

Aus der Klinik für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie  
in Zusammenarbeit mit dem Institut der Virologie,  
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar  
Direktor: Prof. Dr. med. Michael Zemlin

# **Stellenwert der Multiplex-PCR in der infektiologischen Diagnostik und Behandlung von Kindern mit Fieberkrämpfen**

*Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der  
Medizin*

*der Medizinischen Fakultät*

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2019

vorgelegt von: Jelena Naric  
geb. am: 27.10.1990 in Mannheim

Tag der Promotion: 10.06.2020  
Dekan: Prof. Dr. M. D. Menger  
Berichterstatter: Prof. Dr. S. Meyer  
Prof. Dr. T. Hartmann

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>INHALTSVERZEICHNIS</b> .....	3
<b>1. ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	6
1.1 Summary.....	8
<b>2. EINLEITUNG</b> .....	10
2.1 Definition Fieberkrampf.....	10
2.2 Epidemiologie Fieberkrampf .....	11
2.3 Ätiologie Fieberkrampf.....	12
2.4 Prognose .....	13
2.4.1 Rezidivrate.....	13
2.4.2 Epilepsierisiko.....	13
2.4.3 Mortalitätsrisiko.....	14
2.5 Diagnostik.....	15
2.5.1 Diagnostische Verfahren.....	15
2.5.2 Multiplex-PCR (polymerase chain reaction) als Routinediagnostikum bei Kindern mit Fieberkrämpfen.....	17
2.6 Therapie .....	20
2.6.1 Akuttherapie und Prophylaxe des Fieberkrampfes .....	20
2.6.2 Antibiotische Therapie .....	21
<b>3. FRAGESTELLUNG</b> .....	24
<b>4. MATERIAL UND METHODEN</b> .....	25
4.1 Patientenkollektiv.....	25
4.2 Datenerhebung.....	26

4.3 Multiplex-PCR.....	28
4.3.1 Extraktionsverfahren (easyMAG/eMag) .....	28
4.3.2 Amplifikation und Auswertung (LightCycler 480) .....	30
4.4 Indikationen zur Lumbalpunktion .....	39
4.5 Statistische Analyse.....	40
<b>5. ERGEBNIS.....</b>	<b>41</b>
5.1 Patientenkollektiv.....	41
5.2 Familiäre Belastung.....	44
5.3 Angaben zum Fieberkrampf.....	46
5.3.1 Anzahl der Fieberkrämpfe.....	46
5.3.2 Klassifikation der Fieberkrämpfe .....	47
5.4 Infektfoki.....	49
5.5 Mikrobiologische Diagnostik .....	50
5.6 Virologische Diagnostik .....	52
5.6.1 Respiratorische Multiplex-PCR .....	55
5.6.2 Gastrointestinale Multiplex-PCR .....	57
5.7 Laborparameter .....	59
5.8 Diagnostische Maßnahmen .....	60
5.8.1 Lumbalpunktion (LP).....	60
5.8.2 Elektroenzephalographie (EEG).....	61
5.9 Therapie durch die Eltern .....	62
5.10 Antibiotische Therapie .....	63
5.10.1 Antibiotische Vorbehandlung .....	63
5.10.2 Antibiotikatherapie während Klinikaufenthalt .....	66

6.	<b>DISKUSSION</b> .....	72
6.1	Multiplex-PCR als Diagnostikum bei Kindern mit Fieberkrämpfen.....	73
6.2	Antibiotische Behandlung im Zusammenhang mit der Verwendung der Multiplex-PCR.....	77
6.3	Leitliniengerechte Indikation zur Lumbalpunktion.....	81
6.4	Schlussfolgerung .....	86
7.	<b>ANHANG</b> .....	89
7.1	Erhebungsbogen .....	89
8.	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	96
9.	<b>PUBLIKATIONSVERZEICHNIS</b> .....	103
10.	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....	104
11.	<b>TABELLENVERZEICHNIS</b> .....	106
12.	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....	108
13.	<b>DANKSAGUNG</b> .....	111

## 1. ZUSAMMENFASSUNG

Fieberkrämpfe sind einer der häufigsten Notfälle im jungen Kindesalter; häufigste Ursachen für Fieberkrämpfe sind virale Infektionen. In der vorliegenden retrospektiven Studie wurde der Stellenwert der Multiplex-Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction = PCR) bei Kindern mit Fieberkrämpfen bezüglich der Erfolgsrate eines Virusnachweises untersucht. Des Weiteren analysierten wir, ob die Anwendung dieser Untersuchung zu einer Reduzierung der Antibiotikagabe in der Klinik führte.

Als Nebenfragestellung untersuchten wir, ob die Durchführung einer Lumbalpunktion leitlinienkonform (gemäß den Leitlinien der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF) und Empfehlung der American Academy of Pediatrics (AAP)) erfolgte.

An der Kinderklinik des Universitätsklinikums des Saarlandes (Homburg) wurden Daten von Kindern mit Fieberkrämpfen der Jahre 2009 (prä-Multiplex-PCR Ära) bis 2013 (2010 bis 2013 Verwendung der Multiplex-PCR) erfasst und mittels SPSS (23.0, Chicago, Illinois, USA) retrospektiv ausgewertet. Ein Virennachweis erfolgte 2009 durch Singleplex-PCR (v.a. Noro- und Influenzaviren), ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay), Virenkulturen (Zellkulturen für Adeno-, Entero-, Herpes simplex- und Zytomegalieviren) oder Antigenschnelltests (Influenzaviren, RSV). Proben für die Untersuchung durch die Multiplex-PCR wurden aus Nasen-/Rachensekret und/oder Stuhlproben entnommen.

Es wurden insgesamt 200 Patienten mit der Diagnose Fieberkrampf in diese Studie eingeschlossen (104 Jungen und 96 Mädchen; Manifestationsalter 29,5 +/- 1,4 Monate). 129 Kinder (64,5%) entwickelten einen unkomplizierten, 57 Patienten (28,5%) einen komplizierten Fieberkrampf. Aufgrund unzureichender klinischer Angaben konnte bei 14 (7%) Patienten keine eindeutige Einteilung diesbezüglich erfolgen. Die drei häufigsten Infektfoki waren: Infekt des Respirationstraktes (44,5%), Gastroenteritis (12%) und Tonsillitis (10,5%).

Insgesamt gelang innerhalb des Untersuchungsraumes von fünf Jahren bei 83 von 200 (41,5%) der untersuchten Patienten ein Virusnachweis (2009: 10/49, 20,4%; 2010 bis 2013: 73/151; 48,3%). 2010 bis 2013 erfolgte bei 125 von 151 Patienten (82,7%) eine Untersuchung durch die Multiplex-PCR. In den Jahren 2010 bis 2013 gelang 73-malig ein Virennachweis, wovon 91,7% (67/73) durch die Multiplex-PCR erfasst wurden. Die übrigen 6 positiven Befunde erfolgten durch ELISA (Antigennachweis im Serum; 2/6), Singleplex-PCRs (Influenza-/Norovirus; 2/6) und Stuhlkulturen (Enteroviren; 2/6). Mit der respiratorischen Multiplex-PCR gelang bei 45 Patienten und mit der gastrointestinalen Multiplex-PCR bei 15 Kindern ein viraler Nachweis.

Bei 7 Patienten konnten mithilfe beider Verfahren Virenbefunde erzielt werden. Dies entspricht insgesamt 52 positiven Ergebnissen durch die respiratorische und 22 durch die gastrointestinale Multiplex-PCR.

Die häufigsten identifizierten Viren durch die respiratorische Multiplex-PCR waren: Adenoviren (12), gefolgt von Humanen Bocaviren (10), Enteroviren (9), Rhinoviren (7), Respiratory-Syncytial-Virus (7), Coronaviren (7), Influenzaviren (6), Parechoviren (5), Parainfluenzaviren (5) sowie Humanen Metapneumoviren (3). Mit der gastrointestinalen Multiplex-PCR konnten am häufigsten Adenoviren (7), Rotaviren (6), Astroviren (4) und Noroviren (3) detektiert werden. Zweimalig konnten als Ko-Infektionen jeweils zwei enterale virale Erreger identifiziert werden (Noro- und Rotaviren sowie Adeno- und Rotaviren).

In dem Gesamtzeitraum von 2009 bis 2013 erhielten insgesamt 45% (90/200) der Patienten eine antibiotische Therapie. Nach Einführung der Multiplex-PCR stieg die Häufigkeit der Antibiotikagabe von 34,6% (17/49) im Jahr 2009 auf zunächst 65,2% (30/46) im Jahr 2010, um dann in den Folgejahren auf 39,4% (13/33) im Jahr 2013 zu fallen.

Die häufigste Indikation zur Durchführung einer Lumbalpunktion war ein komplizierter Fieberkrampf (18/57; 31,6%). Im Vergleich dazu erfolgte bei Patienten mit unklarem Fokus (8/26; 30,7%) oder antibiotischer Vorbehandlung (3/27; 11,1%) eine Lumbalpunktion nur in wenigen Fällen und somit nicht leitlinienkonform.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass mittels Multiplex-PCR ein Virusnachweis bei Kindern mit Fieberkrämpfen häufig gelingt und dies somit als diagnostisches Instrumentarium zur Klärung der Ätiologie beitragen kann. Inwiefern dies auch tatsächlich zu einer Reduktion der Gabe von Antibiotika führen kann, sollte in einer größeren prospektiven Studie untersucht werden. Die Indikation zur Durchführung einer Lumbalpunktion erfolgte nur selten gemäß der nationalen Leitlinie und internationaler Empfehlungen.

## 1.1 Summary

Febrile seizures are the most common seizure disorder in childhood; these are usually caused by viral infections. This retrospective study aimed to assess the significance of multiplex PCR (polymerase chain reaction) analysis in detecting causative viruses in children with febrile seizures. Furthermore, we investigated, whether the use of antibiotics could be reduced by detecting viruses with multiplex PCR.

In addition, we examined whether lumbar punctures were performed according to national guidelines (Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften; AWMF) and international recommendations (American Academy of Pediatrics; AAP).

In this retrospective study, we compared data from a pre-multiplex era (2009) with a period after introduction of multiplex PCR (2010 to 2013) into daily clinical practice at the University Children's Hospital of Saarland (Homburg), and assessed the effects of this diagnostic instrument on the use of antibiotics. Data were entered into a SPSS database (23.0, Chicago, Illinois, USA). In 2009 singleplex PCR (norovirus, influenza virus), ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay), viral culture (adenovirus, enterovirus, herpes simplex virus, cytomegalovirus) or rapid antigen detection test (influenza virus) were used. Biological samples used for multiplex PCR testing were either nasopharyngeal discharges or stool specimen.

In this study, 200 children with a diagnosis of febrile seizures (male; female: 1,08:1, 104 male and 96 female, mean age:  $29.5 \pm 1.4$  months) were included. 129 children developed a simple, 57 patients a complex febrile seizure (insufficient information in 14 patients). The three most common causes for febrile seizures were: respiratory infection (44,5%), gastroenteritis (12%) and tonsillitis (10,5%).

In total, within the 5 year study period, positive virological results were available in 83/200 children (41,5%). (2009: 10/49, 20,4%; 2010 bis 2013: 73/151, 48,3%)

In 2010 to 2013, multiplex PCR was used in 125 of 151 patients (82,7%). In 2010 to 2013, virological results were positive in 73 patients with 91,7% (67/73) being detected by multiplex PCR. The other six positive results were tested using ELISA (detection of antigens; 2/6), singleplex PCRs (2/6) and cell cultures (stool specimen: enterovirus; 2/6).

45 viral results were detected by respiratory multiplex PCR, 15 positive viral results by gastrointestinal multiplex PCR; 7 positive samples being identified by both methods. Of note, 52 positive results were detected by the respiratory multiplex PCR and 22 samples by the gastrointestinal multiplex PCR.



The most common identified viruses using respiratory multiplex PCR were: adenoviruses (12), human bocaviruses (10), enteroviruses (9), rhinoviruses (7), respiratory syncytial viruses (7), coronaviruses (7), influenza viruses (6), parechoviruses (5), parainfluenza viruses (5), and human metapneumoviruses (3). The PCR for gastrointestinal pathogens detected the following viruses: adenoviruses (7), rotaviruses (6), astroviruses (4), noroviruses (3). In two patients, gastrointestinal infections with two enteric pathogens were detected (noroviruses and rotaviruses as well as adenoviruses und rotaviruses).

In the time period of 2009 to 2013, 45% (90/200) patients with febrile seizures were treated with antibiotics. In the time period after introducing multiplex PCR the rate of antibiotic use initially increased from 34,6% (17/49) in 2009 to 65,2% (30/46) in 2010, while in the following years the use decreased to 39,4% (13/33) in 2013.

The most common indication for performing a lumbar puncture was the occurrence of complex febrile seizures (18/57; 31,6%); a lumbar puncture was performed less frequently in children with no apparent site of infection (8/26; 30,7%), or in children pre-treated with antibiotics (3/27; 11,1%).

The results of this study demonstrate that virus detection in children with febrile seizures using multiplex PCR is feasible, thus contributing to establishing an early diagnosis with regard to the underlying infectious etiology. However, the use of multiplex PCR did not translate into a significant reduction of antibiotics.

The performance of a lumbar puncture was often not done in line with national and international guidelines and recommendations. Larger, prospective studies are needed to assess the potential benefits and shortcomings of this new technique in children.

## 2. EINLEITUNG

### 2.1 Definition Fieberkrampf

Bei Fieberkrämpfen (Infektkrämpfen) handelt es sich um benigne Gelegenheitsanfälle. Diese gehören zu den am häufigsten vorkommenden Notfällen im Kindesalter, denen oft ein banaler Infekt, a.e. viraler Genese, vorausgeht. Fieberkrämpfe äußern sich meist in Form generalisierter tonischer oder tonisch-klonischer Anfälle mit einer Dauer von wenigen Minuten; sie sind in der Regel selbstlimitierend [AWMF, S2-Leitlinie, 1999]. Bereits 1980 definierte das National Institute of Health einen Fieberkrampf als „Ereignis des Säuglings- und Kindesalters“, das sich zwischen dem 3. Lebensmonat und 5. Lebensjahr in Begleitung mit Fieber ereignet [Consensus Statement, 1980]. Diese Definition gilt jedoch nicht für eine Infektion des zentralen Nervensystems (ZNS) oder andere zerebrale Ursachen. Auszuschließen sind Krampfanfälle mit Fieber, bei denen zuvor afebrile Krampfereignisse auftraten [Consensus Statement, 1980]. Entsprechend der International League of Epilepsy befindet sich das Manifestationsalter eines Fieberkrampfes nach dem ersten Lebensmonat [ILAE, 1993]. Die American Academy of Pediatrics [1996] spezifizierte die Altersangabe mit 6 bis 60 Lebensmonaten [Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011; Neubauer et al., 2008; Patel et al., 2015]. Diese Definition entspricht auch jener der Gesellschaft für Neuropädiatrie (AWMF S2-Leitlinie), welche einen Fieberkrampf als ein Geschehen im Säuglings- und Kleinkindesalter (6. Lebensmonate bis 5. Lebensjahr) mit Fieber ( $> 38,5^{\circ}\text{C}$ ) festlegt [AWMF, S2-Leitlinie, 1999]. Davon abzugrenzen sind Epilepsien, die durch das vermehrte Auftreten afebriler Krampfanfälle charakterisiert sind. Bei einer Infektion des ZNS (Meningitis, Enzephalitis) handelt es sich um einen symptomatischen epileptischen Gelegenheitsanfall, da die Infektion für das Krampfereignis auslösend ist [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Borggräfe et al., 2013].

Fieberkrämpfe lassen sich anhand der Parameter Alter, Dauer, Semiologie (fokal oder generalisiert) und Rezidiv innerhalb der ersten 24 Stunden in unkomplizierte (= einfache) oder komplizierte (= komplexe) Anfälle einteilen [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Borggräfe et al., 2013]. In 70 - 90% der Fälle handelt es sich um einen unkomplizierten Fieberkrampf. Die Dauer beträgt weniger als 15 Minuten und das Ereignis ist selbstlimitierend. (Tabelle 1)

	<b>Unkomplizierter (einfacher) Fieberkrampf</b>	<b>Komplizierter (komplexer) Fieberkrampf</b>
<b>Semiologie</b>	Kurzandauernd, generalisiert tonisch-klonisch, hypomotorisch	Fokal
<b>Alter</b>	> 6. Lebensmonat < 5. Lebensjahr	< 6. Lebensmonat > 5. Lebensjahr
<b>Dauer</b>	< 15 Minuten	≥ 15 Minuten
<b>Rezidiv innerhalb 24 Stunden</b>	Nein	Ja
<b>Postiktiales neuro- logisches Defizit</b>	Nein	Ja

**Tabelle 1:** Einteilung Fieberkrampf [Borggräfe et al., 2013]

## 2.2 Epidemiologie Fieberkrampf

Epidemiologischen Studien zufolge beläuft sich die Gesamtinzidenz für einen ersten Fieberkrampf im Verlauf der ersten fünf Lebensjahre in Westeuropa und in den USA auf 2 – 5%. In Japan wird eine Inzidenz von 6 – 9% und für die Marianen eine von 14% beschrieben [Feucht et al., 2005; Patel et al., 2015]. Dies erklärt sich u.a. durch die beengten Wohnverhältnisse und die Benutzung gemeinsamer Schlafräume, wodurch Fieberkrämpfe, die während der Nacht auftreten, eher wahrgenommen werden [Feucht et al., 2005; Patel et al., 2015].

Die Geschlechterverteilung ist annähernd gleichmäßig, wenngleich in der Populationsstudie von Nelson und Ellenberg [1976] mit einem Patientenkollektiv von 1706 Kindern Jungen etwas häufiger als Mädchen einen Fieberkrampf erlitten [Nelson et al., 1976]. Dies bestätigte auch die Studie von Sfaihi et.al [2012] mit einer Häufung des männlichen Geschlechts (Verhältnis von Jungen zu Mädchen von 1,42:1) [Sfaihi et al., 2012; Mastrangelo et al., 2014].

Der Altersgipfel der Fieberkrämpfe liegt um den 18. Lebensmonat. Mit zunehmendem Alter und Reife des Gehirns sinkt das Risiko einen Fieberkrampf zu erleiden. In 15% der Fälle entwickeln Kinder einen Fieberkrampf vor dem 6. Lebensmonat oder nach dem 5. Lebensjahr (komplizierter Fieberkrampf) [Mastrangelo et al., 2014].

Eine Häufung von Fieberkrämpfen belegte die saisonale Datenanalyse von Tsuboi et al. [1984]; vor allem zur Winter- sowie Sommerzeit. Verstärkt treten respiratorische Infekte in den Wintermonaten, vorwiegend November bis Januar, auf; der Häufigkeitsgipfel im Sommer lässt sich durch eine Häufung gastrointestinaler Infektionen erklären [Tsuboi et al., 1984].

## 2.3 Ätiologie Fieberkrampf

Bis heute ist unklar, ob die Geschwindigkeit des Temperaturanstiegs oder die Höhe des Fiebers der entscheidende Faktor für die Entwicklung eines Fieberkrampfes ist [Berg AT, 1993]. Zum jetzigen Zeitpunkt wird davon ausgegangen, dass eher der schnelle Temperaturanstieg als die Höhe des Fiebers hierfür ursächlich ist. Dabei weist das noch wenig myelinisierte Gehirn eine geringere Krampfschwelle bei Fieber auf, sodass hieraus eine erhöhte Krampfbereitschaft resultiert [Berg et al., 1992]. Häufigste Ursachen für einen Fieberkrampf sind Infekte der oberen Atemwege (38%), gefolgt von Otitis media (23%), Pneumonie (15%), Gastroenteritis (7%) und Exanthema subitum (5%) [Van Zeijl et al., 2002; Waruiru und Appleton, 2004; Borggräfe et al., 2013]. Viren mit Assoziation zu Fieberkrämpfen sind Humane Herpes- (HHV-6), Influenza A-, Parainfluenza-, Adeno-, Rota-, RS- und Metapneumoviren [Chung und Wong, 2007; Barone et al., 1995; Chiu et al., 2001; Peiris und Chan, 2003]. Als nicht-infektiöser Faktor für Fieberkrämpfe gilt die Durchführung einer Mehrfachimpfung. Basierend auf den Ergebnissen der Populationsstudie von Barlow und Davis [2001] beträgt die Anzahl der Kinder, die nach Injektion eines Impfstoffes einen Fieberkrampf entwickelten, bei einer Diphtherie-Pertussis-Tetanus (DTP) - Impfung 6 bis 9 pro 100 000 und bei einer Masern-Mumps-Röteln (MMR) - Impfung 25 bis 34 pro 100 000. Insbesondere am ersten Tag nach der DTP - Impfung und zwischen dem 8. und 14. Tag nach einer MMR - Impfung konnten Fieberkrämpfe beobachtet werden [Barlow et al., 2001]. Während 38% der Fieberkrämpfe im Rahmen von respiratorischen Infekten auftreten, treten rund 12% der Fieberkrämpfe nach Impfungen auf. Zu Bedenken ist jedoch, dass ein Fieberkrampf die Folge einer fieberhaften Reaktion nach einer Impfung ist [Barlow et al., 2001].

Auch genetische Faktoren scheinen in der Ätiologie von Fieberkrämpfen eine gewisse Rolle zu spielen, wobei ein eindeutiger Vererbungsmodus bisher nicht nachgewiesen wurde; allerdings liegt in rund 20 bis 40% der Fälle eine familiäre Belastung vor [Iwasaki et al., 2002]. Das Erkrankungsrisiko erhöht sich, wenn in der Vorgeschichte bei einem oder beiden Elternteilen ein Fieberkrampf aufgetreten ist. Es wird daher von einer komplexen, polygenetischen Vererbung mit reduzierter Penetranz ausgegangen. Bisher konnten in Familien mit gehäuftem Vorkommen von Fieberkrämpfen sechs FEB-Loci (familiar febrile convulsions) identifiziert werden (8q13-q21 (FEB1), 19p (FEB2), 2q (FEB3), 5q (FEB4), 6q (FEB5) und 18p (FEB6)) [Iwasaki et al., 2002; Eichhorn B, Mitteldeutscher Praxisverbund Humangenetik].

## 2.4 Prognose

Die Prognose von Fieberkrämpfen ist gut [Nelson et al., 1978; Berg et al., 1997; Shinnar und Glauser, 2002]. Es zeigen sich meist keine negativen Auswirkungen auf motorische oder kognitive Fähigkeiten. Bezüglich der Prognose sind folgende Aspekte zu bedenken:

- Rezidivrate
- Epilepsierisiko
- Mortalitätsrisiko

### 2.4.1 Rezidivrate

Ein Drittel der Kinder mit einem ersten Fieberkrampf erleiden ein Rezidiv [Nelson et al., 1978; Berg et al., 1997; Shinnar und Glauser, 2002]. Die Wahrscheinlichkeit des Auftretens eines Rezidivs steigt mit der Anzahl an Risikofaktoren: eine familiäre Vorbelastung durch Fieberkrämpfe (erstgradige Verwandtschaft), Lebensalter unter 18 Monaten sowie die Dauer und Höhe des Fiebers [Berg et al., 1995; Shinnar und Glauser, 2002;].

Ein Kind mit  $\geq 2$  Risikofaktoren weist ein Wiederholungsrisiko von 30% auf, ein Kind mit  $\geq 3$  Risikofaktoren ein Risiko größer 60%. Im Vergleich dazu liegt das Wiederholungsrisiko bei einem Kind ohne jegliche Risikofaktoren bei 15% [Offringa et al., 1991; Bethune et al., 1993; Shinnar und Glauser, 2002; Feucht et al., 2005].

### 2.4.2 Epilepsierisiko

Das Risiko nach einem Fieberkrampf eine Epilepsie zu erleiden ist gegenüber der Durchschnittsbevölkerung von 0,5 % auf rund 1 % erhöht [Annegers et al., 1987; Hauser WA, 1994; Feucht et al., 2005].

Als entscheidende Risikofaktoren, die das Epilepsierisiko deutlich erhöhen, gelten [Berg und Shinnar, 1996; Shinnar und Glauser, 2002]:

- familiäre Belastung bzgl. afebriler Krampfanfälle
- komplizierter Fieberkrampf
- lange postiktale Phase, neurologische Defizite (Paralyse) > 1 Stunde nach Krampfgeschehen
- kurze Fieberdauer bis zum Krampfeignis

Die epidemiologische Kohortenstudie von Annegers et al. [1987, Rochester, Minnesota] untersuchte bei 687 Patienten mit der Diagnose Fieberkrampf, ob ein Risiko für die Entwicklung einer Epilepsie bestand [Annegers et al., 1987]. Es zeigte sich ein Risikoanstieg von 2,4% (Kinder mit einfachem Fieberkrampf) auf 6-8%, sobald eine Eigenschaft für einen komplexen Fieberkrampf (fokale Anzeichen, prolongierter Fieberkrampf, wiederholtes Anfallsereignis innerhalb von 24 Stunden) vorhanden war. Beim Auftreten zwei dieser Faktoren erhöhte sich das Risiko in der Kohortenstudie von 17 auf 22% und beim Vorliegen aller drei Merkmale auf 49% [Annegers et al., 1987].

Eine familiäre Belastung mit Fieberkrämpfen, die Körpertemperatur, das Alter beim Initialkrampf, Geschlecht und ethnische Zugehörigkeit gehen dagegen nicht mit einer erhöhten Epileptizität einher. Ebenso hat die Anzahl der Fieberkrämpfe laut Nelson und Ellenberg keine prognostische Bedeutung [Nelson et al., 1978; Berg und Shinnar, 1996; Chungath et al., 2008].

### **2.4.3 Mortalitätsrisiko**

Populationsstudien zeigen für Fieberkrämpfe eine sehr geringe Mortalitätsrate [Vestergaard et al., 2008]. Die Populationsstudie von Vestergaard et al. [2008], welche eine Anzahl an 1 675 643 Kindern in Dänemark einschloss, betrachtete hierbei die Mortalitätsrate innerhalb der ersten zwei Jahre nach einem ersten Fieberkrampf. 132 von 100 000 Patienten mit einem Fieberkrampf verstarben innerhalb der ersten zwei Jahre nach dem Ereignis. Patienten mit einem einfachen Fieberkrampf wiesen eine niedrigere Mortalitätsrate als jene mit einem komplizierten Verlauf auf [Chungath et al., 2008; Vestergaard et al., 2008].

Komplizierte Fieberkrämpfe, die in einen Status epilepticus übergingen, waren mit einer erhöhten Mortalität assoziiert [Chungath et al., 2008; Vestergaard et al., 2008].

## 2.5 Diagnostik

### 2.5.1 Diagnostische Verfahren

Entscheidend für die Diagnosestellung ist eine gezielte Anamnese [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Heinen und Bonfert, 2009]. Zur Abgrenzung möglicher afebriler Anfälle ist nach aktuellen Infekten sowie Fieber zu fragen. Vorerkrankungen und die bisherige psychomotorische Entwicklung müssen berücksichtigt werden. Zudem sollte an eine familiäre Vorbelastung bezüglich Fieberkrämpfen, wie auch an neurologische Erkrankungen gedacht werden. Im Rahmen der körperlichen Untersuchung ist es dringend erforderlich einen Infektfokus zu lokalisieren [AWMF, S2-Leitlinie, 1999]. Eine Labordiagnostik ist bei unkomplizierten Fieberkrämpfen nicht zwingend notwendig [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Borggräfe et al., 2013]. Bei komplizierten Fieberkrämpfen empfiehlt sich eine Labordiagnostik mit Abnahme der Infektparameter (Blutbild, Differenzialblut, C-reaktives Protein, Procalcitonin), Elektrolyte sowie des Glukosewertes im Serum, um eventuelle Entgleisungen zu erkennen und behandeln zu können [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Borggräfe et al., 2013].

Indiziert ist eine Elektroenzephalographie (EEG) bei einem komplizierten Fieberkrampf nach Entfieberung [Shah und Elayaraia, 2014]. Ein EEG kann bei Kindern mit einem unkomplizierten Fieberkrampf unterlassen werden, da hierbei kein erhöhtes Risiko für das Vorliegen einer Epilepsie besteht [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Borggräfe et al., 2013]. Dies wird auch durch die American Academy of Pediatrics (AAP) bestätigt, da ein EEG unmittelbar nach einem unkomplizierten Fieberkrampf oder Wochen danach keine Vorhersage bezüglich des Auftretens weiterer Krampfanfälle erlaubt [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011]. Eine Studie von Kuturec et al. [1997, Mazedonien] beschäftigte sich mit paroxysmalen Veränderungen im EEG bei Kindern mit Fieberkrämpfen und welche Auswirkungen die Veränderungen auf ein Rezidiv haben könnten. Insgesamt entwickelten 15,2% (15/99 Patienten) der Betroffenen mit auffälligen EEG-Befunden im Verlauf einen afebrilen Krampfanfall, während die Rezidivrate der Kontrollgruppe (initial unauffälliges EEG beim ersten Fieberkrampf) bei 5,3% (9/170 Patienten) lag [Kuturec et al., 1997]. Zu erwähnen ist, dass die Kinder mit paroxysmalen Veränderungen im Vergleich zu jenen Patienten mit normwertigen Befunden öfter älter waren (31 vs. 23 Monate), bereits in der Vorgeschichte Fieberkrämpfe durchlebten (54 % vs. 36 %), fokale Muster aufwiesen (15 % vs. 4 %), eine Dauer > 15 Minuten zeigten (23 % vs. 8 %) und/oder bereits mit Antikonvulsiva behandelt wurden (42% vs. 12%) [Kuturec et al., 1997]. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass ein EEG bei Rezidiven und komplizierten Fieberkrämpfen erwogen werden sollte.

Ein kraniales MRT (cMRT) wird vor allem bei Verdacht auf hirnorganische Ursachen empfohlen. Die Diagnostik sollte auch bei einem febrilen Status epilepticus sowie bei neurologischen Ausfällen in Betracht gezogen werden bzw. erfolgen. Bei Säuglingen ist es möglich noch mittels Schädelsonographie intrakranielle Pathologien zu erkennen bzw. auszuschließen [AWMF, S2-Leitlinie, 1999].

Die Leitlinie der Gesellschaft für Neuropädiatrie sieht ein EEG nach einem ersten unkomplizierten Fieberkrampf und ein MRT generell bei unkomplizierten Verläufen als nicht erforderlich an [AWMF, S2-Leitlinie, 1999].

Bei folgenden Aspekten muss/sollte eine Lumbalpunktion durchgeführt oder in Erwägung gezogen werden [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011; Borggräfe et al., 2013]:

- Meningismus
- bei Kindern unter 1 Jahr und bei ungewöhnlich lang andauernder postkonvulsiver Müdigkeit (dringend empfohlen)
- bei Kindern im Alter von 12 bis 18 Monaten (großzügige Indikation)
- fakultativ bei komplizierten Fieberkrämpfen
- bei antibiotischer Vorbehandlung
- bei einem febrilen Status epilepticus (> 30 Minuten)
- bei unklarem Fieberfokus

Die AAP gab vor, dass bei einem Fieberkrampf die Fokussuche Vorrang hat [Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011]. Eine Infektion des ZNS sollte bei jedem Fieberkrampf als Differenzialdiagnose bedacht werden und bei jedem Verdacht sollte eine Lumbalpunktion unmittelbar erfolgen. Die AAP stellt eine großzügige Indikation zur Durchführung einer Liquoruntersuchung bei Kindern bis zum 12. Lebensmonat, v.a. bei jenen, deren Immunstatus (in Bezug auf Haemophilus influenzae Typ B und Streptococcus pneumoniae) unvollständig oder unbekannt ist sowie bei Kindern mit antibiotischer Vorbehandlung [Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011]. Grund dafür ist, dass klinische Zeichen einer Entzündung des ZNS (Nackensteifigkeit, positives Kernig/Brudzinski-Zeichen) im Säuglings- und Kleinkindesalter fehlen können [Baraff LJ, 2008].



## **2.5.2 Multiplex-PCR (polymerase chain reaction) als Routinediagnostikum bei Kindern mit Fieberkrämpfen**

Sowohl die AWMF, als auch die AAP legen bezüglich Infektionsnachweisen, v.a. bei unkomplizierten Fieberkrämpfen, kein striktes Vorgehen fest. Eine Labordiagnostik ist gemäß den Leitlinien nicht zwingend erforderlich. Darin werden mikrobiologische oder virologische Untersuchungen nicht ausführlich beschrieben [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011]. Die Infektdiagnostik besteht aus Zellkulturen (Adeno-, Entero-, Herpes-simplex- und Zytomegalievirus), Singleplex-PCR-Untersuchungen (z.B. Influenza- und Noroviren) sowie Immunassay-Verfahren (Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA; immunchromatographische Schnelltests für Influenzaviren und RSV) [Bierbaum et al., 2014; Freymuth et al., 2006]. Daher ist eine schnelle Virusdiagnostik für Patienten, v.a. in den ersten Lebensmonaten mit hohem Influenzarisiko und bei immunsupprimierten Kindern, von Bedeutung [Krause et al., 2014].

Die von Kary Mullis entwickelte Polymerase-Kettenreaktion [1983] setzte einen Meilenstein für die medizinische Forschung. Das Ziel bestand darin mit einem Verfahren die Nukleinsäure in mehreren Zyklen in vitro zu vervielfältigen [Mullis et al., 1986]. Weiterentwicklungen führten dazu, dass die Amplifizierung (Vervielfältigung) und der Nachweis des Produktes in einem Reaktionsgefäß stattfinden konnten [Holland et al., 1991; Lee et al., 1993].

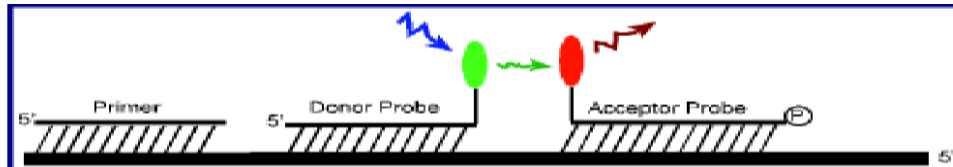
Die Multiplex-PCR ist eine Methode zum spezifischen Genomnachweis, die zur Differenzierung von viralen und bakteriellen Infektionen beitragen kann [Garcia et al., 2017]. Im Vergleich zur Singleplex-PCR können verschiedene PCR-Reaktionen mithilfe mehrerer Primer und synthetisierter Matrizen (DNA-Vorlagen) in einem Ansatz gleichzeitig ablaufen [Roche Diagnostics, LightCycler 480 Instrument Operator's Manual, 2008; Bierbaum et al., 2014; Francis et al., 2016]. Für den Ablauf einer PCR-Reaktion werden als Startmoleküle Primer (Oligonukleotide) benötigt, die an die Ziel-DNA (deoxyribonucleic acid; Desoxyribonukleinsäure) komplementär binden [Lee et al., 1993; Roche Diagnostics, LightCycler 480 Instrument Operator's Manual, 2008; Bierbaum et al., 2014]. Zusätzlich werden DNA-Polymerasen zur Extension (Verlängerung bzw. Synthese) der Primer verwendet. Die Nukleinsäure wird durch den Ablauf verschiedener Schritte (Denaturierung bis maximal 95°C und Trennung der doppelsträngigen DNA, Annealingphase mit Anlagern der Primer bei 60°C und Amplifikation der DNA) in mehreren Zyklen vervielfacht. Um dies zu ermöglichen, wird ein Thermocycler benötigt, der die Proben in den einzelnen Prozessen innerhalb von Sekunden (20°C pro Sekunde) erhitzen und abkühlen kann. In den folgenden Abläufen kann jeder neu synthetisierte DNA-Strang als Matrize verwendet werden [Roche Diagnostics, LightCycler 480 Probes Master, 2008; Roche Diagnostics, LightCycler 480

Instrument Operator's Manual, 2008]. Die Quantifizierung des PCR-Produktes erfolgt durch eine Fluoreszenzmessung unter Einsatz von Fluoreszenzfarbstoffen. Eine Möglichkeit besteht in der Nutzung von FRET-Sonden (Förster-Resonanzenergietransfer) wie z.B. TaqMan-Sonden (z.B. PE Applied Biosystems, USA; Roche Diagnostics GmbH, Deutschland) [Schild TA, 1996].

1991 ermöglichte Holland unter Einsatz der Taq-Polymerase gleichzeitig die Vervielfältigung und Detektion der PCR-Proben mithilfe von phosphorylierten Sonden [Holland et al., 1991; Lawyer et al., 1993]. Jedoch war ein aufwändiges Post-PCR-Processing nötig, da eine Differenzierung gespaltener Sonden und Fragmenten von intakten Sonden z.B. nur durch eine Dünnschichtchromatographie möglich war [Holland et al., 1991]. 1993 wurden fluorogene Sonden (TaqMan-Sonden) entwickelt, die diese Sondenfragmente ohne eine aufwändige Nachbearbeitung identifizieren konnten [Lee et al., 1993]. Die dafür entwickelten Geräte, wie der Sequence Detector ABI PRISMTM 7700 (Applied Biosystems, USA) oder der LightCycler (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Deutschland) ermöglichen die Fluoreszenzmessung in einem geschlossenen System.

