Gefäßen zum Shift des Tonus hin zur Vasokonstriktion, da der β_2 -Rezeptor bei Aktivierung durch Agonisten eine Vasodilatation hervorruft.[67, 71]

Littlejohn et al.[68] konnten anhand von 14 Heterozygoten für die Ile164-Variante zeigen, dass die Ile164-Variante das Outcome von Herzinsuffizienz-Patienten

nicht direkt negativ beeinflusst. Im Rahmen dieser Untersuchung kam jedoch die Vermutung auf, dass die Ile164-Variante das Überleben im Falle einer β -Blocker-Therapie negativ beeinflusst.[68] Barbato et al.[69] fanden hingegen im Follow-Up ihrer Untersuchung zur Kontraktilität des Herzmuskels bei heterozygoten Trägern der Ile164-Variante ein höheres Risiko der Verschlechterung der Herzinsuffizienz als beim Wildtyp. Weiters konnten sie zeigen, dass die Ile164-Variante sowohl bei normaler Herzfunktion als auch bei Herzinsuffizienz-Patienten eine geringer ausgeprägte Reaktion auf Terbutalin im Sinne positiver Chronotropie und Inotropie zeigt als der Wildtyp.[69] Piscione et al.[71] fanden unter ihren Probanden sogar eine höhere Allelfrequenz für die Ile164-Variante in der Gruppe der Patienten mit koronarer Herzkrankheit als sie in der gesunden Vergleichsgruppe auftrat. Außerdem stellten sie fest, dass die Gruppe der heterozygoten Ile164-Träger früher an der koronaren Herzerkrankung erkrankte und häufiger einen Mehrgefäßbefall aufwies als die homozygoten Thr164-Träger. Auch das Risiko eines Myokardinfarktes, der Notwendigkeit einer perkutanen Koronarintervention (PCI) und des Todes war in der Gruppe der Ile164-Variante größer.[71] Auch Liggett et al.[72] konnten ein 4,81-fach erhöhtes Risiko für Tod und Herztransplantation bei Patienten mit Herzinsuffizienz mit der Ile164-Variante finden. Jedoch fand diese Forschungsgruppe keinen Unterschied der Häufigkeit der Ile164-Variante zwischen der Patientengruppe und der Kontrollgruppe, wodurch sie einen krankheitsverursachenden Effekt der Ile164-Variante ausschlossen.[72]

Herzinsuffizienz-Patienten mit der Ile164-Variante zeigen eine geringere Toleranz gegenüber Anstrengung und eine höhere Mortalität. Es ist jedoch unklar, ob die Ursachen hierfür eher kardial sind oder durch systemisch-hämodynamische Einflüsse zu Stande kommen.[69]

Pereira et al.[73] konnten für die Ile164-Variante einen signifikanten Zusammenhang mit systolischem Bluthochdruck zeigen.

Träger der Ile164-Variante profitieren in geringerem Ausmaß von der Vasodilatation und den inotropen Effekten von Katecholaminen. Höhere periphere Vasokonstriktion erhöht den Afterload und somit auch den myokardialen Sauerstoffverbrauch.[70]

2 Material und Methoden

2.1 Probenkollektiv

Zur Untersuchung wurden Proben, die im Rahmen einer Multicenter-Case-Control-Studie gewonnen wurden, verwendet. Dabei handelt es sich um DNS-Proben von zuvor gesunden Kindern, die an einer Meningokokkeninfektion erkrankten. Die Sammlung der Proben erfolgte durch 97 pädiatrische Abteilungen in Deutschland, der Schweiz, Südtirol und Österreich. Die Sammlung der Proben und dazugehörigen klinischen Daten erfolgt seit März 2000. Es standen 484 Datensätze und 440 Proben zur Verfügung, 424 davon konnten erfolgreich genotypisiert werden. Alle Patienten waren Kaukasier. Die Patientengruppe bestand aus 224 Mädchen, das entspricht 46,3%, und 260 Jungen, das sind 53,7% des Patientenkollektivs. Das mediane Alter der Patienten lag bei 42 Monaten und reichte von einem Monat bis zu 220 Monaten. Die Altersverteilung der Patientengruppe zeigt ebenfalls die beiden Gipfel im Säuglings- und Kleinkindesalter und bei Jugendlichen, die bereits zuvor beschrieben wurden. Abbildung 8 zeigt die Altersverteilung der Patientengruppe. Über 100 Parameter wurden nach einem standardisierten Protokoll erhoben, unter anderem demographische Daten, sowie die Einstufung nach dem Glaskow-Meningococcal-Septicemia-Prognostic-Score, den Gerinnungsstatus, hämodynamische Parameter und den Outcome beinhaltet, durchgeführt.[13, 14, 24] Das Datenerhebungsprotokoll befindet sich im Anhang.

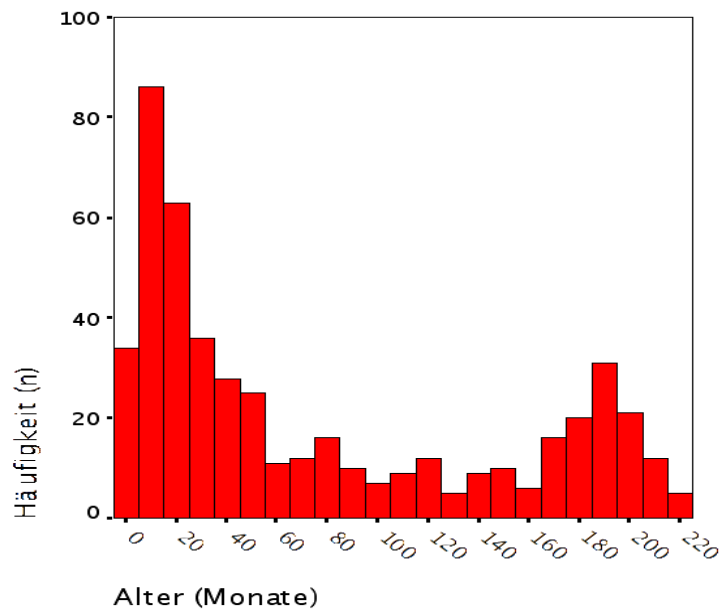


Abbildung 8: Altersverteilung des Patientenkollektivs

Die Diagnose einer Meningokokkenerkrankung erfolgte durch die klinischen Symptome wie Fieber, Purpura, Meningitis, oder Septikämie, sowie durch die Isolation von Meningokokken aus Blut oder Liquor cerebrospinalis, oder einer positiven PCR-Amplifikation des Meningokokkengenoms aus Blut oder Liquor cerebrospinalis. Der Verlauf wurde in drei Gruppen eingeordnet und zwar in „alleinige Sepsis“, „alleinige Meningitis“, oder „kombinierter Verlauf“. Eine alleinige Meningitis wurde bei Meningismus ohne gleichzeitiges Auftreten der Anzeichen einer Sepsis, sowie bei mehr als zehn Leukozyten pro Mikroliter Liquor cerebrospinalis diagnostiziert. Eine Meningokokkensepsis wurde bei Zeichen der schweren Sepsis diagnostiziert. Die schwere Sepsis wurde definiert als Sepsis mit mindestens einem Zeichen der Organminderperfusion oder Organdysfunktion, beispielsweise einer kapillären Wiederbefüllungszeit über vier Sekunden, einer Blut-Laktat-Konzentration über 2 mmol/l, einer Thrombozytenzahl unter 100.000/ μ l, oder einer disseminierten intravasalen Gerinnung, akutem Lungenversagen oder Herzinsuffizienz.[13, 14, 75, 76]

Wie bereits beschrieben zeigte kein einziger Todesfall im Patientenkollektiv eine alleinige Meningitis. Die alleinige Meningokokkensepsis ging mit einer Letalität von 29,5% einher, die mit Sepsis kombinierte Meningitis mit einer Letalität von 10,2%.

Als Kontrollgruppe dienten 500 gesunde, nicht verwandte Neugeborene. Die Probensammlung für die Kontrollgruppe erfolgte zwischen März 2002 und August 2002 an der Abteilung für Neonatologie an der medizinischen Universität Graz aus Nabelschnurblut. Vor der Probengewinnung wurde sowohl in der Patientengruppe als auch in der Kontrollgruppe das elterliche Einverständnis eingeholt. Vor der Untersuchung erfolgte ein positives Votum der Ethikkommission.[13, 14]

2.2 Labormethodik

Da im Rahmen der Untersuchung des Thr164Ile-Polymorphismus ein bisher für diesen SNP noch nie verwendetes Verfahren unter Zuhilfenahme der Analyse der Schmelzkurven der DNS verwendet wurde, musste zunächst gezeigt werden, dass diese Methode auch die gewünschten Ergebnisse liefert. Hierfür wurde als Kontrollmethode die TaqMan-PCR-Technologie verwendet. Beide im Rahmen dieser Diplomarbeit verwendeten Methoden zur Genotypisierung des Thr164Ile-Polymorphismus werden nun in der Folge kurz dargestellt.

2.2.1 TaqMan

Der TaqMan-PCR-Technologie liegt die 5'-3'-Exonuklease-Aktivität der AmpliTaq-DNS-Polymerase zu Grunde. Für die Durchführung einer TaqMan-PCR benötigt man neben den PCR-Primern für das 3'- und das 5'-Ende des zu untersuchenden Bereichs noch eine fluorogene Sonde, die aus einem Oligonukleotid, sowie einem Fluoreszeinderivat als Reporterfarbstoff am 5'-Ende der Sonde und einem Rhodaminderivat als Quencherfarbstoff am 3'-Ende besteht. Weiters ist das 3'-Ende der Sonde mit einem Phosphatrest blockiert. Die TaqMan-PCR-Technologie kann in geschlossenen Reaktionsgefäßen angewandt werden und benötigt keine Post-PCR-Schritte, dadurch verringern sich die Gefahr einer Carry-Over-Kontamination, sowie auch die Arbeitszeit. Ein Nachteil der TaqMan-PCR ist die begrenzte Haltbarkeit der fluoreszenzmarkierten Sonden.[77, 78]

Die beiden Farbstoffe der Sonden werden durch Licht mit einer Wellenlänge von 488 nm zur Fluoreszenz angeregt. Jedoch führt die räumliche Nähe des

Quencher- zum Reporterfarbstoff zu einem Fluoreszenzenergietransfer, der die Unterdrückung der Fluoreszenz des Reporterfarbstoffes zur Folge hat. Die intakte Sonde fluoresziert also bei Anregung nicht.[77, 78]

Bei der Verwendung von AmpliTaq Gold muss vor der PCR eine 9 – 12 minütige Präinkubation bei 95°C erfolgen, da diese modifizierte Form der AmpliTaq-DNS-Polymerase erst dadurch irreversibel aktiviert wird. Diese modifizierte Form der AmpliTaq-DNS-Polymerase bietet durch die Inaktivität bis zur Präinkubation die Möglichkeit der Vorpipettierung kompletter Master-Mixe ohne die Bildung von Primerdimeren. Weiters wird die Entstehung von PCR-Nebenprodukten minimiert. Dies trägt zur Erhöhung der Sensitivität und Spezifität des Verfahrens bei.[77, 79] Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde AmpliTaq Gold verwendet.

