

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin
Sektion Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin

Leiter der Sektion: Prof. Dr. med. Dominique Singer

Mütterliche und kindliche Einflussfaktoren auf erhöhte Werte von Interleukin-6 und C-reaktivem Protein im Nabelschnurblut von Neugeborenen

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Andrea Franziska Boiger
aus Bad Tölz

Hamburg 2020

Angenommen von der Medizinischen Fakultät am: 19.10.2020

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Bernd Hüneke

Prüfungsausschuss, 2. Gutachter/in: Prof. Dr. Dominique Singer

Inhaltsverzeichnis

1.	Arbeitshypothese und Fragstellung.....	8
2.	Einleitung – Die Neugeborenenensepsis.....	8
2.1.	Einteilung.....	9
2.2.	Abhängigkeit des Erregerspektrums vom Übertragungsweg.....	9
2.3.	Risikofaktoren	10
2.3.1.	Mütterliche Faktoren.....	10
2.3.2.	Frühgeburtlichkeit	11
2.4.	Pathomechanismus – Akute-Phase-Reaktion	12
2.4.1.	Lokale Entzündungsreaktion.....	13
2.4.2.	Systemische Entzündungsreaktion	13
2.4.2.1.	Leber als Zielorgan.....	13
2.4.2.2.	Hypothalamus als Zielorgan.....	14
2.4.2.3.	Weitere Auswirkungen	14
2.5.	Klinisches Bild.....	14
2.6.	Diagnostik – Wichtigkeit der frühen Diagnosestellung	15
2.6.1.	Symptomatik.....	15
2.6.2.	Laborchemische Marker	15
2.6.2.1.	Interleukin-6	15
2.6.2.2.	C-reaktives Protein	17
2.6.2.3.	Andere laborchemische Marker.....	18
2.6.3.	Erregerkultur.....	18
2.7.	Therapie.....	18
2.7.1.	Kausale Therapie - Antibiotika.....	18
2.7.1.1.	Ampicillin	19
2.7.1.2.	Gentamicin/Tobramycin.....	20
2.7.1.3.	Cefotaxim	20
2.7.1.4.	Therapiedauer	21
2.7.2.	Supportive Therapie	21
2.8.	Komplikationen	22
3.	Methodik	24
3.1.	Votum der Ethikkommission	24
3.2.	Studienpopulation	24
3.2.1.	Einschlusskriterien.....	24
3.2.2.	Ausschlusskriterien.....	24
3.3.	Datengewinnung und Datenverarbeitung.....	25

3.3.1.	Datengewinnung aus venösem Nabelschurblut.....	26
3.3.1.1.	Blutabnahme im Kreißsaal	26
3.3.1.2.	Weitertransport ins Labor	27
3.3.1.3.	Laborchemische Auswertung.....	28
3.3.2.	Gewinnung weiterer Daten.....	28
3.4.	Datenauswertung	29
3.4.1.	Datenbank erstellen.....	29
3.4.2.	Statistische Auswertung	29
4.	Ergebnisse	31
4.1.	Studienpopulation	31
4.2.	Vergleich der Verteilung demographischer Faktoren bei den gesunden und kranken Neugeborenen.....	31
4.3.	Entzündungswerterhöhung.....	33
4.3.1.	IL-6-Erhöhung.....	33
4.3.2.	CRP-Erhöhung bei den gesunden Neugeborenen.....	35
4.4.	Einflussfaktoren auf das Interleukin-6.....	35
4.5.	Risikobewertung der signifikanten Einflussfaktoren	39
4.6.	Zusammenhang von I/T-Quotient, APGAR und mütterlichen Leukozyten.....	41
4.7.	Vergleich der gesunden Neugeborenen mit IL-6-Erhöhung und der kranken Neugeborenen.....	42
5.	Diskussion.....	50
5.1.	Limitation der Methodik	50
5.1.1.	Datenerfassung	50
5.1.2.	Fallzahlen.....	50
5.2.	Einordnung der Ergebnisse in den aktuellen Forschungsstand und Bewertung .	51
5.2.1.	Einordnung und Bewertung des ersten Analyseteils (gesund vs. gesund mit IL-6).....	51
5.2.2.	Einordnung und Bewertung des zweiten Analyseteils (gesund mit IL-6-Erhöhung vs. krank)	53
5.3.	Schlussfolgerung und Ausblick	55
6.	Zusammenfassung	57
7.	Summary	58
8.	Anhang.....	59
8.1.	Soarian®-Anleitung.....	59
8.2.	Aufklärungsbogen für die Eltern	60
8.3.	Ergebnisse der bivariaten Korrelationsanalyse	62
8.4.	Kreuztabellen mit Häufigkeitsverteilung	63
8.5.	Nicht-signifikante Boxplot-Vergleiche ohne relevante, erkennbare Unterschiede	63

9.	Literaturverzeichnis.....	66
10.	Danksagung.....	72
11.	Lebenslauf.....	73
12.	Eidesstattliche Erklärung	74

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
APP	Akute-Phase-Protein
APR	Akute-Phase-Reaktion
bzw.	beziehungsweise
Chi ² -Test	Chi-Quadrat-Test nach Pearson
CoNS	engl. Coagulase-negative staphylococci, Koagulase-negative Staphylokokken
CRP	C-reaktives Protein
CTG	engl. cardiotocography, Kardiotokographie
DIP	Dezeleration intra partu
DNA	engl. desoxyribonucleic acid, Desoxyribonukleinsäure
E.coli	Escherichia coli
EDTA	engl. ethylenediamine tetraacetic acid, Ethylendiamintetraessigsäure
EONS	early-onset Neugeborenenensepsis
et al.	et alii/et aliae
GBS	Gruppe B Streptokokken
IgG	Immunglobulin G
IL-1	Interleukin-1
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
ITQ	I/T-Quotient
JAK	Januskinase
LONS	late-onset Neugeborenenensepsis
M	Mittelwert
n	engl. number, Anzahl
p	p-Wert
PCT	Procalcitonin
r	Korrelationskoeffizient
s.	siehe
S. aureus	Staphylokokkus aureus
SD	Standardabweichung

SH2	Src-homology 2
SIRS	Systemisches inflammatorisches Response-Syndrom
SSW	Schwangerschaftswochen/Gestationsalter
STAT	Signal Transducers and Activators of Transcription
TNF- α	Tumor Nekrose Faktor α
UKE	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

1. Arbeitshypothese und Fragstellung

Obwohl die early-onset Neugeborenensepsis (EONS) sowohl bei reifen Neugeborenen als auch bei Frühgeborenen eine der Hauptursachen für Morbidität und Mortalität ist, bleibt ihre zuverlässige Diagnose eine große Herausforderung der Neonatologie (Camacho-Gonzales, et al., 2013). Die klinischen Symptome der Neugeborenensepsis sind unspezifisch und die derzeit verfügbaren Laborparameter besitzen eine nur unzureichende diagnostische Genauigkeit (Wynn, 2016; Mishra, et al., 2006).

Interleukin-6 (IL-6) findet bei Neugeborenen breite Verwendung als frühzeitiger und hochempfindlicher Infektionsparameter. Gleichzeitig ist jedoch bekannt, dass IL-6 insbesondere bei kritisch kranken Säuglingen eine geringe Spezifität bei der Diagnose der Sepsis besitzt (Ng, 2004; Hammerschlag, et al., 1977; Philip & Hewitt, 1980).

Da die Prognose der EONS wesentlich von einer frühen und effizienten Behandlung abhängt, führen empirisch durchgeführte Antibiotikatherapien infolge erhöhter IL-6 Werte zu einer weit verbreiteten unnötigen Exposition gegenüber unerwünschten Arzneimittelwirkungen sowie zu nosokomialen Komplikationen (Shane, et al., 2017).

Bisher haben nur wenige Untersuchungen den Zusammenhang zwischen IL-6 und nichtinfektiösen Zuständen bei gesunden Neugeborenen thematisiert.

Das Ziel dieser Arbeit war es, peripartale und neonatale Faktoren zu identifizieren, die bei Neugeborenen ohne klinische Anzeichen einer Infektion zu einer IL-6-Erhöhung führen, um auf diese Weise, die Spezifität von IL-6 in der Diagnose der EONS zu erhöhen.

2. Einleitung – Die Neugeborenensepsis

Der Grundsatz „*hit hard and hit early*“ gilt in vielen Bereichen der Medizin. Eines der wichtigsten Krankheitsbilder in der Pädiatrie, bei denen dieser Grundsatz höchste Priorität hat, ist die sogenannte Neugeborenensepsis. Diese ist eine schwere systemische Infektionserkrankung in den ersten Lebenstagen nach Geburt mit nicht unbedeutender Prävalenz.

Studien zeigen, dass bis zu 7% der Reifgeborenen aus Industrieländern innerhalb der ersten drei Tage nach der Geburt bei Verdacht auf Neugeborenensepsis eine antibiotische Therapie erhalten (Stocker, et al., 2017). Bei etwa 0,1% aller Lebendgeborenen kann letztendlich ein Erreger im Blut oder Liquor nachgewiesen werden (Cohen-Wolkowicz, et al., 2009; Stoll, et al., 2011; Weston, et al., 2011; Zemlin, et al., 2019). Betrachtete man nur

die Frühgeborenen mit < 1500 g Geburtsgewicht lag der prozentuale Anteil noch höher bei ca. 1,5% (Zemlin, et al., 2019).

Im Folgenden wird erläutert, was eine Neugeborenenensepsis ist, wie sie entsteht und wie man sie diagnostiziert und behandelt, um anschließend mit aktuellen Studiendaten zu eruieren, ob es nicht auch Neugeborene gibt, denen man eine Antibiotikatherapie ersparen könnte.

