

**Aus der Kinderklinik und Poliklinik  
der Universität Würzburg  
Direktor: Professor Dr. Ch. P. Speer**

**Die Serumprävalenz von Parvovirus B19  
bei rheumatischen Erkrankungen  
im Kindesalter**

**Inaugural - Dissertation**

**zur Erlangung der Doktorwürde der**

**Medizinischen Fakultät**

**der**

**Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg**

**vorgelegt von**

**Yvonne Süß-Fröhlich**

**aus Schweinfurt**

**Würzburg, August 2004**

**Referent: Priv.-Doz. Dr. med. Hermann Girschick**

**Koreferent: Professor Dr. med. Axel Rethwilm**

**Dekan: Professor Dr. med. Stefan Silbernagl**

**Tag der mündlichen Prüfung: 14.02.2005**

**Die Promovendin ist Zahnärztin**

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2. Patienten, Material und Methoden</b>	<b>5</b>
2.1 Dokumentation der Patienten	5
2.2 Herausfiltern der zu testenden Patienten	5
2.3 Einteilung in diagnostische Subgruppen	7
2.4 Definition der wichtigsten Subgruppen	9
2.4.1 Systemische Arthritis (Morbus Still)	10
2.4.2 Polyarthritis RF negativ	11
2.4.3 Polyarthritis RF positiv	11
2.4.4 Oligoarthritis	12
2.4.5 Enthesitis assoziierte Arthritis (EAA)	13
2.4.6 Psoriasis Arthritis	13
2.5 Kontrollpatienten	15
2.6 Parvovirus B19 – IgG Immunfluoreszenztest (IFT)	16
2.6.1 Untersuchungsmethode	16
2.6.2 Übersicht über Reagenzien und Verbrauchsmaterialien	16
2.6.3 Vorbereitung der Serumproben	17
2.6.4 Herstellung der Objektträger	18
2.6.5 Proben- und Kontrollauftragung	18
2.6.6 Untersuchungsdurchführung	19
2.6.7 Funktionsweise des Parvovirus B19-Immun- fluoreszenztests	20
2.6.8 Titerbestimmung und Interpretation	21
2.7 Statistische Analyse	22
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>23</b>
3.1 Ergebnisse der Patientenseren	23
3.2 Ergebnisse der Kontrollgruppen	25
3.3 Vergleich Patientenseren – Kontrollgruppen	26
3.4 Titervergleich Patientenseren – Kontrollgruppen	28

<b>4. Diskussion</b>	<b>31</b>
4.1 Beurteilung des Patientenkollektivs	31
4.1.1 Prozentuale Verteilung der einzelnen Subgruppen	31
4.1.2 Geschlechtsverteilung	32
4.1.3 Altersdurchschnitt	33
4.2 Interpretation der in dieser Studie ermittelten Ergebnisse	34
4.3 Beurteilung der Ergebnisse in den Kontrollgruppen unter Berücksichtigung von Literaturdaten zur Serumprävalenz von Parvovirus B19 in der Normalbevölkerung	35
4.4 Vergleich der im Rahmen dieser Studie ermittelten Serumprävalenzen in den Subgruppen mit Literaturdaten der Normalbevölkerung	37
4.5 Vergleich dieser Studie mit Daten einer ähnlichen Untersuchung	39
4.6 Kritikpunkte dieser Studie	40
<b>5. Zusammenfassung</b>	<b>41</b>
<b>6. Anhang</b>	<b>43</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>45</b>
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>47</b>
<b>Danksagung</b>	
<b>Lebenslauf</b>	

## 1. Einleitung

Rheuma wird in der Bevölkerung gewöhnlich mit Erwachsenen bzw. älteren Menschen assoziiert. Doch auch im Kindes- und Jugendalter sind rheumatische Erkrankungen weit verbreitet. So wird die Inzidenz juveniler rheumatoider Arthritiden (JRA) in der Literatur mit 4-5 Neuerkrankungen pro 100.000 Kinder angegeben, was ca. 750 bis 1.000 Neuerkrankungen pro Jahr in Deutschland entspricht. Die Prävalenz liegt bei 20 Erkrankungen pro 100.000 Kinder, das sind etwa 4.000 bis 5.000 Krankheitsfälle in Deutschland [1]. Neuere Daten aus der Kerndokumentation des deutschen Rheumaforschungszentrums in Berlin lassen eine Prävalenz von 10.000 bis 15.000 betroffenen Kindern in Deutschland vermuten [2].

Arthritiden im Kindesalter treten überwiegend als akute, reaktiv-postinfektiöse Formen auf, deren Ätiologie und Pathogenese in vielen Fällen nachvollziehbar ist. Reaktive Arthritiden treten oft nach Durchfallerkrankungen durch Keime wie Yersinien, Salmonellen, Shigellen und Campylobacter auf. Virale Arthritiden manifestieren sich bei Infektionen mit Mumpsvirus, Rötelnvirus, Epstein-Barr-Virus (EBV), Cytomegalievirus (CMV), Varizella-Zoster-Virus (VZV), Echo-Viren, Coxsackie-B-Viren und Parvovirus B19 und sind in der Regel selbstbegrenzt. Das akute rheumatische Fieber zählt ebenso zu den reaktiven Arthritiden und wird durch  $\beta$ -hämolyisierende Streptokokken hervorgerufen. Die septische Arthritis wird von der reaktiven abgegrenzt. Hier wird das Krankheitsbild durch infektiöse Erreger am Ort der Arthritis bestimmt. Dies sind zumeist Bakterien wie Staphylococcus aureus oder Hämophilus influenza. Bis auf wenige Ausnahmen sind diese akuten Arthritiden nur von kurzer Dauer, ca. 1-3 Monate, und hinterlassen kaum bleibende Gelenkschäden [3, 4].

Im Gegensatz zu den akuten sind bei den chronischen Verlaufsformen der juvenilen Arthritis jedoch die Ursachen zumeist unbekannt. Nur in wenigen Ausnahmen ist die Ätiologie eindeutig geklärt, wie etwa im Falle der Lyme Arthritis, die späte Form der Lyme Borreliose, hervorgerufen durch Infektion mit

*Borrelia burgdorferi*, übertragen durch die Schildzecke [3]. Jedoch weist die Lyme-Borreliose in ihrem chronischen Stadium auch Facetten einer autoimmunologisch-rheumatischen Erkrankung auf.

Die chronischen rheumatoiden Erkrankungen im Kindesalter mit ungeklärter Ätiologie werden als Juvenile Idiopathische Arthritiden (JIA) bezeichnet [5]. Einige der oben genannten Ursachen für akute rheumatische Erkrankungen werden auch als potentielle ätiologisch auslösende Faktoren der Juvenilen Idiopathischen Arthritis diskutiert. Für die Chronifizierung werden autoimmunologische Mechanismen vermutet. Besonders virale Infektionen werden als auslösende ätiologische Faktoren in Betracht gezogen. Hierbei war und ist das Humane Parvovirus B19 immer wieder Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen [6].

Das Humane Parvovirus B19 wurde erstmals 1974 durch Zufall entdeckt als Blut gesunder Spender hinsichtlich Hepatitis B untersucht wurde [7]. Es zählt zur Familie der Parvoviridae und hier zum Geschlecht Erythrovirus [8]. Das kleine, ikosaedrische DNA-Virus ist aus zwei Strukturproteinen (VP1 und VP2), einem Nichtstrukturprotein (NS1) und zwei sehr kleinen Proteinen mit bislang ungeklärter Funktion aufgebaut, die alle auf einem linearen, einsträngigen, aus 5596 Nukleotiden bestehendem DNA-Genom codiert sind [9, 10].

Das Virus ist durch Tröpfcheninfektion und über den Blutweg übertragbar [11] und ruft folgende klinische Erscheinungsbilder hervor:

- Erythema infectiosum (Ringelröteln) bei Kindern und Erwachsenen
- Transiente aplastische Krise bei Patienten mit chronischen hämolytischen Anämien verschiedenster Genese
- Arthralgien oder akute Arthritis bei Kindern und Erwachsenen
- Hydrops fetalis nach transplazentarer Infektion
- Chronische Anämie bei immunsupprimierten Patienten

Außerdem sind seltene Manifestationen, wie u. a. Panzytopenie, Meningitis, Enzephalopathie, Myokarditis, Hepatitis, Vaskulitis und das „gloves and socks“-Syndrom zu beobachten [11, 12].

Parvovirus B19 wurde in der Vergangenheit kontrovers diskutiert als kausaler Faktor in der Ätiologie und Pathogenese der Rheumatoiden Arthritis (RA). Im Erwachsenenalter gilt eine pathogenetische Rolle des Parvovirus B19 bei der Entstehung akuter Arthritiden als gesichert. So beschrieben beispielsweise Woolf et al. klinische Manifestationen von Parvovirus B19 bei Erwachsenen, wobei 26 von 54 Patienten mit einer Parvovirus B19-Infektion akute Polyarthropathien aufwiesen [13]. Auch Cassinotti et al. fanden Hinweise auf eine Assoziation zwischen Parvovirus B19-Infektionen und akuten Formen der Arthritis im Erwachsenenalter [14].

Zur ätiologischen Rolle von Parvovirus B19 bei der Entstehung chronischer Arthritiden sowohl im Erwachsenen- als auch im Kindesalter gibt es diverse Studien, die zu unterschiedlichen Schlüssen kommen. So sehen Kerr et al. trotz bereits beschriebener Fälle von chronischen Arthropathien nach Parvovirus B19-Infektion keinen Hinweis auf eine Beteiligung von Parvovirus B19 in der Ätiopathogenese der Rheumatoiden Arthritis [15]. Speyer et al. beschrieben zwar 54 Patienten mit Parvovirus B19-Infektion, die während der akuten Phase der Infektion alle Gelenkprobleme aufwiesen, wobei bei 61% eine Arthritis diagnostiziert wurde, jedoch entwickelte keiner der 54 erwachsenen Patienten in der Langzeitbetrachtung eine chronische Arthritis [16].

Naides et al. hingegen berichteten über neun erwachsene Patienten mit Erythema infectiosum, wovon acht Personen akute Gelenkprobleme hatten. Weitere zwölf Erwachsene mit serologischem Anti-Parvovirus B19-IgM-Nachweis zeigten Polyarthralgien oder Polyarthritiden. Hierbei erfüllten insgesamt zehn der zwölf Patienten drei bzw. vier diagnostische Kriterien der American Rheumatism Association für Rheumatoide Arthritis [17]. Auch Ishii et al. erklärten Parvovirus B19 zu einer möglichen Ursache für Rheumatoide Arthritis [18]. Takahashi et al. fanden bei 30 von 39 Patienten mit Rheumatoider

Arthritis im Synovium Parvovirus B19-DNA und schlossen auf eine Beteiligung von Parvovirus B19 bei der Initiierung und Unterhaltung der RA [19].

Studien über Parvovirus B19 als Erreger der Juvenilen Idiopathischen Arthritis sind in allen ethnischen Gruppen rar. Nocton et al. berichten über 22 Kinder mit akuten Arthralgien bzw. Arthritis nach Parvovirus B19-Infektion, wovon bei sechs Patienten die Symptome bis zu 13 Monaten andauerten, womit die Kriterien für die Juvenile rheumatische Arthritis erfüllt wären [20]. Kishore et al. fanden bei 54 von 69 indischen Kindern mit JRA statistisch signifikante Hinweise auf vorausgegangene Parvovirus B19-Infektion [21]. Lehmann et al. sahen eine hohe Prävalenz von Parvovirus B19-Infektionen bei juvenilem Morbus Still, der „systemischen“ Form von kindlichem Rheuma [6].

Um eventuell weitere Hinweise zu finden, die für oder gegen eine ätiologische Beteiligung von Parvovirus B19 bei der Entstehung von Juvenilen Arthritiden sprechen, ist die Untersuchung der Serumprävalenz von Parvovirus B19-IgG-Antikörpern an einer größeren Kohorte von Kindern mit JIA Gegenstand dieser Studie.

## **2. Patienten, Material und Methoden**

### **2.1 Dokumentation der Patienten**

Um eine Erfassung der von Rheuma betroffenen Kinder zu erreichen, wurden systematisch alle Patientenakten von Kindern, die im Zeitraum von Oktober 1988 bis April 2001 die Rheumasprechstunde der Kinderpoliklinik der Universität Würzburg konsultiert hatten, durchgesehen. Dabei wurde für jeden Patienten ein Dokumentationsblatt ausgefüllt, das neben persönlichen Daten des Kindes wie Name, Geburtsdatum, Geschlecht und Alter auch Diagnose, die wichtigsten Laborwerte, bisherige Parvovirus B19-Serologie und anamnestische Daten festhielt. Insgesamt wurden auf diese Weise 658 Patienten erfasst, die in oben genanntem Zeitraum die Rheumasprechstunde besucht hatten.

