

Aus dem
Institut für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit
Direktorin: Frau Professor Dr. med. Gundel Harms-Zwingenberger

Habilitationsschrift

Epidemiologie, Klinik und Prävention von Dengue in Südost-Asien und unter europäischen Reisenden

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Experimentelle Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité-Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Ole Wichmann
geboren am 08.05.1973 in Lüdenscheid

Eingereicht: November 2011
Dekanin: Prof. Dr. med. Annette Grütters-Kieslich
1. Gutachter: Prof. Dr. Annelies Wilder-Smith, Heidelberg
2. Gutachter: PD Dr. Dr. Jonas Schmidt-Chanasit, Hamburg

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	1
1. Einleitung	2
1.1. Das Denguevirus und sein Vektor	2
1.2. Klinik und Pathogenese der Denguevirus-Infektion	3
1.3. Immunantwort und Diagnose einer Denguevirus-Infektion	6
1.4. Epidemiologie von Dengue in Endemiegebieten	8
1.5. Epidemiologie von Dengue unter Reisenden.....	10
1.6. Therapie und Prävention von Dengue	12
1.7. Hintergründe und Zielstellungen der eigenen Forschungsarbeiten	14
2. Ergebnisse eigener Arbeiten	16
2.1. Epidemiologie, Klinik und Bedeutung von Dengue in Südost-Asien	16
Wichmann, O. , Hongsiriwon, S., Bowonwatanuwong, C., Chotivanich, K., Sukthana, Y., Pukrittayakamee, S. Risk factors and clinical features associated with severe dengue infection in adults and children during the 2001-epidemic in Chonburi, Thailand.....	16
Vong, S., Khieu, V., Glass, O., Ly, S., Ong, S., Huy, R., Ngan, C., Wichmann, O. , Letson, W., Margolis, H.M., Buchy, P. Dengue Incidence in Urban and Rural Cambodia: Results from Population-based Active Fever Surveillance, 2006-2008.....	25
Wichmann, O. , Yoon, I.K., Vong, S., Limkittikul, K., Gibbons, R.V., Mammen, P.M., Ly, S., Buchy, P., Sirivichayakul, C., Buathong, R., Huy, R., Letson, G.W., Sabchareon, A. Dengue in Thailand and Cambodia: An Assessment of the Degree of Underrecognized Disease Burden Based on Reported Cases.....	36
Huy, R., Wichmann, O. , Beatty, M., Ngan, C., Duong, S., Margolis, M.S., Vong, S. Cost of dengue and other febrile illnesses to households in rural Cambodia: A prospective community-based case-control study.....	46
2.2. Epidemiologie, Klinik und Diagnose von Dengue unter Reisenden	55
Wichmann O. , Lauschke A, Frank C, Shu PY, Niedrig M, Huang JH, Stark K, Jelinek T. Dengue Antibody Prevalence in German Travelers.....	55
Wichmann, O. , Stark, K., Shu, P.Y., Niedrig, M., Frank, C., Huang, J.H., Jelinek, T. Clinical features and pitfalls in the laboratory diagnosis of dengue in travellers.....	60
Wichmann, O. , Gascon, J., Schunk, M., Puente, S., Siikamaki, H., Gjørup, H., Lopez-Velez, R., Clerinx, J., Peyerl-Hoffmann, G., Sundøy, A., Genton, B., Kern, P., Calleri, G., de Górgolas, M., Mühlberger, N., Jelinek, T. Severe dengue infections in travelers: Risk factors and laboratory indicators.....	69
2.3. Abschätzung des Bedarfs einer Impfung gegen Dengue.....	78
Amarasinghe, A., Wichmann, O. , Margolis, H.S., Mahoney, R.T. Forecasting dengue vaccine demand in disease endemic and non-endemic countries.....	78
3. Diskussion	88
3.1. Dengue-Epidemiologie in Endemiegebieten und unter Reisenden.....	88
3.2. Klinische Manifestationen und Risikofaktoren für schwere Verläufe.....	91
3.3. Diagnostik einer Denguevirus-Infektion	94
3.4. Bedarf für eine Dengue-Impfung & Ausblick.....	95
4. Zusammenfassung.....	97
5. Literaturangaben	98
Danksagung	105

Abkürzungen

ADE	Antibody-dependent enhancement
ALT	Alanin-Aminotransferase
AST	Aspartat-Aminotransferase
DDT	Dichlordiphenyltrichlorethan
DENV	Denguevirus
DF	Dengue Fieber
DHF	Dengue Hämorrhagisches Fieber
DSS	Dengue Schock Syndrom
E / M	Hüll (engl. envelope) / Membran-Antigen
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FSME	Frühsommer-Meningoenzephalitis
FSMEV	Frühsommer-Meningoenzephalitis Virus
HAI	Hämagglutination-Hemmung
HiB	Haemophilus influenza B
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
JE	Japanische Enzephalitis
JEV	Japanische Enzephalitis Virus
KI	Konfidenzintervall
µL	Mikroliter
LATV	lebend-attenuiert tetravalent
nm	Nanometer
OR	Odds Ratio
PDVI	Pediatric Dengue Vaccine Initiative
RNA	Ribonukleinsäure
PRNT	Plaque Reduktions- und Neutralisationstest
RT-PCR	Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion
TNF	Tumornekrosefaktor
WHO	Weltgesundheitsorganisation
ZNS	Zentrales Nervensystem

1. Einleitung

1.1. Das Denguevirus und sein Vektor

Zur Familie der Flaviviridae gehören drei Gattungen: Flavivirus, Pestivirus und Hepacivirus. Der Gattung der Flaviviren sind über 60 verschiedene Viren zugeordnet. Zu den wichtigsten human-pathogenen Vertretern dieser Gattung gehören das Gelbfieberevirus, das Japanische Enzephalitis Virus (JEV), das Frühsommer-Meningoenzephalitis Virus (FSMEV) und das Denguevirus (DENV). Es besteht eine serologische Verwandtschaft zwischen diesen Flaviviren, die sich in einer mit dem Hüllprotein assoziierten biologischen Aktivität der Hämagglutination-Hemmung (HAI) und der Virus-Neutralisation abbildet. Mithilfe des Neutralisationstests konnten verschiedene Serogruppen identifiziert werden. Zur Dengue-Serogruppe gehören 4 unterschiedliche, aber antigenetisch verwandte Viren: DENV-1, DENV-2, DENV-3 und DENV-4 [1].

Flaviviren sind ca. 50 nm groß, behüllt, von ikosaedrischer Symmetrie und beinhalten einen positivsträngigen RNA-Einzelstrang als Genom. Die RNA umfasst nur einen Offenen Leserahmen, der für ein Polyprotein kodiert, das durch virale und wirtseigene Proteasen in 10 virale Proteine geschnitten wird. Dazu gehören 3 Strukturproteine (das C-Protein [engl. „core“], das M-Protein [engl. „membrane“] produziert als prM-Protein [engl. „precursor“] und das E-Protein [engl. „envelope“]) und 7 Nicht-Strukturproteine (NS1, NS2A, NS2A, NS3, NS4A, NS4B, NS5) [2]. Phylogenetische Analysen, basierend auf Nukleotidsequenzen des E, prM, NS1 oder des kompletten Genoms, zeigen, dass das DENV-1 und DENV-2 in jeweils fünf, sowie das DENV-3 und DENV-4 in jeweils vier Genotypen clustern [3, 4].

Dengueviren werden durch Stiche der *Aedes* (seit 2004 *Stegomyia* genannt) *aegypti* Mücke auf Menschen übertragen. Diese Mückenart hat sich in einem hohen Grad an die menschlichen Lebensräume angepasst und kommt in fast allen tropischen und subtropischen Gebieten der Welt vor. Typische Brutstätten für die Larven der *Aedes*-Mücken sind artifizielle Container wie Tonkrüge, Dosen, Flaschen, Gummireifen, Blumenvasen, Regenwasser-Bottiche, aber auch natürliche Plätze mit der Möglichkeit einer Wasseransammlung wie zum Beispiel Astlöcher. Die in den üblicherweise dunklen Container abgelegten Eier können über Monate auch in Trockenheit überleben. Kommt es dann zu einer Wasseransammlung in dem Container (z.B. während der Regenzeit), so reichen 2 bis 3 Tage hohe Feuchtigkeit, dass sich die Eier zu Larven entwickeln. Die Larven bevorzugen sauberes Wasser und verpuppen sich binnen 5 bis 10 Tagen. Die erwachsene Mücke kann nach weiteren 2 Tagen entschlüpfen. Unter optimalen Bedingungen kann die Entwicklung vom Ei bis zur erwachsenen Mücke in 10 Tagen abgeschlossen sein [5]. Nur die weiblichen *Aedes*-Mücken saugen Blut, sind

überaus anthropophil und nehmen während eines gonotrophischen Zyklus oft mehrere Blutmahlzeiten zu sich. Sie attackieren lautlos, bevorzugt außerhalb von Häusern, und stechen tagsüber, vor allem am Morgen und späten Nachmittag. Die Flugreichweite der weiblichen *Aedes*-Mücke beträgt 30-50 m pro Tag [1]. Bei Infektion mit einem DENV bleibt die Mücke ihr ganzes Leben über infektiös, ohne zu erkranken.

Auch *Ae. albopictus* Mücken (die sog. asiatische Tigermücke) können das DENV übertragen. Jedoch ist ihr Potential, große Dengue-Ausbrüche zu verursachen, deutlich niedriger als das von *Ae. aegypti* Mücken. Dieses wird zum einen dadurch erklärt, dass *Ae. albopictus* weniger anthropophil sind und zum anderen oft nur eine Blutmahlzeit pro gonotrophischen Zyklus benötigen [1]. Die zunehmende geographische Verbreitung von *Ae. albopictus* ist jedoch besorgniserregend. Seit 2007 wurden *Ae. albopictus* Mücken auch in mehreren europäischen Ländern entdeckt: Albanien, Bosnien und Herzegowina, Frankreich (Côte d'Azur und Korsika), Italien, Montenegro, Serbien, Slowenien, Spanien und der Schweiz [6-8].

Aedes-Mücken und Menschen sind üblicherweise das einzige natürliche Reservoir des DENV; ein genetisch und ökologisch unterschiedlicher sylvatischer DENV-Zyklus existiert in West-Afrika unter Einbezug von Primaten, ohne aber eine wesentliche Public Health Rolle zu spielen [4, 9]. Damit eine Übertragung stattfinden kann, muss eine *Aedes*-Mücke einen infizierten Menschen in der virämischen Phase stechen, die zwischen 4 und 12 Tagen andauert. Kommt es zu einer Infektion, kann die Mücke das Virus nach einer extrinsischen Inkubationszeit von 8-12 Tage auf weitere Menschen übertragen [10].

1.2. Klinik und Pathogenese der Denguevirus-Infektion

Das durch eine DENV-Infektion verursachte Krankheitsspektrum hat eine große Spannweite. Eine Infektion kann asymptomatisch verlaufen, eine milde fieberhafte Erkrankung oder –in seltenen Fällen– schwere hämorrhagische Verläufe mit Todesfolge verursachen. In der Literatur und auch in dieser Habilitationsschrift wird als „Dengue“ die symptomatische Erkrankung bezeichnet – unabhängig vom Schweregrad.

Diverse Kohortenstudien mit integrierten, sequenziellen Serosurveys haben gezeigt, dass mehr als die Hälfte aller DENV-Infektionen asymptomatisch verlaufen [11-13]. Es zeigt sich aber auch, dass das Verhältnis von symptomatischen zu asymptomatischen Infektionen sehr variabel ist und möglicherweise von der in den Jahren zuvor erworbenen heterotypen Kreuzimmunität in der Population abhängt [14]. Wenn es zu einem symptomatischen Verlauf kommt, manifestiert sich eine DENV-Infektion nach einer durchschnittlichen Inkubationszeit von 4–7 (Spannweite: 3–14) Tagen zumeist als harmlose, aber unangenehme fieberhafte Viruserkrankung, die aufgrund der oft ausgeprägten Gliederschmerzen auch

„Knochenbrecherfieber“ genannt wird. Typische Symptome sind Fieber, Abgeschlagenheit, starke Kopfschmerzen mit retroorbitalem Schmerz, Muskel- und Gelenkschmerz, Übelkeit, Erbrechen und ein makulopapulöses Exanthem. In seltenen Fällen können auch bei dieser Form des klassischen DF Blutungstendenzen in Form von Petechien, Nasenbluten oder Gaumenblutungen auftreten [15, 16]. Eine Thrombozytopenie und Leukopenie sind typische Blutbildveränderungen, die ihre niedrigsten Werte üblicherweise am 3. bis 6. Fiebertag erreichen [17]. Die Fieberphase hält für gewöhnlich 5 bis 7 Tage an. Abgeschlagenheit und Muskelschmerzen können über Wochen bestehen bleiben.

Bis zum Jahr 2009 wurde für eine schwere Manifestation einer DENV-Infektion der Terminus „Dengue Hämorrhagisches Fieber“ benutzt. Dieser Begriff war leider auch etwas irreführend, da nicht die Blutungs-Manifestation das entscheidende Kriterium für diese schwere Verlaufsform ist, sondern vielmehr eine erhöhte vaskuläre Permeabilität, die zu einem hypovolämischen Schock führen kann. Alle vier folgenden Kriterien müssen entsprechend der klinischen Falldefinition der WHO von 1997 erfüllt sein [18]:

- Fieber,
- Thrombozytopenie $<100.000/\mu\text{L}$,
- Blutungsneigung,
- Erhöhte vaskuläre Permeabilität. Nachgewiesen durch Pleuraerguss, Aszites, Hypoproteinämie oder Anstieg des Hämatokrits $\geq 20\%$ im Krankheitsverlauf oder Abfall um $\geq 20\%$ unter suffizienter Therapie mittels Volumengabe.

Liegt als einziges Zeichen einer Blutungsneigung ein positiver Tourniquet-Test (auch Rumpel-Leede-Test genannt) vor, so entspricht dieses einem DHF Grad I. Treten bei zunehmender vaskulärer Permeabilität zusätzlich zu den vier Kriterien Zeichen eines Schocks auf, so wird diese Manifestation auch als Dengue Schock Syndrom (DSS) bezeichnet (bzw. auch DHF Grad III mit Zeichen eines beginnenden, DHF Grad IV mit Zeichen eines manifesten Schocks) [18]. In Asien schwankt die geschätzte Falltodesrate je nach Land und Ausbruch zwischen 0,2% und 3,5% [17, 19].

In den vergangenen Jahren wurde die WHO Falldefinition für DHF stark kritisiert, da diese vornehmlich in Thailand in den 60er Jahren auf der Basis klinischer Beobachtungen von Kindern mit schweren DENV-Infektionen entwickelt wurde. Gerade in Lateinamerika und unter Erwachsenen würde diese jedoch einen beträchtlichen Teil an schweren Verläufen nicht erfassen [20-23]. Basierend auf einer prospektiven, multizentrischen Studie, die in 4 Ländern Südost-Asiens und 3 Ländern Lateinamerikas unter Einschluss aller Altersgruppen durchgeführt wurde, konnte im Jahr 2009 eine neue Richtlinie von der WHO publiziert

werden, in der symptomatische DENV-Infektionen nicht mehr in DF und DHF unterteilt werden, sondern in ein Dengue, ein Dengue mit Warnzeichen und ein schweres Dengue [17, 24]. Schweres Dengue ist dabei definiert durch das Auftreten von mindestens einer der folgenden Manifestationen:

- Erhöhte vaskuläre Permeabilität, die zu Schock und/oder Flüssigkeitsansammlung (Pleuraerguss, Aszites) oder auch zu Atemproblemen führen kann;
- Schwere / klinisch relevante Blutungen;
- Schwere Organbeeinträchtigung (z.B. des ZNS mit Enzephalitis/Enzephalopathie, akutes Leber- oder Nierenversagen, andere ungewöhnliche Organmanifestationen wie Kardiomyopathie).

Die neue Falldefinition wurde mit der alten in einer multizentrischen Studie in 18 endemischen Ländern verglichen. Die Akzeptanz und Anwenderfreundlichkeit der neuen Falldefinition war hoch, und mit ihrer Hilfe konnten nur 1,6% der 1.962 identifizierten Dengue-Fälle nicht kategorisiert werden im Gegensatz zur alten Falldefinition mit 14% [25]. Trotzdem hat sich die neue Falldefinition noch nicht gänzlich durchgesetzt. Insbesondere in Südost-Asien aber auch in den aktuell laufenden klinischen Impfstoffstudien wird zumeist noch auf die traditionelle DF/DHF-Kategorisierung zurückgegriffen.

Seit mehreren Jahrzehnten wird intensiv an der Frage geforscht, weshalb ein Großteil an Personen mit einer DENV-Infektion an einem milden fieberhaften Verlauf erkrankt, während ein kleiner Anteil an Infizierten eine schwere Verlaufform entwickelt. Eine zentrale Hypothese, die dieses Phänomen erklären will, bildet dabei die antikörper-abhängige Infektionssteigerung (sog. „antibody dependent enhancement“, ADE) im Rahmen einer DENV-Zweitinfektion. Die Hypothese besagt, dass sich im Rahmen einer Zweitinfektion Immunkomplexe aus nicht-neutralisierenden Antikörpern, die aus einer Erstinfektion mit einem bestimmten DENV-Serotypen resultieren, mit Dengueviren eines zweiten (unterschiedlichen) Serotypen bilden können. In diesem Komplex können die Viren in einem höheren Maß Zellen der mononukleären Linie befallen, was dann in der Folge zu einer erhöhten Virusreplikation und einer erhöhten Produktion von vasoaktiven Mediatoren (insb. TNF- α , Interferon- γ , Interleukine) führt [26]. Diese Mediatoren werden für die oben beschriebene erhöhte vaskuläre Permeabilität und für weitere Pathologien (z.B. Koagulopathien) verantwortlich gemacht. In diversen epidemiologischen Studien in Endemiegebieten konnte das Phänomen, dass eine Zweitinfektion mit einem schweren Dengue-Krankheitsverlauf assoziiert ist, beobachtet werden [11, 27-31]. Andere Studien konnten dieses Phänomen jedoch nicht nachweisen, wie zum Beispiel während eines großen

Dengue-Ausbruchs in Peru, bei dem trotz einer größeren Zahl an Zweitinfektionen keine schweren Dengue-Erkrankungen beobachtet werden konnten [32]. Vermutet wird von Befürwortern der ADE-Hypothese, dass die Sequenz der beiden infizierenden Serotypen (also z.B. DENV-2 auf DENV-1) von besonderer Bedeutung bei der Entwicklung einer schweren Verlaufsform ist [29, 33]. Andere Studien legen eine Assoziation von bestimmten DENV Sero- oder Genotypen mit schweren Krankheitsverläufen nahe [34-36]. Möglicherweise spielen beide Hypothesen und noch weitere Faktoren eine Rolle bei der Entwicklung einer schweren Verlaufsform, wie zum Beispiel das Alter der betroffenen Personen (mit einem erhöhten Risiko für Kinder), chronische Grunderkrankungen (wie Asthma oder Diabetes), genetische Prädispositionen oder auch der Ernährungsstatus (mit erhöhten Risiko für Kinder sowohl mit Mangelernährung als auch Übergewicht) [19, 37-40].