2.1. Einteilung

Die Neugeborenenensepsis ist die häufigste Erkrankung des Neugeborenen und insbesondere aufgrund ihrer hohen Morbidität und Mortalität nicht zu vernachlässigen (Gortner, et al., 2012; Simonsen, et al., 2014). Sie ist eine systemische Infektionserkrankung, die in die frühaufretende (early-onset) und die spätaufretende (late-onset) Form unterteilt wird. Erstere tritt bis 72 h nach Geburt auf und letztere erst ab einem Lebensalter von 72 h (Shah & Padbury, 2014). Die beiden Formen unterscheiden sich allerdings nicht nur in ihrem zeitlichen Auftreten, sondern vor allem auch in ihrem Erregerspektrum und Übertragungsweg (Zemlin, et al., 2019).

2.2. Abhängigkeit des Erregerspektrums vom Übertragungsweg

Bei einer early-onset Neugeborenenensepsis (EONS) finden sich sowohl gram-negative als auch gram-positive Erreger, wobei bei Frühgeborenen mit niedrigem Geburtsgewicht die gram-negativen, wie *Escherichia coli* (*E.coli*) oder *Hämophilus influenzae* überwiegen und bei Reifgeborenen Gruppe B Streptokokken (GBS) als gram-positive Keime am häufigsten ursächlich sind (Hornik, et al., 2012; Zemlin, et al., 2019). Multiresistente Keime als Ursache einer Neugeborenenensepsis sind in Deutschland selten und treten vorwiegend bei Frühgeborenen auf, deren Mütter präpartal mehr als zwei Tage eine antibiotische Therapie erhielten (Moore, et al., 2013). Diese und viele weitere Bakteriengruppen können sich in der mütterlichen Rektovaginalflora finden, vertikal auf das Neugeborene übertragen werden und schließlich eine EONS verursachen (Shane, et al., 2017). Aber auch eine virale (z.B. Herpes simplex) oder fungale (*Candida*-Spezies) Genese der Sepsis ist in seltenen Fällen möglich. Bei diesen Erregern spricht man jedoch noch bis 7 Tage nach Geburt von einer EONS (Zemlin, et al., 2019; Simonsen, et al., 2014). Die vertikale Übertragung des Erregers kann sowohl vor der Geburt über das Fruchtwasser oder die plazentare Verbindung zur Mutter erfolgen, als auch während der Geburt durch Besiedelung des Geburtskanals oder des mütterlichen Genitalbereichs (Simonsen, et al., 2014).

Hingegen spielt bei der late-onset Neugeborenenensepsis (LONS) eher die Umgebungsflora des Neugeborenen bei der Übertragung eine Rolle, da diese häufig Katheter- oder Beatmungsassoziiert ist. Wichtige Erregergruppen sind hierbei Koagulase-negative Streptokokken (CoNS), *Staphylokokkus aureus* (*S. aureus*) oder Enterobakterien (Zemlin, et al., 2019). Im Weiteren wird sich hauptsächlich auf die bakterielle EONS bezogen.

2.3. Risikofaktoren

Geläufige Risikofaktoren lassen sich aus dem Erregerspektrum und dem Übertragungsweg ableiten. Hierbei unterscheidet man vor allem zwischen mütterlichen und kindlichen Faktoren (Simonsen, et al., 2014). Die Kombination aus mehreren Risikofaktoren erhöht die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer Neugeborenenensepsis (Polin, 2012).

2.3.1. Mütterliche Faktoren

Die vertikale Übertragung bei Vorliegen einer mütterlichen Infektion gilt als einer der wichtigsten Risikofaktoren. Eine Erreger-Besiedelung des Geburtskanals bleibt von der werdenden Mutter unbemerkt. Symptome treten erst auf, wenn die Bakterien über die Cervix in den Uterus aufsteigen und damit auch das Amnion befallen (Kim, et al., 2015). Das Amnioninfektionssyndrom geht mit typischen Infektionszeichen wie Fieber, Tachykardie, Leukozytose und CRP-Erhöhung > 20 mg/l (Zemlin, et al., 2019) sowie einer uterinen Druckdolenz und vorzeitig einsetzenden Wehen einher. Hierdurch entsteht ein großes Risiko der Erregerübertragung auf den Fetus (Simonsen, et al., 2014; Tita & Andrews, 2010; Zemlin, et al., 2019).

Als Risikofaktor für ein Amnioninfektionssyndroms gilt die Übertragung (Tita & Andrews, 2010), da die Erreger mehr Zeit besitzen, um in die Uterushöhle aufzusteigen. Eine Übertragung geht außerdem in der Regel mit vielen zusätzlichen manuellen Manipulationen im Vaginal- und Cervixbereich einher (Simonsen, et al., 2014; Tita & Andrews, 2010; Polin, 2012), was ein zusätzliches Risiko für eine Erreger-Besiedelung darstellt. Zu den Manipulationen, die das Risiko einer ascendierenden Infektion erhöhen, zählen kleine Operationen während der Schwangerschaft wie eine Amniozentese oder eine Cervix-Cerclage, aber auch gehäufte vaginale Untersuchungen, eine unsterile oder mehr als 3 sterile Untersuchungen (Sankar, et al., 2008) während der Geburtsphase. Eine vaginale Entbindung mit Extraktionswerkzeug erhöht das Risiko ebenfalls (Simonsen, et al., 2014).

Der vorzeitige Blasensprung > 18 h vor Geburt (Zemlin, et al., 2019) sowie Mekonium tingiertes (grünes) oder faulig riechendes Fruchtwasser sind weitere Risikofaktoren für eine

EONS (Sankar, et al., 2008). Letztes ist jedoch nur in Kombination mit anderen Risikofaktoren von Bedeutung (Zemlin, et al., 2019).

2.3.2. Frühgeburtlichkeit

Im Fokus der kindlichen Risikofaktoren steht die Frühgeburtlichkeit, die mit all den zuvor erläuterten mütterlichen Risikofaktoren einhergehen kann. Die mit ihr verbundenen Probleme, wie ein sehr niedriges Geburtsgewicht, vor allem < 1500 g (Shah & Padbury, 2014), oder schlechte APGAR-Werte, sind auf die Unreife des Neugeborenen zurückzuführen (Martius, et al., 1999; Simonsen, et al., 2014).

Bei Frühgeborenen ist das Immunsystem noch unreif. Zugleich wurden während der Schwangerschaft unzureichend humorale Antikörper übertragen (Gortner, et al., 2012). In einer Studie von Baker und Kasper wurde gezeigt, dass maternale IgG-Antikörper gegen spezifische kapsuläre Polysaccharide der GBS vor einer Infektion schützen können. Im Gegenzug wurde auch gezeigt, dass eine geringe Antikörpermenge das Risiko für das Auftreten einer EONS steigert (Simonsen, et al., 2014; Baker & Kasper, 1976). Diese Antikörper werden vorwiegend in den letzten Schwangerschaftswochen übertragen, wodurch sich das erhöhte Risiko bei Frühgeborenen erklären lässt (Anderson-Berry, et al., 2015).

Weitere Risikofaktoren dieser speziellen Patientengruppe lassen sich von der Unreife diverser Organsysteme ableiten (Simonsen, et al., 2014).

Beispielsweise ist die Barrierefunktion von Haut und Schleimhaut bei Frühgeborenen noch nicht in vollem Umfang intakt (Simonsen, et al., 2014). Die Vernix ist eine lipid- und proteinreiche Schicht, die ab der 28. SSW gebildet wird (Kusari, et al., 2018), die unter anderem zum Schutz vor Wasserverlust, aber auch zur Unterstützung der Temperaturregulation benötigt wird (Kusari, et al., 2018). Bei Frühgeborenen können Erreger durch die schwache Hautbarriere, vor allem auch durch die nicht Vernix-bedeckten Schleimhäute, leichter aus der maternalen Flora oder der Umgebungsflora bei invasiven Maßnahmen wie Beatmung oder intravenöser Infusionstherapie in den Organismus eindringen (Simonsen, et al., 2014).

Die Lunge reift ebenfalls erst in den letzten Wochen der Schwangerschaft aus. Mit Vollendung der 34. SSW ist ausreichend Surfactant gebildet, um die Oberflächenspannung soweit herabzusetzen, dass die Lunge auch endexpiratorisch offengehalten werden kann. Zusätzlich gehört das pulmonale Surfactant zum angeborenen Immunsystem und verhindert das Eindringen von Erregern (Chronos, et al., 2009; Wright, 2005). Eine physiologische Surfactant-Konzentration und damit vollständige Funktion besteht erst ab

der 36. SSW. Da die Lungen bei Surfactantmangel aufgrund einer erhöhten alveokapillären Permeabilität bereits mit eiweißreichen Blutbestandteilen belastet sind, erhöhen sich das Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko durch weitere Entzündungsreaktionen bakterieller Genese (Gortner, et al., 2012).

2.4. Pathomechanismus – Akute-Phase-Reaktion

In den Organismus des Neugeborenen eingedrungene Erreger können eine Infektionskaskade auslösen, die sogenannte Akute-Phase-Reaktion (APR). Die APR ist sowohl eine systemische als auch eine metabolische Reaktion des Körpers auf Infektionen (Moshage, 1997). Sie kann zum einen wie bei der EONS durch bakterielle Erreger ausgelöst werden, zum anderen aber auch durch Gewebeschädigungen, Neoplasien oder immunologische Störungen (Heinrich, et al., 1990; Gabay & Kushner, 1999). Sinn und Zweck einer solchen Reaktion ist, die Gefahr für den Organismus abzuwehren und das Gleichgewicht wieder herzustellen (Moshage, 1997). Die APR lässt sich in zwei Phasen einteilen, eine lokale und eine systemische Entzündungsreaktion (Heinrich, et al., 1990).