Bei den verwendeten Sonden handelt es sich um kurze Oligonukleotide, die z.B. am 3'-Ende (Donor/Reporter) und am 5'-Ende (Akzeptor/Quencher) mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert sein können. Zusätzlich wird dabei das 3'-Ende des Akzeptors phosphoryliert, um somit eine Verlängerung dieses Abschnittes durch die DNA-Polymerase zu vermeiden [Schild TA, 1996]. Der LightCycler der Firma Roche (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Deutschland) benötigt für den Ablauf zwei Oligonukleotide, die an die Zielsequenz der zu untersuchenden Nukleinsäure binden. Aufgrund der räumlichen Nähe der beiden Marker, wird das Fluoreszenzsignal des Reporters mittels der FRET-Methode unterdrückt [Roche Diagnostics, LightCycler 480 Probes Master, 2008; Roche Molecular Systems, 1999 - 2018]. Hierbei handelt es sich um einen strahlungsfreien über Dipol-Dipol-Wechselwirkung entstandenen Energietransfer. Der durch LED (light-emitting diodes) oder Laser angeregte Farbstoff (Donor) überträgt seine Energie auf den Akzeptor [Caplin et al., 1999; Schild TA, 1996]. Die PCR-Reaktion erfolgt dann durch den Einsatz der Taq-Polymerase, indem diese die Spaltung der Sonden von dem DNA-Strang bewirkt [Lawyer et al., 1993]. Dadurch vergrößert sich der Abstand zwischen den beiden Farbstoffen und der Energietransfer des Donors (Reporters) wird nicht mehr unterdrückt. (Abbildung 1)

Da die Sonden an die Ziel-DNA binden, ist das messbare Signal sequenzspezifisch. Das zunehmende Fluoreszenzsignal kann nach jedem Zyklus mit einer geeigneten Computersoftware (z.B. LightCycler Version 1.5, Roche Diagnostics GmbH, Deutschland) gemessen und ausgewertet werden [Schild TA, 1996; Roche Diagnostics, LightCycler 480 Instrument Operator's Manual, 2008].



**Abbildung 1:** Energietransfer (FRET, Förster-Resonanzenergietransfer) des Donors auf den Akzeptor  
 [Caplin BE et al., 1999]

Daraus ergibt sich nicht nur eine Amplifizierung der DNA in jedem Zyklus, sondern auch eine proportionale Zunahme des Fluoreszenzsignals zur Menge des PCR-Produktes [Roche Diagnostics, LightCycler 480 Instrument Operator's Manual, 2008; Roche Diagnostics, LightCycler 480 Probes Master, 2008]. Zum Screening der häufigsten pathogenen Keime werden spezifische Testpanels, wie z.B. respiratorische und gastrointestinale Panels, verwendet [Fast Track Diagnostics Respiratory pathogens 21, 2018; Fast Track Diagnostics Viral gastroenteritis, 2018].

Je nach Labor ist ein Ergebnis innerhalb von wenigen bis maximal 36 Stunden möglich [Bierbaum et al., 2014]. Die Multiplex-PCR wird in Studien bereits im Vergleich zu den bisherigen diagnostischen Methoden evaluiert und zeigt deutliche Vorteile [Freymuth et al., 2006; Gharabaghi et al., 2011; Bierbaum et al., 2014]. In der Analyse von Bierbaum et al. ergaben sich hierbei Diskrepanzen zwischen der Multiplex- und der Singleplex-PCR mit z.T. fehlendem Nachweis von Viren in der zweiten Untersuchungsmethode. Die Multiplex-PCR wies eine Sensitivität von 84% und Spezifität von 99,2% auf [Bierbaum et al., 2014]. Ebenso verglichen Freymuth et al. [2006] das PCR-Verfahren mit Immunfluoreszenzverfahren (direct immunofluorescence assay, DFA) und Zellkulturen (HuH7 cell culture). Es zeigte sich eine deutliche Überlegenheit der Multiplex-PCR gegenüber den anderen Verfahren; in 92% war das Ergebnis eines Nasenabstrichs mittels Multiplex-PCR positiv, während mittels DFA in Kombination mit Zellkulturen ein Erregernachweis in nur 72% der Fälle gelang [Freymuth et al., 2006].

Allerdings ist zu bedenken, dass nicht grundsätzlich jeder nachgewiesene Keim als kausale Ursache einer Infektion anzusehen ist [Krause et al., 2014]. Der positive Nachweis eines Virus bei einem klinisch symptomatischen Patienten spricht für einen kausalen Zusammenhang bzw. legt diesen nahe; allerdings sind differenzialdiagnostisch auch immer bakterielle Superinfektionen in Betracht zu ziehen. Dagegen schließen negative Befunde eine Infektion mit einem der detektierbaren Viren mit hoher Wahrscheinlichkeit aus. Es ist insbesondere darauf zu achten, dass der Nachweis von RS-, Humanen Metapneumo-, Parainfluenza- oder Inflenzaviren meist auf eine akute Infektion zurückzuführen ist, während Adeno-, Boca-, Rhino- oder Coronaviren auch bei asymptomatischen Menschen oder nach durchlebter Infektion nachgewiesen werden können [Krause et al., 2014; Rhedin et al., 2014].

## 2.6 Therapie

### 2.6.1 Akuttherapie und Prophylaxe des Fieberkrampfes

Eine Aufklärung der Eltern über das Krankheitsbild Fieberkrämpfe ist von großer Bedeutung. Physikalische Maßnahmen wie Wadenwickeln oder eine antipyretische Therapie mittels Paracetamol oder Ibuprofen dienen zur Senkung der Körpertemperatur, wenngleich mittels wissenschaftlicher Studien keine signifikante Vermeidung erneuter Anfälle mittels antipyretischer Maßnahmen zu belegen ist [Strengell et al., 2009]. So konnte in der randomisierten Studie von Strengell et al. gezeigt werden, dass hinsichtlich des Rezidivrisikos zwischen Kindern, denen während der Fieberperiode Antipyretika verabreicht wurden, und jenen, die mit Placebo behandelt wurden, kein signifikanter Unterschied bestand [Strengell et al., 2009].

Nach dem ersten Fieberkrampf müssen die Eltern über eine Notfallmedikation mit Diazepam bzw. Midazolam bukkal in gewichtsabhängiger Dosierung zur Behandlung eines Rezidivanfalls aufgeklärt werden [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Strengell et al., 2009]. Fieberkrämpfe sind in 90% der Fälle selbstlimitierend und bereits bei Eintreffen eines Notarztes abgeklungen. Entscheidendes Ziel bei Fortbestehen eines Fieberkrampfes über einen Zeitraum > 2-3 Minuten ist die Unterbrechung des Fieberkrampfes und die Verhinderung eines prolongierten Krampfanfalls mit der Entwicklung bzw. dem Übergang in einen febrilen Status epilepticus. Hierfür werden Benzodiazepine wie Diazepam rektal (Körpergewicht bis 15 kg: 5 mg, ab 15 kg: 10 mg) oder Midazolam buccal (Lebensalter von 6 bis 12 Monate: 2,5 mg, ab 1 bis 5 Jahre: 5 mg) eingesetzt. Sichert der Anfall nicht nach der ersten Medikamentengabe, sollte spätestens nach zehn Minuten eine weitere Benzodiazepingabe erfolgen. Eignet sich der Anfall in einer Klinik, kann das Medikament nach folgender Dosierung auch intravenös verabreicht werden: Diazepam (0,25 – 0,5 mg/kgKG), Lorazepam (0,05 mg/kgKG) oder Midazolam (0,1 – 0,2 mg/kgKG). Besteht das Krampfgeschehen weiterhin, ist die intravenöse Verabreichung von Phenobarbital (15 mg/kgKG) möglich. Bei weiterer Anfallspersistenz muss eine intensivmedizinische Therapie auf einer neonatologisch-pädiatrischen Intensivstation erfolgen, mit dem Ziel den prolongierten Fieberkrampf schnellstmöglich zu terminieren [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Borggräfe et al., 2013].

Eine prophylaktische Therapie mit Medikamenten wird nicht angeraten, da die meisten Fieberkrämpfe unkompliziert verlaufen und eine gute Prognose zeigen. Mögliche Indikationen für eine intermittierende Kurzzeitprophylaxe sind ein erhöhtes Rezidivrisiko, ein Alter von unter einem Jahr, eine positive Familienanamnese sowie komplizierte Fieberkrämpfe [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Borggräfe et al., 2013]. Diese Therapie wird während einer Fieberperiode für

maximal zwei Tage verabreicht. Diazepam kann rektal 0,5 mg/kgKG alle zwölf Stunden oder oral mit 0,33 mg/kgKG alle acht Stunden dosiert verabreicht werden. Dadurch lässt sich ein hoher Medikamentenspiegel vermeiden und somit das Nebenwirkungsprofil verringern [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Borggräfe et al., 2013]. Allerdings zeigten verschiedene Studien, dass eine intermittierende Prophylaxe mit Benzodiazepinen keinen signifikanten Effekt erbrachte [Autret et al., 1990; Rosman et al., 1993; Rantala et al., 1997; AWMF S2-Leitlinie, 1999; Pavlidou et al., 2006].

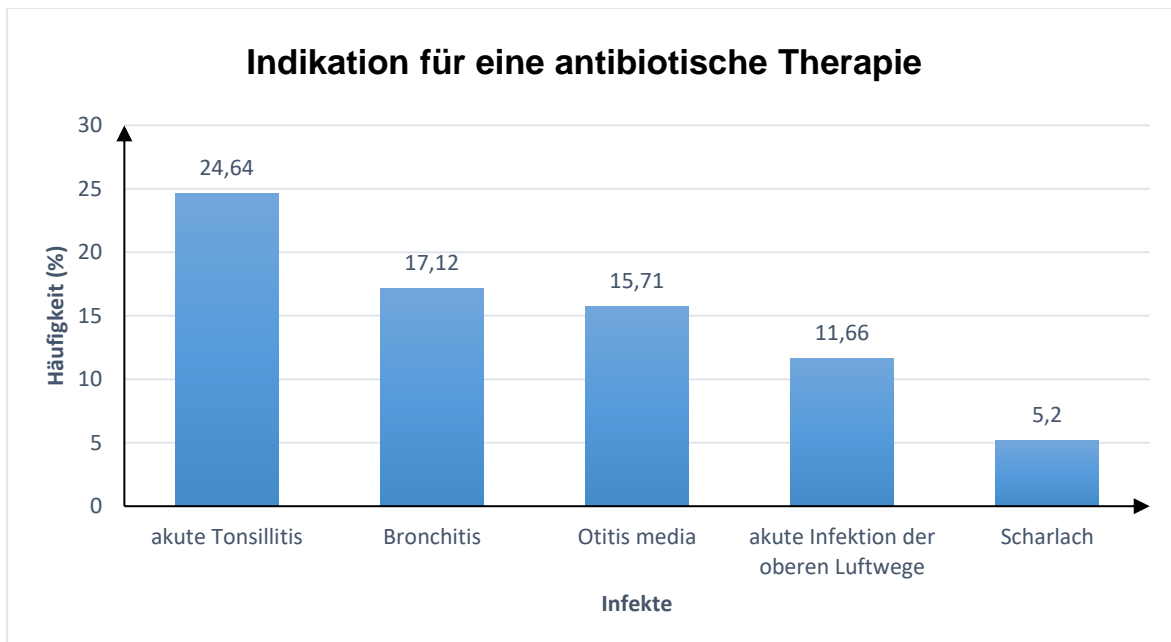
Eine Langzeitprophylaxe ist bei Fieberkrämpfen, vor allem bei einem unkomplizierten Verlauf und aufgrund der guten Langzeitprognose, nicht indiziert. Laut der AWMF S2-Leitlinie wird bei erheblichem Verdacht auf eine beginnende Epilepsie eine Indikation für eine antikonvulsive Dauertherapie über ein bis zwei Jahre gestellt. Dies gilt auch für rezidivierende komplizierte Fieberkrämpfe mit zwei oder drei komplizierenden Merkmalen (insbesondere bei fokalen Abläufen oder einem prolongierten Fieberkrampf) oder neurologischen Vorschädigungen [AWMF S2-Leitlinie, 1999]. Als Medikamente werden Valproat mit einer Dosis von 20 bis 30 mg/kgKG oder Phenobarbital mit 2-3 mg/kgKG bevorzugt eingesetzt, da diese nachweislich das Rezidivrisiko senken können [Uhari et al., 1995; Rantala et al., 1997].

### **2.6.2 Antibiotische Therapie**

Entscheidend für den initialen und somit auch späteren Verlauf ist die Erkennung des Infektfokus und die adäquate Behandlung der Fieberursache. Die häufigsten Ursachen eines Fieberkrampfes sind Infekte der Atemwege (38%), die vor allem in den ersten Lebensjahren ein Problem darstellen [Borggräfe et al., 2013]. Atemwegsinfekte sind meist viraler Genese und selbstlimitierend [Borggräfe et al., 2013; Krause et al., 2014]. Dennoch wird hierbei ein hoher Gebrauch an Antibiotika festgestellt, da die Abgrenzung zu einer bakteriellen Infektion klinisch häufig nicht ohne weiteres möglich ist. In Deutschland werden innerhalb von einem Jahr ein Drittel aller Kinder und Jugendlichen < 15 Jahren antibiotisch behandelt, vorwiegend im Alter < 4. Lebensjahr [Holstiege et al. 2013; 2014]. (Tabelle 2) Dabei werden, wie in der Studie von Holstiege et al. beschrieben, Infekte des Respirationstraktes als häufigste Indikation für die Verordnung von Antibiotika verzeichnet. [Holstiege et al., 2013]. (Abbildung 2)

Lebensalter (Anzahl der Patienten)	Verordnungen Antibiotika (%)	1 Antibiotikum (%)	2 Antibiotika (%)	≥ 3 Antibiotika (%)
0-4 (479 252)	48,85	24,15	12,15	12,55
5-9 (642 082)	40,54	22,14	10,05	8,35
10-14 (658 522)	27,06	17,08	6,17	3,81

**Tabelle 2:** Übersicht der Antibiotikaverordnung in unterschiedlichen Altersgruppen [Holstiege et al., 2013]



**Abbildung 2:** Indikationen für eine antibiotische Therapie [Holstiege et al., 2013]

Da eine zügige Behandlung viraler Infekte nicht immer möglich ist, ist anzunehmen, dass Antibiotika häufig auch im Hinblick auf eine Verschleierung einer bakteriellen Meningitis bei Kindern mit Fieberkrämpfen verordnet werden. Die Carolina Studie (Brody School of Medicine at East Carolina University, Greenville, North Carolina, United States of America) betrachtete retrospektiv die Diagnostik und Behandlungsansätze bei Kindern mit Fieberkrämpfen [Millichap JJ/JG, 2008]. Die häufigsten Infektfoki dabei waren Otitis media (39%) und obere Atemwegsinfekte (38%), davon jeweils ein Drittel viraler Genese. In 35% zeigte sich ein Keimwachstum durch virale Kulturen, während bakterielle Kulturen in nur 5% einen positiven Befund ergaben. Eine antibiotische Therapie wurde dennoch bei 65% der Patienten verordnet. Obwohl Fieberkrämpfe bzw. die auszulösenden Infekte eher viraler Genese sind, zeigte sich

hiermit ein hoher Gebrauch an Antibiotika. Die erfolgten Lumbalpunktionen (14/100; 14%) ergaben keinen Anhalt für eine virale oder bakterielle Meningitis [Millichap JJ/JG, 2008]. Die häufige Verordnung einer antibiotischen Therapie kann neben klinischen Nebenwirkungen wie z.B. Diarrhö oder Mundsoor auch zu einem Anstieg an resistenten Erregern führen. Hohe Resistenzen zeigen sich in Ländern (z.B. Italien), in denen Antibiotika großzügig verordnet werden oder sogar selbst von den Patienten oder Eltern ohne ärztliche Anordnung gekauft werden können [Holstiege et al. 2013; Napolitano et al., 2013].

Daher kommt einer zügigen virologischen Diagnostik bei Fieberkrämpfen eine große Bedeutung in Bezug auf die Verordnung einer antibiotischen Therapie zu.

### 3. FRAGESTELLUNG

Im Rahmen dieser Dissertation wurden die folgenden Fragestellungen untersucht.

- a) Eignet sich die Multiplex-PCR aus respiratorischen Sekreten und Stuhlproben als Routinediagnostikum bei Kindern mit Fieberkrämpfen zur Detektion von krankheitsursächlichen Viren?
- b) Ist durch den möglicherweise frühzeitigen Nachweis einer viralen Genese der fieberhaften Erkrankung eine Reduktion der Antibiotikagabe zu verzeichnen?

Zur Beantwortung dieser beiden Fragestellungen wurden die Ergebnisse der Multiplex-PCR aus den Jahren 2010 bis 2013 mit den Daten aus dem Jahr 2009 (prä-Multiplex-PCR Ära) verglichen. 2009 erfolgten Virennachweise durch Singleplex-PCRs (v.a. Noro-, Influenzavirus), Immunassay-Verfahren (Enzyme-linked Immunosorbent Assay; ELISA) oder Virenkulturen (Adeno-, Entero-, Herpes-simplex- und Zytomegalievirus).

Zusätzlich wurde untersucht, inwiefern bei Kindern mit Fieberkrämpfen eine Lumbalpunktion laut der AWMF S2-Leitlinie (Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften) und AAP (American Academy of Pediatrics) indiziert war und leitlinienkonform durchgeführt wurde.



## 4. MATERIAL UND METHODEN

### 4.1 Patientenkollektiv

Es handelt sich bei dieser Studie um eine retrospektive Untersuchung bei Kindern mit Fieberkrämpfen (ICD-10 R56.0), die im Zeitraum 2009 – 2013 am Universitätsklinikum des Saarlandes, Klinik für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie, Sektion Neuropädiatrie behandelt wurden.

Die zu erhebenden Informationen wurden durch Analyse der ärztlichen und pflegerischen Dokumentation aus dem Datensystem SAP-Healthcare/i.s.h.med (SAP Walldorf, Deutschland; Industry Solution Healthcare, Cerner Cooperation, Kansas City, USA) sowie den zugehörigen Akten erfasst und mittels SPSS (23.0, Chicago, Illinois, USA) pseudoanonym gespeichert und statistisch ausgewertet. Es wurden insgesamt 75 Variablen definiert. In der Variablenansicht wurde jede Variable benannt und mittels Wertelabels definiert (siehe Anhang).

Insgesamt wurden 214 Kinder mit der Diagnose „Fieberkrampf“ registriert. Eingeschlossen in diese Kohortenstudie wurden Kinder, deren Krampfanfall von Fieber ( $> 38,5^{\circ}\text{C}$ ) begleitet wurde. Dabei wurde vorerst nicht unterschieden, ob es sich um einen ersten Fieberkrampf oder ein Rezidiv handelte. Es wurden Kinder bis zum vollendeten 18. Lebensjahr in dieser Studie eingeschlossen. Diejenigen Patienten, die bereits zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme einen Anhalt auf eine Grunderkrankung des ZNS zeigten (Autismus, Epilepsie, statomotorische Retardierung) wurden aus der Studie ausgeschlossen. Patienten, die einen infektassoziierten Krampfanfall mit einer Temperatur von  $\leq 38,5^{\circ}\text{C}$  erlitten, wurden nicht als Fieberkrampf gewertet und nicht in die Studie aufgenommen. Somit reduzierte sich das Gesamtkollektiv von initial 214 auf 200 Patienten.

## 4.2 Datenerhebung

Hierfür wurden folgende Parameter erfasst:

### 1) Patientendaten

Es wurden das Geburtsdatum, Geschlecht und Alter (in Monaten) erfasst.

### 2) Klassifikation des Fieberkrampfes gemäß der AWMF-Leitlinie

Vorgaben durch die AWMF S2-Leitlinie. (Tabelle 1)

### 3) Tages- und jahreszeitliches Auftreten der Fieberkrämpfe

### 4) Familiäre Prädisposition

### 5) Einsatz ambulant antibiotischer Behandlung

Dabei wurden alle Patienten, die im Rahmen der letzten 2 Wochen vor der stationären Aufnahme antibiotisch behandelt wurden, berücksichtigt. Zudem wurden die verordneten Medikamente einzeln aufgelistet. Zusätzlich wurde untersucht, inwiefern das Ergebnis der Multiplex-PCR zu einer Therapieumstellung während des stationären Aufenthaltes führte.

### 6) Maßnahme durch die Eltern beim Fieberkrampf

Erfassung der Gabe von Benzodiazepinen und Antipyretika durch die Eltern.

### 7) Fokussuche

Die Infekte wurden wie folgt eingeteilt:

Atemwegsinfekt, Tonsillitis, Otitis media, Pneumonie/Bronchitis, Gastroenteritis, Harnwegsinfekt, Impfreaktion.

### 8) Keimnachweis

Mikrobiologische und virologische Befunde wurden erfasst. Besonderes Merkmal wurde auf die Multiplex-PCR aus respiratorischen Sekreten und Stuhlproben gelegt.

### 9) Angabe der Laborparameter

Dokumentiert wurden Blutbild mit Hämoglobin, Hämatokrit, Leukozyten, Thrombozyten, C-reaktives Protein (CrP), Procalcitonin (PCT), Elektrolyte mit Natrium, Kalium, Chlorid, Kalzium und Glukose im Serum.

## **10) Einsatz diagnostischer Maßnahmen wie Elektroenzephalographie (EEG) und Lumbalpunktion**

### **11) Durchführung von Lumbalpunktionen**

Um zu beurteilen, inwiefern Lumbalpunktionen leitlinienkonform erfolgten, richteten wir uns nach den von der AWMF S2-Leitlinie und der American Academy of Pediatrics vorgegebenen Kriterien (siehe Kapitel 4.4)

### **12) Antibiotische Behandlung während des stationären Aufenthaltes**

Die verordneten Medikamente wurden am Universitätsklinikum des Saarlandes, Klinik für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie, Sektion Neuropädiatrie, erfasst.

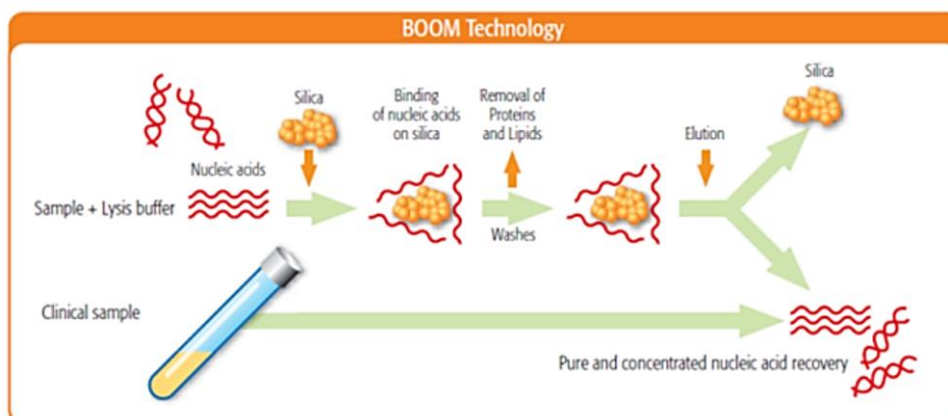
Die Therapie wurde mit dem Ergebnis der Multiplex-PCR verglichen und es wurde untersucht, ob ein positives PCR-Ergebnis zu einer Therapieumstellung/-beendigung führte.

## 4.3 Multiplex-PCR

### 4.3.1 Extraktionsverfahren (easyMAG/eMag)

Die Multiplex-PCR ist eine Form der diagnostischen PCR (polymerase chain reaction, Polymerase-Kettenreaktion) zur Sequenzierung und Amplifizierung der Desoxyribonukleinsäure (deoxyribonucleid acid, DNA). Das Prinzip beruht darauf, dass mehrere DNA-Templates (Vorlagen) in einem Ansatz amplifiziert werden, um verschiedene PCR-Reaktionen zeitgleich ablaufen zu lassen [BioMérieux SA, 2014; Garcia et al., 2017]. (Abbildung 3)

Im Rahmen dieser Studie wurden Abstriche aus dem Nasopharyngealraum und/oder Stuhlproben einer PCR-Untersuchung unterzogen. Die DNA-Isolierung erfolgte mit dem Gerätesystem NucliSens easyMAG/eMag von der Familie bioMérieux (Marcy-l'Étoile, Frankreich). Dies ist ein Nukleinsäureaufreinigungsverfahren nach dem BOOM-Extraktionsprinzip. Hierbei handelt es sich um eine von dem Unternehmen bioMérieux patentierte Technologie zur Extraktion der Nukleinsäure [Boom et al., 1990; BioMérieux SA, 2014]. Diese Methode wurde bereits von R. Boom [1990], nach welchem das Verfahren benannt wurde, entwickelt. Der Ablauf besteht aus Lyse der enthaltenen Mikroorganismen, Bindung der DNA an Silikapartikel und Eluierung der Moleküle [Boom et al., 1990; BioMérieux SA, 2014; Garcia et al., 2017]. (Abbildung 3)



**Abbildung 3:** BOOM-Extraktionsprinzip [Boom et al., 1990]

Die Probe wird mit einem Lysepuffer, welches eine chaotrope Substanz (z.B. Guanidiniumthiocyanat) beinhaltet, versetzt. Dadurch werden die zellulären Bestandteile aufgelöst und die Nukleinsäure aus dem Probematerial freigesetzt. Die Isolierung der DNA erfolgt durch die Zugabe von magnetischen Partikeln, an welche die lysierte Probe binden kann. Daraufhin werden die Silikapartikel mehrfach von zwei Waschpuffern ausgespült. Die Nukleinsäure wird aus den magnetischen Teilchen freigesetzt und in einem Elutionspuffer konzentriert. Dieser Vorgang wird durch Erhitzen (62,5 - 85°C max. 10 Minuten) beschleunigt, worunter die magnetischen Partikel ausgewaschen und aus dem Elutionspuffer ausgeschieden werden. Mithilfe von Magneten erfolgt die Trennung der magnetischen Bestandteile vom Eluat. Die konzentrierte Nukleinsäure kann somit zur Auswertung verwendet werden [Boom et al., 1990; BioMérieux SA, 2014; Garcia et al., 2017]. (Abbildung 4)

### Extraktionsprinzip

- A. Während der Inkubation der lysierten Proben werden alle Nukleinsäuren an die magnetischen Silikapartikel gebunden.
- B. Die NucliSENS easyMAG Magnete binden alle magnetischen Silikapartikel und ermöglichen während mehrerer Waschschrte ein sehr effizientes Aufreinigen der Nukleinsäuren.
- C. Durch Erwärmung werden die Nukleinsäuren von den Silikapartikeln freigesetzt.
- D. Im letzten Schritt werden die magnetischen Silikapartikel mittels der Magnete vom Eluat getrennt.



Abbildung 4: Extraktionsprinzip mit NucliSENS easyMAG (Familie bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Frankreich)

### 4.3.2 Amplifikation und Auswertung (LightCycler 480)

Als Amplifikations- und Auswertungsgerät für die Multiplex-PCR wird ein LightCycler 480 (Plattencycler) der Firma Roche (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Deutschland) verwendet. Bei diesem LightCycler-System handelt es sich um eine Plattform mit einem flexiblen Durchsatz (96- oder 384 Wellblöcke); in Abhängigkeit von der Anzahl der Reaktionen werden folgende Inhaltsstoffe für den Durchlauf mit dem LightCycler 480 (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Deutschland) benötigt [Roche Diagnostics, LightCycler 480 Instrument Operator's Manual, 2008]:

Anzahl der Reaktionen		1	9	32	64
FTD-3-32/64	Puffer	12,5 µl	112,5 µl	400 µl	800 µl
	Primer Probe Mix	1,5 µl	13,5 µl	48 µl	96 µl
	Enzyme	1 µl	9 µl	32 µl	64 µl
	Total	15 µl	135 µl	480 µl	960 µl

**Tabelle 3:** Reaktionsgemisch für den LightCycler 480 (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Deutschland)

Zur Auslesung werden passende Testpanels mit möglichen pathogenen Erregern verwendet.

### **1) Fast Track Diagnostics/Respiratory Pathogens 21 (Fast Track Diagnostics, Esch-sur-Alzette, Luxemburg)**

Dieses Testpanel der Firma Fast Track Diagnostics (Esch-sur-Alzette, Luxemburg) dient zur Identifizierung folgender respiratorischer Erreger: Influenza A/H1N1-Virus, Influenza B-Virus, Parainfluenzavirus (Typ 1, 2, 3, 4), Coronavirus (NL63, 229E, OC43, HKU1), Humanes Metapneumovirus (A/B), Humanes Bocavirus, Rhinovirus, Adenovirus, Respiratory-Syncytial-Virus (RSV A/B), Parechovirus, und Enterovirus. Das Panel beinhaltet ebenso die Untersuchung auf das Bakterium *Mycoplasma pneumoniae*.

	<b>Inhalt</b>	<b>Pipettier- volumen</b>
<b>FluRhino PP (Primer und Probe)</b>	Influenza A (IAV) und B (IBV), Influenza A/H1N1 (IAV(H1N1)) swl und Humanes Rhinovirus (HRV)	48 µl
<b>Cor PP</b>	Coronavirus (hCoV NL63, hCoV OC43, hCoV 229E und hCoV HKU1)	48 µl
<b>Para.EAV PP</b>	Parainfluenza 2,3,4 (HPIV-2, HPIV-3, HPIV-4)	48 µl
<b>BoMpPf1 PP</b>	Parainfluenza 1, Humanes Metapneumovirus A/B, Humanes Bocavirus (HPIV-1, HMPV A & B, HBoV)	48 µl
<b>RsEPA PP</b>	Respiratory-Syncytial-Virus, Humanes Adenovirus, Enterovirus, Parechovirus (HRSVA & B, HAdV, EV and HPeV)	48 µl
<b>Resp21 PC (positive control)</b>	Positive Kontrolle für IAV, IBV, IAV (H1N1) swl, HRV, hCoV NL63, hCoV 229E, hCoV OC43, hCoV HKU1, HPIV-1-4, HMPV, HBoV, M.pneumoniae, HRSV, HAdV, EV und HPeV	750 µl
<b>NC (negative control)</b>	Negative Kontrolle	2000 – 4000 µl
<b>IC (internal control)</b>	Interne Kontrolle	128 µl
<b>Enzyme</b>	25x RT-PCR Enzymmix (Fast-track mastermix)	160 µl
<b>Puffer</b>	2x RT-PCR Puffer (Fast-track mastermix)	1000 µl

**Tabelle 4:** Panel der respiratorischen Multiplex-PCR (Fast Track Diagnostics, Esch-sur-Alzette, Luxemburg)

## **2) Fast Track Diagnostics/Viral Gastroenteritis**

Die gastrointestinale Multiplex-PCR (Fast Track Diagnostics, Esch-sur-Alzette, Luxemburg) ermöglicht den Nachweis von Noro-, Rota-, Humanen Adeno-, Astro- sowie Sapoviren.

	<b>Inhalt</b>	<b>Pipettier- volumen</b>
<b>Noro PP (Primer und Probe)</b>	Norovirus (NoV GI, NoV GII)	48 µl
<b>ARA PP</b>	Humanes Astrovirus (HAstV), Rotavirus (RoV), Humanes Adenovirus (HAdV)	48 µl
<b>Sapo PP</b>	Sapovirus (SaV)	48 µl
<b>Gastro PC (positive control)</b>	Positive Kontrolle für NoV GI, NoV GII, HAstV, RoV, HAdV	300µl
<b>Sapo PC</b>	Positive Kontrolle für SaV	150 µl
<b>NC (negative control)</b>	Negative Kontrolle	2000 – 4000 µl
<b>IC (internal control)</b>	Interne Kontrolle	128 µl
<b>Enzyme</b>	25x RT-PCR Enzymmix (Fast-track mastermix)	96 µl
<b>Puffer</b>	2x RT-PCR Puffer (Fast-track mastermix)	1200 µl

**Tabelle 5:** Panel der gastrointestinalen Multiplex-PCR (Fast Track Diagnostics, Esch-sur-Alzette, Luxemburg)

Mit dem LightCycler 480 (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Deutschland) kann die DNA amplifiziert werden, indem verschiedene Schritte mit unterschiedlichen Temperaturen durchlaufen werden. Eine Thermoeinheit des Systems ermöglicht die Erhitzung und Abkühlung der Luft. Der Thermocycler erreicht innerhalb von Sekunden Temperaturen von 4°C bis 96°C, um verschiedene PCR-Phasen schnell durchzuführen [Roche Diagnostics, LightCycler 480 Instrument Operator's Manual, 2008]. (Tabelle 6)



Folgende Tabelle orientiert sich am Handbuch der Fast-Track Diagnostics Respiratory pathogens 21/Viral gastroenteritis (Fast Track Diagnostics, Esch-sur-Alzette, Luxemburg).

Vorgang	Temperatur	Dauer
Inkubation	50°C	15 min.
Denaturierung	94°C	1 min.
Amplifikation in 40 Zyklen	94°C	8 sec.
(Ablauf von Denaturierung, Annealing, Elongation)	60°C	1 min.

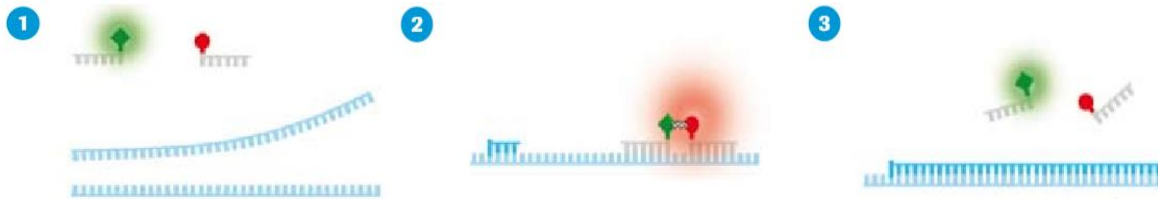
**Tabelle 6:** Temperaturzyklen der Thermoeinheit des LightCycler 480 (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Deutschland) [Roche Diagnostics, LightCycler 480 Instrument Operator's Manual, 2008]

Dieser Vorgang wird mehrfach wiederholt (40 Zyklen), um damit eine Vervielfachung der Zielsequenz zu erreichen. Die Quantifizierung der DNA erfolgt mittels TaqMan-Sonden, sogenannten Hydrolyse-Sonden (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Deutschland). Es handelt sich hierbei um kurze Oligonukleotide, die jeweils an ihren Enden mit Farbstoffen versehen sind [Schild TA, 1996]. Der Donor wird mit einem Reporter-Fluoreszenzfarbstoff am 3'-Ende und der Akzeptor am 5'-Ende gekennzeichnet. (Abbildung 5) Dabei werden für den Reporter folgende Farbstoffe FAM, VIC, CY5, ROX und für den Akzeptor (Quencher) TAMRA eingesetzt (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland).

Diese fluorogenen Sonden binden an die Ziel-DNA und wird durch eine Lichtquelle des LightCyclers (LED) mit bestimmter Wellenlänge (483nm) angeregt. Die entstehende Fluoreszenz des Donors wird durch die FRET-Methode (Förster-Resonanzenergietransfer) von dem Akzeptor, der sich in unmittelbarer Nähe befindet unterdrückt [Roche Diagnostics, LightCycler 480 Instrument Operator's Manual, 2008]. Im Rahmen dieses Verfahrens wird die Energie strahlungsfrei über Dipol-Dipol-Wechselwirkungen vom Donor (Reporter) auf den Akzeptor (Quencher) übertragen. Dies ändert sich mit dem Abbau der Sonden durch die Taq-Polymerase während der Synthese der doppelsträngigen DNA. Bei diesem Enzym handelt es sich um eine thermostabile Polymerase des Bakteriums *Thermus aquaticus* mit einer 5'-3'-Exonucleaseaktivität [Holland et al., 1991; Lawyer et al., 1993].

Daher wird diese v.a. zur DNA-Amplifikation im Rahmen der PCR-Reaktion verwendet. Die Taq-Polymerase kann dadurch die in jedem Zyklus erneut durchgeführte Denaturierungsphase mit einer Temperatur von 95°C (Halbwertszeit beträgt bei 97,5 °C ca. 9 Minuten) überstehen [Holland et al., 1991; Lawyer et al., 1993].

Durch diesen Vorgang nimmt der Abstand des Donors und des Akzeptors zu; folglich kommt es zur Aufhebung von FRET. Das Signal des Donors wird nicht mehr durch den Akzeptor eingeschränkt und dessen Fluoreszenzsignal kann gemessen werden.