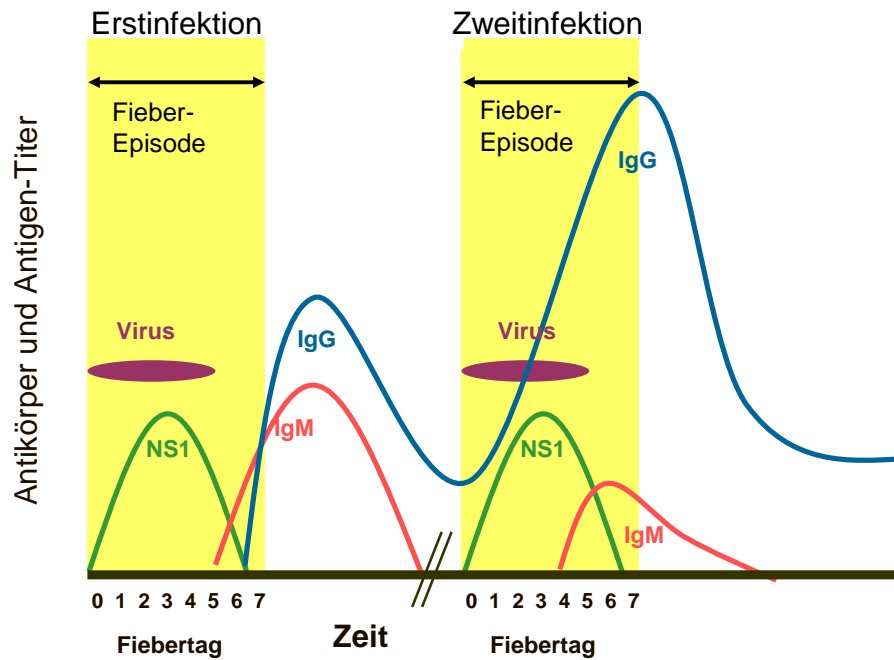
1.3. Immunantwort und Diagnose einer Denguevirus-Infektion

Aktuell geht man davon aus, dass es bei einer Infektion mit einem der vier DENV-Serotypen zu einer lebenslangen Immunität gegenüber diesem speziellen Serotypen, aber nur zu einer mehrere Monate andauernden Kreuzimmunität gegenüber den restlichen drei Serotypen kommt [19, 41]. Passive Anti-DENV IgG Antikörper können von der Mutter auf das Kind übertragen werden. Eine Studie zeigte, dass maternale neutralisierende anti-DENV Antikörper bei 70% der Säuglinge nach 6 Monaten noch nachweisbar waren, während nach 12 Monaten keines der untersuchten Säuglinge mehr maternale Antikörper aufwies [42]. Eine andere Studie konnte aufzeigen, dass die neutralisierenden Antikörper in den ersten Monaten den Säugling zwar schützen und dann aber mit abnehmenden Titern zu einer Phase mit einem erhöhten ADE-Risiko führen, was sich auch in der Altersverteilung von Säuglingen mit DHF in den Kliniken widerspiegelt [43-45].

Die Immunantwort bei einer akuten DENV-Infektion ist abhängig vom Immunstatus der infizierten Person. Personen mit einer Erstinfektion und ohne frühere Impfung gegen ein anderes Flavivirus (z.B. gegen Gelbfieber, JE oder FSME) entwickeln eine primäre Immunantwort, bei der es typischerweise zu einem verzögert einsetzenden Anstieg von spezifischen IgM Antikörpern kommt. Drei bis fünf Tage nach Symptombeginn weisen erst 50% der Patienten, 80% nach 5 Tagen, und 99% erst nach 10 Tagen IgM-Antikörper auf, die einen Spitzenwert nach 2 Wochen haben und dann nach 2-3 Monate nicht mehr nachweisbar sind [17]. Anti-DENV IgG Antikörper sind bei einer Erstinfektion oft nur in einem niedrigen Titer und auch erst nach der ersten Krankheitswoche nachweisbar. Im Vergleich dazu kommt es bei einer Zweitinfektion bereits in der akuten Fieberphase zu einer schnellen und ausgeprägten IgG Immunantwort (oft auch sehr breit gegen viele Flaviviren), mit serotyp-

spezifischen IgG Antikörpern, die über viele Monate oder gar lebenslang nachweisbar bleiben. Die IgM Antikörper Immunantwort bleibt bei einer Zweitinfektion hingegen unterdrückt oder findet gelegentlich sogar überhaupt nicht statt (Abb. 1) [46]. Aus diesem Grund kann im Rahmen einer serologischen Diagnostik der IgM/IgG Quotient einen Hinweis darauf geben, ob es sich bei der Erkrankung um eine DENV Erst- oder Zweitinfektion handelt [47, 48].

Abbildung 1: Antikörper und NS1-Antigen Titerdynamik nach DENV Erst- und Zweitinfektion



Laborchemisch sind bei den meisten Dengue-Patienten eine Leukopenie und eine Thrombozytopenie nachweisbar. Zusätzlich können im Verlauf die Leber-Transaminasen ansteigen. Bei Patienten mit schweren Krankheitsverläufen ist der Hämatokrit-Wert von entscheidender Bedeutung und dient in diesen Fällen unter engmaschigen Kontrollen als Indikator für eine suffiziente Therapie [16, 17, 49]. Traditionell und auch entsprechend der DHF-Falldefinition der WHO von 1997 wird der Tourniquet-Test für die Diagnose einer akuten DENV-Erkrankung angewandt. Zwar zeigte dieser Test in einer prospektiven Studie einen hohen positiven prädiktiven Wert von 98%, aber nur einen negativen prädiktiven Wert von 17%, wobei dieser auch nicht eine Unterscheidung zwischen einem klassischen DF (38% positiv) und einem DHF (45% positiv) ermöglichen konnte [50].

Zum labordiagnostischen Nachweis einer DENV-Infektion stehen üblicherweise vier Methoden zur Verfügung: die Virusisolierung, der Nachweis von Virus-RNA mittels RT-PCR, der Antikörpernachweis und der Antigennachweis [48]. Nach Beginn der Symptome kann das Virus üblicherweise über den Zeitraum der Fieberphase (d.h. 5-7 Tage) im Blut nachgewiesen

werden (Abb. 1). Daher sind in der akuten Krankheitsphase die Virusisolation, eine RT-PCR oder der Antigen-Nachweis durchzuführen. Nach Abklingen der Symptome ist der serologische Nachweis von DENV-spezifischen Antikörpern die Methode der Wahl [17, 51]. Da eine RT-PCR oder Virusisolation nur in spezialisierten Laboren zur Verfügung stehen, ist der serologische Nachweis von DENV-spezifischen Antikörpern die gebräuchlichste Methode. Hierfür stehen üblicherweise ELISA- oder HAI-Tests zur Verfügung. Die Interpretation eines Antikörpernachweises wird jedoch erschwert durch mögliche Kreuzreaktionen, die durch andere Flavivirus-Infektionen oder -Impfungen verursacht werden können. Zum anderen entwickeln Patienten erst 3–5 Tage nach Fieberbeginn IgM-Antikörper, so dass zum Beweis einer akuten DENV-Infektion eine zweite Antikörper-Bestimmung zu einem späteren Zeitpunkt angeraten ist (zum Nachweis eines Antikörper-Anstiegs oder einer Serokonversion). Mittlerweile sind auch immunochromatographische Schnelltests zur Dengue-Diagnose kommerziell erhältlich. Wie auch die ELISA-Kits sind die Schnelltests in der frühen Krankheitsphase aber oft noch negativ. In einer multizentrischen Studie wurde vor kurzem die Validität von 5 kommerziell erhältlichen IgM ELISA und 4 IgM Schnelltests ermittelt. Hierbei zeigten sich große Diskrepanzen im Vergleich zu einem Referenz-ELISA, wobei Test-Sensitivitäten zwischen 21–99% und die Spezifitäten zwischen 77–98% lagen [52]. Die mäßige Validität vieler kommerziell erhältlicher Schnelltests war bereits in früheren Vergleichsstudien aufgefallen. So wiesen zum Beispiel in einem Vergleich von 8 Schnelltests gerade einmal 2 eine Sensitivität von >50% auf [53]. Mittlerweile stehen auch NS1-Antigen ELISA kommerziell zur Verfügung. In einer multizentrischen Studie, die zwei dieser NS1-Assays verglich, zeigte der bessere Test eine moderate Sensitivität (64%, Spannweite 34–76%) und eine Spezifität von 100%. Die Sensitivität konnte durch die Kombination mit einem IgM Antikörper ELISA auf 82% gesteigert werden [54]. Die sensitivste Methode, die auch Antikörper serotyp-spezifisch nachweisen kann, ist der Neutralisationstest; und der Nachweis neutralisierender Antikörper gilt als das primäre Korrelat für Schutz [55, 56]. Die Durchführung dieses Tests ist jedoch sehr aufwändig und kostspielig, so dass dieser Test üblicherweise nur im Rahmen von großen Studien (z.B. Impfstoffstudien) eingesetzt wird.

1.4. Epidemiologie von Dengue in Endemiegebieten

Dengue ist die am häufigsten durch Mücken übertragene Virus-Erkrankung weltweit. Die WHO schätzt, dass 2,5 Milliarden Menschen in Dengue-Endemiegebieten leben und jährlich 50 Millionen Dengue-Erkrankungen stattfinden [17]. Die Inzidenz von Dengue ist über die letzten 50 Jahre mehr als 30-fach gestiegen [17, 57]. Zeitgleich konnte eine kontinuierliche geographische Ausbreitung des Virus beobachtet werden auch in Gegenden, in denen noch

nie oder mehrere Jahrzehnte kein Dengue-Ausbruch aufgetreten war, wie zum Beispiel auf Hawaii, in Saudi Arabien oder in Süd-China [58-60]. Die Ursachen für die geographische Ausbreitung und Zunahme von DENV-Infektionen sind vielfältig und komplex. Das in den letzten Jahrzehnten insbesondere in den Entwicklungsländern stattgefundenen Wachstum der Bevölkerung mit den folgenden Konsequenzen wird vornehmlich für diese Entwicklung verantwortlich gemacht [61]:

- Urbanisierung mit schlecht geplanten Wasser- und Abwassersystemen;
- Umweltverschmutzung mit artifiziellen Containern (z.B. Plastikflaschen, Reifen, Dosen);
- Fehlendes Geld und fehlende politische Unterstützung für Mücken-Kontrollprogramme;
- Mangel an ausgebildetem Personal, welches Vektorkontrollprogramme durchführen kann;
- Weltweit zunehmende Flugreiseaktivität von Menschen, die als Vektoren neue und potentiell pathogenere Stämme in unterschiedliche geographische Regionen importieren.

Die ersten Beschreibungen von Dengue-ähnlichen Erkrankungen stammen aus China während der Jin-Dynastie (265–420 n. Chr.). Später wurde von großen Ausbrüchen, die wahrscheinlich auf das DENV zurückzuführen sind, auf den französischen Antillen (1635), in Panama (1699), Indonesien (1780), Ägypten (1881) oder Spanien (1881) berichtet [3]. Das Virus, das dann auch mittels serologischer Untersuchungen als Ursache für die Ausbrüche identifiziert werden konnte, verursachte in Asien und Lateinamerika in den ersten Jahrzehnten des 20. Jahrhunderts diverse sporadische Ausbrüche, die oft von Land zu Land übertragen, alle 10 bis 40 Jahren auftraten [62]. Bis in die 20er Jahre des 20. Jahrhunderts traten auch noch große Epidemien im Mittelmeerraum auf, wie zum Beispiel mit bis zu einer Million Erkrankten 1927-29 in Griechenland, bis das DENV in den 40er Jahren zusammen mit der *Ae. aegypti* Mücke eliminiert wurde [63].

Während und nach dem 2. Weltkrieg veränderte sich die Epidemiologie in Asien und der Pazifik-Region jedoch in der Form, dass Dengue nicht mehr nur sporadisch in großen Ausbrüchen in städtischen Gebieten auftrat, sondern endemisch wurde. Die Truppenbewegungen von hunderttausenden empfänglichen Soldaten sowie von Kriegsmaterial, das sowohl die Verbreitung von verschiedenen DENV-Serotypen als auch die Verbreitung von *Ae. aegypti* Mücken begünstigte, werden dafür verantwortlich gemacht, dass es seither in asiatischen Städten zu einer hyperendemischen Situation mit einer Ko-Zirkulation von 3 bis 4 verschiedenen DENV-Serotypen kommt, was komplexe Antikörper-anhängige Interaktionen in der Bevölkerung zur Folge hat wie zum Beispiel vorübergehende Kreuzprotektionen oder ADE. Diese Entwicklung führte wohlmöglich auch dazu, dass Dengue, das Jahrhunderte lang als ungefährliche fieberhafte Erkrankung auftrat, 1953 das

erste Mal in seiner schweren Verlaufsform, dem DHF, während eines Ausbruchs in Manila, Philippinen, beschrieben wurde [3, 61]. Innerhalb der nächsten 20 Jahre verbreitete sich diese schwere Verlaufsform in ganz Südost-Asien und ist dort seit Mitte der 70er Jahre eine Hauptursache von Hospitalisation und Tod unter jungen Kindern. In Mittel- und Südamerika hingegen führte das erfolgreiche Programm zur Eradikation der *Aedes*-Mücken dazu, dass neben dem urbanen Gelbfieber auch das DENV aus diesem Kontinent nahezu verschwand. Nachdem das Programm jedoch unter Ächtung des DDTs Anfang der 70er Jahre aufgegeben wurde, kam es bald zu einer deutlichen geographischen Wiederausbreitung der Überträgermücke, die heute sogar das von 1930 übertrifft [64]. Als Folge treten seither in vielen Ländern Mittel- und Südamerikas regelmäßig große Dengue-Ausbrüche auf. Durch Reisende importierte asiatische Genotypen werden zusätzlich dafür verantwortlich gemacht, dass sich epidemisches DHF auf dem amerikanischen Kontinent ähnlich dramatisch ausbreitet wie in Südost-Asien 25 Jahre zuvor [35, 64, 65]. Auf dem afrikanischen Kontinent war vor 1980 aufgrund mäßiger oder nicht vorhandener Surveillance-Systeme kaum etwas über die DENV-Verbreitung bekannt. Seither sind sowohl Dengue-Ausbrüche in Ost- und West-Afrika, aber auch in Saudi Arabien beobachtet worden, jedoch selten mit schweren Krankheitsformen [3, 35, 59, 66, 67]. Auch wenn entsprechende Surveillance-Systeme fehlen, kann man davon ausgehen, dass auf dem afrikanischen Kontinent die Häufigkeit und Schwere von Dengue-bedingten Ausbrüchen zugenommen hat, wobei Dengue im Vergleich zu anderen Erkrankungen wie Malaria oder HIV weiterhin nur eine untergeordnete Public Health Rolle auf dem Kontinent spielt [17].

Dengue und insbesondere seine schweren Verlaufsformen wurden primär als eine typischerweise unter Kindern auftretende Erkrankung beschrieben. Dieses gilt jedoch vornehmlich für asiatische Länder, wo DHF in den 60er Jahren intensiv beschrieben und Falldefinitionen entsprechend erarbeitet wurden [68]. In Lateinamerika aber auch auf dem Indischen Subkontinent treten im Gegensatz dazu schwere Erkrankungsformen in allen Altersgruppen auf, wobei Kinder die höchste Falltodesrate aufweisen [19, 40, 69-72]. In den vergangenen beiden Jahrzehnten kam es jedoch in Südost-Asien aus bislang nicht erklärbaren Gründen zu einer kontinuierlichen Verschiebung der Krankheitslast in höhere Altersgruppen, so dass in diesen Ländern auch zunehmend junge Erwachsene betroffen sind [19].

1.5. Epidemiologie von Dengue unter Reisenden

Aufgrund der gestiegenen weltweiten Reiseaktivität, aber auch aufgrund eines gestiegenen Bewusstseins reisemedizinisch tätiger Ärzte in Industrieländern, bei Fieber nach einem

Tropenaufenthalt differentialdiagnostisch auch an ein Dengue zu denken, nahmen die Berichte über reise-assoziierte DENV-Infektionen im letzten Jahrzehnt deutlich zu. Unter 17.353 erkrankten Reiserückkehrern, die sich in einer von 30 reisemedizinischen Kliniken des weltweiten „GeoSentinel“-Netzwerks vorstellten, war Dengue die häufigste spezifische Ursache für eine fieberhafte Erkrankung nach einem Aufenthalt in den Tropen/Subtropen außer nach Aufenthalt in Afrika oder Zentral-Amerika [73]. Auch für Hospitalisierungen nach einem Tropenaufenthalt scheint eine DENV-Infektion eine der häufigsten spezifischen Ursachen zu sein [74].