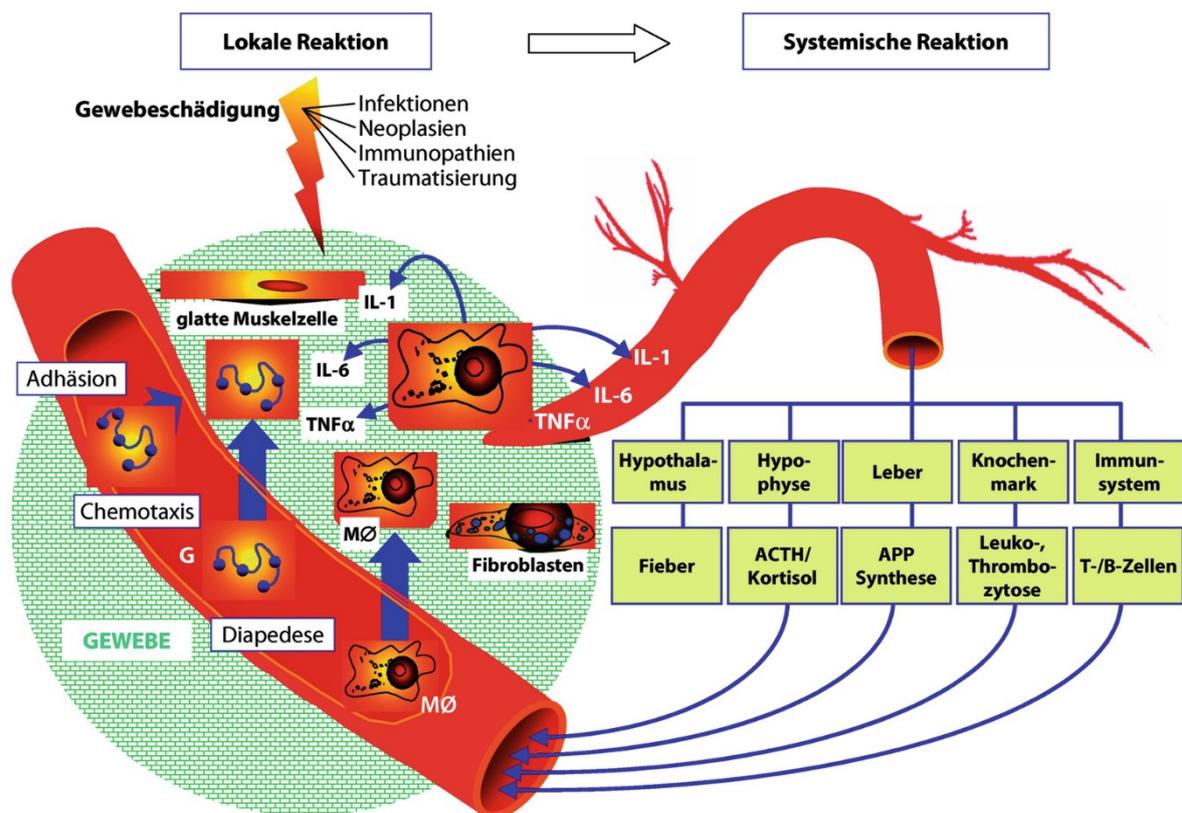


Abbildung 1 - Übergang von lokaler auf systemische Entzündungsreaktion (entnommen aus: Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik von A. Gressner und T. Arndt 2012)

2.4.1. Lokale Entzündungsreaktion

Infektionen verursachen im Körper Gewebsschädigungen, wodurch Chemokine freigesetzt werden und damit Leukozyten als erste Instanz einer APR aktivieren und zum Entzündungsgeschehen anlocken (Johnson, 2001). Daraufhin schütten Leukozyten sogenannte Alarmzytokine aus und leiten über verschiedenste Pathomechanismen eine lokale Entzündungsreaktion (Calor, Dolor, Rubor, Tumor und Functio laesa) ein (Gressner & Arndt, 2012). Zu diesen Alarmzytokinen gehören Interleuki-1, -6 und -8 sowie TNF- α . Zuerst reichern sich diese lokal an, bevor sie dann, wie in Abbildung 1 dargestellt, innerhalb weniger Stunden über die Blutbahn in andere Organe und Zellen transportiert werden (Schartl, et al., 2009).

2.4.2. Systemische Entzündungsreaktion

Sobald die Alarmzytokine ihre Zielorgane erreichen, kommt es zum systemischen Entzündungsgeschehen. Zu den Zielorganen zählen die Leber, der Hypothalamus, die Hypophyse, das Immunsystem und das Knochenmark (Gabriel, et al., 2000; Gressner & Arndt, 2012).

2.4.2.1. Leber als Zielorgan

Die wichtigste Rolle bei der APR spielt die Leber, denn hier induzieren die Alarmzytokine, wie zum Beispiel das IL-6 (Heinrich, et al., 1990), die Synthese von Akute-Phase-Proteinen (APP), den positiven Reaktanten (Schartl, et al., 2009).

Diese Signaltransduktion erfolgt über den JAK-STAT-Signalweg. Die Zytokine docken an ihren speziellen Zytokinrezeptor an und aktivieren diesen durch Dimerisierung. Die Janus-Kinasen (JAK) der beiden Rezeptorschenkel verbinden sich und es kommt zur Phosphorylierung der rezeptorintrinsic Tyrosinreste (Schartl, et al., 2009). Hier findet nun über die SH2-Domänen (Src-homology 2) eine Anlagerung von intrazellulären Signalmediatoren, den sogenannten STAT-Proteinen (signal transducers and activators of transcription), statt. Durch eine weitere freie SH2-Domäne und die Phosphorylierung lagern sich zwei STAT-Proteine zu einem Dimer zusammen und können so in den Zellkern gelangen (Schartl, et al., 2009). Hier lagert sich der STAT-Komplex an die DNA an und aktiviert die Transkription für APP. Zu diesen gehören unter anderem das CRP, Haptoglobin, Fibrinogen, α 1-Antitrypsin und Ferritin (Schartl, et al., 2009).

Diese APP besitzen verschiedene Aufgaben. Durch die Aktivierung des Komplementsystems wird das Immunsystem darin unterstützt, die Entzündung zu bekämpfen (Gabay & Kushner, 1999). Des Weiteren kann das CRP die Freisetzung von

Tissue Factor aus Monozyten induzieren, was gemeinsam mit einer gesteigerten Fibrinogenfreisetzung die Eingrenzung des Entzündungsherdes durch Gerinnungsaktivierung bewirkt. (Cermak, et al., 1993).

2.4.2.2. Hypothalamus als Zielorgan

IL-6 wirkt gemeinsam mit IL-1 und TNF- α als ein endogenes Pyrogen (Schartl, et al., 2009). Es kann durch die Hemmung thermosensitiver Neurone den Sollwert für die Körpertemperatur im anterioren Hypothalamus verändern und damit Fieber induzieren (Suerbaum, et al., 2016).

2.4.2.3. Weitere Auswirkungen

IL-6 stimuliert das Knochenmark, um die Produktion von neutrophilen Granulozyten und Thrombozyten zu steigern und damit die Entzündungsreaktion weiter anzustoßen (Schartl, et al., 2009). Auch die ACTH- und dadurch die Cortisol-Produktion werden durch die Zytokine der APR stimuliert. Hierdurch wird die Wirkung der Zytokine auf die Hepatozyten verstärkt und die Expression von APP erhöht (Baumann & Gaudie, 1994). Gleichzeitig wird die lokale Entzündungsreaktion durch eine negative Rückkopplung gehemmt (Heinrich, et al., 1990).

2.5. Klinisches Bild

Die Symptome einer EONS sind sehr unspezifisch, lassen sich aber größtenteils aus den zuvor beschriebenen Pathomechanismen ableiten (Zemlin, et al., 2019). Oftmals kommen die Eltern in die Notaufnahme, weil das Neugeborene „irgendwie nicht gut aussieht“ (Shah & Padbury, 2014).

Die Symptome sind bei Reifgeborenen in der Regel ausgeprägter als bei Frühgeborenen (Zemlin, et al., 2019):

Ein Anstieg der Körpertemperatur ist vor allem bei Reifgeborenen zu beobachten. Bei Frühgeborenen kann häufig ein Temperaturabfall festgestellt werden, da bei dieser Patientengruppe die Temperaturregulation noch nicht vollständig ausgereift ist (Shah & Padbury, 2014).

Die Atmung zeigt sich häufig gestört. Dies kann sich sowohl in einer Tachypnoe als auch in einer Bradypnoe bis hin zu rezidivierenden Apnoen >20 sec mit Sättigungsabfällen präsentieren (Zemlin, et al., 2019; Shah & Padbury, 2014).

Das Herz-Kreislauf-System reagiert ebenfalls auf die systemische Infektion. Hier zeigen sich die betroffenen Neugeborenen häufig mit einer Tachykardie und einem Hypotonus (Zemlin, et al., 2019). Bei bereits begonnener Zentralisierung verlängert sich folglich die Rekapillarierungszeit (>2 sec) und die Haut erscheint blass-gräulich mit Marmorierung als Zeichen der peripheren Durchblutungsstörung (Zemlin, et al., 2019).

Auch neurologische Auffälligkeiten zählen zu den typischen Anzeichen einer EONS. Das Neugeborene wirkt lethargisch, muskelhypoton und berührungsempfindlich (Zemlin, et al., 2019).

2.6. Diagnostik – Wichtigkeit der frühen Diagnosestellung

Die zuvor beschriebene Symptomatik ist unbehandelt rasch progredient und führt innerhalb von kürzester Zeit zum septischen Schock, sodass eine frühe Diagnostik und Therapie essentiell für die Prognose sind (Zemlin, et al., 2019).