**Abbildung 5:** Amplifikation durch LightCycler 480 (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Deutschland) [Roche Diagnostics, LightCycler 480 Instrument Operator's Manual, 2008]

- 1: Zugabe der Sonden (TaqMan-Sonde). Der Donor (Reporter) ist am 3'-Ende (grün) und der Akzeptor am 5'-Ende (rot) mit einem Fluoreszenzfarbstoff versehen sind. Während der Denaturierungsphase wird die doppelsträngige DNA aufgeteilt.
- 2: Die Sonden binden an die Einzelstrang-DNA. Die räumliche Nähe der Oligonukleotide unterdrückt das Fluoreszenzsignal des Donors.
- 3: Die Taq-Polymerase synthetisiert das neue Amplikon und spaltet die Sonden von der DNA.

Die Quantifizierung der Proben erfolgt in kleinen Glaskapillaren mit einem Fassungsvermögen von 20 bis 100 µl. Der LightCycler 480 (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Deutschland) beinhaltet eine Lichtquelle (LED) mit einer Wellenlänge von 390 bis 710 nm [Roche Diagnostics, LightCycler 480 Instrument Operator's Manual, 2008; Roche Molecular Systems, 1999 - 2018].

<b>Xenon lamp (430-630)</b>							
<b>Excitation filters</b>	440	465	498	533	618		
<b>Emission filters</b>	488	510	580	610	640	660	
<b>Dye</b>	LightCycler® Cyan 500	SYBR ResoLight	Fluorescein FAM	HEX (VIC)	LightCycler® Red 610	LightCycler® Red 640	Cy5

**Abbildung 6:** Überblick des Exzitations- und Emissionsfilters der LED-Lichtquelle des LightCyclers 480 (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Deutschland); Reporterfarbstoffe: FAM (6-Carboxy-Fluorescein), VIC/HEX (Hexachloro-6-carboxyfluorescein), Cy5 (Cyanine 5), ROX (6-Carboxy-X-rhodamin). [Roche Molecular Systems, 1999 - 2018]

Die Proben werden an der Linse entlang bewegt und das emittierte Licht des Donors (Reporters) kann gemessen werden. Mit zunehmender Zyklenzahl können mehr Amplifikate gebildet und somit mehr Sonden an die DNA gebunden werden. Die Fluoreszenzintensität zeigt eine Zunahme proportional zur Menge des entstandenen PCR-Produktes [Roche Molecular Systems, 1999 - 2018].

Die Auswertung der PCR erfolgt durch die LightCycler Software Version 1.5 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland), die automatisch die Ct-Werte (cycle treshold, Cp-Wert = Crossing point), also die Schwellenwerte des gemessenen Fluoreszenzanstiegs für die einzelnen Wellenlängen, ermittelt. Diese Werte geben die Anzahl der Zyklen wieder, die benötigt werden, um ein bestimmtes Fluoreszenzniveau zu erhalten. Je eher dieser Ct-Wert erreicht wird, desto niedriger ist die Zyklusanzahl, d.h. umso größer ist die Erreger-DNA in der Probe [Roche Molecular Systems, 1999 – 2018; Fast Track Diagnostics Respiratory pathogens 21, 2018]. Das Fluoreszenzsignal wird durch einzelne Kanäle analysiert und auf dem Computer in Kurven visualisiert. Entsprechende Kanäle sind die Filter mit den Wellenlängen 510nm, 580nm, 610nm und 660nm. (Abbildung 6) Diese spiegeln das Verhältnis der amplifizierten DNA zur Zykluszahl. In Abbildung 7 und 8 werden die Fluoreszenzmessung (y-Achse) und die Zykluszahlen (x-Achse) dargestellt. Die Anzahl der entstandenen Produkte zeigt zunächst einen exponentiellen Verlauf an und endet in einer Plateauphase. Das Ausmaß der Fluoreszenz des Reporters nimmt zu, während sich jene des Quenchers kaum ändert, sodass dessen Intensität als interne Kontrolle dient. Zur exakten Analyse der Auswertung kann mittels Kontroll-Templates mit bekannter DNA-Konzentration eine Standardkurve erstellt werden. Dadurch kann die Kopienzahl der Viruslast der unbekanntenen Proben mit der Standardkurve in Relation gesetzt werden.

Alle negativen Kontrollen sollten unterhalb des Schwellenwertes (Ct-Wert) liegen. Positive Kontrollen zeigen einen exponentiellen Verlauf und sollten einen Ct-Wert (Cp-Wert) von 33 nicht überschreiten. Dies gilt ebenso für die internen Kontrollen. Bei Daten oberhalb dieses Wertes wird von einer Verunreinigung der Probe ausgegangen [Roche Molecular Systems, 1999 – 2018; Roche Diagnostics, LightCycler 480 Probes Master, 2008; Quiagen GmbH, 2015; Fast Track Diagnostics Respiratory pathogens 21, 2018]. (Tabelle 9)

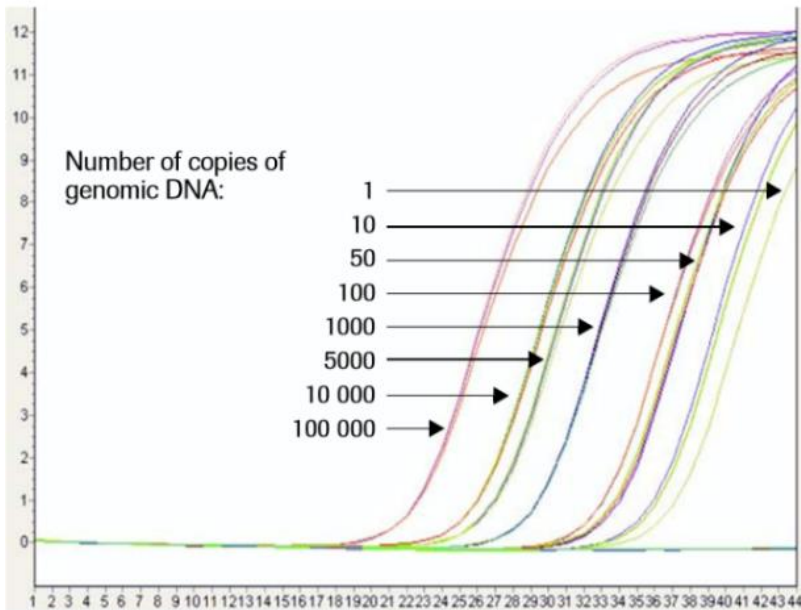


Abbildung 7: Visualisierung der PCR-Reaktion [Roche Diagnostics, LightCycler 480 Probes Master, 2008]

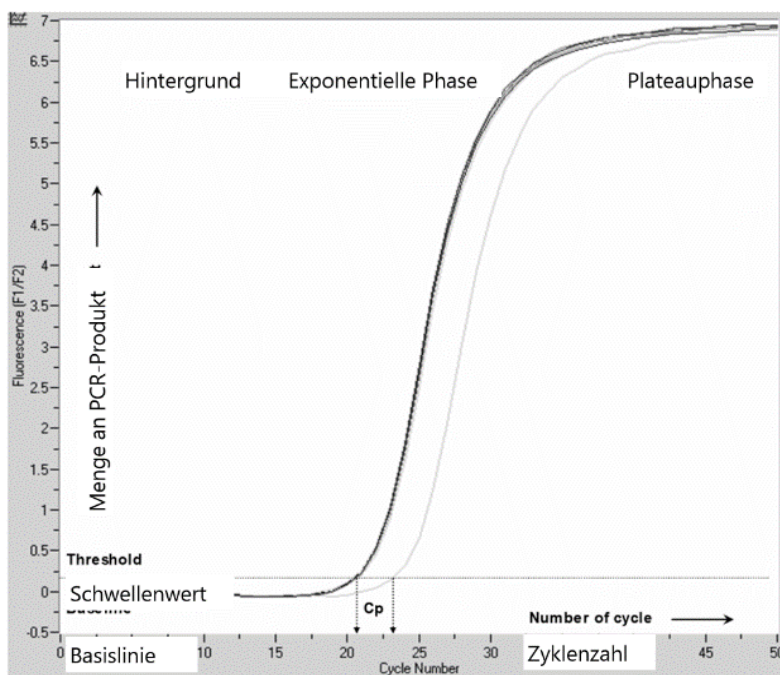


Abbildung 8: Grundlage einer PCR-Reaktion mittels LightCycler 480 (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Deutschland) [Quiagen GmbH, 2015]

Mittels Detektorprogrammen können folgende messbare Wellenlängen für die respiratorische sowie gastrointestinale Multiplex-PCR (Fast Track Diagnostics, Esch-sur-Alzette, Luxemburg) ermittelt werden [Fast Track Diagnostics Respiratory pathogens 21, Viral gastroenteritis, 2018].

Mastermix	Pathogene	Farbe	Detektionswellenlänge (nm)
<b>FluRhino</b> (Influenza A/B, Influenza A/H1N1swl, Humanes Rhinovirus)	IAV	Grün	520
	HRV	Gelb	550
	IBV	Orange	610
	IAV (H1N1) swl	Rot	670
<b>Cor</b> (Coronavirus)	hCoV 229	Grün	520
	hCoV NL63	Gelb	550
	hCoV KHU1	Orange	610
	hCoV OC43	Rot	670
<b>ParaEAV</b> (Parainfluenza Typ 2,3,4)	HPIV 3	Grün	520
	HPIV2	Gelb	550
	HPIV4	Orange	610
	IC (EAV)	Rot	670
<b>BoMpPf1</b> (Parainfluenza 1, Humanes Metapneumovirus A/B, Humanes Bocavirus)	HPIV1	Grün	520
	HMPV A&B	Gelb	550
	HBoV	Orange	610
	M.pneumoniae	Rot	670
<b>RsEPA</b> (Respiratory-Syncytial-Virus, Humanes Adenovirus, Enterovirus, Parechovirus)	HRSVA&B	Grün	520
	HPeV	Gelb	550
	EV	Orange	610
	HAdV	Rot	670

**Tabelle 7:** Detektorprogramm der respiratorischen Multiplex-PCR (Fast Track Diagnostics, Esch-sur-Alzette, Luxemburg) [Fast Track Diagnostics Respiratory pathogens 21, 2018]

Mastermix	Pathogene	Farbe	Detektionswellenlänge (nm)
<b>Noro</b> (Norovirus)	NoV GII	Grün	520
	IC (BMV)	Gelb	550
	NoV GI	Rot	670
<b>ARA</b> (Humanes Astrovirus, Rotavirus, Humanes Adenovirus)	HAstV	Grün	520
	RoV	Gelb	550
	HAdv	Rot	670
<b>Sapo</b> (Sapoviren)	SaV	Grün	520

**Tabelle 8:** Detektorprogramm der gastrointestinalen Multiplex-PCR (Fast Track Diagnostics, Esch-sur-Alzette, Luxemburg) [Fast Track Diagnostics Viral gastroenteritis, 2018]

Folgende Fluoreszenzfarbstoffe werden für den Donor (Reporter) verwendet:

Grün	FAM (6-Carboxy-Fluorescein)
Gelb	VIC/HEX (Hexachloro-6-carboxyfluorescein)
Rot	Cy5 (Cyanine 5)
Orange	ROX (6-Carboxy-X-rhodamin)

Der Akzeptor (Quencher) wird mit dem Farbstoff TAMRA (6-Carboxy-tetramethyl-rhodamin) versehen.

Ergebnis	Interne Kontrolle	Interpretation
<b>Kein Ct-Wert</b>	positiv, CT $\leq$ 33	negativ
<b>CT-Wert</b>	Positiv oder negativ	Positiv
<b>Kein CT-Wert</b>	Negativ bzw. Ct>33	invalide

**Tabelle 9:** Auswertung der Ct-Werte

## 4.4 Indikationen zur Lumbalpunktion

Die Indikation für eine Lumbalpunktion wurde mit den Vorgaben der AWMF S2-Leitlinie verglichen [AWMF, S2-Leitlinie, 1999]:

- Meningismus
- bei Kindern unter 1 Jahr und bei ungewöhnlich lang andauernder postkonvulsiver Müdigkeit (dringend empfohlen)
- bei Kindern im Alter von 12 bis 18 Lebensmonaten (großzügige Indikation)
- fakultativ bei komplizierten Fieberkrämpfen und bei antibiotischer Vorbehandlung
- bei unklarem Infektfokus

Die AAP (American Academy of Pediatrics) - Richtlinie empfiehlt eine Lumbalpunktion bei Kindern mit einem einfachen Fieberkrampf bei folgenden Kriterien [Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011]:

- Meningismus, bei jeglichem V.a. einer Meningitis
- bei antibiotischer Vorbehandlung (aufgrund einer möglichen Verschleierung einer Meningitis/Enzephalitis)
- Kinder zwischen 6 und 12 Lebensmonaten ohne ausreichenden oder bei unbekanntem Impfstatus (v.a. Haemophilus influenzae Typ B oder Streptococcus pneumoniae)

## 4.5 Statistische Analyse

Alle relevanten Daten wurden mittels des elektronischen Krankenhausinformationssystem (SAP-Healthcare/i.s.h.med) als auch aus schriftlichen Patientenakten erhoben und ausgewertet. Die deskriptive Darstellung der Resultate erfolgte mittels Tabellen. Die Daten wurden durch Minimum, Maximum, Median, Mittelwert, Spannweite und Standardabweichung dargestellt. Zum Vergleich der kategorischen Variablen wurde der Pearson Chi Quadrat Test verwendet. Der Fisher-exact-Test wurde angewandt als Alternative, falls die Voraussetzungen für den Chi Quadrat Test nicht gegeben waren.

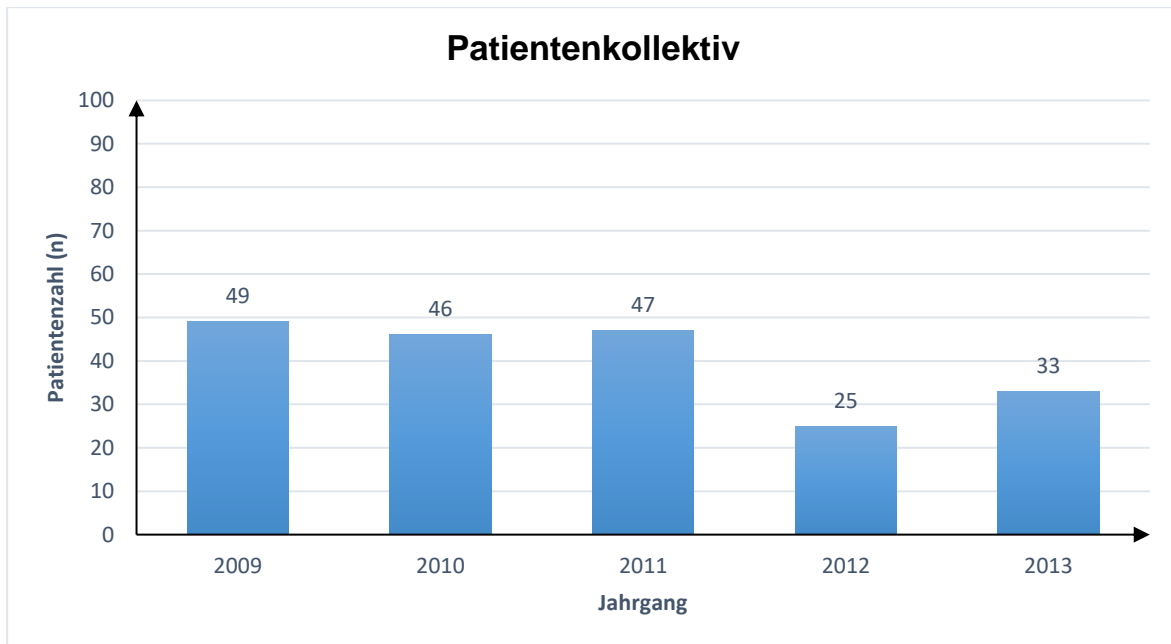
Eine statistische Signifikanz wurde bei  $p \leq 0,05$  angenommen. Alle klinischen Daten wurden mittels SPSS (23.0, Chicago, Illinois, USA) erfasst und statistisch ausgewertet.



## 5. ERGEBNIS

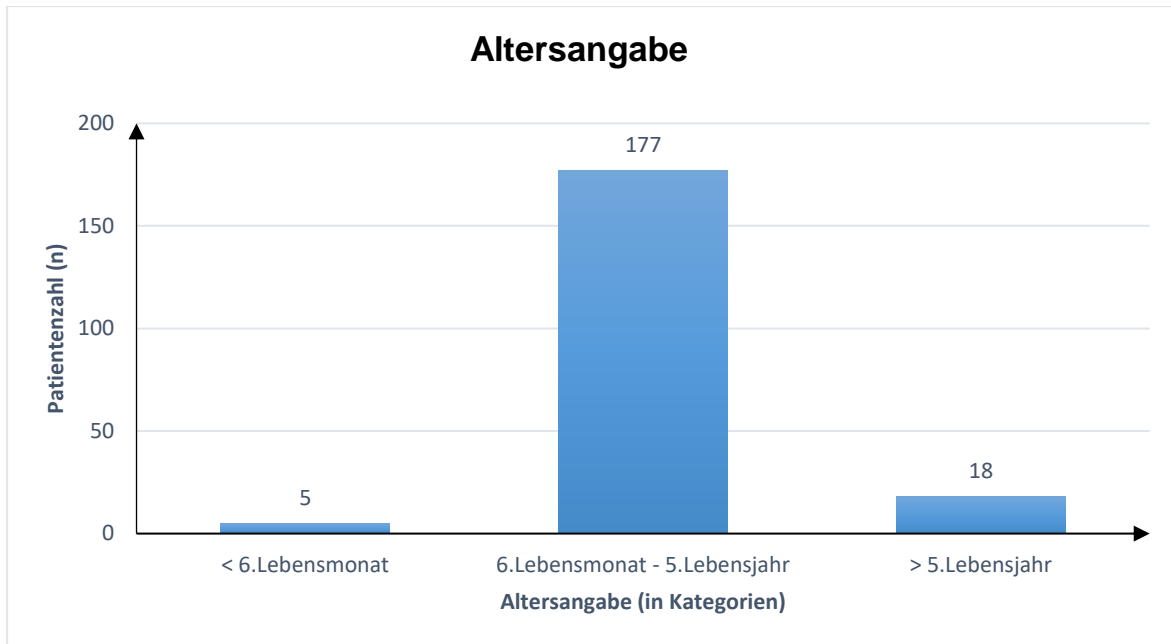
### 5.1 Patientenkollektiv

200 Patienten erfüllten für den Zeitraum 2009 – 2013 das Kriterium eines Fieberkrampfes und wurden in die Studie eingeschlossen. (Abbildung 9)



**Abbildung 9:** Patientenkollektiv mit der Diagnose Fieberkrampf (2009 – 2013)

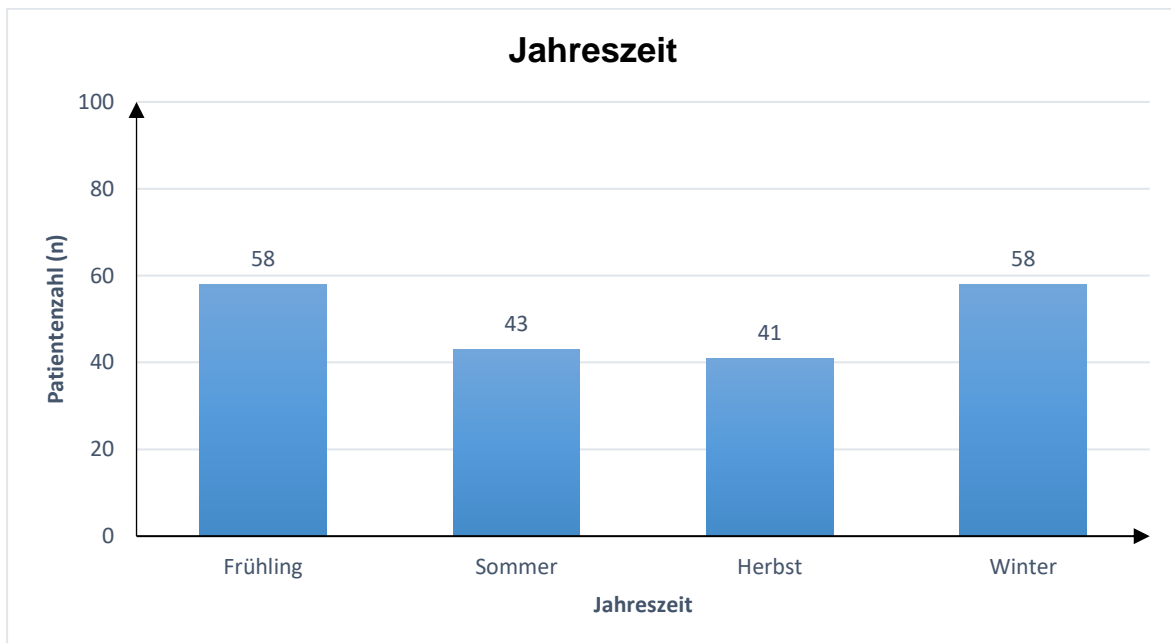
Es wurden 104 männliche (52%) und 96 weibliche (48%) Patienten stationär mit der Diagnose Fieberkrampf eingeschlossen. Das Geschlechterverhältnis betrug somit m:w 1,08:1.



**Abbildung 10:** Alterseinteilung der Patienten mit der Diagnose Fieberkrampf

Das durchschnittliche Alter betrug 29,5 +/- 1,4 Monate. Das jüngste Kind war 3,5 Monate alt, das älteste 119,8 Monate (10 Jahre). (Abbildung 10)

Jahreszeitlich zeigte sich eine Häufung der Fieberkrämpfe zur Winter- und Frühlingszeit (jeweils 29%; 58/200). In den Monaten Februar (12,5%), März (10,5) und April (10%) ereigneten sich am häufigsten Fieberkrämpfe. (Abbildung 11 und 12)



**Abbildung 11:** Jahreszeitliche Einteilung der Patientenaufnahme

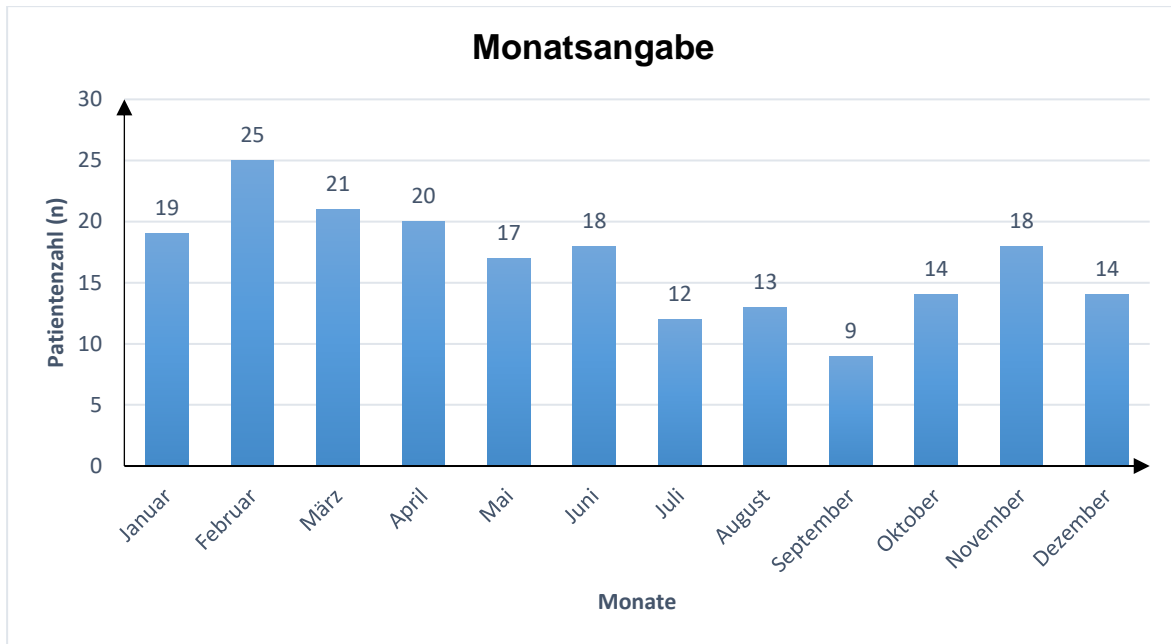


Abbildung 12: Monatliche Einteilung der Patientenaufnahme

Bei 179 Patienten (89,5%) war es möglich einen Tageszeitpunkt aus den medizinisch-ärztlichen Berichten zu erfassen. Bei den übrigen 21 Patienten (21/200; 10,5%) konnte aufgrund unvollständiger Dokumentation keine Angabe zum genauen Tageszeitpunkt des Ereignisses erfolgen. (Abbildung 13)

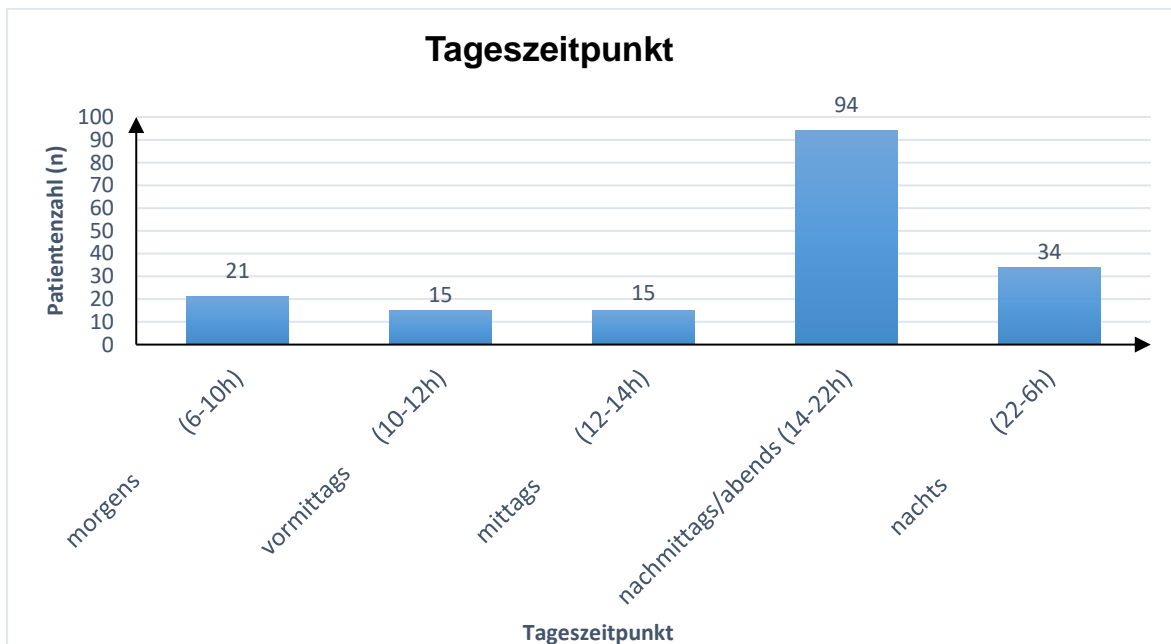


Abbildung 13: Tageszeitliches Auftreten der Fieberkrämpfe

## 5.2 Familiäre Belastung

Eine familiäre Belastung bezüglich Fieberkrämpfen und/oder Epilepsien zeigten insgesamt 60/200 (30%) der Kinder mit Fieberkrämpfen. Bei sechs Familienmitgliedern (6/60; 10%) wurde sowohl von einem Fieberkrampf als auch einer Epilepsie in der Vorgeschichte berichtet. (Abbildung 14)

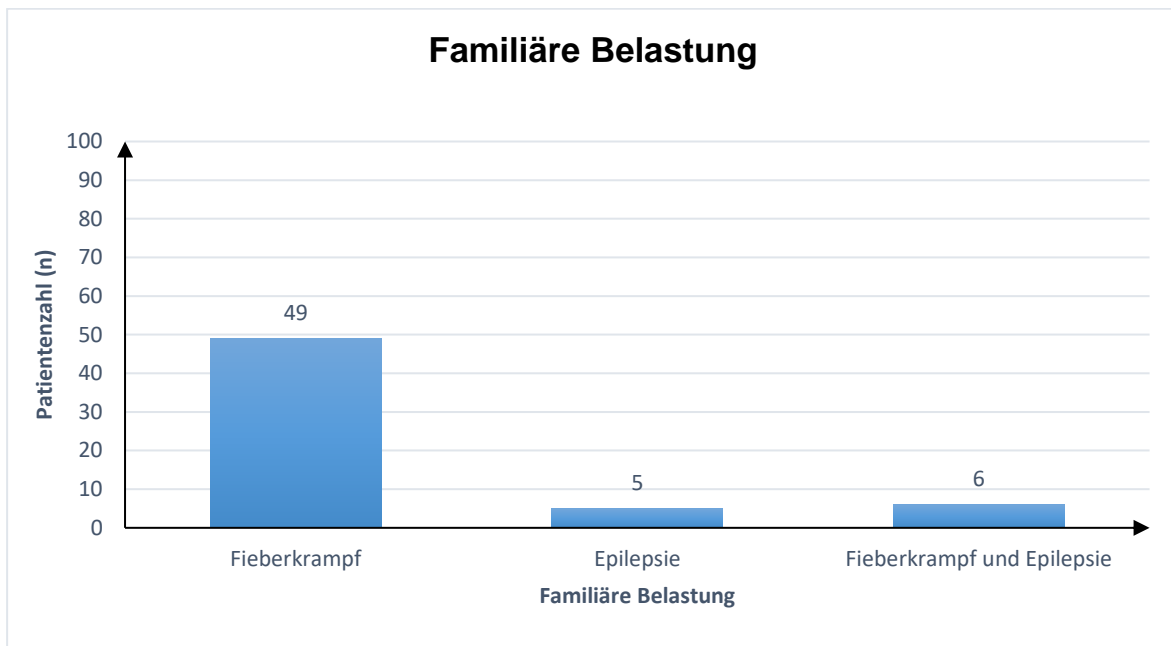


Abbildung 14: Familiäre Belastung bezüglich Fieberkrämpfen und Epilepsien

Eine positive Familienanamnese für Fieberkrämpfe ergab sich bei 55 Kindern (55/200; 27,5%). Bei fünf Patienten konnten die Familienangehörigen keine genauen Angaben zu den Familienmitgliedern wiedergeben. (Abbildung 15)

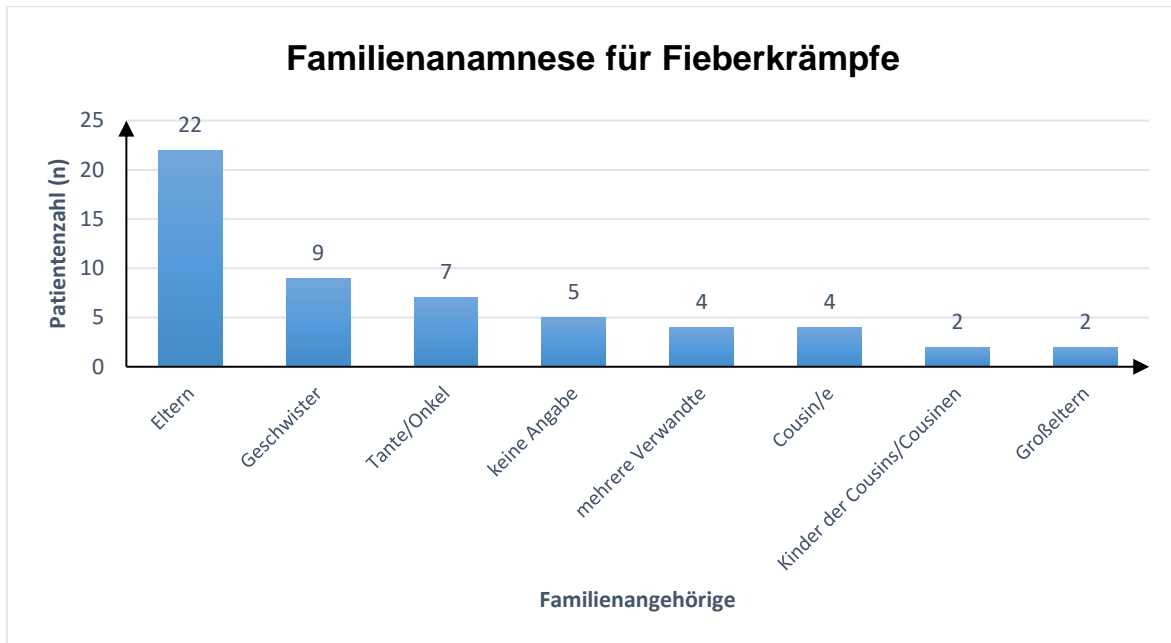


Abbildung 15: Familiäre Belastung bezüglich Fieberkrämpfen

Epilepsien wurden weitaus weniger in der familiären Vorgeschichte bei Kindern mit Fieberkrämpfen beschrieben (11/200; 5,5%). (Abbildung 16)

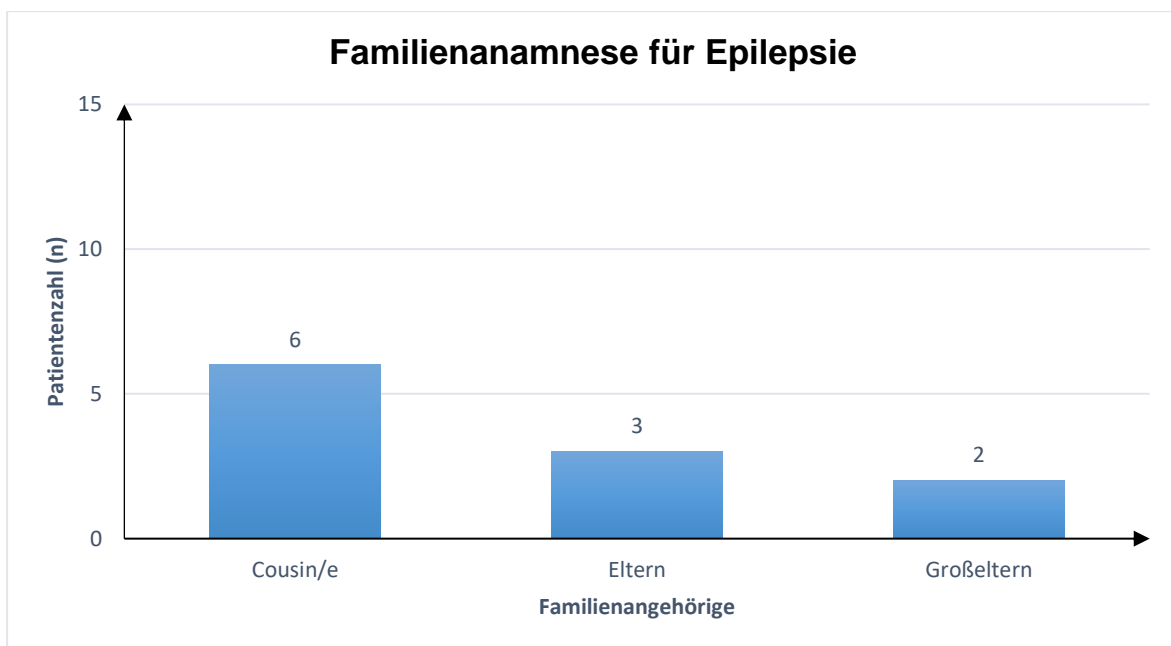


Abbildung 16: Familiäre Belastung bezüglich Epilepsien

## 5.3 Angaben zum Fieberkrampf

### 5.3.1 Anzahl der Fieberkrämpfe

192 Datensätze (96%) der aufgenommenen 200 Patienten konnten zur Häufigkeit des Fieberkrampfes ausgewertet werden. (Abbildung 17)

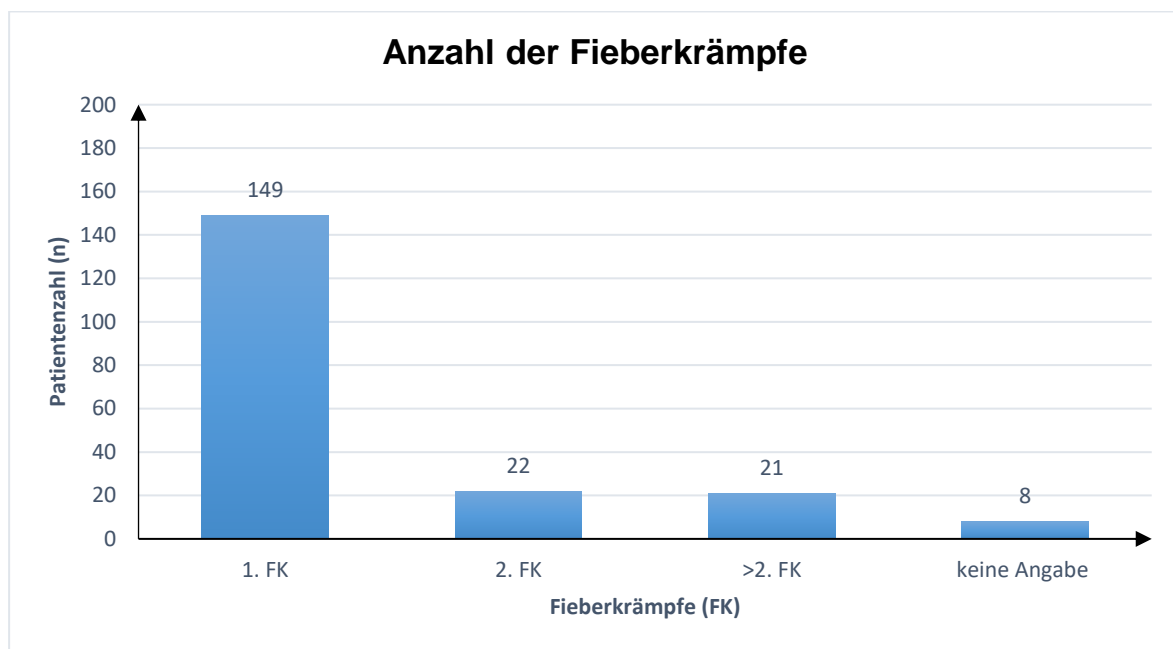


Abbildung 17: Anzahl der Fieberkrämpfe (2009 – 2013)

Einen ersten Fieberkrampf entwickelten 149 Kinder (149/200; 74,5%), während das Rezidivrisiko 21,5% (43/200) betrug. Bei acht Patienten (8/200; 4%) war aufgrund ungenügender Daten in der Anamnese nicht ersichtlich, ob es sich um ein Erstereignis oder Rezidiv handelte.