Da *Aedes*-Mücken sowohl in urbanen wie auch ländlichen Gebieten vorkommen, sehr anthropophil sind und am Tag stechen, ist es sehr schwierig, sich vor einer DENV-Infektion zu schützen, und praktisch jeder Mensch -unabhängig von seiner sozioökonomischen Klasse- kann sich in Endemiegebieten infizieren [75]. Daher spiegeln Reisende, die aus Dengue-Endemiegebieten zurückkehren, die jeweils aktuelle lokale DENV-Aktivität im besuchten Reiseland recht gut wider. In einer Population von 522 DENV-infizierten Reiserückkehrern, die sich zwischen 1997 und 2006 in einer GeoSentinel-Klinik vorgestellt haben, zeigten sich nach Reiseregion abhängige jahreszeitliche Schwankungen [76]. Aber auch von Jahr zu Jahr gab es deutliche Unterschiede: In nicht-epidemischen Jahren konnten unter 1.000 fieberhaft aus Südost-Asien zurückkehrende Personen in 50 Fällen eine DENV-Infektion nachgewiesen werden, während sich diese Zahl in epidemischen Jahren auf 159 pro 1.000 fieberhaft erkrankte Reiserückkehrer steigerte [76]. Im Reiseklinik-Netzwerk „TropNetEurop“ wurde zwischen 1999 und 2002 bei insgesamt 481 Reisenden eine DENV-Infektion diagnostiziert. Von diesen Reisenden kehrten 219 (45%) aus Südost-Asien, 77 (16%) vom Indischen Subkontinent, 147 (31%) aus Mittelamerika, Südamerika und der Karibik, sowie 38 (8%) aus Afrika zurück [77]. Bei dieser Statistik muss jedoch berücksichtigt werden, dass die Zahlen sowohl die DENV-Aktivität in den jeweiligen Reiseländern aber auch die Reiseaktivität der Urlauber in diese Gegenden widerspiegeln. Weitere Studien konnten Assoziationen des Infektionsrisikos sowohl mit jungem Alter, Länge der Reise, Reisegebiet oder -saison aufzeigen [78, 79].

In Deutschland ist die Diagnose einer Dengue-Erkrankung nach dem Infektionsschutzgesetz (IfSG) seit 2001 meldepflichtig [79]. Im Jahr 2010 wurde mit 595 Fällen die höchste Anzahl an Dengue-Erkrankungen in einem Jahr übermittelt (2009: 298 Fälle). Die Verteilung der Infektionsländer ist der Verteilung im europäischen Netzwerk ähnlich: 2010 wurde in 58% der Fälle die Erkrankung in Südost-Asien, in 14% auf dem Indischen Subkontinent, in 11% in Mittelamerika, in 10% in Südamerika und in 4% in Afrika erworben [80].

1.6. Therapie und Prävention von Dengue

Die Möglichkeit einer spezifischen Therapie von Dengue existiert nicht. In Abhängigkeit von den klinischen Manifestationen und des Hydrierungsgrads können die meisten Patienten ambulant betreut werden, wobei eine Gabe von Paracetamol (zur Fiebersenkung und Schmerztherapie), eine ausreichende Flüssigkeitszufuhr und ein Hinweis auf Warnzeichen (Blutungen, starke Bauchschmerzen, persistierendes Erbrechen, Lethargie) im Vordergrund stehen. Üblicherweise sollten täglich ambulante Vorstellungen bis zur Entfieberung stattfinden unter Kontrollen von Thrombozyten und Hämatokrit [17].

Bei schweren DENV-Infektion sollten Patienten hospitalisiert und unter engmaschiger Kontrolle von Hämatokrit und Thrombozyten eine Flüssigkeitssubstitution durchgeführt werden [17]. In einer doppel-blinden, randomisierten Studie wurden drei verschiedene Behandlungsregime zur Behandlung eines DSS verglichen: Eine Volumengabe entweder mit Ringer-Laktat oder mit einem von zwei Kolloiden (6-prozentigem Dextran 70 oder 6-prozentiger Hydroxyethylstärke) [81]. In dieser Vergleichsstudie konnte kein signifikanter Unterschied im Behandlungserfolg (mit primärem Endpunkt „Notfall-Kolloidgabe“, aber auch bei den sekundären Endpunkten Blutungsmanifestationen, Koagulationsstörungen oder schwerer Überwässerung) nachgewiesen werden. Ein enges Monitoring sollte im Rahmen der Flüssigkeitssubstitution durchgeführt werden, um eine Überwässerung zu vermeiden [17]. Eine prophylaktische Gabe von Thrombozytenkonzentraten bei schwerer Thrombozytopenie oder eine Steroid-Gabe bei DSS zeigten in klinischen Studien keine Wirksamkeit [82, 83].

Ein Impfstoff steht zurzeit nicht zur Verfügung. Bei der Entwicklung eines Impfstoffs gibt es mehrere Herausforderungen, die zu bewältigen sind. Zum einen muss ein Impfstoff gegen alle vier DENV-Serotypen schützen, die kombiniert in einer Vakzine interferieren können. Zum anderen muss ein idealer Impfstoff in einem sehr hohen Anteil der Geimpften Antikörper gegen alle vier Serotypen von langer Dauer induzieren, da ein schneller Abfall oder eine unzureichende Serokonversion eines Serotypen in der Theorie zu einem ADE führen könnte. Durch neue Technologien und intensive Forschung insbesondere in den letzten 20 Jahren ist es jedoch gelungen, dass sich Mitte 2011 vier verschiedene Dengue Impfstoff-Kandidaten in klinischer Erprobung befinden: Drei lebend-attenuierte tetravalente (LATV) Dengue-Impfstoffe und ein Sub-Unit Protein-Impfstoff (Tabelle 1). Ein LATV-Impfstoff des Herstellers GlaxoSmithKline hat die Phase 2 durchlaufen, wird aber nicht weiter evaluiert [84].

Der LATV-Impfstoff von Sanofi Pasteur ist der in der Entwicklungs-Pipeline am weitesten fortgeschrittene Dengue Impfstoff-Kandidat. Aktuell läuft eine multizentrische Phase 3 Effektivitätsstudie in mehreren endemischen Ländern. Erste Daten aus einer „proof-of-

concept“ Phase 2b Effektivitätsstudie in Thailand sollen bereits Ende 2012 verfügbar sein [85]. Sollten die Studien die Wirksamkeit und Sicherheit des LATV-Impfstoffs belegen, könnte bereits 2014 ein Dengue-Impfstoff lizenziert werden. Das aktuelle Produkt-Profil dieses Impfstoff-Kandidaten (in aktuellen Studien drei Impfstoff-Dosen über einen Zeitraum von 12 Monaten) macht ihn jedoch ungeeignet für Reisende aus Nicht-Endemieländern [86].

Tabelle 1: Dengue Impfstoff-Kandidaten, aktuell in klinischer Erprobung (Stand: 2011)

Hersteller	Kandidat Name	Impfstoff-Typ	Methode der Attenuierung	Referenz
Sanofi Pasteur	CYD	lebend-attenuiert	Chimärisierung, mit D17 Gelbfiebervirus als Gerüst	Guy et al. 2011 [85]
US-National Institute of Health (NIH)	TetraVax-DV	lebend-attenuiert	Deletion, Chimärisierung	Wright et al. 2009 [87]
Inviragen	DENVax	lebend-attenuiert	Chimärisierung, mit DENV-2 als Gerüst	Osorio et al. 2011 [88]
Merck (früher Hawaii Biotech)	DEN-80E	Sub-Unit Protein	-	Coller et al. 2011 [89]

In Ermangelung eines Dengue-Impfstoffs konzentrieren sich die aktuellen Aktivitäten zur Kontrolle des Dengue-Fiebers in Endemiegebieten auf die Bekämpfung der *Aedes*-Mücken. Am effektivsten erscheinen integrierte Vektorkontroll-Programme mit Information der Bevölkerung (z.B. durch Plakate, Fernsehen, im Schulcurriculum) angepasst an die soziokulturellen lokalen Gegebenheiten und die Anwendung spezifischer Intervention wie imprägnierte Fenstervorhänge, Abdeckvorrichtungen von Wassercontainern, sowie biologische oder chemische Substanzen [90-93]. Die Evidenz, wie effektiv diese Programme tatsächlich sind, ist jedoch sehr schwach. Im Rahmen einer systematischen Übersichtsarbeit wurden gerade einmal 2 randomisierte Studien dazu identifiziert; in keiner der in die Übersichtsarbeit eingeschlossenen Studien wurde eine Cluster-Randomisierung oder eine Evaluierung der Nachhaltigkeit solcher Programme unternommen [94]. Häufig haben solche Programme keine gute und langfristige Finanzierung und können daher nicht ausreichend und gut ausgebildetes Personal einstellen. Zudem ist es oft eine gewisse Herausforderung, die Bevölkerung nachhaltig zur Veränderungen ihrer Gewohnheiten zu motivieren [95]. Das Beispiel Singapurs, wo es trotz mehrerer Jahrzehnte praktizierter intensiver Vektorkontrollmaßnahmen nach anfänglichen Erfolgen zu einem massiven Wiederanstieg der Dengue-Inzidenz seit 2002 gekommen ist, verdeutlicht, dass selbst in einem solch wohlhabenden Kleinstaat die aktuellen Vektorkontrollmaßnahmen nicht hinreichend nachhaltig gestaltet werden können [96].

Für Reisende sind die prophylaktischen Möglichkeiten auf einen gezielten Schutz vor Stichen der Überträgermücke mittels Hautrepellentien oder das Tragen hautbedeckender Kleidung beschränkt. Oft ist jedoch die reisemedizinische Beratung vor Reiseantritt und vor allem die Compliance der Reisenden, Hautrepellentien regelmäßig anzuwenden, unzureichend [97-99].

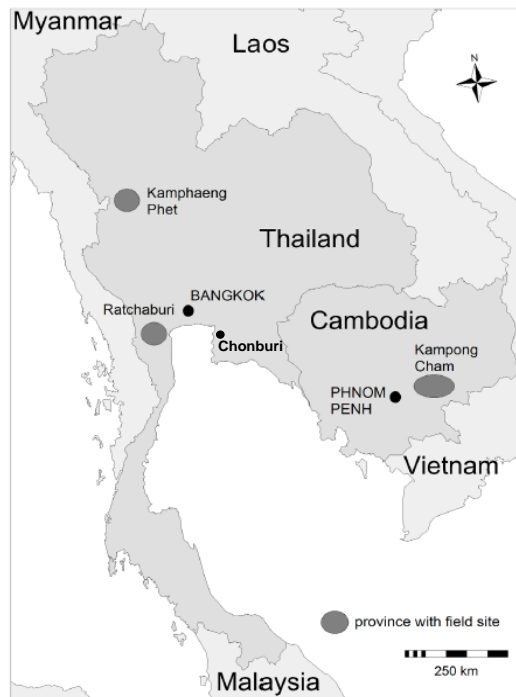
1.7. Hintergründe und Zielstellungen der eigenen Forschungsarbeiten

Bereits 2014/15 könnte ein erster Dengue-Impfstoff kommerziell zur Verfügung stehen [100]. Belastbare Daten zur Krankheitslast auf Landesebene sind essentiell für Entscheidungen, ob ein Dengue-Impfstoff eingeführt werden soll oder nicht, und bilden die Basis für mathematische Transmissionsmodelle und gesundheitsökonomische Analysen. Die Identifizierung von Risikogruppen ist wichtig, um möglicherweise zielgerichtete Impfpfehlungen oder –strategien entwickeln zu können.

In den Ländern Südost-Asiens ist die durch Dengue verursachte Krankheitslast besonders hoch. Thailand (63 Millionen Einwohner) stellt ein hochendemisches Land dar, in dem seit Jahrzehnten Kontrollmaßnahmen zur Bekämpfung und klinische Richtlinien zur Behandlung des Dengue-Fiebers landesweit installiert sind. Kambodscha (13 Millionen Einwohner) ist eines der ärmsten Länder Asiens. Im Jahr 2004 lebten 84% der Bevölkerung in ländlichen Gegenden, davon 39% unterhalb der nationalen Armutsgrenze von 0,43 US\$ pro Tag [101]. Beide Länder verfügen über ein nationales Surveillance-System zur Erfassung von Dengue-Fällen. Diese Systeme sind jedoch so gestaltet (passiv und in Kambodscha nur Krankenhausbasiert), dass sie zwar Trends und Ausbrüche erkennen können, aber nicht für die Etablierung der tatsächlichen Krankheitslast benutzt werden können.

Die Pädiatrische Dengue Vakzin Initiative (PDVI) wurde 2001 gegründet und vornehmlich durch Gelder der Bill & Melinda Gates Stiftung finanziert. Unter anderem wurde durch die PDVI ein Konsortium von Studienorten in Endemiegebieten etabliert, wo in den meisten Fällen unter wissenschaftlicher Betreuung und „good clinical practise“ Monitoring durch PDVI-Mitarbeiter epidemiologische Studien durchgeführt wurden mit dem Zweck, epidemiologische und ökonomische Daten zu erheben, sowie in den Studienorten eine Infrastruktur für mögliche zukünftige Impfstoffstudien zu etablieren. Vier der folgenden eigenen Forschungsarbeiten sind im Rahmen dieser Zusammenarbeiten entstanden. Die Studienort mit den prospektiven Kohortenstudien sowie das Provinzkrankenhaus, an dem eine krankenhausbasierte Studie zur Klinik von Dengue unter Kindern und Erwachsenen durchgeführt wurden, sind auf der Karte in Abbildung 2 dargestellt.

Abbildung 2: Studienorte in Südost-Asien, in denen Daten, die in die eigenen Forschungsarbeiten einfließen, erhoben wurden: Kamphaeng Phet, Ratchaburi, Kampong Cham und Chonburi



Auch wenn in naher Zukunft kein geeigneter Dengue-Impfstoff für Reisende zur Verfügung stehen wird, ist die Identifizierung von Risikofaktoren für eine DENV-Infektion unter Reisenden wichtig, um entsprechende Empfehlungen zur Prophylaxe abgeben zu können. Fast jedes Jahr wird ein neuer Rekord in der internationalen Tourismusbranche gebrochen. Im Jahr 2010 wurden erstmals 940 Millionen Ankünfte von internationalen Reisenden durch die Welt-Tourismus-Organisation (UNWTO) registriert, und in ihrem Bericht von Oktober 2011 schätzt die UNWTO, dass diese Zahl bis 2030 auf über 1,8 Milliarden steigen kann [102]. Länder in Asien und der Pazifik-Region, beide Gegenden hochendemisch für das DENV, sollen besonders von diesen Zuwächsen profitieren. Die Rolle des Reisenden, sowohl selber an einer DENV-Infektion zu erkranken aber auch als Vektor eines möglicherweise pathogeneren DENV-Stamms in andere endemische Gebiete oder in nicht-endemische Gebieten mit der Überträgermücke zu fungieren, wird dadurch in den nächsten Jahrzehnten an Bedeutung eher zunehmen [103, 104]. Erste autochthone Fälle von DENV-Infektionen wurden in Frankreich und Kroatien 2010 identifiziert [105, 106]. Forschungsbedarf besteht auch bei der Diagnose einer reise-assoziierten DENV-Infektion, da Studien zu klinischen Manifestationen und zur Validität der kommerziell verfügbaren diagnostischen Tests oft nur an Populationen in endemischen Gebieten durchgeführt wurden und die Ergebnisse möglicherweise nicht auf europäische Reisende übertragbar sind. Nachfolgende eigene Forschungsarbeiten wurden daher am Patientengut des Berliner Instituts für Tropenmedizin und im europäischen Netzwerk „TropNetEurop“ durchgeführt.

2. Ergebnisse eigener Arbeiten

2.1. Epidemiologie, Klinik und Bedeutung von Dengue in Südost-Asien

Wichmann, O., Hongsiriwon, S., Bowonwatanuwong, C., Chotivanich, K., Sukthana, Y., Pukrittayakamee, S. Risk factors and clinical features associated with severe dengue infection in adults and children during the 2001-epidemic in Chonburi, Thailand. *Tropical Medicine & International Health* 2004; 9: 1022-9.

Die schwere Verlaufsform einer DENV-Infektion, das DHF, kommt insbesondere unter Kindern in Südost-Asien vor. In den letzten Jahren wurde jedoch in mehreren Ländern eine Verschiebung der DHF-Krankheitslast in höhere Altersgruppen beobachtet. Eine retrospektive Analyse der während eines großen Dengue-Ausbruchs 2001 in der thailändischen Provinz Chonburi hospitalisierten Patienten wurde durchgeführt. Eingeschlossen in die Analyse wurden Patienten aller Altersgruppen mit einer laborbestätigten DENV-Infektion. Klinische Manifestationen und Risikofaktoren für schwere Verlaufsformen wurden zwischen Kindern und Erwachsenen verglichen. Die klinischen Schweregrade wurden entsprechend der Definition der WHO von 1997 kategorisiert.

Unter den 347 identifizierten Dengue-Patienten befanden sich 287 Kinder und 60 Erwachsene. Während 59% der Kinder als DHF kategorisiert wurden, wiesen 82% der Erwachsenen Kriterien für eine schwere Verlaufsform auf. Mehrere klinische Manifestationen (u.a. schwere Leberbeteiligung und Blutungen) wurden signifikant häufiger bei Erwachsenen als bei Kindern identifiziert. Dreiundzwanzig Patienten wiesen atypische Manifestationen auf: Drei präsentierten sich mit einer Enzephalopathie und 20 mit schwerer Leberbeteiligung. Unter den Patienten mit schwerer Leberbeteiligung entwickelten 4 einen Ikterus und 9 eine gastrointestinale Blutung. Aufgrund der serologischen Untersuchung konnte eine DENV-Zweitinfektion in 78% der Kinder und 87% der Erwachsenen diagnostiziert werden. Die Zweitinfektion war statistisch signifikant assoziiert mit DHF unter Kindern (OR=3,63; 95%KI: 1,94–6,82) aber nicht unter Erwachsenen (OR=0,6; 95%KI: 0,02–6,04). Insgesamt waren 29 (13%) der DHF-Verläufe mit einer Erstinfektion assoziiert.

