

Aus der Klinik für Neurologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Die Prävalenz des Epstein-Barr-Virus im Stadt-Land-Gefälle bei  
Kindern und Jugendlichen bis zum vollendeten 16. Lebensjahr

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Angelina Dorothea Beer  
aus Stollberg

Datum der Promotion: 10.03.2017

Meinen Eltern

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>ABSTRAKT (DEUTSCH)</b> .....	<b>6</b>
<b>ABSTRAKT (ENGLISCH)</b> .....	<b>8</b>
<b>ABKÜRZUNGEN</b> .....	<b>10</b>
<b>1 EINLEITUNG</b> .....	<b>11</b>
<b>1.1 Die Hygiene-Hypothese</b> .....	<b>11</b>
<b>1.2 Das Epstein-Barr-Virus</b> .....	<b>12</b>
1.2.1 Die Epstein-Barr-Virus-Serologie.....	13
1.2.2 Das Epstein-Barr-Virus als Risikofaktor für die Entwicklung einer Multiplen Sklerose .....	15
1.2.3 Die Epidemiologie des Epstein-Barr-Virus .....	17
<b>1.3 Fragestellung</b> .....	<b>20</b>
<b>2 METHODIK</b> .....	<b>21</b>
<b>2.1 Datenerhebung</b> .....	<b>21</b>
2.1.1 Rekrutierung von medizinischen Laboren .....	21
2.1.2 Rechtliche Grundlangen .....	23
2.1.3 Datenerfassung und Studienpopulation.....	23
2.1.4 Verwendete Testmethoden für die Epstein-Barr-Virus-Serologie .....	24
2.1.5 Die Bevölkerung Brandenburgs aus dem Zensus 2011 .....	24
2.1.6 Kategorisierung des Alters .....	25
2.1.7 Kategorisierung der Wohnorte .....	25
2.1.8 Ermittlung der realen Einwohnerzahlen der Orte Brandenburgs.....	26
2.1.9 Epstein-Barr-Virus-positive Individuen je Einwohnerkategorie .....	26
2.1.10 Verteilung der Studienpopulation nach Einwohnerkategorie je Labor...26	26
2.1.11 Versicherungsstatus .....	27
<b>2.2 Statistische Auswertung</b> .....	<b>27</b>
2.2.1 Statistikprogramm und statistische Tests.....	27

<b>2.3</b>	<b>Analyse 1: Die Prävalenz des Epstein-Barr-Virus innerhalb der Studienpopulation</b> .....	<b>27</b>
2.3.1	Die Prävalenzrate des Epstein-Barr-Virus innerhalb der Kohorte in Brandenburg.....	27
2.3.2	Vergleich der Prävalenzrate des Epstein-Barr-Virus innerhalb der Kohorte zwischen Brandenburg und Berlin.....	28
<b>2.4</b>	<b>Analyse 2: Die Berechnung der Prävalenzrate des Epstein-Barr-Virus für die Bevölkerung Brandenburgs</b> .....	<b>28</b>
2.4.1	Bestimmung des Marktanteils der Labore.....	28
2.4.2	Die Berechnung der Prävalenzrate des Epstein-Barr-Virus für die Bevölkerung Brandenburgs.....	30
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>31</b>
<b>3.1</b>	<b>Charakterisierung der Studienpopulation</b> .....	<b>31</b>
3.1.1	Die Zunahme der Prävalenz des Epstein-Barr-Virus mit dem Alter.....	31
3.1.2	Die Altersverteilung der Bevölkerung Brandenburgs und Berlins aus dem Zensus 2011.....	32
3.1.3	Die realen Einwohnerzahlen für die Orte Brandenburgs .....	33
3.1.4	Epstein-Barr-Virus-positive Individuen je Einwohnerkategorie .....	34
3.1.5	Verteilung der untersuchten Kinder und Jugendlichen nach Einwohnerkategorie je Labor .....	35
3.1.6	Versicherungsstatus .....	36
<b>3.2</b>	<b>Analyse 1: Die Prävalenz des Epstein-Barr-Virus innerhalb der Studienpopulation</b> .....	<b>37</b>
3.2.1	Die Prävalenzrate des Epstein-Barr-Virus innerhalb der Kohorte in Brandenburg.....	37
3.2.2	Vergleich der Prävalenzrate des Epstein-Barr-Virus innerhalb der Kohorte zwischen Brandenburg und Berlin.....	40
<b>3.3</b>	<b>Analyse 2: Die Berechnung der Prävalenzrate des Epstein-Barr-Virus für die Bevölkerung Brandenburgs</b> .....	<b>43</b>
3.3.1	Marktanteil der Labore.....	43

3.3.2	Die Berechnung der Prävalenzrate des Epstein-Barr-Virus für das Bundesland Brandenburg .....	46
<b>4</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>51</b>
<b>4.1</b>	<b>Studiendesign und Methodik .....</b>	<b>51</b>
4.1.1	Studienpopulation und Datenerhebung .....	51
4.1.2	Diagnostik der Epstein-Barr-Virus Infektion .....	52
4.1.3	Verwendete Testmethoden zur Bestimmung der Epstein-Barr-Virus-Serologie.....	53
4.1.4	Kategorisierung des Alters .....	54
4.1.5	Ermittlung der realen Einwohnerzahl der Orte in Brandenburg.....	55
4.1.6	Bezugsgrößen und Marktanteil .....	56
4.1.7	Statistische Auswertung .....	58
<b>4.2</b>	<b>Diskussion der Ergebnisse.....</b>	<b>58</b>
4.2.1	Altersverteilung.....	58
4.2.2	Geschlechterunterschiede .....	60
4.2.3	Versicherungsstatus .....	61
4.2.4	Analyse 1: Die Prävalenz des Epstein-Barr-Virus innerhalb der Studienpopulation.....	62
4.2.5	Analyse 2: Die Berechnung der Prävalenzrate des Epstein-Barr-Virus für die Bevölkerung Brandenburgs.....	63
4.2.6	Beantwortung der Fragestellung .....	65
4.2.7	Schlussfolgerungen und Ausblick .....	65
<b>5</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>68</b>
	<b>EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG.....</b>	<b>74</b>
	<b>CURRICULUM VITAE.....</b>	<b>75</b>
	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>78</b>

## ABSTRAKT (Deutsch)

**EINLEITUNG:** Im Rahmen der Hygiene-Hypothese wird ein Zusammenhang zwischen der Verbesserung der Hygienestandards mit resultierender abnehmender Infektionslast und der Zunahme allergischer und autoimmuner Erkrankungen angenommen. Als pathogener Keim spielt dabei das Epstein-Barr-Virus (EBV) bei der Genese der Multiplen Sklerose (MS) eine Rolle. Mit zunehmendem Alter bei EBV-Infektion scheint das Erkrankungsrisiko für MS erhöht zu sein. Für die MS wurde ein Stadt-Land-Gefälle mit erhöhter Inzidenz auf dem Land statistisch ermittelt. Es stellt sich die Frage, ob das Virus einen Einfluss darauf haben könnte. Dazu ist eine Kenntnis der Epidemiologie des EBV notwendig.

**METHODIK:** Eine retrospektive Datenanalyse (Querschnittstudie 2011) von Kindern und Jugendlichen im Alter von 0 bis zum vollendeten 16. Lebensjahr wurde durchgeführt. Verglichen wurden 1.615 Patienten/-innen mit Wohnsitz in Brandenburg und 1.130 aus Berlin. Innerhalb der Studienpopulation wurde die EBV-Prävalenz in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht und Wohnortgröße berechnet und mittels Linearem Trend Test und logistischer Regression ausgewertet.

Über die Berechnung des Marktanteils der teilnehmenden Labore an den in Brandenburg insgesamt durchgeführten EBV-Antikörper-Bestimmungen erfolgte eine Berechnung der EBV-Prävalenzrate für die Gesamtbevölkerung Brandenburgs nach Alter, Geschlecht und Einwohnerzahl des Wohnortes je 100.000 Einwohnern.

**ERGEBNISSE:** In der Studienpopulation Brandenburg mit und ohne Berlin wurde das Alter als signifikanter Einflussfaktor, auf die Wahrscheinlichkeit EBV-positiv getestet zu werden, ermittelt. Die vier Altersgruppen einzeln betrachtet erscheinen sehr heterogen, jedoch mit einem linear absteigenden Trend der EBV-Prävalenz bei zunehmender Einwohnerzahl. Für die Gesamtpopulation und in der Altersgruppe unter 3 Jahre war dieser Trend signifikant nachweisbar ( $p=0,039$  und  $p=0,020$ ).

Bei der Berechnung der EBV-Prävalenzrate für die Bevölkerung Brandenburgs lässt sich für alle Altersgruppen ein linear ansteigender Trend erkennen. Kinder und Jugendliche aus Orten mit weniger als 20.000 Einwohnern infizieren sich weniger häufig und später mit dem Virus. Besonders große Unterschiede zwischen städtischen und ländlichen Regionen bestehen im Alter von 3 bis 5 und 15 bis 16 Jahren. Mädchen haben ab einem Alter von 5 Jahren eine höhere EBV-Infektionsrate.

**SCHLUSSFOLGERUNG:** Eine später im Leben stattfindende EBV-Infektion gilt als Risikofaktor für die MS. Kinder, die in Orten unter 20.000 Einwohnern leben, infizieren sich später mit dem Virus. Damit sprechen die Ergebnisse dieser Studie dafür, dass die spätere EBV-Infektion auf dem Land ein möglicher relevanter Einflussfaktor für die dort erhöhte MS-Prävalenz darstellt.

## ABSTRAKT (Englisch)

**BACKGROUND:** In the context of the hygiene hypothesis a relation between an improving hygiene standard with consequential decreasing infection burden and the increase of allergic and autoimmune diseases could be established. The pathogenic Epstein-Barr virus (EBV) plays a role in the development of Multiple Sclerosis (MS), where a later infection seems to have a critical influence on the risk to evolve MS. In addition a rural-urban gradient was discovered for this autoimmune disease with a higher prevalence in rural areas. This raises the question whether the virus has an influence on this or not. For this purpose knowledge about the distribution of EBV is essential.

**METHODS:** This retrospective cross-sectional study included 1.615 children living in Brandenburg and 1.130 children living in Berlin, Germany, from birth until the completion of the 16<sup>th</sup> year of age. Within the population a comparison of the prevalence of EBV with age, sex and number of inhabitants of the hometown was executed, applying the linear trend test and the logistic regression.

Using the share of the market of the participating laboratories on the EBV-antibody-tests performed for children from Brandenburg, a descriptive evaluation ensued. This included the EBV-prevalence-rate depending on age, sex and number of inhabitants of the hometown per 100.000 describing the whole federal state.

**RESULTS:** Within the population only age could be outlined as a factor influencing the possibility to have a positive EBV-test-result. The four age groups give a heterogenic impression, but seem to have a descending trend of the EBV-prevalence dependent on an increasing number of inhabitants, independent from age and sex. This is statistically significant for the total population and the age group younger 3 years ( $p=0,039$  and  $p=0,020$ ).

For the calculated prevalence rate of EBV in Brandenburg a linear increasing trend could be established. Children living in towns with less than 20.000 inhabitants seem to get in contact with the virus less often and later in life. Exceptionally large differences between rural and urban areas exist at the ages of 3 to 5 and 15 to 16 years. Girls have higher infection rates after 5 years of age.

**CONCLUSION:** A later infection with EBV is considered to be a risk factor for developing MS. Children, living in towns with less than 20.000 inhabitants, acquire an EBV in-



fection later in life. Therefore an influence of the later EBV infection in rural areas on the higher MS prevalence there can be suggested.

## ABKÜRZUNGEN

95%CI	95% Konfidenzintervall	KV	Kassenärztliche Vereinigung
BB	Brandenburg		
bzw.	beziehungsweise	MHC	(engl.) Major Histocompatibility Complex
CD	(engl.) Cluster of Differentiation	Mio.	Million
CLIA	(engl.) Chemiluminescent Immunoassay	MS	Multiple Sklerose
CMV	Cytomegalievirus	MVZ	Medizinisches Versorgungszentrum
EA	(engl.) Early Antigen	n	Anzahl
EBM	Einheitlicher Bewertungsmaßstab	p	Protein
EBNA	(engl.) Epstein-Barr-Virus Nuclear Antigen	PD	Privatdozent
EBV	Epstein-Barr-Virus	US/USA	(engl.) United States of America
ELISA	(engl.) Enzyme-linked Immunosorbent Assay	VCA	(engl.) Viral Capsid Antigen
Et al.	(lat.) „et alii“, „und andere“	vgl.	vergleiche
EW	Einwohner	VZV	Varizella-Zoster-Virus
GbR	Gesellschaft bürgerlichen Rechts	z. B.	zum Beispiel
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung		
gp	Glykoprotein		
HSV	Herpes-Simplex-Virus		
IFT	Immunofluoreszenz Test		
IgG	Immunglobulin G		
IgM	Immunglobulin M		
IM	Infektiöse Mononukleose		
k. A.	keine Angaben		
km <sup>2</sup>	Quadratkilometer		

# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Die Hygiene-Hypothese

Die Verbesserung der Hygienestandards und die fortschreitende Entwicklung der medizinischen Versorgung führten in den letzten 70 Jahren zu einer relativen Sterilisation der unmittelbaren Lebensumwelt und folglich zu einer Abnahme der Infektionslast. Gleichzeitig ist ein deutlicher Anstieg allergischer und autoimmuner Erkrankungen zu verzeichnen.<sup>1-3</sup> Neben genetischen Faktoren werden vor allem Umweltfaktoren als Ursache diskutiert. Leibowitz et al. postulierten 1966 eine positive Korrelation zwischen dem Grad der Sterilisation der unmittelbaren Lebensumwelt durch die Anzahl sanitärer Einrichtungen und der Inzidenz von Multipler Sklerose (MS) in Israel.<sup>4</sup> Unter dem Begriff „Hygiene-Hypothese“ propagierte als Erster Strachan 1989 einen Zusammenhang zwischen verbesserten hygienischen Verhältnissen und der Entwicklung allergischer Erkrankungen.<sup>5</sup> In der aktuellen Formulierung wurden neben allergischen auch die autoimmunen Erkrankungen mit eingeschlossen: Das vermehrte Auftreten dieser Erkrankungen ist die Folge von Veränderungen in der Interaktion zwischen Mensch und Mikroorganismen in ihrer Umwelt. Dies ist gekennzeichnet durch eine Abnahme der infektiösen Last.<sup>1,6,7</sup> Daraus resultiert eine inadäquaten Stimulation immunregulatorischer Kreisläufe.<sup>8</sup> Es wurde wiederholt gezeigt, dass der Kontakt mit bestimmten Keimen zu einem bestimmten Zeitpunkt während der Reifung des kindlichen Organismus im Kleinkind-, Schulkind- und Jugendalter, die Weiterentwicklung des Immunsystems dahingehend beeinflusst, dass diese entweder eine Prädisposition für oder einen Schutz vor der Entwicklung bestimmter Krankheiten schaffen.<sup>2,9,10</sup> Konkret konnten dabei folgende Faktoren herausgefiltert werden, die mit der Entstehung von Immunerkrankungen assoziiert sind: ein hoher sozioökonomischer Status, ein hohes Familieneinkommen, gute hygienische Bedingungen und die damit assoziierte Lebensweise, beispielsweise die verminderte Benutzung öffentlicher Verkehrsmittel. Protektiv wirken: viele Personen in einem Haushalt, ein oder mehr Geschwister und der Besuch einer Kinderbetreuung in den ersten sechs Lebensmonaten.<sup>1,11</sup> Infrage gestellt wird diese Theorie durch Studienergebnisse der PIAMA-Studie (Prevention and Incidence of Asthma and Mite Allergy), die statistisch keinen Unterschied bei der Allergie- und Asthmainzidenz zwischen der Anzahl der Geschwister, dem zeitigen Besuch einer Kindertagesstätte und zu Hause

betreuten Einzelkindern nachweisen konnte.<sup>12</sup> Darüber hinaus kann die hohe Asthmaprävalenz in der Innenstadt lebender Kinder mit niedrigem sozioökonomischen Status in den USA nicht durch die Hygiene-Hypothese erklärt werden. Demzufolge müssen neben mikrobiellen auch andere Faktoren für die Entwicklung von Allergien und Autoimmunerkrankungen eine Rolle spielen.<sup>6</sup>

## 1.2 Das Epstein-Barr-Virus

In Bezug auf die Interaktion zwischen Mensch und Mikroorganismen ist als wichtiges Virus das Epstein-Barr-Virus (EBV) zu benennen, das als eines von acht zur Familie der Humanen Herpesviren gehört. Über 90% der Bevölkerung weltweit sind mit diesem Virus infiziert.<sup>13-18</sup> Erstmals konnte dieses Virus 1964 durch die Forschergruppe um Michael Anthony Epstein und Yvonne Margaret Barr aus den Zellen eines Burkitt-Lymphoms isoliert werden.<sup>19</sup> Das Virusgenom besteht aus einer Doppelstrang-DNA mit einer Länge von 172 Kilobasenpaaren, umgeben von einem Nukleokapsid und einer Virushülle.<sup>13,18,20,21</sup> Die Virus-DNA codiert für circa 100 Virusproteine, die essenziell für die Regulation der Virusreplikation und die Modulation der Immunantwort des Wirts sind. Dazu gehören die Inhibition der Apoptose der Wirtszelle, Änderungen in der Produktion proinflammatorischer Zytokine und die Produktion eines viralen Zytokins, das dem Interleukin-10 ähnelt und die Immunantwort des Wirts auf die Infektion durch das Virus begrenzt. Dadurch wird die infizierte B-Zelle unsterblich und das Virus kann im Wirt persistieren.<sup>20,22</sup> Die Übertragung erfolgt durch Tröpfchen- oder Schmierinfektion über den Speichel. EBV gelangt so in die Zellen des Oropharynx und infiziert vorrangig B-Lymphozyten. Über Glykoproteine in der Virushülle erfolgt eine Bindung an Oberflächenrezeptoren der B-Lymphozyten. Es kommt zur Fusion des Viruspartikels mit der Zelle.<sup>18,20,23,24</sup>

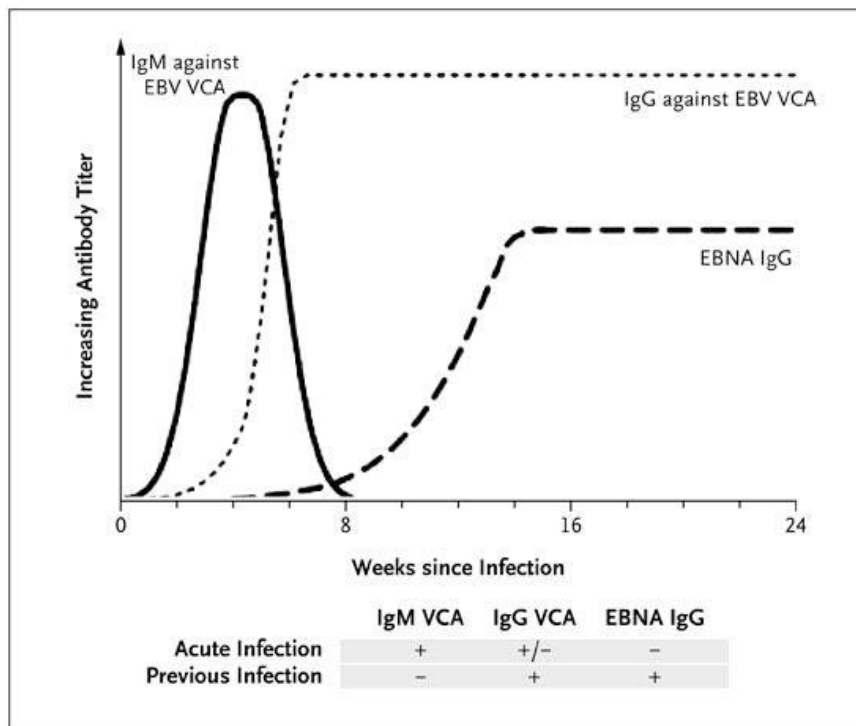
Bereits 1889 beschrieb Emil Pfeiffer das klinische Bild der Infektiösen Mononukleose (IM), deshalb auch Pfeiffer'sches Drüsenfieber genannt. Erst 1968 konnte gezeigt werden, dass EBV der Auslöser dieses Krankheitsbildes ist.<sup>31,32</sup> Ihren Namen erhielt die IM durch die großen mononukleären Immunzellen, die während der symptomatischen Phase im Blutaussstrich zu sehen sind.<sup>15</sup> Die Infektion erfolgt oft bereits im Kindesalter und verläuft in der Regel asymptomatisch. Bei einer später stattfindenden Infektion entwickelt sich häufiger das klinische Bild einer IM.<sup>25</sup> Weil das Virus in der Pubertät durch

innigen Kontakt zwischen Jugendlichen übertragen wird, erhielt das Krankheitsbild auch den Namen „kissing disease“, englisch für „Kusskrankheit“.<sup>11,13-16,18,21,25-29</sup> Die Übertragung via Speichel erfolgt auch noch, wenn das Virus bereits aus dem Blut entfernt ist. Die Symptome der akuten Infektion sind dann bereits abgeklungen und den Erkrankten ist die Infektiösität ihres Speichels nicht bewusst.<sup>18,30</sup> Nach einer Inkubationszeit von zwei bis sechs Wochen<sup>15,18,21</sup> tritt in über 50% der Fälle die typische Trias Fieber, Lymphadenopathie und Pharyngitis auf, in 10% zusätzlich Hepatosplenomegalie oder Petechien des Gaumens. Seltener Symptome sind hämolytische oder aplastische Anämie, Thrombozytopenie, Hepatitis, Myokarditis, Genitalulzera, Exanthem und neurologische Symptome. Die meisten Symptome sind Folge einer CD8+-T-Zell-Antwort auf die Virusinfektion. Die klinischen Symptome enden erst mit dem Rückgang infizierter B-Zellen und aktivierter T-Zellen. Dies erfolgt nach einer mittleren Dauer von 16 Tagen.<sup>13,15,18,21,33</sup> Die Primärinfektion führt zu einer generalisierten Infektion der im Blut zirkulierenden B-Lymphozyten. Normalerweise sind 0,1 bis 1% der B-Zellen infiziert, in Extremfällen bis zu 10%.<sup>15</sup> EBV-infizierte B-Zellen gehen entweder in den lytischen oder den latenten Zyklus über. Beim lytischen Zyklus werden die Viruspartikel in der Wirtszelle reproduziert und wieder in den Speichel ausgeschüttet. Beim latenten Zyklus wandern die infizierten B-Zellen zurück ins Lymphgewebe, wo sie proliferieren. Dabei wird eine große Anzahl durch zytotoxische T-Zellen eliminiert. Die Übrigen exprimieren ein Latenzprogramm, werden zu sogenannten ruhenden Memory-B-Zellen und persistieren lebenslang im menschlichen Organismus.<sup>16</sup>

Eine medikamentöse Therapie mit Aciclovir und anderen Virostatika konnten die EBV-Level im Blut und die Dauer und Intensität der klinischen Symptome nicht signifikant reduzieren. Lediglich eine symptomatische Therapie, z. B. gegen das Fieber und die schmerzhafte Pharyngitis, kann Linderung der IM verschaffen.<sup>21</sup> Es gibt keinen typischen Jahreszyklus oder gehäuftes saisonales Auftreten der IM.<sup>18,21,26</sup>

### **1.2.1 Die Epstein-Barr-Virus-Serologie**

Drei serologische Marker sind für den Nachweis einer EBV-Infektion in immunkompetenten Individuen auf qualitativer Basis notwendig: Viral Capsid Antigen (VCA) Immunglobulin M (IgM), VCA-Immunglobulin G (IgG) und EBV Nuclear Antigen 1 (EBNA1) IgG.<sup>34,35</sup> Zusätzlich können noch Antikörper gegen das Early Antigen (EA) genutzt werden. Getestet wird in der Regel mit Enzyme-linked Immunosorbent Assays (ELISAs)