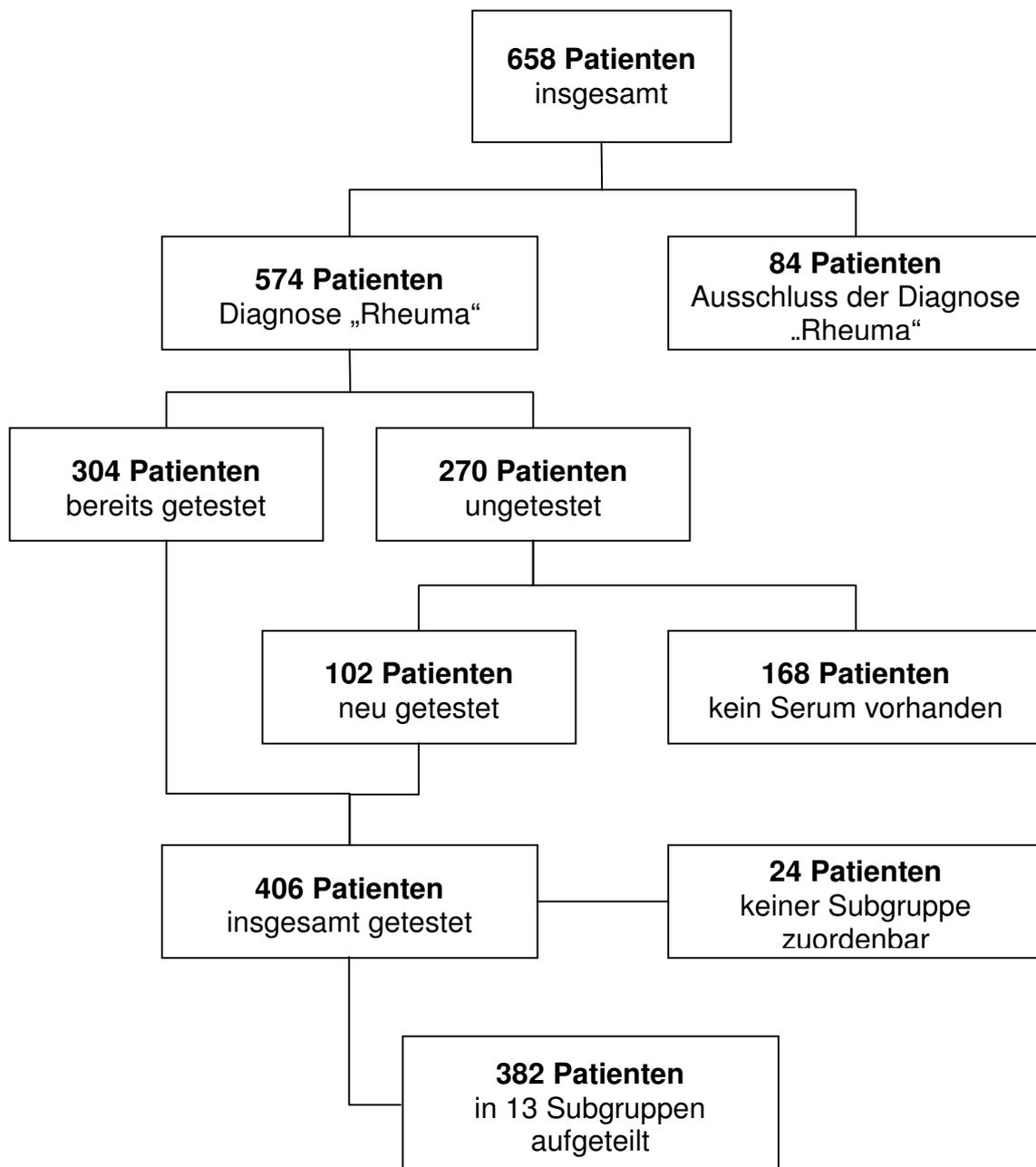
Anhand dieser Dokumentationsbögen wurde dann mit dem Computerprogramm Microsoft Excel 97<sup>®</sup> eine Datenbank erstellt, die alle Patientendaten tabellarisch erfasst. Im Anhang sind beispielhaft in Abbildung 1 das Dokumentationsblatt und in Abbildung 2 ein Ausschnitt aus dieser Datenbank aufgeführt.

### **2.2 Herausfiltern der zu testenden Patienten**

Von den 658 erfassten Patienten wurden 84 initial aussortiert, da sich bei diesen Kindern eine rheumatische Erkrankung ausschließen ließ. 574 Kinder konnten diagnostisch entweder einer JIA oder aber einem verwandten Krankheitsbild aus dem rheumatischen Formenkreis zugeordnet werden. Von diesen waren bereits 304 Patienten auf Parvovirus B19-Antikörper getestet worden. Von 270 Patienten lag noch keine Parvovirus B19-Serologie vor. Davon fielen 168 Patienten weg, da von ihnen kein Serum gefroren gelagert war. Von den verbliebenen 102 Patienten waren Serumproben vom frühest möglichen Zeitpunkt nach Erkrankungsbeginn vorhanden, die wie nachfolgend erklärt mittels Immunfluoreszenztest auf Parvovirus B19-IgG-Antikörper

untersucht wurden. Von den insgesamt 406 getesteten Patienten konnten 24 keiner Subgruppe aus dem rheumatischen Formenkreis zugeordnet werden. Somit ergab sich eine Gesamtsumme von 382 getesteten Patienten, die wie nachfolgend in verschiedene Subgruppen unterteilt wurden. Abbildung 3 veranschaulicht den Ablauf der Patientenfilterung nochmals in Form eines Flussdiagramms.

**Abb. 3.** Flussdiagramm zur Darstellung der Patientenverteilung.



## 2.3 Einteilung in diagnostische Subgruppen

Mit Hilfe der o. g. Excel-Datentabelle wurden die 382 Patienten in verschiedene Diagnose-Gruppen eingeteilt. Die Zuordnung in die entsprechende Gruppe erfolgte bei jedem Patienten nach der in der Patientenakte vermerkten Hauptdiagnose unter Einhaltung der 1997 in Durban durch die International League of Associations for Rheumatology (ILAR) festgelegten Kriterien [5]. Die wichtigsten Subtypen der JIA sind im Kapitel 2.4 genauer definiert.

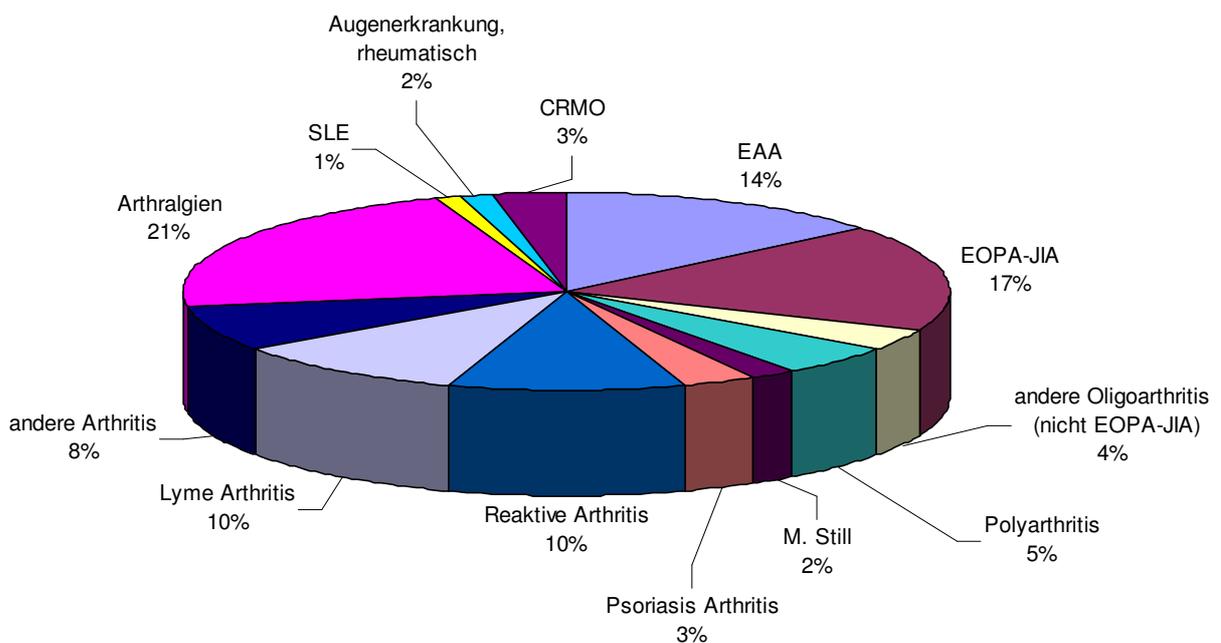
Es ergab sich eine Unterteilung in 13 verschiedene Subgruppen:

- Enthesitis assoziierte Arthritis (EAA)
- Frühkindliche Oligoarthritis (Early Onset Pauciarticular Juvenile Idiopathic Arthritis, EOPA-JIA)
- Oligoarthritis, andere Oligoarthritis (nicht der EOPA-JIA zuordenbar)
- Polyarthritis (Rheumafaktor (RF) negative (RF-) und RF positive (RF+) Subgruppe zusammengefasst)<sup>1</sup>
- Morbus Still (M. Still, Systemische Arthritis)
- Psoriasis Arthritis
- Reaktive Arthritis
- Lyme Arthritis
- „andere“, nicht näher klassifizierbare Arthritis
- Arthralgien
- Systemischer Lupus erythematoses (SLE)
- Chronisch rezidivierende multifokale Osteomyelitis (CRMO)
- Augenerkrankung, rheumatisch

<sup>1</sup>Aufgrund der geringen Anzahl von Patienten mit der Diagnose Polyarthritis RF positiv (n=3) wurden die beiden Diagnosen Polyarthritis RF positiv und Polyarthritis RF negativ zur Subgruppe Polyarthritis zusammengefasst und werden im Folgenden weitestgehend gemeinsam betrachtet.

Zur Verdeutlichung der Patientenverteilung sind in Abbildung 4 die verschiedenen Untergruppen in ihrem prozentualen Anteil am Gesamtkollektiv der getesteten Patienten veranschaulicht:

**Abb. 4.** Prozentuale Verteilung der Subgruppen. - Die Patienten wurden aufgrund ihrer Diagnose in 13 Subgruppen unterteilt. Die Grafik zeigt den prozentualen Anteil der Subgruppen von insgesamt 382 Patienten.



Zur näheren Betrachtung der Patienten innerhalb der einzelnen Gruppen sind in Tabelle 1 einige demographische Daten zusammengestellt.

**Tabelle 1.** Demographische Daten der Patienten der einzelnen Gruppen.

Subgruppe	Anzahl	Durchschnitts- alter <sup>2</sup> (in Monaten)	Alters- bereich <sup>2</sup> (in Monaten)	Geschlecht (%)	
				m	w
EAA	54	139	23-219	38,9	61,1
EOPA-JIA	67	54	15-180	23,9	76,1
Andere Oligoarthritis (nicht EOPA-JIA)	13	127	57-225	61,5	38,5
Polyarthritis (RF+ u. RF-)	19	116	31-188	21,1	78,9
M. Still	8	80	58-133	0	100
Psoriasis Arthritis	11	128	16-180	36,4	63,6
Reaktive Arthritis	38	90	22-194	68,4	31,6
Lyme Arthritis	37	122	33-186	56,8	43,2
Andere Arthritis	28	106	12-181	50	50
Arthralgien	85	111	27-198	51,8	48,2
SLE	4	156	116-191	0	100
CRMO	12	138	81-184	33,3	66,7
Augenerkrankung, rheumatisch	6	87	45-133	16,7	83,3

<sup>2</sup> hierbei handelt es sich um das Alter bei Entnahme der untersuchten Blutprobe

## 2.4 Definition der wichtigsten Subgruppen

1997 wurde von der ILAR in Durban eine neue Klassifikation der JIA mit entsprechenden Klassifikationskriterien erarbeitet [5]. Danach werden die folgenden sieben Subgruppen der JIA definiert:

- Systemische Arthritis (Morbus Still)
- Polyarthritis (RF -)
- Polyarthritis (RF +)
- Oligoarthritis (inklusive EOPA-JIA)
  - Persistierend
  - Extended
- Enthesitis assoziierte Arthritis (EAA)
- Psoriasis Arthritis
- Andere Arthritis
  - Kriterien für keine der ersten sechs Subgruppen erfüllt
  - Kriterien für mehr als eine Kategorie erfüllt

Die ersten sechs Subtypen der JIA sollen hier kurz stichpunktartig definiert und beschrieben werden, wobei die 1997 in Durban festgelegten Kriterien Anwendung finden [5].