Die Untersuchung belegt, dass schwere DENV-Infektionen sowohl bei Kindern als auch Erwachsenen in Thailand auftreten und sich auch in Form einer gastrointestinalen Blutung mit Leberbeteiligung manifestieren können. Die unterschiedliche Häufigkeit von klinischen Manifestationen unter Kindern und Erwachsenen kann in einem unterschiedlichen Aufnahmeverhalten begründet sein. Populationsstudien sollten durchgeführt werden, um die Verteilung der Dengue-Krankheitslast in der Bevölkerung besser abklären und mögliche Risikofaktoren für schwere Krankheitsverläufe identifizieren zu können.

Originalarbeit 1

Risk factors and clinical features associated with severe dengue infection in adults and children during the 2001-epidemic in Chonburi, Thailand

Wichmann, O., Hongsiriwon, S., Bowonwatanuwong, C., Chotivanich, K., Sukthana, Y., Pukrittayakamee, S.

Tropical Medicine & International Health 2004; 9: 1022-9

Seiten 17-24

Vong, S., Khieu, V., Glass, O., Ly, S., Ong, S., Huy, R., Ngan, C., **Wichmann, O.**, Letson, W., Margolis, H.M., Buchy, P. Dengue Incidence in Urban and Rural Cambodia: Results from Population-based Active Fever Surveillance, 2006-2008. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 2010, 4(11): e903.

Robuste Daten zur Inzidenz und zur Epidemiologie von Dengue fehlen in Kambodscha. Es ist weiterhin unklar, ob die Erkrankung vornehmlich in menschlichen Ballungsgebieten oder auch in ländlichen Teilen des Landes vorkommt. Daher wurde über drei Jahre eine aktive populations-basierte Fieber-Surveillance in der größten Provinz Kambodschas durchgeführt unter Beteiligung von 32 Dörfern in ländlicher Gegend und 10 städtischen Gebieten der Provinz. Kinder im Alter von 0 bis 19 Jahre wurden in wöchentlichen Abständen von einem Studienteam zu Hause besucht, und die Eltern wurden nach Fieberepisoden des Kindes in den vergangenen 7 Tagen befragt. Bei akutem oder vor kurzem stattgefundenem dokumentiertem Fieber wurden zwei Blutproben in Abstand von mindestens 2 Wochen gewonnen und auf DENV und anti-DENV Antikörpern untersucht. Das Studienteam nahm keinen Einfluss auf die Entscheidung, ob sich Eltern mit ihren Kindern in einer Ambulanz oder im Krankenhaus vorstellten, versorgten aber die Familie mit fiebersenkenden Medikamenten.

Während der Studienzeit wurden insgesamt 6.121 Fieberepisoden identifiziert, von denen 736 durch ein DENV verursacht war. Die Inzidenz schwankte je nach Studienjahr zwischen 13,4 und 57,8 pro 1.000 Personen-Saisons und war am höchsten unter Kindern im Alter unter 7 Jahren. Die geographische Verteilung der Dengue-Aktivität war sehr fokal und führte in einzelnen Dörfern zu maximalen Inzidenzen von 211 pro 1.000 Personen-Saisons. Während eines schweren DENV-3 Ausbruchs in 2007 waren ländliche Gegenden schwerer betroffen als städtische (Inzidenz: 71/1.000 im Vergleich zu 17/1.000). Die Hospitalisierungsquote von Kindern mit DENV-Infektion schwankte zwischen 46,1% im Jahr 2006 und 2,6% im Jahr 2008 und war teilweise mit dem infizierenden DENV-Serotypen assoziiert. Der Anteil von Dengue-Patienten, die weder hospitalisiert wurden noch sich in einer Ambulanz vorstellten, schwankte zwischen 3,4% und 66,7%.

Bei der Untersuchung handelte es sich um die erste Dengue-Kohortenstudie in Kambodscha. Die Studie belegt eine hohe Inzidenz der Erkrankung insbesondere unter Vorschulkindern. Die Erkrankung tritt sehr fokal auf, sowohl in städtischen als auch in ländlichen Gegenden, und sie kann je nach Jahr und zirkulierenden Serotypen zu einer deutlich unterschiedlichen Präsentation der Krankheitslast im Krankenhaus oder in den Ambulanzen führen.

Originalarbeit 2

**Dengue Incidence in Urban and Rural Cambodia:
Results from Population-based Active Fever Surveillance, 2006-2008**

**Vong, S., Khieu, V., Glass, O., Ly, S., Ong, S., Huy, R., Ngan, C., Wichmann, O.,
Letson, W., Margolis, H.M., Buchy, P.**

PLoS Neglected Tropical Diseases 2010, 4(11): e903

Seiten 26-35

Wichmann, O., Yoon, I.K., Vong, S., Limkittikul, K., Gibbons, R.V., Mammen, P.M., Ly, S., Buchy, P., Sirivichayakul, C., Buathong, R., Huy, R., Letson, G.W., Sabchareon, A. Dengue in Thailand and Cambodia: An Assessment of the Degree of Underrecognized Disease Burden Based on Reported Cases. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 2011; 5(3): e996.

In Ländern wie Thailand und Kambodscha bestehen nationale Systeme zur Surveillance von Dengue-Erkrankungen mit dem Ziel, zeitliche Trends aufzuzeigen und Ausbrüche in dem Land zu identifizieren. Aufgrund der klinisch recht unspezifischen Präsentation der Erkrankung kann davon ausgegangen werden, dass die nationalen Surveillance-Systeme die tatsächliche Dengue-Krankheitslast deutlich unterschätzen.

Daten zur Dengue-Inzidenz unter Kindern im Alter von <15 Jahren wurden in 3 prospektiven Kohortenstudien über mindestens 2 Jahre erhoben: In einer prospektiven schul-basierten Kohortenstudie mit ca. 2.000 Kindern in Nord-Thailand, in einer prospektiven schul-basierten Kohortenstudie mit ca. 3.000 Kindern in Zentral-Thailand und in einer prospektiven populations-basierten Kohortenstudie mit anfänglich 5.500 und dann später 7.500 Kindern in Zentral-Kambodscha. In der Annahme, dass es in den einzelnen Ländern mehr regionale Unterschiede in der Dengue-Epidemiologie gibt als in der Fähigkeit des Surveillance-Systems, die korrekte Anzahl an Fällen zu identifizieren, wurden Multiplikationsfaktoren auf lokaler Ebene ermittelt durch einen Vergleich der Inzidenz hospitalisierter Dengue-Fälle in der Kohorte mit der im Meldewesen. Diese wurden nach Altersgruppe, Meldejahr und Provinz stratifiziert und dann auf die nationalen Meldedaten angewandt. Die durchschnittliche Dengue Erkrankungs-Inzidenz in den beiden thailändischen Kohorten betrug 23/1.000 bzw. 25/1.000; in Kambodscha 41/1.000. Nach Extrapolation mithilfe der auf lokaler Ebene etablierten Multiplikationsfaktoren wird die in den Jahren 2003-2007 durchschnittliche Anzahl von Krankheitsfällen für Thailand auf 229.886 (Spannweite: 210.612–331.236) und für Kambodscha auf 111,178 (Spannweite: 80.452–357.135) geschätzt. Somit unterschätzt das nationalen Surveillance-Systeme in Thailand die Anzahl hospitalisierter und nicht-hospitalisierter Fälle im Mittel um das 2,6- bzw. 8,7-fache und in Kambodscha um das 1,4 bzw. 9,1-fache.

Die Studie belegt die hohe Dengue-Krankheitslast unter Kindern jünger als 15 Jahre in Thailand und Kambodscha sowie die deutliche Untererfassung durch die nationalen Surveillance-Systeme, die insbesondere die nicht-hospitalisierten Dengue-Fälle betrifft. Nicht-hospitalisierte Fälle tragen jedoch deutlich zur Krankheitslast und somit vermutlich auch deutlich zu den gesellschaftlichen Kosten der Erkrankung in den Endemiegebieten bei.

Originalarbeit 3

**Dengue in Thailand and Cambodia: An Assessment of the Degree
of Underrecognized Disease Burden Based on Reported Cases**

**Wichmann, O., Yoon, I.K., Vong, S., Limkittikul, K., Gibbons, R.V.,
Mammen, P.M., Ly, S., Buchy, P., Sirivichayakul, C., Buathong, R.,
Huy, R., Letson, G.W., Sabchareon, A.**

PLoS Neglected Tropical Diseases 2011; 5(3): e996

Seiten 37-45

Huy, R., **Wichmann, O.**, Beatty, M., Ngan, C., Duong, S., Margolis, M.S., Vong, S. Cost of dengue and other febrile illnesses to households in rural Cambodia: A prospective community-based case-control study. *BMC Public Health* 2009, 9(1): 155.

Neben der Inzidenz sind Daten zu Kosten einer Erkrankung eine wichtige Kenngröße, um die ökonomische Bedeutung der Erkrankung für die Bevölkerung in einem Land abzuschätzen. In einem Land wie Kambodscha werden fast alle anfallenden Kosten, die mit einer Erkrankung im Zusammenhang stehen, durch die Familie des Erkrankten aus der Tasche bezahlt. Im Rahmen einer prospektiven Kohortenstudie wurde in der größten Provinz in Kambodscha untersucht, welche Kosten mit einer Dengue-Erkrankung assoziiert und von der betroffenen Familie aufzubringen sind.

Eine Fall-Kontrollstudie wurde 2006 durchgeführt, bei der zum Vergleich der Krankheitskosten ein laborbestätigter Dengue-Fall einem Fieber-Fall mit negativer Dengue-Diagnostik individuell nach Dorf, Altersgruppe und Woche der Diagnose als Kontrolle zugeteilt wurde. Ein standardisierter Fragebogen wurde zur Befragung der Eltern von Fällen und Kontrollen eingesetzt, mit dem unter anderem krankheits-assoziierte direkte und indirekte Kosten erhoben wurde, sowie der dadurch bedingte Einkommensverlust und der sozioökonomische Status des Haushalts.

Insgesamt wurden 60 Haushalte eingeschlossen (30 mit Denguefällen, 30 mit Fieberfällen anderer Genese). Eine Hospitalisierung verdreifachte die durchschnittlichen Kosten eines Dengue-Falls (von 14,3 US\$ auf 40,1 US\$) und verdoppelte die Kosten eines Nicht-Dengue Fieberfalls (von 17 US\$ auf 36,2 US\$). Ein signifikanter Unterschied bestand bei den Kosten, wenn ein Dengue-Fall in einem privaten oder in einem staatlichen Krankenhaus aufgenommen wurde (55,4 US\$ vs. 31,2 US\$). Zur Finanzierung der Krankheitskosten nahmen 67% der Haushalte einen durchschnittlichen Schuldenbetrag von 23,5 US\$ auf. Im Vergleich dazu gaben die Familien an, im Durchschnitt 9,5 US\$ pro Woche für Nahrungsmittel auszugeben (Spannweite: 2,5–21,3 US\$). In multivariater Analyse war ein höherer sozioökonomischer Status der Familie (OR 4,4; 95%KI: 1,4–13,2), die Länge des Fiebers (OR 2,1; 95%KI: 1,3–3,5) und das Alter des Kindes (OR 0,8; 95%KI: 0,7–0,9) mit einer Krankenhausaufnahme assoziiert.

Die Studie verdeutlicht die finanzielle Belastung von Familien in Kambodscha, in der Kinder an Dengue aber auch an Fieber anderer Genese erkranken, insbesondere wenn eine Krankenhausaufnahme notwendig ist. Mehr als die Hälfte der eingeschlossenen Familien konnten diese Kosten nur durch die Aufnahme von Schulden begleichen.

Originalarbeit 4

**Cost of dengue and other febrile illnesses to households in rural Cambodia:
A prospective community-based case-control study**

Huy, R., Wichmann, O., Beatty, M., Ngan, C., Duong, S., Margolis, M.S., Vong, S.

BMC Public Health 2009, 9(1): 155

Seiten 47-54

2.2. Epidemiologie, Klinik und Diagnose von Dengue unter Reisenden

Wichmann O., Lauschke A., Frank C., Shu P.Y., Niedrig M., Huang J.H., Stark K., Jelinek T. Dengue Antibody Prevalence in German Travelers. *Emerging Infectious Diseases* 2005, 11: 762-5.

In Asien und Lateinamerika konnte in den letzten Jahrzehnten ein Anstieg an gemeldeten Dengue-Fällen beobachtet werden. Zeitgleich nahm die Zahl europäischer Reisender in tropische Länder zu, aber möglicherweise auch das Bewusstsein europäischer Ärzte, bei Fieber nach einem Tropenaufenthalt differentialdiagnostisch auch eine DENV-Infektion in Erwägung zu ziehen. Eine retrospektive Studie wurde durchgeführt, um den Trend und einen möglichen Einfluss der besuchten Reiseregion auf das Dengue-Infektionsrisiko unter Reisenden in den letzten 10 Jahren abzuschätzen.

Insgesamt wurden Rückstell-Seren von 2.259 Reiserückkehrern auf anti-DENV Antikörper untersucht: 1.091 hatten sich wegen Fiebers und 1.168 wegen einer Durchfallerkrankung ohne Fieber am Berliner Institut für Tropenmedizin im Zeitraum 1996–1998 oder 2002–2004 vorgestellt. In einem ersten Schritt wurden alle Seren mit einem kommerziellen IgM und IgG ELISA-Test untersucht. In einem zweiten Schritt wurden alle positiven Seren mit einem E/M spezifischen und NS1 serotyp-spezifischen IgM ELISA, einem NS1 serotyp-spezifischen IgG ELISA und einem Immunfluoreszenztest auf anti-DENV Antikörper getestet. In die Analyse wurden alle Seren eingeschlossen, bei denen die Antikörper-Konstellation eine akute oder erst kürzlich durchgemachte DENV-Infektion wahrscheinlich macht und somit mit der vorangegangenen Reise in Verbindung gebracht werden konnte. Insgesamt wurden 64 Fälle (2,8%) mit der wahrscheinlichen Diagnose einer akuten DENV-Infektion identifiziert (4,7% unter fieberhaft erkrankten und 1,1% unter Durchfall-Patienten). Die höchste Antikörper-Prävalenz, die eine akute Infektion nahe legt, zeigte sich unter Reisenden, die aus Südost-Asien (7,4%) zurückkehrten, gefolgt von Reiserückkehrern aus Lateinamerika (2,2%), dem Indischen Subkontinent (1,8%) und Afrika (0,7%). Ein leichter Anstieg in der Antikörper-Prävalenz unter Reisenden 2002–2004 im Vergleich zu 1996–1998 war zu erkennen (2,7% auf 3,0%), ohne aber statistisch signifikant zu sein. Eine Subanalyse von Reisenden, die aus Thailand (n=223) oder Indien (n=495) zurückkehrten, zeigte deutliche Unterschiede in der Antikörper-Prävalenz zwischen einzelnen Jahren und innerhalb der Jahre auf.

Die Studie zeigt geographische Unterschiede im durchschnittlichen Dengue-Infektionsrisiko für Reisende, wobei die höchste Antikörper-Prävalenz mit einer Reise nach Südost-Asien assoziiert war. Jährliche und saisonale Unterschiede in der Antikörper-Prävalenz belegen den Einfluss der lokalen Dengue-Aktivität im Reiseland auf das Infektionsrisiko des Reisenden.

Originalarbeit 5

Dengue Antibody Prevalence in German Travelers

**Wichmann O., Lauschke A., Frank C., Shu P.Y., Niedrig M.,
Huang J.H., Stark K., Jelinek T.**

Emerging Infectious Diseases 2005, 11: 762-5

Seiten 56-59

Wichmann, O., Stark, K., Shu, P.Y., Niedrig, M., Frank, C., Huang, J.H., Jelinek, T. Clinical features and pitfalls in the laboratory diagnosis of dengue in travellers. *BMC Infectious Diseases* 2006, 6(1): 120.

Verschiedene IgM und IgG ELISAs für die Diagnose einer akuten DENV-Infektion sind kommerziell verfügbar und zeigen eine gute Sensitivität und Spezifität unter Verwendung von gepaarten Serumproben. Eine Untersuchung wurde durchgeführt, um den diagnostischen Wert eines positiven ELISA-Resultats zu evaluieren, das in einer einzelnen Serumprobe durch einen kommerziellen Standard ELISA (PanBio IgM und IgG ELISA) erhoben wurde.

Serumproben von 127 Patienten, die sich krankheitsbedingt am Berliner Institut für Tropenmedizin vorgestellt hatten und eine IgM/IgG-Antikörperkonstellation für eine wahrscheinliche akute DENV-Infektion aufwiesen (entsprechend Hersteller-Angaben), wurden mit weiteren spezifischen Tests auf anti-DENV Antikörper untersucht. Dazu gehörten: ein E/M spezifischer und ein NS1 serotyp-spezifischer IgM ELISA, ein NS1 serotyp-spezifischer IgG ELISA, ein Immunfluoreszenztest und –sofern der Erkrankungsbeginn weniger als 8 Tage zurücklag– eine RT-PCR. Eine Kombination dieser Tests wurde als „Goldstandard“ benutzt zur Berechnung des positiven prädikativen Werts (PPW). Zur Verbesserung des PPW wurden Laborparameter von Patienten mit bestätigter Dengue-Diagnose herangezogen, die mit einem Kollektiv von 1.035 dengue-negativen fieberhaft erkrankten Reiserückkehrern verglichen wurden.