**Abbildung 1:** Verlauf der Antikörpertiter ab dem Infektionszeitpunkt (Quelle: Luzuriaga K, Sullivan JL. Infectious mononucleosis. The New England Journal of Medicine 2010;362:1997.<sup>21)</sup>

und Immunoblots. Der Goldstandard ist der Indirekte Immunofluorescence Assay (IFT), der aber weniger automatisiert ist und deshalb im klinischen Alltag häufig ersetzt wird durch andere Verfahren.<sup>36</sup> VCA wird im lytischen Zyklus exprimiert, EBNA in Zellen mit latenter EBV-Infektion.<sup>37</sup> Letzteres ist ein Komplex (EBNAc) aus mindestens sechs Proteinen (EBNA1 bis EBNA6), wobei nur EBNA1 bei der Diagnostik einer EBV-Infektion relevant ist. Dieses Protein ist zuständig für den Erhalt der viralen DNA-Partikel in der infizierten Wirtszelle.<sup>24</sup> Nach dem Kontakt mit dem Virus steigt als erstes die Konzentration von VCA-IgM und zeigt damit die akute Infektion an. Es erfolgt eine Serokonversion zu VCA-IgG, welches in der Regel mit dem Beginn klinischer Symptome auftritt.<sup>24</sup> EBNA1-IgG zeigt eine komplett durchlaufene und somit abgeklungene Infektion an. Die Synthese dieses Antikörpers kann um drei bis acht Monate und länger verzögert sein (vgl. Abbildung 1, Seite 14).<sup>14,28</sup> 2,8% bis 10% der Menschen produzieren keine EBNA1-Antikörper nach EBV-Infektion.<sup>34,38,39</sup> VCA-IgM ist transient und sinkt nach Ablauf der EBV-Infektion wieder unter die Nachweisgrenze, wohingegen VCA-IgG und EBNA1-IgG lebenslang auf einem konstanten Level, und somit nachweisbar, bleiben. Die Kombination aus VCA-IgM- und -IgG-Positivität und EBNA1-IgG-Negativität spricht für eine kürzlich stattgefundenene EBV-Infektion. Die Kombination aus nachgewiesenem

VCA-IgG und EBNA1-IgG ohne VCA-IgM-Nachweis spricht für eine abgelaufene Infektion.<sup>21,34</sup>

### **1.2.2 Das Epstein-Barr-Virus als Risikofaktor für die Entwicklung einer Multiplen Sklerose**

Ruhende B-Lymphozyten bilden ein Reservoir für Reaktivierungen des EBV und spielen eine Rolle in der Pathogenese einer Reihe autoimmuner, immunologischer Erkrankungen und epithelialer, mesenchymaler und lymphoider maligner Tumoren, beispielsweise: Multiple Sklerose (MS), Systemischer Lupus Erythematoses, Rheumatoide Arthritis, Sjögren-Syndrom, Burkitt-Lymphom, Hodgkin-Lymphom, Nasopharynxkarzinom, Adenokarzinom des Magens und Lymphome bei Immunsupprimierten.<sup>13,15,16,26,40,41</sup>

In multiplen Studien zeigt sich eine starke Evidenz, dass eine EBV-Infektion einer MS-Erkrankung vorausgeht. Bei einer Meta-Analyse von 14 Studien konnte eine Assoziation zwischen MS und IM gezeigt werden: Im Vergleich zu einer stillen EBV-Primärinfektion ist das relative Risiko später an MS zu erkranken bei einer durchlaufenen IM um das 2,3-fache erhöht.<sup>43</sup> Andere Studien zeigten ein um das Zwei- bis Dreifache erhöhtes Risiko für MS, wenn die EBV-Infektion erst im Jugendalter erfolgt, dem Zeitraum, in dem die Infektion meist symptomatisch verläuft.<sup>15,42</sup> Nahezu 100% der MS-Patienten/-innen sind EBV seropositiv.<sup>17</sup> Im Vergleich zu nicht-infizierten haben EBV-positive Individuen ein zehnfach erhöhtes Risiko an MS zu erkranken.<sup>15,42</sup> Tritt MS im Kindesalter auf, so ist auch hier ein signifikanter Unterschied im Hinblick auf vorausgegangene EBV-Infektionen im Vergleich zu gesunden Kontrollgruppen zu finden. Bei Alotaibi et al., die Kinder mit MS mit zwei gleichaltrigen Kontrollgruppen hinsichtlich einer stattgefundenen EBV-Infektion untersuchten, waren in der MS-Gruppe nur 17% EBV-seronegativ im Vergleich zu den Kontrollen von 55% und 36%. Im Hinblick auf Herpes-Simplex-Virus (HSV), Parvovirus B19, Cytomegalievirus (CMV) und Varizella-Zoster-Virus (VZV) konnte kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Jedoch ist die Aussagekraft durch das recht kleine Patientenkollektiv von nur 30 untersuchten MS-Patienten/-innen limitiert.<sup>44</sup> Pohl et al. wiesen ebenfalls einen signifikanten Unterschied nach. Fast alle MS-Kinder waren EBV-seropositiv im Gegensatz zu 72% Positivität in der Kontrollgruppe. Außerdem wurden bei den MS-Patienten/-innen signifikant erhöhte Titer für EBNA1-Antikörper und VCA-IgG-Antikörper gemessen.<sup>45</sup> Eine innerhalb einer Kohorten-Studie durchgeführte Fall-Kontroll-Studie von Levin et al. fand her-

aus, dass EBV-Antikörper fünf oder mehr Jahre vor Auftreten erster MS-Symptome signifikant erhöht sind.<sup>46</sup> Eine Studie mit langem Follow-up zeigte, dass EBNAc- und EBNA1-Antikörper bis zu 20 Jahre vor Auftreten erster Symptome von MS konstant erhöht sind, besonders waren die Titer fünf und mehr Jahre vor MS-Beginn auffällig. Normalerweise bleiben EBNA-Antikörper-Titer nach erfolgter EBV-Infektion konstant, jedoch scheinen sie bei MS-Patienten/-innen vor Symptombeginn erhöht zu sein. Die Autoren/-innen dieser Studie stellten die Hypothese auf, dass die Zunahme der Titer im späten Jugend- bis frühen Erwachsenenalter erfolgt und es somit ein Alter der Vulnerabilität für die Pathogenese der MS geben muss.<sup>47</sup> Eine prospektive Studie im US-Militär bestätigte diese Aussagen. Es wurden Serumproben, die durchschnittlich fünf Jahre vor Beginn erster MS-Symptome abgenommen wurden, analysiert. Das MS-Risiko erhöht sich um das 30-fache bei erhöhten EBNAc-Titern und um das Siebenfache bei erhöhten EBNA1-Titern. Es fand sich kein Einfluss von Vitamin-D-Leveln, Geschlecht und ethnischen Gruppen hinsichtlich des MS-Risikos.<sup>48</sup> Es scheint also nicht nur wichtig zu sein, ob überhaupt der Kontakt mit einem Keim stattgefunden hat, sondern auch wann dieser Kontakt stattfindet.

Zusammenfassend bleibt unklar, ob eine EBV-Infektion die MS-Pathogenese initiiert, MS zu einer erhöhten Empfänglichkeit der B-Lymphozyten gegenüber EBV führt oder ein gemeinsamer Mechanismus existiert, der eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber MS und EBV verursacht. Es bleiben die molekularen Zusammenhänge zwischen diesem Virus und MS offen.<sup>49,50</sup>

Conradi et al. stellten den Zusammenhang zwischen MS und der Hygiene-Hypothese her. Sie fanden heraus, dass folgende Faktoren das MS-Risiko vermindern: Vorhandensein mindestens zwei älterer Geschwister, der Besuch einer Kindertageseinrichtung im Alter von null bis drei Jahren, Leben in einer Stadt mit mehr als 100.000 Einwohnern im Alter von null bis sechs Jahren. Als Risikofaktoren wurde gesondert herausgefiltert: Alter über 32 Jahre, weibliches Geschlecht, erstes oder zweites Kind in der Geburtenreihenfolge, kein Besuch einer Kindertagesstätte und das Aufwachsen in einer ländlichen Gegend. Es konnte kein Zusammenhang zwischen MS und dem Kontakt zu Haus- oder Farmtieren festgestellt werden.<sup>51</sup> Es ist allgemein anerkannt, dass potentielle Infektionen vermehrt auf dem Land auftreten.<sup>10</sup> Im Gegensatz dazu könnte der vermehrte



Kontakt mit Kindern desselben Alters und der Gebrauch öffentlicher Verkehrsmittel in großen Städten ein noch höheres Infektionsrisiko darstellen.<sup>51</sup>

Wenn der Zeitpunkt der EBV-Infektion entscheidend zu sein scheint und es anscheinend einen Unterschied zwischen Stadt und Land gibt, stellt sich die Frage, wie die Infektionsraten in den einzelnen Altersgruppen in Bezug auf ländliche und städtische Regionen tatsächlich aussehen.

### **1.2.3 Die Epidemiologie des Epstein-Barr-Virus**

Der Großteil der Weltbevölkerung durchläuft die Primärinfektion in den ersten zehn Lebensjahren. Jedoch gibt es Unterschiede zwischen Entwicklungs- und Industrieländern. In Letzteren erfolgt die Primärinfektion in bis zu 50% der Fälle erst nach der ersten Lebensdekade.

Aussagen über die Epidemiologie des EBV treffen: fünf Studien aus Asien, eine Studie aus Afrika, zwei Studien aus den USA, zwei Studien aus Europa und die Prävalenz des Virus in Deutschland wurde nur in einer vergleichenden Studie ermittelt.

Ein erster Versuch die Prävalenz des EBV bei Kindern zu untersuchen, erfolgte durch Biggar et al., die eine EBV-Serokonversion von VCA-IgM zu -IgG in einer kleinen Population (n=31) in Ghana untersuchten. Eine asymptomatisch abgelaufene Serokonversion konnte nachgewiesen werden: im Alter von 12 Monaten bei 44%, 15 Monaten bei 62% und 21 Monaten bei 82% der untersuchten Kleinkinder. Ein sozioökonomisches Gefälle war auffällig: Im Alter von 15 Monaten waren 72% aus niedrigem, 53% aus mittlerem und 33% aus hohem sozioökonomischen Status EBV positiv.<sup>29,52</sup> In Südindien (n=181) konnten bis zu einem Alter von fünf Jahren bei 90% der Kinder VCA-IgG-Antikörper nachgewiesen werden. Das mittlere Infektionsalter lag bei 1,4 Jahren. EBNA-Antikörper waren in den ersten zwei Jahren niedrig, stiegen aber auf 80% bis zum vierten Lebensjahr an und zeigten einen verzögerten Anstieg im Vergleich zu VCA-IgG.<sup>53</sup> In Malaysia (n=98) waren bis zu einem Alter von acht Jahren alle Kinder seropositiv für EBV.<sup>54</sup> Ein Vergleich zwischen Hong Kong (n=266) und England (n=327) ergab einen Unterschied in den Infektionsraten von 100% in Hong Kong im Vergleich zu 60 bis 70% in England bis zu einem Alter von zehn Jahren.<sup>55</sup> Eine später durchgeführte Studie (n=66) betrachtete die EBV-Prävalenz in Hong Kong genauer: 60,6% der Zweijährigen hatten sich bereits mit EBV infiziert, davon 82,5% im Alter von 12 bis 20 Mona-

ten. Ab dem achten Lebensmonat ist eine konstante Frequenz der Serokonversion um circa 20% alle vier Monate zu verzeichnen. Hier wurde auch ein signifikanter Unterschied zwischen Mädchen und Jungen nachgewiesen. Im ersten Lebensjahr waren 19% der Mädchen und 42% der Jungen EBV-positiv, im zweiten Lebensjahr stieg die Serokonversion bei den Mädchen auf 81% und bei den Jungen auf 58% an.<sup>14</sup>

Eine höhere EBV-Prävalenz im ersten Lebensjahr im Vergleich zu einer geringeren in folgenden Lebensjahren wird durch den sogenannten Nestschutz erklärt.<sup>56</sup> Bei der Untersuchung der EBV-Seropositivität bei Säuglingen ist das Vorhandensein von maternalen Antikörpern, die über die Muttermilch an den Säugling weitergegeben werden, zu berücksichtigen. Diese verschwinden bis zu einem Alter von zwei bis acht Monaten, bei der Mehrheit bis zum sechsten Lebensmonat.<sup>52-54</sup> Eine nachgewiesene Seropositivität ist bis zu diesem Alter demzufolge nicht auf eine stattgefundene EBV-Infektion zurückzuführen, sondern auf die mütterlichen Antikörper. Eine Infizierung des Kindes mit dem EBV ist somit erst möglich, sobald der Schutz durch mütterliche Antikörper sinkt.<sup>11,21,28</sup>

Eine Studie aus England und Wales (n=2.893) betrachtete erstmals die Entwicklung der EBV-Prävalenz über das Säuglingsalter hinaus: unter einem Jahr sind 59% seropositiv, ein bis vier Jahre 35%, zehn bis 14 Jahre 54% und 15 bis 19 Jahre 72%. Bis zu einem Alter von 30 Jahren ist kaum noch ein Anstieg zu verzeichnen. Die Autoren/-innen konnten keinen signifikanten Unterschied zwischen den Geschlechtern nachweisen mit Ausnahme der Altersgruppe 10 bis 14 Jahre, bei der eine höhere EBV-Prävalenz bei den Mädchen vorlag.<sup>56</sup> Martro et al. verglichen Daten von drei Kontinenten am Beispiel Nigeria (n=184), USA (n=552) und Deutschland (n=235). Im Alter von sechs bis 38 Monate lag folgende EBV-Prävalenz vor: in Nigeria 88%, in den USA 45% und in Deutschland 35%. Im Alter von sechs Monaten bis 17 Jahren sah die EBV-Prävalenz folgendermaßen aus: USA 64% und Deutschland 61%. Nigeria wurde für diese Altersgruppe nicht untersucht.<sup>57</sup> In Japan (n=442) verteilte sich die EBV-Prävalenz wie folgt: Altersgruppe 5 bis 7 Jahre 59%, 10 bis 12 Jahre 86%, 20 bis 22 Jahre 96% und 25 bis 27 Jahre 100%. Bei dieser Studie konnten Takeuchi et al. feststellen, dass es einen Trend zur späteren Infektion gibt: In den Jahren 1980 bis 1990 waren bei den Fünf- bis Siebenjährigen noch über 80% positiv, so waren es in den Jahren 1997 bis 1999 nur noch 59%.<sup>27</sup> Eine größere chinesische Studie verglich die Prävalenz des Virus zwischen Nord- und Südchina (n=1.778) und konnte keinen signifikanten Unterschied bezüglich

eines Nord-Süd-Gefälles nachweisen. Im ersten Lebensjahr betrug die EBV-Seropositivität 40% bzw. 49%, im zweiten Lebensjahr 55% bzw. 48% und im dritten Lebensjahr 68% bzw. 58%. Der weitere Verlauf war durch eine kontinuierliche Zunahme der Prävalenz gekennzeichnet, bis sich im Alter von acht Jahren die Prävalenz bei 90% stabilisierte.<sup>28</sup> Dowd et al. untersuchten im Rahmen der NHANES (U.S. National Health and Nutrition Examination Survey) auch die EBV-Prävalenz im Alter von sechs bis 19 Jahren. Mit 9.302 Probanden handelte es sich damit um die aktuell größte durchgeführte Studie zur EBV-Epidemiologie bei Kindern und Jugendlichen. Die Gesamt-EBV-Seroprävalenz lag bei 66,5%. Diese stieg dabei von 54,1% in der Altersgruppe 6 bis 8 Jahre auf 82,9% im Alter von 18 bis 19 Jahre an. Jungen hatten eine signifikant niedrigere EBV-Prävalenz (Mädchen 68,9%, Jungen 64,2%). Eine höhere Prävalenz trat auf bei nicht-weißen Kindern und Jugendlichen, niedrigerem Haushaltseinkommen und niedrigerem Bildungsstand, Kindern und Jugendlichen, die außerhalb der USA geboren wurden, Kindern und Jugendlichen mit Rauchern im Haushalt und bei zunehmender Personenzahl pro Haushalt. Der elterliche sozioökonomische Status war der wichtigste Faktor, der mit einer EBV-Infektion assoziiert war.<sup>11</sup>

Balfour et al. untersuchten EBV-Primärinfektionen bei US-Studierenden unter verschiedenen Gesichtspunkten. Bei der Erstuntersuchung waren bei einem Durchschnittsalter von 18,6 Jahren bereits 63% EBV-seropositiv. Von den EBV-seronegativen Studierenden konnten bei 46% eine Serokonversion in den durchschnittlich nächsten drei Jahren nachgewiesen werden. Davon wiederum durchliefen die Primärinfektion 77% mit dem typischen Bild der IM, 12% zeigten nicht-IM-spezifische Symptome und nur 11% waren asymptomatisch. Die mittlere Krankheitsdauer bei symptomatischer Infektion war zehn Tage mit einer breiten Streuung von drei bis 66 Tagen. Das Virus konnte vor Auftritt der Symptome nicht im Blut und der Mundschleimhaut nachgewiesen werden. Im Blut war das Virus nach Primärinfektion maximal 200 Tage nachweisbar, im Oropharynx jedoch noch bis zu drei Jahre später. Außerdem korrelierte die Schwere der Erkrankung mit der Anzahl an CD8+-T-Zellen, nicht jedoch CD4+-T-Zellen. Eine positive Korrelation zwischen Viruslast und Symptomatik konnte gezeigt werden.<sup>25</sup> Damit verdeutlicht diese Studie beispielhaft, was am Anfang des Einleitungsteils bereits ausführlich zum Virus und der IM dargelegt wurde.

### 1.3 Fragestellung

Die Infektion mit EBV scheint neben vielen anderen Faktoren ein wichtiger Einflussfaktor bei der Entwicklung von Autoimmunerkrankungen zu sein. Für die Prävalenz der MS konnte ein Stadt-Land-Gefälle statistisch ermittelt werden.<sup>51,58</sup> Bisher ist unklar, ob der Zeitpunkt der EBV-Infektion ursächlich mit dieser Beobachtung in Zusammenhang steht.

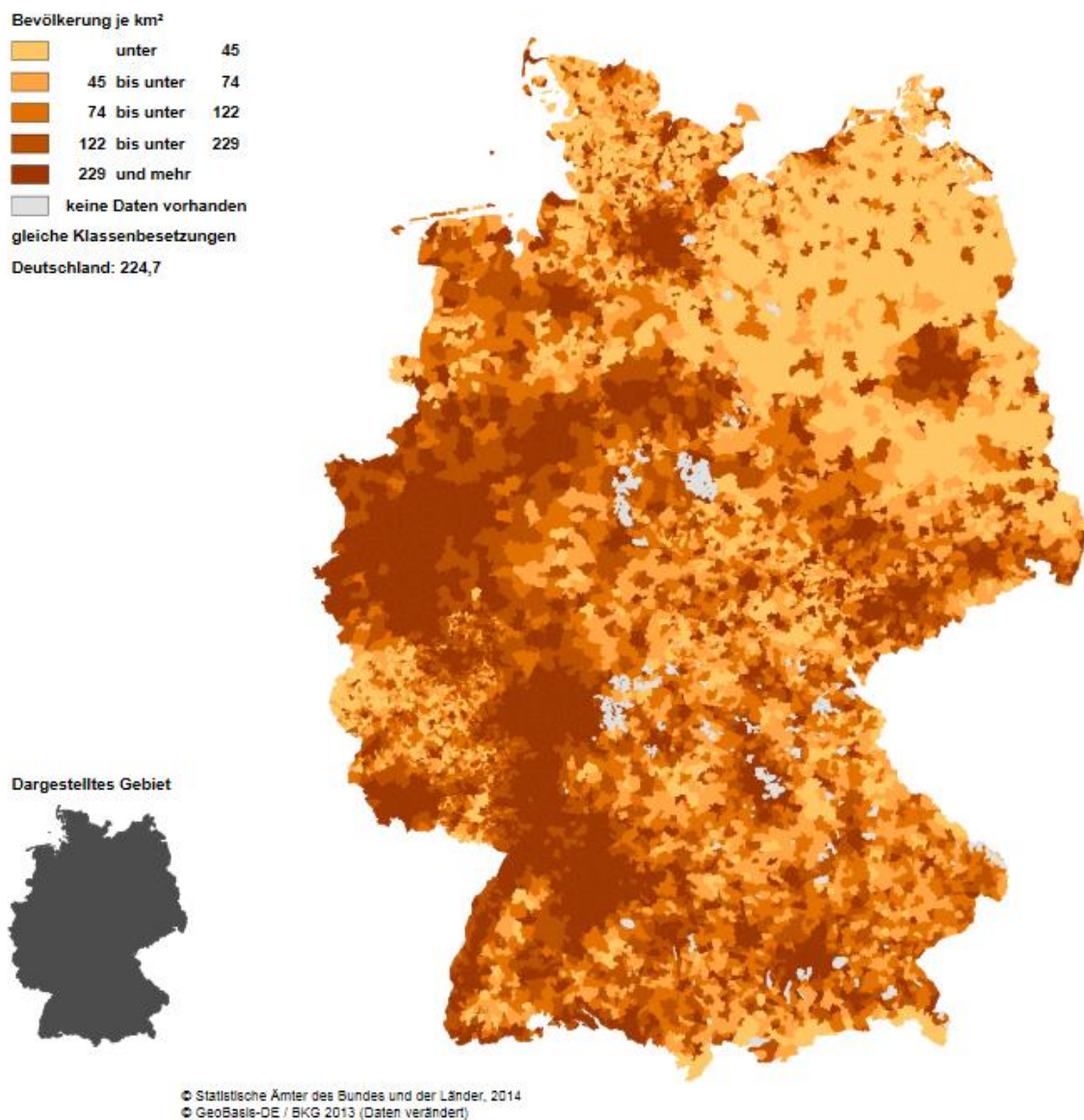
Es gibt bisher keine Studien, die die geografische Prävalenz des EBV bei Kindern und Jugendlichen in Deutschland nach Altersklassen und im Sinne eines Vergleichs zwischen städtischen und ländlichen Regionen untersuchen. Mit dieser Arbeit wird erstmalig die Prävalenz des Virus bei Kindern und Jugendlichen vor dem 17. Lebensjahr hinsichtlich eines Stadt-Land-Gefälles analysiert. Grundlage der Arbeit wird die retrospektive Auswertung von EBV-Serologien einer Studienpopulation aus Kooperationslaboren von Kindern und Jugendlichen aus Berlin und Brandenburg sein. Anschließend wird ausgehend von der Studienpopulation die EBV-Prävalenz für das gesamte Bundesland Brandenburg kalkuliert und analysiert.

## 2 METHODIK

### 2.1 Datenerhebung

#### 2.1.1 Rekrutierung von medizinischen Laboren

Bei der Suche nach potenziellen Kooperationspartnern wurde ein Schwerpunkt auf die Bundesländer Berlin, Brandenburg und Mecklenburg-Vorpommern gesetzt. Hier besteht ein deutlicher Unterschied der Bevölkerungsdichte (vgl. Abbildung 2, siehe unten).



**Abbildung 2:** Bevölkerungsdichte Deutschlands (Einwohner je km<sup>2</sup>) aus dem Zensus 2011 (Quelle: Statistische Ämter des Bundes und der Länder. Bevölkerungsdichte für Deutschland 2011<sup>59</sup>)

Das Ziel der Arbeit bestand darin, für die genannten Gebiete eine flächendeckende Erhebung der EBV-IgG-Serologie von Kindern und Jugendlichen im Alter von 0 bis zum vollendeten 16. Lebensjahr durchzuführen. Kollaborierende laboratorische Einrichtungen, welche die Bestimmung einer EBV-Serologie durchführen, wurden mittels Online-Suchmaschinen ermittelt. Weiterhin stellten die Virologen Prof. Dr. J. Hofmann und Dipl.-Biol. U. Küsters sowie die Kassenärztlichen Vereinigungen (KV) Brandenburg und Mecklenburg-Vorpommern Informationen über die bei ihnen erfassten Labore zur Verfügung, die eine EBV-Antikörper-Bestimmung durchführen. Hierbei ist von einer vollständigen Erfassung der niedergelassenen Labore in den Bundesländern Brandenburg und Mecklenburg-Vorpommern auszugehen, da die Abrechnung aller der von Laboren durchgeführten Leistungen im niedergelassenen Sektor über die KVen erfolgt.