Während der PCR kommt es zunächst zur Hybridisierung der fluoreszenzmarkierten Sonde mit dem DNS-Matrizenstrang. In der darauffolgenden Extensionsphase trifft die AmpliTaq-DNS-Polymerase auf die Sonde und beginnt sie zu verdrängen. Dadurch entsteht eine Y-förmige Sekundärstruktur, die zur Aktivierung der 5'-3'-Exonukleaseaktivität der AmpliTaq-DNS-Polymerase führt, diese wiederum hat das Schneiden der fluoreszenzmarkierten Sonden zur Folge. Freie, nicht hybridisierte, Sonden werden durch die Exonukleaseaktivität nicht hydrolysiert. Da sich nach der Sondenhydrolyse der Quencherfarbstoff nicht mehr in unmittelbarer Nähe zum Reporterfarbstoff befindet, wird auch der Fluoreszenzenergietransfer zwischen den beiden Farbstoffen unterbrochen, was zur Fluoreszenz des Reporterfarbstoffes bei Anregung durch Licht der Wellenlänge 488 nm führt. Weil mit jedem PCR-Zyklus mehr fluoreszenzmarkierte Sonden hydrolysiert werden, steigt die Fluoreszenzaktivität des Reporterfarbstoffes mit jedem Zyklus an. Diese Proportionalität der Fluoreszenzstärke zum Anstieg des DNS-Amplifikats hat zur Folge, dass die TaqMan-PCR-Technologie, sofern gewünscht, auch quantitative Ergebnisse liefern kann. Da das Interesse im Rahmen dieser Diplomarbeit jedoch nur qualitativer Natur war, wurde dies hier nicht verwendet. Nicht vollständig bindende Sonden werden noch vor Einsetzen der Exonukleaseaktivität der AmpliTaq-DNS-Polymerase verdrängt, dadurch bleibt auch die Hydrolyse der Sonden aus, was wiederum zur Folge hat, dass das Signal sequenzspezifisch ist. Auch unspezifische Nebenprodukte der PCR werden aufgrund dessen nicht detektiert. Um die Spezifität möglichst groß zu halten, sollte

man die Sondensequenz so wählen, dass Punktmutationen möglichst in der Mitte der Sequenz liegen, da dies einen größtmöglichen destabilisierenden Effekt zur Folge hat.[76]

Verwendet wurde der Applied Biosystems TaqMan-Assay C___8950503_20 (Life Technologies, Carlsbad, Kalifornien, USA). Die Reaktionsbedingungen wurden nach den Empfehlungen des Herstellers gewählt.[79] Tabelle 2 zeigt die Context Sequence des Assays.

Context Sequence([VIC/FAM])
3'-ATGGTGTGGATTGTGTCAGGCCTTA[C/T]CTCCTTCTTGCCATTGATGCAC-5'

Tabelle 2: TaqMan-Assay C___8950503_20

VIC und 6-FAM (6-Carboxyfluorescein) sind die beiden verwendeten Reporterfarbstoffe. VIC bindet an das Wildtyp-Allel, 6-FAM an die Mutation, die den Einbau von Isoleucin an der 164. Position des β_2 -Adrenozeptors verursacht. 6-FAM ist ein blauer Farbstoff, VIC ein grüner. Die beiden Farbstoffe werden benötigt um die einzelnen Genotypen der untersuchten Region voneinander unterscheiden zu können. Wenn eine Probe homozygot für das mit VIC markierte Allel ist, also im Fall dieser Untersuchung den Wildtyp trägt, steigt im Laufe der PCR die Fluoreszenz von VIC an. Bei heterozygoten Proben steigen im Laufe der PCR sowohl die Fluoreszenz von VIC als auch jene von 6-FAM an. Für den bisher noch nicht beobachteten Fall eines homozygoten Trägers der Ile164-Variante, würde nur die Fluoreszenz von 6-FAM ansteigen. Störungen der Fluoreszenz, die etwa durch Konzentrationsänderungen durch Pipettierfehler verursachte Voluminaschwankungen verursacht werden können, werden durch einen zugesetzten passiven Referenzfarbstoff ausgeglichen. Für diese Zwecke verwendet man 6-Carboxy-X-Rhodamin, meist als ROX abgekürzt. Das Programm zur Auswertung des Ergebnisses, ABI PRISM™ Sequence Detection Software, berechnet aus dem Quotienten der Fluoreszenz des Reporterfarbstoffes und der Fluoreszenz des Referenzfarbstoffes den R_n -Wert, das sogenannte normalisierte Reportersignal. Als R_n^+ -Werte bezeichnet man die relative Fluoreszenz von Ansätzen, die Probenmaterial enthalten, und als R_n^- -Werte die relative Fluoreszenz der Ansätze von Kontrollen, die keine Proben-DNS enthalten. Das

Programm ermöglicht mit Hilfe dieses Wertes eine graphische Darstellung der Ergebnisse der „Allelic Discrimination“. Ein Beispiel einer derartigen Darstellung ist Abbildung 9.[77, 81, 82]

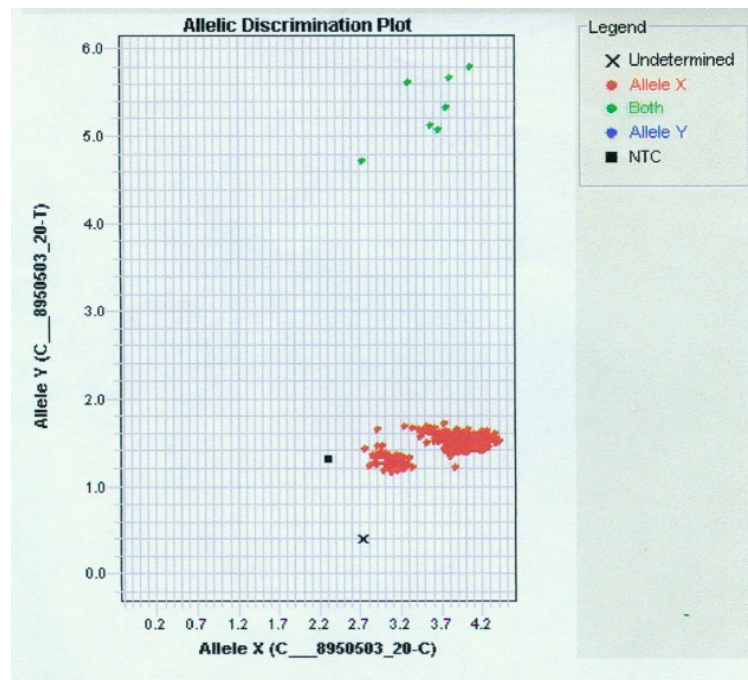


Abbildung 9: Beispiel für die graphische Darstellung einer Allelic Discrimination durch das Auswertungsprogramm der TaqMan-PCR-Technologie

2.2.2 Schmelzkurvenanalyse

Zur Schmelzkurvenanalyse benötigt man entweder fluoreszierende Farbstoffe, die sich in doppelsträngige DNS einlagern, dies sind z.B. SYBR Green I und LC Green I, oder man verwendet auch hier ein Verfahren mit markierten Sonden. Ersteres wurde im Rahmen dieser Arbeit angewandt. Als Farbstoff wurde SYBR Green I verwendet.[78, 83]

Beim Verfahren mit sich in doppelsträngige DNS-Moleküle einlagernden Farbstoffen reagieren diese nicht mit der Zielsequenz, sondern mit allen doppelsträngigen DNS-Molekülen, dies können unter ungünstigen Bedingungen auch Primerdimere oder PCR-Nebenprodukte sein. Die PCR wird durch die

Farbstoffe, die zur Schmelzkurvenanalyse verwendet werden, nicht beeinflusst. Die Schmelzkurvenanalyse erfolgt ebenfalls, wie auch die TaqMan-PCR, in einem geschlossenen Reaktionsgefäß und nimmt in etwa 1 – 2 Minuten für eine Post-PCR-Analyse in Anspruch. Im Gegensatz zur TaqMan-PCR ist dieses Verfahren sehr sensitiv, aber weniger spezifisch, die TaqMan-PCR hingegen ist sehr spezifisch, aber in geringerem Maße sensitiv. Da keine markierten Sonden benötigt werden, geht das Verfahren der Schmelzkurvenanalyse mit sich in die doppelsträngige DNS einlagernden Farbstoffen mit einem geringeren Kostenaufwand einher als die TaqMan-PCR.[78, 84, 85]

Im Rahmen der Schmelzkurvenanalyse nützt man, dass sich die DNS-Stränge durch Erwärmen trennen. Dieses Auftrennen, oft auch als Schmelzen bezeichnet, hängt von der Sequenz der DNS-Stränge ab. Nach einer Daumenregel trennen sich Adenin-Thymin-Basenpaare bereits bei geringeren Temperaturen als Cytosin-Guanin-Basenpaare, da erstere nur zwei Wasserstoffbrücken bilden, die zweiten hingegen drei Wasserstoffbrücken. Die Schmelztemperatur ist definiert als jene Temperatur bei der die Helixstruktur zur Hälfte verloren gegangen ist. Nach einer PCR von Heterozygoten bilden sich vier verschiedene DNS-Duplices aus, zwei Homoduplices und zwei Heteroduplices. Jeder dieser Duplices hat eine charakteristische Schmelztemperatur. Die Anwesenheit von Heteroduplices verändert die Form der Schmelzkurve im Vergleich zu Homozygoten. Die Unterschiede in der Form der Schmelzkurve können mit Hilfe der High-Resolution-Schmelzkurvenanalyse gemessen werden. Zur Analyse können also sowohl die Schmelztemperatur als auch die Form der Schmelzkurve herangezogen werden. Verschiedene Homozygote unterscheiden sich bei der Schmelzkurvenanalyse durch die Schmelztemperatur. Bei Tausch eines Adenin-Thymin-Basenpaares gegen ein Cytosin-Guanin-Basenpaar ist dieser Unterschied durch die veränderte Anzahl an Wasserstoffbrücken relativ groß. Führt die Mutation jedoch nicht zu einer Änderung der Basenpaarung, sondern nur zu einem Austausch von Adenin gegen Thymin bzw. Cytosin gegen Guanin, sind die Unterschiede deutlich geringer. Dass es dennoch eine unterschiedliche Schmelztemperatur gibt, liegt an der Veränderung der Wechselwirkung zwischen benachbarten Basenpaaren. [78, 84 - 86]

Wie bereits weiter oben erwähnt, gibt es zusätzlich noch die Möglichkeit auch bei der Schmelzkurvenanalyse ein sondenbasiertes Verfahren zu wählen. Dabei werden zwei Sonden, die nach der Hybridisierung mit der Zielsequenz aneinander grenzen, mit Farbstoffen markiert. Eine Sonde mit Fluorescein als Donorfarbstoff, die andere mit LC Red 640 als Akzeptorfarbstoff. Wenn die beiden Farbstoffe durch die Hybridisierung in räumliche Nähe zueinander kommen, löst dies den Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer (FRET) aus, der eine starke Fluoreszenz einer bestimmten Wellenlänge zur Folge hat. Im Falle von LC Red 640 beträgt diese Wellenlänge 640 nm. Mutationen in einem zu einer der Sonden komplementären Bereich vermindern die Stabilität der Bindung und führen somit zu einer Verringerung der Schmelztemperatur. Schmilzt die betroffene Sonde nun vom DNS-Strang ab endet der Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer und damit auch die Emission des Lichtes der zu messenden Wellenlänge. Die Sonden sollten so gewählt werden, dass die Schmelztemperatur jener Sonde, die zur Detektion der Mutation dienen soll, etwa 5°C unter jener der zweiten Sonde, die den interagierenden Farbstoff zur Verfügung stellt, liegt.[83, 87]