Der PPW einer einzelnen PanBio-ELISA positiven Serumprobe war 50%; bei 54 der 127 Seren (42,5%) konnten die Diagnose nicht bestätigt werden, bei 7,5% konnte eine DENV-Infektion weder bestätigt noch ausgeschlossen werden. Ein Hautausschlag war die einzige klinische Manifestation, die signifikant häufiger bei Dengue-Patienten auftrat als bei Patienten mit Fieber anderer Genese (OR=3,1; 95%KI: 1,6–5,9). Die Kombination einer Thrombozytopenie mit Leukopenie bestand bei 40,4% von Patienten mit bestätigter Dengue-Diagnose und nur bei 6,1% der Patienten mit falsch-positiver Dengue-Serologie im PanBio-ELISA. Durch die Kombination des PanBio-ELISA-Resultats mit den beiden hämatologischen Parametern stieg der PPW auf 90,5% an.

Die Studie zeigt, dass das ELISA-Resultat aus einer einzelnen Serumprobe bei Reiserückkehrern mit Verdacht auf Dengue mit Vorsicht zu interpretieren ist. Eine zweite Blutuntersuchung zu einem späteren Zeitpunkt oder eine spezifischere Methode zur Laborbestätigung (z.B. RT-PCR in der Fieberphase) sollte angestrebt werden. In Ermangelung dieser beiden Möglichkeiten kann die Konstellation hämatologischer Parameter die Diagnosesicherheit erhöhen.

Originalarbeit 6

Clinical features and pitfalls in the laboratory diagnosis of dengue in travelers

**Wichmann, O., Stark, K., Shu, P.Y., Niedrig, M., Frank, C.,
Huang, J.H., Jelinek, T.**

BMC Infectious Diseases 2006, 6(1): 120

Seiten 61-68

Wichmann, O., Gascon, J., Schunk, M., Puente, S., Siikamaki, H., Gjørup, H., Lopez-Velez, R., Clerinx, J., Peyerl-Hoffmann, G., Sundøy, A., Genton, B., Kern, P., Calleri, G., de Górgolas, M., Mühlberger, N., Jelinek, T. Severe dengue infections in travelers: Risk factors and laboratory indicators. *Journal of Infectious Diseases* 2007, 195: 1089-96.

Epidemiologische Studien insbesondere in Südost-Asien und Kuba deuten darauf hin, dass Personen mit einer DENV-Zweitinfektion ein höheres Risiko haben könnten, einen schweren Krankheitsverlauf zu entwickeln, als Personen mit einer Erstinfektion. Es gibt einzelne Fallberichte zu schweren oder gar tödlichen Verläufen einer DENV-Infektion unter Reisenden. Eine systematische Erhebung von klinischen Manifestationen und Laborparametern sowie der Häufigkeit und Rolle von vorbestehenden anti-DENV Antikörpern in einem großen Kollektiv von DENV-infizierten europäischen Reiserückkehrern fehlt.

Im Rahmen einer intensivierten Sentinel-Surveillance an 14 europäischen Tropeninstituten bzw. Reisekliniken wurden zwischen Mai 2003 und Dezember 2005 insgesamt 219 Reisende mit einer akuten DENV-Erkrankung identifiziert; Daten zu den assoziierten Symptomen und Laborparametern wurden prospektiv mittels standardisiertem Fallfragebogen erhoben. Unter den 219 Patienten traten Fieber (93%), Kopfschmerz (69%), Hautausschlag (53%), Muskelschmerz (50%) und retroorbitaler Schmerz (44%) am häufigsten auf. Petechien wurden bei 13% und spontane Blutungen bei 8% der Patienten beobachtet. Zwei Patienten erfüllten die DHF-Falldefinition der WHO. Nach Ausschluss von Personen mit früherer Flavivirus-Impfung (n=13) und bei denen keine Diskriminierung aufgrund der IgM/IgG Antikörperkonstellation möglich war (n=45), bestand bei 17% der Patient der serologische Hinweis auf eine Zweitinfektion. Diese war signifikant assoziiert mit spontaner Blutung (n=17, OR=3,9; 95%KI: 1,04–14,5) und anderen schweren klinischen Manifestationen (n=22, OR=5,6; 95%KI: 1,7–19,2). Entsprechend publizierter Studien unter Erwachsenen in Lateinamerika wurden als schwere klinische Manifestationen innere Blutungen, Plasmaleck, Schock oder eine schwere Thrombozytopenie ($<50.000/\mu\text{L}$) definiert. Eine Leberbeteiligung (>3 -fache Erhöhung von ALT oder AST) war ebenfalls assoziiert mit spontanen Blutungen oder anderen schweren klinischen Manifestationen.

Spontane Blutungen waren unter DENV-infizierten Reiserückkehrern, die sich in Europa in spezialisierten Kliniken vorstellten, nicht selten. Erhöhte Leberenzyme und eine ausgeprägte Thrombozytopenie können als Warnzeichen für schwere Krankheitsverläufe in Betracht kommen.

Originalarbeit 7

Severe dengue infections in travelers: Risk factors and laboratory indicators

Wichmann, O., Gascon, J., Schunk, M., Puente, S., Siikamaki, H., Gjørup, H., Lopez-Velez, R., Clerinx, J., Peyerl-Hoffmann, G., Sundøy, A., Genton, B., Kern, P., Calleri, G., de Górgolas, M., Mühlberger, N., Jelinek, T.

Journal of Infectious Diseases 2007, 195: 1089-96

Seiten 70-77

2.3. Abschätzung des Bedarfs einer Impfung gegen Dengue

Amarasinghe, A., **Wichmann, O.**, Margolis, H.S., Mahoney, R.T. Forecasting dengue vaccine demand in disease endemic and non-endemic countries. *Human Vaccines* 2010, 6: 745-53.

Mehrere Dengue-Impfstoffe befinden sich aktuell in der klinischen Evaluierung. Bereits 2015 könnte ein erster Impfstoff zur Verfügung stehen. Eine Modellierung wurde durchgeführt, um den Bedarf an Dengue-Impfstoffdosen in den ersten 5 Jahren nach Zulassung in endemischen Ländern und unter Reisenden abzuschätzen. Hierbei wurden verschiedene Impfstrategien (Alters-Zielgruppen und Catch-up), erwartete Impfquoten (in Endemiegebieten entsprechend aktuellen landesspezifischen Masern-Impfquoten; unter Reisenden entsprechend auf Flughäfen erhobenen Hepatitis A Impfquoten), Populationsprojektionen für 2015-2020 (Endemiegebiete) und verschiedenen Produkt-Profilen (2 oder 3 Impfstoffdosen) einbezogen. Vorgenommen wurde eine Bedarfsabschätzung für private und öffentliche (staatliche) Märkte in Endemiegebieten, eine Stratifizierung nach Länder-Einkommenskategorie (entsprechend der Weltbank: niedrig, niedrig-mittel, mittel-hoch, hoch) als auch eine Subanalyse für Länder, die einen Dengue-Impfstoff möglicherweise früh in das nationale Impfprogramm aufnehmen (sog. „Erstanwender-Länder“). Die Abschätzung erfolgte rein in Bezug auf die benötigte Anzahl an Impfdosen, um entsprechend für Produktionskapazitäten frühzeitig planen und die Entwicklung von Dengue-Impfstoffen der zweiten Generation voranzutreiben zu können.

Entsprechend der Populationsprojektionen wird geschätzt, dass 2015 insgesamt 2,24 Milliarden Menschen im Alter unter 50 Jahren (die primäre Zielgruppe für eine Impfung) in Dengue-Endemiegebieten leben werden, davon sind ca. 726 Millionen unter 15 Jahre alt. Unter den entsprechenden Annahmen besteht für die ersten 5 Jahre nach Einführung einer Dengue-Impfung je nach Anzahl benötigter Impfstoffdosen (2 vs. 3) ein geschätzter weltweiter Gesamtbedarf von 2,4–3,5 Milliarden Impfstoffdosen. Die Subanalyse für 20 potenzielle Erstanwender-Länder, bei der es sich möglicherweise um eine realistischere Annahme handelt, schätzt den Bedarf in diesen Ländern auf 0,9 bis 1,4 Milliarden Impfstoffdosen. Sollte der Impfstoff ein akzeptables Profil haben (z.B. applizierbar innerhalb eines Monats), könnte unter Reisenden ein Bedarf von 59–89 Mio. Dosen über 5 Jahre bestehen.

Aufgrund der beträchtlichen Zahl an Menschen, die in Dengue-Endemiegebieten leben oder dorthin reisen, besteht ein großer Bedarf für eine hohe Anzahl an Dengue-Impfstoffdosen. Der tatsächliche Bedarf wird jedoch wesentlich vom endgültigen Produktprofil des verfügbaren Impfstoffs, dem Impfstoffpreis und der Priorität in den Ländern, den Impfstoff im nationalen Impfprogramm einzuführen, abhängen.

Originalarbeit 8

**Forecasting dengue vaccine demand in disease endemic
and non-endemic countries**

Amarasinghe, A., Wichmann, O., Margolis, H.S., Mahoney, R.T.

Human Vaccines 2010, 6: 745-53

Seiten 79-87

3. Diskussion

3.1. Dengue-Epidemiologie in Endemiegebieten und unter Reisenden

Basierend auf verfügbaren epidemiologischen Daten, insbesondere auf validen Inzidenzdaten, können Entscheidungen auf nationaler Ebene getroffen werden, ob Interventionen wie z.B. Vektorkontrollmaßnahmen oder in Zukunft die Einführung einer Dengue-Impfung in das nationale Impfprogramm durchgeführt werden sollen oder nicht. Altersspezifische Inzidenzen können für Entscheidungen zu Zielgruppen oder zum Design von Catch-up Kampagnen für eine Dengue-Impfung herangezogen werden. Zwar können für diese Art von Entscheidungen auch Daten aus den passiven nationalen Surveillance-Systemen benutzt werden. Doch konnte im Rahmen der eigenen Arbeiten in Thailand und Kambodscha verdeutlicht werden, dass die nationalen Systeme die tatsächliche Erkrankungs-Inzidenz erheblich unterschätzen (ca. 10-fach) und auch Unterschiede im Maß der Unterschätzung in den einzelnen Altersgruppen bestehen können [107]. Auch in Transmissionsmodellen oder bei gesundheitsökonomischen Analysen zur Dengue-Impfung sollten –sofern vorliegend– die tatsächlichen Inzidenzen Berücksichtigung finden. In Puerto Rico und in Nicaragua konnten durch ähnliche Analysen vergleichbar hohe Unterschätzungen der Dengue-Inzidenz in nationalen passiven Surveillance-Systemen nachgewiesen werden [108, 109]. Gründe für diese Unterschätzung sind unter anderem, dass milde DENV-Infektionen auf Basis klinischer Symptome kaum von anderen fieberhaften Erkrankungen zu unterscheiden sind und dass Dengue-Patienten ohne Blutungen oder anderen schweren Manifestationen häufig keinen Arzt konsultieren.

In den letzten 20 Jahren wurden mehrere Kohortenstudien zur Ermittlung der lokalen Dengue-Inzidenz in verschiedenen Ländern Asiens und Lateinamerikas durchgeführt (Tabelle 2). Hierbei kamen verschiedene Studiendesigns zur Anwendung. Da DENV-Infektionen oft ohne das Auftreten klinischer Manifestationen stattfinden, kann durch mindestens zwei Serosurveys (ein Survey zu Beginn und ein Survey nach einem Jahr bzw. nach der Saison unter Einschluss der gleichen Individuen) die Serokonversions-Rate innerhalb der Kohorte identifiziert werden. Dabei kann man Erstinfektionen (d.h. Antikörper-Nachweis nach der Saison bei Individuen, die bei Studieneinschluss gegen keinen der vier DENV-Serotypen Antikörper aufwiesen) von Zweitinfektionen (d.h. in der zweiten Serumprobe ein signifikanter Antikörper-Anstieg im Vergleich zur ersten Serumprobe, bei der gegen mindestens einen der vier DENV-Serotypen spezifische Antikörper nachweisbar waren) unterscheiden. Aufgrund der hohen Spezifität und der Fähigkeit, DENV-Antikörper serotypspezifisch nachzuweisen, kommt bei diesen Kohortenstudien bevorzugt der PRNT oder der HAI zur Anwendung [12, 29, 33, 55, 110, 111]. In Kombination mit einer aktiven Fieber-

Surveillance, z.B. basierend auf Schul- oder Fabrik-Absentismus (bei Fehlen besucht ein Studienteam das Haus des Studienteilnehmers und entnimmt bei Fieber Blutproben) oder einer Populations-Surveillance (ein Studienteam besucht regelmäßig –mindestens einmal wöchentlich– teilnehmende Haushalte, Blutentnahme bei fieberhafter Erkrankung in den letzten 7 Tagen) mit Untersuchung von in der akuten Fieberphase gewonnenen Blutproben auf DENV-RNA und IgM/IgG Antikörper, kann die Inzidenz symptomatischer sowie das Verhältnis von symptomatischen zu asymptomatischen DENV-Infektionen ermittelt werden.

Tabelle 2: Studiendesign und Inzidenzen (in Prozent) in prospektiven Dengue Kohortenstudien in Endemiegebieten Asiens und Lateinamerikas (Stand: Okt. 2011)

Land, Ort/Provinz	Jahr der Studie	Altersgruppe	Größe der Kohorte	Studien-design	Inzidenz, in % pro Jahr oder Saison		Referenz
					Sero-konversion	Symptomat. Erkrankung	
Kambodscha, Kampong Cham	2006-2008	0-19 Jahre	6.657 -10.086	Aktiv, populationsbasiert	unbekannt	1,3–5,8 ^a	*Vong et al. 2010 [112]
Indonesien, Yogyakarta	1995-1996	4-9 Jahre	1.837	Passiv, klinik-basiert	29	0,6	Graham et al. 1999 [33]
Indonesien, West Java	2000-2002	Erwachsene ≥15 Jahre	2.536	Aktiv, fabrik-basiert	0,8–5,6 ^b	1,8	Porter et al. 2005 [113]
Nicaragua, Managua	2004-2008	2-9 Jahre	3.721	Passiv, Health Center-basiert	5,8-11,1 ^a	0,4–1,9 ^a	Balmaseda et al. 2010 [110]
Peru, Iquito	2004	5-17 Jahre (Schule); 0-98 Jahre (Community)	1.135 (Schule); 4.850 (Community)	Aktiv, schul- und populationsbasiert	unbekannt	1,3 (Schule); 1,7 (Community)	Morrison et al. 2009 [114]
Thailand, Bangkok	1980-1981	4-16 Jahre	1.757	Aktiv, schul-basiert	5,9	0,7	Burke et al. 1988 [11]
Thailand, Rayong	1980-1981	0-10 Jahre	1.056	Serosurveys ohne Fieber-Surveillance	39,4	unbekannt	Sangkawibha et al. 1984 [29]
Thailand, Kamphaeng Phet	1998-2002	5-12 Jahre	2.119	Aktiv, schul-basiert	1,4–4,3 ^a	0,8–3,6 ^a	Endy et al. 2002 [14]
Thailand, Kamphaeng Phet	2004-2007	5-12 Jahre	1.470 -2.074	Aktiv, schul-basiert	unbekannt	2,3	*Wichmann et al. 2011 [107]
Thailand, Ratchaburi	2006-2007	0-14 Jahre	3.027 -3.354	Aktiv, schul-basiert	unbekannt	2,5	*Wichmann et al. 2011 [107]
Venezuela, Maracay	2001-2003	5-13 Jahre	710	Serosurveys ohne Fieber-Surveillance	16,9–25,8 ^a	unbekannt	Comach et al. 2009 [111]
Vietnam, Long Xuyen	2005-2007	2-15 Jahre	3.081 -3.239	Aktiv, schul-basiert	7,9–13,6 ^a	1,3–4,0 ^a	Tien et al. 2010 [12]

^aSpannweite über die einzelnen Studienjahre; ^bSpannweite über geographische Regionen (Distrikte)

*Studie, die Bestandteil eigener Arbeiten ist

Bei den drei in dieser Habilitationsschrift beschriebenen Kohortenstudien handelt es sich um zwei schul-basierte Kohortenstudien in Thailand und um eine populations-basierte Kohortenstudie in Kambodscha [107, 112]. Hierbei konnte in den verschiedenen Studienorten eine hohe und im Durchschnitt ähnlich hohe Inzidenz symptomatischer DENV-Infektionen nachgewiesen werden wie in früheren Studien in Thailand oder in anderen endemischen Ländern (Tabelle 2). Die drei Studien belegen zudem die zwischen den einzelnen Jahren unterschiedlich ausgeprägten Inzidenzen und Anteile an Hospitalisierungen unter allen symptomatischen Fällen. Eine frühere Kohortenstudie in Kamphaeng Phet konnte auch deutliche Varianzen im Verhältnis von symptomatischen zu asymptomatischen Infektionen über die einzelnen Studienjahre (58 bis 81% waren asymptomatisch) und zwischen den teilnehmenden Schulen nachweisen [14]. Üblicherweise waren in den hier beschriebenen Studien drei bis vier unterschiedliche DENV-Serotypen in einer Saison nachweisbar [112]. Prospektive Kohortenstudien sind auch zur Ermittlung der Dengue-Inzidenz unter Reisenden durchgeführt worden, wobei Blutproben vor und nach der Reise auf anti-DENV Antikörper untersucht wurden und die Teilnehmer auf Fieberepisoden während der Reise befragt wurden (eine Übersicht gibt Tabelle 3). Die ermittelten Inzidenzen liegen in einem ähnlichen Bereich wie die in Tabelle 2 aufgeführten Inzidenzen in der einheimischen Bevölkerung.