### 5.3.2 Klassifikation der Fieberkrämpfe

Bei 64,5% der Fälle (129/200 Patienten) lag ein unkomplizierter Fieberkrampf vor; 28,5% (57/200) der Ereignisse verliefen kompliziert und in 7% (14/200) konnte aufgrund ungenügender Angaben keine genaue Differenzierung erfolgen. (Tabelle 10)

<b>Art des Fieberkrampfes</b>	<b>Patienten</b>	<b>Prozent</b>
<b>Unkomplizierter Fieberkrampf</b>	129/200	64,5%
<b>Komplizierter Fieberkrampf</b>	57/200	28,5%
<b>Ungenügende Angaben</b>	14/200	7%

**Tabelle 10:** Einteilung in unkomplizierte und komplizierte Fieberkrämpfe (2009 – 2013)

Tabelle 11 zeigt die Einteilung unseres Patientenkollektivs anhand der Kriterien, die geltend sind für einen Fieberkrampf.

Parameter	Patienten	Prozent
<b>DAUER (min)</b>		
<b>Gesamt</b>	<b>172/200</b>	<b>86%</b>
Keine Zeitangabe	28/200	14%
< 15min	156/200	78%
➤ < 1min	23/200	11,5%
➤ < 5min	104/200	52%
≥ 15min	16/200	8%
➤ ≥ 30min	3/200	1,5%
➤ 50min	1/200	0,5%
<b>ART DES FIEBERKRAMPFES</b>		
<b>Gesamt</b>	<b>196/200</b>	<b>98%</b>
Fokal	16/200	8%
Generalisiert	180/200	90%
Keine Angaben	4/200	2%
<b>WIEDERHOLUNG DES FIEBERKRAMPFES</b>		
Innerhalb von 24 Stunden	21/200	10,5%
Keine Wiederholung innerhalb von 24 Stunden	179/200	89,5%
<b>VORLIEGEN NEUROLOGISCHER DEFIZITE/AUFFÄLLIGKEITEN</b>		
<b>Gesamt</b>	<b>176/200</b>	<b>88%</b>
Keine Angaben	24/200	12%
Keine Auffälligkeiten	167/200	83,5%
Postiktale Phase	8/200	4%
Paresen (Todd'sche Parese)	1/200	0,5%

**Tabelle 11:** Einteilung der Fieberkrämpfe gemäß der AWMF S2-Leitlinie [AWMF, S2-Leitlinie, 1999]

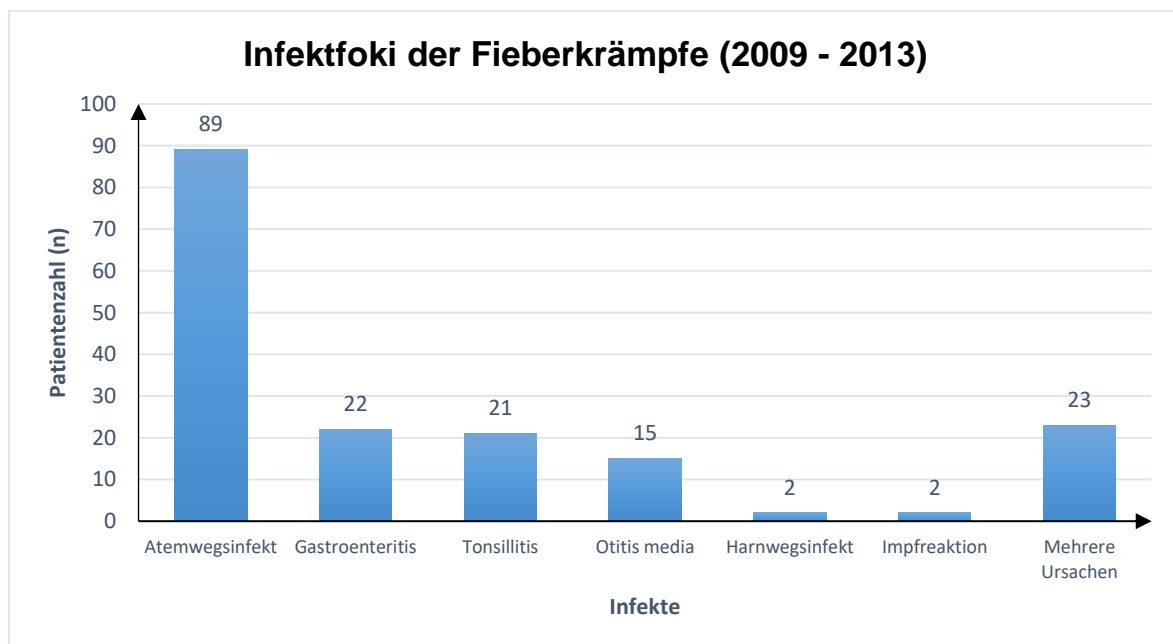


Informationen zur Dauer des Fieberkrampfes konnten aufgrund unvollständiger Angaben nur bei 172 Patienten (86%) erhoben werden. Die Dauer erstreckt sich von wenigen Sekunden (16/200: Sekunden bis zu einer Minute) bis zu einem Maximum von 50 Minuten (1/200). Der Medianwert lag bei 3 Minuten.

Von den erfassten 200 Patienten zeigten 180 Kinder (90%) einen generalisierten Verlauf, während bei 16 Betroffenen fokale Anzeichen (8%) wie Muskelzuckungen einzelner Körperteile beobachtet werden konnten. Bei 21 Patienten (10,5%) ereignete sich ein erneuter Fieberkrampf innerhalb der folgenden 24 Stunden. Neurologische Auffälligkeiten zeigten sich als postiktale Phasen (8/200; 4%) und einmalig in Form einer Todd'schen Lähmung (1/200; 0,5%), die nach wenigen Stunden reversibel war. (Tabelle 11)

## 5.4 Infektfoki

Ein oder mehrere Infektfoki wurden bei 174 Kindern des Gesamtkollektivs (174/200; 87%) festgestellt. Am häufigsten ließ sich ein Infekt der Atemwege (89/200; 44,5%) nachweisen. (Abbildung 18)



**Abbildung 18:** Einteilung der Infektfoki der Fieberkrämpfe (2009 – 2013)

Bei 26 Patienten (26/200; 13%) ergab sich in der Aufnahmesituation kein Hinweis (Infektfokus) auf eine eindeutige Ursache für den Fieberkrampf.

In 23 Fällen (23/200, 11,5%) konnten mehrere Fieberursachen in Betracht gezogen werden. (Abbildung 19)

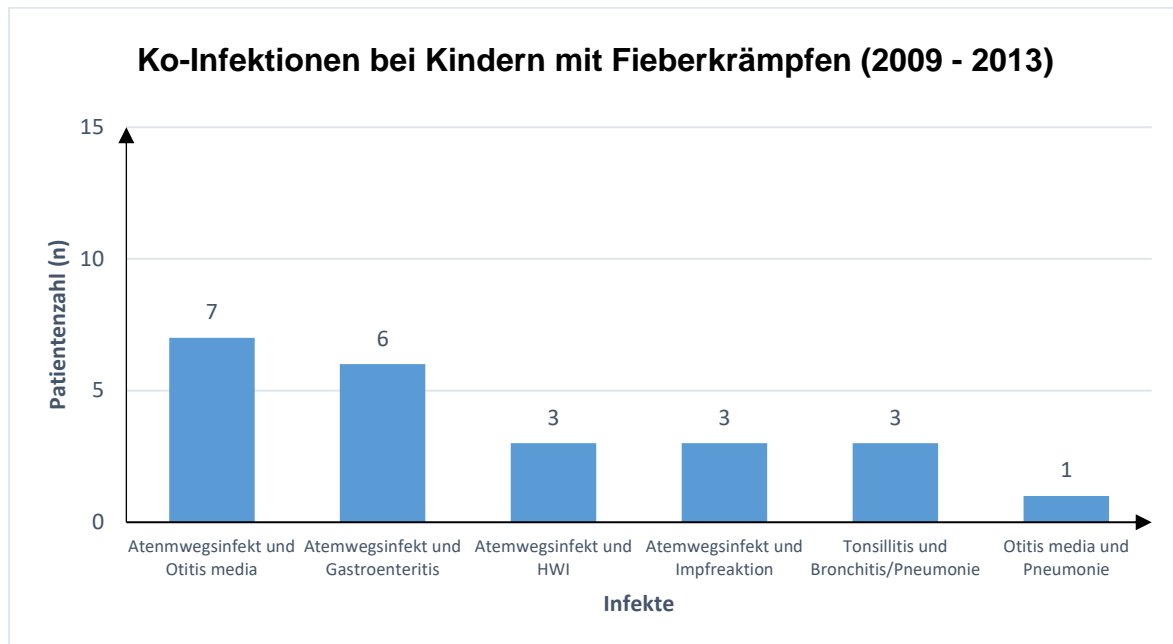


Abbildung 19: Ko-Infektionen bei Kindern mit Fieberkrämpfen (2009 – 2013)

## 5.5 Mikrobiologische Diagnostik

Bei 121 von 200 Kindern (60,5%) konnte ein infektiöses Agens (Virus, Bakterium, Pilz) nachgewiesen werden. (Abbildung 20)

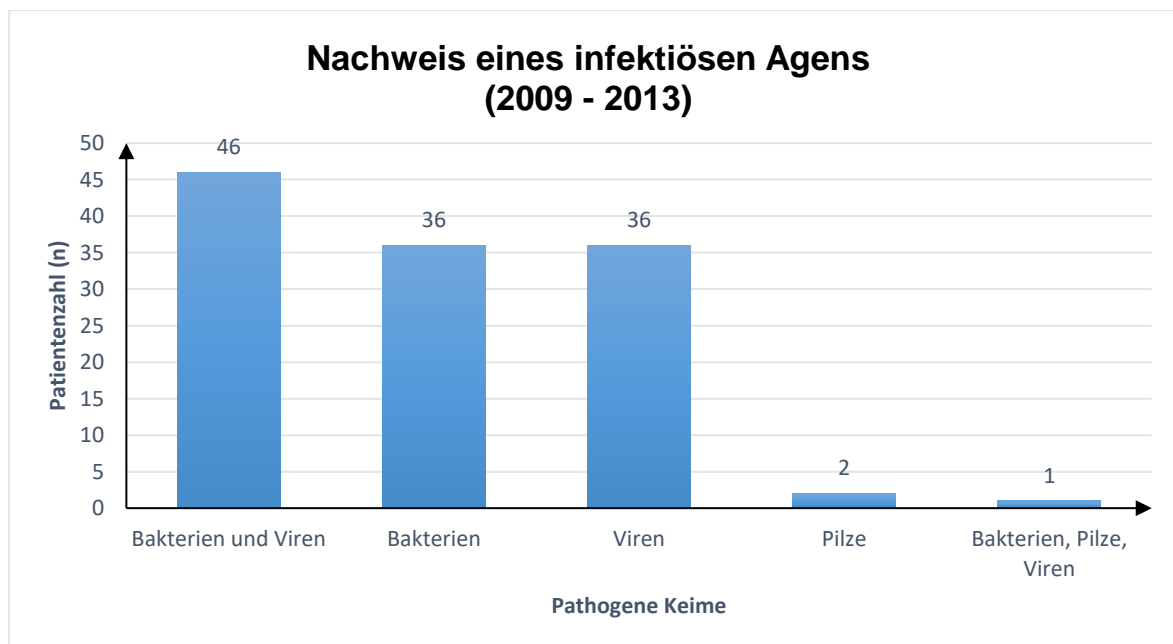
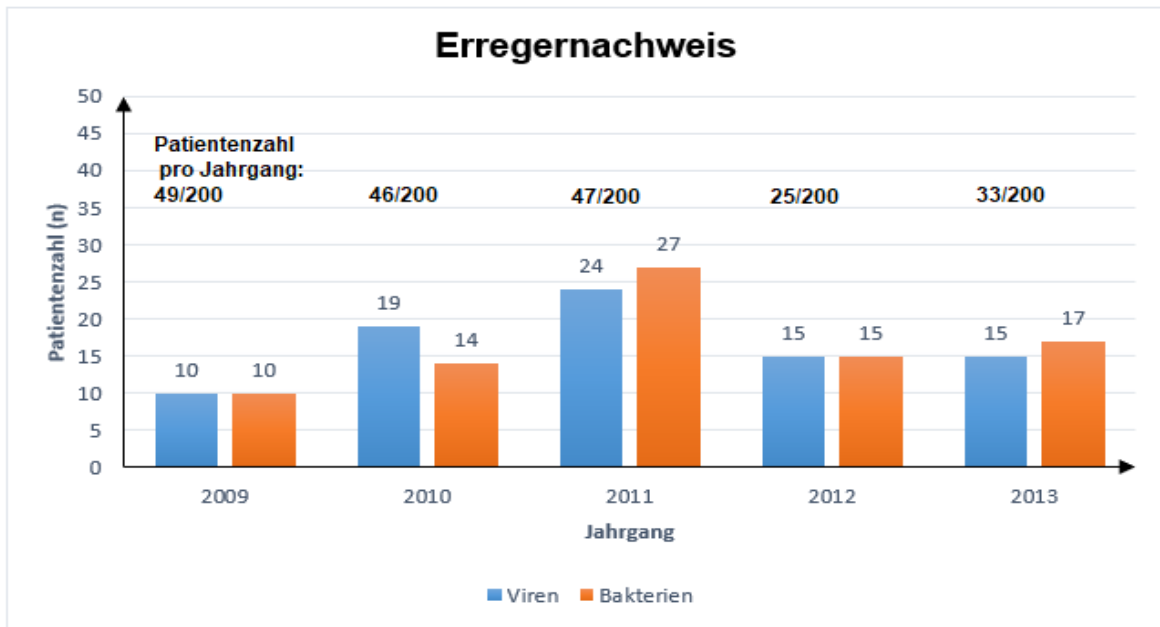


Abbildung 20: Nachweis eines infektiösen Agens (2009 – 2013)

Bakteriell konnten 2009 koagulase-negative Staphylokokken (4), E. coli (2) und Haemophilus influenzae (2) nachgewiesen werden. 2010 bis 2013 waren die drei häufigsten Erreger: Staphylococcus aureus (16), Haemophilus influenzae (15) und E.coli (12).

Abbildung 21 führt die bakteriellen und virologischen Resultate von 2009 bis 2013 auf.



**Abbildung 21:** Gegenüberstellung der Erregernachweise (Viren/Bakterien)

## 5.6 Virologische Diagnostik

Abbildung 22 stellt den Virennachweis der einzelnen Jahre grafisch dar.

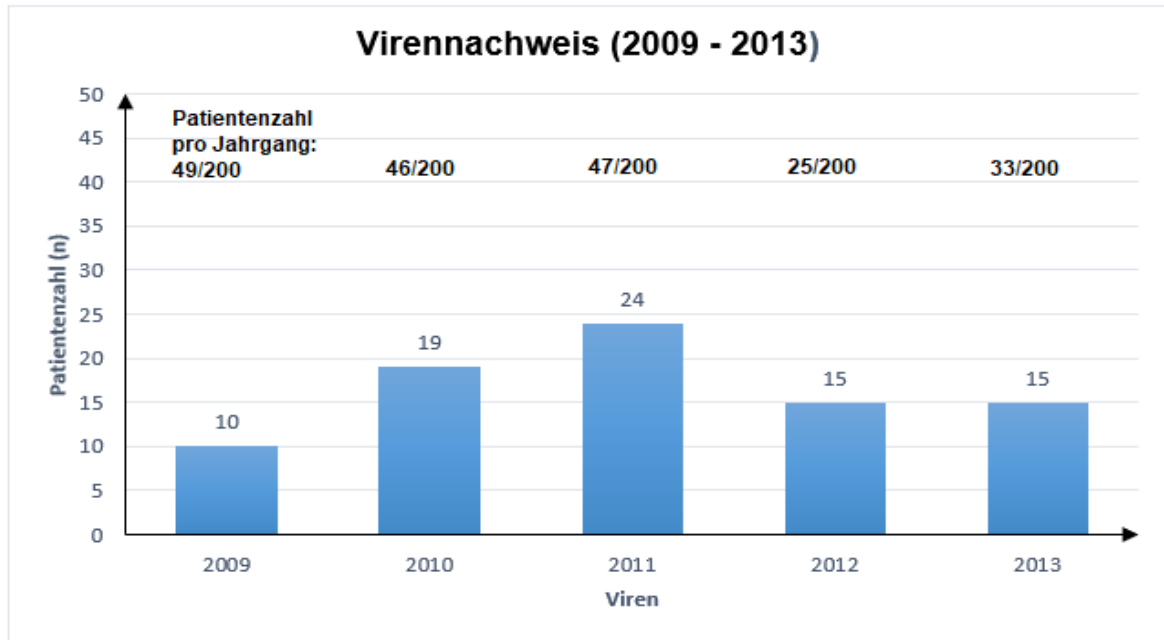


Abbildung 22: Virennachweise der einzelnen Jahre (2009 – 2013)

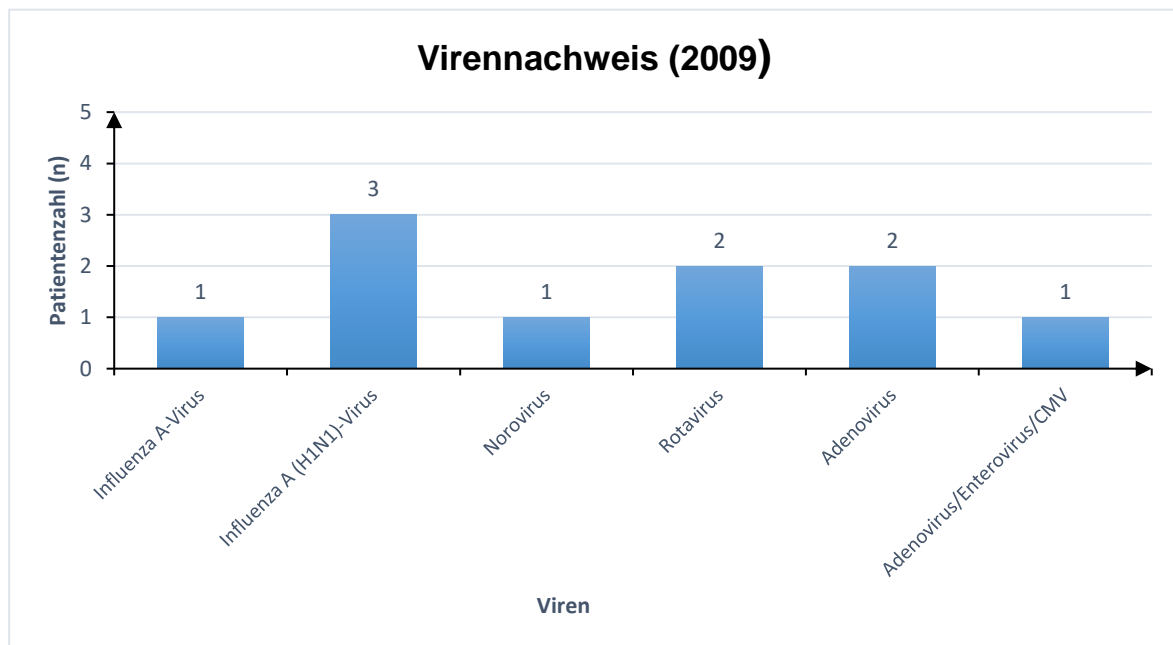


Abbildung 23: Virennachweise (mittels Zellkulturen, Immunassay-Verfahren, Singleplex-PCR) im Jahr 2009

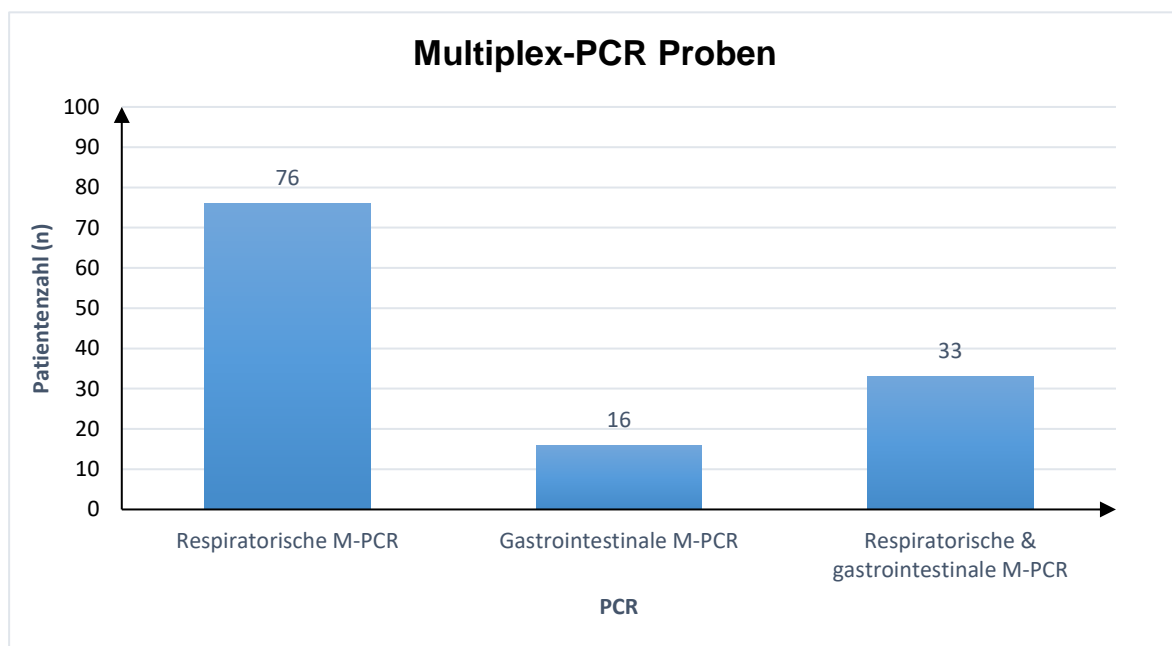
Der Nachweis im Jahr 2009 erfolgte mittels Virusisolierung durch Zellkulturen (Adenovirus: 2/10, Adeno-, Entero-, Zytomegalievirus: 1/10), Singleplex-PCR (Norovirus: 1/10, Influenza A H1N1: 3/10), Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Rotavirus: 2/10) und chromatographischen Immunassay-Verfahren (Influenza A-Schnelltest: 1/10). (Abbildung 23)

Die Tabelle 12 bezieht sich auf den virologischen Nachweis von 2009 bis 2013.

Virennachweis	Anzahl	Signifikanzwert
Nein	117 (59%)	0,019
Ja	83 (41%)	
Gesamt	200	

**Tabelle 12:** Virologische Nachweise (2009 – 2013)

Eine Multiplex-PCR wurde insgesamt bei 125 von 151 (82,7%) Kindern mit Fieberkrämpfen durchgeführt. Eine respiratorische Multiplex-PCR erfolgte bei 76, eine gastrointestinale Multiplex-PCR bei 16 Patienten. Beide Verfahren wurden bei 33 Kindern eingesetzt. Daraus folgt, dass in 109 Fällen (109/151; 72,2%) die respiratorische und bei 49 Patienten (49/151; 32,5%) die gastrointestinale Multiplex-PCR angewandt wurden. In den Jahren 2010 bis 2013 konnten insgesamt 73 positive Virennachweise erfolgen. Davon 67 durch die Multiplex-PCR (67/73; 91,7%). Die übrigen 6 viralen Befunde (6/73) wurden durch ELISA (Antigennachweis im Serum; 2/6), Singleplex-PCR (2/6) und Stuhlkulturen, vorwiegend Enteroviren (2/6), erbracht.



**Abbildung 24:** Anzahl der durchgeführten respiratorischen und gastrointestinalen M-PCR (2010 – 2013)

Bei 45 Patienten konnten positive Befunde durch die respiratorische Multiplex-PCR und 15 durch die gastrointestinale Multiplex-PCR erbracht werden. Bei 7 Kindern zeigten beide Verfahren positive Ergebnisse. Dies entspricht insgesamt 52 positiven Befunden durch die respiratorische und 22 durch die gastrointestinale Multiplex-PCR. (Abbildung 25)

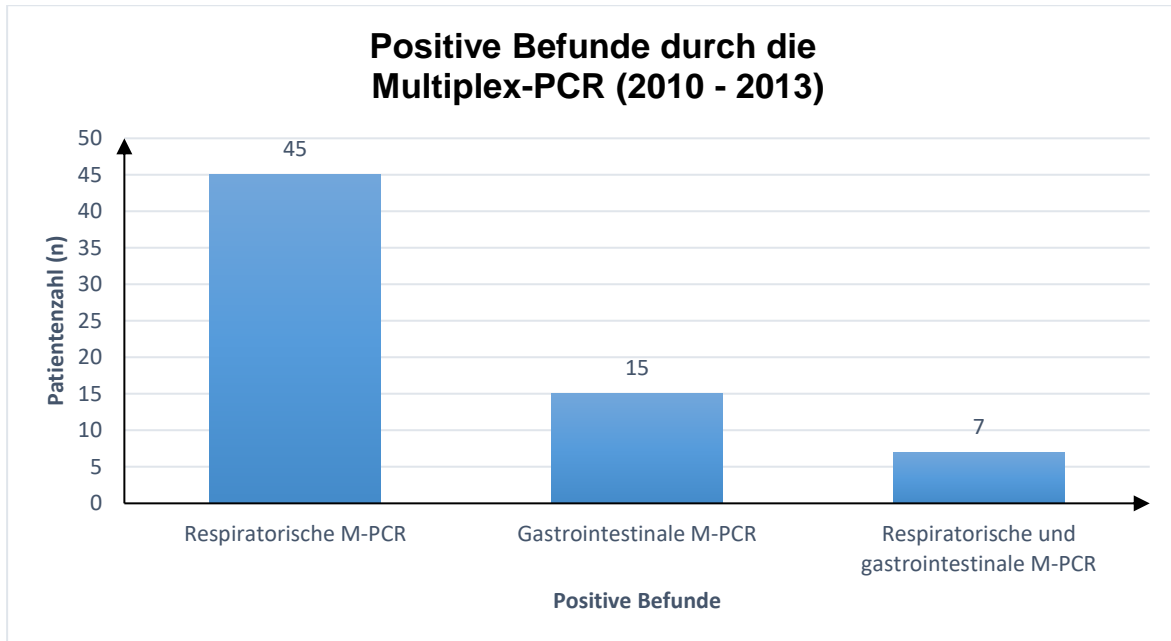


Abbildung 25: Positive Befunde durch die M-PCR (2010 – 2013)

### 5.6.1 Respiratorische Multiplex-PCR

Durch die respiratorische Multiplex-PCR erfolgte in insgesamt 52 Fällen (52/109; 47,7%) ein positiver Virennachweis. (Abbildung 26)

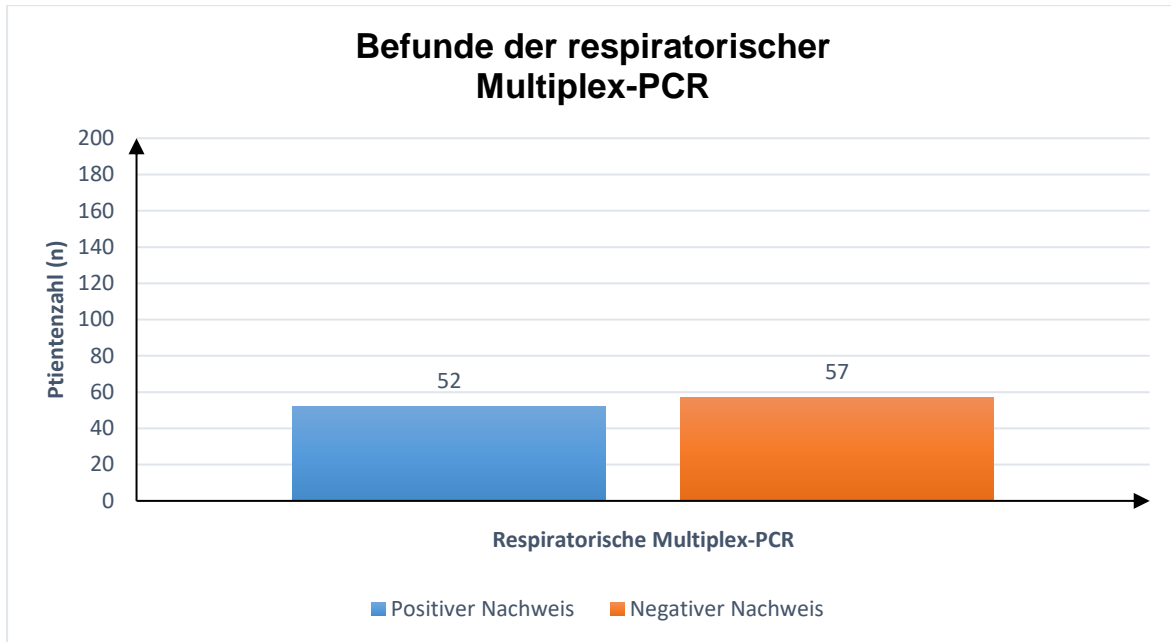


Abbildung 26: Befunde der respiratorischen M-PCR (2010 – 2013)

Hierbei wurden am häufigsten folgende Viren (auch als Ko-Infektionen) erfasst. (Abbildung 27)

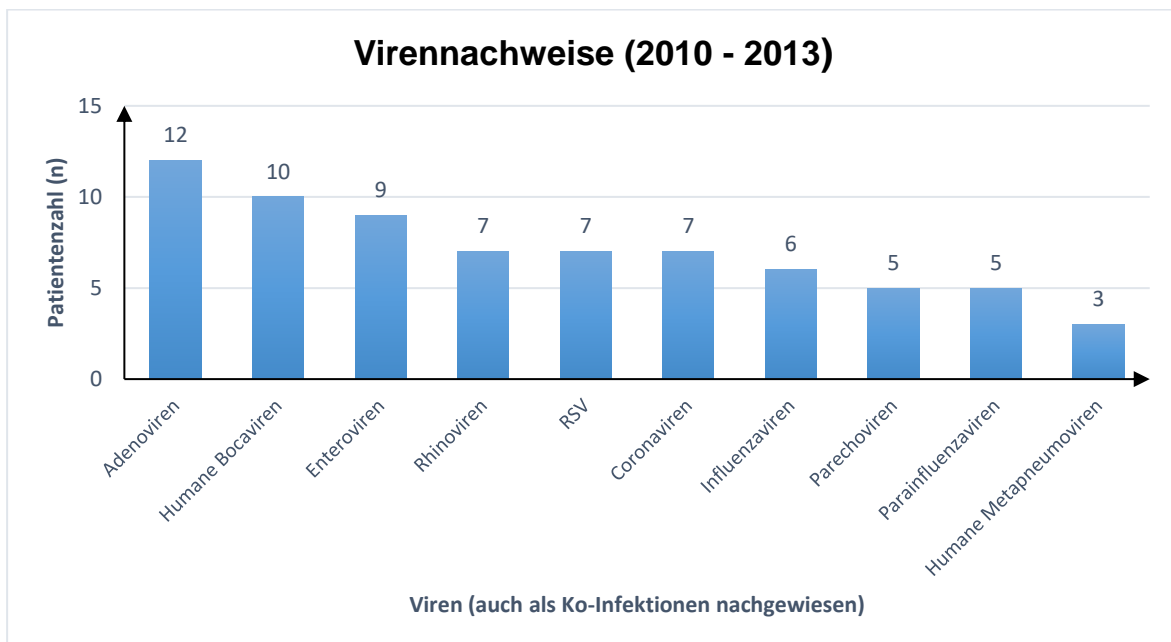
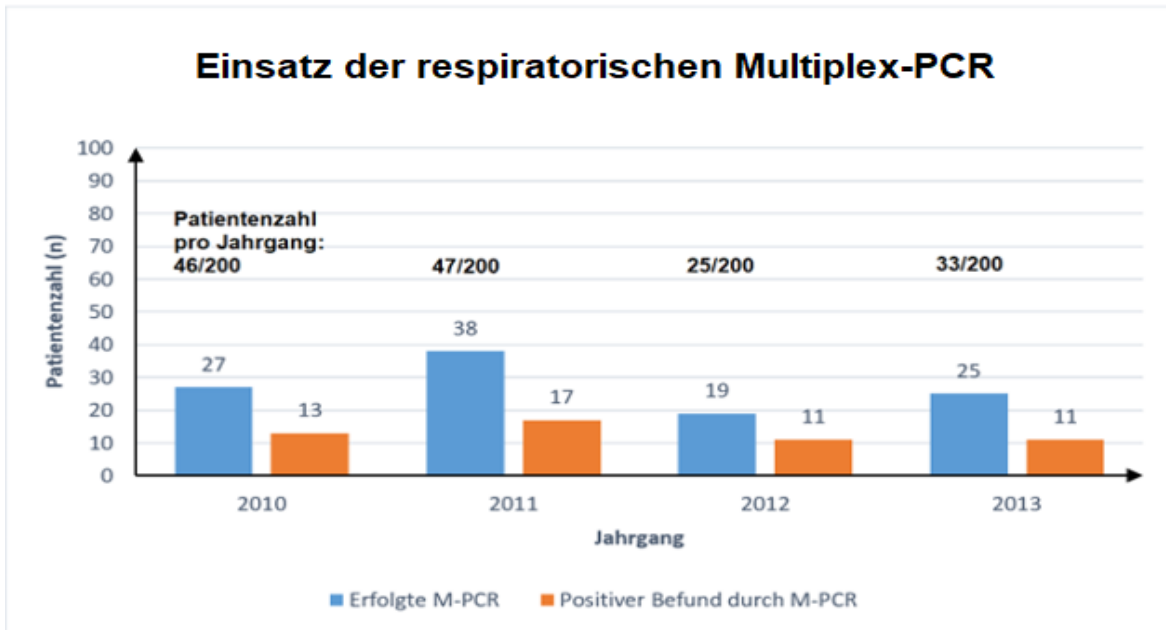


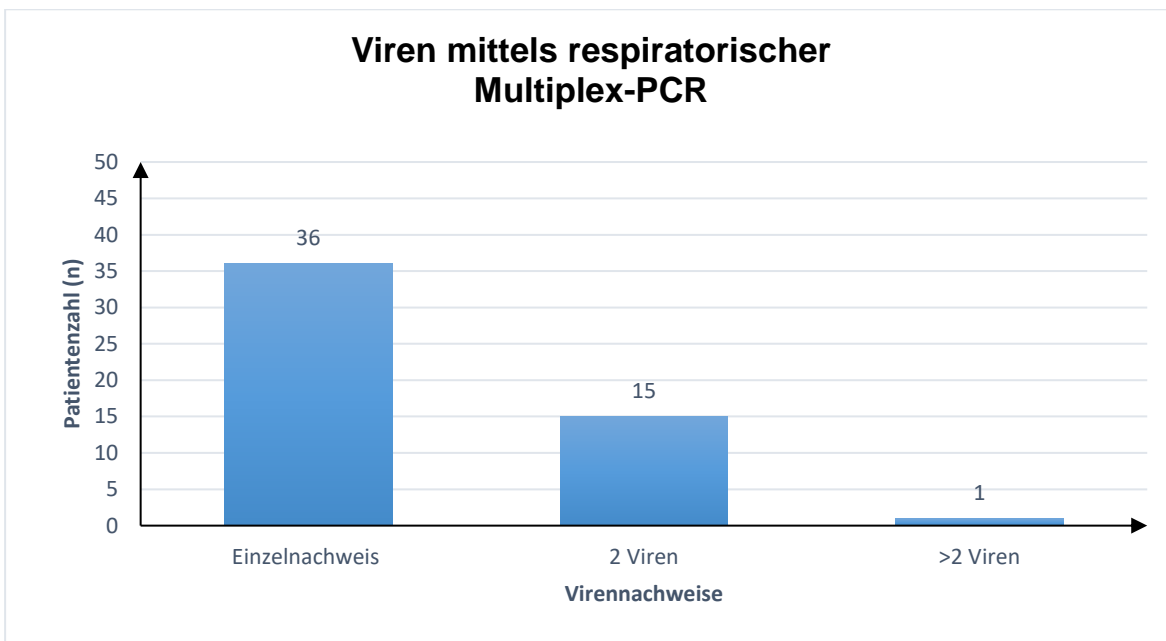
Abbildung 27: Virennachweise durch die respiratorische M-PCR (2010 – 2013)

Abbildung 28 zeigt, wie oft die respiratorische Multiplex-PCR seit 2010 (blau) eingesetzt wurde. Dazu wurden die positiven Ergebnisse gegenübergestellt (orange).