2.6.1. Symptomatik

Die Kombination aus zuvor aufgeführten Symptomen erhöht die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer EONS. Je mehr gleichzeitig vorhanden sind, desto höher sind die Spezifität und Sensitivität des klinischen Erscheinungsbildes einzuordnen (Zemlin, et al., 2019).

2.6.2. Laborchemische Marker

Bei einem klinisch auffälligen Neugeborenen ist eine zeitnahe laborchemische Diagnostik indiziert, um eine Neugeborenenensepsis von möglichen Differentialdiagnosen abzugrenzen (Zemlin, et al., 2019). Entscheidend für die Aussagequalität der unterschiedlichen Marker ist der Bestimmungszeitpunkt (Niehues, 2017).

2.6.2.1. Interleukin-6

Interleukin-6 (IL-6) ist ein Zytokin, das von verschiedenen Zellen des Körpers, wie Immunzellen, Endothelzellen und Fibroblasten, ausgeschüttet wird, nachdem diese von Mikroorganismen oder Pathogen-assoziierten molekularen Mustern (PAMPs) über einen toll-like-Rezeptor stimuliert wurden (Chiesa, et al., 2015; Ulevitch, 2004).

Das Zytokin erfüllt mit dem Binden an den IL-6-Rezeptor auf der Membran unterschiedlicher Zelltypen verschiedenste Aufgaben (Rose-John, et al., 2006). IL-6 beeinflusst die Differenzierung und Proliferation von T- und B-Zellen (Schartl, et al., 2009) sowie die

Hämatopoese (Chiesa, et al., 2015). Außerdem induziert es auch die APR, indem es die Produktion von CRP, Serum Amyloid A und Fibrinogen stimuliert. Damit stellt es einen frühen Marker eines Entzündungsereignisses dar (Schartl, et al., 2009; Buck, et al., 1994).

In gesunden Menschen liegt das messbare Vorkommen von IL-6 im Serum bei ca. 1-5 pg/ml. Dies kann sich im Falle einer Infektion vervielfachen und auf mehrere µg/ml ansteigen (Chiesa, et al., 2015). Das Ausmaß des IL-6-Anstiegs korreliert jedoch nicht mit der Schwere der Neugeboreneninfektion (Buck, et al., 1994).

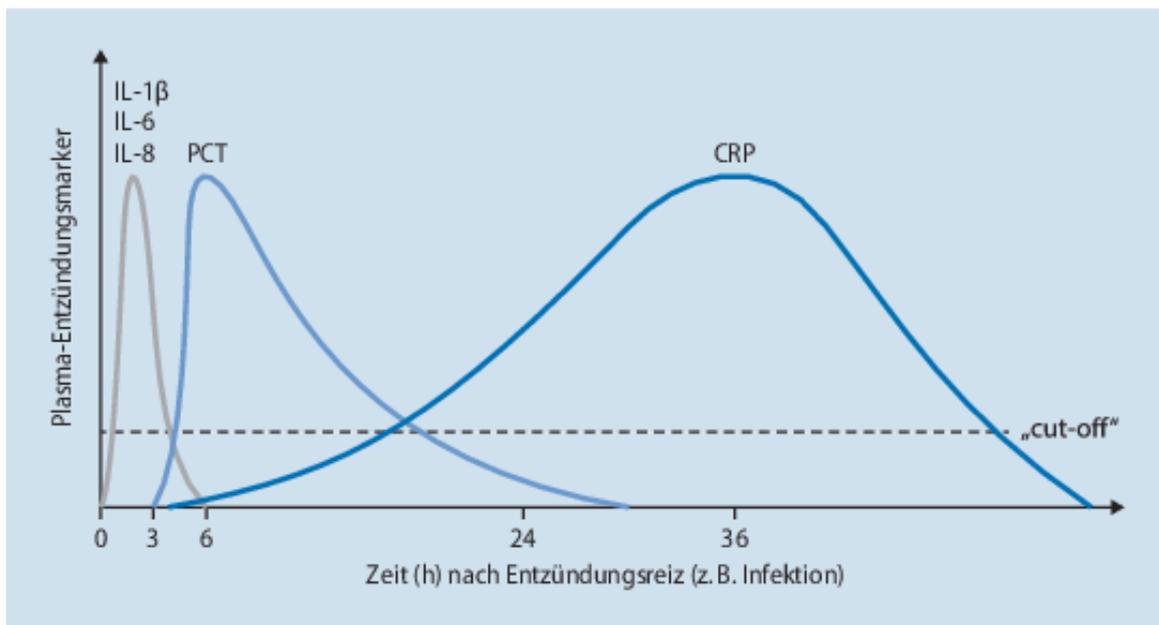


Abbildung 2 - Schematische Darstellung der Kinetik von CRP, PCT und IL-6 infolge eines infektiösen Geschehens; entnommen aus: (Niehues, 2017)

Wie in Abbildung 2 (Niehues, 2017) erkennbar, weist IL-6 einen frühen und schnellen Anstieg auf. Dies lässt sich durch die zuvor beschriebene Dynamik der APR erklären. Die Sensitivität mit etwa 78% (Simonsen, et al., 2014) für diesen Marker liegt somit in den ersten Stunden am höchsten. Aufgrund der kurzen Halbwertszeit ist bereits nach etwa 24 h mit einer Normalisierung dieses Entzündungsparameters zu rechnen (Buck, et al., 1994; Ng & Lam, 2006).

Durch den physiologischen Anstieg in den ersten 24 h nach der Geburt ist die Spezifität von IL-6 für die Diagnostik der Neugeboreneninfektion eingeschränkt. Zusätzlich zeigen Frühgeborene innerhalb der ersten 48 Stunden einen 2-6-fach stärkeren Anstieg von IL-6 als Reifgeborene (Chiesa, et al., 2015; Simonsen, et al., 2014). Ein solcher physiologischer Anstieg wird vorwiegend mit Stress in Verbindung gebracht (Chiesa, et al., 2015) und macht das Festlegen eines Grenzwertes für den Normbereich schwierig. In der Literatur findet

man Grenzwerte zwischen 10 und 100 pg/ml (Küster, et al., 1998; Buck, et al., 1994; Barug, et al., 2014; Messer, et al., 1996).

2.6.2.2. C-reaktives Protein

Das C-reaktive Protein (CRP) ist ein Akute-Phase-Protein und wird durch eine Stimulation mit IL-6 von Hepatozyten produziert. Normalerweise liegt die Serumkonzentration bei < 5 mg/dl, diese kann bei einer Infektion bis auf das 1000-fache ansteigen (Hofer, et al., 2012).

Durch diesen pathophysiologischen Ablauf der APR ist die Ausschüttung im Vergleich zum IL-6 zeitlich versetzt. Wie in Abbildung 2 ersichtlich, beginnt der langsame Anstieg des CRP erst mit dem IL-6-Peak nach etwa 8-12 h. Ab 24 h nach Infektionsbeginn ist mit einer deutlichen Serumkonzentrationssteigerung zu rechnen (Pourcyrous, et al., 1998; Polin, 2012). Somit hat das CRP zu Beginn der Infektion nur eine geringe Sensitivität von etwa 46%. Nach 24 h liegt diese bereits bei 97%. Gemeinsam mit einer Spezifität von 94% macht dies das CRP mit zu dem wichtigsten Marker in der Diagnostik der Neugeborenenensepsis (Zemlin, et al., 2019). Gleichzeitig zeigen diese Werte aber auch die größte Schwachstelle dieses Entzündungsparameters auf, da es sich um einen späten Sepsismarker handelt (Shah & Padbury, 2014) und bei der Diagnostik und Behandlung einer EONS jede Stunde zählt.

Aufgrund des hohen negativen prädiktiven Wertes kann bei zweimaliger negativer CRP-Bestimmung in einem Abstand von 24 h eine Neugeboreneninfektion mit 99,7% ausgeschlossen werden (Simonsen, et al., 2014). Da der positiv prädiktive Wert zwischen 93-100% liegt, ist bei einer CRP-Erhöhung die Infektion sehr wahrscheinlich (Shah & Padbury, 2014). Zudem ist eine endogene Synthese im Neugeborenen am wahrscheinlichsten, da das CRP nur in sehr geringer Konzentration plazentagängig ist (Hofer, et al., 2012).

Die Halbwertszeit von CRP liegt bei 24-48 Stunden (Shah & Padbury, 2014) und ist damit noch mehrere Tage lang nachweisbar. Entscheidend ist auch, dass die Serumkonzentration so lange erhöht bleibt, bis die Infektion abklingt, erst dann setzt der Abbau ein (Hofer, et al., 2012).

Im Gegensatz zu IL-6 steigt das CRP bei Frühgeborenen aufgrund von fehlender Ausreifung der Leber weniger stark an (Shah & Padbury, 2014).

Es zeigen sich jedoch auch CRP-Anstiege ohne Infektion. In einem Review von Hofer et al. wurden peripartales Fieber, ein vorzeitiger Blasensprung, aber auch Geburtsstress beispielsweise durch eine Vakuumextraktion, eine lange Geburtsperiode und Surfactant-Gabe mit erhöhten kindlichen CRP-Werten assoziiert (Hofer, et al., 2012).