Es wurden 20 Labore in Berlin, Brandenburg und Mecklenburg-Vorpommern sowie zwei weitere Labore in Karlsruhe und Heidelberg mit deutschlandweitem Einzugsgebiet identifiziert. Davon stimmten elf einer Teilnahme zu. Dies entsprach einem Rücklauf von 50%. Acht Labore konnten die benötigten Daten je Patient/-in (vgl. 2.1.2, Seite 23) vollständig für eine Auswertung zur Verfügung stellen (insgesamt 30%).

Endgültig kollaborierende laboratorische Einrichtungen (Ansprechpartner) sind:

- Institut für Virologie Charité Campus Mitte (J. Hofmann), im Folgenden genannt „Charité“
- Institut für medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene – Universität Rostock (A. Podbielski), im Folgenden genannt „Rostock“
- Institut für medizinische Diagnostik Berlin-Potsdam MVZ GbR (U. Küsters), im Folgenden genannt „Potsdam“
- Institut für medizinische Diagnostik Greifswald MVZ Labor Greifswald GmbH (R. Rüter), im Folgenden genannt „Greifswald“
- Institut für medizinische Diagnostik Oderland – Ärztliches Labor Dr. med. Frank Berthold & Kollegen MVZ GbR (D. Bandt), im Folgenden genannt „Oderland“
- Laborgemeinschaft Ostprignitz-Ruppin GbR – ehemalg Medizinisches Laboratorium Kyritz und Medizinische Laborpraxen Wittstock GbR – (M. Haßfeld), im Folgenden getrennt genannt „Kyritz“ und „Wittstock“

- MVZ Labor PD Dr. Volkmann und Kollegen GbR (S. Clerici), im Folgenden genannt „Labor Volkmann“.

### **2.1.2 Rechtliche Grundlagen**

Die Datenschutzbestimmungen und Schweigepflichtsvorgaben der Bundesländer, in denen die Labore gelegen sind, wurden stets berücksichtigt. Ein Datenschutzvotum der Charité – Universitätsmedizin Berlin lag vor. Das Labor Rostock wünschte den Abschluss eines gesonderten Kooperationsvertrages, inklusive Verschwiegenheitserklärung, welchem nach Prüfung durch die Rechtsabteilung der Charité – Universitätsmedizin Berlin stattgegeben wurde.

Die vorliegende Studie wurde von der Ethikkommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin (Antragsnummer EA1/108/15) nach datenschutzrechtlicher Prüfung bewilligt und nach den ethischen Standards der Deklaration von Helsinki durchgeführt.

### **2.1.3 Datenerfassung und Studienpopulation**

Es wurden folgende Parameter für jede/-n Patienten/-in erhoben, bei welchem/-r im Zeitraum vom 24.10.2010 bis 26.10.2011 eine EBV-Serologie durchgeführt wurde:

- Patienten-Identifikationsnummer
- Geschlecht (männlich/weiblich)
- Geburtsdatum (DD.MM.JJJJ)
- Datum der Blutentnahme (DD.MM.JJJJ)
- Postleitzahl und Wohnort
- EBV-VCA/EBNA1-IgG (positiv/negativ)
- Versicherungsstatus (gesetzlich/privat/unbekannt).

Die Einteilung des EBV-Status erfolgte in „positiv“ und „negativ“. Grenzwertige Fälle wurden der Kategorie „negativ“ zugeordnet (entsprechend den Vorgaben der Grenzwerte des jeweiligen Labors und Testverfahrens).

Initial konnten 7.667 Rohdaten erhoben werden. Für eine weitere Auswertung mussten alle oben genannten Angaben vorhanden sein. Wurde mehr als eine EBV-Serologie bei dem-/derselben Patienten/-in durchgeführt, so war nur der zeitlich zuerst erhobene Wert gültig. Daraus entstand eine Population von 4.724 Probanden. Bedingt durch den For-

schungsschwerpunkt auf unter 17-Jährige mit Wohnort in Brandenburg (vgl. 2.4.1, Seite 28), reduzierte sich die Studienpopulation auf n=1.615 (798 Mädchen, 817 Jungen).

### 2.1.4 Verwendete Testmethoden für die Epstein-Barr-Virus-Serologie

Die teilnehmenden Labore verwendeten verschiedene Testmethoden zur Bestimmung des EBV-Status. Die eingesetzten Verfahren zeigt Tabelle 1, siehe unten.<sup>36,38,60-65</sup>

**Tabelle 1:** Übersicht über die verwendeten EBV-Testmethoden der teilnehmenden Labore (E=bei Erwachsenen ermittelt, K=bei Kindern ermittelt, k. A.=keine Angaben möglich)

Labor	Getesteter Antikörper	Hersteller	Antigen	Sensitivität, Spezifität
<b>Charité</b>	VCA-IgG	Siemens, Enzygnost, ELISA	EBV-spezifisches Antigengemisch bestehend aus EBV-Epitopen	85% (K) / 99% (E), 52% (K) / >99% (E)
<b>Greifswald</b>	EBNA-IgG	Virion\Serion, ELISA	EBNA1-p72	99% (E), >99% (E)
<b>Kyritz</b>	VCA-IgG	Virotech, ELISA	natives Peptid gp125	(k. A.)
<b>Oderland</b>	EBNA-IgG	Viramed, Blot	EBNA1-p76	99% (E), 90% (E)
<b>Potsdam</b>	VCA-IgG	Diasorin-Liason, CLIA	synthetisch hergestelltes Peptid p18	87-94% (E), 94-100% (E)
<b>Rostock</b>	VCA-IgG	Biomerieux, ELISA	(k. A.)	(k. A.)
<b>Volkmann</b>	VCA-IgG	Indirekte IFT	EBV-transformierte B-Zelllinien von Patienten/-innen mit Burkitt-Lymphom	(k. A.)
<b>Wittstock</b>	VCA-IgG	Diasorin-Liason, CLIA	synthetisch hergestelltes Peptid p18	87-94% (E), 94-100% (E)

### 2.1.5 Die Bevölkerung Brandenburgs aus dem Zensus 2011

Zur Ermittlung der Grundgesamtheit der Studienpopulation (Kinder und Jugendliche in Brandenburg bis zum vollendeten 16. Lebensjahr) wurde der am 09. Mai 2011 durchgeführte Zensus der Bundesrepublik Deutschland hinzugezogen. Dieses Datum liegt im Erhebungszeitraum der Stichprobe. Es erfolgte eine Aufschlüsselung der Einwohner



Brandenburgs nach Alter und Geschlecht mittels der Funktion „Ergebnisse dynamisch und individuell“.<sup>66</sup>

### **2.1.6 Kategorisierung des Alters**

In Anlehnung an den Zensus 2011 erfolgte die Kategorisierung in die folgenden Altersgruppen:

- (1) unter 3 Jahre
- (2) 3 bis 5 Jahre
- (3) 6 bis 14 Jahre
- (4) 15 bis 16 Jahre

Im Zensus 2011 umfasst die Kategorie 4 das Alter 15 bis 17 Jahre. Um einen Vergleich der Stichprobe, die Kinder und Jugendliche im Alter von 0 Jahren bis zum vollendeten 16. Lebensjahr einschließt, mit den Bevölkerungszahlen aus dem Zensus 2011 in dieser Alterskategorie zu ermöglichen, wurde diese reduziert auf 1/3 der Jugendlichen in der Altersgruppe 15 bis 17 Jahre. Dies erfolgte unter der Annahme einer gleichen Verteilung zwischen dem Alter von 15, 16 und 17 Jahren.<sup>66</sup>

### **2.1.7 Kategorisierung der Wohnorte**

In Anlehnung an das vom Robert-Koch-Institut durchgeführte bundesweite Kinder- und Jugendgesundheitsurvey (KiGGS)<sup>67</sup> erfolgte die Einteilung der Wohnorte wie folgt:

- (1) „klein“: kleiner als 5.000 Einwohner
- (2) „mittel“: 5.000 bis 20.000 Einwohner
- (3) „groß“: über 20.000 Einwohner

Um einen Vergleich der ländlichen Gegenden mit dem Ballungsraum Berlin zu ermöglichen, wurde für einen gesonderten Vergleich eine weitere Einwohnerkategorie eingeführt:

- (4) „Berlin“: über 3 Mio. Einwohner

In der KiGGS wurden fünf Wohnortkategorien verwendet, aber aufgrund der Datenmenge dieser Studie und der Verteilung auf die Wohnortgrößen war eine Aufschlüsselung in mehr als drei Kategorien nicht sinnvoll.

### **2.1.8 Ermittlung der realen Einwohnerzahlen der Orte Brandenburgs**

Aus den Angaben von Postleitzahl und Wohnort konnte die Einwohnerzahl des Wohnortes für jede/-n Patienten/-in einzeln ermittelt werden. Quellen waren hierfür zunächst die Landesämter für Statistik. Diese erfassen monatlich bis halbjährlich den Bevölkerungsstand nach Gemeinden. Es wurden die Bevölkerungszahlen mit dem Stichtag 31.12.2011 verwendet.<sup>68</sup> Hierbei sind jedoch nur die Einwohnerzahlen der Verwaltungseinheiten der Gemeinden angegeben, die in ländlichen Gegenden meist aus dem Zusammenschluss vieler kleinerer Orte bestehen. Von Interesse waren die Einwohnerzahlen der einzelnen räumlich voneinander getrennten Ortschaften. Deshalb wurde eine detailliertere Aufschlüsselung für die Datenauswertung notwendig. Nach telefonischer Angabe des Statistischen Landesamtes Berlin-Brandenburg steht keine entsprechende Statistik zur Verfügung. Mittels des „Gemeinde- und Ortsverzeichnisses der Landesvermessung und Geobasisinformation Brandenburg“<sup>69</sup> und der Online-Datenbank „Deutschland123 – Statistik zu jedem Ort in Deutschland“<sup>70</sup> konnte dennoch die Zuordnung der Einwohnerzahl zu den jeweiligen Orten erfolgen. Dies diente als Grundlage für die Kategorisierung der Wohnortgrößen. Dadurch wurden die 418 Gemeinden Brandenburgs in mehr als doppelt so viele Orte und Städte aufgeschlüsselt. Diese Aufgliederung war notwendig einerseits zur Konkretisierung der tatsächlichen Wohnortgröße der getesteten Kinder und Jugendlichen. Andererseits wurden die genauen Bevölkerungsanteile in Brandenburg bestimmt, die in kleineren, mittleren oder größeren Ortschaften bzw. Städten leben.

### **2.1.9 Epstein-Barr-Virus-positive Individuen je Einwohnerkategorie**

Zur Darstellung des Anteils EBV-positiver Kinder und Jugendlicher je Einwohnerkategorie erfolgte eine tabellarische Aufgliederung der vier Einwohnerkategorien mit Angabe der Gesamtzahl, die in dieser Wohnortgröße leben, der absoluten Anzahl und des prozentualen Anteils EBV-positiver Individuen an der jeweiligen Kategorie.

### **2.1.10 Verteilung der Studienpopulation nach Einwohnerkategorie je Labor**

Zur Charakterisierung der Einzugsgebiete der Labore in städtische und ländliche Regionen erfolgte eine Aufschlüsselung der Anzahl der untersuchten Patienten/-innen je Labor und Einwohnerkategorie. Zur Minimierung des Bias wurden nur Labore mit mehr als 20 untersuchten Kindern in die Auswertung eingeschlossen. Dargestellt wurde die

prozentuale Verteilung der Daten auf die Wohnortgrößen je Labor. Absoluten Zahlen wurden aus Rücksicht auf die Labore nicht aufgeführt.

### **2.1.11 Versicherungsstatus**

Der Versicherungsstatus („gesetzlich“/„privat“/„unbekannt“) wurde über die durch die Labore erfasste Art der Abrechnung der erbrachten Leistung erhoben. Aufgrund des für eine private Krankenversicherung notwendigen Mindesteinkommens der Eltern – der sogenannten Versicherungspflichtgrenze – ist anzunehmen, dass privatversicherte Kinder und Jugendliche in wohlhabenderen Familien aufwachsen. Dadurch wird ein Vergleich der EBV-Prävalenzrate im Hinblick auf sozioökonomische Unterschiede entsprechend der Art der Krankenversicherung möglich.

## **2.2 Statistische Auswertung**

### **2.2.1 Statistikprogramm und statistische Tests**

Für die statistische Auswertung wurde das Programm IBM SPSS Statistics Version 21.0 verwendet. Für den Vergleich der Einwohnerkategorien je Altersgruppe wurde der Lineare Trend Test durchgeführt.

Zur Analyse des Zusammenhanges des Testergebnisses „EBV-positiv“ innerhalb der Studienpopulation mit den Variablen Geschlecht, Alter und Einwohnerkategorie wurde eine logistische Regression benutzt.

Das Signifikanzniveau  $\alpha$  wurde mit 0,05 (zweiseitig) festgelegt. Es wurde nicht für multiples Testen korrigiert.

## **2.3 Analyse 1: Die Prävalenz des Epstein-Barr-Virus innerhalb der Studienpopulation**

### **2.3.1 Die Prävalenzrate des Epstein-Barr-Virus innerhalb der Kohorte in Brandenburg**

Ein Vergleich der Häufigkeiten EBV-positiver und EBV-negativer Individuen mit Wohnsitz in Brandenburg nach Einwohnerkategorie und Alterskategorie erfolgte. Dabei wurden die positiv Getesteten aus Brandenburg in Bezug zur Anzahl aller untersuchten

Individuen aus demselben Bundesland gesetzt (Prävalenzrate). Die Berechnung wurde sowohl unabhängig vom Geschlecht als auch getrennt für weibliche und männliche Individuen durchgeführt und anhand folgender Formel ermittelt:

**Formel 1:** Berechnung der EBV-Prävalenzrate (Häufigkeit) unter allen getesteten Individuen mit Wohnsitz in Brandenburg (BB)

$$\text{Prävalenzrate (BB Kohorte)} = \frac{n(\text{EBV-positiv})}{n(\text{untersuchte Patienten/-innen aus BB})}$$

### 2.3.2 Vergleich der Prävalenzrate des Epstein-Barr-Virus innerhalb der Kohorte zwischen Brandenburg und Berlin

Um einen Unterschied der EBV-Prävalenzrate zwischen ländlichen Gegenden und einer Großstadt zu untersuchen, wurden die EBV-positiven Individuen je Altersstufe, Geschlecht und Einwohnerkategorie in den Vergleich zu Berlin gesetzt. Die Prävalenzrate beschreibt die Anzahl positiv getesteter Kinder und Jugendlicher aus Brandenburg bzw. Berlin in Bezug zur Anzahl der untersuchten Individuen.

Die Berechnung der EBV-Prävalenzrate aller getesteten Individuen aus Berlin erfolgte analog zu Absatz 2.3.1 (vgl. Formel 1, siehe oben).

## 2.4 Analyse 2: Die Berechnung der Prävalenzrate des Epstein-Barr-Virus für die Bevölkerung Brandenburgs

Die EBV-Prävalenzrate für die Bevölkerung Brandenburgs wurde mittels folgender zusätzlicher Angaben berechnet: Die reale Wohnortgröße, die Altersverteilung in Brandenburg ausgehend vom Zensus 2011<sup>66</sup> sowie der prozentuale Anteil der durch die teilnehmenden Labore durchgeführten EBV-Serologien im Vergleich zu den insgesamt erfolgten EBV-Serologien für die Bevölkerung Brandenburgs.

### 2.4.1 Bestimmung des Marktanteils der Labore

Um die EBV-Prävalenzen für Brandenburg bestimmen zu können, war eine Bezugsgröße zur Berechnung der Häufigkeitsverteilung notwendig. Aufgrund des Studiendesigns der retrospektiven Datenerhebung konnten aus epidemiologischer Sicht nicht positiv-getestete gegen negativ-getestete Patienten/-innen korreliert werden. Da keine flächen-

deckende Teilnahme aller EBV-Serologien bearbeitenden Labore eines Bundeslandes vorlag, erfolgte eine Kalkulation der EBV-Prävalenz in unterschiedlichen Altersgruppen: Die Bevölkerungszahlen (Grundgesamtheit) wurden analog zum prozentualen Marktanteil der Labore auf ein formal definiertes Einzugsgebiet reduziert, das durch diese Labore abgedeckt wird.

Da im Weiteren nur von der KV Brandenburg hinreichende Daten für eine detaillierte Auswertung zur Verfügung gestellt wurden, begrenzte sich die anschließende Datenanalyse auf das Bundesland Brandenburg. Aus den Daten der KV (vgl. Tabelle 14, Seite 45) war ersichtlich, wie oft die Leistung für eine EBV-Testung im besagten Zeitraum, hochgerechnet auf den Abrechnungsmodus der KV in Quartalen, erfolgte und wie viel davon durch die drei teilnehmenden Labore mit Sitz in Brandenburg (Kyritz, Oderland und Wittstock) durchgeführt wurden. Marker waren hierfür die EBM-Ziffern (Einheitlicher Bewertungsmaßstab, Abrechnungsmodus im niedergelassenen Bereich) von EBV-VCA-IgG, EBV-EBNA-IgG und EBV-gesamt, die bei Patienten/-innen bis zum vollendeten 16. Lebensjahr abgerechnet wurden. Daraus konnte der prozentuale Anteil der EBV-Testung dieser drei Labore von allen in Brandenburg durchgeführten EBV-Serologie-Bestimmungen errechnet werden. Dies entspricht dem Marktanteil dieser Labore.

Über den Dreisatz wurde ausgehend vom über die EBM-Ziffern ermittelten Marktanteil dreier Labore der Gesamtmarktanteil aller beteiligten Labore berechnet (vgl. Formel 2, siehe unten).

**Formel 2:** Berechnung des Marktanteils aller teilnehmenden Labore (gesamt = Gesamtzahl aller Getesteten in allen Laboren, 3 Labore = Kyritz+Oderland+Wittstock)

$$\text{Marktanteil(gesamt)} = \frac{n(\text{gesamt}) \times \text{Marktanteil}(3 \text{ Labore})}{n(\text{Gesamtzahl aller Getesteten in den 3 Laboren})}$$

Durch Hochrechnung des bekannten Marktanteils dreier Labore auf alle beteiligten Labore konnte eine Berechnung der EBV-Prävalenzrate ausgehend von allen in diesem Bundesland erhobenen Daten erfolgen. Die Auswertung erfolgte unter der Annahme, dass nicht getestete Individuen auch nicht mit EBV infiziert sind.

### 2.4.2 Die Berechnung der Prävalenzrate des Epstein-Barr-Virus für die Bevölkerung Brandenburgs

Die Prävalenzrate für ganz Brandenburg berechnet sich aus der Summe EBV-positiver Fälle je Geschlecht, Alterskategorie und Einwohnergröße multipliziert mit 100.000, geteilt durch die Anzahl der Kinder und Jugendlichen aus Brandenburg desselben Alters, Geschlechts und zugehörig zu derselben Einwohnerkategorie, die theoretisch von den Laboren erfasst werden könnten. Die Prävalenzrate wird angegeben als Anzahl EBV-positiv Getesteter je 100.000 Einwohner. Zusammengefasst stellt sich die Berechnung wie folgt dar:

**Formel 3:** Berechnung der EBV-Prävalenzrate für die Bevölkerung Brandenburgs (BB) je 100.000 Einwohner mittels der Anzahl der EBV-positiv getesteten Kinder und Jugendliche

$$\text{Prävalenzrate(BB) je 100.000 Einwohner} = \frac{n(\text{EBV-positiv}) \times 100.000}{n(\text{aller Einwohner in BB}) \times \text{Marktanteil}}$$

Als Grundlage diente die prozentuale Bevölkerungsverteilung nach Altersklasse und Geschlecht in Brandenburg gemäß dem Zensus vom 09. Mai 2011.<sup>66</sup> (vgl. 2.1.5, Seite 24). Die Berechnung erfolgte ausgehend von diesen Bevölkerungszahlen von Brandenburg nach Alterskategorie, Geschlecht und Wohnortgröße und unter Berücksichtigung der Marktanteile aller Labore (vgl. Nenner Formel 3, siehe oben).

### 3 ERGEBNISSE

#### 3.1 Charakterisierung der Studienpopulation

Das Patientenkollektiv mit Wohnort in Brandenburg setzte sich aus 1.615 Kindern und Jugendlichen zusammen (798 Mädchen, 817 Jungen). Bei Betrachtung von Brandenburg und Berlin umfasste die Studienpopulation n=2.745 (1.335 Mädchen, 1.410 Jungen).

##### 3.1.1 Die Zunahme der Prävalenz des Epstein-Barr-Virus mit dem Alter

Ein aufsteigender Trend der EBV-Prävalenz von 35,2%/32,0% (Brandenburg/Brandenburg und Berlin) in der Gruppe der Kinder unter 3 Jahren bis zu 72,9%/75,1% in der Gruppe der 15- bis 16-Jährigen wird in Tabelle 2, siehe unten, deutlich. Es wurde die Gesamtanzahl der getesteten Kinder und Jugendlichen pro Altersgruppe und gesondert der Anteil EBV-positiv Getesteter dargestellt, absolut und prozentual.

**Tabelle 2:** Altersverteilung der untersuchten Individuen aus Brandenburg bzw. Brandenburg und Berlin aufgliedert nach EBV-positiv Getesteten (absolut und prozentual) und Gesamtanzahl Getesteter.

Alter	Brandenburg			Brandenburg und Berlin		
	EBV-positiv		Total	EBV-positiv		Total
<b>&lt; 3 Jahre</b>	68	35,2%	193	125	32,0%	391
<b>3 – 5 Jahre</b>	128	44,9%	285	222	45,0%	493
<b>6 – 14 Jahre</b>	591	59,3%	997	1.004	62,0%	1.620
<b>15 – 16 Jahre</b>	102	72,9%	140	181	75,1%	241
<b>Gesamt</b>	889	55,0%	1.615	1.532	55,8%	2.745

Zusätzlich erfolgte eine Betrachtung nach Altersgruppe und Geschlecht (vgl. Tabelle 3 und Tabelle 4, Seite 32). Deutliche Unterschiede in der Geschlechterverteilung zwischen Brandenburg ohne und mit Berlin waren nicht zu erkennen. Den niedrigsten Anteil an Mädchen hatte die Gruppe von 3 bis 5 Jahren (36,8%/37,1%). Im Gegensatz dazu war der höchste Anteil an Mädchen in der Gruppe von 15 bis 16 Jahren zu finden (58,6%/60,2%). Im Gesamtdurchschnitt war das Geschlechterverhältnis zwischen Jun-

gen und Mädchen nahezu ausgewogen mit einem prozentual geringfügig höheren Anteil an Jungen von 1,2%.