**Abbildung 28:** Einsatz der respiratorischen M-PCR und Befunde (2010 – 2013)

Mittels der respiratorischen Multiplex-PCR konnten 36 Einzelbefunde (36/52; 69,2%) erfolgen. Bei 16 Patienten (16/200; 8%) wurden Infektionen durch  $\geq 2$  Viren festgestellt. (Abbildung 29)



**Abbildung 29:** Anzahl der Viren mittels respiratorischer M-PCR



### 5.6.2 Gastrointestinale Multiplex-PCR

Mithilfe der gastrointestinalen Multiplex-PCR konnte bei insgesamt 22 von 49 Patienten ein Ergebnis aus Stuhlproben erfolgen. Das Erregerspektrum beinhaltete Adeno-, Rota-, Noro-, Astroviren. (Abbildung 30)

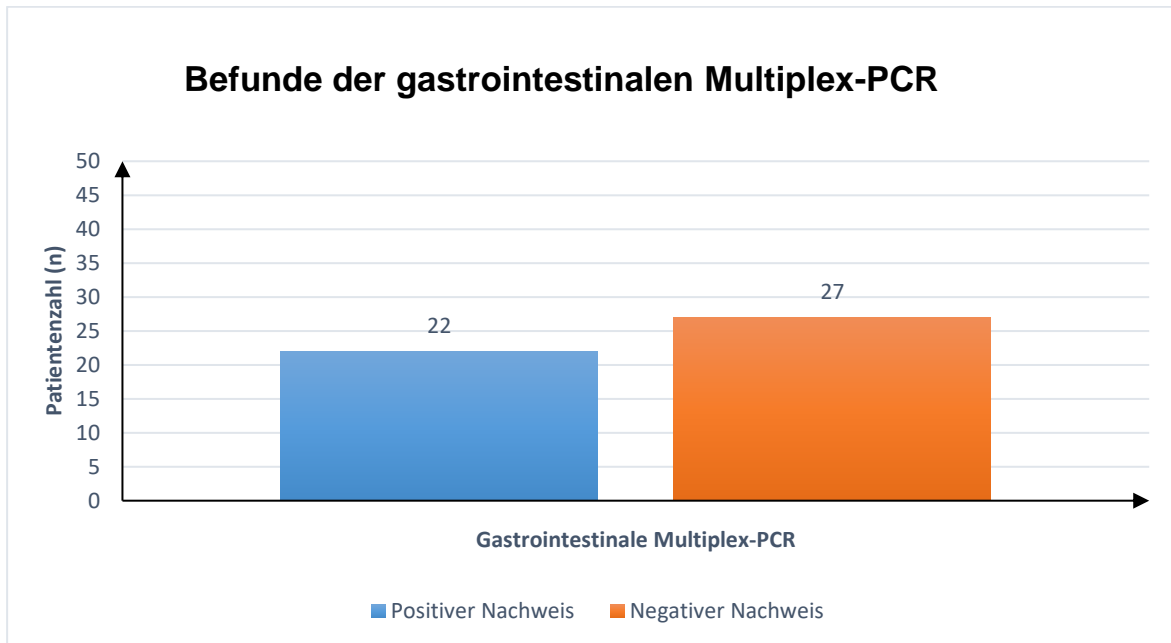


Abbildung 30: Befunde der gastrointestinalen M-PCR (2010 – 2013)

Abbildung 31 zeigt einen Vergleich der durchgeführten gastrointestinalen Multiplex-PCR (blau) und den positiven Nachweisen von 2010 bis 2013 (orange).

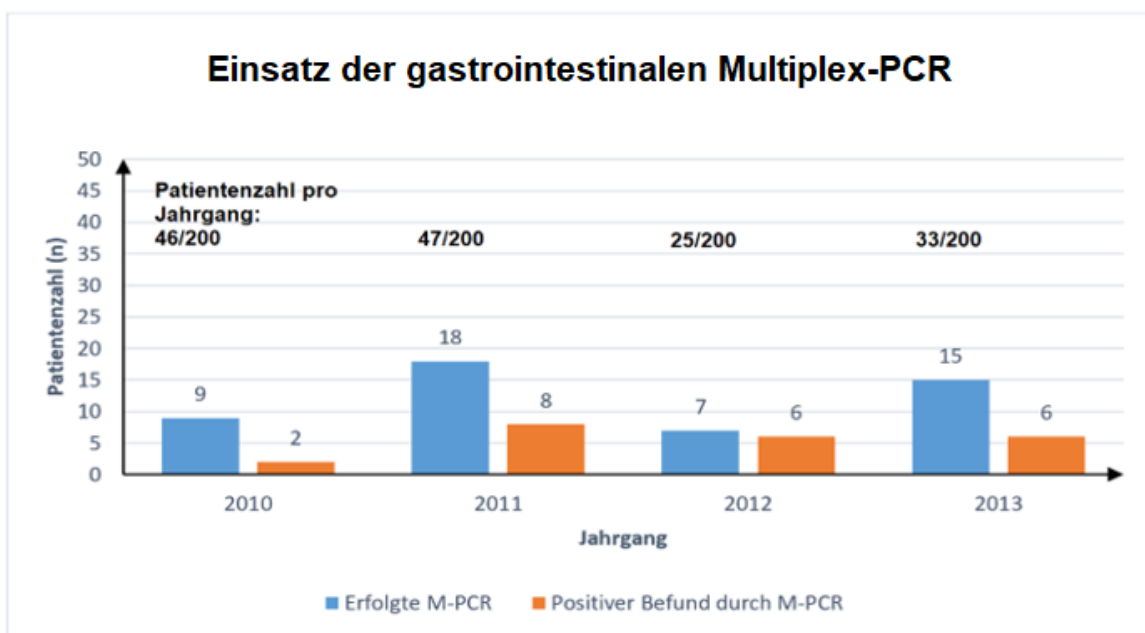


Abbildung 31: Einsatz der gastrointestinalen M-PCR und Befunde (2010 – 2013)

2010 wurden Stuhlproben von drei Patienten mittels ELISA untersucht, dabei resultierte kein Erregernachweis. Vereinzelt wurden Stuhlkulturen für Enteroviren (4) angesetzt (positiver Befund in zwei Fällen). Alle weiteren Stuhlproben wurden der gastrointestinalen PCR unterzogen. Am häufigsten konnten folgende Viren detektiert werden. (Abbildung 32)

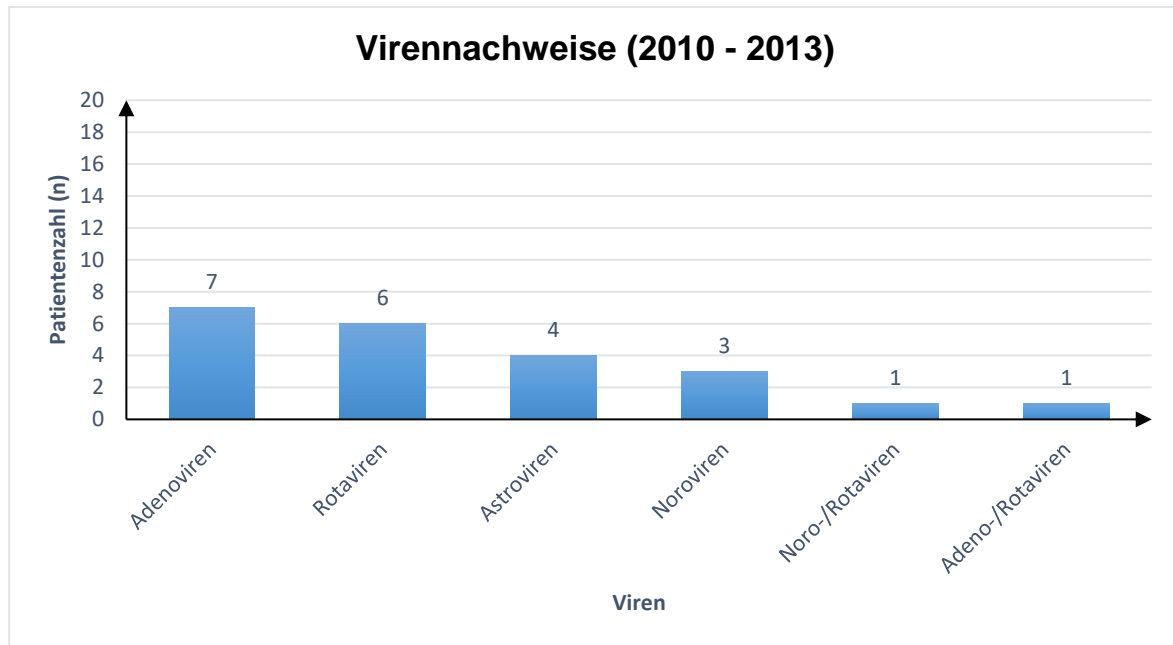


Abbildung 32: Virennachweise durch die gastrointestinale M-PCR (2010 – 2013)

Ein Einzelnachweis durch die gastrointestinale Multiplex-PCR war bei 20 Patienten möglich. In zwei Fällen konnten jeweils zwei Viren als ursächliche Erreger identifiziert werden. (Abbildung 33)

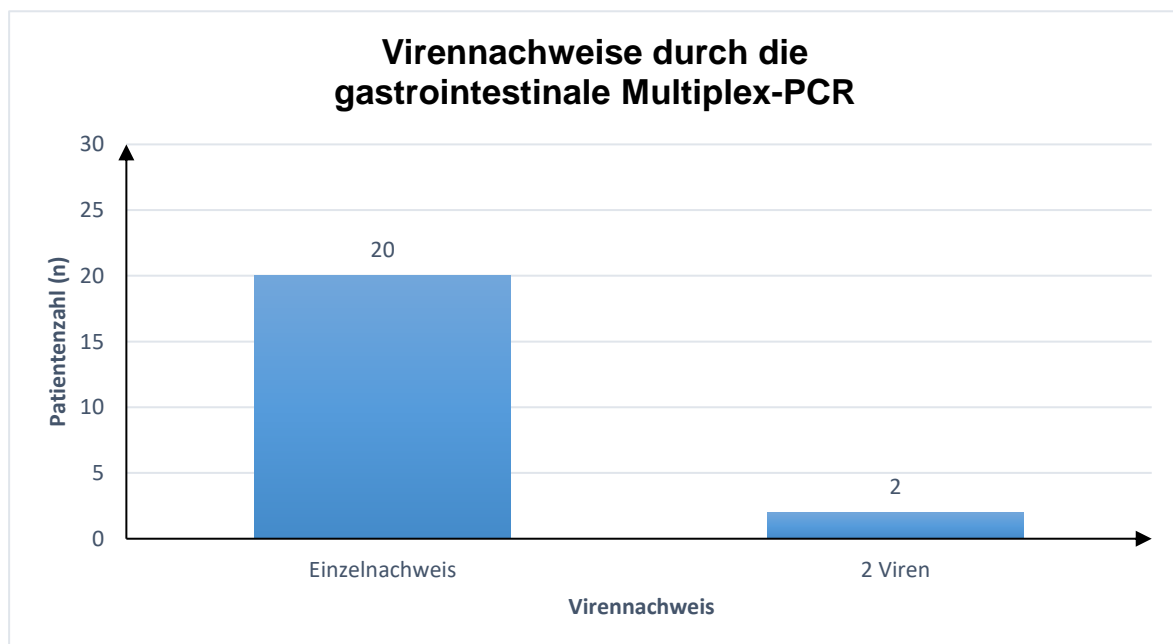


Abbildung 33: Anzahl der Viren durch die gastrointestinale M-PCR

## 5.7 Laborparameter

	Patienten	Minimum	1. Quartil	Median	3. Quartil	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
<b>Leukozyten/nl</b>	198	3,5	7,7	11,5	15,4	33,6	12	5,5
<b>CrP (mg/l)</b>	199	0,25	2	7,5	15,7	140	14,1	21,8
<b>PCT (ng/ml)</b>	21	0,1	0,2	0,4	2,2	49	3,5	10,5

**Tabelle 13:** Leukozyten-, Procalcitonin- (PCT) und CrP-Werte bei Aufnahme der Patienten

Laborchemisch ergaben sich keine klinisch relevanten Elektrolyt- und Glukoseentgleisungen. Es wurden nicht einheitlich bei jedem Patienten alle Parameter bestimmt. (siehe Tabelle 14) Es ließen sich vereinzelt Werte unter- und oberhalb der Referenzbereiche nachweisen; Kontrolluntersuchungen ergaben jeweils Normwerte. Einmalig wurde ein erhöhter Glukosewert von 495 mg/dl nach durchlebtem Fieberkrampf festgestellt. Im Verlauf normalisierte sich der Blutzuckerspiegel und es ergaben sich keine Anzeichen auf einen Diabetes mellitus.

	Patienten	Minimum	1. Quartil	Median	3. Quartil	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
<b>Glucose (mg/dl)</b>	169	63	93,5	104	120,5	495	111,9	38,6
<b>Natrium mmol/l</b>	193	127	135	137	139	152	136,9	2,92
<b>Kalium (mmol/l)</b>	194	3,6	4,2	4,5	4,8	7,5	4,5	0,49
<b>Chlorid (mmol/l)</b>	193	71	100	102	104	114	102	3,88
<b>Kalzium (mmol/l)</b>	193	1,6	2,3	2,4	2,4	10,1	2,4	0,60

**Tabelle 14:** Glukose- und Elektrolythaushalt bei Aufnahme der Patienten

## 5.8 Diagnostische Maßnahmen

### 5.8.1 Lumbalpunktion (LP)

Tabelle 14 führt die Indikationen für die Durchführung einer Lumbalpunktion (LP) in den Jahren 2009 bis 2013 gemäß der AMWF S2-/AAP-Leitlinien auf. Dabei wurden die Kriterien einzeln betrachtet, sodass bei einem Patienten mehrere Indikationen infrage kamen. (Tabelle 15)

Parameter	Anzahl an durchgeführten Lumbalpunktionen	Ergebnis mit Virennachweis	Ergebnisse mit positiver Multiplex-PCR bei Lumbalpunktion
<b>Lumbalpunktion durchgeführt</b>	21/200 (10,5%)	9/21 (42,8%) <b>M-PCR:</b> 8/21 (38,1%)	8/21 (38,1%)
<b>Alter bis max. 12. Lebensmonat</b>	5/27 (18,5%)	13/27 (48,1%) <b>M-PCR:</b> 12/27 (44,4%)	3/5 (60%)
<b>Komplizierter Fieberkrampf</b>	18/57 (31,6%)	24/57 (42,1%) <b>M-PCR:</b> 18/57 (31,6%)	7/18 (38,9%)
<b>Antibiotische Vorbehandlung</b>	3/27 (11,1%)	13/27 (48,1%) <b>M-PCR:</b> 10/27 (37%)	0/3 (0%)
<b>Kein Infektfokus</b>	8/26 (30,8%)	9/26 (34,6%) <b>M-PCR:</b> 9/26 (34,6%)	2/8 (25%)
<b>Status &gt;=30min</b>	2/4 (50%)	2/4 (50%) <b>M-PCR:</b> 2/4 (50%)	2/2 (100%)

Tabelle 15: Indikationen für eine Lumbalpunktion

## 5.8.2 Elektroenzephalographie (EEG)

Eine Elektroenzephalographie (EEG) wurde bei 80% der Patienten veranlasst.

Parameter	Häufigkeit	Prozentsatz
EEG durchgeführt	160/200	80%
EEG bei 1. Fieberkrampf	122/200	61%
EEG bei Rezidiv	33/200 Gesamtanzahl an Rezidiven: 44/200	16,5%
EEG (keine Angabe zur Häufigkeit des Fieberkrampfes)	5/200	2,5%

Tabelle 16: Elektroenzephalographien (2009 – 2013)

Auffälligkeiten im EEG	Häufigkeit	Prozentsatz
Ja	21/160	13,1%
➤ Lumbalpunktion	7/21 (mit unauffälligem Ergebnis)	33,3

Tabelle 17: Auffälligkeiten im EEG und Anzahl der durchgeführten Lumbalpunktionen

Veränderungen im EEG zeigten sich bei 21 Patienten. Zweimalig bestand der Verdacht auf eine Rolando Epilepsie, die weiterer Kontrollen bedurften. Bei neun Patienten wurden Verlaufskontrollen im infektfreien Intervall veranlasst. In drei Fällen wurde im Verlauf eine Bildgebung (cMRT) empfohlen. Bei einem Patienten entschied man sich für eine antikonvulsive Dauertherapie bei auffälligem EEG-Befund (V.a. Gyrierungsstörung). Eine Lumbalpunktion wurde bei sieben Kindern mit auffälligem EEG durchgeführt und erbrachte keinen Anhalt auf eine infektiöse Erkrankung des ZNS.

## 5.9 Therapie durch die Eltern

Tabelle 18 zeigt, inwiefern konservative Maßnahmen und Antipyretika durch die Eltern bereits bei erhöhter Körpertemperatur verwendet wurden.

Maßnahmen der Eltern	Häufigkeiten	Prozentsatz
Gabe von Antipyretika	81/200	40,5%
Abkühlung (z.B. in der Badewanne)	13/200	6,5%
Wadenwickel	4/200	2%

**Tabelle 18:** Maßnahme der Eltern bei einem Fieberkrampf (2009 – 2013)

Bei 35 Patienten (35/200; 17,5%), die bereits einen Fieberkrampf erlitten hatten, wurde durch die Eltern Diazepam rektal verabreicht. Genaue Zeitangaben bis zur Gabe der Medikation waren aufgrund unvollständiger Dokumentationen nicht eindeutig zu erkennen. (Tabelle 19)

Verabreichung von Diazepam	Häufigkeit	Prozentsatz
Keine Angabe	89/200	44,5%
Nein	76/200	38%
Ja	35/200	17,5%

**Tabelle 19:** Diazepamgabe durch die Eltern bei einem Fieberkrampf

## 5.10 Antibiotische Therapie

### 5.10.1 Antibiotische Vorbehandlung

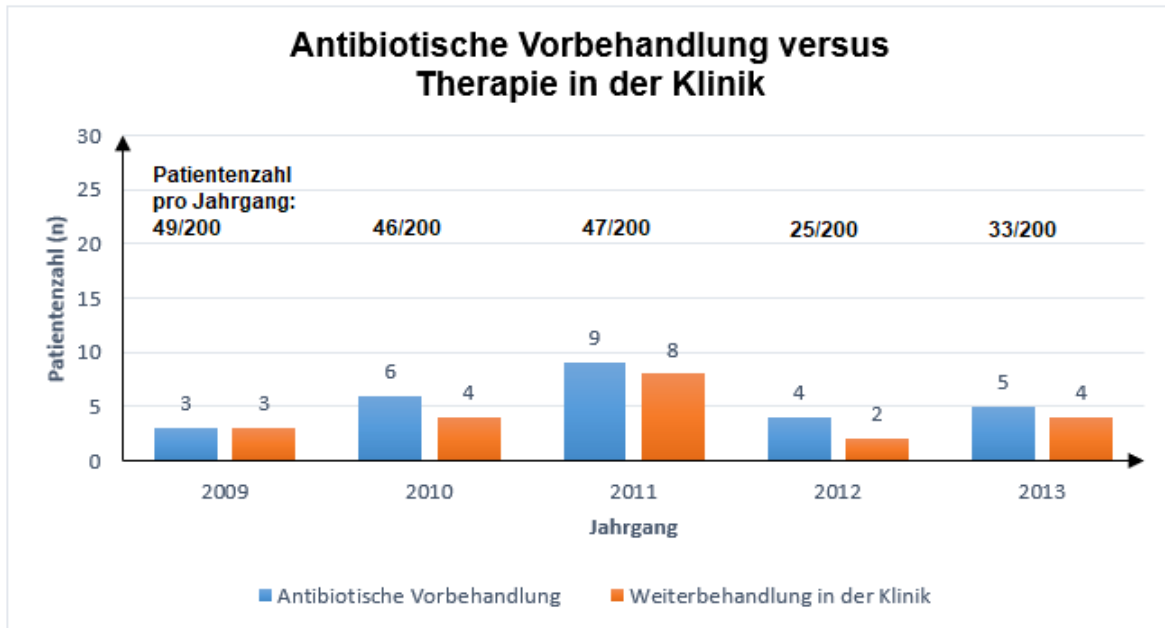
Bei 27 der 200 Patienten (13,5%) erfolgte eine ambulante antibiotische Behandlung. (Tabelle 20)

Antibiotische Vorbehandlung	Patientenzahl	Prozentanteil
Ambulante antibiotische Behandlung (2009-2013)	27/200	13,5%
Infektfokus	23/27	85,2%
Durchführung der Multiplex-PCR (2010-2013)	21/27	77,7%
Virennachweis mittels Multiplex-PCR (2010-2013)	10/27	37%
Bakterielle Nachweise	12/27	44,4%
	Davon in der Klinik antibiotisch weiter behandelt: 11/27	40,7%
	Virale Ko-Infektionen: 5/27	18,5%
Fortführung der antibiotischen Therapie in der Klinik	21/27	77,7%

**Tabelle 20:** Vergleich der Anzahl von ambulant antibiotisch behandelten Patienten mit Infektfokus und Virennachweis (2009 – 2013)

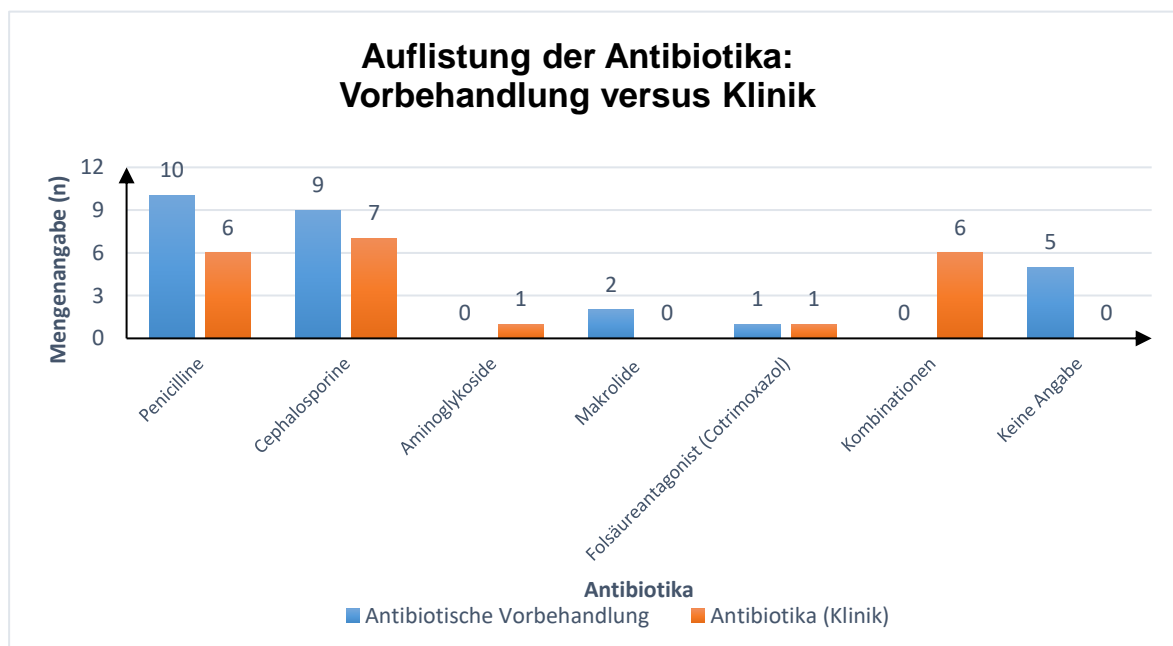
Von den 27 Kindern mit antibiotischer Vorbehandlung konnte bei 23 ein Infektfokus (23/27; 85%) eruiert werden. 21 Patienten (21/27; 77,7%) erhielten während des stationären Aufenthaltes eine antibiotische Behandlung. In 37% der Fälle (10/27) konnte mithilfe der Multiplex-PCR ein Virennachweis erfolgen. Davon wurde bei drei Kindern mit Vorbehandlung und Virennachweis durch die Multiplex-PCR auf eine Antibiotikatherapie während des stationären Aufenthaltes verzichtet.

Abbildung 34 zeigt, wie viele der Patienten, die ambulant antibiotisch therapiert wurden (blau), während des Klinikaufenthaltes Antibiotika erhielten (orange).



**Abbildung 34:** Vergleich der antibiotischen Vorbehandlung und der Weiterbehandlung der Patienten (2009 – 2013)

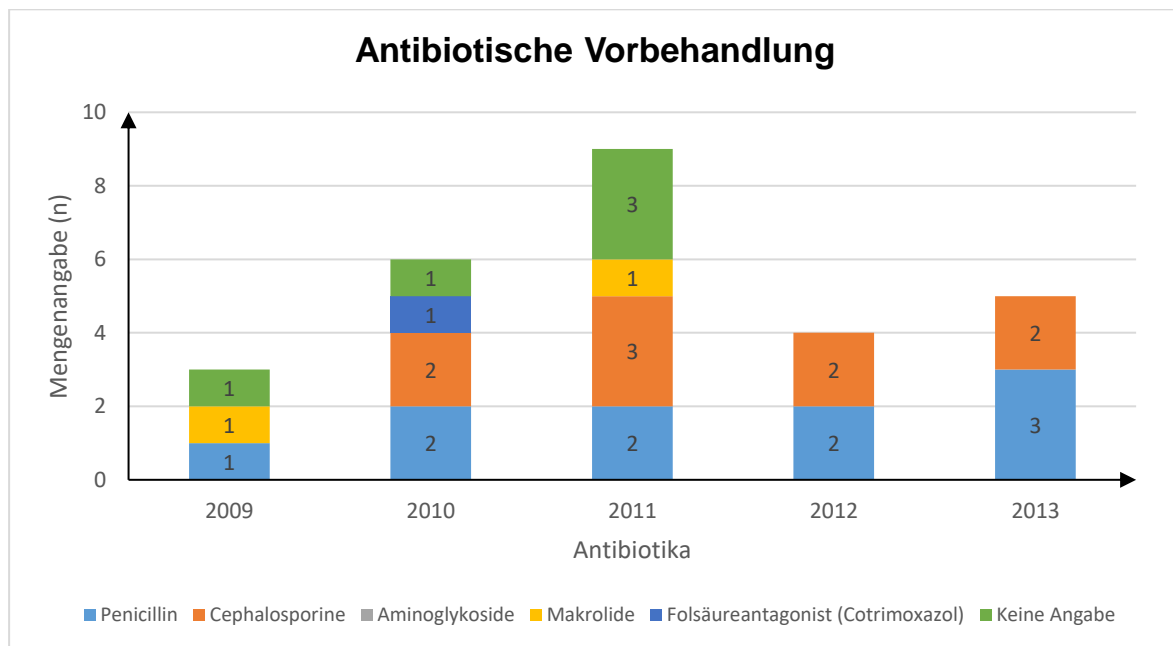
In dem Diagramm 35 konnte eine Auflistung der vorbehandelten Patienten und ihrer Medikamente vor und nach der Klinikaufnahme erfolgen. Dabei zeigte sich insgesamt ein erhöhter Gebrauch von Penicillinen sowie Cephalosporinen. Bei Kombinationen wurden meist Cephalosporine mit Makroliden oder Aminoglykosiden (Gentamicin) verabreicht.



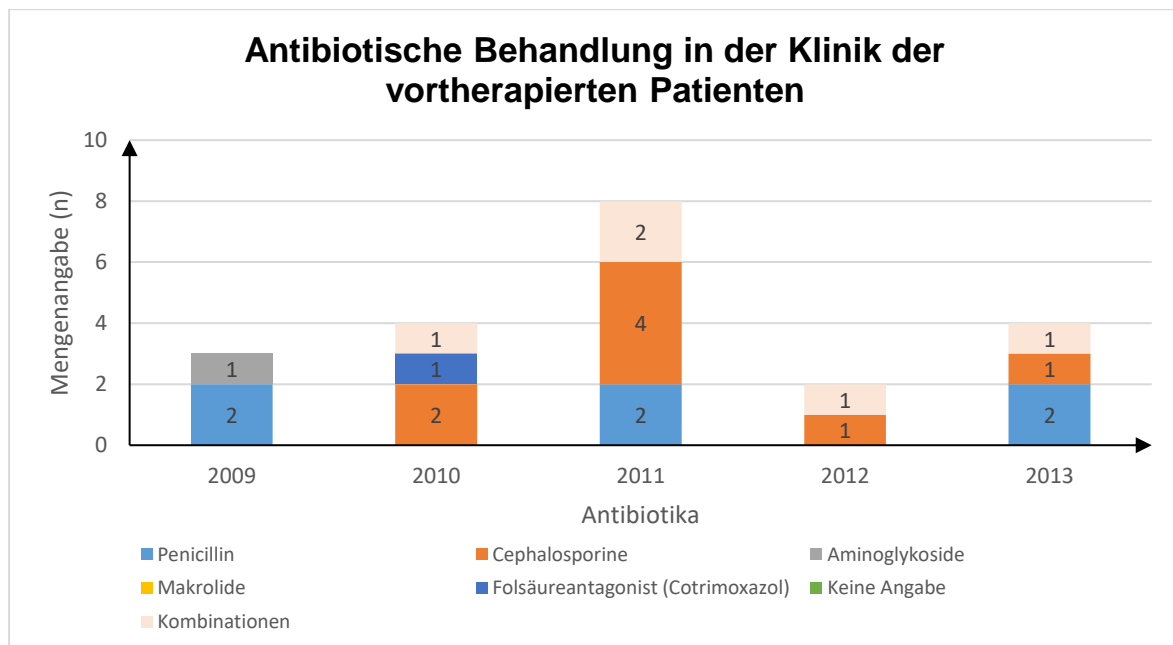
**Abbildung 35:** Gegenüberstellung der ambulant und in der Klinik verordneten Antibiotika



In den Abbildungen 36 und 37 wurden die verordneten Antibiotika aufgeführt. Dabei wurde zwischen den ambulant verwendeten Medikamenten (Abbildung 36) und jenen im Rahmen des stationären Aufenthaltes (Abbildung 37) unterschieden.



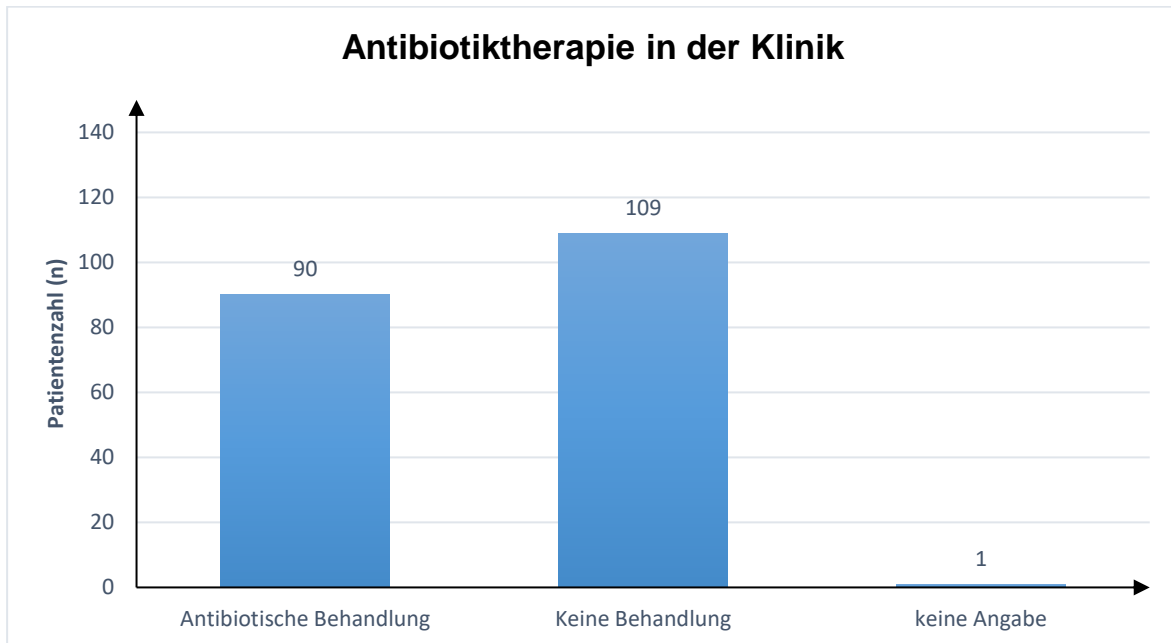
**Abbildung 36:** Auflistung der Antibiotika der vorbehandelten Patienten (2009 – 2013)



**Abbildung 37:** Auflistung der Antibiotika bei vortherapierten Patienten während Klinikaufenthalt (2009 – 2013)

### 5.10.2 Antibiotikatherapie während Klinikaufenthalt

In dem Zeitraum von 2009 bis 2013 wurden 90 (90/200; 45%) der Kinder mit Fieberkrämpfen am Universitätsklinikum des Saarlandes, Klinik für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie, Sektion Neuropädiatrie, antibiotisch therapiert. (Abbildung 38)



**Abbildung 38:** Anzahl der antibiotisch behandelten Patienten während Klinikaufenthalt (2009 – 2013)

Tabelle 21 zeigt die statistische Signifikanz der antibiotisch behandelten Kinder am Universitätsklinikum des Saarlandes. Ein p-Wert von 0,05 gilt als signifikant. Im Zeitrahmen von 2009 bis 2013 ergab sich ein p-Wert Wert von 0,179. Es wurde im Vergleich dazu auch ein Wert für den Zeitraum 2010 bis 2013 (Multiplex-PCR-Zeitperiode) aufgestellt, der 0,745 betrug.

Antibiotikagabe während des Klinikaufenthaltes	Patientenzahl	Signifikanzwert
<b>2009 bis 2013</b>		
Nein	110 (55%)	0,179
Ja	90 (45%)	
Gesamt	200	
<b>2010 bis 2013</b>		
Nein	78 (52%)	0,745
Ja	73 (48%)	
Gesamt	151	

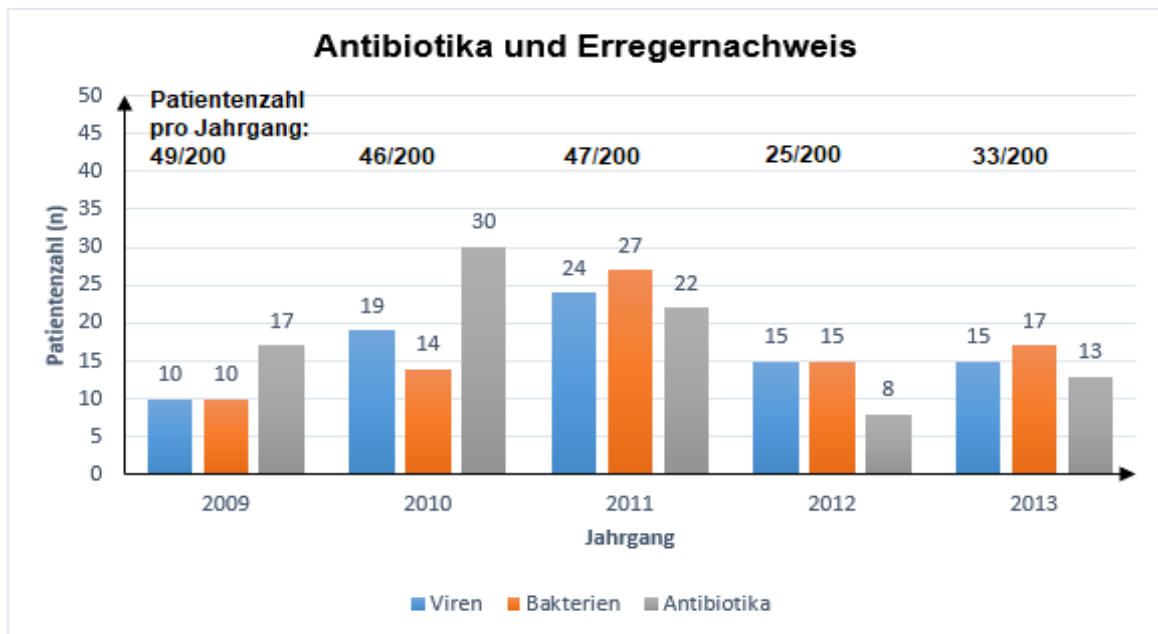
**Tabelle 21:** Antibiotikaverordnung während des Klinikaufenthaltes (2009 – 2013)

Die Tabelle 22 zeigt die Signifikanzwerte der einzelnen Jahrgänge auf.