2.6.2.3. Andere laborchemische Marker

Es gibt noch viele weitere Marker, die in der Literatur zur Sepsis-Diagnostik empfohlen, aber im neonatologischen Klinikalltag eher selten berücksichtigt werden. Hierzu gehören beispielsweise Procalcitonin (PCT) und Interleukin-8 (IL-8) (Simonsen, et al., 2014). PCT steigt bereits etwa 2 Stunden nach Infektionsbeginn an und erreicht seinen Peak schon nach 12 Stunden. Dieser Marker ist zwar sensitiver als das CRP, jedoch weist er in der Spezifität große Defizite auf (Polin, 2012). Zudem ist ein PCT-Anstieg später als beim IL-6 und ein Abfall früher als beim CRP zu erwarten, womit es keinen der beiden Marker effektiv ersetzen kann (Chiesa, et al., 2003). Das IL-8 hingegen verhält sich simultan zum IL-6 (Barug, et al., 2014), weshalb es in der Diagnostik keinen zusätzlichen Vorteil bringt. Aufgrund der höheren Kosten und bereits sehr guter gemeinsamer Sensitivität (90%) und Spezifität (73%) von IL-6 und CRP zu Beginn der Infektion, kommen PCT und IL-8 im klinischen Alltag kaum zum Einsatz (Zemlin, et al., 2019).

Ein weiterer Parameter, der in der aktuellen Leitlinie für Neugeborenensepsis aufgeführt wird, ist der I/T-Quotient (Zemlin, et al., 2019). Dieser wird aus dem erhobenen Differentialblutbild errechnet und beschreibt das Verhältnis von unreifen zu reifen neutrophilen Granulozyten. Quotient-Werte $< 0,2$ sprechen gegen ein infektiöses Geschehen (Zemlin, et al., 2019). Dieser Wert unterliegt postnatal jedoch erheblichen Schwankungen und ist mit seiner niedrigen Spezifität somit im Klinikalltag auch nur von eingeschränkter Bedeutung (Zemlin, et al., 2019).

2.6.3. Erregerkultur

Bevor eine Therapie eingeleitet wird, muss in jedem Fall eine Blut- und Urinkultur angelegt und bei neurologischer Symptomatik auch eine Liquorpunktion durchgeführt werden (Zemlin, et al., 2019). Das Ergebnis der Erregerkultur ist im Verlauf entscheidend für die erregerspezifische Therapieumstellung und Therapiedauer (Zemlin, et al., 2019)

2.7. Therapie

Wie schon einleitend erwähnt, ist die frühe und konsequente Therapie der EONS entscheidend für die Prognose (Zemlin, et al., 2019). Man unterscheidet zwischen der kausalen und der supportiven Therapie.

2.7.1. Kausale Therapie - Antibiotika

Die kausale Therapie bedeutet im Falle einer EONS eine medikamentöse 2-fach bis 4-fach-Therapie mit Antibiotika und ggf. Virostatika als kalkulierte Therapie, die bereits bei

klinischem Verdacht begonnen werden muss (Zemlin, et al., 2019). Die Auswahl der medikamentösen Therapie sollte ein möglichst breites zu erwartendes Erregerspektrum abdecken (Simonsen, et al., 2014). Nach Erhalt der Erregerkulturen (Urin, Blut, Liquor) kann die medikamentöse Therapie gezielt nach vorliegendem Antibiogramm umgestellt und gegebenenfalls deeskaliert werden (Zemlin, et al., 2019).

Zu den am häufigsten verwendeten Medikamenten bei EONS zählen Ampicillin, Gentamicin, Cefotaxim und Aciclovir. Die Kombination der ersten beiden Antibiotika wird bei Verdacht auf eine Neugeborenenensepsis regelmäßig eingesetzt (Aggarwal, et al., 2001), da sie zusammen bereits die beiden wichtigsten Erreger, GBS und E.coli, sowie einige andere wichtige Keime wie Listerien oder Enterokokken abdecken (Polin, 2012; Zemlin, et al., 2019). Besteht jedoch eine hohe Wahrscheinlichkeit für eine Resistenzbildung der gram-negativen Bakterien, zum Beispiel auf Intensivstationen, kann eine Kombination aus Ampicillin und Cefotaxim eingesetzt werden (Simonsen, et al., 2014). Letztere Kombination wird jedoch in der Regel nicht als First-Line-Therapie verwendet, da gezeigt wurde, dass Neugeborene mit dieser medikamentösen Kombination eine höhere Mortalitätsrate (Clark, et al., 2006) und eine erhöhte Resistenzbildung aufweisen (Polin, 2012). Bei einem Verdacht auf eine meningeale Beteiligung der EONS wird die antibiotische Therapie aufgrund der guten Liquorgängigkeit um Cefotaxim ergänzt (Simonsen, et al., 2014; Polin, 2012).

Kann eine virale Genese mit Herpesviren I oder II zu Beginn der Behandlung nicht ausgeschlossen werden, ist eine Therapie mit Aciclovir zwingend erforderlich (Simonsen, et al., 2014).

2.7.1.1. Ampicillin

Ampicillin gehört zu den Aminopenicillinen und wirkt als β -Lactam-Antibiotika vor allem auf gram-positive Erreger. Es wirkt durch die Bindung an die Transpeptidasen auf die bakterielle Zellwandsynthese bakterizid (Brodt, 2012). Zudem gehört Ampicillin aufgrund des geringen Nebenwirkungsspektrums zu den am besten verträglichen Antibiotika. Zu den häufigsten Nebenwirkungen gehören gastrointestinale Beschwerden (Frank, 2019), allergische Reaktionen oder toxisch bedingte Exantheme (Brodt, 2012). Zur Behandlung einer EONS eignet sich dieses Antibiotikum wegen seiner guten Wirksamkeit auf Gruppe-B-Streptokokken, Pneumokokken, Hämophilus influenzae, Enterokokken und Listerien (Frank, 2019; Brodt, 2012). Damit deckt Ampicillin schon einen sehr großen Anteil der Erreger, die als Ursache möglich sind, ab. E.coli als zusätzlich sehr wichtiger Erreger zeigte eine Ampicillin-Resistenzrate von 73,1%, welche bereits zu den Vorjahren stark anstieg (Zhu, et al., 2019).

2.7.1.2. Gentamicin/Tobramycin

E.coli und die übrigen gram-negativen Erreger müssen demnach durch ein anderes Antibiotikum abgedeckt werden. Die Kombination von Ampicillin mit einem Aminoglykosidantibiotikum führt somit zu einer Verbesserung des Outcomes (Schlech, 2019).

Gentamicin und Tobramycin gehören zu den Aminoglykosidantibiotika und stören durch die Bindung an die 30S-Untereinheit der Ribosomen die bakterielle Proteinbiosynthese, weshalb sie bakterioatisch und bakterizid wirken (Simonsen, et al., 2014). Zusätzlich wirkt Gentamicin nicht nur in der Proliferationsphase der Bakterien, sondern auch in der Ruhephase, wodurch die Wirksamkeit stark verbessert wird (Brodth, 2012).

Neben der guten Wirkung auf das zuvor genannte Erregerspektrum haben Aminoglykoside auch erhebliche, nicht zu vernachlässigende Nebenwirkungen. Hierzu gehören vor allem die Nephrotoxizität und die Ototoxizität, welche sich in der klinischen Relevanz bei Tobramycin und Gentamicin nicht unterscheiden (Brodth, 2012). Bei längerer Verabreichung muss der Medikamentenspiegel im Blut engmaschig überprüft werden, um das Risiko für diese Nebenwirkungen möglichst gering zu halten (Simonsen, et al., 2014).

2.7.1.3. Cefotaxim

Cefotaxim gehört zu den Cephalosporinen der Gruppe 3a und hemmt die Zellwandsynthese. Dieses Antibiotikum wird aufgrund seiner Betalaktamase-Stabilität bei Verdacht auf Resistenzen eingesetzt sowie aufgrund seiner guten ZNS-Gängigkeit bei entzündlich veränderten Meningen (Brodth, 2012).

Das dadurch abgedeckte Wirkspektrum schließt ähnlich wie bei den Aminoglykosiden vorwiegend gram-negative Erreger mit ein. Es ist auch gegen einige gram-positive Erreger wirksam, weist jedoch wie alle Cephalosporine eine Enterokokkenlücke auf (Aktories, et al., 2017). Die Kombination aus Ampicillin und Cefotaxim weist im Vergleich zu der Kombination aus Ampicillin und Gentamicin ein erhöhtes Mortalitätsrisikos bei Neugeborenen auf (Clark, et al., 2006). Aufgrund dessen wird Cefotaxim in der Regel nur als Ergänzung bei einem Verdacht auf meningeale Beteiligung zum empirischen Therapie-Schema hinzugefügt (Zemlin, et al., 2019).

Als unerwünschte Arzneimittelwirkungen zeigen sich vorwiegend Veränderungen der Darmflora und der Haut (Parker & Park, 1984) sowie reversible Serum- und Blutbildveränderungen. Zu beachten sind hierbei vor allem Transaminasenerhöhungen (Papadatos, et al., 1980; Thomas, et al., 1992).

2.7.1.4. Therapiedauer

Wie in Tabelle 1 aufgeführt wird, ist die empfohlene Therapiedauer mit 2 - 21 Tagen sehr variabel. Diese ist vor allem abhängig von den Erregerkulturen (Zemlin, et al., 2019). Ist die Blutkultur negativ und die laborchemischen Werte geben ebenfalls keinen Anhalt für eine EONS, kann die antibiotische Therapie bereits nach 36-48 h abgesetzt werden. Ist die Blutkultur positiv, sollte die Antibiotikatherapie mindestens 7 Tage fortgesetzt werden, bei Nachweis von *S. aureus* verlängert sich die Therapiedauer auf 14 Tage (Zemlin, et al., 2019).

Stellt sich auch ein Erregernachweis im Liquor dar, muss die Therapie je nach Erreger für bis zu 21 Tage fortgesetzt werden (Polin, 2012; Zemlin, et al., 2019).