**Tabelle 3:** Altersverteilung betrachtet nach Geschlecht für Brandenburg

<b>Alter</b>	<b>Mädchen</b>		<b>Jungen</b>	
<b>&lt; 3 Jahre</b>	84	44,0%	108	56,0%
<b>3 – 5 Jahre</b>	105	36,8%	180	63,2%
<b>6 – 14 Jahre</b>	526	52,8%	471	47,2%
<b>15 – 16 Jahre</b>	82	58,6%	58	41,4%
<b>Gesamt</b>	798	49,4%	817	50,6%

**Tabelle 4:** Altersverteilung betrachtet nach Geschlecht für Berlin und Brandenburg

<b>Alter</b>	<b>Mädchen</b>		<b>Jungen</b>	
<b>&lt; 3 Jahre</b>	173	44,2%	218	55,8%
<b>3 – 5 Jahre</b>	183	37,1%	310	62,9%
<b>6 – 14 Jahre</b>	834	51,5%	786	48,5%
<b>15 – 16 Jahre</b>	145	60,2%	96	39,8%
<b>Gesamt</b>	1.335	48,6%	1.410	51,4%

### 3.1.2 Die Altersverteilung der Bevölkerung Brandenburgs und Berlins aus dem Zensus 2011

Im Zensus 2011 vom 09.Mai 2011<sup>66</sup> erfolgte eine Darstellung der Altersverteilungen von Kindern und Jugendlichen in Brandenburg und Berlin (vgl. Tabelle 5 und Tabelle 6, Seite 33). Beim Vergleich der prozentualen Anteile von Brandenburg und Berlin wurde eine annähernd gleiche Verteilung von Mädchen und Jungen je Alterskategorie in beiden Bundesländern deutlich.



**Tabelle 5:** Altersverteilung von Brandenburg, aufgeteilt nach Geschlecht, vom Zensus 2011<sup>66</sup>

Alter	Mädchen	Jungen	Gesamt
< 3 Jahre	27.900 (48,9%)	29.150 (51,1%)	57.050
3 – 5 Jahre	28.080 (48,8%)	29.510 (51,2%)	57.590
6 – 14 Jahre	85.130 (48,7%)	89.690 (51,3%)	174.820
15 – 17 Jahre	22.980 (48,3%)	24.610 (51,7%)	47.590
<b>Total</b>	<b>164.090 (48,7%)</b>	<b>172.960 (51,3%)</b>	<b>337.050</b>

**Tabelle 6:** Altersverteilung von Berlin, aufgeteilt nach Geschlecht, vom Zensus 2011<sup>66</sup>

Alter	Mädchen	Jungen	Gesamt
< 3 Jahre	46.366 (48,9%)	48.501 (51,1%)	94.867
3 – 5 Jahre	42.286 (48,7%)	44.467 (51,3%)	86.753
6 – 14 Jahre	116.856 (48,9%)	122.315 (51,1%)	239.171
15 – 17 Jahre	35.946 (48,8%)	37.646 (51,2%)	73.592
<b>Total</b>	<b>241.451 (48,8%)</b>	<b>252.929 (51,2%)</b>	<b>494.383</b>

### 3.1.3 Die realen Einwohnerzahlen für die Orte Brandenburgs

Aus Tabelle 7, Seite 34, ist abzulesen, dass auf der Grundlage der Zahlen des Amtes für Statistik Berlin-Brandenburg<sup>68</sup> der Großteil der Bevölkerung Brandenburgs in mittleren und großen Orten lebt (40,3% und 41,9%) und nur 17,8% in Gemeinden mit weniger als 5.000 Einwohnern.

Bei Aufschlüsselung der Gemeinden in die einzelnen räumlich getrennten Ortschaften verschiebt sich die Anzahl der Einwohner je Einwohnerkategorie zugunsten der Orte mit weniger als 5.000 Einwohnern. Ermittelt wurde, dass 40,6% der Einwohner Brandenburgs in kleinen und nur 33,0% und 26,4% in mittleren und großen Orten leben.

**Tabelle 7:** Bevölkerungszahlen je Einwohnerkategorie in Brandenburg ausgehend vom Amt für Statistik Berlin-Brandenburg (Stichtag 31.12.2011)<sup>68</sup>

Wohnortgröße	Einwohner	
<b>Klein (&lt;5.000 EW)</b>	443.210	17,8%
<b>Mittel (5.000-20.000 EW)</b>	1.006.625	40,3%
<b>Groß (&gt;20.000 EW)</b>	1.045.800	41,9%
<b>Gesamt</b>	2.495.635	

**Tabelle 8:** Ermittelte Bevölkerungszahlen nach tatsächlicher Wohnortgröße je Einwohnerkategorie in Brandenburg

Tatsächliche Wohnortgröße	Einwohner	
<b>Klein (&lt;5.000 EW)</b>	1.014.002	40,6%
<b>Mittel (5.000-20.000 EW)</b>	824.136	33,0%
<b>Groß (&gt;20.000 EW)</b>	660.115	26,4%
<b>Gesamt</b>	2.498.253	

### 3.1.4 Epstein-Barr-Virus-positive Individuen je Einwohnerkategorie

Der prozentuale Anteil EBV-Positiver an der Studienpopulation je Einwohnerkategorie war für alle vier Gruppen vergleichbar (von 52,0% in großen Orten bis 58,0% in kleinen Orten). Die Darstellung eines Stadt-Land-Gefälles erfolgte durch Aufteilung der Studienpopulation in drei bzw. vier Wohnortgrößen, ausgehend von der ermittelten Einwohnerzahl des Heimatortes des jeweiligen Kindes bzw. Jugendlichen (vgl. Tabelle 9, Seite 35).

**Tabelle 9:** Verteilung von EBV-positiven Individuen und der Gesamtpopulation auf die Einwohnerkategorien

<b>Wohnortgröße</b>	<b>EBV-positiv Gesamt</b>	<b>EBV-positiv Anteil</b>	<b>Gesamt</b>
<b>Klein (&lt;5.000 EW)</b>	289	58,0%	498
<b>Mittel (5.000-20.000 EW)</b>	266	55,9%	476
<b>Groß (&gt;20.000 EW)</b>	333	52,0%	640
<b>Berlin</b>	644	56,9%	1.131
<b>Total</b>	1.532	55,8%	2.745

### 3.1.5 Verteilung der untersuchten Kinder und Jugendlichen nach Einwohnerkategorie je Labor

**Tabelle 10:** Verteilung der Patienten/-innen nach Einwohnerkategorie je Labor

<b>Labor</b>	<b>Einwohnerkategorie</b>		
	<b>Klein (&lt;5.000 EW)</b>	<b>Mittel (5.000-20.000 EW)</b>	<b>Groß (&gt;20.000 EW)</b>
<b>Charité</b>	24,2%	37,4%	38,5%
<b>Potsdam</b>	18,3%	28,8%	53,0%
<b>Greifswald</b>	55,0%	40,0%	5,0%
<b>Oderland</b>	38,5%	35,3%	26,3%
<b>Kyritz</b>	39,2%	17,7%	43,1%
<b>Wittstock</b>	47,4%	52,6%	0,0%
<b>Gesamt</b>	30,9%	29,5%	39,6%
<b>EBV-positiv</b>	32,6%	29,9%	37,5%

Aus Tabelle 10, siehe oben, die die Verteilung der Patienten/-innen je Wohnortgröße und Labor darstellt, wird deutlich, dass die meisten Kinder und Jugendlichen der Studienpopulation (40%) in Orten mit mehr als 20.000 Einwohnern leben. Der prozentuale Anteil für kleine und mittlere Wohnorte ist ähnlich und liegt bei 31% bzw. 30%. Die Ver-

teilung der EBV-positiv getesteten Individuen auf die Wohnortgröße zeigte keine markanten Abweichungen im Vergleich zu allen Individuen. Auffällig sind die sehr heterogenen Anteile der Einwohnerkategorien je Labor. Labore, z. B. Potsdam, hatten mehr Kinder aus größeren Städten getestet. Andere, z. B. Greifswald, mehr aus kleinen Orten und wieder andere hatten eine gleichmäßigere Verteilung der Patienten/-innen je Einwohnerkategorie, z. B. Charité.

### 3.1.6 Versicherungsstatus

Die EBV-Prävalenzrate bei den getesteten Kindern mit gesetzlicher Krankenversicherung (EBV-positiv n=744 zu Gesamt n=1.321, entspricht 56,3%) war deskriptiv etwas höher im Vergleich zu privatversicherten Kindern (EBV-positiv n=123 zu Gesamt n=254, entspricht 48,4%) (vgl. Tabelle 11, Seite 36).

Die deutliche Mehrheit der Kinder waren gesetzlich versichert (81,8%). Diese Kinder sind durch die Angaben der KV abgedeckt (relevant für 3.3.1 Marktanteil der Labore, Seite 43).

**Tabelle 11:** Verteilung des Versicherungsstatus (gesetzlich/privat/unbekannt) jeweils gesamt, für EBV-positive Individuen und für die Kinder und Jugendlichen, die durch die drei Labore mit bekanntem Marktanteil von zusammen 30% untersucht wurden

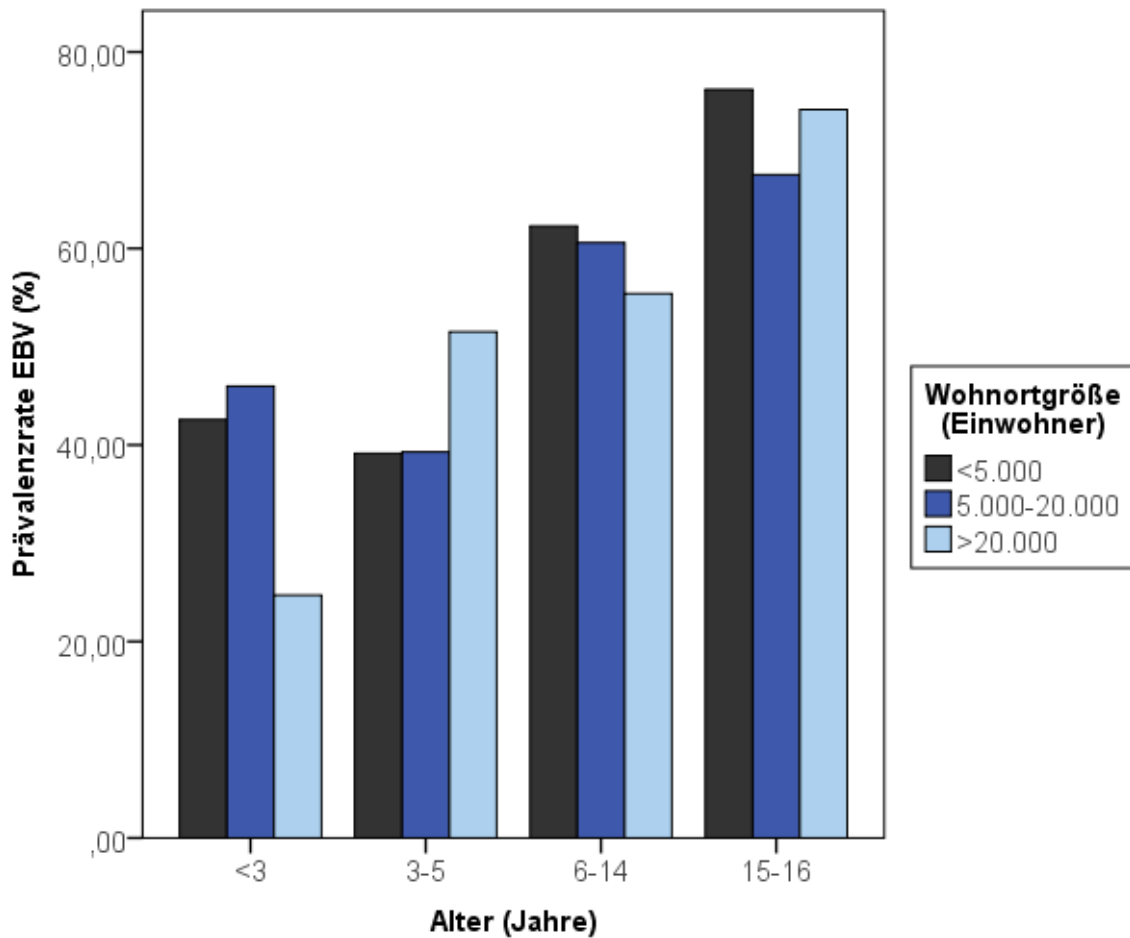
<b>Krankenversicherung</b>	<b>Gesamt</b>		<b>EBV-positive</b>		<b>Marktanteil 30%</b>	
<b>Gesetzlich</b>	1.321	81,8%	744	83,8%	756	83,1%
<b>Privat</b>	254	15,7%	123	13,9%	151	16,6%
<b>Unbekannt</b>	40	2,5%	21	2,3%	3	0,3%
<b>Total</b>	1.615		888		910	

## 3.2 Analyse 1: Die Prävalenz des Epstein-Barr-Virus innerhalb der Studienpopulation

### 3.2.1 Die Prävalenzrate des Epstein-Barr-Virus innerhalb der Kohorte in Brandenburg

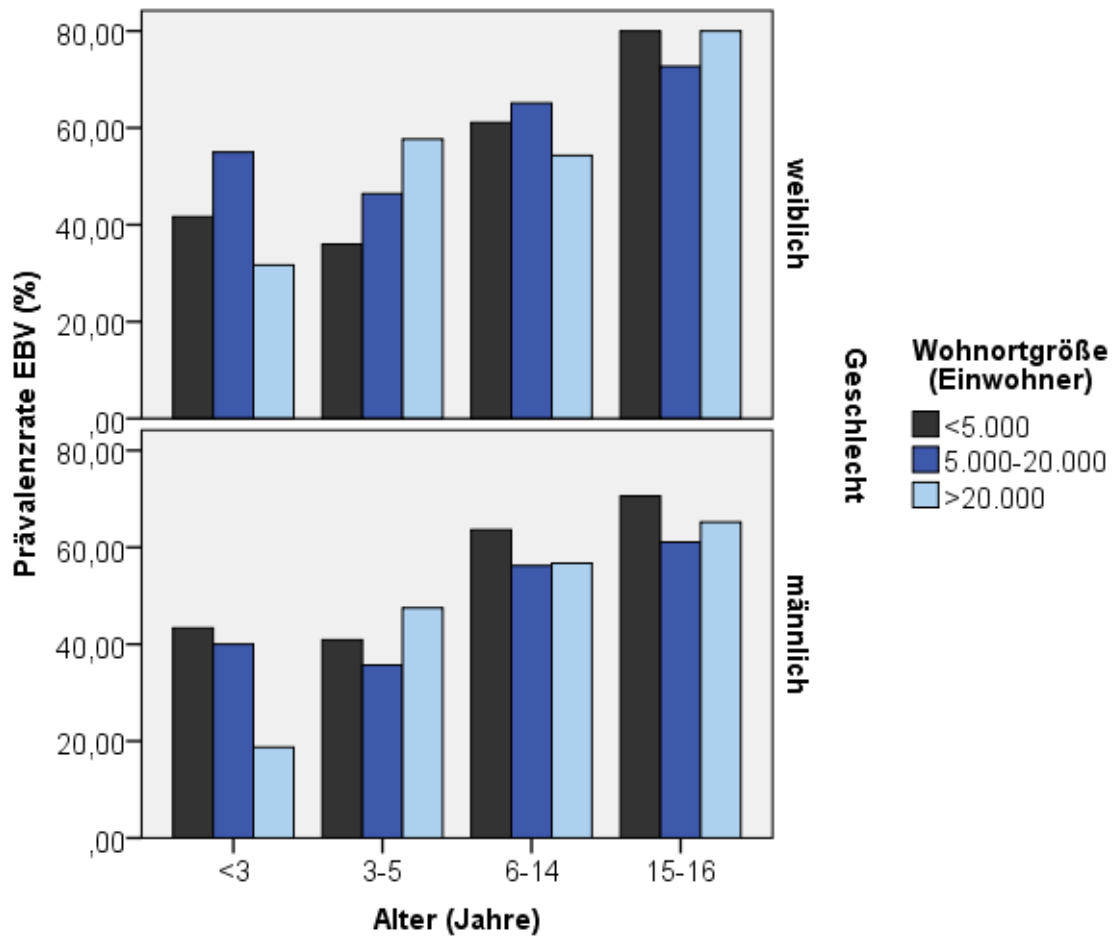
Für die getesteten Kinder unter 3 Jahren ( $n=193$ ) sowie in der zahlenmäßig größten Gruppe der 6- bis 14-Jährigen ( $n=997$ ) war ein absteigender Trend der EBV-Prävalenzrate mit zunehmender Einwohnerzahl erkennbar. Dieser war jedoch nur für die Kleinkinder statistisch signifikant ( $p=0,020$  bzw.  $p=0,064$ ; Linearer Trend Test). Für die getesteten Jugendlichen zwischen 15 und 16 Jahren ( $n=140$ ) und in der Altersgruppe der 3- bis 5-Jährigen ( $n=285$ ) konnte statistisch keine lineare Assoziation innerhalb der Altersgruppe zwischen der Prozentzahl positiv getesteter Individuen und der Einwohnergröße nachgewiesen werden (jeweils  $p>0,05$ ; Linearer Trend Test). Bei Betrachtung aller Probanden bis zum vollendeten 16. Lebensjahr unabhängig von ihrer Alterskategorie ergab der Lineare Trend Test im Gesamtmittel (vgl. Tabelle 9, Seite 35) einen statistisch signifikanten absteigenden Trend zwischen der Prozentzahl positiv Getesteter und der Einwohnergröße ( $p=0,039$ , Linearer Trend Test). Das bedeutet, dass die Prävalenzrate des EBV in ländlichen Gegenden höher war, als in städtischen.

Zur Charakterisierung der untersuchten Patienten/-innen mit Wohnsitz in Brandenburg erfolgte eine grafische Darstellung der Prävalenzrate je Altersstufe und Einwohnerkategorie (vgl. Abbildung 3, Seite 38). Die Prävalenzrate beschreibt die Anzahl positiv getesteter Kinder und Jugendlicher aus Brandenburg in Bezug zur Anzahl der untersuchten Individuen.



**Abbildung 3:** EBV-Prävalenzrate der untersuchten Kinder und Jugendlichen mit Wohnsitz in Brandenburg je Altersstufe und Einwohnerkategorie

Eine Aufteilung der Studienpopulation nach Geschlecht erfolgte (vgl. Abbildung 4, Seite 39). Dabei konnte nur bei den Jungen unter 3 Jahren eine statistische Signifikanz für einen absteigenden Trend ermittelt werden ( $p=0,018$ ; Linearer Trend Test). Bei den Mädchen war kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Einwohnerkategorien je Altersklasse nachweisbar (jeweils  $p>0,05$ ; Linearer Trend Test). Unabhängig vom Alter ergab sich im Gesamtmittel weder für Mädchen („klein“ 58,7%, „mittel“ 62,6%, „groß“ 54,8%) noch für Jungen („klein“ 57,6%, „mittel“ 50,2%, „groß“ 49,2%) je ein statistisch signifikanter Trend der Prävalenzraten in Abhängigkeit von der Einwohnerkategorie ( $p=0,310$  bzw.  $p=0,061$ ; Linearer Trend Test). Die ermittelten Zahlen lassen bei den Jungen einen absteigenden linearen Trend vermuten.



**Abbildung 4:** EBV-Prävalenzrate der untersuchten Kinder und Jugendlichen mit Wohnsitz in Brandenburg je Altersstufe und Einwohnerkategorie, aufgeteilt nach Geschlecht

Mit dem Modell der logistischen Regression ließen sich 7,7% der Varianz der Daten erklären ( $R^2$  nach Nagelkerke). Nur der Einflussfaktor „Alter“ war statistisch signifikant ( $p < 0,0005$ ; Logistische Regression). Des Weiteren gibt es keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Wohnortgrößen „klein“, „mittel“ und „groß“. Jedoch ist die konditionierte Odds-Ratio für ein positives EBV-Testergebnis in kleinen Orten im Vergleich zur Referenz „große Orte“ leicht erhöht, 1,24 (95%CI 0,97-1,58;  $p = 0,080$ ; Odds-Ratio). Eine Tendenz zeigte sich, dass die Wahrscheinlichkeit für ein positives Testergebnis bei einem auf EBV getesteten Kind in Brandenburg in Orten mit weniger als 5.000 Einwohnern größer war, als in Orten mit mehr als 20.000 Einwohnern.

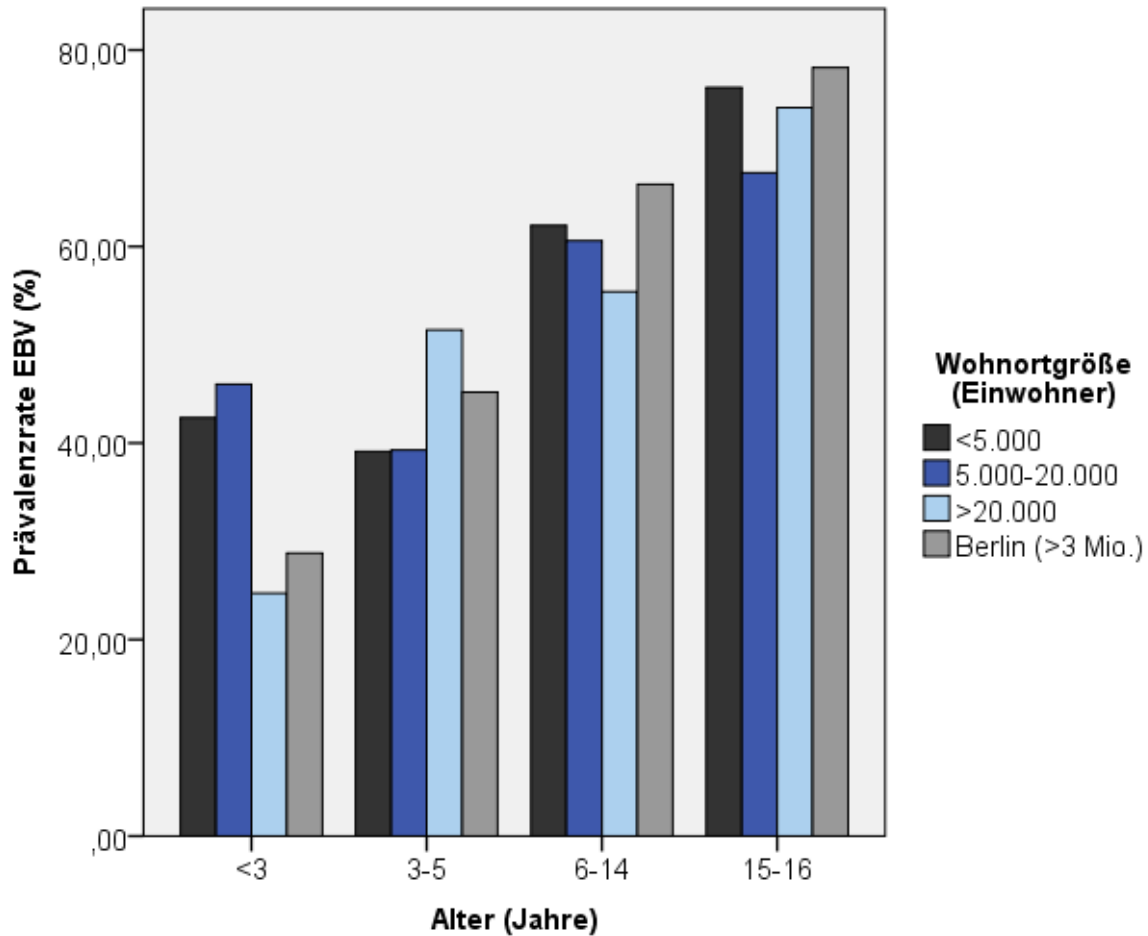
**Tabelle 12:** Ergebnisse der logistischen Regression der Studienpopulation aus Brandenburg für das Testergebnis „EBV-positiv“ in Abhängigkeit der Variablen Geschlecht, Alter und Einwohnerkategorie, wobei die Kategorie „groß“ (>20.000 EW) als Referenz benutzt wurde  
(Einwohnerkategorien: klein (<5.000 EW), mittel (5.000-20.000 EW), 95%CI=95% Konfidenzintervall mit unterer und oberer Grenze)

	<b>Koeffizient B</b>	<b>Standard- fehler</b>	<b>Signifikanz p</b>	<b>Odds Ratio</b>	<b>95%CI</b>	
<b>Geschlecht</b>	-0,12	0,10	0,252	0,89	0,72	1,09
<b>Alter</b>	0,11	0,01	<0,0005	1,11	1,09	1,14
<b>Klein</b>	0,22	0,12	0,080	1,24	0,97	1,58
<b>Mittel</b>	0,12	0,13	0,321	1,13	0,89	1,45