#### **2.4.1 Systemische Arthritis (Morbus Still)**

##### Definition:

- Arthritis mit oder mit vorausgehendem täglichem hohem Fieber über zwei Wochen, assoziiert mit mindestens einem der folgenden Kriterien:
  - feinfleckiges flüchtiges blassrosa Exanthem
  - Lymphadenopathie generalisiert
  - Hepato- oder Splenomegalie
  - Serositis (Pleuritis, Perikarditis)

##### Ausschlusskriterien:

- Infektiöse und maligne Erkrankungen (Leukämie, Histiozytose, Sarkoidose)

Beschreibung:

- Oft erst nach Wochen entwickeln die Kinder eine Oligo- oder Polyarthritits (manchmal bis zu sechs Monate; bis dahin handelt es sich um FUO – fever of unknown origin)

#### **2.4.2 Polyarthritits RF negativ**

Definition:

- Fünf und mehr Gelenke sind von Arthritits in den ersten sechs Monaten betroffen
- RF negativ

Ausschlusskriterien:

- Systemische Zeichen wie Fieber, Beteiligung innerer Organe etc.
- RF positiv

Beschreibung:

- Oft symmetrischer Befall, auch der kleinen Fingergelenke
- Antinukleäre Antikörper (ANA) zu 25% positiv
- Akute oder chronische Uveitits möglich
- Gelenkfehlstellungen und Funktionseinschränkungen sind häufig

#### **2.4.3 Polyarthritits RF positiv**

Definition:

- Fünf und mehr Gelenke sind von Arthritits in den ersten sechs Monaten betroffen
- RF positiv zu zwei verschiedenen Zeitpunkten im Abstand von 3 Monaten

#### Ausschlusskriterien:

- Systemische Zeichen wie Fieber, Beteiligung innerer Organe etc.
- RF negativ

#### Beschreibung:

- Oft symmetrischer Befall, auch der kleinen Fingergelenke
- ANA zu 75% positiv
- keine Uveitis
- Gelenkfehlstellungen, Funktionseinschränkungen, Gelenkzerstörung sind häufig
- Immunogenetische Charakteristik entspricht der adulten rheumatoiden Arthritis (HLA DR4)

### **2.4.4 Oligoarthritis**

#### Definition:

- Weniger als fünf Gelenke sind von Arthritis in den ersten sechs Monaten betroffen
- Im Verlauf ergeben sich zwei Gruppen:
  - persistent Oligoarthritis (im Verlauf weniger als fünf Gelenke)
  - extended Oligoarthritis (im Verlauf kumulativ mehr als fünf Gelenke)

#### Ausschlusskriterien:

- systemische Zeichen, RF positiv, Psoriasis
- HLA B27 positiv bei einem mehr als acht Jahre alten Jungen
- HLA B27 assoziierte Arthritis oder chronisch entzündliche Darmerkrankung in der Familie

#### Beschreibung:

- meist große Gelenke
- ANA zu 50% positiv

- Uveitis, chronische Iridozyklitis
- Immunogenetische Charakteristik (DR5, DR8)

#### **2.4.5 Enthesitis assoziierte Arthritis (EAA)**

##### Definition:

- Arthritis und Enthesitis
- Arthritis oder Enthesitis und zumindest zwei der folgenden Kriterien:
  - sakroiliakale Entzündung
  - HLA B27 Positivität
  - HLA B27 assoziierte Erkrankung in der Familie
  - anteriore Uveitis
  - Beginn der Erkrankung bei einem Jungen ab dem achten Lebensjahr

##### Ausschlusskriterien:

- systemische Zeichen, Psoriasis

##### Beschreibung:

- Meist große Gelenke, asymmetrischer Befall, ein Befall des Achsenskeletts ist möglich, Befall der Finger- und Zehenglieder
- Entzündung periartikulärer Bänder, Sehnenansätze und Sehnenscheiden
- Karditis mit Aorteninsuffizienz möglich

#### **2.4.6 Psoriasis Arthritis**

##### Definition:

- Arthritis mit Psoriasis
- Arthritis mit mindestens zwei der folgenden Kriterien:
  - Psoriasis bei einem Verwandten ersten Grades
  - Daktylitis
  - Psoriasiforme Nagelveränderungen

Ausschlusskriterien:

- Systemische Zeichen wie Fieber, Beteiligung innerer Organe etc.
- RF positiv

Beschreibung:

- Meist oligoartikulärer Befall aber auch polyartikulärer, symmetrischer Befall großer Gelenke, oft Kniegelenke, ein Befall des Achsenskeletts ist möglich, oft kleine Gelenke der Finger und Zehen betroffen
- ANA positiv
- Uveitis, akute oder chronische Iridozyklitis
- HLA-Assoziation

## 2.5 Kontrollpatienten

Als Kontrollpatienten dienten insgesamt 146 Kinder, die entweder in der Endokrinologiesprechstunde der Universitäts-Kinderklinik Würzburg vorstellig wurden, oder in der Rheumasprechstunde, wobei jedoch eine rheumatoide Erkrankung ausgeschlossen wurde. Die Kinder wurden entsprechend ihres Alters in drei Gruppen aufgeteilt, so dass für jede der 13 Subgruppen eine passende Kontrollgruppe zur Verfügung stand, deren Abweichung des Durchschnittsalters nicht mehr als 18 Monate betrug.

Tabelle 2 zeigt die Anzahl, das Durchschnittsalter und den Altersbereich der Kontrollpatienten innerhalb der drei Gruppen.

**Tabelle 2.** Demographische Daten der Kontrollpatienten.

	<b>Anzahl</b>	<b>Durchschnittsalter in Monaten</b>	<b>Altersbereich in Monaten</b>
Gruppe 1	36	66	9-111
Gruppe 2	30	107	18-190
Gruppe 3	80	134	23-220

## 2.6 Parvovirus B19 – IgG Immunfluoreszenztest (IFT)

### 2.6.1 Untersuchungsmethode

Der Nachweis der Parvovirus B19-IgG-Antikörper erfolgte durch das Testverfahren der indirekten Immunfluoreszenz. Hierzu wurden Blutserum- oder Plasmaproben benötigt. In diesem Falle waren im Institut für Virologie und Immunbiologie der Universität Würzburg Blutserumproben von Patienten sowie Kontrollpatienten vorhanden. Dabei handelte es sich um Reste von Proben, die für virologische Routineuntersuchungen an das Institut für Virologie und Immunbiologie geschickt worden waren. Die Lagerung der Probenreste erfolgte bei  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### 2.6.2 Übersicht über Reagenzien und Verbrauchsmaterialien

Die zur Ausführung der Immunfluoreszenztests verwendeten Reagenzien sind mit Ihrem Verwendungszweck, dem jeweiligen Hersteller und ggf. mit der Chargennummer in Tabelle 3 dargestellt:

**Tabelle 3.** Übersicht über verwendete Materialien und Reagenzien.

Reagenz	Hersteller	Charge	Verwendung
Anti-Human-IgG-FITC	Fa. Medac, Wedel	3001101	Antikörperdarstellung
Eindeckmedium	Fa. Mast, Reinfeld	E 071/00	Eindecken der Objektträger
Evans-Blue	Fa. Mast, Reinfeld		Zellgegenfärbung
PBS	Eigenproduktion		Probenverdünnung
Tween 20	Fa. Roth, Karlsruhe		Detergenz zum Waschen der Objektträger
Objektträger mit VP1-exprimierenden SF9-Insektenzellen	Eigenproduktion		Antikörpernachweis

### 2.6.3 Vorbereitung der Serumproben

Auf Mikrotiterplatten mit 12 x 8 Vertiefungen wurden Verdünnungsreihen der Patientenseren erstellt, d. h. durch Überpipettieren der mit phosphate buffered saline (PBS) verdünnten Seren erhielt man eine fortlaufende Verdünnung von 1:10 bis 1:640 in Zweier-Schritten. Außerdem lief bei jedem Untersuchungsdurchgang eine Positiv-Kontrolle mit, von der auch eine Verdünnungsreihe erstellt wurde. Die positive Kontrolle bestand aus einer mit PBS verdünnten Serum-Mischung eines Parvovirus B19-IgG positiven Patientenpools. Als negative Kontrolle diente PBS. Die Erstellung der Verdünnungsreihen sowohl der Patientenseren als auch der positiven Kontrolle erfolgte nach in Tabelle 4 aufgezeigtem Schema:

**Tabelle 4.** Schema zur Erstellung der Verdünnungsreihen.

Vertiefung	PBS ( $\mu$ l)	Serum ( $\mu$ l)	Überpipettieren ( $\mu$ l)	Verdünnung
1	270	30	150 (in 2)	1 : 10
2	150		150 (in 3)	1 : 20
3	150		150 (in 4)	1 : 40
4	150		150 (in 5)	1 : 80
5	150		150 (in 6)	1 : 160
6	150		150 (in 7)	1 : 320
7	150			1 : 640

#### 2.6.4 Herstellung der Objektträger

Zur Durchführung der Immunfluoreszenztests wurden entsprechend vorbereitete Objektträger benötigt. Hierzu wurden die acht Felder der Objektträger mit SF9-Zellen beschichtet. Die SF9-Zellen exprimierten durch Infektion mit rekombinanten Baculoviren das Parvovirus B19-Protein VP1. Die Fixierung erfolgte durch Aceton.

#### 2.6.5 Proben- und Kontrollauftragung

Pro Objektträger wurden Proben von jeweils zwei Patienten aufgetragen, wobei die Felder 1-4 mit Serumverdünnungen von Patient 1 und die Felder 5-8 mit Verdünnungen von Patient 2 versehen wurden. Es wurden je Feld und je Patient jeweils 25 µl verdünntes Serum aufgetragen, wobei nur jede zweite Verdünnung (1:10, 1:40, 1:160, 1:640) verwendet wurde. In Abbildung 5 ist das Auftragsschema für einen Objektträger mit zwei Patienten ersichtlich:

**Abb. 5.** Patientenobjektträger.

Patient 1 <b>1:10</b>	Patient 1 <b>1:40</b>	Patient 1 <b>1:160</b>	Patient 1 <b>1:640</b>
Patient 2 <b>1:10</b>	Patient 2 <b>1:40</b>	Patient 2 <b>1:160</b>	Patient 2 <b>1:640</b>

Bei jedem Untersuchungsdurchgang lief ein Kontrollobjektträger mit. Hierzu wurden auf die Felder 1-7 jeweils 25 µl der verschiedenen Verdünnungen der positiven Kontrolle aufgetragen. Feld 8 wurde mit 25µl PBS als negative Kontrolle bestückt. In Abbildung 6 wird das Auftragsschema des Kontrollobjektträgers verdeutlicht:

**Abb. 6.** Kontrollobjektträger.

positive Kontrolle <b>1:10</b>	positive Kontrolle <b>1:20</b>	positive Kontrolle <b>1:40</b>	positive Kontrolle <b>1:80</b>
positive Kontrolle <b>1:160</b>	positive Kontrolle <b>1:320</b>	positive Kontrolle <b>1:640</b>	negative Kontrolle <b>PBS</b>

### 2.6.6 Untersuchungsdurchführung

Nach Auftragung der Patienten- und Kontrollseren erfolgte eine Inkubation der Objektträger für 90 Minuten im Brutschrank bei 37°C. Darauf folgte ein erster Waschvorgang, wobei die Objektträger nach Abspülen mit PBS zwei mal drei Minuten in der Waschlösung 0,1% Tween 20 in PBS gereinigt wurden und nochmals mit PBS abgespült wurden. Der Waschvorgang diente dem Entfernen von ungebundenen Antikörpern und damit der Verminderung unspezifischer Reaktionen. Nach Trocknung der Objektträger wurde auf alle Felder 25 µl einer Konjugatmischung aufgetragen, die sich aus PBS als Verdünnungsmedium, Evans-Blue zur Zellgegenfärbung und Anti-Human-IgG-Fluoreszein-isothiozyanat (FITC) zum Nachweis gebundener Antikörper zusammensetzte. Daraufhin wurde eine weitere Inkubation im Brutschrank bei 37°C für 30 Minuten durchgeführt. Nach einem zweiten Waschlösungsdurchgang zum Entfernen von ungebundenen Konjugat-Antikörpern, der im Prozedere dem ersten entsprach, wurden die Objektträger mit Deckgläsern unter Verwendung eines Einschlussmediums eingedeckt. Eine kurze Übersicht über die Untersuchungsdurchführung gibt das Verfahrensschema in Tabelle 5.

**Tabelle 5.** Verfahrensschema zur Untersuchungsdurchführung.

	Arbeitsschritt	Reagenz	Menge	Zeit
1.	Verdünnungsherstellung	Serum u. Positiv-Kontrolle	1:10 – 1:640	
2.	Seruminkubation	Serum u. Kontrollen	25 µl je Testfeld	90 min. bei 37°C
3.	1. Waschschrift	PBS	1 x abspülen	
		0,1% Tween 20 in PBS	2 x baden	je 3 min.
		PBS	1 x abspülen	
4.	Konjugatinkubation	PBS Evans-Blue Anti-Human-IgG-FITC	25 µl je Testfeld	30 min. bei 37°C
5.	2. Waschschrift	PBS	1 x abspülen	
		0,1% Tween 20 in PBS	2 x baden	je 3 min.
		PBS	1 x abspülen	
6.	Eindecken	Eindeckmedium Fa. Mast	1 Tropfen	

### 2.6.7 Funktionsweise des Parvovirus B19-Immunfluoreszenztests

Die mit rekombinanten Baculoviren infizierten SF9-Insektenzellen exprimieren das Parvovirus B19-spezifische Antigen VP1, das in Vakuolen zur Zellmembran transportiert wird. Sind im Testserum Antikörper gegen VP1 vorhanden, lagern sich diese an die VP1-Antigene an. Diese gebundenen Antikörper werden durch mit Fluoreszeinisothiozyanat (FITC) markierte Anti-human-IgG-Antikörper detektiert und es kommt zur Anfärbung der VP1-Antigene unter dem Fluoreszenzmikroskop nach Anregung des FITC-Farbstoffes mit UV-Licht.

### 2.6.8 Titerbestimmung und Interpretation

Die Auswertung des Immunfluoreszenztests erfolgte an einem Fluoreszenzmikroskop der Firma Zeiss mit einem Filter zur Blauanregung im Wellenlängenbereich 450 – 490 nm durch ein 25fach vergrößerndes Objektiv.

Es wurden die Titerstufen abgelesen, bei denen fluoreszierende VP1-Antigene im Verteilungsmuster der positiven Kontrolle noch eindeutig erkennbar waren. Hierbei erfolgte die Ablesung nacheinander durch zwei verschiedene Personen und es wurden jeweils die übereinstimmenden Titer als Testergebnis herangezogen. Gab es keinerlei Übereinstimmung im Ergebnis, wurde eine weitere Kontrollablesung durch eine dritte Person vorgenommen.