Reed und Wittwer[83] konnten bei der Detektion von Single-Nukleotid-Polymorphismen bei Heterozygoten mit der Schmelzkurvenanalyse unter Verwendung von LC Green I als fluoreszierenden Farbstoff zeigen, dass das Verfahren sehr spezifisch ist – es trat im Rahmen dieser Untersuchung kein einziger Fehler in der Gruppe von PCR-Produkten von 300 bp oder kürzer auf. Generell hängen sowohl die Spezifität als auch die Sensitivität von der Sequenzlänge ab, beides nimmt mit zunehmenden Sequenzlängen ab. Die Sensitivität sinkt, da bei Single-Nukleotid-Polymorphismen die Unterschiede bezüglich der Schmelztemperatur und Form der Schmelzkurve mit zunehmender Länge abnehmen. Die Lage der Mutation innerhalb der untersuchten Sequenz spielt jedoch keine Rolle.[83] Die Verwendung von Sonden anstelle von sich in die Doppelhelix einlagernden Farbstoffen erhöht die Spezifität. Des Weiteren ist die Anwendung dieser Methode nicht auf einen engen Temperaturbereich beschränkt, wie dies bei der TaqMan-PCR der Fall ist, da die Taq-Polymerase nur in einem gewissen Temperaturbereich Basen abspalten kann.[86]

Der Nachweis von homozygoten Mutationen mit Hilfe der Schmelzkurvenanalyse ist zwar möglich, aber schwieriger als jener von heterozygoten Mutationen.[83]

Dieser Umstand kann jedoch im Rahmen dieser Diplomarbeit vernachlässigt werden, da, wie bereits weiter oben beschrieben, bisher noch kein einziges Beispiel für homozygote Träger der Ile164-Variante bekannt wurde, wodurch die Vermutung nahe gelegt wird, dass Homozygote nicht überlebensfähig sind.[70]
 Die Abbildung 10 vergleicht die beiden verwendeten Verfahren der TaqMan-PCR und der Schmelzkurvenanalyse mit der Verwendung von SYBR Green als Farbstoff.[87]

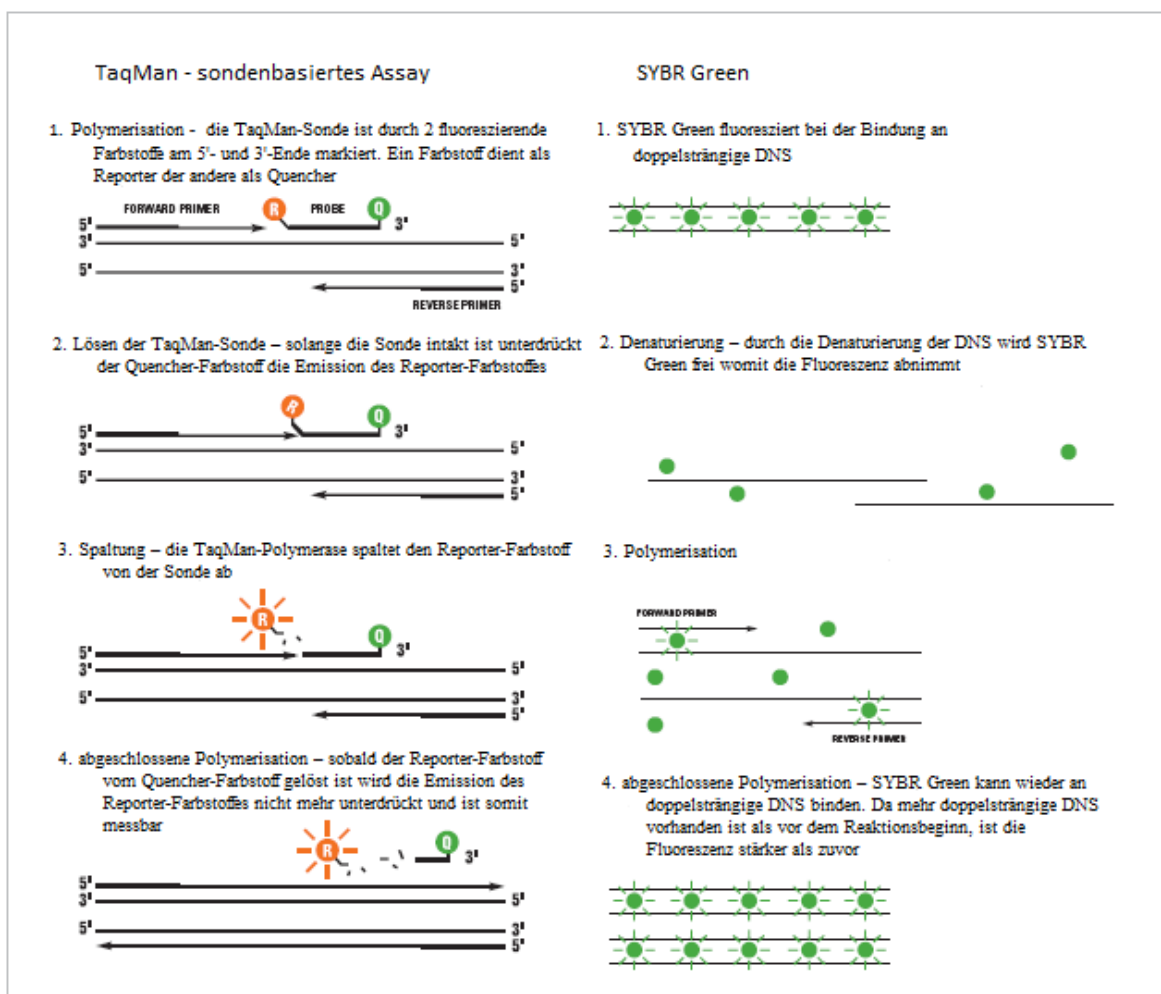


Abbildung 10: Vergleich der TaqMan-PCR und der Schmelzkurvenanalyse; nach Applied Biosystems[87]

Die für die Schmelzkurvenanalyse verwendeten Forward- und Reverse-Primer waren:

491F: 5'-AGTACCAGAGCCTGCTGACC-3'

491R: 5'-TAGCAGTTGATGGCTTCCTG-3'

Das mit Hilfe dieser Primer hergestellte PCR-Produkt hat eine Länge von 136 bp. Um nachzuweisen, dass die Schmelzkurvenanalyse, ebenso wie die TaqMan-PCR, in der Lage ist den Thr164Ile-Polymorphismus zu genotypisieren wurden zunächst 384 Proben mit der TaqMan-PCR analysiert. Unter diesen 384 Proben fanden sich mehrere Heterozygote im Bereich des Thr164Ile-Polymorphismus. Im Anschluss wurden zwei der homozygoten Träger der Thr164-Variante und zwei der Heterozygoten als Referenz verwendet. Zur Schmelzkurvenanalyse sowie zur vorangehenden PCR wurde ein LightCycler 480 DNA SYBR Green I Master-Kit der Firma Roche Applied Science, Indianapolis, Indiana, USA, verwendet. Für die vor der Schmelzkurvenanalyse durchzuführende PCR wurden je Probe ca. 50 ng DNS und eine Primerkonzentration von 0,2 $\mu\text{mol/l}$ je Primer verwendet. Das Ansatzvolumen lag bei jeweils 10 μl . Um die Reaktionsbedingungen zu optimieren wurde zunächst bestimmt, ob eine höhere MgCl_2 -Konzentration als vom Hersteller empfohlen die Ergebnisse der PCR verbessern könnte. Hierfür wurden Konzentrationen von 2 mmol/l , 2,5 mmol/l , und 3 mmol/l verglichen. Es konnte gezeigt werden, dass höhere MgCl_2 -Konzentrationen als vom Hersteller empfohlen das Ergebnis nicht verbessern, sondern teilweise sogar verschlechtern. Der Assay funktionierte mit den Originalkonzentrationen des Kit unter den Bedingungen der Herstellerangaben suffizient und sensitiv. Das vom Hersteller vorgeschlagene Versuchsprotokoll schreibt eine fünfminütige Präinkubation bei 95°C vor, die auch hier der Aktivierung der Polymerase und Denaturierung der DNS dient, im Anschluss 45 Amplifikationszyklen, die aus einem Abkühlen auf eine Temperatur etwa 5°C unter der errechneten Schmelztemperaturen des Primers, anschließendem Erwärmen auf 72°C und Wiedererwärmen auf 95°C bestehen. Nach der Amplifikation wurden die Schmelztemperatur und Form der Schmelzkurve bestimmt. Dies geschah durch ein kontinuierliches Erwärmen. Tabelle 3 stellt das Versuchsprotokoll von Roche Applied Science für Versuche mit dem LightCycler 480 unter Verwendung von SYBR Green I als Farbstoff dar. Bei Versuchen mit einer quantitativen Fragestellung können längere Annealing- und Extensionzeiten während der Amplifikation die Genauigkeit der Messung erhöhen.[88]

Zieltemperatur (°C)	Dauer (Minuten: Sekunden)	Temperaturanstieg bzw. -abfall zum Erreichen der Zieltemperatur (°C/s)
<i>Präinkubation</i>		
95	05:00	4,8
<i>Amplifikation</i>		
95	00:10	4,8
primerabhängig	00:05 – 00:20	2,5
72	00:05 – 00:20	4,8
<i>Schmelzkurve</i>		
95	00:05	
65	01:00	
98	Kontinuierliche Bestimmung der Fluoreszenzstärke mit 5 – 10 Messungen pro °C Temperaturänderung	
<i>Abkühlung</i>		
40	00:10	2,0

Tabelle 3: Versuchsprotokoll von Roche Applied Science für Versuche mit dem LightCycler 480 unter Verwendung von SYBR Green I als Farbstoff[88]

2.3 Statistik

Die statistische Auswertung der Resultate der Untersuchung erfolgte mit Hilfe von SPSS 15.00 von IBM, Armonk, New York, USA. Da die statistische Auswertung nur bei qualitativen Parametern signifikante Assoziationen gezeigt hat, waren für die Auswertung Kontingenztafeln ausreichend. Mit Hilfe der Kontingenztafeln lassen sich die Häufigkeiten der einzelnen Ausprägungen qualitativer Parameter übersichtlich darstellen. Um den Grad der Assoziation zu erfassen macht man sich bei der Verwendung von Kontingenztafeln u.a. das Assoziationsmaß der Odds-Ratio zu Nutze. Die Odds-Ratio berechnet sich aus dem Kreuzprodukt der Kontingenztafel. Liegt die Odds-Ratio bei einem Wert von 1, besteht kein Zusammenhang zwischen den verglichenen Merkmalen.[89]

Als Signifikanzniveau wurde ein Wert von 0,05 festgelegt. Ein Ergebnis ist als signifikant anzusehen, wenn der p-Wert kleiner als das Signifikanzniveau ist. Der p-Wert gibt über die Wahrscheinlichkeit Auskunft, dass das Ergebnis, oder ein

noch auffälligeres Ergebnis, beobachtet werden kann, wenn in Wirklichkeit die Nullhypothese stimmt. Liegt der p-Wert unter dem Signifikanzniveau ist davon auszugehen, dass die Alternativhypothese richtig ist. Die Aussagekraft des p-Werts bezieht sich nur auf die Existenz eines statistisch signifikanten Unterschieds, nicht jedoch auf das Ausmaß dieses Unterschieds.[89]

3 Ergebnisse – Resultate

Es konnten insgesamt 895 Proben erfolgreich genotypisiert werden. Davon entfielen 424 auf das Patientenkollektiv und 471 auf die Kontrollgruppe. In der Patientengruppe waren 15 heterozygot im Bereich des Thr164Ile-Polymorphismus, das entspricht 3,5% der Patientengruppe. 409 zeigten den homozygoten Wildtyp. In der Kontrollgruppe fand sich die Ile164-Variante nur in 5 Personen, was 1,1% der Kontrollgruppe entspricht. Tabelle 4 stellt dies nochmals dar. Es fanden sich keine Hinweise auf homozygote Träger des Thr164Ile-Polymorphismus, was mit den Ergebnissen anderer Forschungsgruppen und der Schlussfolgerung der anzunehmenden Nichtüberlebensfähigkeit Homozygoter übereinstimmt. Dennoch sei hier nochmals auf die zwar prinzipielle Möglichkeit, aber schwierigere Identifikation homozygoter Mutationen mit der verwendeten Methode der Schmelzkurvenanalyse hingewiesen.[71, 84]

	Thr164Ile (C/T)	Thr164Thr (C/C)	gesamt
Patientengruppe	15	409	424
Kontrollgruppe	5	466	471

Tabelle 4: Verteilung der Genotypen des SNP rs1800888 in der Patienten- und Kontrollgruppe

Das Risiko zu erkranken, also die Suszeptibilität, war bei Personen, die heterozygot für den Thr164Ile-Polymorphismus waren, um das 3,4-fache erhöht (95% C.I.: 1,2 – 9,5). Diese Assoziation hat einen p-Wert von 0,011 und kann somit als signifikant angesehen werden. Tabelle 5 stellt diesen Zusammenhang dar.