Tabelle 3: Inzidenzen in prospektiven Dengue Kohortenstudien unter Reisenden (Stand: Okt. 2011)

Herkunftsland	Jahr	Reiseland und mediane Reisedauer in Wochen (Spannweite)	Größe der Kohorte	Anzahl Fälle (Inzidenz in %)			Referenz
				Sero-konversion (% Kohorte)	Symptomat. Erkrankung (% Kohorte)	Zweit-infektionen (% Infizierte)	
Niederlande	1991-1992	Asien, 4 (1-12)	477	13 (2,9)	3 (0,6)	1 (7,7)	Cobelens et al. 2002 [115]
Israel	Unbekannt, 1998?	Endemie-Gebiete (70% Asien), 25 (12-64)	104	7 (6,7) Pro Monat: 1,1% in Asien 0,6% S-Amerika	4 (3,8)	2 (28,6)	Potasman et al. 1999 [116]
Niederlande	2006-2007	Endemie-Gebiete, 3 (2-4)	1.207	14 (1,2) Pro Monat: 1,5%	5 (0,4)	unbekannt	Baaten et al. 2011 [117]
Australien	2007-2010	Asien, 3 (1-47)	387	4 (1,0)	0 (0,0)	unbekannt (nur Erstinfektionen angegeben)	Ratnam et al. 2011 [118]

Diese Kohortenstudien können die tatsächliche Dengue Erkrankungs-Inzidenz, die von der Dengue-Aktivität im jeweiligen Reiseland abhängt, sowie den Anteil asymptomatischer Infektionen nachweisen. Aufgrund der kleinen Anzahl an Dengue-Fällen und der Größe der Kohorten können aber nur eingeschränkt Aussagen zu Reiseland-spezifischen Inzidenzen oder zu klinischen Manifestationen von Dengue unter Reisenden getroffen werden. Im Rahmen

einer eigenen Arbeit am Berliner Institut für Tropenmedizin konnte gezeigt werden, dass basierend auf der Antikörper-Prävalenz, die für eine akute oder vor kurzem stattgehabte DENV-Infektion spricht, der Anteil an DENV-Infektionen unter den im Institut vorstellig gewordenen erkrankten Reiserückkehrern zwischen 1996 und 2004 eher konstant blieb [119]. Dabei war der Anteil der Antikörper-Prävalenz unter erkrankten Reisenden nach Rückkehr aus Südost-Asien mit 7,4% signifikant höher als nach Rückkehr aus anderen Kontinenten.

3.2. Klinische Manifestationen und Risikofaktoren für schwere Verläufe

DENV-Infektionen und die mit ihnen assoziierte schweren Manifestationen können sowohl unter Kindern als auch unter Erwachsenen auftreten. Spezifische klinische Manifestationen und ihre Zusammenhänge können am einfachsten im Rahmen von großen Fallserien in Krankenhäusern oder Ambulanzen untersucht werden. In einer eigenen krankenhaus-basierten Studie in Thailand wiesen hospitalisierte Kinder mit akuter DENV-Infektion häufiger Nasenbluten und eine Hepatomegalie auf, während bei Erwachsenen signifikant häufiger Zeichen einer schweren Leberbeteiligung, Petechien oder Gaumenblutungen auftraten [120]. In einer dreijährigen krankenhaus-basierten Studie in Nicaragua konnte gezeigt werden, dass der Anteil an Patienten mit Schock, Plasmaleck und ausgeprägter Thrombozytopenie mit dem Lebensalter abnahm, während der Anteil an Patienten mit inneren Blutungen stieg [27]. Die Unterschiede können in einer möglicherweise anfälligeren Physiologie der kindlichen Kapillare (was einen Plasmaleck oder Schock begünstigen könnte), häufigeren toxischen Leber-Vorschädigungen bei Erwachsenen oder aber auch in einem unterschiedlichen Vorstellungsverhalten (Vorstellung des Kindes durch die Eltern bereits bei Fieber, während Erwachsene erst bei Blutungen vorstellig werden) begründet sein.

Im Rahmen der eigenen Arbeit wurden unter den 347 Patienten in Thailand 23 mit schweren ungewöhnlichen Manifestationen identifiziert: 3 mit Enzephalopathie und 20 mit schwerer Leberbeteiligung. In einer prospektiven Fall-Kontrollstudie in Thailand wiesen 0,5% von 5.400 DHF-Patienten schwere ZNS-Symptome auf [121]. In einer Studie in Süd-Vietnam waren 4,2% von 378 ZNS-Infektionen auf eine DENV-Infektion zurückzuführen [122]. Auch bei einem schwedischen Reisenden konnte eine Enzephalitis als seltene Manifestation einer DENV-Infektion beschrieben werden [123]. Eine schwere Leber-Beteiligung war assoziiert mit spontanen Blutungen und anderen schweren Manifestationen sowohl unter Patienten in Endemiegebieten [124] als auch in einer eigenen Arbeit unter 219 Reisenden [125] und in einzelnen Fall-Berichten von Reisenden mit teilweise tödlichem Ausgang [126, 127].

In der eigenen Studie in Thailand aber auch in der oben erwähnten Studie in Nicaragua war unter Kindern eine Zweitinfektion mit schweren klinischen Manifestationen assoziiert, aber

nicht unter Erwachsenen [27, 120]. Die Aussagekraft von krankenhaus-basierten Studien zu Risikofaktoren für schwere Dengue Krankheitsverläufe ist jedoch eingeschränkt. In der prospektiven Kohortenstudien in Kambodscha zeigte sich, dass sich der Anteil von erkrankten Dengue-Patienten, die sich in einer Ambulanz vorstellten oder hospitalisiert wurden, deutlich von Jahr zu Jahr unterscheiden kann (Hospitalisierungsquote über 3 Jahre: 2,6–46,1%) [112]. Das bedeutet auch, dass sich der Anteil an Zweitinfektionen oder die Verteilung der infizierenden DENV-Serotypen unter Patienten im Krankenhaus deutlich anderes darstellen kann als unter Patienten ohne Hospitalisierung. Daher können Risikofaktoren valide nur unter Berücksichtigung von Verteilungen auf der Populationsebene etabliert werden. Die in Tabelle 2 aufgeführten prospektiven Kohortenstudien können zwar als Goldstandard für die Erhebung der DENV-Inzidenz und Serokonversion betrachtet werden, haben jedoch aufgrund der geringen Anzahl an schweren Fällen oft nicht genügend statistische Power, Risikofaktoren für DHF/DSS zu identifizieren. In der Kohortenstudie in Indonesien wurden unter 1.837 Kindern 17 DENV-Infektionen identifiziert. Unter den 11 ambulanten DF-Fällen waren 4 Erst- und 7 Zweitinfektionen, während sich unter den 6 hospitalisierten DHF-Fällen nur Zweitinfektionen befanden [33]. In einer prospektiven Kohortenstudie in Thailand musste keines von 47 Kindern mit Erstinfektion (0%) aber 7 von 56 mit Zweitinfektion hospitalisiert werden (12,5%, $p=0.012$, $OR \geq 6,5$) [11]. Es ist jedoch erkennbar, dass diese Studien auf relativ kleinen Fallzahlen basieren. Aufgrund dieser Limitierungen haben einige Forschergruppen elegant Serosurveys auf der Populationsebene mit Ergebnissen aktiver Dengue-Surveillance in Kliniken kombiniert, um Risikofaktoren für schwere DENV-Infektionen zu identifizieren. Während eines Ausbruchs 1980 in Rayong, Thailand, wurde der Anteil an Zweitinfektionen unter allen DENV-Infektionen bei Kindern unter 11 Jahren auf 34% geschätzt (1.066 von 3.108), während der Anteil an Zweitinfektionen unter hospitalisierten DENV-Fällen 84% betrug (56 von 67, $p < 0,0001$) und mit der Schwere des Krankheitsverlaufs anstieg (19/19 DSS-Fälle) [29]. Auf der kubanischen Insel Santiago de Cuba ereignete sich 1997 ein DENV-2 Ausbruch, nachdem es letztmals auf der Insel 1977-79 einen durch DENV-1 verursachten Dengue-Ausbruch gegeben hatte. Von den 1997 identifizierten 205 DHF/DSS-Fällen waren alle über 15 Jahre alt. Auf Basis eines Serosurveys wurde berechnet, dass von den geschätzten 13.116 Erstinfektionen nur 3 (0,002%) und von den 4.810 Zweitinfektionen 202 (4,2%) ein DHF/DSS entwickelten [30].

Die Identifizierung von Risikofaktoren unter Reisenden unterliegt den gleichen Schwierigkeiten. Im europäischen Netzwerk TropNetEurop wurden zwischen 1999 und 2002 unter 483 Dengue-Patienten 13 (2,6%) DHF-Fälle gemeldet [77]. Dabei zeigte sich, dass

Immigranten und ausländische Besucher ein mehr als 4-fach erhöhtes Risiko hatten, ein DHF zu entwickeln. Der Grund hierfür kann sowohl in der höheren Rate an Zweitinfektionen unter Personen, die in einem endemischen Gebiet aufgewachsen sind, als auch in genetischen Prädispositionen liegen.

Tabelle 4: Übersicht zu publizierten tödlichen Dengue Krankheitsverläufen unter Reiserückkehrern

Nr.	Person			Reisedaten		Komplikation	PCR & Immunstatus: Erst- / Zweitinfektion	Referenz
	Herkunftsland	Alter	Geschl.	Land	Jahr			
1.	USA	Erw.	unbekannt	unbekannt	1989	bilaterale Pneumonie, Tod	unbekannt	Rigau-Pérez et al. 1997 [128]
2.	Spanien	30	w	Sri Lanka	1992	DSS mit anschließender Depression und Suizid	Zweitinfektion Sero (D#?): IgM: hoch IgG: hoch	López-Vélez et al. 1994 und 1996 [129, 130]
3. & 4.	USA	2 Erw.	unbekannt	Mexico	1996 -2005	Beide Fälle Tod	Beide Fälle Zweitinfektion	Mohammed et al. 2010 [131]
5.	England, geboren in Indien	59	m	Bangladesch	2002	DHF, Leberversagen, Tod	PCR+, DENV-3 Zweitinfektion Sero (D#12): IgM: niedrig IgG: hoch	Lawn et al. 2003 [126]
6.	Finnland	32	w	SO-Asien	2002	Intrazerebrale Blutung, Tod	Erstinfektion Sero (D#7): IgM: positiv IgG: negativ	Huhtamo et al. 2006 [132]
7.	Niederlande	66	m	Surinam	2006	DSS, Rhabdomyolyse, Tod	Zweitinfektion Sero (D#9): IgM: hoch IgG: hoch	Karakus et al. 2007 [133]
8.	Norwegen	Ca. 35	w	Mexiko	2005	DF mit Subarachnoidal-Blutung, Tod	PCR+, DENV-2 Erstinfektion? Sero (D#5): IgM: 13→85 IgG: 40→5.120	Jenseniussen et al. 2007 [134]
9.	Niederlande	54	m	Niederländisch Antillen	2009	DSS, Tod	PCR+, DENV-2 Erstinfektion? Sero: (D#?) IgM: negativ IgG: negativ	Bomers et al. 2009 [135]
10.	Norwegen	Ca. 55	w	Thailand	2009	DSS, Tod	PCR+, DENV-1 Erstinfektion Sero (D#10): IgM: positiv IgG: negativ	Waagsbø et al. 2010 [136]
11.	Deutschland	21	w	Ecuador	2009	DSS, Tod	PCR+, DENV-1 Zweitinfektion Sero (D#11): IgM: 20 IgG: 1.250	Schmidt-Chanasit et al. 2011 [137]

Erw.=Erwachsene; w=weiblich; m=männlich; D#=Anzahl Tage nach Symptombeginn

Im Rahmen einer weiteren eigenen Arbeit war unter 219 an Dengue erkrankten Reisrückkehrern eine Zweitinfektion mit schweren klinischen Manifestationen assoziiert [125]. Aufgrund der Schwierigkeiten, die WHO-Falldefinition von 1997 auf erwachsene Dengue-Patienten anzuwenden, wurde in Anlehnung an Studien in Lateinamerika als schwere klinische Manifestationen das Auftreten von inneren Blutungen, Plasmaleck, Schock oder einer schweren Thrombozytopenie ($\leq 50.000/\mu\text{L}$) definiert [21, 22, 27]. Aber auch unabhängig von einer schweren Thrombozytopenie war eine Zweitinfektion signifikant assoziiert mit Spontanblutungen [125]. In die Studie wurden jedoch nur Patienten eingeschlossen, die sich in einer spezialisierten Klinik vorstellten, was zu den bereits oben beschriebenen Limitationen hinsichtlich der Identifizierung von Risikofaktoren für schwere DENV-Infektion führt. Populationsbezogene Studien wären hier aussagekräftiger, doch weisen die unter Reisenden durchgeführten Kohortenstudien mit maximal 5 symptomatischen DENV-Infektionen nicht die erforderliche Anzahl an schweren Fällen auf. Mehrere Fallberichte mit tödlichen DENV-Infektionen unter Reisenden sind publiziert, wobei diese überwiegend im Rahmen einer Zweit- aber auch während einer Erstinfektion aufgetreten sind (Tabelle 4). Zusammenfassend kann gesagt werden, dass auf Basis der verfügbaren Literatur das Risiko für eine DENV-Infektion als vergleichsweise hoch ($\geq 1\%$ pro Reisemonat) aber das absolute Risiko für schwere Dengue-Krankheitsverläufe als sehr gering angesehen werden kann. Auch primäre DENV-Infektionen können zu schweren Krankheitsverläufen führen. Ob eine Zweitinfektion bei Reisenden tatsächlich mit einem erhöhten relativen Risiko für schwere Krankheitsverläufe assoziiert ist, kann nicht abschließend beurteilt werden.

3.3. Diagnostik einer Denguevirus-Infektion

Für die Diagnose einer akuten DENV-Infektion ist die RT-PCR das Standard-Verfahren mit der höchsten Sensitivität und Spezifität während der akuten Fieberphase [48]. Da dieses Verfahren in der Routinediagnostik in den Tropen aber auch in vielen Kliniken in Europa nur selten zur Verfügung steht, wird –wenn überhaupt– auf serologische Tests oder Antigen-Schnelltests zurückgegriffen, die oft nur in kleinen Studienpopulationen validiert worden sind. Im Rahmen einer eigenen Studie konnte gezeigt werden, dass ein Standard IgM/IgG ELISA der Firma PanBio® bei der Testung einer einzelnen Blutprobe einen positiven prädiktiven Wert von gerade einmal 50% hatte bei einer Quote von 42,5% falsch-positiver Ergebnisse. In Kombination mit zwei klinischen Parametern (Thrombozytopenie und Leukopenie) konnte dieser Wert jedoch auf 90,5% gesteigert werden. In einer Evaluation des PanBio-ELISA unter Reisenden an einer Klinik in Israel zeigte sich, dass der IgG-Test bei 11-17% der gegen JEV und 15-44% der gegen Geldfieber geimpften gesunden Reisenden positiv war [138]. In einer

multizentrischen Studie in verschiedenen endemischen Ländern wurde ein Vergleich von 9 verschiedenen IgM-Kits (5 ELISA und 4 Schnelltests) initiiert. Die Sensitivität der verschiedenen Tests lag zwischen 21% und 99%, die Spezifität zwischen 77% und 98% [52]. Falsch-positive Ergebnisse traten im Rahmen von Malaria-Infektionen, aufgrund vorbestehender Antikörper aus früheren DENV-Infektionen und bei Rheumafaktor-positiven Patienten auf [52]. In einer anderen Studie wurde bei einem anti-DENV immunchromatographischen IgM Schnelltest in 26% der Seren mit Rheumafaktor ein falsch-positives Resultat beobachtet [139]. Diese Studien belegen, dass für die sichere Diagnose einer akuten DENV-Infektion zusätzlich zur serologischen Untersuchung der in der Fieberphase gewonnenen Blutprobe entweder eine RT-PCR oder eine serologische Untersuchung einer Folge-Blutprobe zu einem späteren Zeitpunkt (zum Nachweis ansteigender Antikörper-Titer) erfolgen sollte. Falls diese Möglichkeiten nicht zur Verfügung stehen, sollte die Diagnose nur in Zusammenschau mit den klinischen und hämatologischen Parametern erfolgen.

3.4. Bedarf für eine Dengue-Impfung & Ausblick

Neben epidemiologischen Parametern sind Daten zu Krankheitskosten von Bedeutung für die Durchführung von gesundheitsökonomischen Analysen und Entscheidungen zur Einführung einer Impfung in das nationale Impfprogramm. Im Rahmen einer durch die PDVI finanzierten Krankheitskostenstudie wurden im Jahr 2005 direkte medizinische Kosten (anfallend pro Krankenhaus-Tag oder Behandlung in der Ambulanz), nicht-medizinische Kosten (anfallend durch Transport, Essen oder Unterkunft der Patienten oder Angehörigen) und indirekte Kosten (anfallend durch Arbeitsausfall des Patienten oder der betreuenden Angehörigen), die mit einer akuten Dengue-Episode assoziiert sind, prospektiv in 8 endemischen Ländern in Asien und Lateinamerika erhoben [140]. Im Durchschnitt verpassten Studenten 5,6 Schultage und Erwachsene 9,9 Arbeitstage pro Dengue-Krankheitsepisode. Die Kosten pro Dengue-assoziiertem Krankenhausliegetag betragen im Durchschnitt in Kambodscha 4,6 US\$, in Thailand 86 US\$ und in Malaysia 218 US\$. Im Vergleich dazu betragen die Kosten für eine ambulante Behandlung 0,7 US\$, 12,9 US\$ und 32,7 US\$ [140]. Unter den ambulanten Fällen machten jedoch indirekte Kosten mit 72% den überwiegenden Teil der Krankheitskosten aus. Eine Stärke der Studie war, dass Daten prospektiv mit dem gleichen Instrument erhoben wurden. Auf der anderen Seite sind die Ergebnisse nur eingeschränkt generalisierbar, da an den Studienorten oft nur staatliche und keine privaten Kliniken in die Studie eingeschlossen waren, und auch oft nur auf eine Stadt oder Provinz beschränkt waren. Die Daten belegen jedoch recht gut, dass Dengue aufgrund der sehr hohen Inzidenz und den damit assoziierten Krankheitskosten eine erhebliche ökonomische Last für endemische Länder darstellt. In einer

prospektiven Studie in Thailand wurden die durchschnittlichen Kosten für einen ambulanten Dengue-Fall auf 10 US\$, für einen hospitalisierten DF-Fall auf 32 US\$ und für einen hospitalisierten DHF-Fall auf 39 US\$ geschätzt [141]. Für Vietnam wurden die Kosten, die eine Familie im Jahr 2005 für ein aufgrund Dengue hospitalisiertes Kind zu tragen hatten, auf 61 US\$ geschätzt [142]. Im Rahmen der eigenen Arbeiten wurden die Kosten, die 2006 in der Kampong Cham Provinz in Kambodscha mit einer DENV-Erkrankung assoziiert waren, auf 14 US\$ (ambulante Fälle) bzw. 40 US\$ (hospitalisierte Fälle) geschätzt [101]. Die Kosten für die Behandlung in einer privaten Klinik waren erwartungsgemäß höher als in einer staatlichen Klinik. Diese Daten sind insbesondere für gesundheitsökonomische Analysen von Relevanz. Für Thailand wurde bereits ein Kosten-Effektivitäts-Modell publiziert (basierend auf einem Markov Simulationsmodell), das nahelegt, dass ein Dengue-Impfstoff mit einer Effektivität von mindestens 50% bis zu einem Preis von 60 US\$ sehr kosteneffektiv sein wird [143].