Bei einem Titer von  $\leq 1:10$  galt das Testergebnis als negativ, d. h. es waren keine Antikörper nachweisbar. Ab einem Titer von  $\geq 1:20$  wurde das Ergebnis als positiv gewertet, es waren also Antikörper über dem cutt off Titer von 1:10 nachweisbar (vgl. Tabelle 6).

**Tabelle 6.** Titerauswertung.

Titer	Antikörper-Nachweis
$\leq 1:10$	negativ
1:20 – 1:640	positiv

## 2.7 Statistische Analyse

Die durch Immunfluoreszenztests ermittelten Serumprävalenzen von Parvovirus B19-spezifischen Antikörpern in den Patientenseren wurden in Kapitel 3.3 statistisch im Programm Microsoft Excel 97<sup>®</sup> mittels des „Fishers exact test“ hinsichtlich ihrer statistischen Signifikanz (Signifikanzniveau  $p \leq 0,05$ ) analysiert.

Die Medianwerte der Parvovirus B19-Antikörper-Titer im Kapitel 3.4 wurden mittels des „Mann-Whitney-Test“ im Computerprogramm Stata 8.0<sup>®</sup> auf statistisch signifikante Unterschiede hin untersucht.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Ergebnisse der Patientenseren

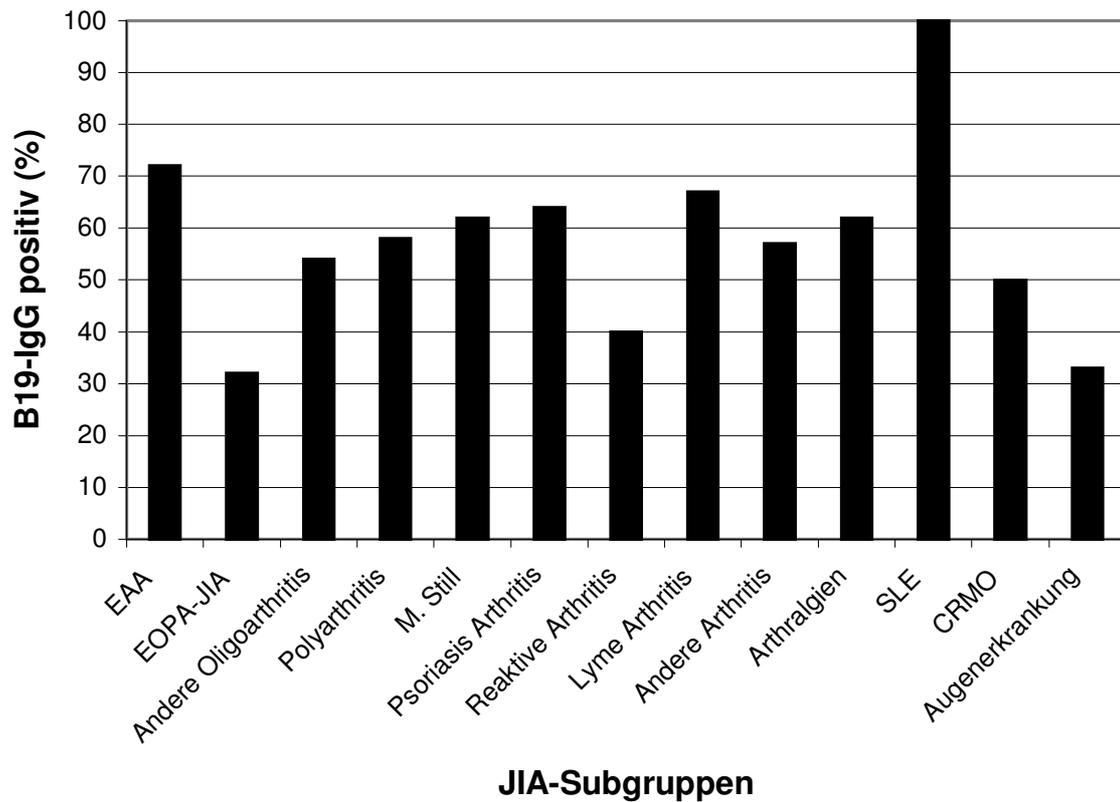
Die Gruppe SLE zeigte mit vier von vier positiv getesteten Patienten die höchste Parvovirus B19-Serumprävalenz (100%). Mit 72,2% ergab sich auch in der Gruppe EAA eine hohe Prävalenz. Im mittleren Bereich liegen die Gruppen Lyme Arthritis (67,6%), Arthralgien (62,4%), Polyarthritits (57,9%), andere, nicht näher klassifizierbare Arthritis (57,1%), CRMO (50%), Psoriasis Arthritis mit sieben von elf (63,6%), Morbus Still mit fünf von acht (62,5%) und andere Oligoarthritits – nicht EOPA-JIA mit sieben von 13 (53,9%) positiven Patienten. Die geringsten Serumprävalenzen erzielten die Subgruppen reaktive Arthritis (39,5%), EOPA-JIA (31,3%) und rheumatische Augenerkrankung mit zwei von sechs (33,3%) positiv getesteten Patienten. In Tabelle 7 sind die Ergebnisse der einzelnen Subgruppen in absoluten Zahlen und in Prozentwerten aufgelistet.

**Tabelle 7.** Serumprävalenzen der einzelnen Subgruppen.

Subgruppe	Patienten- anzahl	B19-IgG positiv		B19-IgG negativ	
		Anzahl	%	Anzahl	%
EAA	54	39	<b>72,2</b>	15	27,8
EOPA-JIA	67	21	<b>31,3</b>	46	68,7
Andere Oligoarthritits	13	7	<b>53,9</b>	6	46,1
Polyarthritits	19	11	<b>57,9</b>	8	42,1
M. Still	8	5	<b>62,5</b>	3	37,5
Psoriasis Arthritis	11	7	<b>63,6</b>	4	36,4
Reaktive Arthritis	38	15	<b>39,5</b>	23	60,5
Lyme Arthritis	37	25	<b>67,6</b>	12	32,4
Andere Arthritis	28	16	<b>57,1</b>	12	42,9
Arthralgien	85	53	<b>62,4</b>	32	37,6
SLE	4	4	<b>100</b>	0	0
CRMO	12	6	<b>50</b>	6	50
Augenerkrankung	6	2	<b>33,3</b>	4	66,7

In Abbildung 7 sind die durch Immunfluoreszenztest gewonnenen Parvovirus B19-IgG Serumprävalenzen in Form einer Grafik wiedergegeben:

**Abb. 7.** Grafische Darstellung der Parvovirus B19-IgG-Serumprävalenzen in den einzelnen Subgruppen.



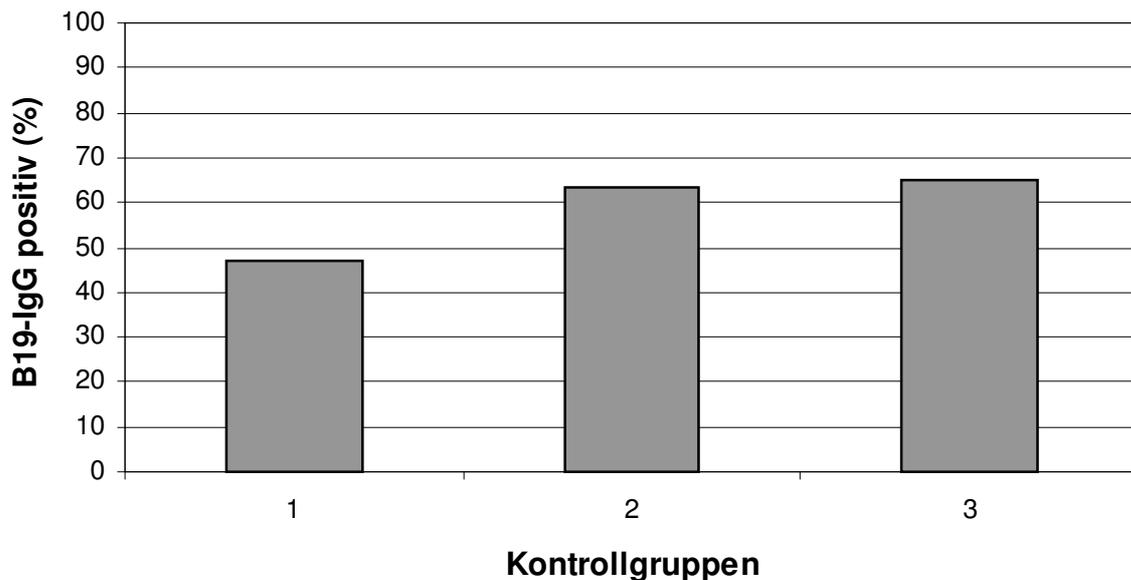
### 3.2 Ergebnisse der Kontrollgruppen

Die Immunfluoreszenztests der Kontrollgruppen ergaben die Serumprävalenzen 47,2% in Gruppe 1 mit dem Durchschnittsalter 66 Monate, 63,3% in Gruppe 2 mit dem Durchschnittsalter 107 Monate und 65% in Gruppe 3 mit dem Durchschnittsalter 134 Monate. Diese Werte sind noch einmal in Tabelle 8 dokumentiert. Eine grafische Veranschaulichung findet sich in Abbildung 8.

**Tabelle 8.** Serumprävalenzen der Kontrollgruppen.

Kontroll- gruppe	Patienten- anzahl	Alter in Monaten	B19-IgG positiv		B19-IgG negativ	
			Anzahl	%	Anzahl	%
1	36	66	17	47,2	19	52,8
2	30	107	19	63,3	11	36,7
3	80	134	52	65	28	35

**Abb. 8.** Grafische Darstellung der Parvovirus B19 IgG-Serumprävalenzen in den drei altersentsprechenden Kontrollgruppen.



### 3.3 Vergleich Patientenseren – Kontrollgruppen

Vergleicht man nun die Testergebnisse der Kontrollgruppen mit denen der Patienten, so ist festzustellen, dass in keiner der Subgruppen ein statistisch signifikant höheres Ergebnis als in der jeweiligen altersbezogenen Kontrollgruppe ermittelt werden konnte. Die Serumprävalenzen in den Gruppen EAA, Morbus Still, Lyme Arthritis und SLE liegen zwar höher als die der entsprechenden Kontrollpatienten, die Differenz erreichte jedoch keine statistische Signifikanz ( $p > 0,05$ ). In den Gruppen EOPA-JIA, andere Oligoarthritis, Polyarthritis, Psoriasis Arthritis, reaktive Arthritis, andere Arthritis, Arthralgien, Augenerkrankung und CRMO lagen die Serumprävalenzen durchweg niedriger als von den gesunden Kontrollgruppen her zu erwarten war. Statistische Signifikanz erreichten hierbei jedoch nur die Werte der Gruppen reaktive Arthritis und EOPA-JIA ( $p < 0,05$ ). In Tabelle 9 sind die Serumprävalenzen der Subgruppen und der passenden Kontrollgruppen gegenübergestellt:

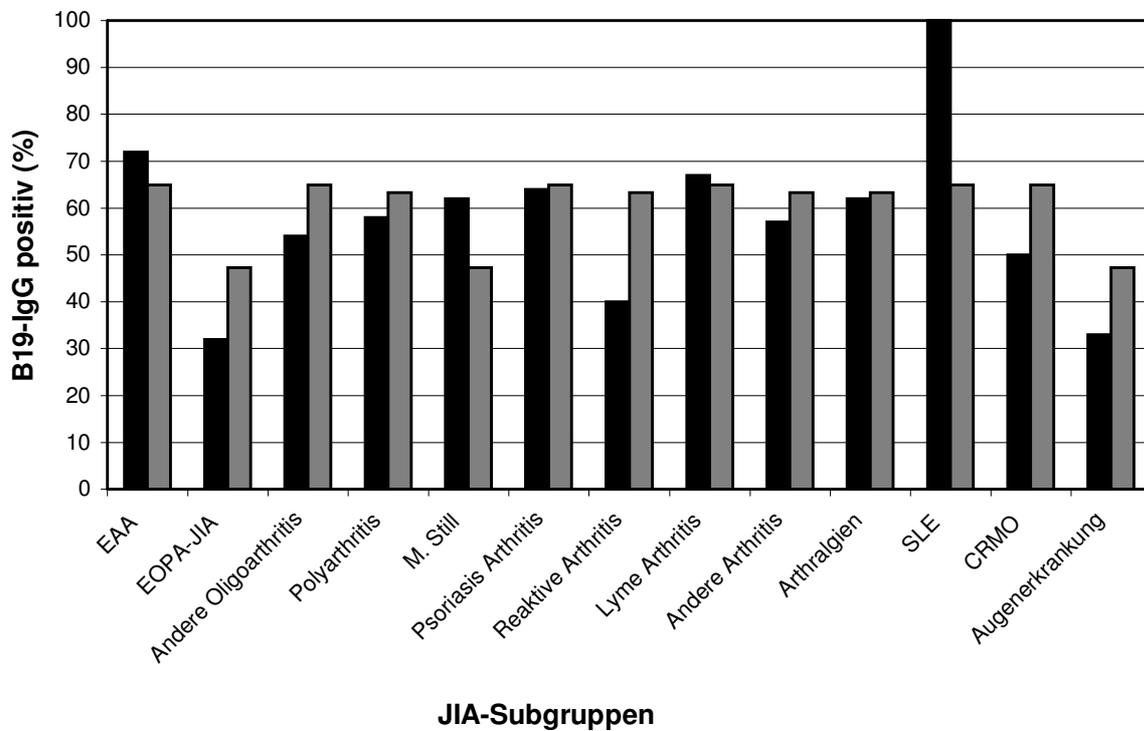
**Tabelle 9.** Gegenüberstellung der Serumprävalenzen der Subgruppen mit der jeweiligen altersentsprechenden Kontrollgruppe.