Genotyp	Patienten (%)	Kontrollen (%)	OR (95% C.I.)	p-Wert
Thr164Thr (C/C)	409 (96,5%)	466 (98,9%)	3,4 (1,2 – 9,5)	0,011
Thr164Ile (C/T)	15 (3,5%)	5 (1,1%)		

Tabelle 5: Suszeptibilität der verschiedenen Thr164Ile Genotypen für eine Meningokokkenerkrankung

Neben der Suszeptibilität für die Erkrankung ist auch das Risiko zu versterben in der Gruppe der Träger der Ile164-Variante erhöht. Das Risiko steigt etwa auf das 3,6-fache im Vergleich zum Wildtyp. Diese Beziehung hat einen p-Wert von 0,043 und ist somit ebenso als signifikant zu werten. Von 8 Patienten lagen keine den Outcome betreffenden Daten vor, wodurch für die Betrachtung des Risikos an einer Meningokokkenerkrankung zu versterben nur 416 Datensätze zur Verfügung standen. Die Tabelle 6 bietet eine genauere Darstellung dieser Assoziation.

	Thr164Thr (C/C)	Thr164Ile (C/T)	Gesamtanzahl der Überlebenden bzw. Toten
Anzahl der Überlebenden (prozentueller Anteil des jeweiligen Genotyps)	374 (92,5%)	11 (72,7%)	385
Anzahl der Toten (prozentueller Anteil des jeweiligen Genotyps)	28 (7,5%)	3 (27,3%)	31
Gesamtanzahl der Träger des jeweiligen Genotyps	412	14	416
Odds-Ratio für Thr164Ile-Polymorphismusträger zu versterben (95% C.I.)	3,6 (1,0 – 13,8)		
p-Wert	0,043		

Tabelle 6: Assoziation des Thr164Ile SNPs mit dem Outcome

4 Diskussion

Neben wissenschaftlichem Interesse an der Sepsis haben Untersuchungen zu diesem Thema auch wirtschaftliche Relevanz. Die Kosten für das Gesundheitssystem und die Gesellschaft als Ganzes, die durch die Sepsis verursacht werden, sind sicherlich beträchtlich. Die jährlichen Kosten werden allein für die USA auf etwa 6,7 Milliarden US\$ geschätzt.[2] Neue Erkenntnisse zu Prävention, Diagnose und Therapie könnten evtl. in Zukunft dazu beitragen diese Kosten zu senken.

Zwar wurde im Rahmen dieser Diplomarbeit der Sonderfall der Meningokokken-erkrankungen und damit auch der Sonderfall der Meningokokkensepsis behandelt, dennoch hat diese Erkrankung den Charakter einer Modellerkrankung für die Sepsis im Allgemeinen. Das kann man mit einigen für Meningokokken-erkrankungen typischen Eigenschaften begründen. So treten viele der Meningokokken-erkrankungen im Kindes- und Jugendalter auf, in der Patientengruppe dieser Diplomarbeit war beispielsweise der/die älteste Patient/in 18 Jahre und 4 Monate alt. Dadurch kann man davon ausgehen, dass die Patienten vor der Erkrankung mit hoher Wahrscheinlichkeit gesund waren. Weiters wird die Meningokokkensepsis durch einen definierten Erreger verursacht, dessen Diagnose absicherbar ist. Antibiotikaresistenzen von Meningokokken sind selten und beeinflussen somit auch nicht den Verlauf der Erkrankung. Typische Sepsispatienten leiden hingegen oftmals an einer Vielzahl verschiedener Erkrankungen, ausgelöst durch unterschiedliche Erreger, die evtl. auch resistent gegenüber diversen Antibiotika sind. Letzteres kann durch eine verspätet einsetzende Therapie mit einem wirksamen Antibiotikum die Resultate von Studien beeinflussen und somit verzerren. Weiters leiden erwachsene Sepsispatienten häufig an Grunderkrankungen, die den Verlauf der Sepsis beeinflussen können. Dennoch bleibt die Fragestellung offen, ob man Erkenntnisse, die man anhand von Untersuchungen an Kindern und Jugendlichen gewonnen hat, auf die Krankheitsverläufe von Erwachsenen übertragen kann. Ein weiterer bedeutender Unterschied zwischen der Meningokokkensepsis und der allgemeinen Sepsis ist, dass die meisten Patienten, die an einer

Meningokokkensepsis versterben, innerhalb von 24 Stunden sterben. Dies steht im Gegensatz zur allgemeinen Sepsis, bei der als wichtiges Kriterium zur Abschätzung der Schwere in Studien häufig die Mortalität innerhalb der ersten 28 Tage verwendet wird. Bei der Betrachtung der Meningokokkensepsis muss man hierzu andere Kriterien zu Hilfe nehmen wie etwa die Notwendigkeit von Amputationen, oder neurologische Langzeitschäden.[3 - 5]

Da die Funktionen des β_2 -Adrenozeptor bereits weitestgehend bekannt sind, er ubiquitär im Körper vorkommt und auch bei anderen Erkrankungen Ziel der therapeutischen Intervention ist, stellen seine Mutationen ein gutes Ziel für die Untersuchung ihrer Bedeutung im Rahmen der Sepsis im Allgemeinen und der Meningokokkensepsis im Speziellen dar.[12]

Der Tod durch eine Meningokokkensepsis tritt hauptsächlich durch die Kreislaufinsuffizienz aufgrund des intravaskulären Volumenmangels durch Vasodilatation und somit verminderten peripheren Widerstand, kapilläre Leakage und Herzversagen auf. Dem versucht der Körper zwar mit dem Ansteigen der Katecholaminspiegel entgegenzuwirken, jedoch bleibt dies häufig ohne Wirkung, da die Patienten im septischen Schock nur mit einer verminderten Reaktion im Sinne einer Vasokonstriktion reagieren. Als Ursache hierfür nimmt man eine Downregulation der adrenergen Rezeptoren und erhöhte Stickstoffmonoxidspiegel an. Der im Rahmen dieser Diplomarbeit untersuchte β_2 -Adrenozeptor führt im Großteil des Gefäßsystems zur Vasodilatation. Eine Mutation, die eine Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve bewirkt, wie eben die Ile164-Variante des Thr164Ile-Polymorphismus, führt in diesem Zusammenhang zu einer verstärkten Vasokonstriktion. Neben dem Einfluss auf den Gefäßtonus hat der β_2 -Adrenozeptor auch eine positive inotrope und chronotrope Wirkung auf das Myokard. Da das Herz lediglich eine Dichte von β_2 -Rezeptoren von etwa 85 fmol/mg besitzt, was im Vergleich zur Lunge mit 182 fmol/mg relativ gering ist, zeigen Mutationen des β_2 -Adrenozeptors im Herzen aufgrund der geringeren Reserve vergleichsweise schnell Auswirkungen. Von der Ile164-Variante ist u.a. bereits bekannt, dass sie zu einer verminderten Venodilatation, verminderter Herzfrequenz und schlechterer inotroper Antwort auf Terbutalingabe im Vergleich zu homozygoten Thr164-Trägern führt. Von Herzinsuffizienzpatienten mit der Ile164-Variante ist bekannt, dass sie eine geringere Toleranz gegenüber

Anstrengung und eine höhere Mortalität zeigen. Bei der Betrachtung der Sepsis in diesem Zusammenhang ist hervorzuheben, dass die meisten Patienten mit schwerer Sepsis innerhalb von 24 Stunden eine verminderte Herzfunktion im Sinne einer erhöhten enddiastolischen und systolischen Ventrikelfüllung und reduzierter Ejection-Fraction zeigen. Da gleichzeitig die Koronarien dilatiert sind, ist eine Hypoxie als Ursache hierfür auszuschließen. Diese Beeinträchtigung der Herzfunktion bildet sich bei Überlebenden innerhalb einiger Tage wieder zurück. [12, 17, 48, 54, 60, 61, 67, 70, 71]

Diese Diplomarbeit liefert zwei Ergebnisse. Zum Einen konnte im Rahmen der Vorbereitung der eigentlichen Untersuchung bzgl. der Auswirkungen des Thr164Ile-Polymorphismus auf Meningokokkenerkrankungen gezeigt werden, dass dieser SNP auch mit einer anderen Methode als der bis dahin zu diesem Zweck üblichen TaqMan-PCR nachgewiesen werden kann. Die Schmelzkurvenanalyse mit SYBR Green I als Farbstoff konnte hierfür als kostengünstigere Alternative etabliert werden. Zum Anderen konnte auch eine Auswirkung des Thr164Ile-Polymorphismus auf die Suszeptibilität und das Überleben einer Meningokokkenerkrankung nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse der Genotypisierung stimmten mit vorangegangenen Untersuchungen dahingehend überein, dass sich auch bei dieser Arbeit kein Hinweis auf einen homozygoten Träger der Ile164-Variante des Thr164Ile-Polymorphismus fand. Dies spricht für die schon früher geäußerte Annahme, dass Homozygote nicht überlebensfähig zu sein scheinen. Die Identifikation eines Homozygoten wäre mit der gewählten Methode der Schmelzkurvenanalyse zwar schwieriger als die Identifikation eines Heterozygoten, aber durchaus möglich.[71, 84]

Der erbrachte signifikante Nachweis einer Auswirkung des Thr164Ile-Polymorphismus auf die Suszeptibilität und das Überleben einer Meningokokkenerkrankung ist bemerkenswert, da Heterozygote im Bereich dieses Polymorphismus mit einer Häufigkeit von 0,5 – 2,3% der Bevölkerung sehr selten auftreten und somit nur ein kleiner Teil der Patienten und der Kontrollen heterozygote Träger der Ile164-Variante des Thr164Ile-Polymorphismus waren. [70] Aufgrund der geringen Anzahl an Patienten und Kontrollen mit der Ile164-Variante ließen sich bei kontinuierlichen Variablen keine signifikanten Auffälligkeiten gegenüber dem Wildtyp feststellen. Der Umstand, dass ein