### 3.2.2 Vergleich der Prävalenzrate des Epstein-Barr-Virus innerhalb der Kohorte zwischen Brandenburg und Berlin

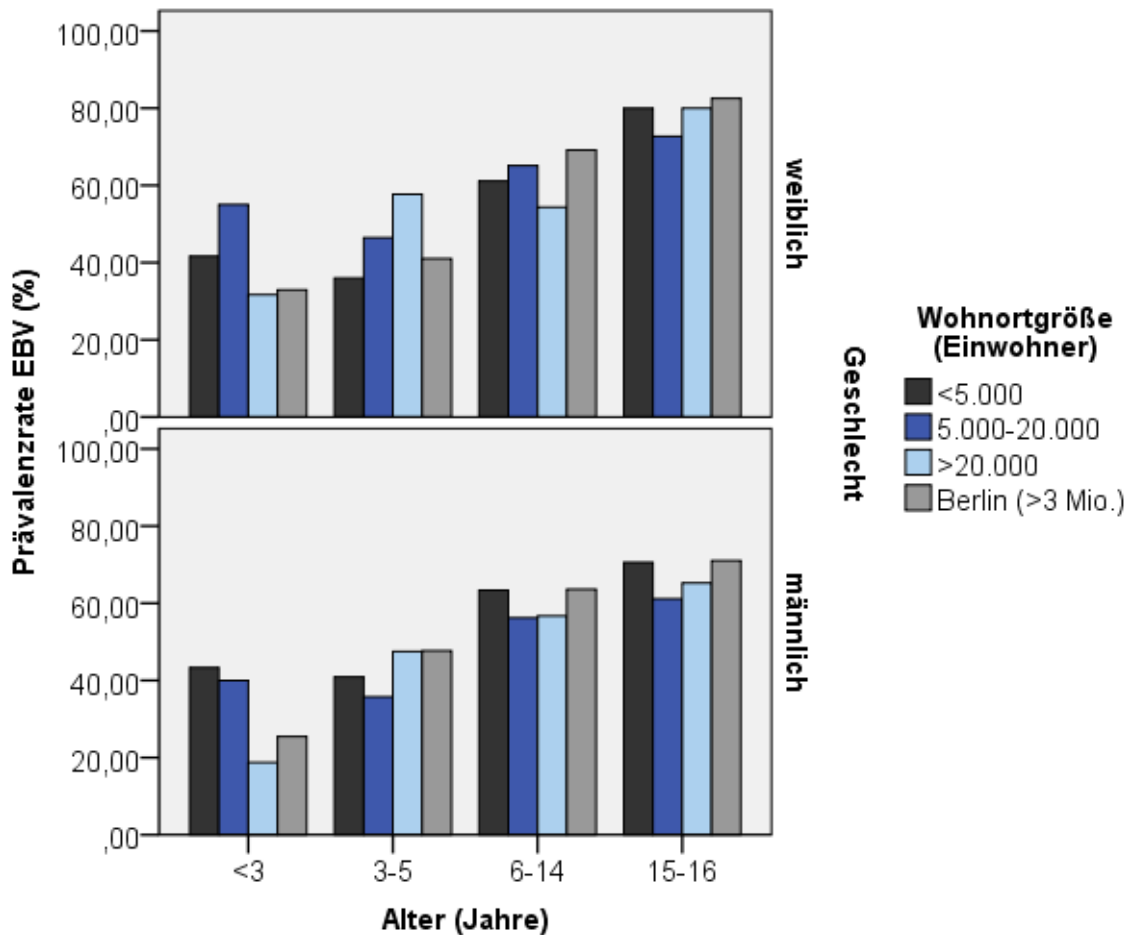
Bei Betrachtung der Daten unter Hinzunahme von Berlin als vierte Einwohnerkategorie war in der Gesamtpopulation unabhängig von Alter und Geschlecht kein statistisch signifikanter Trend zwischen EBV-Prävalenz und Einwohnerkategorie nachweisbar (vgl. Tabelle 9, Seite 35). Unabhängig vom Geschlecht (vgl. Abbildung 5, Seite 41) trat ein signifikanter, linear absteigender Trend zwischen der Prozentzahl positiv getesteter Kinder jünger als 3 Jahre und der Einwohnerkategorie auf ( $p=0,014$ ; Linearer Trend Test). Die Altersgruppen älter als 3 Jahre zeigten keine statistisch signifikanten linearen Assoziationen (jeweils  $p>0,05$ ; Linearer Trend Test).





**Abbildung 5:** EBV-Prävalenzrate der untersuchten Kinder und Jugendlichen mit Wohnsitz in Brandenburg und Berlin je Altersstufe und Einwohnerkategorie

Bei Betrachtung der EBV-positiven Individuen je Alterskategorie und Einwohnergröße aufgegliedert nach Geschlecht (vgl. Abbildung 6, Seite 42) konnte nur für die Jungen kleiner 3 Jahre ein signifikant absteigender Trend nachgewiesen werden ( $p=0,033$ ; Linearer Trend Test). Bei den Jungen älter als 3 Jahre und bei den Mädchen in allen Alterskategorien war keine statistisch signifikante lineare Assoziation zwischen der Prozentzahl EBV-positiv getesteter Kinder und der Einwohnergröße nachweisbar.



**Abbildung 6:** EBV-Prävalenzrate der untersuchten Kinder und Jugendlichen mit Wohnsitz in Brandenburg und Berlin je Altersstufe und Einwohnerkategorie, aufgeteilt nach Geschlecht

Mit dem Modell der logistischen Regression ließen sich 9,6% der Varianz der Daten erklären ( $R^2$  nach Nagelkerke). Nur der Einflussfaktor „Alter“ war statistisch signifikant ( $p < 0,0005$ ). Für die Städte Brandenburgs mit mehr als 20.000 Einwohnern war die konditionierte Odds Ratio für ein positives EBV-Testergebnis im Vergleich zur Referenz Berlin erniedrigt (Odds Ratio 0,77; 95%CI 0,63-0,95;  $p = 0,013$ ). Unter der Voraussetzung, dass ein Kind bzw. Jugendlicher getestet wurde, war in Berlin die Wahrscheinlichkeit für ein positives EBV-Testergebnis höher als in den Orten Brandenburgs mit mehr als 20.000 Einwohnern.

**Tabelle 13:** Ergebnisse der logistischen Regression der Studienpopulation aus Brandenburg und Berlin für das Testergebnis „EBV-positiv“ in Abhängigkeit der Variablen Geschlecht, Alter und Einwohnerkategorie, wobei die Kategorie „Berlin“ (>3 Mio. EW) als Referenz benutzt wurde (Einwohnerkategorien: klein (<5.000 EW), mittel (5.000-20.000 EW), groß (>20.000 EW), 95%CI=95% Konfidenzintervall mit unterer und oberer Grenze)

	<b>Koeffizient B</b>	<b>Standard- fehler</b>	<b>Signifikanz p</b>	<b>Odds Ratio</b>	<b>95%CI</b>	
<b>Geschlecht</b>	-0,14	0,08	0,088	0,87	0,75	1,02
<b>Alter</b>	0,12	0,01	<0,0005	1,13	1,11	1,15
<b>Klein</b>	-0,05	0,11	0,669	0,95	0,76	1,19
<b>Mittel</b>	-0,14	0,11	0,234	0,87	0,70	1,09
<b>Groß</b>	-0,26	0,10	0,013	0,77	0,63	0,95

### 3.3 Analyse 2: Die Berechnung der Prävalenzrate des Epstein-Barr-Virus für die Bevölkerung Brandenburgs

Die Hochrechnung des Marktanteils in Brandenburg aller an der Studie beteiligten Labore und die daraus folgende Berechnung der Prävalenzrate bezog sich auf die 889 EBV-positiv Getesteten aus diesem Bundesland (464 Mädchen, 425 Jungen).

#### 3.3.1 Marktanteil der Labore

Von drei der teilnehmenden Labore aus Brandenburg waren die genauen Anzahlen abgerechneter und somit durchgeführter EBV-Serologien bekannt (Kyritz, Oderland und Wittstock). Diese wurden in der Tabelle 14, Seite 45, in der Zeile „Davon 3 teilnehmende Labore“ zusammengefasst. Sie waren für insgesamt 30% (966/3.270) der EBV-Testungen von Brandenburger Patienten/-innen verantwortlich.

Aus dieser Angabe erfolgte die Hochrechnung auf den Marktanteil aller teilnehmenden Labore (vgl. Formel 2, Seite 29).

**Formel 4:** Berechnung des Gesamtmarktanteils ausgehend von dem ermittelten Marktanteil von 30% der drei Labore Kyritz, Oderland und Wittstock, die zusammen n=910 Kinder und Jugendliche untersucht hatten, auf alle untersuchten Individuen (n=1.615) über den Dreisatz

$$\text{Marktanteil(gesamt)} = \frac{1.615 \times 30\%}{910} = 53\%$$

Die Berechnung des Marktanteils erfolgte auf Grundlage der von der KV Brandenburg übermittelten Tabelle (vgl. Tabelle 14, Seite 45). In dieser ist die Anzahl der Abrechnungen der EBM-Nummern für EBV-VCA-IgG und EBV-EBNA-IgG für die Quartale IV/2010 bis III/2011 dargestellt, was dem Zeitraum 01.10.2010 bis 30.09.2011 entspricht. Dabei entspricht die Anzahl der Abrechnungen der Summe durchgeführter EBV-Tests. In der ersten Spalte sind alle erfolgten EBV-Bestimmungen für Personen aus Brandenburg angegeben, in der zweiten Spalte für die Kinder und Jugendlichen bis zum vollendeten 16. Lebensjahr. Die Alterszuordnung erfolgte mit dem Stichtag 31.12.2011.

Die Spalte „EBV-IgG gesamt“ ist nicht die Summe der beiden vorherigen Spalten „EBV-EBNA-IgG“ und „EBV-VCA-IgG“, sondern fasst die Anzahl derjenigen Patienten/-innen zusammen, die entweder einen der beiden oder beide Antikörper bestimmt bekamen. In der Regel werden für die Bestimmung des EBV-Status die drei Parameter EBV-VCA-IgM, -IgG und EBNA-IgG zusammen angefordert (vgl. 1.2.1, Seite 13).

Die Liste der Bundesländer beschreibt die deutschlandweit durchgeführten EBV-Tests von Patienten/-innen mit Wohnsitz in Brandenburg. Die KV Brandenburg schlüsselt für die in Brandenburg ansässigen Labore die Angaben je Labor auf. Außerhalb Brandenburgs durchgeführte EBV-Tests wurden als Summe pro Bundesland gespeichert.

Außerdem ist abzulesen, dass die meisten Tests von Kindern und Jugendlichen bis zum vollendeten 16. Lebensjahr in Brandenburger Laboren durchgeführt wurden (n=1.748), gefolgt von Berlin (n=1.160). Insgesamt wurden 3.270 Proben von Brandenburger Kindern auf EBV getestet. Daraus wurde ersichtlich, dass nur 53,5% (1.748/3.270) der EBV-Tests von Kindern und Jugendlichen aus Brandenburg auch tatsächlich in Brandenburger Laboren erfolgten.

ERGEBNISSE

**Tabelle 14:** Darstellung der Abrechnung der EBV-EBM-Ziffern für die Patienten/-innen mit Wohnsitz in Brandenburg durch die KV Brandenburg nach Summe der deutschlandweit in den Bundesländern durchgeführten EBV-Tests und Marktanteil der drei Labore aus Brandenburg

Bundesland der Labo- rabrechnung	EBV-EBNA-IgG (EBM 32606)		EBV-VCA-IgG (EBM 32607)		EBV-IgG gesamt	
	Alle	≤ 16 Jahre	alle	≤ 16 Jahre	alle	≤ 16 Jahre
<b>Gesamt</b>	<b>9.295</b>	<b>2.597</b>	<b>10.966</b>	<b>3.136</b>	<b>12.346</b>	<b>3.270</b>
<b>Baden Württemberg</b>	135	15	148	15	152	16
<b>Bayern</b>	931	99	1.071	191	1.073	191
<b>Berlin</b>	3.990	1.152	4.043	1.159	4.049	1.160
<b>Bremen</b>	0	0	1	0	1	0
<b>Hamburg</b>	41	3	41	3	41	3
<b>Hessen</b>	12	0	13	0	13	0
<b>Mecklenburg- Vorpommern</b>	163	60	162	59	164	60
<b>Niedersachsen</b>	35	2	38	3	39	3
<b>Nordrhein-Westfalen</b>	21	1	21	1	21	1
<b>Rheinland-Pfalz</b>	9	0	10	0	11	0
<b>Sachsen</b>	56	8	60	6	88	9
<b>Sachsen-Anhalt</b>	17	2	18	2	18	2
<b>Schleswig-Holstein</b>	61	12	61	12	61	12
<b>Thüringen</b>	554	48	609	82	610	83
<b>Brandenburg</b>	<b>3.437</b>	<b>1.212</b>	<b>4.857</b>	<b>1.623</b>	<b>6.198</b>	<b>1.748</b>
<b>Davon 3 teilnehmende Labore</b>	2.419	876	2.348	844	3.682	966
<b>Marktanteil 3 Labore</b>	<b>29,8%</b>					<b>29,5%</b>
<b>Marktanteil gesamt</b>	<b>53%</b>					

### 3.3.2 Die Berechnung der Prävalenzrate des Epstein-Barr-Virus für das Bundesland Brandenburg

Die Berechnung der Prävalenz für ganz Brandenburg ging von den Kindern und Jugendlichen aus, die positiv auf EBV getestet wurden (n=889). Die Ermittlung erfolgte unter der Annahme, dass die nicht getesteten Kinder auch nicht mit EBV infiziert waren.

**Tabelle 15:** Altersverteilung und Bevölkerungsanteile je Einwohnerkategorie in Brandenburg nach Altersgruppe und Geschlecht gemäß Zensus 2011<sup>66</sup>

		Bevölkerungsanteil	Klein (<5.000 EW)	Mittel (5.000-20.000 EW)	Groß (>20.000 EW)	Gesamt
<b>&lt; 3 Jahre</b>	<b>Weiblich</b>	1,14 %	11.520	9.363	7.500	58.037
	<b>Männlich</b>	1,19 %	12.036	9.782	7.836	
<b>3 – 5 Jahre</b>	<b>Weiblich</b>	1,14 %	11.594	9.423	7.548	58.585
	<b>Männlich</b>	1,20 %	12.185	9.903	7.932	
<b>6 – 14 Jahre</b>	<b>Weiblich</b>	3,47 %	35.151	28.569	22.883	177.844
	<b>Männlich</b>	3,65 %	37.033	30.099	24.109	
<b>15 – 16 Jahre</b>	<b>Weiblich</b>	0,31 %	3.163	2.571	2.059	16.138
	<b>Männlich</b>	0,33 %	3.387	2.753	2.205	
<b>Total</b>		12,43 %	126.069	102.463	82.072	310.604

Die prozentualen Anteil der Kinder und Jugendlichen je Altersgruppe und Geschlecht an der Gesamtbevölkerung Brandenburgs (vgl. Tabelle 5, Seite 33; Zensus 2011<sup>66</sup>) wurden mit dem ermittelten realen prozentualen Anteil der Bevölkerung je Einwohnerkategorie (vgl. Tabelle 8, Seite 34) in einer gemeinsamen Tabelle 15, siehe oben zusammengefasst. Daraus ist abzulesen, wie viele Kinder und Jugendliche aus der Bevölkerung Brandenburgs in kleinen, mittleren und großen Orten leben, aufgeteilt nach Alter und Geschlecht. Dies erfolgte unter der Annahme einer gleichen Altersstruktur in ländlichen und städtischen Gegenden.

12,43% der Bevölkerung Brandenburgs sind Kinder und Jugendliche bis zum vollendeten 16. Lebensjahr, das entspricht n=310.604. Ausgehend von diesen Zahlen erfolgten die weiteren Berechnungen.

Nach Berücksichtigung des ermittelten Marktanteils von 53% erfolgte eine Berechnung der EBV-Prävalenzrate für ganz Brandenburg (vgl. 2.4.2, Seite 30). Dargestellt ist in Tabelle 16, siehe unten, die EBV-Prävalenzrate je 100.000 Einwohner, aufgeschlüsselt nach Einwohnerkategorie, Geschlecht und Alter.

**Tabelle 16:** Berechnung der EBV-Prävalenzrate je 100.000 Einwohner der Bevölkerung Brandenburgs nach Einwohner-kategorie, Alter und Geschlecht

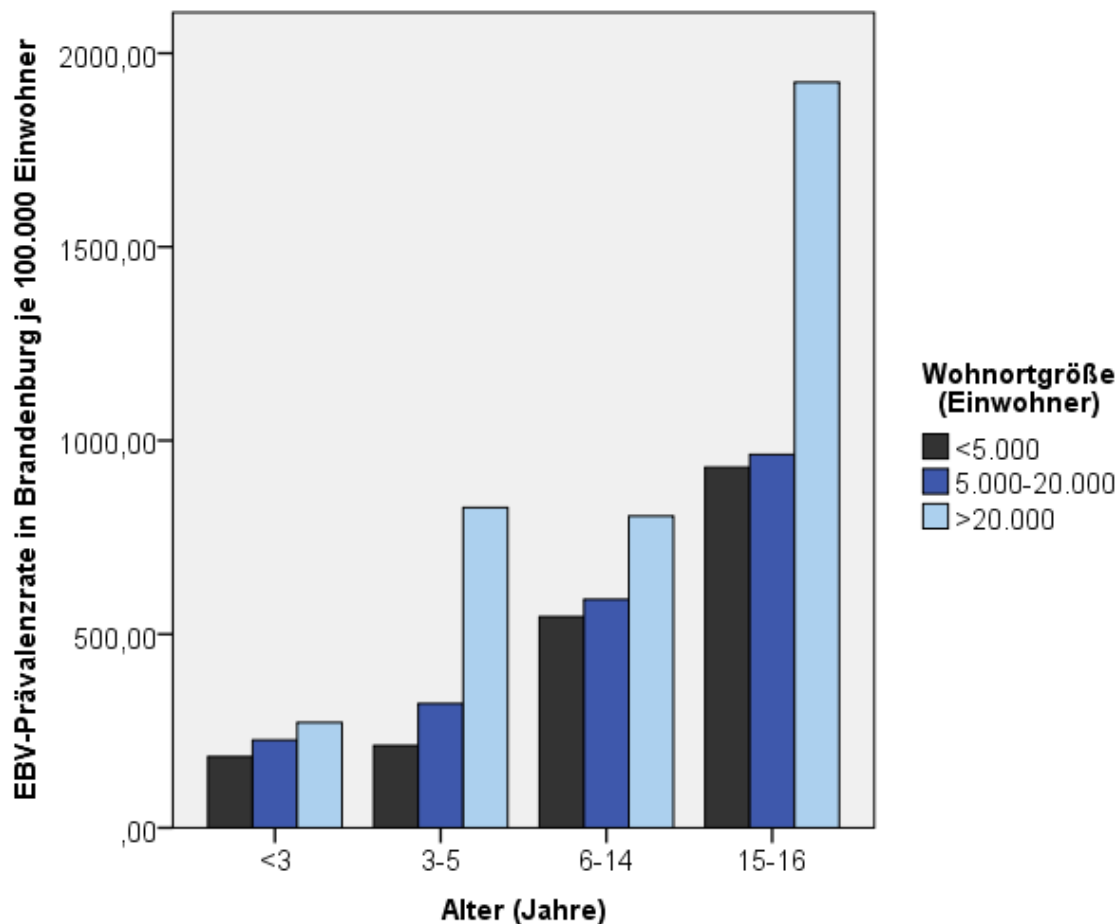
Wohnortgröße	Geschlecht	Alter	Bevölkerungsanteil	Anzahl EBV-positiv	Auf EBV getestete Kinder gesamt	Prävalenzrate je 100.000 Einwohner
Klein (<5.000 EW)	weiblich	< 3 Jahre	11.520	10	24	163,78
		3 – 5 Jahre	11.594	9	25	146,46
		6 – 14 Jahre	35.151	110	180	590,44
		15 – 16 Jahre	3.163	20	25	1.193,04
	männlich	< 3 Jahre	12.036	13	30	203,79
		3 – 5 Jahre	12.185	18	44	278,72
		6 – 14 Jahre	37.033	98	154	499,30
		15 – 16 Jahre	3.387	12	17	668,48

ERGEBNISSE

<b>Mittel (5.000- 20.000 EW)</b>	<b>weiblich</b>	< 3 Jahre	9.363	11	20	221,67
		3 – 5 Jahre	9.423	13	28	260,30
		6 – 14 Jahre	28.569	97	149	640,62
		15 – 16 Jahre	2.571	16	22	1.174,66
	<b>männlich</b>	< 3 Jahre	9.782	12	30	231,46
		3 – 5 Jahre	9.903	20	56	381,05
		6 – 14 Jahre	30.099	86	153	539,10
		15 – 16 Jahre	2.753	11	18	753,89
<b>Groß (&gt;20.000 EW)</b>	<b>weiblich</b>	< 3 Jahre	7.500	13	41	327,04
		3 – 5 Jahre	7.548	30	52	749,92
		6 – 14 Jahre	22.883	107	197	882,26
		15 – 16 Jahre	2.059	28	35	2.565,82
	<b>männlich</b>	< 3 Jahre	7.836	9	48	216,71
		3 – 5 Jahre	7.932	38	80	903,91
		6 – 14 Jahre	24.109	93	164	727,83
		15 – 16 Jahre	2.205	15	23	1.283,53



Bei einem berechneten Marktanteil aller Labore von 53% ergaben sich die folgenden grafischen Darstellungen der EBV-Prävalenzrate unabhängig von Geschlecht (Abbildung 7, siehe unten) und aufgeteilt nach Geschlecht (Abbildung 8, Seite 50). Ein Anstieg der Prävalenz des EBV in Abhängigkeit von der Einwohnerzahl war in allen vier Alterskategorien zu sehen. Deutlich hoben sich in den Gruppen der 3- bis 5-Jährigen und der 15- bis 16-Jährigen die Orte mit mehr als 20.000 Einwohnern (1.653,83 bzw. 3.849,35 je 100.000 Einwohner) von denen mit weniger Einwohnern (kleine Orte 425,18 bzw. 1.861,52 und mittlere Orte 641,35 bzw. 1.928,55 je 100.000 Einwohner) bezüglich der Infektionsrate mit dem Virus ab. In diesen Altersgruppen war die Prävalenzrate circa doppelt so hoch wie in kleinen und mittleren Orten.