Therapiedauer einer EONS

Klinische Konstellation	Therapiedauer
Meningitis mit Erregernachweis im Liquor	14 Tage (Streptokokken Gruppe B) 21 Tage oder länger (<i>E. coli</i> oder andere Gram-negative Erreger) länger bei Ventrikulitis, Hirnabszessen
Meningitis (erhöhte Granulozyten-Zahl) ohne Erregernachweis im Liquor mit positiver Blutkultur	10 Tage (Gram-positive Erreger) 14 Tage (Gram-negative Erreger)
Sepsis mit positiver Blutkultur	7-14 Tage in Abhängigkeit von Erreger, klinischem Zustand, Infektionsfokus und Laborwerten
Sepsis mit erhöhtem CRP, ohne Erregernachweis	Bis klinische Symptome negativ und CRP <10 mg/l, i.d.R. 5-10 Tage
Klinisch vermutete Sepsis ohne pathologische Laborwerte	Antibiotikatherapie beenden, wenn nach 36-48 Stunden klinische Infektionszeichen negativ und Blut-, ggf. Liquorkultur negativ

Tabelle 1 - Therapiedauer unter unterschiedlichen klinischen Voraussetzungen (entnommen aus: AWMF-Leitlinie „Bakterielle Infektionen bei Neugeborenen“ 2019, Michael Zemlin, et al.)

2.7.2. Supportive Therapie

Neben dem gezielten Vorgehen gegen die ursächliche Infektion kann man das Neugeborene mit gezielten Maßnahmen wie einer Oxygenierung und einer hämodynamischen Unterstützung entlasten (Jung, et al., 2015). Entscheidend hierbei ist, dass man dem Neugeborenen energieaufwendige Aufgaben abnimmt.

So kann man mit einem Wärmebettchen eine thermoneutrale Umgebung einrichten und

eine Hypo- oder Hyperthermie verhindern (Aggarwal, et al., 2001).

Eine Monitorüberwachung ist entscheidend, um in Fällen eines Abfalls der Sauerstoffsättigung mit Gabe von zusätzlichem Sauerstoff oder einer invasiven/nicht-invasiven Beatmung schnell eingreifen zu können.

Auch Blutzuckerwerte, Elektrolyte und pH-Wert sollten engmaschig kontrolliert werden, um das Neugeborene möglichst stabil halten zu können (Sankar, et al., 2008; Placzek & Whitelaw, 1983; Jung, et al., 2015).

Grundsätzlich gilt eine regelmäßige Vitalparameterkontrolle als essentiell, um auf eine akute Verschlechterung des klinischen Zustandes mit verschiedensten Maßnahmen sofort reagieren zu können (Jung, et al., 2015).

2.8. Komplikationen

Das Risiko für Frühgeborene, eine Komplikation zu entwickeln, ist höher als bei Reifgeborenen. Auch vom Erreger ist das Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko abhängig. Gram-negative Keime, allen voran E.coli, weisen bei Frühgeborenen eine höhere Komplikationsrate (29%) auf als Gram-positive Keime, wie GBS (3%) (Klinger, et al., 2010).

In einer Schweizer epidemiologischen Studie zur GBS-Sepsis zeigten sich unterschiedliche Komplikationen. 10% der Neugeborenen verstarben und 27% entwickelten einen septischen Schock. Insgesamt mussten ca. 70% der an EONS erkrankten Neugeborenen invasiv oder nicht-invasiv beatmet werden (Giannoni, et al., 2016).

Die akute Dekompensation des Neugeborenen wird in verschiedensten Studien als häufige Komplikation beschrieben und zieht eine intensivmedizinische Behandlung nach sich. Diese kann Kreislaufunterstützung, Beatmung, aber auch Transfusionsbedarf bei disseminierter intravaskulärer Koagulopathie oder Thrombozytopenie bedeuten (Simonsen, et al., 2014).

Es besteht auch die Gefahr von Spätfolgen einer EONS. Dazu gehört die Bronchopulmonale Dysplasie. Diese tritt vorwiegend bei Frühgeborenen mit Sauerstoffbedarf auf und macht sich später oft durch eine Asthmasymptomatik bemerkbar (Simonsen, et al., 2014; Jobe & Bancalari, 2001).

Zu den neurologischen Folgeschäden bei zerebraler Beteiligung durch eine Meningitis zählen Krampfanfälle, Seh- und Hörschädigungen und kognitive Auffälligkeiten (Simonsen, et al., 2014).

Typische Sepsis-assoziierte Komplikationen wie Endokarditis mit Klappendestruktion, Lungenarterienembolien oder Thrombosen können auch bei Neugeborenen auftreten, sind aber sehr selten (Simonsen, et al., 2014).

Auch der Tod ist ein nicht zu vernachlässigendes Outcome einer EONS. Auch hier ist das Risiko bei Frühgeborenen deutlich höher als bei Reifgeborenen. In einer US-amerikanischen Studie von 2005 bis 2008 wurde eine 10%ige Mortalitätsrate bei EONS festgestellt. Hierbei wurde der Unterschied zwischen Früh- (21,5%) und Reifgeborenen (1,6%) deutlich (Weston, et al., 2011).

3. Methodik

3.1. Votum der Ethikkommission

Vor Studienbeginn wurde regelkonform ein Antrag bei der Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg gestellt. Dieser enthielt ein Anschreiben, den ausgefüllten Fragenkatalog, das Studienprotokoll und das Aufklärungsblatt für die Eltern mit Einverständniserklärung (s. Anhang 8.2). Nach positivem Ethikvotum konnte die Studie mit der Datenerhebung Anfang März 2017 gestartet werden.

3.2. Studienpopulation

Insgesamt wurde von 500 Neugeborenen venöses Nabelschnurblut gewonnen. Um eine größere Vergleichsgruppe zu erhalten, wurden zudem weitere 69 retrospektiv und zufällig ausgewählte Neugeborene, die unmittelbar postnatal im Rahmen der klinischen Routine eine Laborkontrolle erhielten, in die Studie eingeschlossen. Unter diesen Studienprobanden befanden sich 57 Frühgeborene und 12 Reifgeborene.

Insgesamt wurden im Verlauf 35 Neugeborene ausgeschlossen. Bei 28 Neugeborenen zeigten sich klinische Infektionszeichen und bei 7 Neugeborenen konnten IL-6 und CRP aus der Blutprobe nicht bestimmt werden.

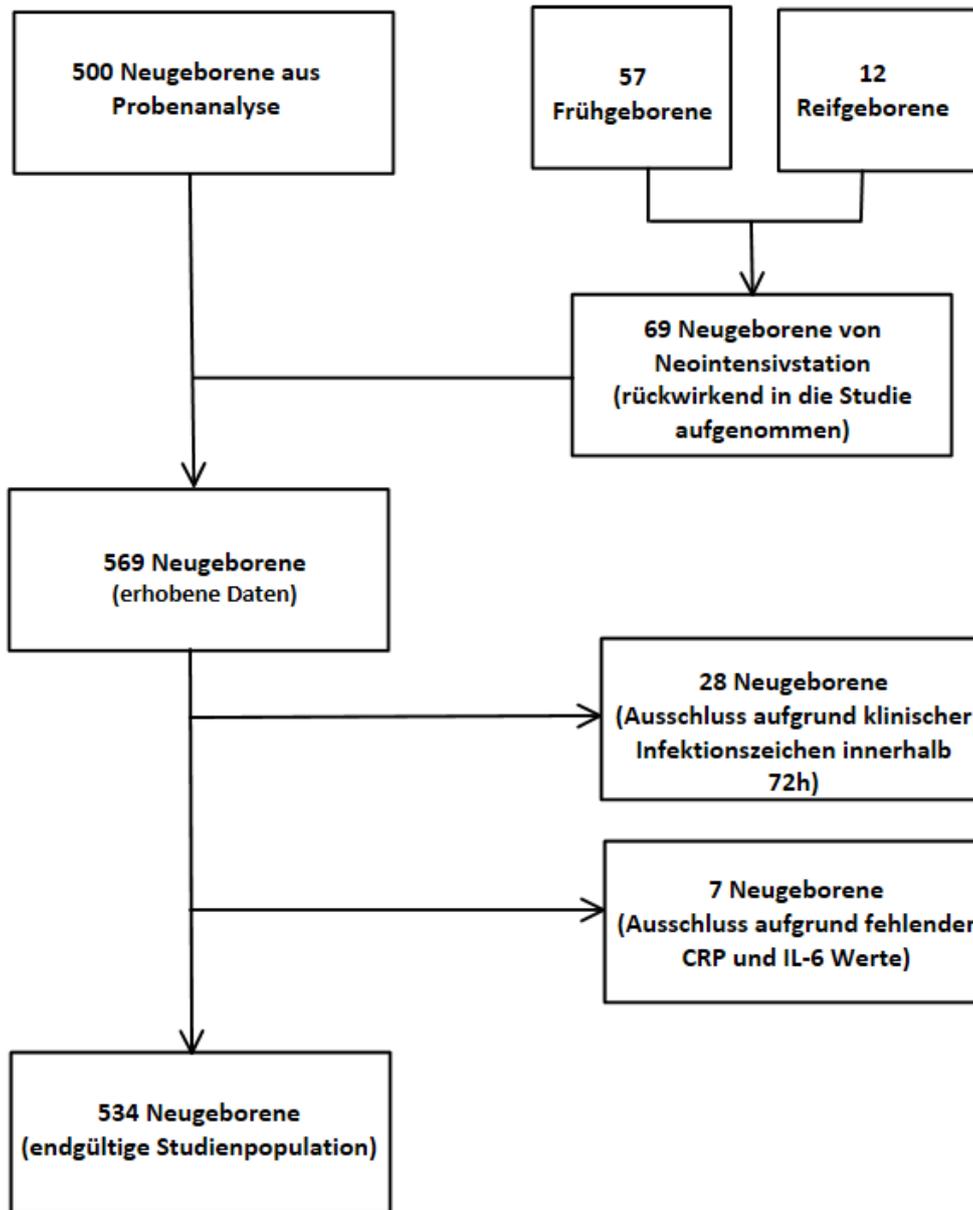
Die folgenden Ein- und Ausschlusskriterien beziehen sich ausschließlich auf die Neugeborenen, bei welchen Nabelschnurblut abgenommen wurde.