Wirtsfaktor, wie ein Polymorphismus im β_2 -Adrenozeptor, den Verlauf einer Infektionserkrankung beeinflussen kann, überrascht hingegen in Anbetracht bereits schon früher gewonnener Erkenntnisse wenig. Sorensen et al.[11] publizierten bereits 1988 die anhand von Untersuchungen mit adoptierten Kindern gewonnene Erkenntnis, dass das Risiko an einer Infektionserkrankung zu versterben etwa fünffach erhöht ist, wenn ein Elternteil jung an einer Infektionserkrankung starb.[11] Für die Meningokokkenerkrankung konnten bereits Einflüsse durch Mutationen der Gene für PAI-1, TNF α oder IL-10 nachgewiesen werden.[4, 7 - 10] Wirtsfaktoren tragen insgesamt zu etwa einem Drittel zum Gesamtrisiko für das Auftreten einer Meningokokkenerkrankung bei.[6]

Das etwa 3,6-fach erhöhte Risiko der Patienten mit der Ile164-Variante an einer Meningokokkenerkrankung zu versterben scheint in Anbetracht der bisherigen Erkenntnisse bzgl. den Einflüssen dieses Polymorphismus auf Herzerkrankungen, wie sie beispielsweise durch Barbato et al.[69], Ligett et al.[72] und Piscione et al. [71] beschrieben wurden, in Zusammenhang mit der verminderten inotropen und chronotropen Reaktion auf Katecholamine zu stehen. Die vergleichsweise geringe Dichte an β_2 -Rezeptoren im Myokard und somit größere Empfindlichkeit gegenüber Fehlfunktionen des β_2 -Rezeptors spricht ebenso für diese Vermutung. Zu Beachten ist auch, dass die verminderte Reaktion der von der Ile164-Variante des Thr164Ile-Polymorphismus betroffenen β_2 -Rezeptoren nicht nur körpereigene Katecholamine betrifft, sondern auch die Wirkung von aus therapeutischer Intention verabreichten Katecholaminen mindert. Nicht beeinflussen sollte Heterozygotie im Bereich des Thr164Ile-Polymorphismus allerdings die Wirkung von Dopamin und Dobutamin, da diese keine β -Hydroxylgruppen besitzen. Des Weiteren sollte auch die Wirkung von Noradrenalin im Vergleich zu Adrenalin aufgrund der ohnehin geringeren Affinität zum β_2 -Rezeptor weniger von der Thr164Ile-Variante beeinflusst werden.[60 - 62, 64, 70 - 73]

Für die 3,4-fach erhöhte Suszeptibilität der heterozygoten Träger der Ile164-Variante für Meningokokkenerkrankungen lässt sich auch in der Zusammenschau mit anderen Publikationen zu den Auswirkungen dieses Polymorphismus keine zufriedenstellende Theorie aufstellen.

Die Aussagekraft von Erstbeschreibungen genetischer Assoziationen ist nach Ioannidis et al.[90] jedoch eingeschränkt. Oftmals lässt die Erstbeschreibung einen

stärkeren Einfluss vermuten als mit nachfolgenden Untersuchungen zum selben Thema bestätigt werden kann. Für diesen Umstand gibt es diverse Ursachen unter anderem werden Ergebnisse, die keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zeigen, oftmals nicht publiziert, wodurch ein „Publication bias“ zustande kommt. Eine andere Ursache sind die häufig relativ kleinen Patientenkollektive, die für erstmalige Abklärung einer Fragestellung zur Verfügung stehen. Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Forschungsergebnis von nachfolgenden Untersuchungen bestätigt werden kann, hängt zu einem großen Teil von der Vortestwahrscheinlichkeit ab. Je höher die Vortestwahrscheinlichkeit, desto höher ist auch die Wahrscheinlichkeit der Bestätigung des Ergebnisses.[91, 92]

5 Literaturverzeichnis

- 1: Werdan K. Sepsis. Internist 2009; 50: 777-778
- 2: Moerer O, Burchardi H. Kosten der Sepsis. Anaesthesist 2006; 55: 36-42
- 3: Giroir BP. Meningococemia as a model for testing the hypothesis of antisepsis therapies. Crit Care Med 2000; 28: 57-59
- 4: Cohen J. Meningococcal disease as a model to evaluate novel anti-sepsis strategies. Crit Care Med 2000; 28: 64-67
- 5: Baines PB, Carrol ED. In meningococcal disease 4G bad, 5G good. Crit Care Med 2003; 31(12): 2813-2814
- 6: Haralambous E, Weiss HA, Radalowicz A, Hibberd ML, Booy R, Levin M. Sibling familial risk ratio of meningococcal disease in UK Caucasians. Epidemiol. Infect. 2003; 130: 413-418
- 7: Westendorp RGJ, Langermans JAM, Huizinga TWJ, Elouali AH, Verweij CL, Boomsma DI, Vandenbrouke JP. Genetic influence on cytokine production and fatal meningococcal disease. Lancet 1997; 349: 170-173
- 8: Westendorp RGJ, Hottenga JJ, Slagboom PE. Variation in plasminogen-activator-inhibitor-1 gene and risk of meningococcal septic shock. Lancet 1999; 354: 561-563
- 9: Hermans PWM, Hibberd ML, Booy R, Daramola O, Hazelzet JA, de Groot R, et al.. 4G/5G promoter polymorphism in the plasminogen-activatorinhibitor-1 gene and outcome of meningococcal disease. Lancet 1999; 354: 556-560
- 10: Nadel S, Newport MJ, Booy R, Levin M. Variation in the Tumor Necrosis Factor-alpha Gene Promoter Region May Be Associated with Death from Meningococcal Disease. The Journal of Infectious Diseases 1996; 174: 878-880
- 11: Sorensen TI, Nielsen GG, Andersen PK, Teasdale TW. Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptees. N Eng J Med 1988; 318: 727-732
- 12: Eisenach JH, Wittwer ED. β -Adrenoceptor gene variation and intermediate physiological traits: prediction of distant phenotype. Exp Physiol 2010; 95(7): 757-764
- 13: Geishofer G, Binder A, Müller M, Zöhrer B, Resch B, Müller W, et al.. 4G/5G promoter polymorphism in the plasminogen-activator-inhibitor-1 gene in children with systemic meningococcaemia. Eur J Pediatr 2005; 164: 486-490
- 14: Binder A, Endler G, Rieger S, Geishofer G, Resch B, Mannhalter C, Zenz W. Protein C promoter polymorphisms associate with sepsis in children with systemic meningococemia. Hum Genet 2007; 122: 183-190
- 15: Ehrhard I. Neisseria meningitidis. In: Darai G, Handermann M, Sonntag HG, Tidona CA, Zöllner L, Herausgeber. Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen. 3. Auflage. Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2009. 586-592

- 16: CDC/ Dr. Brodsky. ID#6423. CDC. 1966,
URL: <http://phil.cdc.gov/phil/details.asp?pid=6423> aufgerufen am 15.06.2011
- 17: de Kleijn ED, Hazelzet JA, Kornelisse RF, de Groot R. Pathophysiology of meningococcal sepsis in children. *Eur J Pediatr* 1998; 157: 869-880
- 18: Stephens DS, Munford RS, Wetzler LM. Meningococcal Infections. In: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16th Edition. New York: McGraw-Hill Medical Publishing Division; 2005. 849 - 855
- 19: Hof H, Dörries R. *Duale Reihe Medizinische Mikrobiologie*. 3. komplett überarbeitete und erweiterte Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2005. 361 - 368
- 20: Meningokokken-Erkrankungen RKI-Ratgeber Infektionskrankheiten – Merkblätter für Ärzte (Stand August 2010). Robert Koch Institut. aktualisierte Fassung vom August 2010,
URL: http://www.rki.de/clin_160/nn_494546/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber__Mbl__Meningokokken.html aufgerufen am 9.11.2010
- 21: Haijan Zhou, Zhujun Shao, Quian Li, Li Xu, Jiang Wu, Biao Kan, Jianguo Xu. *Neisseria meningitidis* Strain of Unknown Serogroup, China. *Emerging Infectious Diseases* 2011; 17(3): 569-571
- 22: Ashton FE, Ryan A, Diena B, Jennings HJ. An New Serogroup (L) of *Neisseria meningitidis*. *Journal of Clinical Microbiology* 1983; 17(5): 722-727
- 23: Steindl G, Liu Y-L, Schmid D, Orendi U, Kormann-Klement A, Heuberger S. Epidemiology of invasive meningococcal disease in Austria 2010. *Wiener klinische Wochenschrift* 2011; vorab online publiziert
URL: www.springerlink.com/content/e14027127206m010/ aufgerufen am 2.10.2011
- 24: Jahresbericht 2010. Nationale Referenzzentrale für Meningokokken an der österreichischen Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit. 2011,
URL: http://www.bmg.gv.at/cms/home/attachments/7/6/0/CH1305/CMS1299588520701/jb_meningokokken_2010.pdf aufgerufen am 3.6.2011
- 25: Tully J, Viner RM, Coen PG, Stuart JM, Zambon M, Peckham C et al.. Risk and protective factors for meningococcal disease in adolescents: matched cohort study. *BMJ* 2006; 332(7539): 445-450
- 26: Jahresbericht 2009. Nationale Referenzzentrale für Meningokokken an der österreichischen Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit. 2010,
URL: http://www.bmg.gv.at/cms/site/attachments/8/7/1/CH0954/CMS1268584526720/jb_meningokokken_2009.pdf aufgerufen am 8.11.2010
- 27: Vorläufiger Impfplan 2010. Bundesministerium für Gesundheit. 2010,
URL: http://www.bmgfj.gv.at/cms/site/attachments/1/4/0/CH0780/CMS1038913010412/impfplan_2010_korr_maerz.pdf aufgerufen am 9.11.2010
- 28: Harrison LH. Epidemiological Profile of Meningococcal Disease in the United States. *Clinical Infectious Diseases* 2010; 50: 37-44