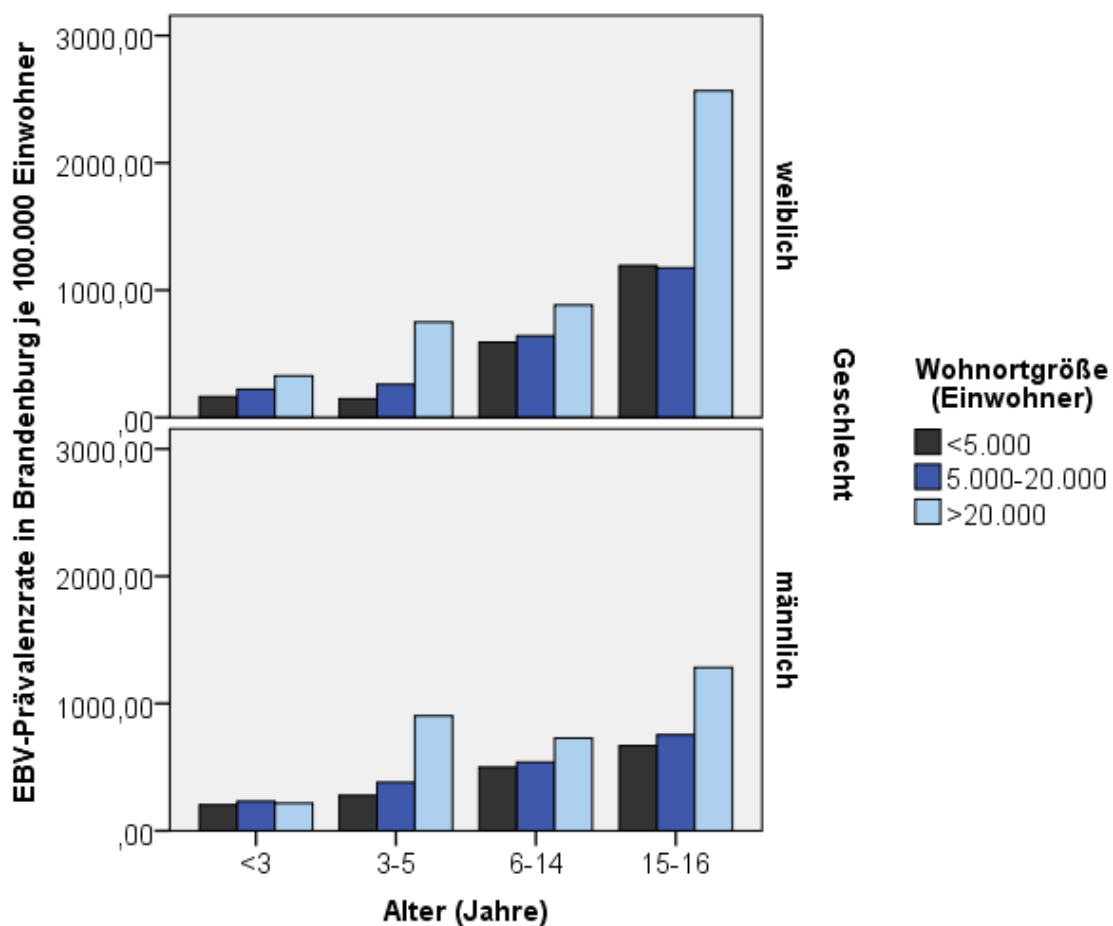


**Abbildung 7:** Darstellung der EBV-Prävalenzrate für die Bevölkerung Brandenburgs nach Einwohnerkategorie und Alter (Marktanteil 53%)

Bei Betrachtung der berechneten EBV-Prävalenzrate aufgeteilt nach Geschlecht zeigten sich graphisch ähnliche linear aufsteigende Trends. Es grenzte sich die Prävalenzrate in Orten größer als 20.000 Einwohner von denen mit weniger Einwohnern in den

Altersgruppen 3 bis 5 Jahre und 15 bis 16 Jahre deutlich ab. Die größte Differenz trat bei den Mädchen im Alter von 15 bis 16 Jahren aus großen Orten (2.565,82 je 100.000 Einwohner) im Vergleich zu mittleren und kleineren Orten (1.174,66 bzw. 1.193,04 je 100.000 Einwohner) auf. Bei den beiden Letzteren war die Prävalenz in etwa gleich niedrig. Bei den Jungen kleiner als 3 Jahre gab es keinen Unterschied in der Infektionslast mit EBV nach Wohnortgröße (203,79/231,46/216,71 je 100.000 Einwohner).

Bei einem Vergleich der Geschlechter untereinander fiel auf, dass in Orten mit weniger als 20.000 Einwohnern im Alter bis 5 Jahren Jungen eine höhere EBV-Prävalenzrate hatten (1.095,02 versus 792,21 je 100.000 Einwohner). Ab 6 Jahren wiesen die Mädchen höhere Infektionsraten auf (3.598,76 versus 2460,77 je 100.000 Einwohner). In Orten größer 20.000 Einwohnern hatten Mädchen mit Ausnahme der 3- bis 5-Jährigen insgesamt eine höhere EBV-Prävalenzrate als Jungen. Dieser Unterschied war besonders deutlich im Jugendalter von 15 bis 16 Jahre (vgl. Tabelle 16, Seite 47).



**Abbildung 8:** Darstellung der EBV-Prävalenzrate für die Bevölkerung Brandenburgs nach Einwohnerkategorie, Alter und Geschlecht (Marktanteil 53%)

## 4 DISKUSSION

Die folgende Diskussion setzt zwei Schwerpunkte. Zuerst werden der Aufbau der Studie und die Methodik kritisch erörtert. Dies ist Grundlage für eine detaillierte Auswertung der Ergebnisse, welche im zweiten Teil erfolgt.

### 4.1 Studiendesign und Methodik

#### 4.1.1 Studienpopulation und Datenerhebung

Für die vorliegende Arbeit wurden 1.615 Daten (798 Mädchen, 817 Jungen) von Kindern und Jugendlichen im Alter von 0 bis zum vollendeten 16. Lebensjahr mit Wohnsitz in Brandenburg hinsichtlich deren stattgehabter Infektion mit EBV untersucht. Eine Erweiterung der Studienpopulation um Probanden mit Wohnsitz in Berlin vergrößerte das Patientenkollektiv auf 2.745 Daten (1.335 Mädchen, 1.410 Jungen). Zur Berechnung der Prävalenzrate für die Bevölkerung Brandenburgs wurden 493 (251 Mädchen, 242 Jungen) Patientendaten von EBV-positiven Kindern und Jugendlichen aus drei Laboren verwendet. Eine Hochrechnung auf alle EBV-positiven Individuen erfolgte (n=889).

Die Daten wurden retrospektiv multizentrisch erhoben.

Letztendlich konnten nur von 30% der angeschriebenen Labore Daten genutzt werden. Da es sich hierbei um eine epidemiologische Studie handelte, wäre eine noch größere Studienpopulation wünschenswert gewesen. Probleme traten aufgrund der sehr komplexen Organisation der Labore in Deutschland auf. Es liegt eine Überschneidung von ambulantem und klinischem Bereich vor. In ländlichen Gegenden kooperieren kleine Krankenhäuser bei der Durchführung von EBV-Serologien mit niedergelassenen Laboren. In Großstädten bearbeiten an Krankenhäuser angegliederte diagnostische Institute auch Proben von ambulant praktizierenden Ärzten/-innen. Zusätzlich gibt es keine definierten Einzugsgebiete je Labor und zu untersuchende Blutproben werden auch deutschlandweit verschickt. Des Weiteren wird die virale Antikörperdiagnostik, zu der der Nachweis einer EBV-Infektion gehört, nicht von allen Laboren durchgeführt. Infolge dessen war es nicht umsetzbar, all diejenigen Labore herauszufiltern, die eine EBV-Diagnostik für ein bestimmtes Gebiet durchführen.

#### 4.1.2 Diagnostik der Epstein-Barr-Virus Infektion

Genutzt wurden die Ergebnisse bereits angeordneter und durchgeführter EBV-Serologien. Damit konnte kein Einfluss auf die Indikationsstellung genommen werden, die zur Veranlassung der Diagnostik führte. Dieser Test setzt eine Blutentnahme voraus. Gerade bei kleineren Kindern wird dies nur bei entsprechender Notwendigkeit zum Ausschluss gegenüber Differentialdiagnosen und bei therapeutischer Konsequenz durchgeführt. Deshalb muss angenommen werden, dass die Erhebung des Tests im Rahmen der ärztlichen Diagnosestellung erfolgte. Typische Indikationen für die Anforderung einer EBV-Serologie sind der klinische Verdacht auf Infektiöse Mononukleose, die Abgrenzung gegenüber Differentialdiagnosen oder eine Überwachung der Infektionslast bei Immunsupprimierten im Hinblick auf eine Neuinfektion oder Reaktivierung.<sup>21,71</sup>

Der Stadt-Land-Vergleich erfolgte unter der Annahme, dass Ärzte/-innen in städtischen und ländlichen Regionen ein gleiches Testverhalten haben. Dass diese bei entsprechender Symptomatik also gleich häufig eine EBV-Antikörper-Bestimmung veranlasseten. Dies entspricht jedoch nicht der Realität. Die Verteilung der Bevölkerung (vgl. Punkt 3.1.2, Seite 32) zeigt, dass 40,6% der Menschen in Brandenburg in Orten kleiner 5.000 Einwohner leben, 33,0% in mittelgroßen Orten und 26,4% in Orten größer 20.000 Einwohner. Die getesteten Kinder kommen jedoch mehrheitlich aus großen Orten (39,6%). Kinder aus kleinen und mittleren Ortschaften haben eine ähnliche Verteilung mit 30,9% und 29,5% (vgl. Punkt 3.1.5, Seite 35). Daraus lässt sich schließen, dass bei Kindern und Jugendlichen aus der Stadt häufiger eine EBV-Serologie angeordnet wurde. Hinzu kommt, dass die getesteten Individuen in kleinen Orten deskriptiv eine höhere EBV-Prävalenz hatten (58%) im Vergleich zu Kindern und Jugendlichen aus mittleren (56%) und großen (52%) Orten (vgl. Tabelle 9, Seite 35). Zusammengefasst wurde in Städten mit mehr als 20.000 Einwohnern häufiger eine EBV-Antikörper-Bestimmung durchgeführt. Kinder bzw. Jugendliche hatten dabei etwas häufiger ein negatives Testergebnis. Daraus resultiert die Frage, ob durch ein häufigeres Testen in großen Orten die Wahrscheinlichkeit für ein negatives Testergebnis steigt und damit die eigentliche EBV-Prävalenzrate höher wäre.

Eine detaillierte Analyse derjenigen Kinder und Jugendlichen mit akuter Infektion war nicht möglich und auch nicht das Ziel dieser Studie. Es wurde die Prävalenz des EBV

und nicht dessen Inzidenz untersucht. Die Beurteilung der Inzidenz hätte einer anderen Form der Datenerhebung bedurft, unter anderem mit Erfassung des EBV-VCA-IgMs.

Zu bedenken ist, dass bei sehr typischer Symptomatik das eindeutige klinische Bild als ausreichend zur Diagnosestellung einer IM betrachtet werden kann. Somit werden Kinder und Jugendliche mit einer sehr hohen Wahrscheinlichkeit für ein positives Testergebnis nicht getestet, da die Notwendigkeit der Bestätigung der Diagnose mittels Serologie nicht besteht.

Hinzu kommt, dass der EBV-Status der nicht getesteten Kinder und Jugendlichen unbekannt bleibt. Da die Infektion in jungen Jahren asymptomatisch verläuft, wird diese häufig nicht entdeckt.<sup>18</sup> In diesem Fall besteht keine Indikation für die Durchführung einer EBV-Antikörper-Testung, da diese in der Regel für das Kind bzw. den Jugendlichen unbedeutend bleibt. Die Bestimmung der Prävalenzrate in Brandenburg (vgl. Punkt 3.3, Seite 43) erfolgte unter der Annahme, dass nicht getestete Individuen auch keinen Kontakt mit dem Virus hatten.

Aufgrund der aufgeführten Einflüsse bei der Diagnostik dieses Virus ist von einer erhöhten Positivität gegenüber EBV in der Studienpopulation im Vergleich zur Normalbevölkerung auszugehen. Im Gegensatz dazu konnten nicht alle EBV-positiven Individuen Brandenburgs erfasst werden und Kinder bzw. Jugendliche in der Normalbevölkerung wurden als falsch-negativ eingestuft.

#### **4.1.3 Verwendete Testmethoden zur Bestimmung der Epstein-Barr-Virus-Serologie**

Zur Bestimmung der EBV-Antikörper wurden vier verschiedene Verfahren (ELISA, CLIA, Blot, IFT) von sieben verschiedenen Firmen verwendet. Nur zwei Labore benutzten die gleiche Nachweismethode derselben Firma (vgl. 2.1.4, Seite 24). Unterschiede liegen in der Handhabung und Automatisierung des Testvorgangs und der Verwendung verschiedener Proteine oder Proteinfragmente des Virus als Antigen zum Nachweis der Antikörper. Auch wenn diese Verfahren generell ähnliche Sensitivitäten und Spezifitäten haben, variieren diese für die verschiedenen Antikörper (EBV-VCA-IgM, EBV-VCA-IgG und EBNA-IgG).<sup>36,60-63</sup> Dadurch ist kein direkter Vergleich der Höhe der EBV-Antikörper-Titer möglich. Grundlage für den Vergleich waren die Standards der jeweiligen Labore. Das hatte zur Folge, dass zwei von den acht teilnehmenden Laboren für

die Bestimmung einer in der Vergangenheit stattgehabten Infektion mit dem Virus die EBNA-IgG-Antikörper nutzten. Dabei ist anzumerken, dass EBNA-IgG mit Verzögerung von bis zu acht Monaten nach Infektion erst nachweisbar wird.<sup>14</sup> Dies ist unter anderem abhängig von der Testmethode. Mit IFT werden EBNA-Antikörper früher detektiert.<sup>60</sup> Bei bis zu 10% der mit EBV-Infizierten wird kein EBNA1-IgG gebildet.<sup>34,38,39</sup> Ein Patientenkollektiv mit hoher Rate an Neuinfektionen schließt demzufolge Kinder und Jugendliche ein, die im Zeitfenster zwischen der Infektion mit EBV und der Nachweisbarkeit der EBNA-Antikörper getestet wurden und somit falsch-negative Werte vorweisen.

Außerdem wurden die Herstellerangaben zu den Testverfahren bezüglich Sensitivität und Spezifität zum Teil nur an Serumproben von Erwachsenen erhoben. Es zeigte sich beispielsweise für den Test Enzygnost® Anti-EBV/IgG von Siemens, verwendet durch das Labor der Charité, eine Sensitivität von nur 85% bei Kindern und Jugendlichen im Alter von sechs Monaten bis 18 Jahren. Für den Test wurde bei Erwachsenen hingegen eine höhere Sensitivität von 99% ermittelt (vgl. Tabelle 1, Seite 24).<sup>62</sup> Es ist davon auszugehen, dass dies auch für die anderen Testsysteme zutrifft. Einige infizierte Kinder und Jugendliche werden somit bereits durch die laborchemische Testung nicht als eindeutig EBV-positiv eingestuft.

#### **4.1.4 Kategorisierung des Alters**

Die Einteilung des Alters aus dem Zensus 2011<sup>66</sup> diene als Vorlage. Nachteilig war, dass die Altersgruppe 6 bis 14 Jahre sehr groß war. Interessant wäre eine Aufteilung dieser in mindestens zwei Kategorien gewesen, da diese zwei Entwicklungsstufen umfasst: Das noch kindliche Grundschulalter und die beginnende Pubertät, die dem Jugendalter zuzuordnen ist. Dadurch hätte eventuell besser ein Anstieg der EBV-Prävalenz mit Beginn der Pubertät dargestellt werden können. Diese Zunahme ist aufgrund des vermehrten intimen Körperkontakts zwischen Jugendlichen zu vermuten.<sup>26</sup>

Im Zensus 2011<sup>66</sup> gibt es die Altersgruppe 15 bis 17 Jahre. Die Studienpopulation hingegen umfasst Kinder und Jugendliche bis zum vollendeten 16. Lebensjahr. Für einen Vergleich dieser Population mit dem Zensus<sup>66</sup> wurde demzufolge eine Reduktion der Altersgruppe 15 bis 17 auf 1/3 der Selbigen notwendig. Dies erfolgte unter der Annahme einer Gleichverteilung zwischen dem Alter 15, 16 und 17 Jahre, um darauf aufbau-

ende Berechnungen durchführen zu können. Für diese vermutete Gleichverteilung ist ein epidemiologischer Nachweis ausstehend.

Eine weitere Annahme war, dass die Altersverteilung zwischen städtischen und ländlichen Regionen gleich ist. Dies entspricht jedoch nicht der Realität. Es ist von einem Wegzug junger Menschen vom Land in die Stadt auszugehen.<sup>72</sup> Demzufolge ist der prozentuale Anteil junger Menschen und somit auch von Kindern und Jugendlichen in ländlichen Gegenden geringer. Dies konnte bei der Ermittlung einer EBV-Prävalenz nicht berücksichtigt werden. Zwischen städtischen und ländlichen Regionen fehlen vergleichende Angaben zur Altersstruktur, die hätten in die Berechnung mit einbezogen werden können. Zusätzlich bleibt unklar, ob aktuelle Veränderungen in der prozentualen Altersstruktur auch Kinder und Jugendliche betreffen oder erst nach dem Schulalter mit Beginn einer weiterführenden Ausbildung oder Berufstätigkeit relevant werden.

#### **4.1.5 Ermittlung der realen Einwohnerzahl der Orte in Brandenburg**

Die Landesämter für Statistik erheben nur Zahlen für Gemeinden und Städte. Genaue Angaben für die zu Gemeinden zusammengeschlossenen, jedoch räumlich getrennten Orte fehlen. Mit dieser Studie sollte ein Vergleich von Städten mit ländlichen Gegenden erfolgen, so dass eine exakte Kategorisierung dieser Ortsgrößen als Voraussetzung für weitere Berechnungen wichtig war. Dafür war der Mikrozensus der statistischen Landesämter<sup>68</sup> nicht ausreichend. Mittels zweier Quellen erfolgte eine gesonderte Aufschlüsselung der Gemeinden Brandenburgs: das „Gemeinde- und Ortsverzeichnis der Landesvermessung und Geobasisinformation Brandenburg“<sup>69</sup> und die Online-Datenbank „Deutschland123 – Statistik zu jedem Ort in Deutschland“<sup>70</sup>. Die mit Hilfe dieser Quellen erstellte Tabelle der neu zugeteilten Einwohnerzahlen in Brandenburg ermöglichte eine exaktere Zuordnung zu den Wohnortgrößen „klein“, „mittel“ und „groß“ (vgl. Tabelle 8, Seite 34). Die Kategorisierung erfolgte eindeutig und war notwendig, denn eine relevante Anzahl von Gemeinden mit zusammen insgesamt je über 5.000 Einwohnern bestanden aus mehreren Orten, die räumlich voneinander getrennt als eigenständige Ortschaften existieren und jeweils weniger als 5.000 Einwohner hatten. Zum Beispiel setzt sich die Gemeinde „Oberkrämer“ aus sieben Orten zusammen, die in der Summe 10.421 Einwohner haben. Damit wäre Oberkrämer formal der Kategorie „mittel“ zuzuordnen. Die Orte selbst hatten jedoch alle jeweils weniger als 5.000 Ein-

wohner und somit waren Individuen, die aus der Gemeinde Oberkrämer stammen, der Kategorie „klein“ zuzuordnen.

Nachteilig war, dass diese Quellen im Gegensatz zum statistischen Landesamt<sup>68</sup> keine festen Stichtage verwendeten. Es handelte sich dabei um eine Aufstellung der als letztes existierenden bzw. ermittelten Einwohnerzahl der einzelnen Orte einer Gemeinde, die beim statistischen Landesamt nicht mehr erfasst sind. Diese lagen im Zeitraum von 2006 bis 2011. Einige Angaben gehen somit bis zu sechs Jahre dem Untersuchungszeitraum der Studie voraus. Durch Zu- und Abwanderung und die verschiedenen Geburten- und Sterberaten über diesen Zeitraum entstand eine Differenz zu den Angaben des statistischen Landesamtes. Die 2.618 Einwohner Unterschied in der Gesamteinwohnerzahl Brandenburgs zwischen Tabelle 7 und Tabelle 8, Seite 34, kann dadurch erklärt werden.

Neben der notwendigen und ebenfalls populationsbegrenzenden Ermittlung des Marktanteils begrenzte diese notwendige Aufschlüsselung die ursprünglich erhobene Studienpopulation von  $n=4.724$  für die Berechnung der EBV-Prävalenzrate auf die Kinder und Jugendlichen mit Wohnort in Brandenburg. Nur für dieses Bundesland konnten entsprechend detaillierte Daten zu den Orten erhoben werden.

#### **4.1.6 Bezugsgrößen und Marktanteil**

Durch Ermittlung des Marktanteils von drei der teilnehmenden Labore, konnte ein Einzugsgebiet dieser Labore für die Bevölkerung in Brandenburg definiert werden. Die Berechnung über den Marktanteil war notwendig, um die Realität als mathematischen Sachverhalt darstellen zu können. Ein Bias ließ sich dabei nicht vermeiden. Wünschenswert wäre eine flächendeckende Erfassung der EBV-Daten. Damit könnte die EBV-Prävalenz direkt in Bezug zur Bevölkerung Brandenburgs gesetzt werden.

Die Abrechnung der KVen erfasst die durchgeführten Leistungen von gesetzlich Versicherten im ambulanten Bereich. Es erfolgt keine Abbildung von Privatversicherten und im Rahmen von stationären Aufenthalten durchgeführten Leistungen. Der berechnete Marktanteil bezieht sich formal nur auf ambulant durchgeführte EBV-Antikörper-Bestimmungen bei gesetzlich versicherten Kindern und Jugendlichen. Die KV Brandenburg hatte für die drei teilnehmenden Labore 966 durchgeführte EBV-Testungen erfasst, diese Studie eine Anzahl gesetzlich Versicherter von 756, von insgesamt 910



(83%). Daraus resultierte eine Differenz von circa 200 Patienten/-innen zwischen den gesetzlich versicherten Individuen der Studienpopulation und der durch die KV erfassten durchgeführten EBV-Testungen. Dafür ist die Gesamtzahl der Population ( $n=910$ ), inklusive Privatversicherter und Kinder und Jugendlicher mit unbekanntem Versicherungsstatus, der Anzahl von der KV ( $n=966$ ) sehr ähnlich. Die Differenz ist sehr gering und kann auf den um 24 Tage verschobenen Zeitraum zwischen den Quartalen der KV und dem in der Studie definierten Zeitraum zurückgeführt werden. Außerdem wurde in dieser Studie nur das erste EBV-Serologie-Ergebnis bei wiederholter Testung eines Kindes bzw. Jugendlichen verwendet. Diese wurden bei der KV als jeweils einzelne Testungen aufgeführt. Die vorausgegangenen Überlegungen lassen die Annahme zu, dass sich letztendlich der Marktanteil auf die Mehrheit der Studienpopulation bezieht und nur zu einer vernachlässigbaren Verzerrung führt.

Die Berechnung des Marktanteils aller Labore beruhte auf den Angaben der KV Brandenburg zu den drei teilnehmenden Laboren Kyritz, Oderland und Wittstock. Der Marktanteil aller teilnehmenden Labore kann nach folgenden zwei Möglichkeiten berechnet werden: Zum einen über den Dreisatz des bereits bekannten Marktanteils, zum anderen über die Anzahl der Studienpopulation ( $n=1.615$ ) geteilt durch die Anzahl der bei Kindern und Jugendlichen mit Wohnsitz in Brandenburg gesamt durchgeführten EBV-Testungen der KV ( $n=3.270$ ). Es wurde die erste Variante verwendet, da diese genauer ist und direkt Bezug auf den berechneten Marktanteil aus den Angaben der KV Brandenburg nimmt. Die Berechnung nach der zweiten Möglichkeit durchzuführen, wäre nicht sinnvoll, aufgrund des versetzten Zeitraumes und der wiederholten Testungen eines Kindes bzw. Jugendlichen. Diese wurden im Gegensatz zu den Daten der Studienpopulation bei der KV mit erfasst.

Anzumerken ist, dass der Anteil von 53,5% an der EBV-Testung durch Labore mit Sitz in Brandenburg an der für Brandenburger Kinder und Jugendliche insgesamt durchgeführten Serologien (vgl. Tabelle 14, Seite 45) nicht identisch ist mit dem aus diesen Daten der Studie hochgerechneten Marktanteil von 53%. Die 53,5% lassen sich direkt aus der Tabelle der KV (vgl. Tabelle 14, Seite 45) ableiten (EBV-IgG gesamt von Brandenburg  $n=1.748$  zu insgesamt abgerechnetem EBV-IgG  $n=3.270$  ergibt 53,3%). Die 53% entsprechen dem ermittelten Marktanteil, kalkuliert ausgehend von dem Marktanteil von 30% aus der Tabelle der KV Brandenburg (vgl. Tabelle 14, Seite 45). Auf die-

sem bauten die weiteren Berechnungen auf. Dabei sind auch Labore eingeschlossen, deren Abrechnung vor allem durch KVen in Berlin und Mecklenburg-Vorpommern erfolgte. Trotzdem lassen diese Zahlen die Schlussfolgerung zu, dass circa die Hälfte der durchgeführten EBV-Testungen von in Brandenburg lebenden Kindern und Jugendlichen durch die teilnehmenden Labore für diese Studie erfasst wurden.