3.2.1. Einschlusskriterien

- Bei Geburt primär gesundes Neugeborenes (körperliche Anomalien werden nicht als krankhaft bewertet)
- Im Zeitraum 01.03.2017 bis 13.11.2017 im Kreißsaal des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf (UKE) geboren
- Vaginale Geburt oder Sectio caesarea
- Schriftliches Einverständnis der Eltern

3.2.2. Ausschlusskriterien

- Totgeburten
- Fehlendes schriftliches Einverständnis der Eltern
- Fehlen relevanter Daten
- Sekundärer Ausschluss aus der Hauptanalyse: Neugeborene mit positiven klinischen Infektionszeichen innerhalb der ersten 72 Lebensstunden



Grafik 1 - Zusammensetzung der zum Schluss bestehenden Studienpopulation aus 534 Neugeborenen

3.3. Datengewinnung und Datenverarbeitung

Die Studiendaten setzen sich aus den laborchemischen Auswertungen des venösen Nabelschnurblutes der Neugeborenen und den routinemäßig, prä- und peripartal sowie postnatal erfassten Daten zusammen.

3.3.1. Datengewinnung aus venösem Nabelschurblut

Die Blutentnahme wurde durch das Kreißsaal-Team, bestehend aus Ärztinnen und Ärzten sowie Hebammen des UKE, durchgeführt. Um dieses Prozedere möglichst in die Routine einzubauen, wurden wie in Abbildung 3 zu sehen, Studienblutentnahme-Sets bereitgestellt. Diese enthielten drei Monovetten (EDTA 2,5ml, Serum und Lithium-Heparin), eine Safety-Kanüle mit Monovettenadapter und eine Soarian®-Kurzanleitung (s. Anhang 8.1). Diese vorbereiteten Tüten lagen sowohl am Kreißsaalempfang, als auch in jedem Kreißsaal und im Sectio-OP bereit und wurden regelmäßig nachgefüllt.

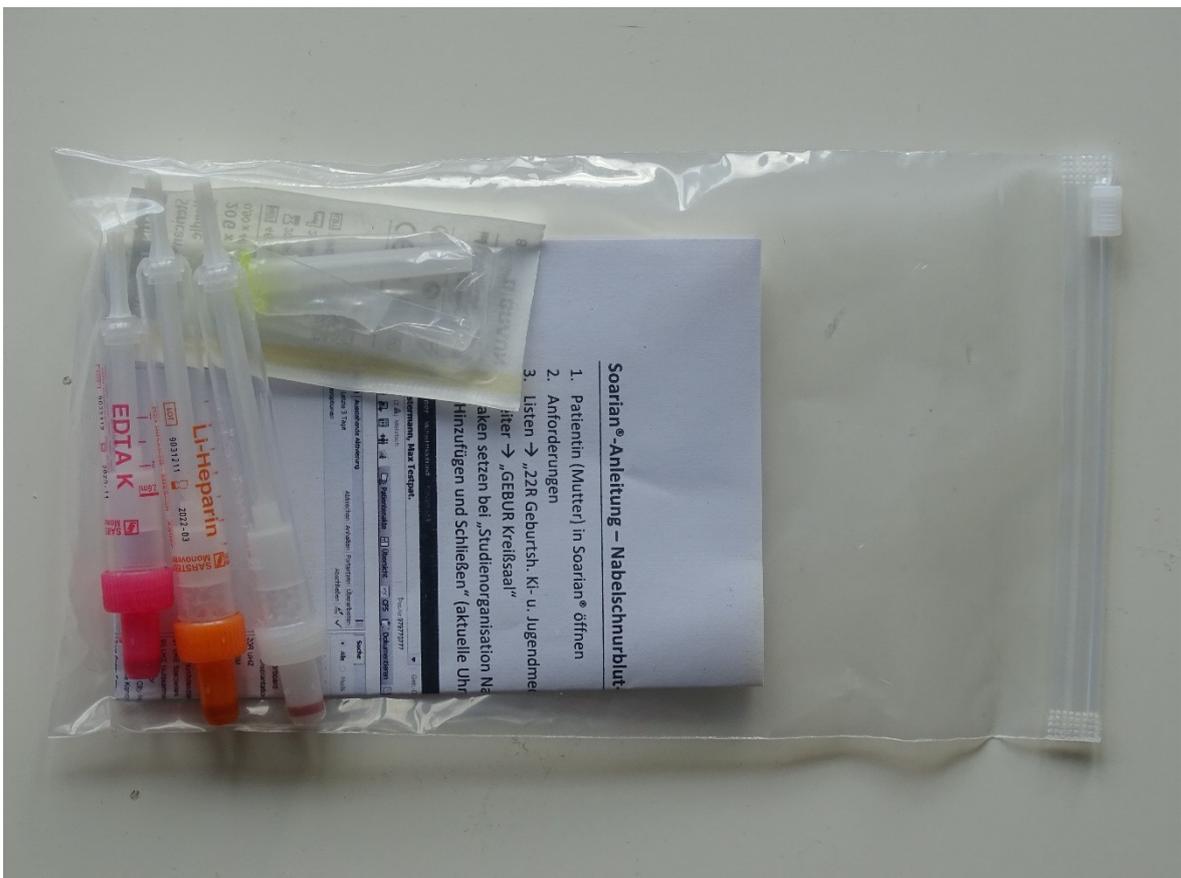


Abbildung 3 - Studienblutentnahme-Set bestehend aus einer Soarian®-Anleitung, je einer EDTA-, Lithium-Heparin- und Serum-Monovette sowie einer Safety-Kanüle mit Monovettenadapter

3.3.1.1. Blutabnahme im Kreißsaal

Die Blutentnahme erfolgte nach Abnabelung des Neugeborenen und bevor die Plazenta geboren wurde. In diesem Rahmen wird standardmäßig arterielles Blut für eine Blutgasanalyse aus dem Nabelschnurende entnommen, welches an der Plazenta verbleibt, um die aktuelle Gesundheitslage des Neugeborenen einschätzen zu können. Für die Studie wurden anschließend aus dem gleichen Stück der Nabelschnur die drei Monovetten mit

venösem Blut befüllt. Normalerweise verbleibt das venöse Blut in der Nabelschnur und wird nach der Geburt gemeinsam mit der Plazenta entsorgt.

Es ist darauf zu achten, dass das Blut noch nicht koaguliert ist, da es sonst im Labor nicht verwertet werden kann oder falsche laborchemische Ergebnisse akquiriert werden.

3.3.1.2. Weitertransport ins Labor

Gemeinsam mit dem Labor- und IT-Team wurde im Soarian®-Klinik-Informationssystem (Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) ein speziell für diese Studie bestimmter Reiter (s. Abbildung 4) angelegt, um die gewünschten Blutwerte möglichst einfach anfordern zu können.

In dem zuvor erwähnten Studienblutentnahme-Set befand sich auch eine Soarian®-Kurzanleitung (s. Anhang 8.1), worin Schritt für Schritt erklärt wurde, wie über diesen Studienreiter die benötigten vier patientenspezifischen Etiketten gedruckt werden können. Drei Etiketten waren für die Monovetten und ein Etikett für die Dokumentation bestimmt. Die fertig beklebten Monovetten wurden dann über die hausinterne Rohrpost ins Labor transportiert.

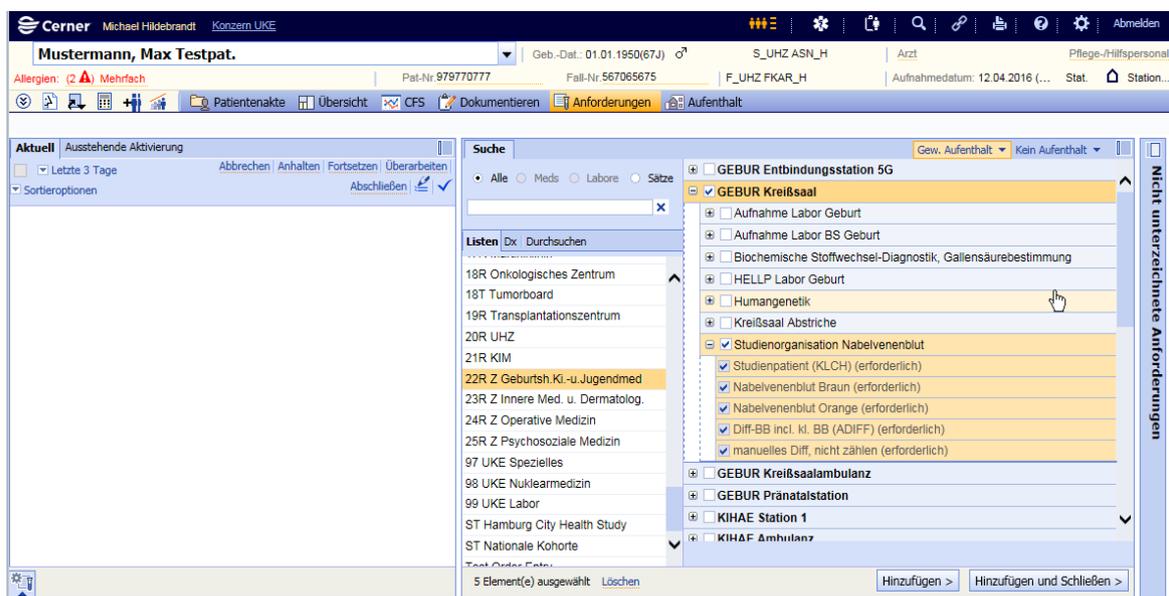


Abbildung 4 – Bildschirmaufnahme der Laboranforderung in Soarian®

Jedem Neugeborenen wurde durch den Etikettenausdruck über Soarian® zur Pseudonymisierung eine Probennummer zugewiesen, worüber man die Ergebnisse später manuell den richtigen Patienten zuordnen konnte. Entscheidend für die Studie war, dass die Laborergebnisse nicht in Soarian® erschienen und somit den normalen klinischen Ablauf nicht beeinflussten. Diese Verblindung der Daten für den Klinikalltag sollte unnötig

entstehende Konsequenzen für die Neugeborenen, wie einen längeren Klinikaufenthalt oder den Beginn einer antibiotischen Therapie verhindern.