JIA-Subgruppe	B19-IgG positiv (%)		Kontrollgruppe	Signifikanz (p)
EAA	72,2	65	3	n.s. <sup>3</sup>
EOPA-JIA	31,3	47,2	1	<0,05
Andere Oligoarthritis	53,9	65	3	n.s. <sup>3</sup>
Polyarthritis	57,9	63,3	2	n.s. <sup>3</sup>
M. Still	62,5	47,2	1	n.s. <sup>3</sup>
Psoriasis Arthritis	63,6	65	3	n.s. <sup>3</sup>
Reaktive Arthritis	39,5	63,3	2	<0,05
Lyme Arthritis	67,6	65	3	n.s. <sup>3</sup>
Andere Arthritis	57,1	63,3	2	n.s. <sup>3</sup>
Arthralgien	62,4	63,3	2	n.s. <sup>3</sup>
SLE	100	65	3	n.s. <sup>3</sup>
CRMO	50	65	3	n.s. <sup>3</sup>
Augenerkrankung	33,3	47,2	1	n.s. <sup>3</sup>

<sup>3</sup> n.s. = nicht signifikant, entspricht Signifikanzniveau  $p > 0,05$

Zur besseren Veranschaulichung sind die Serumprävalenzen von Parvovirus B19-IgG in den Patientengruppen im direkten Vergleich zur jeweiligen Kontrollgruppe in Abbildung 9 grafisch dargestellt.

**Abb. 9.** Direkter Vergleich der Serumprävalenzen der Patientengruppen mit der jeweils altersentsprechenden Kontrollgruppe. – **schwarz** JIA-Subgruppe; **grau** altersentsprechende Kontrollgruppe

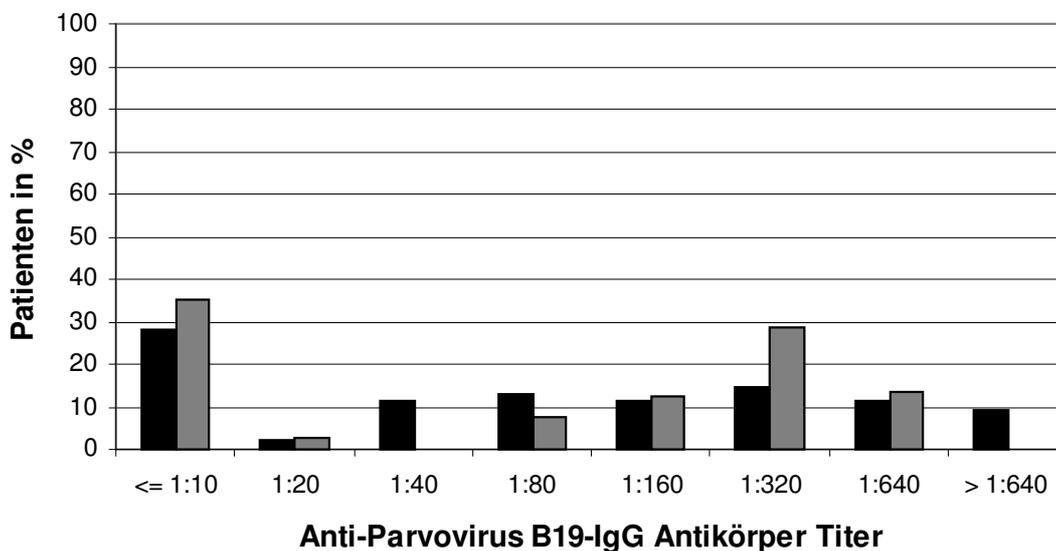


### 3.4 Titervergleich Patientenserum – Kontrollgruppen

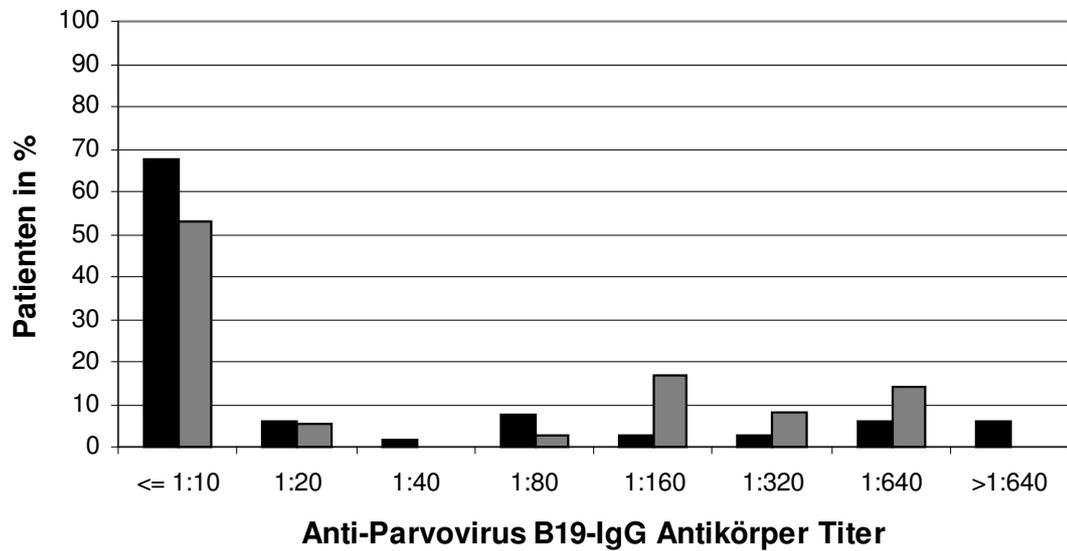
Nachdem sich bei der Untersuchung der Parvovirus B19-IgG-Prävalenzen keine signifikant höheren Werte bei den Arthritis-Kollektiven im Vergleich zur Kontrollgruppe ergeben hatten, wurde noch die Parvovirus B19-IgG-Titerhöhe aus den wichtigsten Subgruppen miteinander verglichen, um eventuelle Auffälligkeiten in der Titerdynamik festzustellen. Hierbei wurden in Abbildung 10 EAA, in Abbildung 11 EOPA-JIA, in Abbildung 12 Polyarthritits und in Abbildung 13 Morbus Still betrachtet.

Zur besseren Vergleichbarkeit wurden in Tabelle 10 die Medianwerte der ermittelten Parvovirus B19-Titer der einzelnen Gruppen aufgelistet und denen der jeweils altersentsprechenden Kontrollgruppe gegenübergestellt. Hierbei wurden nur die seropositiven Patienten berücksichtigt, die seronegativen wurden für die Medianberechnung ausgeschlossen. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Medianwerten der Parvovirus B19-IgG-Titer in den untersuchten Gruppen.

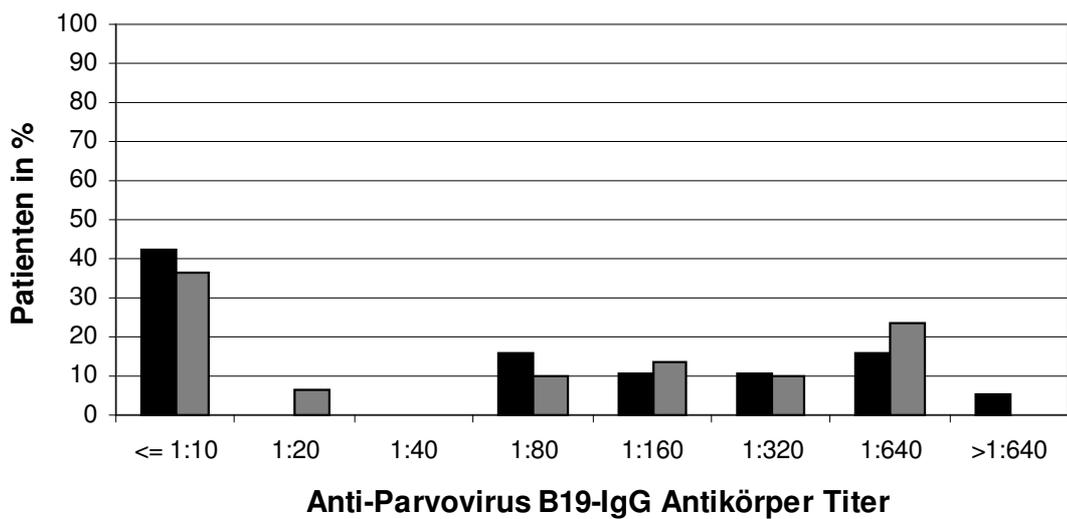
**Abb. 10.** Vergleich der Antikörper-Titer der Subgruppe **EAA** mit der altersentsprechenden Kontrollgruppe 3. – **schwarz** EAA (n=54); **grau** Kontrollgruppe 3 (n=80)



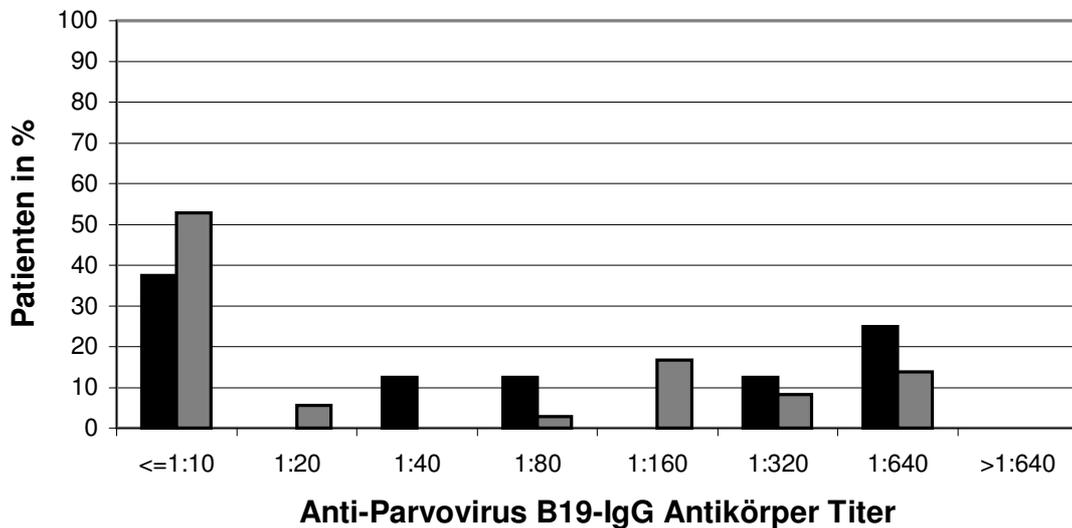
**Abb. 11.** Vergleich der Antikörper-Titer der Subgruppe **EOPA-JIA** mit der altersentsprechenden Kontrollgruppe 1. – **schwarz** EOPA-JIA (n=67); **grau** Kontrollgruppe 1 (n=36)



**Abb. 12.** Vergleich der Antikörper-Titer der Subgruppe **Polyarthrit** mit der altersentsprechenden Kontrollgruppe 2. – **schwarz** Polyarthrit (n=19); **grau** Kontrollgruppe 2 (n=30)



**Abb. 13.** Vergleich der Antikörper-Titer der Subgruppe **Morbus Still** mit der altersentsprechenden Kontrollgruppe 1. – **schwarz** Morbus Still (n=8); **grau** Kontrollgruppe 1 (n=36)



**Tabelle 10.** Medianwerte der wichtigsten Subgruppen verglichen mit den altersentsprechenden Kontrollgruppen.

Subgruppe	Median	Kontrollgruppe	Median	Signifikanz (p)
EAA	1:160	3	1:320	n.s. <sup>3</sup>
EOPA-JIA	1:160	1	1:160	n.s. <sup>3</sup>
Polyarthritits	1:320	2	1:320	n.s. <sup>3</sup>
M. Still	1:320	1	1:160	n.s. <sup>3</sup>

<sup>3</sup> n.s. = nicht signifikant, entspricht Signifikanzniveau  $p > 0,05$

Zum statistischen Vergleich der Mediane wurde der Mann-Whitney-Test verwendet. Diese Teststatistik ist Chi-Quadrat verteilt mit einem Freiheitsgrad. Die Aussagekraft dieses Testes ist bei der Gruppe M. Still eingeschränkt, da es sich hier um eine sehr kleine Stichprobe von nur fünf positiv getesteten Patienten handelt.

## **4. Diskussion**

### **4.1 Beurteilung des Patientenkollektivs**

Vergleicht man das Würzburger Patientenkollektiv mit Angaben aus der Literatur hinsichtlich prozentualer Verteilung der Subgruppen, Geschlechtsverteilung und Altersdurchschnitt der Patienten in den einzelnen Gruppen, so stellt man größtenteils Übereinstimmungen aber auch einige Abweichungen fest.

#### **4.1.1 Prozentuale Verteilung der einzelnen Subgruppen**

In der Literatur finden sich folgende Angaben zur relativen Häufigkeit der einzelnen Subgruppen innerhalb der JIA: EOPA-JIA 30-40%, EAA 10-30%, M. Still 10-20%, Psoriasis Arthritis 5-8%, Polyarthritits RF negativ 20-30% und Polyarthritits RF positiv 5-10% [22-24].