#### **4.1.7 Statistische Auswertung**

Die Verwendung statistischer Testmethoden war nur für die Betrachtung der Studienpopulation sinnvoll. Für die Ermittlung eines Stadt-Land-Gefälles innerhalb des getesteten Patientenkollektivs ist die Verwendung des Linearen Trend Tests als geeignet zu werten. Um eine noch bessere Gesamtaussage über die Prädiktion einer stattgefundenen EBV-Infektion im Hinblick auf Alter, Geschlecht und Wohnortgröße für die Studienpopulation treffen zu können, war die Berechnung der logistischen Regression angemessen.

Für die Berechnung der Prävalenzrate des EBV in ganz Brandenburg war es inhaltlich weniger sinnvoll, diese mit einem statistischen Test zu bewerten. Diese erfolgte durch verschiedene mathematische Hilfestellungen mit den daraus resultierenden oben beschriebenen Schwierigkeiten. Dazu zählen: Die Ermittlung eines formalen Einzugsgebietes via Marktanteil, die Annahme einer prozentual gleichen Altersverteilung in städtischen und ländlichen Regionen, die Mutmaßung der EBV-Negativität aller nicht getesteten Kinder bzw. Jugendlichen in Brandenburg und die Unterstellung eines gleichen Testverhaltens auf EBV zwischen Stadt und Land.

## **4.2 Diskussion der Ergebnisse**

In Anbetracht der diskutierten Methodik mit den genannten Limitationen erbrachten die Ergebnisse dieser Studie das Vorliegen einer niedrigeren EBV-Prävalenzrate in ländlichen Gegenden. Außerdem findet dort die Infektion mit dem Virus später statt.

### **4.2.1 Altersverteilung**

Mit zunehmendem Alter nimmt die EBV-Prävalenz zu. Die Wahrscheinlichkeit steigt, sich durch engen körperlichen Kontakt zu anderen Kindern und Erwachsenen mit dem Virus zu infizieren. Demzufolge war zu erwarten, dass mit der logistischen Regression

ein deutlicher Einfluss des Alters auf die EBV-Positivität nachgewiesen werden konnte ( $p < 0,0005$ ; logistische Regression).

In Industrieländern erfolgt die Primärinfektion in bis zu 50% der Fälle in der zweiten Lebensdekade.<sup>11,21,26</sup> In dieser Studienpopulation sind bis zu einem Alter von fünf Jahren 45% mit EBV infiziert, in der Altersgruppe 6 bis 14 Jahre sogar schon 60%. Dies ist typisch für ein Industrieland wie Deutschland. Diese Zahlen sind mit der größten Studien zur Epidemiologie des EBV bei Kindern und Jugendlichen aus den USA vergleichbar, bei der 54,1% der Sechs- bis Achtjährigen Kontakt mit dem Virus hatten.<sup>11</sup> Martro et al. ermittelten 2004 in Deutschland eine EBV-Infektionsrate bei Kindern im Alter von sechs Monaten bis drei Jahren von 35%.<sup>57</sup> Ähnliche Daten stammen aus England und Wales. Dort wurden ebenfalls 35% EBV-Durchseuchung in einer ähnlichen Altersgruppe, genauer 1 bis 4 Jahre, nachgewiesen. Die Kinder dieser Studie hatten eine mit Brandenburg identische EBV-Prävalenz von 35% in der Altersgruppe bis 3 Jahre. Auch höhere Altersgruppen sind vergleichbar. In England und Wales waren 72% bei den 15- bis 19-Jährigen EBV-positiv, vergleichbar mit dieser Studienpopulation von 73% bei den 15- bis 16-Jährigen.<sup>56</sup>

Werden die durchschnittlichen Infektionsraten mit EBV der Studienpopulationen verglichen, so reiht sich diese Studie mit 55% der 0- bis 16-Jährigen ein. Martro et al. hatten eine ähnliche, wenn auch leicht höhere durchschnittliche Prävalenz in Deutschland ermittelt. 61% der Kinder und Jugendlichen im Alter von sechs Monaten bis 17 Jahren waren EBV-positiv.<sup>57</sup> Als mögliche Ursachen können die niedrigere Fallzahl der Studie von 235 Patienten/-innen und ein um ein halbes bis ein Jahr versetztes Altersspektrum der untersuchten Kinder und Jugendlichen diskutiert werden. Zu beachten ist, dass in dieser Studie die Proben von Kindern und Jugendlichen gewonnen wurden, die sich in Greifswald, Norddeutschland, wegen Krankheit oder Routineuntersuchungen unabhängig einer EBV-Infektion vorstellten. Hinsichtlich demografischer Strukturen ist dieses Gebiet mit Brandenburg vergleichbar (vgl. Abbildung 2, Seite 21). Demzufolge ist hier von einem Wegfall eines Einflusses durch die ärztliche Indikationsstellung auszugehen (vgl. 4.1.2, Seite 52). Trotzdem ist die durchschnittliche EBV-Prävalenz bei Martro et al. höher, obwohl bei dieser Studie eine durch die genannten Einflüsse erhöhte Prävalenz zu vermuten ist. Die anderen in Studien ermittelten EBV-Durchseuchungsraten in

Industrienationen ähneln denen aus Brandenburg und relativieren die vermuteten falsch-hohen EBV-Prävalenzen.

Deutliche Unterschiede bestehen zu den Studienergebnissen, die in Entwicklungs- und Schwellenländern durchgeführt wurden. So infizieren sich in Südindien, Hong Kong, Nigeria und China die Kinder eher mit EBV. In jüngerem Alter liegt eine höhere Durchseuchungsrate vor. Ursächlich sind die unterschiedlichen Infektionsraten zwischen Industrie- und Entwicklungsländern.<sup>11,21,26</sup>

#### **4.2.2 Geschlechterunterschiede**

Bei separater Betrachtung der EBV-Prävalenzrate in Brandenburg nach Mädchen und Jungen getrennt, fielen kleine Unterschiede auf. Nicht nur im Mittel hatten die Mädchen eine tendenziell höhere EBV-Prävalenz als die Jungen (58% versus 52%), sondern auch in den einzelnen Alterskategorien. Der größte Unterschied bestand in der Altersgruppe 15 bis 16 Jahre (Mädchen 78%, Jungen 66%) und unter 3 Jahre (Mädchen 40%, Jungen 32%). Die Daten für eine Betrachtung mit Berlin sahen sehr ähnlich aus. Trotz dieser deskriptiv ermittelten Unterschiede konnte bei der logistischen Regression keine statistische Signifikanz zwischen der Wahrscheinlichkeit eines EBV-positiven Nachweises und dem Geschlecht nachgewiesen werden ( $p > 0,05$ ; Logistische Regression). Andere Studien wiesen eine statistische Signifikanz zwischen Geschlecht und EBV-Status nach. Die große US-Studie von Dowd et al. ermittelte signifikant niedrigere Titer für Jungen im Alter von sechs bis 19 Jahren.<sup>11</sup> Bei den Studierenden aus den USA ließ sich deskriptiv ebenfalls ein Unterschied vermuten (Mädchen 66%, Jungen 59%), jedoch war dieser nicht statistisch signifikant.<sup>25</sup> Ferner konnten Morris et al. bei ihrer Population aus England und Wales in allen Altersgruppen keinen statistisch signifikanten Unterschied nachweisen, mit Ausnahme der Altersgruppe 10 bis 14 Jahre. Bei Letzterer hatten ebenfalls die Mädchen statistisch signifikant höhere EBV-Durchseuchungsraten.<sup>56</sup> Auch wenn für Brandenburg und Berlin kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Jungen und Mädchen bezüglich der EBV-Prävalenz nachgewiesen werden konnte, so ist auch im Hinblick auf die anderen Studienergebnisse dennoch eine Tendenz zu erkennen, dass Mädchen sich eher mit dem Virus infizieren. Besonders auffällig ist der Unterschied in der zweiten Lebensdekade, wenn die Mädchen potentiell eher mit der Pubertät beginnen und zeitiger erste Beziehungen eingehen.<sup>56</sup>

Im Vergleich mit dem Zensus 2011<sup>66</sup> wich die Verteilung nach Geschlecht abhängig vom Alter in dieser Studienpopulation etwas ab. Beim Zensus<sup>66</sup> waren durchschnittlich 51% der Kinder in Brandenburg Jungen. Dies galt auch für die einzelnen Altersgruppen. In dieser Studienpopulation schwankte der Anteil der Jungen zwischen 39,8% und 63,2% (vgl. Tabelle 3 und Tabelle 4, Seite 32). Der prozentuale Anteil der Gesamtpopulation stimmte mit dem Zensus<sup>66</sup> überein, aber eine Abweichung trat auf im Alter 3 bis 5 Jahre mit einem höheren Anteil an Jungen von 63% und bei den 15- bis 16-Jährigen mit einem höheren Anteil an Mädchen (59%) (vgl. Tabelle 3, Seite 32). Zusammengefasst: Es wurden mehr Mädchen im Alter 15 bis 16 Jahre auf EBV getestet, und davon auch häufiger mit einem positiven Nachweis im Vergleich zu den Jungen. Unter der Annahme, dass Mädchen im Jugendalter zeitiger Beziehungen eingehen, die den vermehrten Austausch von Speichel zur Folge haben,<sup>56</sup> und in der zweiten Lebensdekade häufiger IM-spezifische Symptome bei der Erstinfektion mit dem Virus auftreten,<sup>25</sup> wäre eine häufiger durchgeführte EBV-Testung als Diagnosebestätigung die Folge (vgl. 4.1.2, Seite 52). Dadurch kann die Geschlechterverteilung in dieser Altersgruppe erklärt werden.

Die Trends innerhalb der Studienpopulation bezüglich eines Stadt-Land-Gefälles der EBV-Infektionsraten von Mädchen und Jungen waren zwischen den einzelnen Altersgruppen sehr heterogen. Eine zusammenfassende Aussage und Schlussfolgerung lassen diese Ergebnisse nicht zu.

#### **4.2.3 Versicherungsstatus**

Laut der Hygiene-Hypothese führt ein hoher sozioökonomischer Status zu weniger Infektionen, dafür aber zu mehr Autoimmunerkrankungen.<sup>1</sup> Dowd et al. konnten eine höhere EBV-Prävalenz bei niedrigerem Haushaltseinkommen in den USA nachweisen.<sup>11</sup> Eine Tendenz diesbezüglich war in dieser Studienpopulation erkennbar. Privatversicherte Kinder und Jugendliche hatten eine geringere EBV-Prävalenz als gesetzlich Versicherte (48% versus 56%). Dabei sollte berücksichtigt werden, dass bei Privatversicherten aufgrund der besseren finanziellen Vergütung eventuell schneller und mehr Diagnostik im Vergleich zu gesetzlich versicherten Kindern oder Jugendlichen durchgeführt wurde. Bei einer vergleichsweise höheren Testungsrate ist demzufolge die Wahrscheinlichkeit für ein negatives Testergebnis größer. Dies könnte ebenfalls zu einer geringeren EBV-Prävalenz bei privatversicherten Kindern und Jugendlichen beitragen. Die Aussagefähigkeit bleibt insgesamt eingeschränkt, da die gesetzlichen Kran-

kenkassen in Deutschland ein sehr breites Spektrum an Mitgliedern umfassen, sowohl mit hohen, als auch mit niedrigem sozioökonomischem Status.

#### **4.2.4 Analyse 1: Die Prävalenz des Epstein-Barr-Virus innerhalb der Studienpopulation**

Bei Betrachtung der Studienpopulation nach der Prävalenz des EBV nach Alter und Wohnortgröße zeigte sich ein statistisch signifikanter absteigender Trend bei der Gesamtpopulation unabhängig vom Alter sowie in der einzelnen Alterskategorie der unter 3-Jährigen. Bei einer Betrachtung getrennt nach Geschlecht ist diese Signifikanz nur bei den Jungen nachweisbar. Bei den Mädchen lässt sich im Alter der 3- bis 5-Jährigen deskriptiv sogar ein aufsteigender Trend vermuten. Bei der Verwendung der logistischen Regression konnte dieser Unterschied zwischen den Geschlechtern, sowohl bei der Betrachtung mit als auch ohne Berlin, statistisch nicht bestätigt werden. Insgesamt sprechen die Daten für eine höhere Infektionsrate auf dem Land, wobei dieses Gefälle besonders deutlich bei den Jungen im Kleinkindalter zu erkennen ist. Eine statistische Bestätigung bleibt ausstehend.

Wird Berlin mit 3,5 Mio. Einwohnern, ein Kontrast zu den ländlichen Gemeinden und Städten Brandenburgs, in die Auswertung mit einbezogen, wird deutlich, dass sich Berlin kaum von den anderen Einwohnerkategorien abhebt. Unter Annahme der Hygiene-Hypothese (vgl. 1.1, Seite 11) wäre ein Unterschied zwischen Berlin und den ländlichen Gegenden Brandenburgs, dargestellt in den drei Einwohnerkategorien (vgl. 3.2.1, Seite 37), hinsichtlich der Prävalenz des EBV zu erwarten gewesen. Mit Ausnahme der Gruppe der 3- bis 5-Jährigen ist die EBV-Prävalenz in Berlin geringfügig höher als in Orten mit mehr als 20.000 Einwohnern. Dies konnte mittels der logistischen Regression durch einen signifikanten Unterschied zwischen großen Orten und Berlin bestätigt werden (Odds Ratio 0,77; 95%CI 0,63-0,95). Das bedeutet, dass die Wahrscheinlichkeit bei einer EBV-Antikörper-Bestimmung ein positives Testergebnis zu haben, in Berlin höher war, als in Orten mit mehr als 20.000 Einwohnern in Brandenburg. In Anbetracht der sehr heterogenen Prävalenzen bei diesen Einwohnerkategorien aufgeteilt nach Altersgruppen (vgl. Abbildung 6, Seite 42), bei denen keine sinnvollen Zusammenhänge zu erkennen sind, sollte dieses Ergebnis nicht überbewertet werden. Eine Varianz von 9% bestätigte auch mathematisch, dass nur ein kleiner Prozentsatz der Unterschiede in den Daten durch die Variablen Alter, Geschlecht und Einwohnerkategorie erklärt werden

können. Dabei hatte das Alter den größten mathematisch nachweisbaren Einfluss auf die Prävalenzrate (vgl. 4.2.1, Seite 58).

#### **4.2.5 Analyse 2: Die Berechnung der Prävalenzrate des Epstein-Barr-Virus für die Bevölkerung Brandenburgs**

Der Vergleich der EBV-Prävalenz nach Wohnortgröße innerhalb der Studienpopulation, bei der ein linear absteigender Trend ermittelt wurde, scheint widersprüchlich zu sein zu der Berechnung der Prävalenzrate in Brandenburg, bei der ein linear aufsteigender Trend erkennbar ist. Beide beruhen auf demselben Patientenkollektiv. Die Studienpopulation ist aufgrund der Art der Erhebung (vgl. 4.1, Seite 51) als eine eigene in sich geschlossene Gruppe zu betrachten, die keine Übertragung der ermittelten Ergebnisse auf die Bevölkerung zulässt. Mittels einer Folge mathematischer Berechnungen erfolgte ausgehend von der Studienpopulation eine Um- und Hochrechnung auf die Bevölkerung Brandenburgs. Diese bestanden aus der Ermittlung der realen Einwohnerzahlen und des Marktanteils der teilnehmenden Labore. Dabei wurden die vorhandenen Bevölkerungsstrukturen berücksichtigt. Somit wurde nicht mehr nur ein definiertes Patientenkollektiv untersucht, sondern auf Grundlage der Berechnungen eine Aussage für die Bevölkerung eines bestimmten Gebietes – in diesem Fall für das Bundesland Brandenburg – getroffen. Im Rahmen dieses Prozesses kam es zu Veränderungen, die für die beschriebene Diskrepanz verantwortlich sind.

Der Marktanteil von 30% konnte auf der Grundlage von nur drei der acht Labore (Kyritz, Oderland und Wittstock) berechnet werden und geht von  $n=910$  Individuen aus. Die Aussagekraft einer epidemiologischen Untersuchung steigt mit zunehmender Größe der untersuchten Studienpopulation. Deshalb wurde sich bei der weiteren Auswertung auf die Prävalenzraten konzentriert, denen ein Marktanteil von 53% zugrunde liegt und damit die gesamten erhobenen Daten aus Brandenburg ( $n=1.615$ ) umfasst (vgl. 2.4.1, Seite 28).

Die Herkunft der Patienten/-innen aus städtischen und ländlichen Gegenden zeigte je Labor eine unterschiedliche prozentuale Verteilung. Die drei Labore ( $n=910$ ) hatten 42% Kinder und Jugendliche aus kleinen Orten untersucht, gefolgt von 35% aus mittleren und 15% aus großen Orten. Bei zusammenfassender Betrachtung der Daten aller Labore ( $n=1.615$ ) wurde deutlich, dass diese am häufigsten Kinder und Jugendliche aus

großen Orten getestet hatten (40%). Patienten/-innen aus kleinen und mittleren Orte waren ähnlich verteilt (31% und 30%). Demzufolge liegt bei den Ausgangsdaten der drei Labore (n=910), von denen die Hochrechnung des Marktanteils ausgehen, eine andere Bevölkerungsstruktur vor, als bei der Gesamtstudienpopulation Brandenburgs (n=1.615), von der die weiteren Betrachtungen erfolgten. Dies hat dahingehend Relevanz, dass in Orten mit mehr als 20.000 Einwohnern häufiger eine EBV-Diagnostik durchgeführt wurde mit einem häufiger negativen Ergebnis (vgl. 4.1.2, Seite 52). Somit wurde von einer Population, die eher restriktiv getestet wurde, auf eine Größere geschlossen, bei der häufiger auf EBV getestet wurde. Dabei könnte der hochgerechnete Marktanteil in Wirklichkeit kleiner sein, als ermittelt.

In allen vier Alterskategorien wurde ein linear ansteigender Trend der EBV-Durchseuchung in Bezug auf die Einwohnerzahl der Wohnorte deutlich. Besonders grenzten sich Orte mit mehr als 20.000 Einwohnern in den Altersgruppen 3 bis 5 Jahre und 15 bis 16 Jahre ab. Eine circa doppelt so hohe Prävalenz des Virus lag vor. Auffällig ist der sprunghafte Anstieg in dieser Einwohnerkategorie von unter 3 Jahren auf 3 bis 5 Jahre und von 6 bis 14 Jahre auf 15 bis 16 Jahre, mit jeweils einer Verdopplung der Prävalenzrate. Im Gegensatz dazu ist zwischen 3 bis 5 Jahre und 6 bis 14 Jahre kaum bzw. gar keine Zunahme der Infektionsrate zu erkennen. In Orten kleiner 20.000 Einwohner scheint hingegen die EBV-Prävalenzrate unter fünf Jahren fast konstant zu bleiben und ein größerer Anstieg erfolgte erst nach dem fünften Lebensjahr und somit später als in Städten.

Zusammenfassend: Unabhängig vom Geschlecht infizieren sich Kinder in der Stadt eher mit EBV. Dabei sind zwei markante altersabhängige Anstiege in der Prävalenz zu erkennen, im Kleinkind- und im Jugendalter. In ländlichen Gegenden erfolgt hingegen ab dem Vorschul- bzw. Schulalter eine kontinuierliche Zunahme der Infektionsrate. Der in großen Orten zeitigere deutliche Anstieg im Kleinkindalter könnte sich mit dem vermehrten Besuch von Kindertagesstätten in Städten im Vergleich zum Land erklären lassen.<sup>51</sup> Auch wenn die Kinder häufig bereits vor dem dritten Lebensjahr eine solche Einrichtung besuchen, so erfolgt die Interaktion mit anderen Kindern und somit auch der für einen Übertragungsweg des EBV notwendige Kontakt erst etwas später.<sup>73</sup> Jedoch ist der Unterschied zwischen den Einwohnerkategorien zu groß, als dass diese Erklärung allein ausreicht. Auch Kinder in ländlichen Gegenden besuchen Kindertageseinrichtungen



gen und haben häufiger sogar mehr Geschwister als Spielpartner,<sup>74</sup> die auch als Infektionsüberträger fungieren. Eine weitere, aktuell nicht identifizierbare Ursache für diesen Unterschied in der Infektionsrate muss existieren. Zwischen den beiden letzten Altersgruppen war ein weiterer markanter Anstieg der EBV-Prävalenzrate zu erkennen. Bei Betrachtung nach Geschlechtern fällt auf, dass diese große Zunahme vor allem bei den Mädchen auftritt. Eine mögliche Erklärung wäre die mit der Pubertät bei Mädchen eher beginnenden Beziehungen mit ersten intimen Kontakten, die als Hauptübertragungsweg des EBV über den Speichel vermehrt Infektionen mit dem Virus begünstigen (vgl. 4.2.2, Seite 60).<sup>56</sup>

Ein weiterer Unterschied zwischen den Geschlechtern besteht zwischen Orten mit mehr als 20.000 Einwohnern und solchen mit weniger Einwohnern im Alter von 0 bis 5 Jahren. Hier scheinen Jungen leicht höhere EBV-Prävalenzraten im Vergleich zu Mädchen des gleichen Alters zu haben. Außerdem ist die Altersgruppe der Jungen kleiner 3 Jahre die Einzige, ohne erkennbaren linear ansteigenden Trend. Dies würde bedeuten, dass sich Jungen im Kleinkindalter eher mit EBV infizieren als gleichaltrige Mädchen, und dies bis zu einem Alter von 3 Jahren ohne nachweisbares Stadt-Land-Gefälle.

#### **4.2.6 Beantwortung der Fragestellung**

Bei Kindern vor dem 17. Lebensjahr gibt es ein Stadt-Land-Gefälle der Prävalenz des EBV mit höheren Prävalenzraten in städtischen Gegenden. Dieser lineare Anstieg von kleinen, über mittlere zu großen Orten ist kontinuierlich in allen Altersstufen und bei Jungen und Mädchen gleichermaßen vorhanden. Orte mit mehr als 20.000 Einwohnern grenzten sich dabei durch eine besonders auffallende höhere Prävalenzrate ab. Zusätzlich erfolgt die Infektion mit EBV auf dem Land später als in der Stadt.

#### **4.2.7 Schlussfolgerungen und Ausblick**

Für die MS gilt als ein möglicher Risikofaktor, die ersten Lebensjahre in einer ländlichen Gegend aufgewachsen zu sein. Dem liegt die Vermutung zugrunde, dass die Infektionslast in der Stadt aufgrund des vermehrten und engeren zwischenmenschlichen Kontaktes noch höher ist, wie er beispielsweise bei der Benutzung öffentlicher Verkehrsmittel auftritt.<sup>51</sup> Auch beim EBV konnte in dieser Studie eine höhere Prävalenz in städtischen Regionen nachgewiesen werden. Da dieses Virus über Tröpfchen- und Schmierinfektion übertragen wird, bedarf es des engen Kontaktes zwischen Menschen.