Erfolgte eine Antibiotika-therapie?	2009 (49 Patienten)	2010 (46 Patienten)	2011 (47 Patienten)	2012 (25 Patienten)	2013 (33 Patienten)
Nein	32 (65%)	16 (35%)	25 (53%)	17 (68%)	20 (61%)
Ja	17 (35%)	30 (65%)	22 (47%)	8 (32%)	13 (39%)
Signifikanzwert	0,04	0,054	0,771	0,108	0,296

**Tabelle 22:** Vergleich der antibiotischen Therapie von 2009 bis 2013

Zur Veranschaulichung mit dem Umgang der Antibiotika (grau) in der Klinik erfolgte ein Vergleich zwischen Verordnung der Medikamente und dem Nachweis eines infektiösen Agens. Dabei wurden Viren- (blau) und Bakterienbefunde (orange) einzeln aufgeführt. (Abbildung 39)



**Abbildung 39:** Vergleich der antibiotischen Behandlung mit pathogenem Erregernachweis (viral/bakteriell)

Bei 84 (84/90; 93,3%) der Patienten, die während des stationären Klinikaufenthaltes antibiotisch behandelt wurden, konnte ein Fieberfokus festgestellt werden. Am häufigsten zeigte sich ein akuter Atemwegsinfekt (bestehend aus Rhinitis, Tonsillitis, Pneumonie/Bronchitis: 49/90; 54,4%). Bei den Ko-Infektionen handelte es sich meistens um einen akuten Atemwegsinfekt mit einer Gastroenteritis oder einem Harnwegsinfekt. (Abbildung 40)

Sechs Patienten mit der Fieberursache Tonsillitis zeigten folgende mikrobiologische Befunde aus nasopharyngealen Abstrichen: Haemophilus influenzae (2/6), Staphylococcus aureus (2/6), Streptococcus mitis (1/6) und Candida guilliermondii/parapsilosis (1/6). Bei zwei der Kinder, die an einer Pneumonie erkrankten, konnten mikrobiologisch Haemophilus influenzae/Staphylococcus aureus (1/2) und Streptococcus pneumoniae (1/2) aus den Rachenabstrichen nachgewiesen werden.

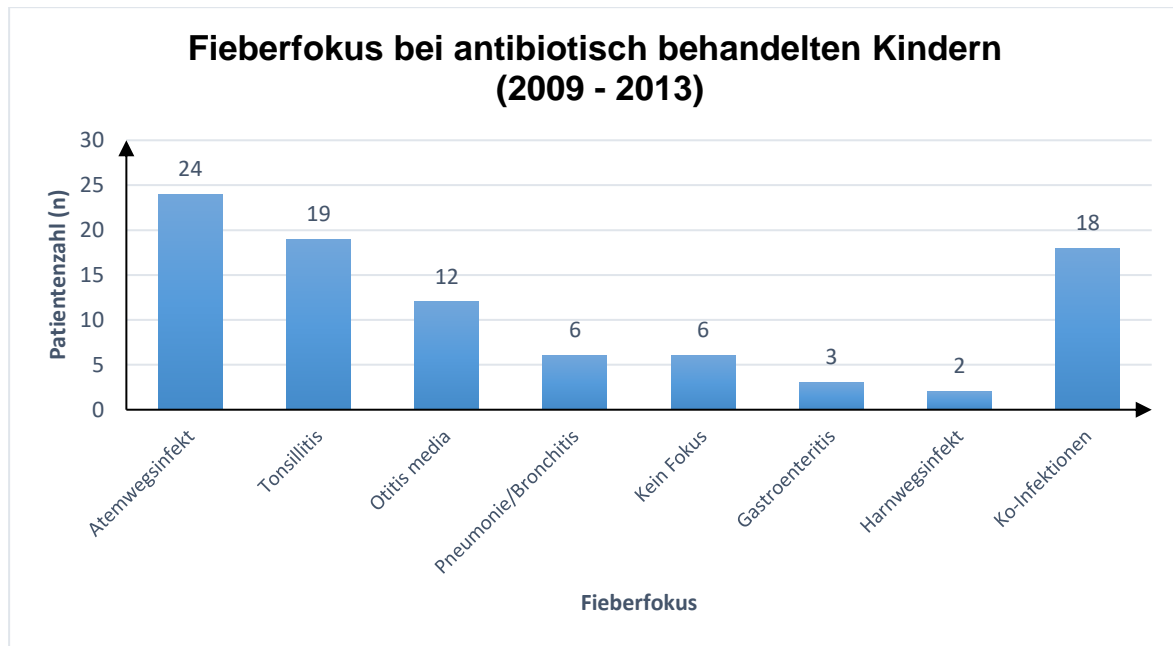


Abbildung 40: Fieberfokus bei antibiotisch behandelten Patienten (2009 – 2013)

Diagramme 41 und 42 zeigen einen Überblick über die Nachweise durch die Multiplex-PCR und den Einsatz der Antibiotika. 2009 erfolgte keine Multiplex-PCR.

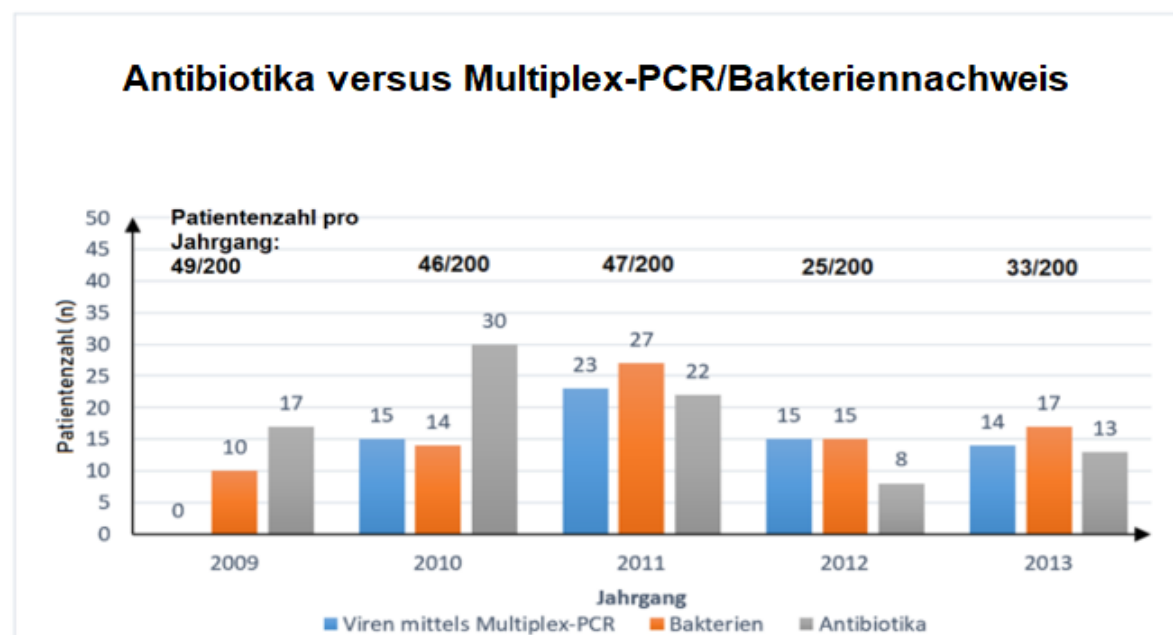


Abbildung 41: Vergleich der antibiotischen Behandlung mit der Multiplex-PCR und den bakteriellen Nachweisen

Abbildung 42 zeigt den Antibiotikagebrauch in Bezug auf das Ergebnis der Multiplex-PCR. 2010 (12) wurden doppelt so viele Antibiotika verordnet als 2012 (6). Die Kinder, bei denen keine Multiplex-PCR erfolgte, wurden 2010 antibiotisch therapiert, während dies im Jahr 2013 bei keinem Patienten der Fall war. 2013 wurde die Multiplex-PCR am häufigsten durchgeführt (30/33; 90,9%).

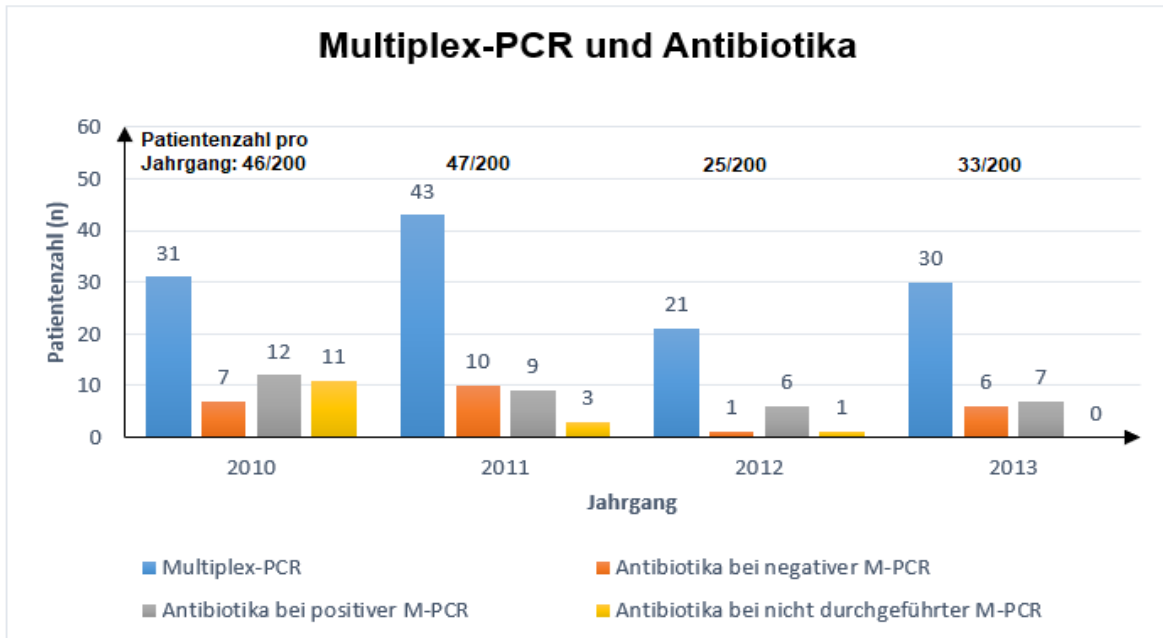


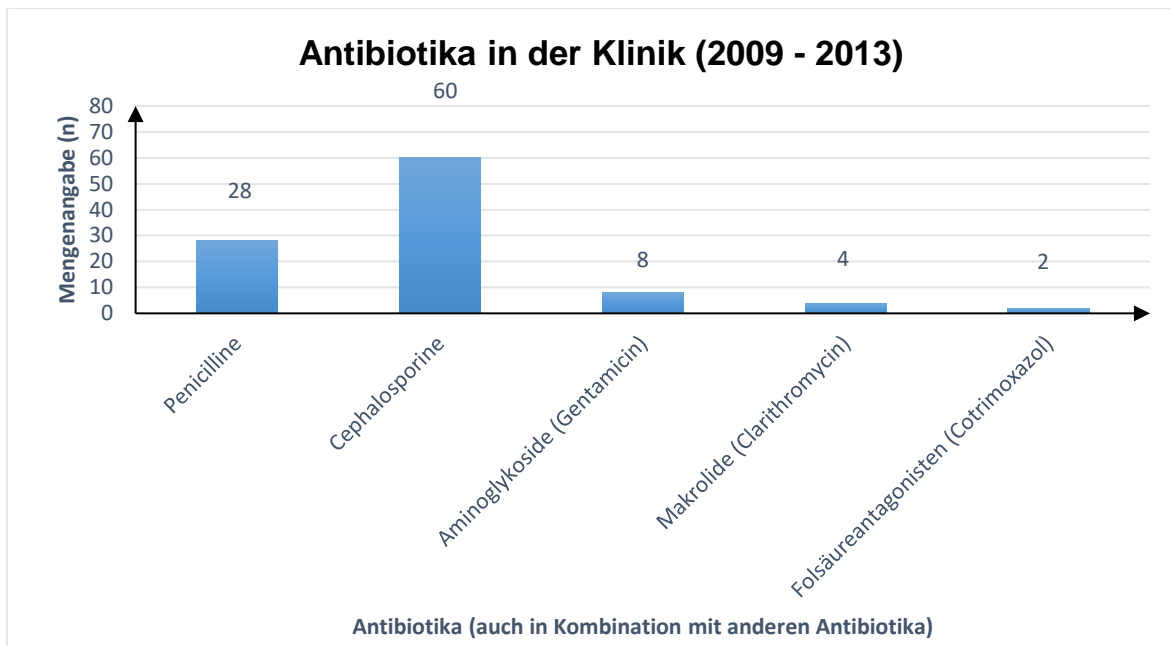
Abbildung 42: Vergleich der Multiplex-PCR und ihrer Ergebnisse in Bezug auf die antibiotische Behandlung

Es erfolgte eine Auflistung über die am häufigsten verwendeten Antibiotika am Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg (Saar), in dem Zeitraum von 2009 bis 2013 bei Kindern mit Fieberkrämpfen.

Ein Überblick über die verschiedenen in der Klinik verabreichten Antibiotika erbrachte, dass bevorzugt Cephalosporine der 2. oder 3. Generation angewandt wurden.

(Abbildung 43)

Cefuroxim (47) wurde meist einzeln verabreicht, während Cefotaxim (10) vor allem mit Gentamicin verordnet wurde. Weitere verwendete Medikamente waren Cefaclor (2) und Cefixim (1). Das nächsthäufigste Antibiotikum war die Gruppe der Penicilline. 11 Patienten erhielten Penicillin, bei den übrigen wurden Amoxicillin (8), Ampicillin (2) oder das Kombinationspräparat Unacid (7) eingesetzt. (Abbildung 44)

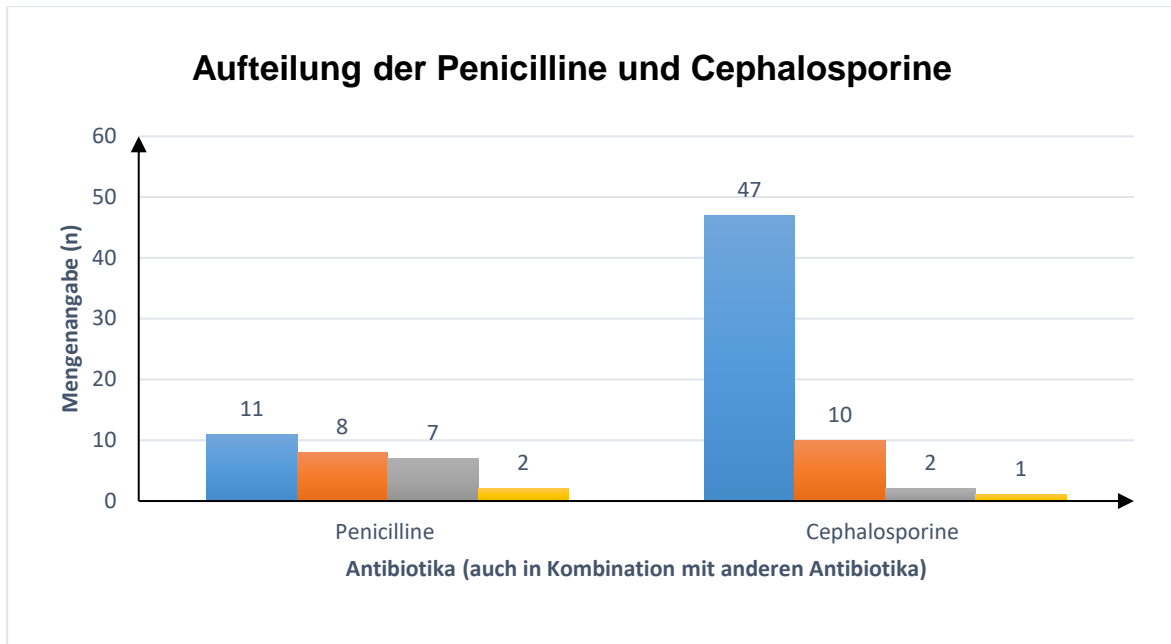


**Abbildung 43:** Überblick über die am häufigsten verwendeten Antibiotika in der Klinik (2009 – 2013)

Abbildung 44 zeigt den Einsatz von Penicillinen und Cephalosporinen. Bei 52,2% (47/90) der Kinder, die in der Klinik antibiotisch behandelt wurden, wurde vorwiegend Cefuroxim intravenös verwendet.

Infektfoki bei Patienten, die mit Cephalosporinen therapiert wurden, waren: obere Atemwegsinfekte wie Pharyngitis/Sinusitis/Rhinitis (15/60; 25%), Tonsillitis (13/60; 21,7%), Otitis media (5/60; 8,3%), Pneumonie/Bronchitis (4/60; 6,7%), Gastroenteritis (2/60; 3,3%), Harnwegsinfekt (1/60; 1,7%), Ko-Infektionen (vorwiegend mit Atemwegsinfekten: 16/60; 26,7%). Kein Fokus in 6,7% (4/60).

Fieberursache bei Patienten, die mit Penicillinen behandelt wurden, waren: Otitis media (9/28; 32,1%), Tonsillitis (7/28; 25%), Atemwegsinfekt (5/28; 17,9%), Bronchitis (1/28; 3,6%), Gastroenteritis (1/28; 3,6%), Harnwegsinfekt (1/28; 3,6%), Ko-Infektionen (2/28; 7,1%). Kein Fokus in 7,1% (2/28).



**Abbildung 44:** Einteilung der Antibiotikagruppen während des stationären Aufenthaltes (2009 – 2013) (Penicilline: Penicillin (11), Amoxicillin (8), Unacid (7), Ampicillin (2). Cephalosporine: Cefuroxim (47), Cefotaxim (10), Cefaclor (2), Cefixim (1)).

## 6. DISKUSSION

Fieberkrämpfe sind oft selbstlimitierende Gelegenheitsanfälle, die im Säuglings- und Kleinkindesalter in Verbindung mit Fieber ( $> 38,5^{\circ}\text{C}$ ) auftreten. Die häufigste Ursache für einen Fieberkrampf ist ein banaler viraler Infekt, seltener auch eine bakterielle Infektion [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011]. Liegt eine Infektion des zentralen Nervensystems (Meningitis/Enzephalitis) vor, handelt es sich nicht um einen Fieberkrampf, da eine ZNS-Beteiligung und nicht das Fieber ursächlich für das Krampfgeschehen ist [AWMF, S2-Leitlinie, 1999].

Häufigste Auslöser sind laut Borggräfe et al. [2013] virale Atemwegsinfekte, gefolgt von Otitis media, Pneumonie, Gastroenteritis und Exanthema subitum [Borggräfe et al., 2013]. Unsere Daten ergaben ebenso Atemwegsinfekte (89/200; 44,5%) als häufigste Ursachen eines Fieberkrampfes. Weitere Infektfoki waren: Gastroenteritis (22/200; 11%), Tonsillitis (21/200; 10,5%), Otitis media (15/200; 7,5%), Harnwegsinfekt (2/200; 1%).

Da sich bei viralen Atemwegsinfekten eine Abgrenzung zu bakteriellen Infektionen schwierig gestaltet, ist es entscheidend, eine Methode anzuwenden, die ein schnelles und sicheres Ergebnis zur Differenzierung zwischen viralen und bakteriellen Infekten liefern kann [Krause et al., 2014]. Diagnostische Verfahren wie Kulturen, Singleplex-PCR oder ELISA sind oft sehr aufwändig. Die Multiplex-PCR ermöglicht zeitnah den spezifischen Genomnachweis viraler Krankheitserreger aus nur einer Probe. Eine Mitteilung der Ergebnisse erfolgt je nach Labor innerhalb von 12 bis 36 Stunden nach Entnahme des Materials [Bierbaum et al., 2014]. Das Institut für Virologie am Universitätsklinikum des Saarlandes ermöglichte ein Ergebnis innerhalb von 24 Stunden.

Es wurden Multiplex-PCR-Panels zur Differenzierung respiratorischer und gastrointestinaler Erreger verwendet. Unsere respiratorischen Multiplex-PCR-Panels (FTD Respiratory pathogens 21, Fast Track Diagnostics, Luxemburg) beinhalteten folgendes Erregerspektrum: Influenza A/H1N1-Viren, Influenza B-Viren, Parainfluenzaviren (Typ 1, 2, 3, 4), Coronaviren (NL63, 229E, OC43, HKU1), Humane Metapneumoviren (A/B), Humane Bocaviren, Rhinoviren, Adenoviren, RSV A/B, Parechoviren und Enteroviren. Das Testpanel beinhaltete ebenso die Untersuchung auf das Bakterium *Mycoplasma pneumoniae* [Fast Track Diagnostics Respiratory pathogens 21, 2018]. Aus Stuhlproben konnten durch die gastrointestinale Multiplex-PCR folgende Viren identifiziert werden: Adeno-, Noro-, Rota- und Astroviren [Fast Track Diagnostics Viral gastroenteritis, 2018].

Dieses schnelle und sensitive Verfahren bietet grundsätzlich eine Möglichkeit, zwischen bakterieller und viraler Genese zu unterscheiden; allerdings müssen hierbei bakterielle oder virale Ko-Infektionen berücksichtigt werden.



## 6.1 Multiplex-PCR als Diagnostikum bei Kindern mit Fieberkrämpfen

Ein Fieberkrampf ist meist mit einem viralen oder bakteriellen Infekt verbunden. Da keine erweiterte Diagnostik mittels mikrobiologischer oder virologischer Testung routinemäßig durchgeführt wird, kann oft der Auslöser - d.h. das infektiöse Agens - für den Großteil der Fieberkrämpfe nicht eindeutig zugeordnet werden [AWMF, S2-Leitlinie, 1999]. In der AWMF (Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften) S2-Leitlinie wird unter diagnostischen Maßnahmen zwar der Begriff Infektionsnachweis erwähnt, jedoch kein Bezug auf ein mikrobiologisches oder virologisches Standardverfahren genommen [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011].

In unserer Kohortenstudie erfolgte im Jahr 2009 der Virennachweis durch eine Singleplex-PCR (Noro-, Influenzavirus), Immunassay-Verfahren (Enzyme-linked Immunosorbent Assay; ELISA, chromatographische Schnelltests) oder Virenkulturen (Adeno-, Entero-, Herpes-simplex- und Zytomegalievirus). Die virologischen Ergebnisse von 2009 wurden mit jenen seit Einführung der Multiplex-PCR in den Jahren 2010 bis 2013 verglichen. In diesen vier Jahren wurden nasopharyngeale Sekrete und Stuhlproben als Material für eine Multiplex-PCR-Untersuchung verwendet. Gelegentlich wurden eine Singleplex-PCR (Varizella-zoster-, Epstein-Barr-, Zytomegalie-, Herpes-simplex-, Noro-, Influenzavirus), ELISA oder eine Virenkultur (bevorzugt Enterovirus im Stuhl) durchgeführt. Bis zur Umstellung auf die Multiplex-PCR 2010 erfolgte eine Testung der Stuhlproben bei drei Patienten mit der Diagnose Fieberkrampf noch mittels ELISA (Patientenzahl: 46/200). Dabei konnte kein pathogener Erregernachweis erfolgen.

Im Jahr 2009 konnte ein virologischer Nachweis von 20,4% (10/49) erbracht werden. Seit Einsatz der Multiplex-PCR (2010) im Institut für Virologie, Universität des Saarlandes, ließ sich ein signifikanter Anstieg der viralen Befunde beobachten ( $p < 0,05$ ).

(Virennachweise: 2010: 19/46, 41,3%; 2011: 24/47, 51%; 2012: 15/25, 60%; 2013: 15/33, 45,5%). Mittels der respiratorischen Multiplex-PCR (45/67; 67,1%) konnten in 45 Fällen positive Resultate erfasst werden; mithilfe der gastrointestinalen Multiplex-PCR 15 virale Befunde (15/67; 22,4%). Davon erbrachten beide Methoden bei sieben Patienten positive Nachweise (7/67; 10,4%). Dementsprechend erfolgte ein viraler Nachweis bei 52 Patienten durch die respiratorische und bei 22 durch die gastrointestinale Multiplex-PCR. In der Arbeit von Subramony et al. [2016] gelang ebenso häufig ein Virennachweis mittels Multiplex-PCR. Hierbei ergaben sich bei 42,4% der Patienten, die einer Multiplex-PCR unterzogen wurden, positive Ergebnisse, während bei jenen Kindern, die nicht mit diesem Verfahren getestet wurden, deutlich weniger Erreger detektiert wurden (14,4%). Die Diagnostik bestand in dieser Gruppierung aus Immunassay-Verfahren, DFA (direct fluorescent antigen),

Singleplex-PCR und Virenkulturen [Subramony et al., 2016]. In Bezug auf diese Daten wurden im Jahr 2009 unserer Studie, in welchem noch keine Multiplex-PCR zur Verfügung stand, ebenso wenig virale Erreger identifiziert (2009: 10/49, 20,4%; 2010 - 2013: 73/151, 48,3%).

Sakthivel et al. [2012] verglichen die Ergebnisse der Multiplex-PCR (multiplex real-time PCR) mit jenen der Singleplex-PCR. Dabei ergab die Multiplex-PCR in 87,7% der Fälle positive Nachweise. Es zeigte sich in 95% eine Übereinstimmung mit den Resultaten der Singleplex-PCR (positive Befunde 86%) [Sakthivel et al., 2012].

Auch die Studie von Anderson et al. [2013] ergab bei einem Vergleich von vier verschiedenen Multiplex-PCR-Methoden (xTag respiratory viral panel fast, Fast-track Respiratory Pathogen assay, Easyplex respiratory 12 kit, in-house multiplex real time PCR assay) ebenfalls eine hohe Übereinstimmungsrate aller vier Testkits (93-100%) [Anderson et al., 2013]. Deutlicher Vorteil dieser Methode ist der Nachweis oder Ausschluss mehrerer Erreger aus nur einer Probe [Sakthivel et al., 2012; Anderson et al., 2013; Bierbaum et al., 2014]. Bisherige diagnostische Maßnahmen wie Virenkulturen, DFA (Direct Fluorescent Antigen) oder Schnelltests (Influenzaviren, RSV) waren Standardverfahren zur Identifizierung von Viren. Jedoch zeigten diese Methoden auch relevante Einschränkungen. Virenkulturen sind zeitaufwändig und die Befunde sind später verfügbar, sodass sie häufig keine Auswirkungen auf die Behandlung der Patienten haben [Freymuth et al., 2006]. Die DFA dagegen liefert ein schnelles Ergebnis, das im Vergleich zu einer Virenkultur allerdings nicht so sensitiv ist. Dies gilt auch für Schnelltests (Influenzaviren, RSV), die eine Sensitivität von 66,2% und Spezifität von 89,9% aufweisen [Schauer et al., 2007]. Die Multiplex-PCR füllt somit die fehlende Lücke mit einem geringeren Zeitaufwand (6 bis max. 36 Stunden) und einer hohen Spezifität an Resultaten [Freymuth et al., 2006]. Wir konnten mit unserer Multiplex-PCR am Institut für Virologie des Universitätsklinikums des Saarlandes ein Ergebnis innerhalb von 24 Stunden erhalten.

Das PCR-Verfahren ermöglicht ein Screening auf die häufigsten pathogenen Viren [Fast Track Diagnostics Respiratory pathogens 21/Viral gastroenteritis, 2018]. Mittels respiratorischer Multiplex-PCR konnten in unserer Studie am häufigsten, auch als Ko-Infektionen, Adenoviren (12), gefolgt von Humanen Bocaviren (10), Enteroviren (9), Rhinoviren (7), RSV (7), Coronaviren (7), Influenzaviren (6), Parechoviren (5), Parainfluenzaviren (5) sowie Humanen Metapneumoviren (3) identifiziert werden. Durch die gastrointestinale Multiplex-PCR konnten Adeno- (7), Rota- (6), Noro- (3) und Astroviren (4) detektiert werden (Ko-Infektionen: Adeno-/ Rotavirus (1), Noro-/Rotavirus (1)).

Chung und Wong [2007] versuchten einen Zusammenhang zwischen fünf üblichen Viren (Influenza-, Parainfluenza-, Adeno-, RS- und Rotaviren) und Fieberkrämpfen herzustellen. Der Erregernachweis in dieser Studie erfolgte jedoch mittels ELISA und Virenkulturen aus nasopharyngealem Sekret und Stuhlproben [Chung und Wong, 2007]. Dabei schlussfolgerten

sie, dass das Risiko einen Fieberkrampf zu erleiden durch eine Infektion mit Influenza- (20,8%), Parainfluenza- (20,6%) sowie Adenoviren (18,4%) signifikant höher sei als bei Erkrankungen mit RSV (5,3%) oder Rotaviren (4,3%) [Chung und Wong, 2007]. Im Vergleich zur Studie von Chung und Wong ergab sich mit 3% (6/200) ein geringerer Prozentsatz an Influenzainfektionen, die in unserer Datenanalyse mit Fieberkrämpfen assoziiert waren. Dennoch zeigte diese Studie, die kein Multiplex-PCR-Verfahren zur Verfügung hatte, ebenso einen großen Anteil an Infektionen mit Adenoviren [Chung und Wong, 2007].

Die Arbeit von Subramony et al. [2010 – 2012, USA] wendete das Multiplex-PCR-Verfahren bei Kindern < 18 Jahren an, die innerhalb von zwei Jahren stationär am New York-Presbyterian Morgan Stanley Children's Hospital (USA) behandelt wurden. Hierbei konnten am häufigsten Rhino-, Entero-, Humane Metapneumo-, RS-, Influenza-, Parainfluenza-, Adeno- und Coronaviren nachweisen werden [Subramony et al., 2016]. Dies bestätigt ebenfalls, dass die Multiplex-PCR mit ihrer hohen Sensitivität und Spezifität eine deutliche Vielfalt an infektiösen Keimen im Vergleich zu den bisherigen diagnostischen Maßnahmen herausfiltern kann [Subramony et al., 2016].

Bezüglich Einzelbefunden und Ko-Infektionen sowie Nachweisen aus respiratorischem Material und Stuhlproben zeigte die Analyse von Francis et al. [2016], dass der Einsatz einer Multiplex-PCR als Routinediagnostikum vorteilhaft sein kann. In dieser Studie ergab sich mittels Multiplex-PCR (MagMAX Express-96 Plattform) bei 143 von 151 Patienten (95%) ein positiver Befund, wovon bei 71% ein Einzelnachweis und bei 34% virale Ko-Infektionen festgestellt wurden. Untersuchungsmaterial waren nasopharyngeale und rektale Abstriche/Stuhlproben [Francis et al., 2016]. Unsere Kohortenstudie untersuchte 125 von 151 (82,7%) Kinder mit Fieberkrämpfen mit der Multiplex-PCR (Fast Track Diagnostics respiratory pathogens 21/viral gastroenteritis). Unsere Daten ergaben einen viralen Nachweis von 53,6% (67/125) im Zeitraum von 2010 bis 2013. Ein Einzelnachweis konnte in 45 Fällen (45/125; 36%) aller Multiplex-PCR-Ergebnisse erfolgen. Bei 22 Patienten (22/125; 17,6%) wurden virale Ko-Infektionen erfasst. Die Daten von Francis et. al ergaben einen höheren Prozentanteil an detektierten Viren durch nasopharyngeale Proben [Francis et al., 2016]. Erklären lässt sich der hohe Nachweis in der Studie v.a. durch die häufig erfolgte Multiplex-PCR aus nasopharyngealem Material (143/151; 95% positive Ergebnisse). Häufigste Erreger waren Rhino- (22%), Adeno- (21%) und Enteroviren (20%) [Francis et al., 2016]. Diese Ergebnisse entsprechen auch unseren viralen Nachweisen. Am häufigsten konnten Adenoviren, gefolgt von Humanen Boca-, Entero- und Rhinoviren identifiziert werden. Ein Großteil unsere Befunde konnte ebenso mit der respiratorischen Multiplex-PCR (insgesamt 52 von 67 positiven PCR Befunden) erbracht werden. Diese wurde insgesamt in 72% (109/151) der Fälle angewandt. Bei Kindern, v.a. mit Atemwegsinfekten, ist aufgrund einer vermehrten Viruslast eine hohe Nachweishäufigkeit des infektiösen Agens möglich. Dies ist z.B. in der Winterzeit mit

deutlichem Anteil an respiratorischen Infekten besonders vorteilhaft [Sakthivel et al., 2012; Bierbaum et al., 2014]. Die Testung der Stuhlproben (58/151; 38,4%) in der Studie von Francis et al. ergab jeweils Virennachweise, die bereits respiratorisch identifiziert wurden. Bei 49 Kindern (49/151; 32,4%) erfolgte in unserer Recherche die Stuhltestung durch die gastrointestinale Multiplex-PCR. Bei 33 Patienten wurde sowohl eine respiratorische als auch eine gastrointestinale Multiplex-PCR durchgeführt, wovon sieben Proben in beiden Verfahren positive Ergebnisse zeigten. Die Übereinstimmungsrate dieser beiden PCR-Methoden war in unserer Studie im Vergleich zu jener von Francis et al. sehr gering, da nur in drei Fällen Adenoviren als gemeinsame Erreger identifiziert wurden.

Zusammenfassend zeigten unsere Befunde ähnliche Ergebnisse wie die Daten von Francis et al. [2016]. Zu berücksichtigen ist, dass die Multiplex-PCR erst seit 2010 am Universitätsklinikum des Saarlandes (Homburg) eingeführt wurde und eine allmähliche Umstellung erfolgte. Somit wurden in dem ersten Jahr nicht alle respiratorischen Proben und Stuhlmaterialien einer Multiplex-PCR-Untersuchung unterzogen.

Im Verlauf zeigte sich ein zunehmender Einsatz der Multiplex-PCR bei Patienten mit der Diagnose Fieberkrampf. 2010 wurde das Verfahren in 67,4% der Fälle (31/46) und 2013 bei 90,9% der Kinder (30/33) angewandt.

Mit der Multiplex-PCR ist ein sensitives Herausfiltern an Viruslast möglich. Jedoch ist unklar, inwiefern das identifizierte Agens tatsächlich zur Erkrankung beiträgt bzw. für diese ursächlich ist [Krause et al., 2014; Rhedin et al., 2014]. Auch der gleichzeitige Nachweis von Ko-Infektionen aus einer Probe ist dadurch möglich. Doch nicht jedes nachgewiesene Agens muss auch mit der Symptomatik in kausalen Zusammenhang gebracht werden.

Die Multiplex-PCR ermöglicht ein komplettes Screening der häufigsten Krankheitserreger in kürzester Zeit. Der Vorteil für den Ablauf ist, dass nicht einzelne Pathogene in Auftrag gegeben werden müssen, sondern durch diese Testung eine ganze Palette an wahrscheinlichen Erregern untersucht werden kann.