Vergleicht man diese Daten nun mit den Werten der prozentualen Verteilung der Subgruppen aus Abbildung 4, Kapitel 2.3, ist festzustellen, dass die Werte hier größtenteils weitaus niedriger sind, als in der Literatur. So erreichen die einzelnen Subgruppen in dieser Studie folgende relative Häufigkeiten: EOPA-JIA 17 %, EAA 14%, M. Still 2%, Psoriasis-Arthritis 3%, Polyarthritits RF negativ und positiv zusammengefasst 5%. Das liegt jedoch daran, dass in dieser Studie auch nicht streng zur Gruppe der JIA zählende Erkrankungen wie Lyme-Arthritis, SLE, CRMO etc. ins Gesamtpatientenkollektiv (n=382) eingerechnet wurden.

Betrachtet man ausschließlich die durch die ILAR festgelegten zur JIA zählenden Krankheitsbilder, liegen die Werte näher an den Bereichen der Literaturangaben, weichen jedoch noch immer leicht ab. Auf diese Studie übertragen ergeben sich folgende Werte: EOPA-JIA (n=67) 42,1%, EAA (n=54) 34%, M. Still (n=8) 5%, Psoriasis Arthritis (n=11) 6,9%, Polyarthritits RF negativ

und positiv zusammen (n=19) 11,9%; aufgesplittet Polyarthrititis RF negativ (n=16) 10% und Polyarthrititis RF positiv (n=3) 1,9 % Anteil an der Gesamtpatientenzahl von jetzt 159. So ergibt sich in den Gruppen EOPA-JIA und EAA eine leichte Abweichung der prozentualen Verteilung nach oben verglichen mit den Literaturangaben, in der Gruppe Psoriasis-Arthritis liegt die relative Häufigkeit mit 6,9% genau im Bereich der Literaturangaben. In den Subgruppen M. Still und Polyarthrititis liegen die in dieser Studie vorliegenden Verteilungen deutlich unter den in der Literatur zitierten Häufigkeiten. Tabelle 11 zeigt die verglichenen Daten noch einmal in der Übersicht.

**Tabelle 11.** Prozentuale Verteilung der Subgruppen – Vergleich der Daten dieser Studie (vgl. Abb. 4) mit Literaturangaben

Subgruppe	Anzahl	Literatur- daten (%) [22-24]	Anteil am Gesamtpa- tientenkollektiv (n=382) einschl. nicht zur JIA zählender Erkrankungen (entsprechend Abb.4) (%)	Anteil an den streng zur JIA zählenden Erkrankungen (n=159) (%)
EOPA-JIA	67	30-40	17	42,1
EAA	54	10-30	14	34
M. Still	8	10-20	2	5
Psoriasis Arthritis	11	5-8	3	6,9
Polyarthrititis RF -	16	20-30	4,2	10
Polyarthrititis RF +	3	5-10	0,8	1,9

#### 4.1.2 Geschlechtsverteilung

Betrachtet man nun die Geschlechtsverteilung in den wichtigsten Subgruppen, wie in Tabelle 1, Kapitel 2.3 dargestellt, und vergleicht diese mit Literaturangaben, wird dort größtenteils eine Übereinstimmung ersichtlich. So überwiegen sowohl in der Literatur als auch im Patientenkollektiv dieser Studie in den Subgruppen EOPA-JIA, Polyarthrititis und Psoriasis Arthritis die weiblichen Patienten. Lediglich in den Gruppen EAA und M. Still weicht die

Geschlechtsverteilung von den Angaben der Literatur ab. Während innerhalb der Gruppe EAA laut Literaturangaben meistens die männlichen Patienten überwiegen, ist im Rahmen dieser Studie in dieser Gruppe ein höherer Anteil an weiblichen Patienten festzustellen. In der Gruppe der systemischen Arthritis wäre laut Literatur mit einer Gleichverteilung der Geschlechter bzw. mit einem Überwiegen der männlichen Patienten zu rechnen, während hier der Anteil der weiblichen Patienten deutlich überwiegt. In Tabelle 12 ist die Verteilung der Geschlechter innerhalb der wichtigsten Subgruppen dieser Studie (vgl. Tabelle 1, Kapitel 2.3) übersichtlich verglichen mit den Angaben aus der Literatur [23-25].

**Tabelle 12.** Geschlechtsverteilung in den wichtigsten Subgruppen.

Subgruppe	Geschlechtsverteilung in den Subgruppen	Andersson Gäre [25]	Schaller [23]	Wahn [24]
EOPA-JIA	w > m	w > m	w = m	w > m
Polyarthritis	w > m	keine Angaben	w > m	w > m
Psoriasis Arthritis	w > m	w > m	keine Angaben	w > m
EAA	w > m	m > w	keine Angaben	m > w
M. Still	w > m	w = m	m > w	keine Angaben

#### 4.1.3 Altersdurchschnitt

Im Folgenden wird nun noch die Altersverteilung der einzelnen Subgruppen im Vergleich zu in der Literatur auffindbaren Altersangaben betrachtet. Hierbei stellt sich dar, dass die Kinder der Würzburger Rheumasprechstunde durchweg höhere Altersangaben aufweisen, als die Daten aus der Literatur aufzeigen.

Besonders sticht die Gruppe „Polyarthritis RF negativ“ heraus, die mit 9 3/12 Jahren weit über den durchschnittlichen Alterswerten liegt. Die Gruppe „Polyarthritis RF positiv“ bewegt sich mit durchschnittlich 11 10/12 Jahren im Bereich der Literaturquellen. Der Altersdurchschnitt in den Gruppen EOPA-JIA, EAA und M. Still liegt durchweg über den Werten aus der Literatur. Genaue Angaben finden sich in Tabelle 13 in der Gegenüberstellung [23, 24].

**Tabelle 13.** Altersverteilung in den Subgruppen verglichen mit Literaturdaten.

Subgruppe	Schaller [23] (Jahre)	Wahn [24] (Jahre)	Durchschnittsalter dieser Studie (Jahre)
Polyarthritis RF negativ	5,1	<6	9 3/12
Polyarthritis RF positiv	12	9-11	11 10/12
EOPA-JIA	keine Angaben	Kleinkindalter	4 6/12
EAA	keine Angaben	>8	11 7/12
M. Still	5,7	2	6 8/12

Es ist also festzustellen, dass bis auf einige, teils geringe Abweichungen die Patienten der Würzburger Kinderrheumasprechstunde im Hinblick auf die relative Häufigkeit der Subformen der JIA und der Geschlechtsverteilung durchaus zu anderen Kohorten vergleichbar sind. Lediglich der Würzburger Altersdurchschnitt in den einzelnen Subgruppen übersteigt weitgehend publizierte Werte. Der Grund hierfür könnte in der Tatsache liegen, dass hier das Alter bei Probenentnahme zugrunde liegt, und nicht das Alter bei Erkrankungsbeginn.

#### **4.2 Interpretation der in dieser Studie ermittelten Ergebnisse**

Im Vergleich der Parvovirus B19-Prävalenzen der Subgruppen mit den Kontrollen dieser Studie stellte sich, wie in Kapitel 3.3 dargestellt, heraus, dass in keiner der Gruppen ein statistisch signifikant höheres Ergebnis erzielt werden konnte. Lediglich für die Gruppen reaktive Arthritis und EOPA-JIA konnten signifikante Werte ermittelt werden, die jedoch nicht höher, sondern sogar niedriger als in den altersentsprechenden Kontrollgruppen lagen. Aus diesen Ergebnissen ergab sich kein Anhalt für einen pathogenetischen Zusammenhang zwischen einer Parvovirus B19-Infektion und kindlichem Rheuma.

Für die Höhe von virus-spezifischen IgG-Antikörpern lassen sich allgemein keine Normalbereiche angeben. Deshalb ist ein Vergleich der Titerhöhe von IgG-Antikörpern zwischen zwei verschiedenen Gruppen in der Regel nur von geringer Aussagekraft. Da die IgG-Titer kurz nach einer Infektion jedoch zunächst ansteigen und dann im Verlauf von einigen Wochen bis Monaten wieder auf ein niedrigeres Niveau abfallen, können Unterschiede in der Parvovirus B19-IgG-Titerhöhe in verschiedenen Probenkollektiven möglicherweise einen Hinweis auf eine kürzliche Primärinfektion mit Parvovirus B19 geben. Deshalb wurde in Kapitel 3.4 bei den Parvovirus B19-seropositiven Patienten der wichtigsten Subgruppen dieser Studie auch die Höhe der IgG-Titer miteinander verglichen. Anhand der graphischen Darstellung (vgl. Abb. 10-13) war auf den ersten Blick keine Besonderheit in der Titerdynamik einer bestimmten Subgruppe ersichtlich. Beim Vergleich der Medianwerte der Titer der einzelnen Gruppen (vgl. Tab. 10) ist auch keine Auffälligkeit zu beobachten, die Titer-Mediane unterscheiden sich maximal um eine Titerstufe, wie das auch bei den Kontrollgruppen der Fall ist. Die statistische Analyse ergab ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen.

#### **4.3 Beurteilung der Ergebnisse in den Kontrollgruppen unter Berücksichtigung von Literaturdaten zur Serumprävalenz von Parvovirus B19 in der Normalbevölkerung**

In der Literatur finden sich unterschiedliche Angaben zur Durchseuchungsrate der Bevölkerung mit Parovirus B19. So rangieren die Werte bei Kindern und Jugendlichen unter 19 Jahren von 2 bis 60 % [12, 26-29]. Einen Überblick über einige in der Literatur aufzufindende Daten gibt Tabelle 14:

**Tabelle 14.** Verschiedene Literaturangaben zur Serumprävalenz von Parvovirus B19 in der Normalbevölkerung [12, 26-29].

Autor	Alter (Jahre)	Serumprävalenz (%)						
Schuster, Kreth [26]			<11	2-21			Erw.	40-60
van Elsacker-Niele [12]					15	50	> 70	80-100
Gay et al. [27]			10	45			Erw.	60-70
Anderson [28]	< 5	2	5-9	21	10-19	36	20-39	49
Caramaschi et al. [29]	< 5	2-5	5-19	16-60			Erw.	30-60

Vergleicht man nun die innerhalb dieser Studie ermittelten Serumprävalenzen der Kontrollgruppen mit den altersentsprechenden Daten aus der Literatur, so ist festzustellen, dass die Serumprävalenzen der drei Kontrollgruppen zumeist höher liegen als alle Literaturangaben. Kontrollgruppe 1 mit dem Altersdurchschnitt von 66 Monaten (5 1/2 Jahre) übersteigt mit der Parvovirus B19-Prävalenz von 47,2% die von Anderson (21%) und auch Schuster und Kreth (2-21%) für diese Altersgruppe angegebenen Werte, liegt jedoch im Bereich der Daten von Caramaschi (16-60%). Kontrollgruppe 2 liegt mit 63,3% und einem Altersdurchschnitt von 107 Monaten (8 11/12 Jahre) durchweg über den Werten aus der Literatur (Anderson 21%, Caramaschi 16-60%), ebenso Kontrollgruppe 3 mit 65% und dem Durchschnittsalter von 134 Monaten (11 2/12 Jahre), verglichen mit den Literaturangaben (Anderson 36%, Caramaschi 16-60%).

Es ist nicht auszuschließen, dass die hohen Parvovirus B19-Serumprävalenzen in den Kontrollgruppen auf eine gewisse Selektion zurückzuführen ist, dadurch, dass ausschließlich anderweitig erkrankte Kinder, die die Klinik aufsuchten, als Kontrollen dienten, und keine völlig gesunden, beispielsweise eine zufällig ausgewählte altersentsprechende Schulklasse.

Die ermittelten Werte der Kontrollgruppen erscheinen also überdurchschnittlich hoch. Es ist davon auszugehen, dass der Vergleich mit Kindern aus derselben Region aussagekräftiger ist, als ein überregionaler Vergleich. Dennoch stellt sich die Frage, ob deutlichere Unterschiede ersichtlich wären, würde man die Serumprävalenzen der einzelnen Subgruppen vergleichen mit altersentsprechenden Werten aus der Literatur.

#### 4.4 Vergleich der im Rahmen dieser Studie ermittelten Serumprävalenzen in den Subgruppen mit Literaturdaten der Normalbevölkerung

In Tabelle 15 werden die in den Subgruppen ermittelten Parvovirus B19-Serumprävalenzen den Daten aus der Literatur gegenübergestellt. Es wird ersichtlich, dass die innerhalb des Patientenkollektivs dieser Studie ermittelten Parvovirus B19-Prävalenzen die meisten Werte der Literatur für die entsprechende Altersgruppe deutlich übersteigen. Da in den verschiedenen Studien unterschiedliche Testsysteme für die Bestimmung von Parvovirus B19-Antikörpern verwendet wurden, ist ein Vergleich der Seroprävalenzen aus der vorliegenden Studie mit denen aus der Literatur jedoch nur von sehr eingeschränkter Aussagekraft.

**Tabelle 15.** Vergleich der Serumprävalenzen in den Subgruppen mit Daten der jeweils passenden Altersgruppe der Normalbevölkerung verschiedener Autoren.