Es wird diskutiert, dass MS vermehrt bei Frauen auftritt, die auf dem Land aufgewachsen sind.<sup>51</sup> Zusätzlich scheint ein höheres Risiko bei einer späteren EBV-Infektion vorzuliegen.<sup>15,42</sup> Mit dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die Infektion des EBV vor allem bei den Mädchen etwas später erfolgt, als bei den Jungen. Diese haben im Alter bis fünf Jahre niedrigere EBV-Prävalenzen. Da eine spätere Infektion mit EBV zu einem höheren MS-Risiko führt, würden die Ergebnisse dieser Studie für einen Einfluss dieses Virus auf das MS-Risiko sprechen. Des Weiteren ist das Risiko für MS bei Kindern und Jugendlichen aus ländlichen Gegenden ebenfalls erhöht. Es wurde nachgewiesen, dass die EBV-Infektion auf dem Land später erfolgt. Im Hinblick auf die Faktoren für ein erhöhtes MS-Risiko lässt sich daraus schlussfolgern, dass dieser spätere Kontakt mit dem Virus Einfluss auf die höhere MS-Prävalenz auf dem Land haben könnte.

Bei der MS gibt es nicht nur einen Geschlechterunterschied hinsichtlich der Inzidenz, sondern auch hinsichtlich des Verlaufs. So erkrankten Männer zwar seltener, dafür in der Regel später und mit einem schwereren Verlauf.<sup>75</sup> Im Alter bis zu fünf Jahren konnte diese Studie für Jungen eine höhere EBV-Prävalenzrate ermitteln, ab fünf Jahren ist diese jedoch bei Mädchen höher. Besonders in der Altersgruppe von 15 bis 16 Jahren wird der Unterschied sehr deutlich. Auch wenn nur ein Alter bis zum vollendeten 16. Lebensjahr erfasst wurde, so ist trotzdem anzunehmen, dass sich Jungen am Ende der zweiten Lebensdekade später mit EBV infizieren als Mädchen. DeLorenze et al. vermuteten für eine EBV-Infektion in diesem Alter eine erhöhte Vulnerabilität für MS.<sup>47</sup> Bei einer entsprechenden Latenz zwischen erhöhten EBV-Titern und dem Beginn der MS-Symptomatik, könnte man, ausgehend von den erhobenen Studiendaten, das EBV als Einflussfaktor auf den späteren Beginn der MS bei Männern in Erwägung ziehen. Andererseits könnte die bei Jungen im vulnerablen Jugendalter später stattfindende EBV-Infektion Einfluss auf den bei Männern beobachteten schwereren Verlauf der MS haben. Um diese Hypothese zu unterstützen, bedarf es weiterer Forschung, unter anderem in Hinblick auf eine geschlechterspezifische Infektionsrate des EBV jenseits des 16. Lebensjahres. Zusätzlich wäre eine Korrelation zwischen dem Zeitpunkt der EBV-Infektion, erhöhten EBV-Titern, Auftritt der MS-Symptome und Schwere des Verlaufs zu prüfen.

Unklar bleibt, wo genau die Ursache für das Stadt-Land-Gefälle des EBV liegt und warum es Unterschiede zwischen den Geschlechtern zu geben scheint.

In anderen Studien konnte nachgewiesen werden, dass erhöhte EBNA-Antikörper-Titer einer MS-Erkrankung voraus gehen.<sup>45-47</sup> Deshalb wäre es interessant, die EBNA-IgG-Titerhöhe im Stadt-Land-Vergleich zu betrachten. Damit könnte der Zusammenhang zwischen einer späteren EBV-Infektion und einer höheren MS-Prävalenz auf dem Land besser dargestellt werden. Diese Untersuchung sollte auch die anderen EBV-Antikörper mit einschließen und als multizentrische prospektive Studie erfolgen.

Bei der Auswertung der Ergebnisse dieser Studie ist zu beachten, dass diese durch Verwendung einer Folge mathematischer Berechnungen (vgl. 2.4, Seite 28) ermittelt wurden und demzufolge die Aussagekraft eingeschränkt bleibt. Eine Verallgemeinerung bleibt nur unter Vorbehalt möglich.

Zusammenfassend ist im Rahmen der Hygiene Hypothese eine höhere zwischenmenschliche Infektionslast in der Stadt zu vermuten. Als Beispiel hierfür gilt das EBV. Dieses Virus spielt gleichzeitig eine Rolle bei der Pathogenese der Autoimmunerkrankung MS. Mit dieser Studie konnte ein Stadt-Land-Gefälle für das EBV nachgewiesen werden, mit einer höheren EBV-Prävalenzrate in städtischen Gegenden und einer dort früher stattfindenden Infektion. Diese Ergebnisse lassen erste Vermutungen zu, dass dieses Infektionsverhalten mit dem Virus Einfluss auf die höhere Prävalenz der MS in ländlichen Gegenden hat. Jedoch bedarf diese Aussage einer Bestätigung mittels einer prospektiven Studie. Da der kausale Zusammenhang zwischen MS und EBV noch unbekannt ist, bleibt offen, ob das Virus ursächlich für das Stadt-Land-Gefälle ist oder ob beide Erkrankungen durch einen gemeinsamen noch unbekanntem Faktor beeinflusst werden.

## 5 LITERATURVERZEICHNIS

1. Okada H, Kuhn C, Feillet H, Bach JF. The 'hygiene hypothesis' for autoimmune and allergic diseases: an update. *Clinical and Experimental Immunology* 2010;160:1-9.
2. Garn H, Renz H. Epidemiological and immunological evidence for the hygiene hypothesis. *Immunobiology* 2007;212:441-52.
3. Schmitz R, Atzpodien K, Schlaud M. Prevalence and risk factors of atopic diseases in German children and adolescents. *Pediatric allergy and immunology: official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology* 2012;23:716-23.
4. Leibowitz U, Antonovsky A, Medalie JM, Smith HA, Halpern L, Alter M. Epidemiological study of multiple sclerosis in Israel. II. Multiple sclerosis and level of sanitation. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 1966;29:60-8.
5. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *British Medical Journal* 1989;299:1259-60.
6. Hoffjan S, Nicolae D, Ostrovnaya I, et al. Gene-environment interaction effects on the development of immune responses in the 1st year of life. *American Journal of Human Genetics* 2005;76:696-704.
7. Matricardi PM. 99th Dahlem conference on infection, inflammation and chronic inflammatory disorders: controversial aspects of the 'hygiene hypothesis'. *Clinical and Experimental Immunology* 2010;160:98-105.
8. Hanski I, von Hertzen L, Fyhrquist N, et al. Environmental biodiversity, human microbiota, and allergy are interrelated. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2012;109:8334-9.
9. Schaub B, Lauener R, von Mutius E. The many faces of the hygiene hypothesis. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2006;117:969-77; quiz 78.
10. von Mutius E. 99th Dahlem conference on infection, inflammation and chronic inflammatory disorders: farm lifestyles and the hygiene hypothesis. *Clinical and Experimental Immunology* 2010;160:130-5.
11. Dowd JB, Palermo T, Brite J, McDade TW, Aiello A. Seroprevalence of Epstein-Barr virus infection in U.S. children ages 6-19, 2003-2010. *PLOS One* 2013;8:e64921.
12. Caudri D, Wijga A, Scholtens S, et al. Early daycare is associated with an increase in airway symptoms in early childhood but is no protection against asthma or atopy at 8 years. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2009;180:491-8.

13. Cohen JI. Epstein-Barr virus infection. *The New England Journal of Medicine* 2000;343:481-92.
14. Chan KH, Tam JS, Peiris JS, Seto WH, Ng MH. Epstein-Barr virus (EBV) infection in infancy. *Journal of Clinical Virology* 2001;21:57-62.
15. Niller HH, Wolf H, Minarovits J. Regulation and dysregulation of Epstein-Barr virus latency: implications for the development of autoimmune diseases. *Autoimmunity* 2008;41:298-328.
16. Maeda E, Akahane M, Kiryu S, et al. Spectrum of Epstein-Barr virus-related diseases: a pictorial review. *Japanese Journal of Radiology* 2009;27:4-19.
17. Pohl D. Epstein-Barr virus and multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences* 2009;286:62-4.
18. Odumade OA, Hogquist KA, Balfour HH, Jr. Progress and problems in understanding and managing primary Epstein-Barr virus infections. *Clinical Microbiology Reviews* 2011;24:193-209.
19. Epstein MA, Achong BG, Barr YM. Virus Particles in Cultured Lymphoblasts from Burkitt's Lymphoma. *Lancet* 1964;1:702-3.
20. Toussirot E, Roudier J. Epstein-Barr virus in autoimmune diseases. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology* 2008;22:883-96.
21. Luzuriaga K, Sullivan JL. Infectious mononucleosis. *The New England Journal of Medicine* 2010;362:1993-2000.
22. Pender MP. Infection of autoreactive B lymphocytes with EBV, causing chronic autoimmune diseases. *Trends in Immunology* 2003;24:584-8.
23. Shannon-Lowe CD, Neuhierl B, Baldwin G, Rickinson AB, Delecluse HJ. Resting B cells as a transfer vehicle for Epstein-Barr virus infection of epithelial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2006;103:7065-70.
24. De Paschale M, Clerici P. Serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection: Problems and solutions. *World Journal of Virology* 2012;1:31-43.
25. Balfour HH, Jr., Odumade OA, Schmeling DO, et al. Behavioral, virologic, and immunologic factors associated with acquisition and severity of primary Epstein-Barr virus infection in university students. *The Journal of Infectious Diseases* 2013;207:80-8.
26. Hjalgrim H, Friberg J, Melbye M. The epidemiology of EBV and its association with malignant disease. In: Arvin A, Campadelli-Fiume G, Mocarski E, et al., eds. *Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis*. Cambridge 2007.

27. Takeuchi K, Tanaka-Taya K, Kazuyama Y, et al. Prevalence of Epstein-Barr virus in Japan: trends and future prediction. *Pathology International* 2006;56:112-6.
28. Xiong G, Zhang B, Huang MY, et al. Epstein-Barr virus (EBV) infection in Chinese children: a retrospective study of age-specific prevalence. *PLOS One* 2014;9:e99857.
29. Biggar RJ, Henle G, Bocker J, Lennette ET, Fleisher G, Henle W. Primary Epstein-Barr virus infections in African infants. II. Clinical and serological observations during seroconversion. *International Journal of Cancer* 1978;22:244-50.
30. Balfour HH, Jr., Holman CJ, Hokanson KM, et al. A prospective clinical study of Epstein-Barr virus and host interactions during acute infectious mononucleosis. *The Journal of Infectious Diseases* 2005;192:1505-12.
31. Henle G, Henle W, Diehl V. Relation of Burkitt's tumor-associated herpes-type virus to infectious mononucleosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1968;59:94-101.
32. Niederman JC, McCollum RW, Henle G, Henle W. Infectious mononucleosis. Clinical manifestations in relation to EB virus antibodies. *JAMA : The Journal of the American Medical Association* 1968;203:205-9.
33. Bornkamm GW. Epstein-Barr virus and the pathogenesis of Burkitt's lymphoma: more questions than answers. *International Journal of Cancer* 2009;124:1745-55.
34. De Paschale M, Agrappi C, Manco MT, Mirri P, Vigano EF, Clerici P. Seroepidemiology of EBV and interpretation of the "isolated VCA IgG" pattern. *Journal of Medical Virology* 2009;81:325-31.
35. Sener AG, Afsar I, Pinar E. Evaluation of Epstein-Barr virus antibodies, anti-VCA avidity by immunofluorescence and immunoblot assays for assessment of Epstein-Barr virus immunologic state. *Journal of Virological Methods* 2009;159:300-2.
36. Kreuzer C, Nabeck KU, Levy HR, Daghofer E. Reliability of the Siemens Enzygnost and Novagnost Epstein-Barr virus assays for routine laboratory diagnosis: agreement with clinical diagnosis and comparison with the Merifluor Epstein-Barr virus immunofluorescence assay. *BMC Infectious Diseases* 2013;13:260.
37. Wingerchuk DM. Environmental factors in multiple sclerosis: Epstein-Barr virus, vitamin D, and cigarette smoking. *The Mount Sinai Journal of Medicine, New York* 2011;78:221-30.
38. Bauer G. Simplicity through complexity: immunoblot with recombinant antigens as the new gold standard in Epstein-Barr virus serology. *Clinical Laboratory* 2001;47:223-30.

39. Pottgießer T SY, Wolfarth B, Bauer G. Epstein-Barr Virus Infektionen Diagnostik und Serologie. Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin 2008;59:126-7.
40. Okano M, Gross TG. Acute or chronic life-threatening diseases associated with Epstein-Barr virus infection. The American Journal of the Medical Sciences 2012;343:483-9.
41. Kivity S, Agmon-Levin N, Blank M, Shoenfeld Y. Infections and autoimmunity-- friends or foes? Trends in Immunology 2009;30:409-14.
42. Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: the role of infection. Annals of Neurology 2007;61:288-99.
43. Thacker EL, Mirzaei F, Ascherio A. Infectious mononucleosis and risk for multiple sclerosis: a meta-analysis. Annals of Neurology 2006;59:499-503.
44. Alotaibi S, Kennedy J, Tellier R, Stephens D, Banwell B. Epstein-Barr virus in pediatric multiple sclerosis. JAMA : The Journal of the American Medical Association 2004;291:1875-9.
45. Pohl D, Krone B, Rostasy K, et al. High seroprevalence of Epstein-Barr virus in children with multiple sclerosis. Neurology 2006;67:2063-5.
46. Levin LI, Munger KL, Rubertone MV, et al. Temporal relationship between elevation of Epstein-Barr virus antibody titers and initial onset of neurological symptoms in multiple sclerosis. JAMA : The Journal of the American Medical Association 2005;293:2496-500.
47. DeLorenze GN, Munger KL, Lennette ET, Orentreich N, Vogelman JH, Ascherio A. Epstein-Barr virus and multiple sclerosis: evidence of association from a prospective study with long-term follow-up. Archives of Neurology 2006;63:839-44.
48. Munger KL, Levin LI, O'Reilly EJ, Falk KI, Ascherio A. Anti-Epstein-Barr virus antibodies as serological markers of multiple sclerosis: a prospective study among United States military personnel. Multiple Sclerosis Journal 2011;17:1185-93.
49. Owens GP, Bennett JL. Trigger, pathogen, or bystander: the complex nexus linking Epstein-Barr virus and multiple sclerosis. Multiple Sclerosis Journal 2012;18:1204-8.
50. Almohmeed YH, Avenell A, Aucott L, Vickers MA. Systematic review and meta-analysis of the sero-epidemiological association between Epstein Barr virus and multiple sclerosis. PLOS One 2013;8:e61110.
51. Conradi S, Malzahn U, Schroter F, et al. Environmental factors in early childhood are associated with multiple sclerosis: a case-control study. BMC Neurology 2011;11:123.

52. Biggar RJ, Henle W, Fleisher G, Bocker J, Lennette ET, Henle G. Primary Epstein-Barr virus infections in African infants. I. Decline of maternal antibodies and time of infection. *International Journal of Cancer* 1978;22:239-43.
53. Venkitaraman AR, Lenoir GM, John TJ. The seroepidemiology of infection due to Epstein-Barr virus in southern India. *Journal of Medical Virology* 1985;15:11-6.
54. Yadav MS, Malliga N, Ablashi DV. Development of immunity to Epstein-Barr virus in Malaysian children. *Microbiologica* 1987;10:29-35.
55. Kangro HO, Osman HK, Lau YL, Heath RB, Yeung CY, Ng MH. Seroprevalence of antibodies to human herpesviruses in England and Hong Kong. *Journal of Medical Virology* 1994;43:91-6.
56. Morris MC, Edmunds WJ, Hesketh LM, et al. Sero-epidemiological patterns of Epstein-Barr and herpes simplex (HSV-1 and HSV-2) viruses in England and Wales. *Journal of Medical Virology* 2002;67:522-7.
57. Martro E, Bulterys M, Stewart JA, et al. Comparison of human herpesvirus 8 and Epstein-Barr virus seropositivity among children in areas endemic and non-endemic for Kaposi's sarcoma. *Journal of Medical Virology* 2004;72:126-31.
58. Fromont A, Binquet C, Sauleau EA, et al. Geographic variations of multiple sclerosis in France. *Brain* 2010;133:1889-99.
59. Statistische Ämter des Bundes und der Länder. Bevölkerungsdichte für Deutschland 2011. 2011. (Accessed November 3, 2014, at [https://ergebnisse.zensus2011.de/#MapContent:00,D1,m,.](https://ergebnisse.zensus2011.de/#MapContent:00,D1,m,))
60. Rea TD, Ashley RL, Russo JE, Buchwald DS. A systematic study of Epstein-Barr virus serologic assays following acute infection. *American Journal of Clinical Pathology* 2002;117:156-61.
61. de Ory F, Guisasola ME, Sanz JC, Garcia-Bermejo I. Evaluation of four commercial systems for the diagnosis of Epstein-Barr virus primary infections. *Clinical and Vaccine Immunology* 2011;18:444-8.
62. Kleines M, Scheithauer S, Ritter K, Hausler M. Sensitivity of the Enzygnost anti-EBV/IgG for the determination of the Epstein-Barr virus immune status in pediatric patients. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2006;55:247-9.
63. Lupo J, Germe R, Semenova T, Buisson M, Seigneurin JM, Morand P. Performance of two commercially available automated immunoassays for the determination of Epstein-Barr virus serological status. *Clinical and Vaccine Immunology* 2012;19:929-34.
64. Viramed Biotech AG. EBV ViraStripe. 2012. (Accessed November 8, 2014, at <http://www.viramed.de/de/viren/epstein-barr-virus/ebv-virastripe.>)



65. Institut Virion/Serion GmbH. Serion Elisa classic Epstein-Barr Virus IgG/IgM 2013. (Accessed November 8, 2014, at [http://www.virion-serion.de/fileadmin/templates/tpl1/global/download/flyer/Flyer\\_ELISA\\_classic\\_Epstein-Barr\\_Virus\\_DE.pdf](http://www.virion-serion.de/fileadmin/templates/tpl1/global/download/flyer/Flyer_ELISA_classic_Epstein-Barr_Virus_DE.pdf).)
66. Statistische Ämter des Bundes und der Länder. Personen nach Alter und Geschlecht für Berlin und Brandenburg. 2011. (Accessed November 1, 2013, at [https://ergebnisse.zensus2011.de/#dynTable:statUnit=PERSON;absRel=ANZAHL;ags=12,11;agsAxis=X;yAxis=ALTER\\_AF,GESCHLECHT](https://ergebnisse.zensus2011.de/#dynTable:statUnit=PERSON;absRel=ANZAHL;ags=12,11;agsAxis=X;yAxis=ALTER_AF,GESCHLECHT).)
67. Thierfelder W, Dortschy R, Hintzpeter B, Kahl H, Scheidt-Nave C. [Biochemical measures in the German Health Interview and Examination Survey for Children and Adolescents (KiGGS)]. Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz 2007;50:757-70.
68. Amt für Statistik Berlin-Brandenburg. Bevölkerung im Land Brandenburg am 31. Dezember 2011 nach amtsfreien Gemeinden, Ämtern und Gemeinden. 2011. (Accessed April 13, 2013, at [https://www.statistik-berlin-brandenburg.de/Publikationen/OTab/2013/OT\\_A01-12-00\\_124\\_201112\\_BB.pdf](https://www.statistik-berlin-brandenburg.de/Publikationen/OTab/2013/OT_A01-12-00_124_201112_BB.pdf).)
69. Landesvermessung und Geobasisinformation Brandenburg. Gemeinde- und Ortsteilverzeichnis. 2014. (Accessed September 12, 2014, at [http://www.geobasis-bb.de/GeoPortal1/produkte/orts\\_gem\\_reg.htm](http://www.geobasis-bb.de/GeoPortal1/produkte/orts_gem_reg.htm).)
70. Deutschland123 – Statistik zu jedem Ort in Deutschland. Suchmaschine. 2014. (Accessed July 14, 2014, at <http://www.deutschland123.de/>.)
71. Scheenstra R, Verschuuren EA, de Haan A, et al. The value of prospective monitoring of Epstein-Barr virus DNA in blood samples of pediatric liver transplant recipients. Transplant Infectious Disease 2004;6:15-22.
72. Bundesinstitut für Bevölkerungsforschung. Deutschlands Städte wachsen – erhebliche Unterschiede zwischen West und Ost. Bevölkerungswachstum nach Gemeinden, 2005-2010. 2012. (Accessed December 7, 2014, at [http://www.demografie-portal.de/SharedDocs/Informieren/DE/ZahlenFakten/Bevoelkerungswachstum\\_Gemeinden.html](http://www.demografie-portal.de/SharedDocs/Informieren/DE/ZahlenFakten/Bevoelkerungswachstum_Gemeinden.html).)
73. Hay DF, Payne A, Chadwick A. Peer relations in childhood. Journal of Child Psychology and Psychiatry 2004;45:84-108.
74. Bundesinstitut für Bevölkerungsforschung. Pressemitteilung Nr. 4/2013. Unterschiedliches Geburtenverhalten in Stadt und Land. 2013. (Accessed December 7, 2014, at [http://www.bib-demografie.de/SharedDocs/Publikationen/DE/Download/Grafik\\_des\\_Monats/2013\\_04\\_geburtenziffer\\_stand\\_land.pdf?\\_\\_blob=publicationFile&v=5](http://www.bib-demografie.de/SharedDocs/Publikationen/DE/Download/Grafik_des_Monats/2013_04_geburtenziffer_stand_land.pdf?__blob=publicationFile&v=5).)
75. Bove R, Chitnis T. Sexual disparities in the incidence and course of MS. Clinical Immunology 2013;149:201-10.

## Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Angelina Dorothea Beer, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Die Prävalenz des Epstein-Barr-Virus im Stadt-Land-Gefälle bei Kindern und Jugendlichen bis zum vollendeten 16. Lebensjahr“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -[www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/-in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autorin bin, entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

## **CURRICULUM VITAE**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

---

CURRICULUM VITAE

---



## DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Lutz Harms für die Überlassung und Betreuung des Themas.

Frau Dr. med. Berit Rosche möchte ich für die von immerwährender Ansprechbarkeit, Hilfsbereitschaft, gemeinsamer Problemlösung und großem Engagement geprägte Zusammenarbeit herzlichst danken.

Ein außerordentliches Dankeschön möchte ich aussprechen an Frau Dr. phil. Ulrike Grittner, Frau Dr. rer. nat. Sophie Piper und Kollegen/-innen des Instituts für Biometrie und klinische Epidemiologie, Center for Stroke Research, der Charité - Universitätsmedizin Berlin für die gute Zusammenarbeit bei der statistischen Datenauswertung, das hohe Engagement und die vielen produktiven mathematischen Gedanken, die die Komplexität der hier notwendigen Statistik abverlangte.

Bei den folgenden Laboren möchte ich mich für die freundliche Kooperation und unkomplizierte Bereitstellung von EBV-Serologien bedanken, die erst eine Datenauswertung in diesem Umfang möglich machten: Institut für Virologie Charité Campus Mitte (J. Hofmann), Institut für medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene – Universität Rostock (A. Podbielski), Institut für medizinische Diagnostik Berlin-Potsdam MVZ GbR (U. Küsters), Institut für medizinische Diagnostik Greifswald MVZ Labor Greifswald GmbH und Institut für medizinische Diagnostik Oderland - Ärztliches Labor Dr. med. Frank Berthold & Kollegen MVZ GbR (D. Bandt), Laborgemeinschaft Ostprignitz-Ruppin GbR - ehemalg Medizinisches Laboratorium Kyritz und Medizinische Laborpraxen Wittstock GbR - (M. Haßfeld), sowie MVZ Labor PD Dr. Volkmann und Kollegen GbR (S. Clerici). Außerdem bedanke ich mich bei der Kassenärztlichen Vereinigung Brandenburg, durch deren bereitgestellte Daten die komplexe statistische Auswertung erst möglich wurde.

Clemens Beer danke ich für die sprachliche Revision des englischen Abstrakts.

Zum Schluss möchte ich mich aus tiefstem Herzen bei meiner Mutter Kornelia Beer bedanken, die mir die Grundkenntnisse des Aufbaus und Schreibens einer wissenschaftlichen Arbeit vermittelte sowie die Dissertation sprachlich Korrektur las.