## 6.2 Antibiotische Behandlung im Zusammenhang mit der Verwendung der Multiplex-PCR

Zahlreiche Studien verdeutlichten einen übermäßigen Antibiotikagebrauch in Europa [Krause et al., 2014; Holstiege et al., 2013, 2014]. In einem Ländervergleich von 2005 bis 2008 zeigte sich ein sehr hoher Antibiotikaeinsatz in Italien, gefolgt von Deutschland, dem Vereinigten Königreich, Dänemark und den Niederlanden [Holstiege et al. 2014]. Die höchste Rate wurde bei Patienten < 4 Jahre und die niedrigste in der Altersgruppe 10-14 Jahre gesehen. Es wird vermutet, dass dieser hohe Antibiotikagebrauch auch auf länderspezifisches Verschreibungsverhalten zurückzuführen ist. In der Winterzeit wurde, v.a. in den Ländern mit hoher Verordnungsrate, eine zunehmende Behandlung mit Antibiotika beobachtet. Da in den Wintermonaten vorwiegend virale Infektionen vorliegen, wird auch von einer zu hohen und unkritischen Anwendung der Medikamente ausgegangen [Krause et al., 2014; Holstiege et al., 2013, 2014]. In Deutschland zeigte sich in einem Zeitraum von 2004 bis 2006 im Säuglings- und Kleinkindesalter mit 48,85% eine großzügige Verordnung an Antibiotika [Holstiege et al., 2013, 2014]. Die häufigsten Gründe waren Tonsillitis (24,64%), Bronchitis (17,12%), Otitis media (15,71%), akute Atemwegsinfekte (11,66%) und Scharlach (5,2%) [Holstiege et al., 2013, 2014]. Ebenso zeigte die amerikanische Studie von Hersh et al. aus dem Jahr 2011, dass im ambulanten Bereich Kinder voreilig antibiotisch therapiert wurden. Dabei handelte es sich ebenso um respiratorische Infekte, welche keine eindeutige Indikationen für die Verwendung eines Antibiotikums darstellten [Hersh et al., 2011; Hyun et al., 2013].

Unsere Studie umfasste einen Zeitraum von fünf Jahren und erbrachte einen Antibiotikagebrauch in 45% (90/200) der Fälle während des Klinikaufenthaltes. Der größte Einsatz ergab sich im Jahr 2010 mit 65,2% (30/46). Es konnte bei 93,3% der Patienten (84/90) ein Fieberfokus klinisch festgestellt werden. Häufigste Infektfoki waren ein akuter oberer Atemwegsinfekt (Rhinitis, Sinusitis, Pharyngitis, Tonsillitis: 43/90; 47,8%), Otitis media (12/90; 13,3%) und eine Pneumonie/Bronchitis (6/90; 6,7%). Bei 18 Patienten (18/90; 20%) wurden mehrere Fieberursachen festgestellt, meistens handelte es sich ebenfalls um Atemwegsinfekte mit Gastroenteritiden oder Harnwegsinfekten. Demnach zeigte sich, wie bereits bei Holstiege, eine hohe Verordnungsrate an Antibiotika bei respiratorischen Infekten [Holstiege et al., 2013, 2014]. In der Arbeit von John J. und Gordon J. Millichap [2008] wurden als häufigste Ursachen für einen Fieberkrampf eine Otitis media und ein oberer Atemwegsinfekt festgestellt. Jeweils ein Drittel davon war viraler Genese und in nur 5% der Fälle ergab sich ein bakterieller Keimnachweis in der Zellkultur. Dennoch wurden 65% der Patienten in der Klinik antibiotisch behandelt. Eine mögliche Begründung dafür wäre, dass bei

Fieberkrämpfen aufgrund der Gefahr einer Meningitis/Enzephalitis Antibiotika rasch bzw. noch vor Erhalt der diagnostischen Ergebnisse eingesetzt werden [Millichap JJ/JG, 2008]. Da es sich oft um virale und selbstlimitierende Infekte handelte, versuchten wir mit unserer retrospektiven Kohortenstudie eine Virusdiagnostik zu etablieren, welche Auswirkungen auf die antibiotische Therapie haben könnte.

Die Studie von Subramony und Zachariah [2016] verglich die Ergebnisse der Multiplex-PCR (M-PCR) mit den bisherigen diagnostischen Maßnahmen (Non-M-PCR: direct fluorescent antigen (DFA) für Parainfluenza- und Adenoviren, PCR für Influenzaviren und RSV, Virenkulturen). Es stellte sich die Frage, ob die Dauer der antibiotischen Behandlungen durch das Multiplex-PCR-Ergebnis beeinflusst werden könnte [Subramony et al., 2016]. Ein Vergleich mit der Kontrollgruppe erbrachte, dass mit der Multiplex-PCR eine geringere Dauer der Antibiotikatherapie erreicht wurde (Median M-PCR vs. Non-M-PCR: 4 vs. 5 Tage), obwohl die Anzahl der Antibiotikage pro Patiententage in den Gruppen ähnlich war (Median M-PCR vs. Non-M-PCR: 75 vs. 86 Antibiotikage pro 100 Patiententage). In beiden Gruppierungen wurden die Patienten mit einem positiven Keimbefund weniger Tage antibiotisch therapiert als jene mit negativen Ergebnissen [Subramony et al., 2016]. Der Einsatz einer schnellen viralen Untersuchung zeigte demnach einen Effekt auf den Medikamentengebrauch. Unsere Untersuchung ergab seit 2010 eine deutliche Zunahme der Verwendung der Multiplex-PCR (2010: 31/46, 67,4%; 2013: 30/33, 90,9%). Kinder mit virologischem Nachweis durch die Multiplex-PCR wurden zwar weniger antibiotisch therapiert (2010: 12/46, 26%; 2013: 7/33; 21%), dennoch wurde bei einigen mit positivem Ergebnis die begonnene antibiotische Behandlung großzügig fortgesetzt. Patienten ohne Keimnachweis erhielten ebenso oft Antibiotika während des stationären Aufenthaltes (2010: 7/46, 15,2%; 2013: 6/33, 18,2%). Auch wenn unsere Analyse mithilfe der Multiplex-PCR keinen ausgeprägten Anstieg an Virennachweisen (2010-2013: 73/200; 36,5%) im Vergleich zu den bakteriellen Befunden (2010-2013: 73/200; 36,5%) erbrachte, ermöglichte die Multiplex-PCR eine signifikante Zunahme an Virenbefunden von 2009 bis 2013 ( $p=0,01$ ).

Zusammenfassend konnte im Verlauf der fünf beobachteten Jahre ein Anstieg an virologischen Befunden von 25,1% festgestellt werden (2009, prä-Multiplex-PCR Ära: 10/49, 20,4%; 2013: 15/33, 45,5%). Bereits 2010 nach Einführung der Multiplex-PCR ließ sich mit 41,3% (19/46) eine zunehmende Anzahl an detektierten Viren erkennen. Bezüglich der Antibiotikatherapie wurde ebenso eine Veränderung mit einem kontinuierlich fallenden Prozentsatz von 25,8% von 2010 bis 2013 (2010: 30/46, 65,2%; 2013: 13/33, 39,4%) beobachtet. Dennoch ergab sich kein signifikanter Rückgang der Antibiotikatherapie während der gesamten fünf Jahre ( $p=0,179$ ). Seit Einführung der Multiplex-PCR (2010) wurden in den folgenden vier Jahren insgesamt 73 Patienten (73 von 151 Patienten im Zeitraum von 2010

bis 2013; 48,3%) antibiotisch behandelt. Zuerst ließ sich eine Prozentzunahme von insgesamt 30,6% von dem Jahr 2009 (17/49; 34,6%) bis 2010 (30/46; 65,2%) erkennen. Dies könnte auf die noch anfängliche Unsicherheit gegenüber der Multiplex-PCR zurückgeführt werden. Da es sich hierbei um eine retrospektive Studie handelt, können genauere Aussagen diesbezüglich nicht getroffen werden.

Wünschenswert wäre es, aus den Ergebnissen der Multiplex-PCR entsprechende Konsequenzen für die antibiotische Behandlung zu ziehen. Wishaupt et al. [2011] stellten ebenso Überlegungen dazu an. Die Erklärung bestand darin, dass trotz des schnellen Erhalts der Ergebnisse (innerhalb von 12 bis max. 36 Stunden) eine antibiotische Therapie meist unverzüglich bei Aufnahme begonnen wurde. Die Resultate der Multiplex Real-Time PCR führten selten zu einer Veränderung im Therapieansatz [Wishaupt et al., 2011]. In dieser Studie waren 82% der nasalen Abstriche für mehr als einen Erreger positiv. Diese Ergebnisse zeigten im Vergleich zu der Kontrollgruppe eine annähernd gleiche Dauer der antibiotischen Behandlung (Interventionsgruppe: Mittelwert  $6.52 \pm 2.15$  Tage; Kontrollgruppe: Mittelwert  $6.97 \pm 2.86$ ) [Wishaupt et al., 2011]. Schließlich führte die schnelle Untersuchung und Rückmeldung an den betreuenden Kliniker zu keiner verkürzten Antibiotikadauer bei Patienten mit respiratorischen Infekten. Die Ergebnisse der von uns verwendeten Multiplex-PCR lagen nach einer Zeitdauer von 24 Stunden dem/der behandelnden Arzt/Ärztin vor. Im Vergleich zu den bisherigen diagnostischen Maßnahmen (Zellkulturen, Immunassay-Verfahren) ist dies zeitlich gesehen ein deutlicher Fortschritt. Jedoch steht immer noch die Klinik im Vordergrund. Bei stabilem Allgemeinzustand wäre es zu überlegen, den Beginn einer möglichen antibiotischen Therapie je nach Multiplex-PCR-Ergebnis abzuwarten. Da sich jedoch von 2010 bis 2013 eine Veränderung der Antibiotikaverordnung darstellen ließ, lässt sich dies in Zusammenhang mit dem vermehrten Einsatz der Multiplex-PCR erklären (Antibiotische Behandlung: 2010: 30/46, 65,2%; 2011: 22/47, 46,8%; 2012: 8/25, 32%; 2013: 13/33, 39,4%).

Ein kleiner Anteil unserer Patienten (27/200; 13,5%) wurde bereits ambulant antibiotisch behandelt. Ein interessanter Aspekt ist auch, ob die Multiplex-PCR bei antibiotisch vortherapierten Patienten zu einer verkürzten Dauer oder Beendigung der entsprechenden Therapie hätte führen können. Da Antibiotika bakterielle Infektionen verschleiern können, erschwert sich dadurch der Nachweis von Krankheitserregern [Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011]. Die Multiplex-PCR stellt eine Alternative zur raschen Identifizierung von Keimen v.a. bei ambulant behandelten Kindern dar. In unserer Studie konnte bei diesem Patientenkollektiv ein virologischer Nachweis in 37% der Fälle (10/27) erfolgen. Durch das Ergebnis der Multiplex-PCR entschieden sich die betreuenden Ärzte nur bei drei Kindern (3/27; 11,1%) gegen eine erneute antibiotische Therapie in der Klinik. Bei 77,7% (21/27) der vortherapierten Patienten wurde eine antibiotische Behandlung während des stationären

Aufenthaltes fortgeführt oder erneut begonnen. Bakterielle Nachweise konnten in 12 (12/27; 44,4%) Fällen erfolgen, wovon 11 Kinder (11/27; 40,7%) antibiotisch behandelt wurden. An dieser Stelle ist anzumerken, dass bei fünf dieser Patienten (5/27; 18,5%) durch die Multiplex-PCR virale Ko-Infektionen festgestellt wurden. Diese Befunde waren auch passend zu dem jeweiligen Infektfokus. Auch hier ist anzunehmen, dass man sich letztendlich für die Fortführung der begonnenen antibiotischen Behandlung entschieden hat [Millichap JJ/JG, 2008; Wishaupt et al., 2011; Krause et al., 2014].

Ein Vergleich der antibiotischen Therapie während des Klinikaufenthaltes erbrachte eine bevorzugte Verwendung von Cephalosporinen. Diese bilden wie Penicilline eine Gruppe der Breitbandantibiotika. Im Ländervergleich von Holstiege [2014] konnte ebenso ein gehäufter Gebrauch von Breitspektrumantibiotika erfasst werden [Hyun et al., 2013; Holstiege et al., 2013, 2014]. Nach Amoxicillin wurde Cefaclor am zweithäufigsten in Deutschland verschrieben. An Cephalosporinen wurden bevorzugt jene der 2. und 3. Generation in Deutschland und Italien verordnet, während in Dänemark und den Niederlanden ein eher zurückhaltendes Verhalten beobachtet wurde [Hyun et al., 2013; Napolitano et al., 2013; Holstiege et al., 2013, 2014]. Unsere klinischen Daten ergaben eine häufige Verwendung von Cefuroxim (Cephalosporin der 2. Generation), gefolgt von Cefotaxim (Cephalosporin der 3. Generation) in Kombination mit Gentamicin. Cephalosporine (60/90; 66,6%, auch in Kombination mit anderen Antibiotika) wurden vor allem bei respiratorischen Infekten eingesetzt (akuter Atemwegsinfekt: 15/60, 25%; Tonsillitis: 13/60, 21,7%; Otitis media: 5/60, 8,3%; Pneumonie/Bronchitis: 4/60, 6,7%, Gastroenteritis: 2/60, 3,3%, Harnwegsinfekt: 1/60, 1,7%, kein Fokus: 4/60, 6,7%; Ko-Infektionen mit respiratorischen Infekten: 16/60, 26,7%).

Ebenso verglichen wir, welche Medikation bei Kindern mit bereits ambulant begonnener antibiotischer Behandlung fortgeführt wurde. Hierbei zeigte sich ambulant ein hoher Gebrauch von Penicillinen (10/27; 37%) und Cephalosporinen (9/27; 33,3%). Bei 21 der vortherapierten 27 Patienten wurde an der Kinderklinik des Universitätsklinikums des Saarlandes (Homburg) eine antibiotische Behandlung begonnen oder fortgeführt. Dabei bestätigte sich weiterhin die vermehrte Gabe von Penicillinen (6/21; 28,5%) und Cephalosporinen (8/21; 38,1%). Es gibt eindeutige Richtlinien für einen optimierten Einsatz der Antibiotika bei Atemwegsinfekten [Kassenärztliche Bundesvereinigung in Zusammenarbeit mit der Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft. Rationale Antibiotikatherapie bei Infektionen der oberen Atemwege]. Eine Tonsillopharyngitis ist nur bei Nachweis von Staphylokokken mit Penicillinen zu therapieren. Bei 19 Patienten war eindeutig eine Tonsillitis ursächlich für den Fieberkrampf. Mikrobiologisch zeigten sich dabei sechs positive Befunde (Haemophilus influenzae (2/6), Staphylococcus aureus (2/6), Streptococcus mitis (1/6) und Candida guilliermondii/parapsilosis (1/6). Bevorzugt wurde bei diesen Patienten ein Antibiotikum der



Gruppe der Cephalosporine verwendet und nicht leitlinienkonform mit Penicillinen therapiert. Bei keinem dieser Patienten entwickelte sich eine Streptokokkeninfektion. Die identifizierten Erreger waren eher spärlich nachweisbar, sodass diesen keine pathogene Bedeutung zugeordnet wurde. Auch eine akute Bronchitis stellt zunächst keine harte Indikation für die Behandlung mit Antibiotika dar. Auch hier gilt als Mittel der Wahl Amoxicillin [Kassenärztliche Bundesvereinigung in Zusammenarbeit mit der Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft. Rationale Antibiotikatherapie bei Infektionen der unteren Atemwege].

Entscheidend für eine rationale Antibiotikatherapie von Atemwegsinfekten sind somit eine korrekte Diagnosestellung, das kritische Abwägen der Indikation zur Antibiotikatherapie, die Wahl des entsprechenden Medikamentes und die Festlegung der Dauer.

### **6.3 Leitliniengerechte Indikation zur Lumbalpunktion**

Generell gilt, dass ein unkomplizierter Fieberkrampf keine Indikation für eine Lumbalpunktion darstellt. Bei Fieberkrämpfen muss jedoch eine Meningitis/Enzephalitis als Differenzialdiagnose in Erwägung gezogen werden [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011; Borggräfe et al., 2013]. Daher sollte bei klinischen Zeichen, die für eine Infektion des zentralen Nervensystems (ZNS) sprechen, eine Lumbalpunktion durchgeführt werden [World Health Organization Media Centre; Meningococcal meningitis]. Der Einsatz einer Liquoruntersuchung bei Kindern mit Fieber und Krampfanfall wird in der Literatur viel diskutiert [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Baraff LJ, 2008; Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011; Borggräfe et al., 2013].

Obligatorisch ist eine Liquordiagnostik bei Anzeichen eines Meningismus oder dem Verdacht auf eine ZNS-Infektion [AWMF, S2-Leitlinie, 1999]. Die American Academy of Pediatrics (AAP) erklärte, dass in einem Alter von 6 bis 12 Monaten eine Lumbalpunktion bei Kindern nach Fieberkrämpfen, deren Immunstatus (in Bezug auf Haemophilus influenzae Typ B oder Streptococcus pneumoniae) unvollständig oder unbekannt ist, notwendig sei. Eine Lumbalpunktion sollte auch bei antibiotisch vorbehandelten Kindern in Betracht gezogen werden [Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011]. Laut der AMWF S2- Leitlinie kann eine Lumbalpunktion bei einem kompliziertem Fieberkrampf und bei antibiotischer Vorbehandlung fakultativ erfolgen [AWMF, S2-Leitlinie, 1999]. Im Säuglings- und frühen Kleinkindesalter können die Symptome einer Meningitis oft fehlen. Daher sollte, wenn kein Fieberfokus für den Fieberkrampf eruierbar ist, eine Lumbalpunktion großzügig zum Ausschluss einer Infektion des ZNS in Betracht gezogen werden [Borggräfe et al., 2013].

Betrachtet man die Aussage, dass bei einem Alter von 12 bis 18 Lebensmonaten eine Lumbalpunktion großzügig durchgeführt werden sollte, so hätte dies anhand aller vorgegebenen Kriterien (gemäß AWMF und AAP) bei 120 unserer Patienten (120/200; 60%) erfolgen können [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011]. Orientiert man sich nicht nur nach diesen Altersgrenzen, sondern vorwiegend nach den restlichen Aspekte (klinische Anzeichen einer Meningitis, unklarer Infektfokus, fakultativ bei einer antibiotischen Vorbehandlung und einem komplizierten Fieberkrampf), so wäre eine Lumbalpunktion bei insgesamt 70 der Patienten (70/200; 35%) zu erwägen gewesen. Letztendlich erfolgten 21 Lumbalpunktionen und die häufigste Indikation war ein komplizierter Fieberkrampf (18/57; 31,6%). Eine Liquordiagnostik war bei allen Patienten bezüglich einer Infektion des ZNS negativ. In weiteren Arbeiten wurde selten das Auftreten einer akuten bakteriellen Meningitis bei einem Fieberkrampf beschrieben [Millichap JJ/JG, 2008; Kimia et al., 2010; Erin et al., 2013]. Diese Studien schlossen v.a. Kinder mit einem komplizierten Fieberkrampf ein. Die Ergebnisse von Erin et al. belegten nur in einem Fall (1/193 Patienten) eine akute bakterielle Meningitis [Erin et al., 2013]. Ebenso ergaben die durchgeführten Lumbalpunktionen in der Studie von John J. und Gordon J. Millichap bei Patienten mit Fieberkrämpfen keinen Anhalt für eine Infektion des ZNS [Millichap JJ/JG, 2008]. Die von den Autoren erzielten Ergebnisse zeigten, dass eine akute bakterielle Meningitis eher selten in Zusammenhang mit einem komplizierten Fieberkrampf auftrat [Millichap JJ/JG, 2008; Kimia et al., 2010; Erin et al., 2013]. Gemäß der AWMF S2-Leitlinie ist eine Liquoruntersuchung daher nicht primär indiziert, sondern je nach Symptomatik in Erwägung zu ziehen [AWMF, S2-Leitlinie, 1999]. Bei jenen Patienten in unserer Studie, die einen komplizierten Fieberkrampf durchlebten, wurden 18 von 57 (31,6%) Patienten lumbal punktiert. Es wurde dabei je nach Fieberfokus die Entscheidung für oder gegen eine Lumbalpunktion gestellt. Virologische Befunde ergaben sich in 42,1% (24/57) der Fälle, wovon ein Großteil davon mit 75% (18/24) der Ergebnisse durch die Multiplex-PCR detektiert wurde [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011]. Vier Kinder mit einem komplizierten Fieberkrampf erlitten einen febrilen Status epilepticus (Dauer  $\geq$  30 Minuten). Dementsprechend erfolgte bei zwei Patienten eine Liquordiagnostik, welche unauffällig war. Eine Lumbalpunktion wäre jedoch bei allen vier Patienten mit einem febrilen Status epilepticus indiziert gewesen [Borggräfe et al., 2013]. Dadurch, dass die AWMF S2-Leitlinie einen komplizierten Fieberkrampf nicht als harte Indikation einstuft, kann der Einsatz einer invasiven Diagnostik bei komplexen Ereignissen diskutiert werden. Diese Ansicht wird auch in weiteren Studien geteilt, wobei jene Autoren sich einig sind, dass bei gewissen Kriterien wie fokalen Anzeichen und bei einem Übergang in einen febrilen Status epilepticus eine Lumbalpunktion bezüglich einer akuten Meningitis unmittelbar erfolgen sollte [Millichap JJ/JG, 2008; Kimia et al., 2010; Erin et al., 2013; Borggräfe et al., 2013].

Sowohl die AAP als auch die AMWF S2-Leitlinie äußern, dass bei bereits ambulant antibiotisch behandelten Kindern eine Lumbalpunktion durchgeführt werden sollte, da sich eine Infektion des ZNS dadurch verbergen kann [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011]. Denn dabei sollte man beachten, dass trotz einer bereits dieser Therapie die betroffenen Patienten einen Fieberkrampf erlitten haben. Eine genaue Angabe der Dauer einer ambulanten Behandlung ist jedoch nicht definiert. Die Autoren empfahlen die Gruppe der verordneten Antibiotika und die Dauer in Bezug auf die klinischen Zeichen zu berücksichtigen [Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011]. Die meisten unserer Patienten waren ein bis maximal zwei Wochen vor dem stationären Aufenthalt antibiotisch therapiert worden. Dabei handelte es sich eher um längere Zeiträume, sodass ein Zusammenhang mit dem ursächlichen Infekt fraglich war. Daher ist zu vermuten, dass die Vorbehandlung nicht als Indikation für eine Lumbalpunktion gewertet wurde. Da es sich hierbei um eine retrospektive Studie handelt, können nicht alle Entscheidungen exakt nachvollzogen werden. In einigen Fällen wurde eher kein Bezug zu der vorherigen Erkrankung gesehen, sondern die Fieberursache als ein neuer Infekt betrachtet. 85% (23/27) der bereits ambulant therapierten Kinder zeigten bei der klinischen Untersuchung einen eindeutigen Fieberfokus, sodass dies ein möglicher Grund für die Entscheidung gegen eine Liquordiagnostik war.

Zu bedenken ist, dass durch eine antibiotische Vorbehandlung ein Keimnachweis (Liquorkultur, PCR) oft nicht mehr möglich ist. Dennoch können mit einer Lumbalpunktion eventuelle resistente Bakterien oder Viren (z.B. Herpesviren) nachgewiesen oder ausgeschlossen werden. In unserer Studie zeigte sich diesbezüglich ein eher vorsichtiges Vorgehen. Drei Kinder, die antibiotisch vorbehandelt wurden, wurden lumbal punktiert (3/27; 11,1%). Es resultierten hierbei keine Erregernachweise im Liquormaterial. Bei 48% der Patienten (13/27) konnten Viren identifiziert werden, davon 37% durch die Multiplex-PCR (10/27).

Da sich eine ZNS-Infektion im Säuglings- und Kleinkindesalter nicht mit typischen Meningitiszeichen (positive Kernig-, Brudzinski- und Lasègue-Zeichen) äußern muss, ist bei einem unkomplizierten und komplizierten Fieberkrampf ohne Infektfokus eine Lumbalpunktion zu erwägen [Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011; Borggräfe et al., 2013]. In unserer retrospektiven Studie war bei 26 Patienten (26/200; 13%) keine Fieberursache feststellbar. Virologisch konnte bei neun Kindern ein Erregernachweis durch die Multiplex-PCR (9/26; 34,6%) erfolgen. Insgesamt acht Patienten (8/26; 30,7%) mit unbekanntem Infektfokus wurden einer Lumbalpunktion unterzogen, wovon bei zwei der Betroffenen (2/8; 25%) ein Virus durch die Multiplex-PCR detektiert wurde.

Das Vorgehen bezüglich einer Liquoruntersuchung bei Kindern mit fieberhaftem Infekt wird in verschiedenen Richtlinien viel diskutiert. Die aufgeführten Empfehlungen beziehen sich jedoch

auf fieberhafte Infekte ohne Fokus und nicht speziell auf einen Fieberkrampf. Bereits nach dem 1. Lebensmonat (ab dem 28. Lebenstag) wird eher ein abwartendes Verhalten bezüglich einer Lumbalpunktion empfohlen [Agyeman und Duppenhaler; 2012; Niehues T, 2013; National Institute for Health and Care Excellence, 2013]. Baraff stellte strenge Indikationen für Kinder mit Fieber unter dem 36. Lebensmonat auf. Eine Lumbalpunktion sei indiziert bei Neugeborenen unter 28 Tagen und mit Fieber  $> 38^{\circ}\text{C}$ . Er empfahl auch eine Liquordiagnostik bei Kindern im Alter von 29-90 Tagen mit Fieber  $> 38^{\circ}\text{C}$ , bei denen ein Harnwegsinfekt ausgeschlossen wurde. Baraff erklärte hiermit, dass die Lumbalpunktion v.a. zur Fokussuche dringend im Säuglingsalter erfolgen sollte [Baraff LJ, 2008].

Eine Ursachensuche ist bei Fieberkrämpfen entscheidend, sodass bei einem unbekanntem Infekt eine Lumbalpunktion im Alter bis zum 18. Lebensmonat abzuwägen ist [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011].

Weitere Indikationen für eine Lumbalpunktion bestehen laut AWMF S2-Leitlinie und AAP großzügig bei Kindern im Alter von 12 bis 18 Lebensmonaten [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011]. Bezogen auf das Alter wurden fünf der Kinder (5/27; 18,5%) unserer Studie, die einen Fieberkrampf unter oder mit einem Jahr erlebten, lumbal punktiert. Betrachtet man die virologischen Befunde, so konnte bei 48,1% der Betroffenen (13/27) ein viraler Keim nachgewiesen werden. Davon konnten insgesamt 12 Befunde mittels Multiplex-PCR (44,4%) detektiert werden. Bezogen auf das Patientenkollektiv wurden in unserer Studie eher wenig Patienten bis zum 12. Lebensmonat einer Lumbalpunktion unterzogen (5/200; 2,5%). Sowohl die AWMF als auch die AAP sprechen sich für eine großzügige Liquordiagnostik bei Kindern unter einem Jahr aus. Die Untersuchungen von John J. und Gordon J. Millichap ergaben ebenso einen vorsichtigen Einsatz einer Lumbalpunktion bei Kindern unter dem 12. Lebensmonat [Millichap JJ/JG, 2008]. In insgesamt 14% (14/100) wurde eine Liquordiagnostik durchgeführt, während nur vier (4/100; 4%) der betroffenen Patienten unter einem Jahr alt waren. Dies lässt sich eventuell darauf zurückführen, dass es sich hierbei um eine invasive Diagnostik handelt, die mit Komplikationen (z.B. Schwindel, Kopfschmerzen, neurologischen Ausfällen) verbunden sein kann [World Health Organization Media Centre; Meningococcal meningitis]. Eltern schrecken oft vor einer Liquoruntersuchung zurück. Daher ist es wichtig die Eltern über den Ablauf und die Konsequenz für den weiteren Verlauf solch einer Diagnostik ausführlich aufzuklären [Erin et al., 2013].

Anhand der Ergebnisse beobachtete man in dem Zeitraum von 2009 bis 2013 am Universitätsklinikum des Saarlandes (Homburg) ein eher zurückhaltendes Vorgehen bezüglich einer Lumbalpunktion. Es ist anzunehmen, dass der häufigste Grund auf den Verzicht dieser invasiven Methode eine eindeutige Fieberursache war. Unsere Untersuchungen ergaben, dass bei den 21 erfolgten Lumbalpunktionen keine Meningitis oder Enzephalitis festgestellt werden konnte und auch kein Erreger im Liquor als Ursache für den Fieberkrampf nachgewiesen wurde. Eine Liquoruntersuchung ist ein invasives Verfahren, das mit möglichen Komplikationen verbunden sein kann, weswegen eine Indikation eher zurückhaltend gestellt wird [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011]. Dennoch sollte gemäß den Leitlinien bei gewissen Kriterien (antibiotische Vorbehandlung, komplizierter Fieberkrampf mit Dauer > 30 Minuten, fokale Anzeichen, unklarer Fokus oder Impfstatus) eine Liquordiagnostik durchgeführt werden, um eine eventuelle Infektion des ZNS frühzeitig zu erkennen oder auszuschließen [Millichap JJ/JG, 2008; Kimia et al., 2010; Erin et al., 2013; Borggräfe et al., 2013].

## 6.4 Schlussfolgerung

Abschließend lässt sich festhalten, dass die Multiplex-PCR sich als ein Diagnostikum für einen schnelleren und häufigeren viralen Erregernachweis erwiesen hat. Aktuell ist innerhalb von 24 Stunden ein Ergebnis möglich und daher ist dies anderen zeitaufwändigeren Methoden wie Zellkulturen oder Immunassay-Verfahren vorzuziehen. Seit Einführung dieser Methode (2010) am Universitätsklinikum des Saarlandes (Homburg) konnten bei 73 Patienten mit der Diagnose Fieberkrampf Viren nachgewiesen werden; 67 positive Befunde davon mittels Multiplex-PCR (Gesamtzahl der Patienten 2010-2013: 151 Kinder; erfolgte Multiplex-PCR 125/151; 82,7%; Positive Befunde: 67/125; 53,6%).

Die Multiplex-PCR erweist sich im Vergleich zur Singleplex-PCR als eine spezifischere und sensitivere Methode und ermöglicht ein Screening auf die häufigsten Erreger mit nur einer Probe [Krause et al., 2014; Subramony et al., 2016].

Durch eine respiratorische Multiplex-PCR konnten 45 positive Befunde in unserer Datenanalyse erbracht werden. Bei sieben Patienten konnten sowohl in der respiratorischen als auch in der gastrointestinalen Multiplex-PCR virale Nachweise erzielt werden. Dementsprechend ergab sich am häufigsten, mit insgesamt 52 Befunden, ein positiver Keimnachweis mithilfe der respiratorischen Multiplex-PCR (respiratorische PCR: 45/67; 67,2%, gastrointestinale Multiplex-PCR: 15/67; 22,4%; respiratorische und gastrointestinale Multiplex-PCR: 7/67; 10,4%). Im Rahmen unserer Arbeit konnte eine signifikante Zunahme der virologischen Nachweise durch die Multiplex-PCR bestätigt werden (2009, prä-Multiplex-PCR Ära: 10/49; 20,4%; 2010 - 2013: 73/151; 48,3%). Zu Bedenken ist jedoch, dass eine hohe Anzahl an unterschiedlichen Viren identifiziert werden könnte. Davon können einige Erreger auf vorangegangene Infekte oder subakute Verläufe hindeuten, sodass diese nicht zwangsläufig die aktuelle Infektion verursacht haben. Jedoch lässt sich in den Wintermonaten, in denen ein viraler Infekt wahrscheinlich ist, ein kausaler Zusammenhang zwischen respiratorischer Symptomatik und Erregernachweis erklären [Krause et al., 2014; Francis et al., 2016; Subramony et al., 2016].

Eine schnelle Virusdiagnostik ist v.a. bei der großen Anzahl an Atemwegsinfektionen im Kindesalter von entscheidender Bedeutung. Letztendlich können durch den Einsatz der Multiplex-PCR klinisch relevante Konsequenzen gezogen werden. In Verbindung mit der Klinik kann berücksichtigt werden, welche Behandlung aufgrund des PCR-Resultates indiziert ist oder beendet werden kann. Auch wenn zunächst ein Anstieg des stationären Antibiotikagebrauches von 2009 mit 34,6% (17/49) bis 2010 mit 65,2% (30/46) beobachtet wurde, konnten wir zusammenfassend eine allmähliche Reduzierung der Antibiotikaverordnungen nach Einführung der Multiplex-PCR feststellen (2010 bis 2013

insgesamt fallender Prozentsatz von 25,8%). Dieses Ergebnis lässt sich eventuell auf eine anfängliche Unsicherheit gegenüber dem Verfahren zurückführen (Einsatz der Multiplex-PCR 2010: 31/46, 67,3%; 2013: 30/33, 90,9%). Unsere Studie betrachtete die Daten retrospektiv, daher konnten nicht alle Entscheidungen exakt nachvollzogen werden. Ein weiterer Grund ist auch das kleine Patientenkollektiv und ein geringer Beobachtungszeitraum. Daher bedarf diese Thematik noch weiterer Analyse.

Der Einsatz der Multiplex-PCR kann sich auch vorteilhaft für die Diagnostik bezüglich invasiver Methoden wie eine Lumbalpunktion auswirken. Um eine Infektion des ZNS auszuschließen, sollte man bei den durch die AMWF S2-Leitlinie und AAP festgelegten Faktoren diese in Betracht ziehen. Jedoch kann man auch bei einem zur Klinik passenden Multiplex-PCR-Ergebnis die Indikation reevaluieren. Dabei sollten immer das Wohl und der klinische Zustand des Patienten im Vordergrund stehen. Zu beachten ist, dass die Multiplex-PCR nicht unverzüglich ein Ergebnis liefern kann und eine Lumbalpunktion schon bei Verdacht auf eine ZNS-Infektion unmittelbar durchzuführen ist. Unsere Untersuchung ergab, dass bei jenen Patienten, die lumbal punktiert wurden und einen positiven Befund mittels Multiplex-PCR zeigten, das Resultat dem letztendlichen Fieberfokus entsprach. Die Multiplex-PCR kann damit bei unauffälliger Lumbalpunktion Anhalt auf die Fieberursache bei entsprechender Klinik bieten.

Die Durchführung einer Liquordiagnostik bei einem Fieberkrampf ist ein viel diskutiertes Thema, das auch aus unseren Daten hervorgeht. Schließlich orientierten wir uns an den von der AMWF und AAP vorgegebenen Leitlinien [AWMF, S2-Leitlinie, 1999; Subcommittee on Febrile Seizure; AAP, 2011]. Nach dieser Auffassung stellt ein unkomplizierter Fieberkrampf keine Indikation für eine Lumbalpunktion dar. Anhand der vorgegebenen Kriterien gemäß den nationalen und internationalen Leitlinien, auch mit dem Aspekt, dass bis zum 18. Lebensmonat die Indikation für eine Lumbalpunktion großzügig zu stellen ist, hätte bei 120 unserer Patienten eine Liquordiagnostik erwogen werden können. Da diese Altersgrenze keine harte Indikation darstellt und unter Berücksichtigung der übrigen Punkte (klinische Anzeichen einer Meningitis, antibiotische Vorbehandlung, fakultativ bei einem komplizierten Fieberkrampf, Infektfokus und Impfstatus), wäre bei 70 Kindern eine Liquoruntersuchung in Betracht zu ziehen gewesen. Insgesamt wurden in unserer retrospektiven Kohortenstudie 21 Patienten (21/200; 10,5%) einer Lumbalpunktion unterzogen. Es konnte kein Erregernachweis in den Liquorkulturen erbracht werden. Häufigste Indikation war ein komplizierter Fieberkrampf (18/57; 31,6%). Bezüglich einer antibiotischen Vorbehandlung empfahl die AAP großzügig eine Lumbalpunktion durchzuführen, um mögliche Verschleierungen einer Infektion des zentralen Nervensystems zu erkennen. In Bezug auf die ambulant antibiotisch behandelten Patienten (27/200; 13,5%), erfolgte nur bei drei Kindern (3/27; 11,1%) eine Liquoruntersuchung.

Hierbei ist zu erwähnen, dass wir retrospektiv anhand der vorgegebenen Kriterien betrachteten, inwiefern Lumbalpunktionen leitlinienkonform durchgeführt wurden. Es ist anzunehmen, dass ein eindeutiger Fieberfokus meist der Grund gegen eine invasive Diagnostik war.