Vorhersagen für die Anzahl an in Zukunft benötigten Impfstoffdosen bzw. Schätzungen zur Größe eines Marktes für in Entwicklung befindliche Impfstoffe wurden für verschiedene Impfstoffe wie z.B. gegen HIV oder HiB durchgeführt [144-146]. Diese Modellierungen sind umso akkurater, je weiter der Impfstoff in der klinischen Prüfung bzw. in Anwendung ist und somit das genaue Impfstoff-Profil inkl. Preis und benötigte Anzahl an Dosen pro Impfserie feststeht. Die im Rahmen eigener Arbeiten durchgeführte Modellierung zum 5-Jahres-Bedarf eines Dengue-Impfstoffs muss daher mit gewisser Vorsicht interpretiert werden, da zum Zeitpunkt der Modellierung weder das Impfstoff-Profil noch die genaue Anzahl an Erstanwender-Länder feststand [147]. Um weitere Aspekte der neuen Dengue-Impfstoffe (z.B. Schutzdauer, ADE-Risiko auch bei Infektionen zwischen den Dosen einer Impfserie) zu beleuchten, werden möglicherweise große populationsbezogene Demonstrationsstudien auch nach deren Zulassung notwendig sein [148]. Nichtsdestotrotz wird durch diese Analyse der große Bedarf verdeutlicht, der durch die hohe Anzahl an endemischen Ländern mit ihrer großen und jungen Bevölkerung zu erklären ist. In wieweit die vermuteten 20 Erstanwender-Länder tatsächlich kurz nach Verfügbarwerden eines Impfstoffs diesen in ihr nationales Impfprogramm aufnehmen und ob und in welcher Form Catch-Up Kampagnen durchgeführt werden, ist abzuwarten. Sicher erscheint jedoch, dass für einen Dengue-Impfstoff aufgrund der in Endemiegebieten hohen Inzidenz, der teilweise dramatisch auftretenden Ausbrüche, der ökonomischen Bedeutung und des mit Blutungen vergesellschafteten klinischen Bildes von Dengue, das in seiner schweren Form oft gesunde Kinder aus allen sozialen Schichten befällt und für das es keine spezifische Therapie gibt, sowohl in der einheimischen Bevölkerung als auch unter Entscheidungsträgern ein hoher Bedarf besteht [75, 149].

4. Zusammenfassung

Dengue ist die häufigste durch Mücken übertragende Virusinfektion in Asien und Lateinamerika. Mehrere Impfstoff-Kandidaten befinden sich in der klinischen Erprobung. Möglicherweise steht bereits 2015 ein Dengue-Impfstoff zur Verfügung. Valide klinisch-epidemiologische und gesundheitsökonomische Daten werden benötigt für Entscheidungen zur Einführung einer Impfung in nationale Impfprogramme und zu Impfstrategien.

In einer krankenhauses-basierten Studie in Thailand konnten die klinischen Manifestationen von Dengue unter Kindern und Erwachsenen detailliert beschrieben werden. Erstinfektionen führten in beiden Altersgruppen zu schweren Krankheitsverläufen; eine Zweitinfektion war nur im Kindesalter signifikant mit schweren Krankheitsverläufen assoziiert (OR=3,63; 95%KI 1,94-6,82). In drei prospektiven, populationsbezogenen Kohortenstudien in Thailand und Kambodscha betrug die jährliche Inzidenz symptomatischer DENV-Infektionen über 2%, wobei deutliche Variationen an Inzidenzen und dem Anteil an Hospitalisierungen zwischen den einzelnen Beobachtungsjahren und Altergruppen zu beobachten waren. Im Durchschnitt kam es in den nationalen Surveillance-Systemen zu einer Untererfassung der Erkrankung um den Faktor 9. In Kambodscha wurde in die Kohortenstudie eine prospektive Fall-Kontrollstudie zur Erfassung der Dengue-assoziierten Krankheitskosten integriert.

Aufgrund der hohen Inzidenz in den Tropen spielt Dengue auch unter Reisenden eine bedeutende Rolle. Unter fieberhaft erkrankten Reiserückkehrern, die sich zwischen 1996 und 2004 am Berliner Institut für Tropenmedizin vorstellten, konnten in 4,7% DENV-Antikörper festgestellt werden, die auf eine akute DENV-Infektion hindeuteten. Dieser Anteil war am höchsten unter Reisenden, die aus Südost-Asien zurückkehrten, und stieg über die Jahre leicht, aber nicht signifikant an. In Rahmen dieser Studie wurde auch die diagnostische Aussagekraft eines Standard Dengue ELISA-Tests evaluiert. In einer Fallserie von 219 europäischen Reisenden mit akuter DENV-Infektion traten in 8% spontane Blutungen auf, was signifikant mit einer Zweitinfektion assoziiert war. Aber auch Erstinfektionen waren mit schweren klinischen Manifestationen assoziiert.

Im Rahmen einer auf epidemiologischen und demographischen Daten basierenden Analyse wurde der Volumen-Bedarf für einen zukünftigen Dengue-Impfstoff mit verschiedenen Impfstoff-Charakteristika und Einführungsstrategien modelliert. Unter entsprechenden Annahmen beträgt der 5-Jahres-Bedarf bei anfänglicher Einführung in 20 Erstanwender-Länder zwischen 0,9 und 1,4 Milliarden Impfstoffdosen. Das Profil aktuell in Testung befindlicher Impfstoffe ist ungeeignet für Reisende. Bei verbessertem Impfstoff-Profil wird der 5-Jahres-Bedarf für einen Dengue-Impfstoff in diesem Marktsegment auf 59-89 Millionen Dosen geschätzt.

5. Literaturangaben

1. Halstead SB. Dengue. In: Hoffman GPaSL, editor. Tropical medicine: Science and practice, vol 5). London: Imperial College Press; 2008.
2. Rothman AL. Dengue: Defining protective versus pathologic immunity. *J Clin Invest* 2004; 113: 946-51.
3. Vasilakis N and Weaver SC. The history and evolution of human dengue emergence. *Adv Virus Res* 2008; 72: 1-76.
4. Rico-Hesse R. Molecular evolution and distribution of dengue viruses type 1 and 2 in nature. *Virology* 1990; 174: 479-93.
5. Halstead SB. Selective primary health care: Strategies for control of disease in the developing world. Xi. Dengue. *Rev Infect Dis* 1984; 6: 251-64.
6. Munnoz J, Eritja R, Alcaide M et al. Host-feeding patterns of native culex pipiens and invasive aedes albopictus mosquitoes (diptera: Culicidae) in urban zones from barcelona, spain. *J Med Entomol* 2011; 48: 956-60.
7. Carrieri M, Albieri A, Angelini P et al. Surveillance of the chikungunya vector aedes albopictus (skuse) in emilia-romagna (northern italy): Organizational and technical aspects of a large scale monitoring system. *J Vector Ecol* 2011; 36: 108-16.
8. Straetmans M. Vector-related risk mapping of the introduction and establishment of aedes albopictus in europe. *Euro Surveill* 2008; 13.
9. Vasilakis N, Cardoso J, Hanley KA et al. Fever from the forest: Prospects for the continued emergence of sylvatic dengue virus and its impact on public health. *Nat Rev Microbiol* 2011; 9: 532-41.
10. McBride WJ and Bielefeldt-Ohmann H. Dengue viral infections; pathogenesis and epidemiology. *Microbes Infect* 2000; 2: 1041-50.
11. Burke DS, Nisalak A, Johnson DE et al. A prospective study of dengue infections in bangkok. *Am J Trop Med Hyg* 1988; 38: 172-80.
12. Tien NT, Luxemburger C, Toan NT et al. A prospective cohort study of dengue infection in schoolchildren in long xuyen, viet nam. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2010; 104: 592-600.
13. Reyes M, Mercado JC, Standish K et al. Index cluster study of dengue virus infection in nicaragua. *Am J Trop Med Hyg* 2010; 83: 683-9.
14. Endy TP, Anderson KB, Nisalak A et al. Determinants of inapparent and symptomatic dengue infection in a prospective study of primary school children in kamphaeng phet, thailand. *PLoS Negl Trop Dis* 2011; 5: e975.
15. Rigau-Perez JG, Clark GG, Gubler DJ et al. Dengue and dengue haemorrhagic fever. *Lancet* 1998; 352: 971-7.
16. Kalayanarooj S, Vaughn DW, Nimmannitya S et al. Early clinical and laboratory indicators of acute dengue illness. *J Infect Dis* 1997; 176: 313-21.
17. WHO. Dengue - guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. New Edition edition'. Geneva, Switzerland: WHO Press; 2009.
18. WHO. Dengue haemorrhagic fever: Diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition'. Geneva, Switzerland; 1997.
19. Guzman MG and Kouri G. Dengue: An update. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 33-42.
20. Balmaseda A, Hammond SN, Perez MA et al. Short report: Assessment of the world health organization scheme for classification of dengue severity in nicaragua. *Am J Trop Med Hyg* 2005; 73: 1059-62.
21. Rigau-Perez JG. Severe dengue: The need for new case definitions. *Lancet Infect Dis* 2006; 6: 297-302.
22. Deen JL, Harris E, Wills B et al. The who dengue classification and case definitions: Time for a reassessment. *Lancet* 2006; 368: 170-3.

23. Bandyopadhyay S, Lum LC and Kroeger A. Classifying dengue: A review of the difficulties in using the who case classification for dengue haemorrhagic fever. *Trop Med Int Health* 2006; 11: 1238-55.
24. Alexander N, Balmaseda A, Coelho IC et al. Multicentre prospective study on dengue classification in four south-east asian and three latin american countries. *Trop Med Int Health* 2011.
25. Barniol J, Gaczkowski R, Barbato EV et al. Usefulness and applicability of the revised dengue case classification by disease: Multi-centre study in 18 countries. *BMC Infect Dis* 2011; 11: 106.
26. Halstead SB. Pathogenesis of dengue: Challenges to molecular biology. *Science* 1988; 239: 476-81.
27. Hammond SN, Balmaseda A, Perez L et al. Differences in dengue severity in infants, children, and adults in a 3-year hospital-based study in nicaragua. *Am J Trop Med Hyg* 2005; 73: 1063-70.
28. Thein S, Aung MM, Shwe TN et al. Risk factors in dengue shock syndrome. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 56: 566-72.
29. Sangkawibha N, Rojanasuphot S, Ahandrik S et al. Risk factors in dengue shock syndrome: A prospective epidemiologic study in rayong, thailand. I. The 1980 outbreak. *Am J Epidemiol* 1984; 120: 653-69.
30. Guzman MG, Kouri G, Valdes L et al. Epidemiologic studies on dengue in santiago de cuba, 1997. *Am J Epidemiol* 2000; 152: 793-9; discussion 804.
31. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S et al. Dengue viremia titer, antibody response pattern, and virus serotype correlate with disease severity. *J Infect Dis* 2000; 181: 2-9.
32. Watts DM, Porter KR, Putvatana P et al. Failure of secondary infection with american genotype dengue 2 to cause dengue haemorrhagic fever. *Lancet* 1999; 354: 1431-4.
33. Graham RR, Juffrie M, Tan R et al. A prospective seroepidemiologic study on dengue in children four to nine years of age in yogyakarta, indonesia i. Studies in 1995-1996. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61: 412-9.
34. Balmaseda A, Hammond SN, Perez L et al. Serotype-specific differences in clinical manifestations of dengue. *Am J Trop Med Hyg* 2006; 74: 449-56.
35. Messer WB, Gubler DJ, Harris E et al. Emergence and global spread of a dengue serotype 3, subtype iii virus. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 800-9.
36. Cologna R, Armstrong PM and Rico-Hesse R. Selection for virulent dengue viruses occurs in humans and mosquitoes. *J Virol* 2005; 79: 853-9.
37. Kalayanarooj S and Nimmannitya S. Is dengue severity related to nutritional status? *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2005; 36: 378-84.
38. Loke H, Bethell DB, Phuong CX et al. Strong hla class i--restricted t cell responses in dengue hemorrhagic fever: A double-edged sword? *J Infect Dis* 2001; 184: 1369-73.
39. Halstead SB. Dengue. *Curr Opin Infect Dis* 2002; 15: 471-6.
40. Rigau-Perez JG and Laufer MK. Dengue-related deaths in puerto rico, 1992-1996: Diagnosis and clinical alarm signals. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 1241-6.
41. Adams B, Holmes EC, Zhang C et al. Cross-protective immunity can account for the alternating epidemic pattern of dengue virus serotypes circulating in bangkok. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 14234-9.
42. Pengsaa K, Yoksan S, Limkittikul K et al. Maternally transferred neutralising dengue antibodies in thai infants: A pilot study. *Ann Trop Paediatr* 2003; 23: 159-65.
43. Kliks SC, Nimmanitya S, Nisalak A et al. Evidence that maternal dengue antibodies are important in the development of dengue hemorrhagic fever in infants. *Am J Trop Med Hyg* 1988; 38: 411-9.
44. Hongsiriwon S. Dengue hemorrhagic fever in infants. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2002; 33: 49-55.

45. Witayathawornwong P. Dengue hemorrhagic fever in infancy at petchabun hospital, thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2001; 32: 481-7.
46. Chanama S, Anantapreecha S, A An et al. Analysis of specific igm responses in secondary dengue virus infections: Levels and positive rates in comparison with primary infections. *J Clin Virol* 2004; 31: 185-9.
47. Innis BL, Nisalak A, Nimmannitya S et al. An enzyme-linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where dengue and japanese encephalitis co-circulate. *Am J Trop Med Hyg* 1989; 40: 418-27.
48. Shu PY and Huang JH. Current advances in dengue diagnosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004; 11: 642-50.
49. Potts JA and Rothman AL. Clinical and laboratory features that distinguish dengue from other febrile illnesses in endemic populations. *Trop Med Int Health* 2008; 13: 1328-40.
50. Cao XT, Ngo TN, Wills B et al. Evaluation of the world health organization standard tourniquet test and a modified tourniquet test in the diagnosis of dengue infection in viet nam. *Trop Med Int Health* 2002; 7: 125-32.
51. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S et al. Dengue in the early febrile phase: Viremia and antibody responses. *J Infect Dis* 1997; 176: 322-30.
52. Hunsperger EA, Yoksan S, Buchy P et al. Evaluation of commercially available anti-dengue virus immunoglobulin m tests. *Emerg Infect Dis* 2009; 15: 436-40.
53. Blacksell SD, Newton PN, Bell D et al. The comparative accuracy of 8 commercial rapid immunochromatographic assays for the diagnosis of acute dengue virus infection. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 1127-34.
54. Guzman MG, Jaenisch T, Gaczkowski R et al. Multi-country evaluation of the sensitivity and specificity of two commercially-available ns1 elisa assays for dengue diagnosis. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4.
55. Hombach J, Cardoso MJ, Sabchareon A et al. Scientific consultation on immunological correlates of protection induced by dengue vaccines report from a meeting held at the world health organization 17-18 november 2005. *Vaccine* 2007; 25: 4130-9.
56. Halstead SB. Neutralization and antibody-dependent enhancement of dengue viruses. *Adv Virus Res* 2003; 60: 421-67.
57. Pang T. Vaccines for the prevention of neglected diseases--dengue fever. *Curr Opin Biotechnol* 2003; 14: 332-6.
58. Effler PV, Pang L, Kitsutani P et al. Dengue fever, hawaii, 2001-2002. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 742-9.
59. Fakeeh M and Zaki AM. Virologic and serologic surveillance for dengue fever in jeddah, saudi arabia, 1994-1999. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 65: 764-7.
60. Wu W, Bai Z, Zhou H et al. Molecular epidemiology of dengue viruses in southern china from 1978 to 2006. *Virol J* 2011; 8: 322.
61. Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11: 480-96.
62. Gubler DJ. The changing epidemiology of yellow fever and dengue, 1900 to 2003: Full circle? *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2004; 27: 319-30.
63. Papaevangelou G and Halstead SB. Infections with two dengue viruses in greece in the 20th century. Did dengue hemorrhagic fever occur in the 1928 epidemic? *J Trop Med Hyg* 1977; 80: 46-51.
64. Gubler DJ. Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century. *Trends Microbiol* 2002; 10: 100-3.
65. Kanakarathne N, Wahala WM, Messer WB et al. Severe dengue epidemics in sri lanka, 2003-2006. *Emerg Infect Dis* 2009; 15: 192-9.