- 29: Thompson MJ, Ninis N, Perera R, Mayon-White R, Phillips C, Bailey L et al.. Clinical recognition of meningococcal disease in children and adolescents. *Lancet* 2006; 367: 397-403
- 30: Mekkes JR. Meningitis (Acute Bacteriële Meningitis) / Meningococce Sepsis.
URL: <http://www.huidziekten.nl/zakboek/dermatosen/mtxt/Meningitis.htm> aufgerufen am 6.10.2011
- 31: Meningitis rush - the glass test. Meningitis Trust,
URL: <http://www.meningitis-trust.org/meningitis-info/signs-and-symptoms/glass-test> aufgerufen am 6.10.2011
- 32: Arditi M, Zhou J, Dorio R, Rong GW, Goyert SM, Kim KS. Endotoxin-Mediated Endothelial Cell Injury and Activation: Role of Soluble CD14. *Infect Immun* 1993; 61(8): 3149-3156
- 33: Aneja RK, Carcillo JA. Differences between adult and pediatric septic shock. *Minerva Anestesiologica* 2011; 77: 986-992
- 34: Nadel S. Lumbar puncture should not be performed in meningococcal disease. *Archives of Disease in Childhood* 2001; 84(4): 375
- 35: Pollard AJ, Cloke A, Glennie L, Faust SN, Haines C, Heath PT et al.. Management of Meningococcal Disease in Children and Young People. Meningitis Research Foundation. 2010,
URL: <http://www.meningitis.org/assets/x/50150> aufgerufen am 3.10.2011
- 36: Pollard AJ, Cloke A, Glennie L, Faust SN, Haines C, Heath PT et al.. Management of Bacterial Meningitis in Children and Young People. Meningitis Research Foundation. 2010,
URL: <http://www.meningitis.org/assets/x/53067> aufgerufen am 3.10.2011
- 37: Stahlmann R, Lode H. 36.13 Chinolone. In: Aktories K, Förstermann U, Hofmann FB, Starke K, Herausgeber. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 9. Auflage. München: Urban & Fischer; 2005. 830-838
- 38: van de Beek D, Farrar JJ, de Gans J, Ngyuen Thi Hoang Mai, Molyneux EM, Peltola H, et al.. Adjunctive dexamethasone in bacterial meningitis: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet Neurol* 2010; 9(3): 254-263
- 39: Minneci PC, Deans KJ, Eichacker PQ, Natanson C. The effects of steroids during sepsis depend on dose and severity of illness: an updated meta-analysis. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15: 308-318
- 40: Suffredini AF, Munford RS. Novel Therapies for Septic Shock Over the Past 4 Decades. *JAMA* 2011; 306(2): 194-199
- 41: Sprung CL, Annane D, Keh D, Moreno R, Singer M, Freivogel K et al.. Hydrocortisone Therapy for Patients with Septic Shock. *N Engl J Med* 2008; 358(2): 111-124
- 42: Annane D, Bellissant E, Bollaert PE, Briegel J, Confalonieri M, de Gaudio R et al.. Corticosteroids in the Treatment of Severe Sepsis and Septic Shock in Adults A Systematic Review. *JAMA* 2009; 301(22): 2362-2375

- 43: Warren BL, Eid A, Singer P, Pillay SS, Carl P, Novak I et al.. High-Dose Antithrombin III in Severe Sepsis A Randomized Controlled Trial. *JAMA* 2001; 286: 1869-1878
- 44: Levi M, Toh CH, Thachil J, Watson HG. Guidelines for the diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation. *Br J Haematol* 2009; 145(1): 24-33
- 45: Impfplan 2011 Österreich. Bundesministerium für Gesundheit. 2011, URL: http://www.bmg.gv.at/cms/home/attachments/1/4/0/CH1100/CMS1038913010412/impfplan_2011.pdf aufgerufen am 12.08.2011
- 46: Epidemiologisches Bulletin 30/2010. Robert Koch Institut. 2010, URL: http://www.rki.de/cln_160/nn_1493664/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2010/30__10,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/30_10.pdf aufgerufen am 10.11.2010
- 47: Salzberger B, Fätkenheurer G, Diehl V. Syndrome und spezifische Probleme. In: Berdel WE, Böhm M, Classen M, Diehl V, Kochsiek K, Schmiegel W, Herausgeber. *Innere Medizin*. 5. Auflage. München: Urban & Fischer; 2004. 824-836
- 48: Munford RS. Severe sepsis and septic shock. In: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16th Edition. New York: McGraw-Hill Medical Publishing Division; 2005. 1606-1612
- 49: Walmrath HD, Grimminger F, Seeger W. Sepsis und septischer Schock. In: Schölmerich J, Herausgeber. *Medizinische Therapie 2005|2006*. 2. Auflage. Heidelberg: Springer Verlag; 2005. 47-55
- 50: Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS international sepsis definitions conference. *Crit Care Med* 2003; 31(4): 1250-1256
- 51: Goldstein B, Giroir B, Randolph A. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med* 2005; 8(1): 2-8
- 52: Munford RS, Pugin J. Normal Responses to Injury Prevent Systemic Inflammation and Can Be Immunosuppressive. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 316-321
- 53: Brunkhorst FM, Reinhart K. Diagnose und kausale Therapie der Sepsis. *Internist* 2009; 50: 810-816
- 54: Werdan K, Hettwer S, Bubel S, Oelke A, Hoke RS, Wimmer R, et al.. Septischer Kreislaufschock und septische Kardiomyopathie. *Internist* 2009; 50: 799-809
- 55: Landry DW, Oliver JA. The pathogenesis of vasodilatory shock. *N Engl J Med* 2001; 345(8): 588-595
- 56: Landry DW, Levin HR, Gallant EM, Ashton RC, Seo S, Alessandro DD et al.. Vasopressin Deficiency Contributes to the Vasodilation of Septic Shock. *Circulation* 1997; 95: 1122-1125

- 57: Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, LaRosa SR, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A, et al.. Efficacy and safety of recombinant human activated Protein C for severe sepsis. *N Engl J Med* 2001; 344(10): 699-709
- 58: Markrücknahme von Xigris® [Wirkstoff: Drotrecogin alfa (aktiviert)]. Lilly Deutschland GmbH. 2011,
URL: <http://www.akdae.de/Arzneimittelsicherheit/RHB/20111028.pdf>
aufgerufen am 01.02.2012
- 59: Nadel S, Goldstein B, Williams MD, Dalton H, Peters M, Macias WL et al.. Drotrecogin alfa (activated) in children with severe sepsis: a multicentre phase III randomised controlled trial. *Lancet* 2007; 369: 836-843
- 60: Horn F, Moc I, Schneider N, Grillhösl C, Berghold S, Lindenmeier G. *Biochemie des Menschen Das Lehrbuch für das Medizinstudium*. 3. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2005. 360-365
- 61: Snyder EM, Johnson BD, Joyner MJ. Genetics of beta2-adrenergic receptors and the cardiopulmonary response to exercise. *Exerc Sport Sci Rev* 2008; 36(2): 98-105
- 62: Starke K. Pharmakologie noradrenerger und adrenerger Systeme. In: Aktories K, Förstermann U, Hofmann F, Starke K, Herausgeber. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 9. Auflage. München: Urban & Fischer Verlag; 2005. 173 - 211
- 63: Horn F, Moc I, Schneider N, Grillhösl C, Berghold S, Lindenmeier G. *Biochemie des Menschen Das Lehrbuch für das Medizinstudium*. 3. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2005. 342-347
- 64: Green SA, Cole G, Jacinto M, Innis M, Ligett SB. A polymorphism of the human beta 2-adrenergic receptor within the fourth transmembrane domain alters ligand binding and functional properties of the receptor . *J Biol Chem* 1993; 268(31): 23116-23121
- 65: Kleine B, Rossmannith WG. *Hormone und Hormonsystem Lehrbuch der Endokrinologie*. 2. Auflage. Heidelberg: Springer-Verlag; 2010. 181-186
- 66: G-Protein-gekoppelter Rezeptor. Wikipedia. 2006,
URL: http://de.wikipedia.org/wiki/G-Protein-gekoppelter_Rezeptor aufgerufen am 7.10.2011
- 67: Bruck H, Leineweber K, Park J, Weber M, Heusch G, Phillip T, Brodde OE. Human beta2-adrenergic receptor gene haplotypes and venodilation in vivo. *Clin Pharmacol Ther* 2005; 78(3): 232-238
- 68: Brodde OE. Beta1- and beta2-adrenoceptor polymorphisms and cardiovascular diseases. *Fundam Clin Pharmacol* 2008; 22(2): 107-125
- 69: Littlejohn MD, Palmer BR, Richards AM, Frampton CM, Pilbrow AP, Troughton RW, et al. Ile164 variant of beta2-adrenoceptor does not influence outcome in heart failure but may interact with beta blocker treatment. *Eur J Heart Fail* 2008; 10(1): 55-59

- 70: Barbato E, Penicka M, Delrue L, Van Durme F, De Bruyne B, Goethals M, et al. Thr164Ile polymorphism of beta2-adrenergic receptor negatively modulates cardiac contractility: implications for prognosis in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Heart* 2007; 93(7): 856-861
- 71: Dishy V, Landau R, Sofowora GG, Xie HG, Smiley R, Kim R, et al. Beta2-adrenoceptor Thr164Ile polymorphism is associated with markedly decreased vasodilator and increased vasoconstrictor sensitivity in vivo. *Pharmacogenetics* 2004; 14(8): 517-522
- 72: Piscione F, Iaccarino G, Galasso G, Cipolletta E, Rao MA, Brevetti G, et al. Effects of Ile164 polymorphism of beta2-adrenergic receptor gene on coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2008; 52(17): 1381-1388
- 73: Liggett SB, Wagoner LE, Craft LL, Hornung RW, Hoit BD, McIntosh TC, Walsh R. The Ile164 beta2-adrenergic receptor polymorphism adversely affects the outcome of congestive heart failure. *J Clin Invest* 1998; 102(8): 1534-1539
- 74: Pereira AC, Floriano MS, Mota GFA, Cunha RS, Herkenhoff FL, Mill JG, Krieger JE. Beta2 adrenoceptor functional gene variants, obesity, and blood pressure level interactions in the general population. *Hypertension* 2003; 42: 685-692
- 75: Annane D, Bellissant E, Bollaert PE, Briegel J, Keh D, Kupfer Y. Corticosteroids for severe sepsis and septic shock: a systemic review and meta-analysis. *BMJ* 2004; 329: 480
- 76: Saez-Llorens X, McCracken GH Jr. Sepsis syndrome and septic shock in pediatrics: current concepts of terminology, pathophysiology and management. *J Pediatr* 1993; 123: 497-508
- 77: Schild TA. "'7700 SDS Workshop'" Einführung in die Real-Time TaqMan PCR-Technologie.
URL: <http://www.core-facility.uni-freiburg.de/lc480/lc480obj/sdsman> aufgerufen am 29.03.2011
- 78: Holzapfel B, Wickert L. Methoden und Anwendungsgebiete Die quantitative Real-Time-PCR (qRT-PCR). *Biol. Unserer Zeit* 2007; 37: 120-126
- 79: PCR Optimization: Reaction Conditions and Components. Applied Biosystems. 2011,
URL: <http://www6.appliedbiosystems.com/support/techtools/pcropt/> aufgerufen am 29.11.2011
- 80: . TaqMan® SNP Genotyping Assays Protocol. Applied Biosystems. 2010,
URL: http://www3.appliedbiosystems.com/cms/groups/mcb_support/documents/generaldocuments/cms_042998.pdf aufgerufen am 9.9.2011
- 81: Latif S, Bauer-Sardina I, Ranade K, Livak KJ, Pui-Yan Kwok. Fluorescence Polarization in Homogenous Nucleic Acid Analysis II: 5'-Nuclease Assay. *Genome Res* 2001; 11: 436-440
- 82: Applied Biosystems Standard Dye Sets for Genotyping Applications. Applied Biosystems. 2005,

URL: <http://www.uri.edu/research/gsc/docs/ABI%20Dye%20Set%20card.pdf>
aufgerufen am 12.8.2011