## 7. ANHANG

### 7.1 Erhebungsbogen

	Fragestellung	Antwortmöglichkeit
<b>Daten der Patienten</b>		
1	Name, Geburtsdatum, Jahr des Klinikaufenthalts	
2	Geschlecht	1 – männlich, 2 – weiblich
3	Alter in Monaten	
4	Einteilung des Lebensalters	0 – < 6. Lebensmonat 1 – zwischen 6- Lebensmonat und 5. Lebensjahr 2 – > 5. Lebensjahr
<b>Klassifikation der Fieberkrämpfe</b>		
5	Handelte es sich um einen ersten Fieberkrampf?	-1 – keine Angabe 0 – nein 1 – ja
6	Lag ein Rezidiv vor?	-1 – keine Angabe 0 – nein 1 – ja
7	Anzahl der Rezidive	Angabe der Anzahl
8	Hat sich das Ereignis innerhalb von 24 Stunden wiederholt?	0 – nein 1 – ja
9	Hat der Fieberkrampf spontan sistiert?	-1 – keine Angabe 0 – nein 1 – ja
10	Dauer des Fieberkrampfes	Angabe in Minuten
11	Dauer des Fieberkrampfes in Kategorien	-1 – keine Angabe 0 – <15 Minuten 1 – ≥ 15 Minuten
12	Handelte es sich dabei um ein fokales Ereignis?	-1 – keine Angabe 0 – nein 1 – ja
13	Um was für einen Verlauf handelte es sich bei dem Fieberkrampf?	0 – unkomplizierter Fieberkrampf 1 – komplizierter Fieberkrampf

<b>Tages- und jahreszeitliches Auftreten der Fieberkrämpfe</b>		
14	Tageszeit beim Fieberkrampf	-1 – keine Angabe 0 – morgens (6 bis 10 Uhr) 1 – vormittags (10 bis 12 Uhr) 2 – mittags (12 bis 14 Uhr) 3 – nachmittags (14 bis 18 Uhr) 4 – abends (18 bis 22 Uhr) 5 – nachts (22 bis 6 Uhr)
15	Monat des Aufenthaltes in der Klinik	1 – Januar, 2 – Februar, 3 – März, 4 – April, 5 – Mai, 6 – Juni, 7 – Juli, 8 – August, 9 – September, 10 – Oktober, 11 – November, 12 – Dezember
16	Jahreszeit	1 – Frühling (März, April, Mai) 2 – Sommer (Juni, Juli, August) 3 – Herbst (September, Oktober, November) 4 – Winter (Dezember, Januar, Februar)
<b>Familiäre Prädisposition</b>		
17	Waren Fieberkrämpfe in der Familie bekannt?	-1 – keine Angabe 0 – nein 1 – ja
18	Einteilung der Verwandtschaft	-1 – keine Angabe 0 – Eltern 1 – Großeltern 2 – Geschwister 3 – Tante/Onkel 4 – Cousin/Cousine 5 – Kinder der Cousine/Cousinen 6 – mehrere Verwandte
19	Waren Epilepsien in der Familie bekannt?	-1 – keine Angabe 0 – nein 1 – ja

20	Einteilung der Verwandtschaft	-1 – keine Angabe 0 – Eltern 1 – Großeltern 2 – Geschwister 3 – Tante/Onkel 4 – Cousin/Cousine 5 – mehrere Verwandte
<b>Ambulant antibiotische Therapie</b>		
21	Wurde eine antibiotische Behandlung begonnen?	-1 – keine Angabe 0 – nein 1 – ja
<b>Fokussuche</b>		
22	Bestanden neurologische Auffälligkeiten bei der Aufnahmeuntersuchung?	-1 – keine Angabe 0 – nein 1 – ja
23	Bestand eine Nackensteifigkeit bei der Untersuchung (Meningismus)?	-1 – keine Angabe 0 – nein 1 – ja
24	Wurde ein Fokus ermittelt?	0 – nein 1 – ja
25	Fokus in Kategorien	0 – keine Angabe 1 – Meningitis 2 – Infekt der oberen Atemwege 3 – Tonsillitis 4 – Otitis media 5 – Rhinitis 6 – Pneumonie 7 – Bronchitis 8 – Gastroenteritis 9 – Harnwegsinfekt 10 – Impfreaktion 11 – > 2 Infektfoki
26	Hat der Patient die Tage zuvor eine Impfung erhalten?	0 – nein 1 – ja

<b>Keimnachweis</b>		
27	Konnte ein Keimnachweis erfolgen?	0 – nein 1 – ja
28	Welche Keimart wurde detektiert?	0 – kein Nachweis 1 – bakteriell 2 – viral 3 – bakteriell und viral 4 – Pilznachweis 5 – Bakterien-, Virus- und Pilznachweis 6 – Bakterien- und Pilznachweis
29	In welchem Material konnte ein mikrobiologischer Nachweis erfolgen?	-1 – kein mikrobiologischer Nachweis angefordert 0 – kein Nachweis 1 – Rachenabstrich 2 – Stuhl 3 – Urin 4 – Blutkultur 5 – weiterer serologischer Nachweis 6 – Augenabstrich 7 – Nasenabstrich 8 – Ohrabstrich 9 – Nachweis aus > 2 Materialien
30	Keimname	
31	In welchem Material konnte ein viraler Nachweis erfolgen?	-1 – kein viraler Nachweis angefordert 0 – kein Nachweis 1 – Rachenabstrich 2 – Stuhl 3 – Urin 4 – Blutkultur 5 – weiterer serologischer Nachweis 6 – Augenabstrich 7 – Nasenabstrich 8 – Ohrabstrich 9 – Nachweis aus > 2 Materialien

32	Keim	
33	Wurde eine Multiplex-PCR durchgeführt?	-1 – es wurde kein virologischer Nachweis angefordert 0 – nein 1 – ja
34	Ergebnis der Multiplex-PCR	-2 – es wurde keine Multiplex-PCR angefordert -1 – es wurde keine Multiplex-PCR durchgeführt 0 – negativ 1 – positiv
35	Durchführung der respiratorischen PCR	0 nein 1 ja
36	Durchführung der gastrointestinalen PCR	0 nein 1 ja
37	Virusname Multiplex	
<b>Laborparameter</b>		
38	Wurde das Blutbild bestimmt?	0 – nein 1 – ja
39	Hämoglobinwert	
40	Hämatokritwert	
41	Leukozytenwert	
41	Thrombozytenwert	
43	CrP	
44	Procalcitonin	
45	Wurde ein Differenzialblutbild bestimmt?	0 – nein 1 – ja
46	Angaben für Neutrophile (%)	
47	Angaben für Lymphozyten (%)	
48	Angaben für Monozyten (%)	
49	Wurden Elektrolyte im Serum bestimmt?	0 – nein 1 – ja
50	Natriumwert	
51	Hypo-/Hypernatriämie?	0 – Normwert 1 – Hyponatriämie (< 135mmol/l) 2 – Hypernatriämie (>145mmol/l)

52	Kaliumwert	
53	Chloridwert	
54	Kalziumwert	
55	Hypo-/Hyperkalzämie?	0 – Normwert 1 – Hypokalzämie (<2,2 mmol/l) 2 – Hyperkalzämie (>2,7mmol/l)
56	Glukosewert	
57	Hypo-/Hyperglykämie	0 – Normwert 1 – Hypoglykämie (<60mg/dl) 2 – Hyperglykämie (>180mg/dl)
<b>Durchführung einer EEG-Untersuchung</b>		
58	Erfolgte ein EEG?	0 – nein 1 – ja
59	Auffälligkeiten im EEG?	-1 – kein EEG erfolgt 0 – nein 1 – ja
<b>Lumbalpunktion</b>		
60	Bestand eine Indikation für eine Lumbalpunktion?	0 – nein 1 – ja
61	Erfolgte eine Lumbalpunktion?	0 – nein 1 – ja
62	Auffälligkeiten im Liquor?	0 – nein 1 – ja
63	Erfolgte die Lumbalpunktion leitliniengerecht?	0 – nein 1 – ja
64	Erfolgte eine Lumbalpunktion bis zum 12. Lebensmonat?	0 – LP < 12. Lebensmonat 1 – LP > 12- Lebensmonat 2 – LP = 12. Lebensmonat
65	Erfolgte eine Lumbalpunktion bei einer antibiotischen Vorbehandlung	0 – nein 1 – ja
66	Erfolgte eine Lumbalpunktion bei unklarem Fokus?	0 – nein 1 – ja
67	Erfolgte eine Lumbalpunktion bei einem komplizierten Fieberkrampf?	0 – nein 1 – ja

<b>Maßnahmen durch die Eltern</b>		
68	Wadenwickel zur Temperatursenkung durch die Eltern?	-1 – keine Angabe 0 – nein 1 – ja
69	Abkühlende Maßnahmen (durch Badewanne) erfolgt?	-1 – keine Angabe 0 – nein 1 – ja
70	Antipyretikagabe durch die Eltern?	-1 – keine Angabe 0 – nein 1 – ja
71	Diazepamgabe durch die Eltern?	-1 – keine Angabe 0 – nein 1 – ja
<b>Behandlung der Patienten in der Klinik</b>		
72	Antibiotische Behandlung in der Klinik?	-1 – keine Angabe 0 – nein 1 – ja
73	Antibiotikum	
74	Diazepamgabe in der Klinik?	-1 – keine Angabe 0 – nein 1 – ja
75	Gabe von Barbituraten in der Klinik?	-1 – keine Angabe 0 – nein 1 – ja

## 8. LITERATURVERZEICHNIS

1. Agyeman P, Duppenenthaler A (2012). Fieber ohne Fokus. Pädiatrie up2date 07: 227-244.
2. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (1999). S2-Leitlinie: Unkomplizierte und komplizierte Fieberkrämpfe (Kurzfassung).  
URL: <http://www.awmf.org/leitlinien/detail/anmeldung/1/II/022-005.html>.  
Zugriff am 14. Juli 2015
3. Anderson TP, Werno AM, Barrat K, Mahagamasekera P, Murdoch DR, Jennings LC (2013). Comparison of four multiplex PCR assays for the detection of viral pathogens in respiratory specimens. *Journal of Virological Methods* 191: 118-121
4. Annegers JF, Hauser WA, Shirts SB, Kurland LT. Factors prognostic of unprovoked seizures after febrile convulsions (1987). *The New England Journal of Medicine* 316: 493-8
5. Autret E, Billard C, Bertrand P, Motte J, Pouplard F, Jonville A P (1990). Double-blind, randomized trial of diazepam versus placebo for prevention of recurrence of febrile seizures. *The Journal of Pediatrics* 117: 490-494
6. Baraff LJ (2008). Management of infants and young children with fever without source. *Pediatric Annals* 37(10): 673–9.
7. Barlow W, Davis R, Glasser J (2001). The risk of seizures after receipt of whole-cell pertussis or measles, mumps, and rubella vaccine. *The New England Journal of Medicine* 345: 656-661
8. Barone S, Kaplan M, Krilov L (1995). Human herpesvirus-6 infection in children with first febrile seizures. *The Journal of Pediatrics* 127: 95-97.
9. Bethune P, Gordon KG, Dooley JM, Camfield C, Camfield P (1993). Which child will have a febrile seizure? *American journal of diseases of children* 147:35–39.
10. Berg AT, Shinnar S, Hauser WA, Alemany M, Shapiro ED, Salomon ME, Crain EF (1992). A prospective study of recurrent febrile seizures. *The New England Journal of Medicine* 327(16): 1122-1127.
11. Berg AT (1993). Are febrile seizures provoked by a rapid rise in temperature? *American journal of diseases of children* 147: 1101-3.
12. Berg AT, Shinnar S, Shapiro ED, Salomon ME, Crain EF, Hauser WA (1995). Risk factors for a first febrile seizure: A matched case-control study. *Epilepsia* 36: 334–341.
13. Berg AT, Shinnar S (1996). Unprovoked seizures in children with febrile seizures: Short term outcome. *Neurology* 47: 562–568.



14. Berg AT, Shinnar S (1996). Complex febrile seizures. *Epilepsia* 37(2): 126-133
15. Berg AT, Shinnar S, Darefsky AS, Holford TR, Shapiro ED, Salomon ME, Crain EF, Hauser AW (1997). Predictors of recurrent febrile seizures. *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine* 151: 371–378.
16. Bierbaum S, Forster J, Berner R, Rücker G, Rhode G, Neumann-Haefelin D, CAPNETZ study group (2014). Detection of respiratory viruses using a multiplex real-time PCR assay in Germany, 2009/10. *Archives of Virology* 159: 669-76.
17. BioMérieux SA (2014). NucliSens easymag, Benutzerhandbuch. Lyon, Frankreich.
18. Boom R, Sol CJ, Salimans MM, Jansen CL, Wertheim-van Dillen PM, van der Noordaa J (1990). Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *Journal of Clinical Microbiology* 28: 495-503.
19. Borggräfe I., Heinen F., Gerstl L (2013). Fieberkrämpfe. Diagnostik, Therapie und Beratung. *Monatsschrift Kinderheilkunde*. 161: 953-962.
20. Caplin BE, Rasmussen RP, Bernard PS, Wittwer CT (1999). LightCycler™ Hybridization Probes. *Biochemica* 1: 5-8.
21. Chiu S, Tse C, Lau Y, Peiris M (2001). Influenza A infection is an important cause of febrile seizures. *Pediatrics* 108: 63.
22. Chung B, Wong V (2007). Relationship between five common viruses and febrile seizure in children. *Archives of Disease in Childhood* 92(7): 589-593.
23. Chung S. Febrile seizures (2014). *Korean Journal of Pediatrics* 57(9): 384-95
24. Chungath M, Shorvon S (2008). The mortality and morbidity of febrile seizures. *Nature Clinical Practice Neurology* 4(11): 610-621.
25. Consensus statement (1980). Febrile seizures: long- term management of children with fever-associated seizures. *Pediatrics*. 66(6): 1009-12
26. Eichhorn B. Mitteldeutscher Praxisverbund Humangenetik. URL: <http://www.genetik-dresden.de/node/167>. Zugriff am 23. August 2016, 15.25 Uhr.
27. Erin M, Shariëff F, Shariëff G (2013). Necessity of Lumbar Puncture in Patients Presenting with New Onset Complex Febrile Seizures. *Western Journal of Emergency Medicine* 14: 206-211.
28. Fast Track Diagnostics (2018). Manual FTD Respiratory pathogens 21. Esch-sur-Alzette; Luxemburg.
29. Fast Track Diagnostics (2018). Manual FTD Viral gastroenteritis. Esch-sur-Alzette; Luxemburg.
30. Feucht M, Gruber-Sedlmayr U, Rauscher Ch (2005). Fieberkrämpfe - Definition, Epidemiologie, Ursachen und Prognose. *Mitteilungen der Österreichischen Sektion der Internationalen Liga gegen Epilepsie* 5 (1): 2-6

31. Francis JR, Richmond P, Robins C, Lindsay K, Levy A, Effler PV, Borland M, Blyth CC (2016). An observational study of febrile seizure: the importance of viral infection and immunization. *BMC Pediatrics* 16: 202.
32. Freymuth F, Vabret A, Cuvillon-Nimal D, Simon S, Dina J, Legrand L, Gouarin S, Petitjean J, Eckart P, Brouard J (2006). Comparison of multiplex PCR assays and conventional techniques for the diagnostic of respiratory virus infections in children admitted to hospital with an acute respiratory illness. *Journal of Medical Virology* 78(11): 1498-504.
33. Garcia M, Chessa C, Bourgoïn A, Giraudeau G, Plouzeau C, Agius G, Lévêque N, Beby-Defaux A (2017). Comparison of eMAGTM versus NucliSENS® EasyMAG® performance on clinical specimens. In *Journal of Clinical Virology* 88: 52-57
34. Gharabaghi F, Hawan A, Drews SJ, Richardson SE (2011). Evaluation of multiple commercial molecular and conventional diagnostic assays for the detection of respiratory viruses in children. *Clinical Microbiology and Infection* 17: 1900–1906
35. Hauser WA (1994). The prevalence and incidence of convulsive disorders in children. *Epilepsia*: 1-6
36. Heinen F, Bonfert M (2009). Fieberkrampf. *Pädiatrische Neurologie - Diagnose und Therapie*: 17-21.
37. Hersh AL, Shapiro DJ, Pavia AT, Shah SS (2011). Antibiotic prescribing in ambulatory pediatrics in the United States. *Pediatrics* 128: 1053-61.
38. Holland, PM, Abramson RD, Watson R, Gelfand DH (1991). Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5' → 3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88: 7276-7280
39. Holstiege J, Garbe E (2013). Systemic antibiotic use among children and adolescents in Germany: a population-based study. *European Journal of Pediatrics* 172: 787–95.
40. Holstiege J, Schink T, Molokhia M, Mazzaglia G, Innocenti F, Oteri A, Bezemer I, Poluzzi E, Puccini A, Ulrichsen SP, Sturkenboom MC, Trifirò G, Garbe E (2014). Systemic antibiotic prescribing to paediatric outpatients in 5 European countries: a population-based cohort study. *BMC Pediatrics* 14: 174.
41. Hyun DY, Hersh AL, Namtu K, Palazzi DL, Maples HD, Newland JG, Saiman L (2013). Antimicrobial stewardship in pediatrics: how every pediatrician can be a steward. *JAMA Pediatrics* 167: 859-866.
42. ILAE (1993). Guidelines for epidemiologic studies on epilepsy. *Epilepsia* 34: 592–596.
43. Iwasaki N, Nakayama J, Hamano K, Matsui A, Arinami T (2002). Molecular genetics of febrile seizures. *Epilepsia* 43 (9): 32–5.

44. Kassenärztliche Bundesvereinigung in Zusammenarbeit mit der Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft. Rationale Antibiotikatherapie bei Infektionen der oberen Atemwege.
45. URL: <https://www.akdae.de/Arzneimitteltherapie/WA/Archiv/Antibiotika-URTI.pdf>.  
Zugriff am 19. Feb. 2018, 17.00 Uhr.
46. Kassenärztliche Bundesvereinigung in Zusammenarbeit mit der Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft. Rationale Antibiotikatherapie bei Infektionen der unteren Atemwege. URL: [https://www.kbv.de/html/1150\\_28014.php](https://www.kbv.de/html/1150_28014.php).  
Zugriff am 19. Feb. 2018, 18.00 Uhr.
47. Kimia A, Ben-Joseph EP, Rudloe T, Capraro A, Sarco D, Hummel D, Johnston P, Harper MB (2010). Yield of lumbar puncture among children who present with their first complex febrile seizure. *Pediatrics* 126: 62-69.
48. Kuturec M, Emoto SE, Sofijanov N, Dukovski M, Duma F, Ellenberg JH, Hirtz DG, Nelson KB (1997). Febrile seizures: is the EEG a useful predictor of recurrences? *Clinical Pediatrics* 36(1):31-6.
49. Krause JC, Panning M, Hengel H, Henneke P (2014). The role of multiplex PCR in respiratory tract infections in children. *Deutsches Ärzteblatt* 111: 639–645
50. Lawyer FC, Stoffel S, Saiki RK, Chang SY, Landre PA, Abramson RD, Gelfand DH (1993). High-level expression, purification, and enzymatic characterization of full-length *Thermus aquaticus* DNA polymerase and a truncated form deficient in 5' to 3' exonuclease activity. *PCR Methods and Application* 2: 275-287.
51. Lee LG, Connell CR, Bloch W (1993). Allelic discrimination by nick-translation PCR with fluorogenic probes. *Nucleic Acids Research* 21: 3761-3766
52. Mastrangelo M, Midulla F, Moretti C (2014). Actual insights into the clinical management of febrile seizures. *European Journal of Pediatrics* 173: 977-82.
53. Millichap JJ, Millichap JG (2008). Empiric Use of Antibiotics for Treatment of Respiratory Infection and Febrile Seizures. *The Journal of Infectious Diseases* 198: 1094-1095.
54. Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich, H (1986). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology* 51: 263-273.
55. Napolitano F, Izzo MT, Di GG, Angelillo IF (2013). Public knowledge, attitudes, and experience regarding the use of antibiotics in Italy. *Public Library of Science. One* 8(12): e84177 10.1371/journal.pone.0084177
56. Nelson KB; Ellenberg JH (1976). Predictors of epilepsy in children who have experienced febrile seizures. *The New England Journal of Medicine* 295: 1029-1033
57. Nelson KB; Ellenberg JH (1978). Prognosis of children with febrile seizures. *Pediatrics*. 61: 720-27

58. Neubauer BA, Groß S, Hahn A (2008). Epilepsy in Childhood and Adolescence. *Deutsches Ärzteblatt* 105: 319-328.
59. Niehues T (2013). Das fiebernde Kind. Diagnostisches Vorgehen und Behandlung. *Deutsches Ärzteblatt* 110: 764-74.
60. Offringa M, Hazebroek-Kampschreur AAJM, Derksen-Lubsen G (1991). Prevalence of febrile seizures in Dutch school children. *Paediatric and Perinatal Epidemiology* 5: 181-8
61. Patel N, Ram D, Swiderska N, Mewasingh LD, Newton RW, Offringa M (2015). Febrile seizures. *British Medical Journal* 18: 4240.
62. Pavlidou E, Tziritidou M, Ramantani G, Panteliadis C (2006). Indications for intermittent diazepam prophylaxis in febrile seizures. *Klinische Pädiatrie* 218: 264-269.
63. Peiris J, Tang W, Chan K (2003). Children with respiratory disease associated with metapneumovirus in Hong Kong. *Emerging Infectious Diseases* 9: 628-633.
64. Quiagen GmbH (2015). Ipsogen WT1 ProfileQuant Kit (ELN) Handbuch. Hilden, Deutschland. URL: <https://www.qiagen.com/jp/resources/download.aspx?id=fbe27c54-9235-474f-8fe1-d607792c39a3&lang=de-DE>. Zugriff am 15.05.2019, 14.00 Uhr.
65. Rantala H, Tarkka R, Uhari M (1997). A meta-analytic review of the preventive treatment of recurrences of febrile seizures. *The Journal of Pediatrics* 131: 922-5.
66. Rhedin S, Lindstrand A, Rotzén-Östlund M, Tolfvenstam T, Ohrmalm L, Rinder MR, Zwegberg-Wirgart B, Ortqvist A, Henriques-Normark B, Broliden K, Naucler P (2014). Clinical utility of PCR for common viruses in acute respiratory illness. *Pediatrics* 33: 538-45.
67. Roche Diagnostics GmbH Deutschland (2008), LightCycler 480 Instrument Operator's Manual. URL: [http://icob.sinica.edu.tw/pubweb/biochem/Core%20Facilities/Data/R401-core/LightCycler480%20II\\_Manual\\_V1.5.pdf](http://icob.sinica.edu.tw/pubweb/biochem/Core%20Facilities/Data/R401-core/LightCycler480%20II_Manual_V1.5.pdf). Zugriff am 25.05.2019, 15.00 Uhr.
68. Roche Diagnostics GmbH Deutschland (2008), LightCycler 480 Probes Master. URL: <https://www.n-genetics.com/products/1295/1023/14086.pdf>. Zugriff am 15.05.2019, 11.00 Uhr.
69. Roche Molecular Systems (1999-2018). LightCycler 480 Detection Formats. URL: [https://lifescience.roche.com/en\\_de/articles/lightcycler-480-detection-formats.html](https://lifescience.roche.com/en_de/articles/lightcycler-480-detection-formats.html). Zugriff am 20.05.2019, 12.00 Uhr.
70. Rosman NP, Colton T, Labazzo J, Gilbert PL, Gardella NB, Kaye EM, Van Bennekom C, Winter MR (1993). A controlled trial of diazepam administered during febrile illnesses to prevent recurrence of febrile seizures. *The New England Journal of Medicine* 329: 79-84.

71. Sakthivel SK, Whitaker B, Lu X, Oliveira DBL, Stockman LJ, Kamili S, Oberste MS, Erdmann DD (2012). Comparison of fast-track diagnostics respiratory pathogens multiplex real-time RT-PCR assay with in-house singleplex assays for comprehensive detection of human respiratory viruses. *Journal of Virological Methods* 185: 259-66.
72. Schauer U, Ihorst G, Rohwedder A, Petersen G, Berner R, Frank HD, Forster J, Stephan V (2007). Evaluation of respiratory syncytial virus detection by rapid antigen tests in childhood. *Klinische Pädiatrie* 219: 212-6.
73. Schild TA (1996). Einführung in die Real-Time TaqMan TM PCR-Technologie. Version 2.1. URL: <https://www.core-facility.uni-freiburg.de/qpcrddpcr/lc480obj/sdsman>. Zugriff am 29.07.2019, 12.00 Uhr.
74. Sfaihi L, Maaloul I, Kmiha S et al (2012). Febrile seizures: an epidemiological and outcome study of 482 cases. *Child's Nervous System* 28: 1779–1784
75. Shah PB, James S, Elayaraja S (2014). EEG for children with complex febrile seizures. *Cochrane database of systematic reviews* 24: 1.
76. Shinnar S, Glauser TA (2002). Febrile seizures. *Journal of Child Neurology* 17 (1): 44-52.
77. Strengell T, Uhari M, Tarkka R, Uusimaa J, Alen R, Lautala P, Rantala H (2009). Antipyretic agents for preventing recurrences of febrile seizures: randomized controlled trial. *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine* 163: 799-804.
78. Subcommittee on Febrile Seizures; American Academy of Pediatrics (2011). Febrile seizures: Guideline for a neurodiagnostic evaluation of the child with simple febrile seizure. *Pediatrics* 127: 389.
79. Subramony A, Zachariah P, Krones A, Whittier S, Saiman L (2016). Impact of Multiplex Polymerase Chain Reaction Testing for Respiratory Pathogens on Healthcare Resource Utilization for Pediatric Inpatients. *The Journal of Pediatrics* 173:196-201.
80. Tsuboi T, Okada S (1984). Seasonal variation of febrile convulsion in Japan. *Acta Neurologica Scandinavica* 69: 285-292.
81. Uhari M, Rantala H, Vainionpaa L, Kurttila R (1995). Effect of acetaminophen and of low intermittent doses of diazepam on prevention of recurrences of febrile seizures. *The Journal of Pediatrics* 126: 991-995
82. van Zeijl JH, Mullaart RA, Galama JM (2002). The pathogenesis of febrile seizures: is there a role for specific infections? *Reviews in Medical Virology* 12: 93-106.
83. Vestergaard M, Pedersen MG, Ostergaard JR, Pedersen CB, Olsen J, Christensen J (2008). Death in children with febrile seizures: a population-based cohort study. *The Lancet* 372: 457-463.
84. Waruiru C, Appleton R (2004). Febrile seizures: an update. *Archives of Disease in Childhood* 89: 751-756

85. Wishaupt JO, Russcher A, Smeets LC, Versteegh FGA, Hartwig NG (2011). Clinical impact of RT-PCR for pediatric acute respiratory infections: a controlled clinical trial. *Pediatrics* 128: 1113–20
86. World Health Organization. World Health Organization Media Centre; Meningococcal meningitis. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs141/en/>.  
Zugriff am 20.06.2019, 11.00 Uhr.

## 9. PUBLIKATIONSVERZEICHNIS

### **Publizierte Abstracts:**

Meyer S, Rissland J, Simon A, Poryo M, Gortner L, Naric J (2016). Multiplex polymerase chain reaction testing in pediatric patients with febrile seizures.

The Journal of Pediatrics 179: 274-275. Epub: 23. August 2013.

Naric J, Rissland J, Simon A, Poryo M, Gortner L, Meyer S. Role of multiplex PCR analysis in children with febrile seizures (2017). Wiener Medizinische Wochenschrift 167(11-12): 246-250. Epub: 20. Juni 2016.

Sascha Meyer, Jelena Naric, Jürgen Rissland, Arne Simon, Ludwig Gortner, Martin Poryo.

The role of multiplex pcr analysis in children with febrile seizures.

43. Jahrestagung der Gesellschaft für Neonatologie und Intensivmedizin e.V. (GNPI), 08.-10. Juni 2017, Dresden. Poster 1; Seite 101.

## 10. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AAP	American Academy of Pediatrics
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften
CrP	C-reaktives Protein
cMRT	kraniale Magnetresonanztomografie
CMV	Zytomegalievirus
Ct	cycle threshold (Schwellenwert)
Cp	crossing point
Cy5	Cyanine 5
DFA	direct immunfluorescence assay
DNA	deoxyribonucleid acid
DTP	Diphtherie, Tetanus, Pertussis
EEG	Elektroenzephalographie
ELISA	ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay)
EV	Enterovirus
FAM	6-Carboxy-Fluorescein
FEB-Loci	familiar febrile convulsions
FRET	Förster-Resonanzenergietransfer
FTD	Fast Track Diagnostics
GABA	Gamma-Aminobutyric acid
GABRD	Gamma-Aminobutyric Acid Type A Receptor Delta Subunit
GABRG2	Gamma-Aminobutyric Acid Type A Receptor Gamma 2 Subunit
GEFS+	Generalized Epilepsy with Febrile Seizures plus
HadV/	Humanes Adenovirus
HAsV	



## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

---

HBoV	Humanes Bocavirus
hCoV	Humanes Coronavirus
HEX	Hexachloro-6-carboxyfluorescein
HHV	Humanes Herpesvirus
HPeV	Humanes Parechovirus
HPIV	Human parainfluenza virus
HRSV	Human Respiratory-Syncytial-Virus
HRV	Humanes Rhinovirus
IAV	Influenza A-Virus
IBV	Influenza B-Virus
ICD	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems
kgKG	Kilogramm pro Körpergewicht
MMR	Mumps-Masern-Röteln
M-PCR	Multiplex-PCR
NoV	Norovirus
PCR	polymerase chain reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
PCT	Procalcitonin
RoV	Rotavirus
ROX	6-Carboxy-X-rhodamin
RSV	Respiratory-Syncytial-Virus
RT-PCR	Real-time PCR
SaV	Sapovirus
SCN1A	Sodium voltage-gated channel alpha subunit 1
SCN1B	Sodium voltage-gated channel beta subunit 1
TAMRA	6-Carboxy-tetramethyl-rhodamin
ZNS	zentrales Nervensystem

## 11. TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Einteilung Fieberkrampf .....	10
Tabelle 2: Übersicht der Antibiotikaverordnung in unterschiedlichen Altersgruppen .....	21
Tabelle 3: Reaktionsgemisch für den LightCycler 480 (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Deutschland) .....	29
Tabelle 4: Panel der respiratorischen Multiplex-PCR (Fast Track Diagnostics, Esch-sur-Alzette, Luxemburg) .....	30
Tabelle 5: Panel der gastrointestinalen Multiplex-PCR (Fast Track Diagnostics, Esch-sur-Alzette, Luxemburg) .....	31
Tabelle 6: Temperaturzyklen der Thermoeinheit des LightCycler 480 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) .....	32
Tabelle 7: Detektorprogramm der respiratorischen Multiplex-PCR (Fast Track Diagnostics, Esch-sur-Alzette, Luxemburg) .....	36
Tabelle 8: Detektorprogramm der gastrointestinalen Multiplex-PCR (Fast Track Diagnostics, Esch-sur-Alzette, Luxemburg) .....	37
Tabelle 9: Auswertung der Ct-Werte .....	37
Tabelle 10: Einteilung in unkomplizierte und komplizierte Fieberkrämpfe (2009 – 2013) .....	46
Tabelle 11: Einteilung der Fieberkrämpfe gemäß der AWMF S2-Leitlinie .....	47
Tabelle 12: Virologische Nachweise (2009 – 2013) .....	52
Tabelle 13: Leukozyten-, Procalcitonin- (PCT) und CrP-Werte bei Aufnahme der Patienten .....	58
Tabelle 14: Glukose- und Elektrolythaushalt bei Aufnahme der Patienten .....	58
Tabelle 15: Indikationen für einer Lumbalpunktion.....	59
Tabelle 16: Elektroenzephalographien (2009 – 2013) .....	60
Tabelle 17: Auffälligkeiten im EEG und Anzahl der durchgeführten Lumbalpunktionen .....	60
Tabelle 18: Maßnahme der Eltern bei einem Fieberkrampf (2009 – 2013) .....	61
Tabelle 19: Diazepamgabe durch die Eltern bei einem Fieberkrampf .....	61

Tabelle 20: Vergleich der Anzahl von ambulant antibiotisch behandelten Patienten mit Infektfokus und Virennachweis (2009 – 2013).....	62
Tabelle 21: Antibiotikaverordnung während des Klinikaufenthaltes (2009 – 2013) .....	65
Tabelle 22: Vergleich der antibiotischen Therapie von 2009 bis 2013 .....	66

## 12. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Energietransfer (FRET, Förster-Resonanzenergietransfer) des Donors auf den Akzeptor .....	18
Abbildung 2: Indikationen für eine antibiotische Therapie .....	21
Abbildung 3: BOOM-Extraktionsprinzip .....	27
Abbildung 4: Extraktionsprinzip mit NucliSENS easyMAG (Familie bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Frankreich) .....	28
Abbildung 5: Amplifikation durch LightCycler 480 (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Deutschland) .....	33
Abbildung 6: Überblick des Exzitations- und Emissionsfilters der LED-Lichtquelle des LightCyclers 480 (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Deutschland) .....	33
Abbildung 7: Visualisierung der PCR-Reaktion.....	35
Abbildung 8: Grundlage einer PCR-Reaktion mittels LightCycler 480 (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Deutschland) .....	35
Abbildung 9: Patientenkollektiv mit der Diagnose Fieberkrampf (2009 - 2013) .....	40
Abbildung 10: Alterseinteilung der Patienten mit der Diagnose Fieberkrampf .....	41
Abbildung 11: Jahreszeitliche Einteilung der Patientenaufnahme .....	41
Abbildung 12: Monatliche Einteilung der Patientenaufnahme .....	42
Abbildung 13: Tageszeitliches Auftreten der Fieberkrämpfe .....	42
Abbildung 14: Familiäre Belastung bezüglich Fieberkrämpfen und Epilepsien .....	43
Abbildung 15: Familiäre Belastung bezüglich Fieberkrämpfen .....	44
Abbildung 16: Familiäre Belastung bezüglich Epilepsien .....	44
Abbildung 17: Anzahl der Fieberkrämpfe (2009 – 2013) .....	45
Abbildung 18: Einteilung der Infektfoki der Fieberkrämpfe (2009 – 2013).....	48
Abbildung 19: Ko-Infektionen bei Kindern mit Fieberkrämpfen (2009 – 2013) .....	49
Abbildung 20: Nachweis eines infektiösen Agens (2009 – 2013).....	49
Abbildung 21: Gegenüberstellung der Erregernachweise (Viren/Bakterien) .....	50
Abbildung 22: Virennachweise der einzelnen Jahre (2009 – 2013) .....	51

Abbildung 23: Virennachweise (mittels Zellkulturen, Immunassay-Verfahren, Singleplex-PCR im Jahr 2009 .....	51
Abbildung 24: Anzahl der durchgeführten respiratorischen und gastrointestinalen M-PCR (2010 – 2013).....	52
Abbildung 25: Positive Befunde durch die M-PCR (2010 – 2013).....	53
Abbildung 26: Befunde der respiratorischen M-PCR (2010 – 2013) .....	54
Abbildung 27: Virennachweise durch die respiratorische M-PCR (2010 – 2013) .....	54
Abbildung 28: Einsatz der respiratorischen M-PCR und Befunde (2010 – 2013) .....	55
Abbildung 29: Anzahl der Viren mittels respiratorischer M-PCR .....	55
Abbildung 30: Befunde der gastrointestinalen M-PCR (2010 – 2013) .....	56
Abbildung 31: Einsatz der gastrointestinalen M-PCR und Befunde (2010 – 2013).....	56
Abbildung 32: Virennachweise durch die gastrointestinale M-PCR (2010 – 2013).....	57
Abbildung 33: Anzahl der Viren durch die gastrointestinale M-PCR.....	57
Abbildung 34: Vergleich der antibiotischen Vorbehandlung und der Weiterbehandlung der Patienten (2009 – 2013) .....	63
Abbildung 35: Gegenüberstellung der ambulant und in der Klinik verordneten Antibiotika ...	63
Abbildung 36: Auflistung der Antibiotika der vorbehandelten Patienten (2009 – 2013) .....	64
Abbildung 37: Auflistung der Antibiotika bei vortherapierten Patienten während Klinikaufenthalt (2009 – 2013) .....	64
Abbildung 38: Anzahl der antibiotisch behandelten Patienten während Klinikaufenthalt (2009 – 2013) .....	65
Abbildung 39: Vergleich der antibiotischen Behandlung mit pathogenem Erregernachweis (viral/bakteriell) .....	66
Abbildung 40: Fieberfokus bei antibiotisch behandelten Patienten (2009 – 2013) .....	67
Abbildung 41: Vergleich der antibiotischen Behandlung mit der Multiplex-PCR und den bakteriellen Nachweisen .....	67
Abbildung 42: Vergleich der Multiplex-PCR und ihrer Ergebnisse in Bezug auf die antibiotische Behandlung .....	68

Abbildung 43: Überblick über die am häufigsten verwendeten Antibiotika in der Klinik (2009 – 2013).....	69
Abbildung 44: Einteilung der Antibiotikagruppen während des stationären Aufenthaltes (2009 – 2013).....	70

## **13. DANKSAGUNG**

Diese Arbeit wurde unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Sascha Meyer in der Abteilung Neuropädiatrie der Universitätskinderklinik Homburg durchgeführt.

Ich danke vor allem für die freundliche Überlassung des Themas, die gute Betreuung und für die hilfreichen Anregungen bei der Überarbeitung der Dissertation.

Herrn Dr. med. Jürgen Rissland sowie Dr. rer. nat. Thorsten Pfuhl, Institut für Virologie, danke ich für die fachlich kompetente Unterstützung und Informationen bezüglich der Multiplex-PCR.

Ein herzlicher Dank gilt auch meinen Freunden und meiner Familie, vor allem meinen Eltern, die ihren Anteil zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.