Subgruppe	Alter in Jahren	B19-IgG positiv (%)	Vergleichbare altersentsprechende Literaturdaten (%) [12, 26-29]		
			Autor	Altersgruppe	B19-IgG positiv (%)
EAA	11 7/12	72,2	Anderson	10-19	36
			Caramashi	5-19	16-60
EOPA-JIA	4 6/12	31,3	Schuster, Kreth	<11	2-21
			Anderson	<5	2
			Caramaschi	<5	2-5

Subgruppe	Alter in Jahren	B19-IgG positiv (%)	Vergleichbare altersentsprechende Literaturdaten (%) [12, 26-29]		
			Autor	Altersgruppe	B19-IgG positiv (%)
Andere Oligoarthritis	10 7/12	53,9	Schuster, Kreth	<11	2-21
			Anderson	10-19	36
			Caramaschi	5-19	16-60
Polyarthritis	9 8/12	57,9	Schuster, Kreth	<11	2-21
			Anderson	10-19	36
			Caramaschi	5-19	16-60
			Gay	10	45
M. Still	6 8/12	62,5	Schuster, Kreth	<11	2-21
			Anderson	5-9	21
			Caramaschi	5-19	16-60
Psoriasis Arthritis	10 8/12	63,6	Schuster, Kreth	<11	2-21
			Anderson	10-19	36
			Caramaschi	5-19	16-60
Reaktive Arthritis	7 6/12	39,5	Schuster, Kreth	<11	2-21
			Anderson	5-9	21
			Caramaschi	5-19	16-60
Lyme Arthritis	10 2/12	67,6	Schuster, Kreth	<11	2-21
			Anderson	10-19	36
			Caramaschi	5-19	16-60
			Gay	10	45
Andere Arthritis	8 10/12	57,1	Schuster, Kreth	<11	2-21
			Anderson	5-9	21
			Caramaschi	5-19	16-60
Arthralgien	9 3/12	62,4	Schuster, Kreth	<11	2-21
			Anderson	5-9	21
			Caramaschi	5-19	16-60
SLE	13	100	Anderson	10-19	36
			Caramaschi	5-19	16-60
CRMO	11 6/12	50	Anderson	10-19	36
			Caramaschi	5-19	16-60
Augenerkrankung	7 3/12	33,3	Schuster, Kreth	<11	2-21
			Anderson	5-9	21
			Caramaschi	5-19	16-60

#### **4.5 Vergleich dieser Studie mit Daten aus einer ähnlichen Untersuchung**

Eine japanische Studie zur Prävalenz von Parvovirus B19-IgG-Antikörpern bei Kindern mit polyartikulärer JRA ergab sehr hohe, im Vergleich zu einer Kontrollgruppe statistisch signifikante Werte. Es wurden hier elf Fälle von JRA untersucht, wobei eine Gruppierung in refraktäre JRA und remittierende JRA unternommen wurde. Diese Einteilung erfolgte unter therapeutischen Gesichtspunkten. Die als refraktär bezeichnete Gruppe zeigte eine Persistenz des C-reaktiven Proteins (CRP) unter antirheumatischer Medikation während die remittierende JRA als CRP-negativ unter Medikation definiert war. In der Gruppe der refraktären JRA waren 71,4 % (5/7) Parvovirus B19-IgG positiv, die Gruppe remittierende JRA zeigte keine Anti-B19-IgG Positivität (0/4). Zusammengefasst lag die Serumprävalenz von Anti-B19-IgG Antikörpern für die elf JRA-Patienten bei 45,5 % (5/11) [30].

Kritisch anzumerken ist hierbei zum einen die sehr geringe Serumprävalenz von Parvovirus B19-IgG-Antikörpern in der Kontrollgruppe von gerade mal 8,3 % (5/60) bei einem Durchschnittsalter von 18,8 Jahren, die verglichen mit den Werten aus der Normalbevölkerung (vgl. Tabelle 13) für diese Altersgruppe doch sehr niedrig erscheint. Dieser kleine Wert machte trotz des geringen Stichprobenumfangs der japanischen Studie (n=11) eine statistische Signifikanz möglich. Zum anderen entspricht die Auswahl der Patienten in der japanischen Studie, wie auch der Autor einräumt, nicht ganz dem üblichen Patientenkollektiv der JRA, da für die Studie nur besonders schwere Fälle mit langem chronischen Verlauf herangezogen wurden, was einem statistischen Vorurteil entspricht. Eine zufällige Auswahl der Patienten ergäbe nach Meinung des Autors vermutlich niedrigere Raten der Seropositivität.

Will man nun diese Werte vergleichen mit Ergebnissen dieser Studie, so ist die Subgruppe Polyarthritits wohl die am besten vergleichbare Gruppe. Diese erzielte im Rahmen der vorliegenden Studie eine Parvovirus B19-Serumprävalenz von 57,9 % (11/19). Dieser Wert liegt deutlich niedriger als der

der japanischen refraktären JRA (71,4%), übersteigt jedoch die Prävalenz der japanischen Gesamtpatienten (n=11) mit 45,5%.

#### **4.6 Kritikpunkte dieser Studie**

Im Rahmen dieser Studie war nur die Testung nach Antikörpern vom IgG-Typ, nicht jedoch vom IgM-Typ, vorgesehen. Wie man aus entsprechenden Untersuchungen weiß, sind IgM-Antikörper im allgemeinen ab dem Krankheitsbeginn bis zwei bis drei Monate nach Infektion mit Parvovirus B19 im Serum nachweisbar. Parvovirus B19-IgG-Antikörper sind bereits wenige Tage nach den IgM-Antikörpern nachweisbar und persistieren in der Regel lebenslang [28, 31, 32]. Obwohl die Zeitpunkte der Serumgewinnung zwischen sofort, wenige Tage, wenige Wochen bis einige Monate nach Erkrankungsbeginn variierten, kann daher davon ausgegangen werden, dass bei allen Kindern, bei denen möglicherweise ein Zusammenhang zwischen der Arthritis und einer Infektion mit Parvovirus B19 besteht, IgG-Antikörper nachzuweisen gewesen wären. Da in dieser Studie Seroprävalenzen zwischen verschiedenen Gruppen verglichen und nicht akute Infektionen nachgewiesen werden sollten, wurde auf die Bestimmung von Parvovirus B19-IgM-Antikörpern verzichtet. Aufgrund der Heterogenität des Erkrankungsbeginns im untersuchten Patientenkollektiv wäre eine Untersuchung auf Parvovirus B19-IgM auch nicht in sinnvoller Weise durchführbar gewesen.

Eine mögliche Verfälschung der Ergebnisse ist denkbar durch den Wegfall der 168 Patienten, von denen kein Serum vorhanden war. Eventuell kam es hierdurch zu einer ungewollten Vorauswahl. So wären etwa allein 23 der weggefallenen Patienten der Gruppe reaktive Arthritis zuzuschreiben gewesen.

## 5. Zusammenfassung

Parvovirus B19 steht im Verdacht, chronische Arthritis bei Kindern zu verursachen. Aus diesem Grund sollte mit Hilfe dieser Studie ein möglicher Zusammenhang zwischen einer Parvovirus B19-Infektion und der Juvenilen idiopathischen Arthritis untersucht werden.

Dazu wurden von insgesamt 382 Patienten der Rheumasprechstunde der Kinderpoliklinik der Universität Würzburg Serumproben hinsichtlich des Vorhandenseins von Parvovirus B19-IgG-Antikörpern getestet. Der Nachweis dieser Antikörper erfolgte mittels Immunfluoreszenztest. Hierbei wurde mit dem Serum eines jeden Patienten eine Verdünnungsreihe von 1:10 bis 1:640 erstellt. Die Serumverdünnungen wurden auf Objektträger aufgetragen, die mit SF9-Insektenzellen beschichtet waren, die durch Infektion mit rekombinanten Baculoviren das Parvovirus B19-Antigen VP1 exprimieren. Waren im Testserum Antikörper gegen Parvovirus B19 vorhanden, lagerten sich diese an die durch die Insektenzellen exprimierten Parvovirus B19-Antigene an. In einem zweiten Schritt wurden anti-Human-IgG-Antikörper zugegeben, die mit dem fluoreszierenden Farbstoff Fluoreszeinisothiozyanat (FITC) markiert waren und sich an die gebundenen Antikörper aus den Serumproben anlagerten. Diese waren nun unter dem Fluoreszenzmikroskop nach Anregung des FITC-Farbstoffes mit UV-Licht sichtbar. Es wurden dann bei den Parvovirus B19-IgG positiv getesteten Patienten die jeweiligen Titerstufen abgelesen, bei denen noch eine eindeutige Fluoreszenz erkennbar war. Kam es zu keiner Anfärbung unter dem Mikroskop, waren keine Antikörper nachweisbar, diese Patienten galten also als Parvovirus B19-IgG negativ.

Dieses Verfahren wurde auch angewandt für 146 Kontrollpatienten, die in drei Altersgruppen aufgeteilt wurden. Diese Kinder entstammten zum einen der Endokrinologiesprechstunde, zum anderen der Rheumasprechstunde der Universitäts-Kinderklinik Würzburg. Bei keinem dieser Patienten wurde jedoch eine Erkrankung aus dem rheumatischen Formenkreis diagnostiziert.

Die 382 getesteten JIA-Patienten wurden diagnostisch in 13 Untergruppen aufgeteilt. Die Ergebnisse werden im Folgenden für die jeweilige Subgruppe dargestellt. Die Gruppe Systemischer Lupus Erythematoses (SLE) zeigte die höchste Parvovirus B19-Serumprävalenz mit 100%. Allerdings waren in dieser Gruppe nur 8 Kinder. Die Gruppe Enthesitis assoziierte Arthritis (EAA) wies mit 72,2% eine hohe Prävalenz auf. Im mittleren Bereich lagen die Gruppen Lyme Arthritis (67,6%), Arthralgien (62,4%), Polyarthritits (57,9%), andere, nicht näher klassifizierbare Arthritis (57,1%), CRMO (50%), Psoriasis Arthritis (63,6%), Morbus Still (62,5%) und andere Oligoarthritits –nicht EOPA-JIA mit 53,9% positiv getesteten Patienten. Die niedrigsten Serumprävalenzen erzielten die Subgruppen reaktive Arthritis (39,5%), frühkindliche Oligoarthritits (EOPA-JIA) (31,3%) und rheumatische Augenerkrankung (33,3%).

Im Vergleich zu den Kontrollgruppen konnte in keiner der Subgruppen ein statistisch signifikant höheres Ergebnis ermittelt werden. Die Serumprävalenzen in den Gruppen EAA, Morbus Still, Lyme Arthritis und SLE lagen zwar höher als die der entsprechenden Kontrollpatienten, jedoch lag keine statistisch signifikante Differenz vor. In den Gruppen EOPA-JIA, andere Oligoarthritits, Polyarthritits, Psoriasis Arthritis, reaktive Arthritis, unklassifizierbare Arthritis, Arthralgien, Augenerkrankung und CRMO lagen die Serumprävalenzen durchweg niedriger als in den gesunden Kontrollgruppen, wobei nur in den Gruppen reaktive Arthritis und EOPA-JIA statistisch signifikante Unterschiede erreicht wurden.

Da in keiner der Gruppen ein statistisch signifikant höheres Ergebnis erzielt wurde, untermauert das Resultat dieser Studie nicht die Hypothese eines pathogenetischen Zusammenhangs zwischen einer Parvovirus B19-Infektion und kindlichem Rheuma. Dennoch könnten eventuell weitere Untersuchungen in dieser Richtung neue aufschlussreiche Hinweise bringen, die zur Aufklärung der Ätiologie und Pathogenese der juvenilen idiopathischen Arthritis beitragen.

## 6. Anhang

**Abb. 1.** Dokumentationsblatt zur Erfassung der Patientendaten aus den Krankenakten – hier beispielhaft ausgefüllt für Patient B.



**Dokumentationsbogen für die Studie zur Parvovirus B19 Arthritis im Kindesalter:**

Name B Vorname \_\_\_\_\_ Geb.datum 29.08.82  
 Geschlecht weiblich männlich  
 Alter bei Erstvorstellung 11 7/12 Datum der Erstvorstellung 30.03.94  
 Alter Erkrankungsbeginn Arthritis 9

Endgültige Diagnose <u>EAA</u>	
ICD-10 <u>M08.4</u>	ANA <u>+1:20 s</u> RF <u>-</u> HLAB27
Laborwerte (Datum)	<u>30.03.94</u>
Leukozyten <u>9700</u>	Gran <u>66%</u> Ly <u>28%</u> Mo <u>3%</u>
Hb	<u>13,7</u>
Thrombos	<u>308 000</u>
BSG	<u>10/20</u>
Urin eiweiß (ab 2+)	
LDH	<u>178</u>
Transaminasen	GPT <u>8,3</u> GOT <u>14,1</u> Gamma-GT <u>5,1</u>
IgG <u>1150</u>	IgA <u>156</u> IgM <u>178</u>
Sonstige	
<b>Parvovirus B 19 Serologie</b>	
B19-IgG IFT	<u>+ 1:80</u>
B19-IgM IFT	<u>-</u>
<b>EBV Serologie</b>	
EBNA-1 IFT	<u>+ 1:128</u> EAG IFT
EBV-IgG EIA	VCA IFT
EBV-IgM EIA	VCG IFT <u>+ 1:80</u>
<b>CMV Serologie</b>	
CMV-IgG EIA	
CMV-IgM EIA	

**Anamnese und oder Befund bei initialer Vorstellung:**

oB in Bezug auf Parvovirus B 19

- Ausschlag:  Kokarden,  Erythem,  Ery Ex mult,
- Enanthem,  Fieber

oB in Bezug auf EBV Virus

- Lebervergrößerung,  Milzvergrößerung,  LKvergrößerung
- Apathie,  Angina,  Fieber

oB in Bezug auf CMV Virus

- Urinauffälligkeiten- Infekt
- Luftwegsinfekt,  Fieber

**Abb. 2.** Ausschnitt aus der in Microsoft Excel<sup>®</sup> erstellten Rheuma-Datenbank, in der alle aufgezeichneten Daten der Patienten erfasst wurden. - Der grau unterlegte Wert in der Spalte B19-IgG IFT stellt ein im Rahmen dieser Studie ermitteltes Testergebnis dar.