- 83: von Ahsen N, Oellerich M, Schütz E . Use of two Reporter Dyes without Interference in a Single-Tube Rapid-Cycle PCR: Alpha1-Antitrypsin Genotyping by Multiplex Real-Time Fluorescence PCR with the LightCycler. *Clinical Chemistry* 2000; 46(2): 156-161
- 84: Reed GH, Wittwer CT. Sensitivity and Specificity of Single-Nucleotide Polymorphism Scanning by High Resolution Melting Analysis. *Clinical Chemistry* 2004; 50(10): 1748-1754
- 85: Erali M, Voelkerding KV, Wittwer CT. High resolution melting applications for clinical laboratory medicine. *Experimental and Molecular Pathology* 2008; 85: 50-58
- 86: Liew M, Pryor R, Palais R, Meadows C, Erali M, Lyon E, Wittwer C. Genotyping of Single-Nucleotide Polymorphisms by High-Resolution Melting of Small Amplicons. *Clinical Chemistry* 2004; 50(7): 1156-1164
- 87: Pals G, Young C, Hui Sheng Mao, Worsham MJ. Detection of a single base substitution in a single cell using the LightCycler. *J Biochem Biophys Methods* 2001; 47: 121-129
- 88: TaqMan® and SYBR® Green Chemistries.
URL: <http://www.appliedbiosystems.com/absite/us/en/home/applications-technologies/real-time-pcr/taqman-and-sybr-green-chemistries.html?ICID=EDI-Lrn4> aufgerufen am 16. Juni 2011
- 89: LightCycler® 480 DNA SYBR Green I Master Version June 2005. Roche Applied Science. 2005,
URL: <http://www.cbmjg.umd.edu/files/cbmjg/corelab/SYBRGreen.pdf>
aufgerufen am 11.08.2011
- 90: Christel Weiß. *Basiswissen Medizinische Statistik*. 4. Auflage. Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2008.
- 91: Ioannidis JPA, Ntzani EE, Trikalinos TA, Contopoulos-Ioannidis DG. Replication validity of genetic association studies. *Nature Genetics* 2001; 29(3): 306-309
- 92: Ioannidis JPA. Why Most Published Research Findings Are False. *PLoS Med* 2005; 2(8): e124

Anhang – Therapieschema der Meningokokkensepsis der pädiatrischen Intensivstation der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz

Therapieschema der Meningokokkensepsis						
Name		Datum 29.09.11	Gewicht	10 kg	blaue Felder variabel!	
Probepatient mit 10 kg (kein Komma!)					rote Felder nicht ändern	
Blutabnahme: BBD, CRP, P, CK, CK-MB, Troponin, Laktat, SvO ₂ , Gerinnung+TZ+AT III, D-Dimer, ZRI: PCT, Plasma Cortisol; 2xEDTA-Blut für Prof.Zenz						
Blutbank bereitstellen: EKs (1-2 EK/10 kgKG), FFP 10-30 ml/kgKG (2 FFP/10 kg/KG)						
Keimnachweis: PCR, Abstriche, Blutkultur → Bakt Beethovstr.						
	Dosierung		ml/h	Menge		
<20 kg: Volumengabe mit HA 5% / RL	20 ml/kg	iv in 20 min	600	200 ml	Infusomaten	
>20 kg: Volumengabe mit 10-20 ml/kg HA dann mit Plasmaexpander Volumen / RLweiter						
Bei Purpura Fulminans: erweiterte Volumengabe mit FFP						
Volumsmenge l. Stunde: 20ml/kg bis 3 mal Intubation nach 40-60ml/kg						
Rocephin	100 mg/kg	iv (in 15 min)		1000 mg		
Volumsrefraktärer Schock:						
Dobutamin (5-10 µg/kg/min)	5 µg/kg/min	iv (für 24 h)	2	75 mg	ad 50 ml G5%	
Volums und Dopamin refraktärer Schock:						
kalter Schock						
Suprarenin (0,05-1)	0,25 µg/kg/min	iv (für 24 h)	2	1,8 mg	ad 50 ml G5%	
warmer Schock						
Arterenol (0-2)	0,25 µg/kg/min	iv (für 24 h)	2	1,8 mg	ad 50 ml G5%	
katecholamiresistenter Schock						
Volumsgabe nach ZVD						
bei ZVD > 12 mmHg 3-5 ml/kg	5 ml/kg/h	Kliv	300	50 ml		
ZVD 8-12 mmHg 10-20 ml/kg	10 ml/kg/h	Kliv	600	100 ml		
bei ZVD < 8 mmHg 20-40 ml/kg	20 ml/kg/h	Kliv	1200	200 ml		
bei ZVD > 10 mmHg						
Corotrop (0,25 - 0,75)	0,5 µg/kg/min	iv (für 24 h)	2	3,6 mg	ad 50 ml G5%	
Solucortef Bolus	1 mg/kg	iv in 20 min		10 mg		
Solucortef kont.	3 mg/kg/T	iv (für 24 h)	2	30 mg	ad 50 ml G5%	
persistierender warmer Schock trotz Arterenol > 1 µg/kg/min + Solucortef						
Remestyp (5-10 µg/kg iv)	5 µg/kg	4-6 x tgl KI iv		50 µg	cave RR ↑ Perfusion ↓ SVO ₂ + Laktat?	
HKT Ziel 35%						
Sedoanalgesie Schock						
Ketanest S 1-2 mg/kg/h	0,5 mg/kg/h	iv (für 24 h)	2	125 mg	ad 50 ml G5%	
Dormicum (0,1-0,2 mg/kg/h)	0,2 mg/kg/h	iv (für 24 h)	2	50 mg	ad 50 ml G5%	
% + Hirnödem:						
Nimbex	0,2 mg/kg/h	iv (für 24 h)	2	50 mg	ad 50 ml G5%	
Fentanyl	0,015 µg/kg/min	iv (für 24 h)	2	0,225 mg	ad 50 ml G5%	
<20kg: Dormicum (0,2-0,4 mg/kg/h)	0,3 mg/kg/h	iv (für 24 h)	2	75 mg	ad 50 ml G5%	
>20kg: Diprivan 2% 1-6 mg/kg/h	2 mg/kg/h	iv		1 ml/h	pur	
Manitol 15 %	0,25 g/kg	iv in 30 min		17 ml		
eventuell+Lasix (0,25-05 mg/kg)	0,5 mg/kg	iv 4xtgl		5 mg		
NaHCO ₃ (pH < 7,20, cave K+ !)	1 mval/kg	iv in 20 min		10 mval	10 ml G5%	
progressive Purpura Fulminans:						
FFP (20-40 ml/kg, cave ZVD!)	30 ml/kg	in 3 h	100	300 ml		
ATIII	50 IE/kg	iv bei ATIII < 30%		500 IE		
ATIII	20 IE/kg/h	iv (für 4 h)		800 IE		
Heparin	50 IE/kg	iv Bolus		500 IE	pur	
Heparin (5-15 IE/kg/h)	10 IE/kg/h	iv (für 50 h)	2	2500 IE	ad 50 ml G5%	
Thromboseprophylaxe						
Erhaltungsbedarf für 24 Stunden 1000ml/m², Wunsch BZ 100-150 mg/dl						
BZ < 100 mg/dl → Elomel isoton + G				13,33 ml/h		
BZ 100-150 mg/dl → Elomel I+G + Rinç (ev 1:1)						
BZ > 150 mg/dl → Ringerlaktat						
Ulsal (1,5 mg/kg, 3x)	1,5 mg/kg	KI iv		15 mg		

Patient: _____
(Initialen)

Geburtsdatum: ____/____/____
Tag/Monat/ Jahr

Patientennummer: _____

Diagnose

- Wie viel Zeit verging zwischen Fieberbeginn u. Beginn des Exanths?
(Def.: Zeitpunkt des Exanthembeginns: Mittel zwischen letzter Beobachtung des Kindes ohne und erster Beobachtung mit Petechien) _____ h
- Wie viel Zeit lag zwischen Beginn des Exanths und Beginn der stationären Behandlung? _____ h
- Wie viele Stunden nach Exanthembeginn war die maximale Ausdehnung der Purpura? _____ h
- Wie lange dauerte der Transport vom Heimatort zur PICU?
 < 30 min 30 – 60 min 60 – 120 min > 120 min

Diagnose der Meningokokkeninfektion durch:

- Blutkultur
 - Liquorkultur
 - Nachweis von Bakterienantigenen
 - Polymerase chain reaction (Blut/Liquor)
 - Diplokokken Haut-Kratz-Test
 - typisches klinisches Bild (Symptome der Sepsis und Purpura fulminans)
 - Antibiotische Therapie vor mikrobiologischer Untersuchung
- genaue **Erregerspezies**: _____

Aufnahmestatus

- Herzfrequenz bei Aufnahme (Klinik): _____ Schläge/min
- systemischer Blutdruck bei Aufnahme: _____ syst.; _____ diast.; _____ MAD (mmHg)
- verlängerte Rekapillarisationszeit bei Aufnahme (>4 sec.) ja nein
- zentrale Temp. bei Aufnahme: _____ °C; wo gemessen: _____
- zentrale – periphere Hauttemperaturdifferenz bei Aufnahme: _____ °C
wo gemessen: _____

Organversagen

- **Schock:** ja nein
>38,3 °C oder <35,6 °C und hämodynamische Instabilität [Tachykardie, inadäquate Organperfusion (z.B. verminderte Urinproduktion und/oder periphere Hypothermie) und die Notwendigkeit der Volumenzufuhr und/oder inotropen Unterstützung]
- **niedrigster Blutdruck** zu irgendeiner Zeit (bei Überlebenden): _____ mm Hg
- **Nierenversagen:** ja nein
Oligurie mit Harnausscheidung < 0,5 ml/kg/h für > 1 h trotz akuter Volumensubstitution oder adäquatem intravaskulärem Volumen und ohne präexistente Nierenerkrankung.
- **Lungenversagen:** ja nein
Radiologischer Nachweis eines pulmonalen Ödems, PaO₂/FiO₂ Verhältnis unter 200. PEEP >6 cm H₂O, Apnoe oder AF > 70/min
- **Leberversagen:** ja nein
GOT > 2x normal, direktes Bilirubin > 3 mg/dl
- **Disseminierte intravasale Gerinnung** ja nein
pTT > 1,5 x normal, Thrombozytenzahl < 100 000/μl und erhöhte D-Dimere
- **Anfälle** ja nein
- **fokale neurologische Auffälligkeiten:** ja nein
- **Reanimation** (erfolgreich oder vorübergehend erfolgreich) ja nein

2 / 7

©, Nachdruckersuchen an Univ. Prof. Dr. W. Zenz, Abteilung für Kinder u. Jugendheilkunde, Universität Graz, Auenbruggerplatz 30, A-8036 Graz, Österreich Tel.: +43/316/385-4989

Patient: _____
(Initialen)

Geburtsdatum: ____/____/____
Tag/Monat/ Jahr

Patientennummer: _____

Meningitis

Klinische Diagnose Meningismus bei Aufnahme:	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Meningitis durch Lumbalpunktion (LP) diagnostiziert?	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
<input type="radio"/> LP nicht durchgeführt	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Liquor: Leukos: _____	Drittelzellen/mm ³	
Erys: _____	/mm ³	
Protein: _____	g/l	
Gluc.: _____	mg/dl	

Hautläsionen

Existiert ein Foto:	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Kann das Foto zur Verfügung gestellt werden?	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Wie viele Stunden nach Exanthembeginn wurde das Foto gemacht?	_____	h

Hautläsionen bei Aufnahme:

<input type="radio"/> keine
<input type="radio"/> Petechien (< 3 mm)
<input type="radio"/> Erythematöse makuläre Läsionen (4 mm – 5 cm)
<input type="radio"/> Purpura (> 5 cm)
• sich <u>vor der Aufnahme</u> neu entwickelnde Hautläsionen (Blutungen oder Nekrosen): (Zur Erhebung des NESI – Scores) <input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein
• Durchmesser und ungefähre Anzahl der Läsionen <u>bei Aufnahme</u> :
Durchmesser <input type="radio"/> < 0,5 cm <input type="radio"/> 0,6-1 cm <input type="radio"/> 1,1-5 cm <input type="radio"/> 6-10 cm <input type="radio"/> 11-20 cm <input type="radio"/> > 20 cm
Anzahl _____ _____ _____ _____ _____ _____
• Abmessung des größten Durchmessers der Purpura <u>bei Aufnahme</u> :
<input type="radio"/> < 0,5 cm <input type="radio"/> 0,6-1 cm <input type="radio"/> 1,1-5cm <input type="radio"/> 6-10 cm <input type="radio"/> 11-20 cm <input type="radio"/> > 20 cm
• ungefährender prozentueller Anteil der Purpura in Bezug auf die Körperoberfläche (1 % d. Körperoberfläche entspricht ungefähr einer Handfläche) <u>bei der Aufnahme</u> :
<input type="radio"/> < 5 % <input type="radio"/> 5-25 % <input type="radio"/> 25-50 % <input type="radio"/> > 50 % _____ %

Maximale Ausdehnung der Hautläsionen im Verlauf

• Durchmesser und ungefähre Anzahl der Läsionen <u>im Verlauf</u> :
Durchmesser <input type="radio"/> < 0,5 cm <input type="radio"/> 0,6-1 cm <input type="radio"/> 1,1-5 cm <input type="radio"/> 6-10 cm <input type="radio"/> 11-20 cm <input type="radio"/> > 20 cm
Anzahl _____ _____ _____ _____ _____ _____
• Abmessung des größten Durchmessers der größten Purpura <u>im Verlauf</u> :
<input type="radio"/> < 0,5 cm <input type="radio"/> 0,6-1 cm <input type="radio"/> 1,1-5 cm <input type="radio"/> 6-10 cm <input type="radio"/> 11-20 cm <input type="radio"/> > 20 cm
• ungefährender prozentueller Anteil der Purpura (maximal) bezüglich der Körperoberfläche (1 % d. Körperoberfläche entspricht ungefähr einer Handfläche):
<input type="radio"/> < 5 % <input type="radio"/> 5 – 25 % <input type="radio"/> 25 – 50 % <input type="radio"/> > 50 % _____ %

Patient: _____
(Initialen)

Geburtsdatum: ____/____/____
Tag/Monat/ Jahr

Patientennummer: _____

Maximale Verteilung der Hautläsionen

<input type="radio"/>	Kopf		
<input type="radio"/>	Rumpf		
	Arme:	<input type="radio"/>	Oberarm
		<input type="radio"/>	Unterarm
		<input type="radio"/>	Hand/Finger
	Beine:	<input type="radio"/>	Oberschenkel
		<input type="radio"/>	Unterschenkel
		<input type="radio"/>	Fuß/Zehen

Purpura-Typ

• Typ A: nur großflächige konfluierende Purpura (Livores; keine maculären oder petechialen Läsionen)	<input type="radio"/>	ja	<input type="radio"/>	nein
• Typ B: petechiale bzw. maculäre Purpura	<input type="radio"/>	ja	<input type="radio"/>	nein
• Typ C: maculäre und großflächige, konfluierende Purpura	<input type="radio"/>	ja	<input type="radio"/>	nein

Labordaten bei Aufnahme

• Leukozyten: _____ /mm ³	
• Thrombozyten: _____ /mm ³	
• Base-Excess (BE): _____ mmol/l	
• CRP: _____ mg/l	(Normalwert: _____)
• Laktat: _____ mmol/l	
• Kalium: _____ mmol/l	

Blutgerinnung bei Aufnahme

Prothrombinzeit: _____ sec., Quick: _____ %, _____ INR
aPTT: _____ sec.
TZ: _____ sec.
Fibrinogen: _____ mg/dl
AT III: _____ %
Protein C-Aktivität: _____ %

Herzulterschall

SF (shortening fraction) _____ %	<input type="checkbox"/> nicht durchgeführt
SF = LVED-LVES/LVED LVED = Linksventrikulärer Enddiastolischer Durchmesser LVES = Linksventrikulärer Endsystolischer Durchmesser	
Wann wurde der Herzulterschall durchgeführt? _____ h nach Exanthembeginn	

Patient: _____
(Initialen)

Geburtsdatum: ____/____/____
Tag/Monat/ Jahr

Patientennummer: _____

Therapie

• Verabreichte Antibiotika: _____		
prähospitale Antibiotikatherapie	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
• Assoziation zwischen Antibiotikagabe und Verschlechterung (z.B. Herxheimer-Reaktion)	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
• Steroide	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
• Katecholamine	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
	welche: _____	
• Heparin	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
• AT III Konzentrat	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
• rt-PA:	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
• FFP	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
• Intubation/Beatmung	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein

Protein C

Aktiviertes Protein C (Xigris®) verabreicht	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Dosierung: _____ µg/kg KG/h für _____ Stunden		
Beginn der Therapie: _____ h nach Aufnahme		
Kommentar: _____		

Nicht aktiviertes Protein C (Ceprotin®) verabreicht	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Dosierung: _____ µg/kg KG/h für _____ Stunden		
Beginn der Therapie: _____ h nach Aufnahme		
Kommentar: _____		

Erkrankungsverlauf

• Überleben:	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
• Erholung:	<input type="radio"/> Vollständige Erholung	
	<input type="radio"/> Erholung mit bleibenden Ausfällen	
	<input type="radio"/> derzeit keine Erholung	
• Bleibende neurologische Ausfälle:	_____	

Blutungen (außer Haut)

Tödliche Blutungen	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Intracerebrale Blutungen	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Blutungen, die die Gabe von Bluttransfusionen erfordert haben	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Andere Blutungen	<input type="radio"/> ja	<input type="radio"/> nein
Art der Blutungen: _____		
Kommentar: _____		
Blutungszeitpunkt: _____ h nach Exanthembeginn		

5/7

©, Nachdruckersuchen an Univ. Prof. Dr. W. Zenz, Abteilung für Kinder u. Jugendheilkunde, Universität Graz,
Auenbruggerplatz 30, A-8036 Graz, Österreich Tel.: +43/316/385-4989

Patient: _____
(Initialen)

Geburtsdatum: ____/____/____
Tag/Monat/ Jahr

Patientennummer: _____

Amputation

Keine (Keine Amputation oder Hauttransplantation)
 Typ 1: Gering (Verlust eines Fingers / Zehen distal des distalen Interphalangealgelenks DIP)
 Typ 2: Mittel (Amputation proximal des DIP, ausschließlich unter Knie oder Ellenbogen)
 Typ 3: Ausgeprägt (über Knie oder Ellenbogen oder weiterreichende Amputationen)
Bitte beschreiben sie kurz den Amputationstyp: _____

Andere Komplikationen: _____

Beobachtungszeit nach Entlassung aus der Klinik: _____

Tod ja nein

Todesursache: _____
Todeszeitpunkt: _____ h nach Exanthembeginn
Todeszeitpunkt: _____ h nach Beginn der stationären Behandlung
Wurde eine Obduktion durchgeführt? ja nein
Kann der Obduktionsbericht zur Verfügung gestellt werden? ja nein

Kommentar: _____

Patient: _____
(Initialen)

Geburtsdatum: ____/____/____
Tag/Monat/ Jahr

Patientennummer: _____

Glasgow Meningococcal Septicaemia Prognostic Score (GMSPS) bei Aufnahme

- GMSPS **prospektiv** beurteilt (innerhalb einer Stunde nach Aufnahme)
- GMSPS **retrospektiv** beurteilt (nach mehr als einer Stunde nach Aufnahme)

Parameter	Patientenwerte	Punkte	Patienten-Score
RR < 75mm Hg systolisch < 4 Jahren RR < 85mm Hg systolisch > 4 Jahren		<input type="radio"/> ja: 3 <input type="radio"/> nein: 0	
Temperaturdifferenz axillär / rektal > 3°C		<input type="radio"/> ja: 3 <input type="radio"/> nein: 0	
modifizierter Koma Score < 8 oder Verschlechterung von > 3 Punkten in 1 h		<input type="radio"/> ja: 3 <input type="radio"/> nein: 0	
Verschlechterung in der Stunde vor Score-Evaluation	/	<input type="radio"/> ja: 2 <input type="radio"/> nein: 0	
Fehlen von Meningismus	/	<input type="radio"/> ja: 2 <input type="radio"/> nein: 0	
wachsende Läsionen bei Kontrolle oder ausgedehnte Ekchymosen	/	<input type="radio"/> ja: 1 <input type="radio"/> nein: 0	
Basendefizit (Kapillarblut) >8mmol/l		<input type="radio"/> ja: 1 <input type="radio"/> nein: 0	
Gesamtpunkteanzahl		15	

modifizierter pädiatrischer Koma Score
Augen geöffnet spontan 4, auf Ansprache 3, auf Schmerzreiz 2, keine Reaktion 1
verbale Reaktion orientiert 6, Worte 4, vokale Laute 3, Schreie 2, keine Reaktion 1
motorische Reaktion folgt Anweisungen 6, lokalisiert Schmerz 4, reagiert auf Schmerz (Flexion/Extension) 1, keine Reaktion 0

Lebenslauf

Name: Stephan Günther Schoiswohl
Geburtsdatum: 31. März 1984
Geburtsort: Kirchdorf an der Krems (Oberösterreich)

Schulbildung

1990 - 1994 Volksschule in Bad Hall
1994 – 2002 Bundesrealgymnasium Kirchdorf an der Krems

Zivildienst

2003/04 Im Bereich Betreuung und Pflege bei der Caritas der Diözese Linz im Seniorenheim „Schloss Hall“

Studium

WS 02/03, SS 04 Studium der technischen Physik für 2 Semester an der Johannes Kepler Universität Linz
seit WS 04/05 Studium der Humanmedizin an der Medizinischen Universität Graz
Abschluss des 1. Studienabschnittes im Juli 05
Abschluss des 2. Studienabschnittes im September 09

Famulaturen

- 2006 Vier Wochen Abteilung für Unfallchirurgie und Sporttraumatologie des Landeskrankenhauses Kirchdorf an der Krems
- 2007 Zwei Wochen Abteilung für Orthopädie des Landeskrankenhauses Kirchdorf an der Krems
- 2007 Vier Wochen Abteilung für Innere Medizin des Landeskrankenhauses Kirchdorf an der Krems
- 2008 Vier Wochen Abteilung für Innere Medizin des Landeskrankenhauses Kirchdorf an der Krems
- 2009 Fünf Wochen Klinik für Anästhesiologie des Universitätsklinikums Heidelberg, Bundesrepublik Deutschland

Praktika im Rahmen des 3. Studienabschnittes

- 2009 Zehn Wochen Klinische Abteilung für Thorax- und Hyperbare Chirurgie an der Universitätsklinik für Chirurgie der Medizinischen Universität Graz
- 2009/10 Zehn Wochen Klinische Abteilung für Rheumatologie an der Universitätsklinik für Innere Medizin der Medizinischen Universität Graz
- 2010 Fünf Wochen Lehrpraxis für Allgemeinmedizin bei Dr. Martin Binder in Kirchdorf an der Krems
- 2010 Fünf Wochen Allgemeine HNO-Ambulanz an der Hals-Nasen-Ohren-Universitätsklinik der Medizinischen Universität Graz

Weiteres

- seit 2002 Freiwilliger Rettungssanitäter des Österr. Roten Kreuzes, LV Oberösterreich, Ortsstelle Kirchdorf an der Krems