66. Amarasinghe A, Kuritsk JN, Letson GW et al. Dengue virus infection in africa. *Emerg Infect Dis* 2011; 17: 1349-54.
67. Johnson BK, Ocheng D, Gichogo A et al. Epidemic dengue fever caused by dengue type 2 virus in kenya: Preliminary results of human virological and serological studies. *East Afr Med J* 1982; 59: 781-4.
68. Nimmannitya S. Dengue haemorrhagic fever in thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1987; 18: 291-4.
69. Guzman MG, Alvarez M, Rodriguez R et al. Fatal dengue hemorrhagic fever in cuba, 1997. *Int J Infect Dis* 1999; 3: 130-5.
70. Passos SR, Bedoya SJ, Hokerberg YH et al. Clinical and laboratory signs as dengue markers during an outbreak in rio de janeiro. *Infection* 2008; 36: 570-4.
71. Agarwal R, Kapoor S, Nagar R et al. A clinical study of the patients with dengue hemorrhagic fever during the epidemic of 1996 at lucknow, india. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1999; 30: 735-40.
72. Siqueira JB, Jr., Martelli CM, Coelho GE et al. Dengue and dengue hemorrhagic fever, brazil, 1981-2002. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 48-53.
73. Freedman DO, Weld LH, Kozarsky PE et al. Spectrum of disease and relation to place of exposure among ill returned travelers. *N Engl J Med* 2006; 354: 119-30.
74. Stienlauf S, Segal G, Sidi Y et al. Epidemiology of travel-related hospitalization. *J Travel Med* 2005; 12: 136-41.
75. DeRoeck D, Deen J and Clemens JD. Policymakers' views on dengue fever/dengue haemorrhagic fever and the need for dengue vaccines in four southeast asian countries. *Vaccine* 2003; 22: 121-9.
76. Schwartz E, Weld LH, Wilder-Smith A et al. Seasonality, annual trends, and characteristics of dengue among ill returned travelers, 1997-2006. *Emerg Infect Dis* 2008; 14: 1081-8.
77. Wichmann O, Mühlberger, N., Jelinek, T. Dengue – the underestimated risk in travellers. *Dengue Bulletin* 2003; 27: 126-37.
78. Lindback H, Lindback J, Tegnell A et al. Dengue fever in travelers to the tropics, 1998 and 1999. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 438-42.
79. Frank C, Schoneberg I, Krause G et al. Increase in imported dengue, germany, 2001-2002. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 903-6.
80. Robert-Koch-Institut. Infektionsepidemiologisches jahrbuch meldepflichtiger krankheiten für 2010. Berlin; 2011.
81. Wills BA, Nguyen MD, Ha TL et al. Comparison of three fluid solutions for resuscitation in dengue shock syndrome. *N Engl J Med* 2005; 353: 877-89.
82. Tassniyom S, Vasanawathana S, Chirawatkul A et al. Failure of high-dose methylprednisolone in established dengue shock syndrome: A placebo-controlled, double-blind study. *Pediatrics* 1993; 92: 111-5.
83. Lye DC, Lee VJ, Sun Y et al. Lack of efficacy of prophylactic platelet transfusion for severe thrombocytopenia in adults with acute uncomplicated dengue infection. *Clin Infect Dis* 2009; 48: 1262-5.
84. Sun W, Cunningham D, Wasserman SS et al. Phase 2 clinical trial of three formulations of tetravalent live-attenuated dengue vaccine in flavivirus-naive adults. *Hum Vaccin* 2009; 5: 33-40.
85. Guy B, Barrere B, Malinowski C et al. From research to phase iii: Preclinical, industrial and clinical development of the sanofi pasteur tetravalent dengue vaccine. *Vaccine* 2011; 29: 7229-41.
86. Capeding RZ, Luna IA, Bomasang E et al. Live-attenuated, tetravalent dengue vaccine in children, adolescents and adults in a dengue endemic country: Randomized controlled phase i trial in the philippines. *Vaccine* 2011; 29: 3863-72.

87. Wright PF, Durbin AP, Whitehead SS et al. Phase 1 trial of the dengue virus type 4 vaccine candidate rden4{delta}30-4995 in healthy adult volunteers. *Am J Trop Med Hyg* 2009; 81: 834-41.
88. Osorio JE, Huang CY, Kinney RM et al. Development of denvax: A chimeric dengue-2 pdk-53-based tetravalent vaccine for protection against dengue fever. *Vaccine* 2011; 29: 7251-60.
89. Collier BA, Clements DE, Bett AJ et al. The development of recombinant subunit envelope-based vaccines to protect against dengue virus induced disease. *Vaccine* 2011; 29: 7267-75.
90. Winch PJ, Leontsini E, Rigau-Perez JG et al. Community-based dengue prevention programs in puerto rico: Impact on knowledge, behavior, and residential mosquito infestation. *Am J Trop Med Hyg* 2002; 67: 363-70.
91. Kroeger A, Lenhart A, Ochoa M et al. Effective control of dengue vectors with curtains and water container covers treated with insecticide in mexico and venezuela: Cluster randomised trials. *BMJ* 2006; 332: 1247-52.
92. Kay B and Vu SN. New strategy against aedes aegypti in vietnam. *Lancet* 2005; 365: 613-7.
93. Erlanger TE, Keiser J and Utzinger J. Effect of dengue vector control interventions on entomological parameters in developing countries: A systematic review and meta-analysis. *Med Vet Entomol* 2008; 22: 203-21.
94. Heintze C, Velasco Garrido M and Kroeger A. What do community-based dengue control programmes achieve? A systematic review of published evaluations. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2007; 101: 317-25.
95. Horstick O, Runge-Ranzinger S, Nathan MB et al. Dengue vector-control services: How do they work? A systematic literature review and country case studies. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2010; 104: 379-86.
96. Ooi EE, Goh KT and Gubler DJ. Dengue prevention and 35 years of vector control in singapore. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 887-93.
97. Webb CE and Russell RC. Advice to travelers on topical insect repellent use against dengue mosquitoes in far north queensland, australia. *J Travel Med* 2011; 18: 282-3.
98. Piyaphanee W, Wattanagoon Y, Silachamroon U et al. Knowledge, attitudes, and practices among foreign backpackers toward malaria risk in southeast asia. *J Travel Med* 2009; 16: 101-6.
99. Ropers G, Du Ry van Beest Holle M, Wichmann O et al. Determinants of malaria prophylaxis among german travelers to kenya, senegal, and thailand. *J Travel Med* 2008; 15: 162-71.
100. Mahoney R, Chocarro L, Southern J et al. Dengue vaccines regulatory pathways: A report on two meetings with regulators of developing countries. *PLoS Med* 2011; 8: e1000418.
101. Huy R, Wichmann O, Beatty M et al. Cost of dengue and other febrile illnesses to households in rural cambodia: A prospective community-based case-control study. *BMC Public Health* 2009; 9: 155.
102. World-Tourism-Organization(UNWTO). International tourists to hit 1.8 billion by 2030. Press Release No: PR11079. Madrid; 2011.
103. Wilder-Smith A and Gubler DJ. Geographic expansion of dengue: The impact of international travel. *Med Clin North Am* 2008; 92: 1377-90, x.
104. Leggat PA. Dengue in northern queensland, australia: Risk from travellers or risk to travellers? *Travel Med Infect Dis* 2009; 7: 212-4.
105. Schmidt-Chanasit J, Haditsch M, Schoneberg I et al. Dengue virus infection in a traveller returning from croatia to germany. *Euro Surveill* 2010; 15.

106. La Ruche G, Souares Y, Armengaud A et al. First two autochthonous dengue virus infections in metropolitan france, september 2010. *Euro Surveill* 2010; 15: 19676.
107. Wichmann O, Yoon IK, Vong S et al. Dengue in thailand and cambodia: An assessment of the degree of underrecognized disease burden based on reported cases. *PLoS Negl Trop Dis* 2011; 5: e996.
108. Standish K, Kuan G, Aviles W et al. High dengue case capture rate in four years of a cohort study in nicaragua compared to national surveillance data. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4: e633.
109. Dechant EJ and Rigau-Perez JG. Hospitalizations for suspected dengue in puerto rico, 1991-1995: Estimation by capture-recapture methods. The puerto rico association of epidemiologists. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61: 574-8.
110. Balmaseda A, Standish K, Mercado JC et al. Trends in patterns of dengue transmission over 4 years in a pediatric cohort study in nicaragua. *J Infect Dis* 2010; 201: 5-14.
111. Comach G, Blair PJ, Sierra G et al. Dengue virus infections in a cohort of schoolchildren from maracay, venezuela: A 2-year prospective study. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2009; 9: 87-92.
112. Vong S, Khieu V, Glass O et al. Dengue incidence in urban and rural cambodia: Results from population-based active fever surveillance, 2006-2008. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4: e903.
113. Porter KR, Beckett CG, Kosasih H et al. Epidemiology of dengue and dengue hemorrhagic fever in a cohort of adults living in bandung, west java, indonesia. *Am J Trop Med Hyg* 2005; 72: 60-6.
114. Morrison AC, Minnick SL, Rocha C et al. Epidemiology of dengue virus in iquitos, peru 1999 to 2005: Interepidemic and epidemic patterns of transmission. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4: e670.
115. Cobelens FG, Groen J, Osterhaus AD et al. Incidence and risk factors of probable dengue virus infection among dutch travellers to asia. *Trop Med Int Health* 2002; 7: 331-8.
116. Potasman I, Srugo I and Schwartz E. Dengue seroconversion among israeli travelers to tropical countries. *Emerg Infect Dis* 1999; 5: 824-7.
117. Baaten GG, Sonder GJ, Zaaijer HL et al. Travel-related dengue virus infection, the netherlands, 2006-2007. *Emerg Infect Dis* 2011; 17: 821-8.
118. Ratnam I, Black J, Leder K et al. Incidence and seroprevalence of dengue virus infections in australian travellers to asia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011.
119. Wichmann O, Lauschke A, Frank C et al. Dengue antibody prevalence in german travelers. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 762-5.
120. Wichmann O, Hongsiriwon S, Bowonwatanuwong C et al. Risk factors and clinical features associated with severe dengue infection in adults and children during the 2001 epidemic in chonburi, thailand. *Trop Med Int Health* 2004; 9: 1022-9.
121. Cam BV, Fonsmark L, Hue NB et al. Prospective case-control study of encephalopathy in children with dengue hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 65: 848-51.
122. Solomon T, Dung NM, Vaughn DW et al. Neurological manifestations of dengue infection. *Lancet* 2000; 355: 1053-9.
123. Nilsson J, Vene S and Mattsson L. Dengue encephalitis in a swedish traveller returning from thailand. *Scand J Infect Dis* 2005; 37: 776-8.
124. Kuo CH, Tai DI, Chang-Chien CS et al. Liver biochemical tests and dengue fever. *Am J Trop Med Hyg* 1992; 47: 265-70.
125. Wichmann O, Gascon J, Schunk M et al. Severe dengue virus infection in travelers: Risk factors and laboratory indicators. *J Infect Dis* 2007; 195: 1089-96.

126. Lawn SD, Tilley R, Lloyd G et al. Dengue hemorrhagic fever with fulminant hepatic failure in an immigrant returning to bangladesh. *Clin Infect Dis* 2003; 37: e1-4.
127. Gasperino J, Yunen J, Guh A et al. Fulminant liver failure secondary to haemorrhagic dengue in an international traveller. *Liver Int* 2007; 27: 1148-51.
128. Rigau-Perez JG, Gubler DJ, Vorndam AV et al. Dengue: A literature review and case study of travelers from the united states, 1986-1994. *J Travel Med* 1997; 4: 65-71.
129. Lopez-Velez R, Tapia-Ruano C, Garcia-Camacho A et al. [dengue: An disease imported from the indian subcontinent]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1994; 12: 182-6.
130. Lopez-Velez R, Perez-Casas C, Vorndam AV et al. Dengue in spanish travelers returning from the tropics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15: 823-6.
131. Mohammed HP, Ramos MM, Rivera A et al. Travel-associated dengue infections in the united states, 1996 to 2005. *J Travel Med* 2010; 17: 8-14.
132. Huhtamo E, Vuorinen S, Uzcategui NY et al. Fatal dengue virus infection in a finnish traveler. *J Clin Virol* 2006; 37: 323-6.
133. Karakus A, Banga N, Voorn GP et al. Dengue shock syndrome and rhabdomyolysis. *Neth J Med* 2007; 65: 78-81.
134. Jensenius M, Berild D, Ormaasen V et al. Fatal subarachnoidal haemorrhage in a norwegian traveller with dengue virus infection. *Scand J Infect Dis* 2007; 39: 272-4.
135. Bomers MK, Lettinga KD, van Gorp EC et al. [dengue infection with fatal ending]. *Ned Tijdschr Geneesk* 2009; 153: A725.
136. Waagsbo B, Sundoy A and Hoyvoll LR. Febrile illness in a returned traveller from thailand. *J Clin Virol* 2010; 47: 303-5.
137. Schmidt-Chanasit J, Tenner-Racz K, Poppert D et al. Fatal dengue hemorrhagic fever imported into germany. *Infection* 2011.
138. Schwartz E, Mileguir F, Grossman Z et al. Evaluation of elisa-based sero-diagnosis of dengue fever in travelers. *J Clin Virol* 2000; 19: 169-73.
139. Jelinek T, Wastlhuber J, Proll S et al. Influence of rheumatoid factor on the specificity of a rapid immunochromatographic test for diagnosing dengue infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19: 555-6.
140. Suaya JA, Shepard DS, Siqueira JB et al. Cost of dengue cases in eight countries in the americas and asia: A prospective study. *Am J Trop Med Hyg* 2009; 80: 846-55.
141. Anderson KB, Chunsuttiwat S, Nisalak A et al. Burden of symptomatic dengue infection in children at primary school in thailand: A prospective study. *Lancet* 2007; 369: 1452-9.
142. Harving ML and Ronsholt FF. The economic impact of dengue hemorrhagic fever on family level in southern vietnam. *Dan Med Bull* 2007; 54: 170-2.
143. Lee BY, Connor DL, Kitchen SB et al. Economic value of dengue vaccine in Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 2011; 84: 764-72.
144. Hecht R and Gandhi G. Demand forecasting for preventive aids vaccines: Economic and policy dimensions. *Pharmacoeconomics* 2008; 26: 679-97.
145. Marzetta CA, Lee SS, Wrobel SJ et al. The potential global market size and public health value of an hiv-1 vaccine in a complex global market. *Vaccine* 2010; 28: 4786-97.
146. Zuber PL, Dumolard L, Shirey M et al. Forecasting demand for hib-containing vaccine in the world's poorest countries: A 4-year prospective experience. *Vaccine* 2009; 27: 410-5.
147. Amarasinghe A, Wichmann O, Margolis HS et al. Forecasting dengue vaccine demand in disease endemic and non-endemic countries. *Hum Vaccin* 2010; 6.
148. Letson GW. Dengue surveillance in preparation for field vaccine trials. *J Clin Virol* 2009; 46 Suppl 2: S10-2.
149. Palanca-Tan R. The demand for a dengue vaccine: A contingent valuation survey in metro manila. *Vaccine* 2008; 26: 914-23.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Gundel Harms-Zwingenberger für die Unterstützung und die Möglichkeit, am Berliner Institut für Tropenmedizin regelmäßig Lehrveranstaltungen abzuhalten und diese Habilitationsschrift zu erstellen. Für die langjährige gute Zusammenarbeit während meiner Anstellung am Institut für Tropenmedizin, aber auch nach meinem Wechsel an das Robert Koch-Institut, möchte ich Frau Prof. Harms-Zwingenberger und allen Kollegen des Instituts danken.

Ich möchte mich bei allen Mentoren und Kollegen bedanken, die mich in meiner wissenschaftlichen Entwicklung unterstützt und beraten haben, insbesondere bei Herrn Prof. Thomas Löscher und Herrn Prof. Hans-Dieter Nothdurft (Abteilung für Tropenmedizin und Infektiologie, LMU München), Herrn Prof. Bienzle (ehem. Direktor des Berliner Instituts für Tropenmedizin), Herrn Prof. Gérard Krause (Abteilungsleiter am Robert Koch-Institut) und Dr. Harold Margolis (ehem. Direktor der Pediatric Dengue Vaccine Initiative, PDVI. Aktuell Direktor der Dengue Branch der US Centers for Disease Control and Prevention).

Für die ausgezeichnete Zusammenarbeit im Rahmen der Projekte, die in dieser Habilitationsschrift zusammengefasst wurden, möchte ich mich bei allen Kollegen am Berliner Institut für Tropenmedizin, am Robert Koch-Institut und der PDVI bedanken, sowie allen Kooperationspartner: Den Kollegen vom CDC Taiwan (insb. Prof. Jyh-Hsiung Huang), vom europäischen Netzwerk „TropNetEurop“, von der Mahidol Universität in Bangkok (insb. Prof. Sasithon Pukrittayakamee und Prof. Arunee Sabchareon), vom US Armed Forces Research Institute of Medical Science, AFRIMS, in Bangkok (insb. Dr. Robert Gibbons), vom Gesundheitsministerium in Thailand (insb. Dr. Rome Buathong), vom Institut Pasteur Kambodscha (insb. Dr. Sirenda Vong), vom Gesundheitsministerium in Kambodscha (insb. Dr. Rekol Huy) und vom Provinzkrankenhaus Chonburi (insb. Dr. Suchat Hongsiwon).

Insbesondere gilt mein Dank meinen Eltern, die mich in meinem beruflichen Werdegang stets unterstützten, indem sie mir meine Ausbildung ermöglichten und fortwährend für viele Fragen als wichtiger Ansprechpartner und Ratgeber zur Verfügung standen. Schlussendlich möchte ich mich bei meiner Ehefrau Kamonthip für ihre Geduld, ihre unermüdliche Unterstützung und ihr Verständnis für meine beruflichen Tätigkeiten bedanken, inkl. ihr Verständnis für die Abende, an denen ich die Publikationen schrieb, die Wochen, in denen ich auf Dienstreisen in Südost-Asien war, die Monate, an denen ich am Provinzkrankenhaus in Chonburi Studiendaten erhob und die eineinhalb Jahre, in denen sie mit mir nach Seoul zog und dort mit mir lebte, während ich bei der Pediatric Dengue Vaccine Initiative arbeitete.

ERKLÄRUNG

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden.
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

.....
Datum

.....
Unterschrift