Name	Vorname	Geb.-Datum	Ge-Schlecht	Alter bei Erstvorstellung	Alter Erkrankungsbeginn	Datum d. Erstvorstellung	Diagnose	ICD-10	ANA Titer	ANA Muster	RF	HLA B27
A		21.03.1988	w	1 2/12	1	24.05.89	EOPA-JIA	M08.4				
B		29.08.1982	w	11 7/12	9	30.03.94	EAA	M13.9	+ 1:20	s	-	
C		06.05.1987	m	6 8/12	3 8/12	02.02.94	Arthralgien	M25.5	-		-	-

Datum Laborwerte	Leukozyten	Granulozyten %	Lymphozyten %	Monozyten %	Hb g/dl	Thrombozyten /nl	BSG mm n.W.	Urin Eiweiß	LDH U/l	GPT U/l	GOT U/l	Gamma-GT U/l	IgG mg/dl	IgA mg/dl	IgM mg/dl	Sonstige
24.05.89	9700	38	50	6	11,1	535	15/22		262	9,2	18,4	2,1	898	48,4	204	
30.03.94	9600	66	28	3	13,7	308	10/20		178	8,3	14,1	5,1	1150	156	178	
02.02.94	7100	39	53	6	11,1	277	5/12		180	8,8	14	4,8	786	67,3	163	

B19-IgG IFT	B19-IgM IFT	EBNA-1 IFT	EBV-IgG EIA	EAG IFT	VCA IFT	VCG IFT	EBV-IgM EIA	CMV-IgG EIA	CMV-IgM EIA	Bemerkung	B19 Anamnese	EBV Anamnese	CMV Anamnese
+ 1:320											oB	oB	oB
+ 1:80	-	+ 1:128				+ 1:80		-	-		Erythem	oB	oB
-	-	+ 1:32				+ 1:640		-	-		oB	Angina	oB

## Abkürzungsverzeichnis

Abb	Abbildung
ANA	Antinukleäre Antikörper
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
CMV	Cytomegalie-Virus
CRMO	Chronisch rezidivierende multifokale Osteomyelitis
CRP	C-reaktives Protein
EAA	Enthesitis assoziierte Arthritis
EAG	Early antigen IgG
EBNA	Epstein-Barr nuclear antigen
EBV	Epstein-Barr-Virus
EIA	Enzyme-linked immuno sorbent assay
EOPA-JIA	Early onset pauciarticular juvenile idiopathic arthritis
Erw	Erwachsene
Ery Ex mult	Erythema exsudativum multiforme
FITC	Fluoreszeinisothiozyanat
FUO	Fever of unknown origin (Fieber ungeklärter Ursache)
Gamma-GT	Gammaglutamyltransferase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
Gran	Granulozyten
Hb	Hämoglobin
HLA	Human leucocyte antigen
ICD	International classification of diseases (WHO)
IFT	Immunfluoreszenztest
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
ILAR	International League of Associations for Rheumatology
JIA	Juvenile idiopathische Arthritis
JRA	Juvenile rheumatoide Arthritis

LDH	Laktatdehydrogenase
LK	Lymphknoten
Ly	Lymphozyten
m	männlich
M. Still	Morbus Still
Mo	Monozyten
n	Anzahl
n.s.	nicht signifikant
o.B.	ohne Befund
PA	Polyarthritits
PBS	Phosphate buffered saline
RA	Rheumatoide Arthritis
RF +/-	Rheumafaktor positiv/negativ
s	speckled (gesprenkelt)
SLE	Systemischer Lupus erythematodes
Thrombos	Thrombozyten
VCA	Virus capsid IgA
VCG	Virus capsid IgG
w	weiblich

## Literaturverzeichnis

1. Schmidt KL, Larqiader F, Sturm A, Wicki O, Hellmich B, Manger B, Tillmann K. Juvenile chronische Arthritis. Checkliste Rheumatologie. Checklisten der aktuellen Medizin. Vol. 2. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2000:398
2. Minden K, Niewerth M, Listing J, Zink A. Health care provision in pediatric rheumatology in Germany-national rheumatologic database. The Journal of Rheumatology 2002;29:622-8
3. Huppertz H-I, Suschke H-J. Chronisch entzündliche Gelenkerkrankungen im Kindes- und Jugendalter. Monatsschrift der Kinderheilkunde 1994;142:367-382
4. Petty RE. Viruses and childhood arthritis. Annals of Medicine 1997;29:149-152
5. Petty RE, Southwood TR, Baum J, Bhattay E, Glass DN, Manners P, Maldonado-Cocco J, Suarez-Almazor M, Orozco-Alcala J, Prieur A-M. Revision of the proposed classification criteria for juvenile idiopathic arthritis: Durban 1997. The Journal of Rheumatology 1998;25:1991-1994
6. Lehmann HW, Knöll A, Küster RM, Modrow S. Frequent infection with a viral pathogen, parvovirus B19, in rheumatic diseases of childhood. Arthritis & Rheumatism 2003;48:1631-1638
7. Cossart YE, Field AM, Cant B, Widdow D. Parvovirus-like particles in human sera. The Lancet 1975:72-73
8. International Committee on Taxonomy of Viruses. Virus taxonomy update. Archives of Virology 1993;133:1425-1428
9. Deiss V, Tratschin JD, Weitz M, Siegl G. Cloning of the human parvovirus B19 genome and structural analysis of its palindromic termini. Virology 1990;175:247-254
10. St Amand J, Astell CR. Identification and characterisation of a family of 11 kDa proteins encoded by human parvovirus B19. Virology 1993:247-254

11. Haller OA, Mertens T. Parvovirus B19. In: Haller OA, Mertens T, eds. Diagnostik und Therapie von Viruskrankheiten. Leitlinien der Gesellschaft für Virologie. München-Jena: Urban + Fischer, 1999:180-181
12. Van Elsacker-Niele AMW, Kroes ACM. Human parvovirus B19: relevance in internal medicine. The Netherlands Journal of Medicine 1999;54:221-230
13. Woolf AD, Campion GV, Chishick A, Wise S, Cohen BJ, Klouda PT, Caul O, Dieppe PA. Clinical manifestations of human parvovirus B19 in adults. Archives of Internal Medicine 1989;149:1153-1156
14. Cassinotti P, Bas S, Siegl G, Vischer TL. Association between human parvovirus B19 infection and arthritis. Annals of the Rheumatic Diseases 1995;54:198-500
15. Kerr JR, Cartron JP, Curran MD, Moore JE, Elliott JRM, Mollan RAB. A study of the role of parvovirus B19 in rheumatoid arthritis. British Journal of Rheumatology 1995;34:809-813
16. Speyer I, Breedveld FC, Dijkmans BAC. Human parvovirus B19 infection is not followed by inflammatory joint disease during long term follow-up. A retrospective study of 54 patients. Clinical and Experimental Rheumatology 1998;16:576-578
17. Naides SJ, Scharosch LL, Foto F, Howard EJ. Rheumatologic manifestations of human parvovirus B19 Infection in adults. Arthritis and Rheumatism 1990;33:1297-1309
18. Ishii KK, Takahashi Y, Kaku M, Sasaki T. Role of human parvovirus B19 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Japanese Journal of Infectious Diseases 1999;52:201-207
19. Takahashi Y, Murai C, Shibata S, Munakata Y, Ishii T, Ishii K, Saitoh T. Human parvovirus B19 as a causative agent for rheumatoid arthritis. Proceedings of the National Academy of Sciences 1998;95:8227-8232
20. Nocton JJ, Miller LC, Tucker LB, Schaller JG. Human parvovirus B19-associated arthritis in children. The Journal of Pediatrics 1993;122:186-190

21. Kishore J, Misra R, Gupta D, Ayyagari A. Raised IgM antibodies to parvovirus B19 in juvenile rheumatoid arthritis. *Indian Journal of Medical Research* 1998;107:15-18
22. Truckenbrodt H. Epidemiologie. In: Wahn V, ed. *Rheumatische Erkrankungen im Kindes- und Jugendalter*. München: Hans Marseille Verlag, 2001:24-25
23. Schaller JG. Juvenile rheumatoid arthritis. *Pediatrics in Review* 1997;18:337-349
24. Wahn V. *Rheumatische Erkrankungen im Kindes- und Jugendalter*. München: Hans Marseille Verlag, 2001:205, 212, 219, 224, 230, 234
25. Andersson Gäre B. Epidemiology. *Bailliere`s Clinical Rheumatology* 1998;12:191-208
26. Schuster V, Kreth HW. Parvovirus-B19-Infektionen. In: Speer CP, Gahr M, eds. *Pädiatrie*. Berlin-Heidelberg: Springer, 2001:382
27. Gay NJ, Hesketh LM, Cohen BJ, Rush M, Bates C, Morgan-Capner P, Miller E. Age specific antibody prevalence to parvovirus B19: how many women are infected in pregnancy? *Communicable Disease Report, Review No. 9* 1994;4:104-107
28. Anderson LJ, Tsou C, Parker RA, Chorba TL, Wulff H, Tattersall P, Philip P M. Detection of antibodies and antigens of human parvovirus B19 by enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Microbiology* 1986;24:522-526
29. Caramaschi P, Zeminian S, Carletto A, Biasi D, Marino A, Bambara L-M. Parvovirus B19 infection and rheumatic diseases. *Revue Du Rhumatisme [Engl. Ed.]* 1996;63:846-853
30. Mimori A, Misaki Y, Hachiya T, Ito K, Kano S. Prevalence of antihuman parvovirus B19 IgG antibodies in patients with refractory rheumatoid arthritis and polyarticular juvenile rheumatoid arthritis. *Rheumatology International* 1994;14:87-90
31. Anderson MJ, Higgins PG, Davis LR, Willman JS, Jones SE, Kidd IM, Pattison JR, Tyrrell DAJ. Experimental parvoviral infection in humans. *The Journal of Infectious Diseases* 1985;152:257-265

32. Modrow S, Dorsch S. Antibody responses in parvovirus B19 infected patients. *Pathologie Biologie* 2002;50:326-331

## **Danksagung**

Herrn Priv.-Doz. Dr. Hermann Girschick danke ich ganz herzlich für die Überlassung des Dissertationsthemas und die Übernahme des Referates. Mein besonderer Dank gilt ihm auch für die jederzeit überaus freundliche, hilfsbereite und sehr engagierte Betreuung und unermüdliche Beantwortung all meiner Fragen.

Herrn Professor Dr. Axel Rethwilm danke ich für die freundliche Übernahme des Koreferates und die angenehme mündliche Prüfung.

Herrn Dr. Benedikt Weissbrich danke ich herzlich für die nette Betreuung und hilfreiche Unterstützung während meiner Arbeit im virologischen Institut und die allseits konstruktiven Ratschläge.

Außerdem bedanke ich mich bei den Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen der Universitäts-Kinderklinik und des Instituts für Virologie und Immunbiologie, die mich freundlich und hilfsbereit unterstützt haben bei der Recherche in den Patientenakten und bei der Durchführung der Untersuchungen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dipl.-Volkswirt Roman Lutz für die hilfreiche Unterstützung bei der Durchführung der Statistik.

Nicht zuletzt danke ich meinen Kolleginnen und Mitstreiterinnen Carron, Tanja und Julia für den regen fachlichen und persönlichen Austausch und die gegenseitige Motivation. Gleiches gilt für meinen Mann Andy, ohne den die Fertigstellung dieser Arbeit zeitweise ziemlich gefährdet gewesen wäre. Vielen, herzlichen Dank!

## Lebenslauf

Name: Yvonne Süß-Fröhlich, geb. Süß  
Geburtstag: 19.07.1972  
Geburtsort: Schweinfurt  
Staatsangehörigkeit: deutsch  
Familienstand: verheiratet mit Andy Fröhlich, Dipl.-Kaufmann  
Wohnort: Klosterstr. 9, 96052 Bamberg  
Telefon: 0951/9371199  
Mobil: 0151/11666052  
E-Mail: yvonne.suess@web.de

## Werdegang:

1978 – 1980 Verbandschule Obertheres  
1980 – 1984 Grund-/Hauptschule Schonungen  
1984 – 1988 Walter-Rathenau-Realschule, Schweinfurt  
Abschluss: Mittlere Reife  
09/88 – 02/89 Fachoberschule Schweinfurt  
03/89 – 08/89 Orientierungsphase  
09/89 – 07/92 Ausbildung zur Kauffrau im Groß- und Außenhandel  
07/92 – 02/93 Kfm. Angestellte  
03/93 – 04/94 Au Pair-Aufenthalt in Houston, Texas, USA  
05/94 – 09/94 Kfm. Angestellte  
09/94 – 06/97 Bayernkolleg Schweinfurt  
Abschluss: Allg. Hochschulreife  
07/97 – 09/97 Ferienbeschäftigung  
10/97 – 12/02 Studium der Zahnmedizin an der Universität Würzburg  
06.12.02 Staatsexamen  
09.12.02 Zahnärztliche Approbation  
seit 01/03 Vorbereitungsassistentin in Praxis Dr. Lutz-Zankl, Eltmann

Bamberg, 13. Februar 2005