3.3.1.3. Laborchemische Auswertung

Im Labor wurde aus dem EDTA-Röhrchen ein Blutbild und Blutausstrich maschinell mittels ADVIA® 2120i Hämatologie-System (Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) erstellt. Die Blutbilder wurden gedruckt und in einem Ordner gesammelt. Über die Probennummer erfolgte dann die Patientenzuordnung. Entscheidend war, dass hier die Rückmeldungskette über Soarian® unterbrochen sein musste, denn das Blutbild musste aus labor-technischen Gründen unmittelbar bestimmt werden und konnte im Gegensatz zu CRP und IL-6 nicht zu einem späteren Zeitpunkt über weggefrorenes Material analysiert werden.

Über die Blutausstriche ermittelte ich manuell mittels eines Immersionsmikroskops den prozentualen Anteil von unreifen neutrophilen und segmentkernigen Granulozyten. Für die Unterscheidung von segmentkernigen und stabkernigen Granulozyten wurde die Drittel-Regel verwendet (Schauseil, et al., 2013).

Aus den Heparin- und Plasma-Monovetten wurden je nach Menge des Materials mehrere 1 ml große Serum- und Plasma-Aliquots angefertigt und vorerst bei -80 °C weggefroren. Dies geschah, um die gleiche Probenqualität zu einem späteren Zeitpunkt gewährleisten zu können. Um zu verhindern, dass erhöhte CRP und IL-6 Werte an das medizinische Stationsteam weitergegeben wurden, fand die Bestimmung dieser Werte erst 2-3 Monaten nach Entnahme statt.

Die IL-6-Bestimmung erfolgte mittels Cobas® e 411 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) in Form eines Elektrochemilumineszenzverfahrens. Aufgrund der unterschiedlichen Festlegung des Cut-off-Wertes von IL-6 zwischen 10 und 100 ng/l in der Literatur (Zemlin, et al., 2019; Messer, et al., 1996), wählten wir nach eingehender Recherche und Abwägung der möglichen Beeinflussung der Ergebnisse den Cut-off-Wert für IL-6 bei 50 ng/l.

Das CRP wurde mit Hilfe des Dimension Vista® 1500 Analysesystems (Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) über eine Immunephelometrie bestimmt. CRP-Werte über 10 mg/l wurden als pathologisch gewertet.

3.3.2. Gewinnung weiterer Daten

Zusätzlich zu den Laborwerten wurden für die Studie noch weitere Daten erhoben, die routinemäßig im Kreißsaal vor, während und nach der Geburt durch das Kreißsaal-Team in View-Point® (General Electric Healthcare Company, Boston, Massachusetts, Vereinigte Staaten) dokumentiert werden.

Folgende Werte des Neugeborenen wurden erhoben: das Geburtsdatum, das Geschlecht, das Gewicht, das Gestationsalter (SSW) und der APGAR-Wert nach 5 min. Zudem wurde nach Entlassung auf Soarian® überprüft, ob das Neugeborene klinische Zeichen einer Infektion gezeigt hatte oder nicht.

Von der Mutter wurden folgende Daten aufgenommen: das Alter, die Größe, die maximale Temperatur bis 24 Stunden vor Geburt, der GBS-Status und das Bestehen eines Schwangerschaftshypertonus.

Zudem wurden über die Geburt selbst Daten erhoben: die Dauer des Blasensprungs und des Geburtsvorgangs, die Fruchtwasserfarbe, die Durchführung einer Antibiotika-Therapie oder Lungenreife und der Befund der Kardiotokographie (CTG). Nur eindeutig pathologische CTGs wurden als pathologisch gewertet.

3.4. Datenauswertung

Die erhobenen Daten wurden in einer pseudonymisierten und anschließenden anonymisierten Excel-Tabelle (Microsoft® Excel 2013, Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) zusammengetragen und vereinheitlicht, sodass die statistische Auswertung ermöglicht wurde.

3.4.1. Datenbank erstellen

Es existierten zwei voneinander getrennte, kennwortgesicherte Excel-Dateien. Die eine fungierte als Pseudonymisierungs-Datei. Hier wurden die Studienteilnehmer mit ihrer Probennummer dokumentiert und einer Studiennummer zugeordnet.

In der zweiten Excel-Tabelle befanden sich die eigentlichen Studiendaten, die nur noch den Studiennummern zugeordnet waren und ohne Pseudonymisierungs-Datei keinem Patienten zugeordnet werden konnten. Diese Datei wurde für die Statistik verwendet.

3.4.2. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung fand dann in Kooperation mit dem Institut für medizinische Biometrie und Epidemiologie statt. Bei einem Beratungstermin mit der Statistikabteilung wurde vor der Datenerhebung eine Power-Analyse durchgeführt.

Verwendet wurde das Statistikprogramm IBM® SPSS® Statistics 22.0 (SPSS, Chicago, USA). Daten zu mütterlichen und neonatalen Merkmalen wurden als Mittelwert und Standardabweichung oder Median sowie als Bereich für kontinuierliche Variablen und als Anzahl und Prozentsatz für kategoriale Variablen ausgedrückt. Methodisch wurden im ersten Teil der Analyse ein Chi-Quadrat-Test nach Pearson (χ^2 -Test), Test nach Fisher,

Mann-Whitney-U-Test sowie eine logistische Regression durchgeführt. Zur besseren Einordnung und Weiterverarbeitung der Ergebnisse wurden die metrischen und ordinalen Variablen sowohl mit ihren reellen Werten mittels Mann-Whitney-U-Test untersucht, als auch in gruppierter Form (pathologisch und nicht-pathologisch) mittels Test nach Fisher und Chi²-Test.

Im zweiten Teil der statistischen Analyse wurden die metrischen und ordinalen Variablen mittels Boxplot-Grafiken gegenüber gestellt und mittels Mann-Whitney-U-Test auf ihre Signifikanz geprüft. Die nominalen Faktoren wurden mittels Chi²-Test untersucht.

Als signifikant wurden die Ergebnisse bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ gewertet.

4. Ergebnisse

4.1. Studienpopulation

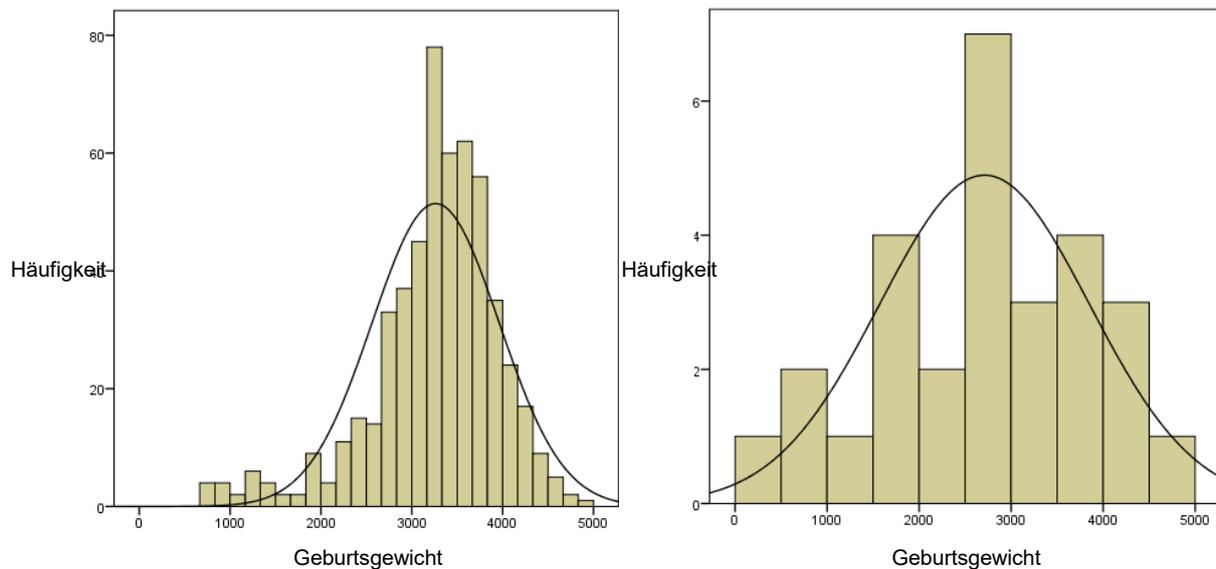
Für die Studie wurden 569 Neugeborene mit ihren Müttern untersucht. Klinische Infektionszeichen wurden bei 28 Neugeborene (12 Mädchen und 16 Jungen) beobachtet, weshalb diese nachträglich für den ersten Teil der statistischen Betrachtungen ausgeschlossen wurden. Somit wurden hierfür insgesamt 541 Neugeborene und ihre 529 Mütter in die Studie aufgenommen. Die Differenz zwischen den Neugeborenen und ihren Müttern kommt aufgrund der 12 Zwillingsschwangerschaften zustande. 7 der 541 Neugeborenen wurden im Verlauf der Analyse aufgrund lückenhafter Daten ausgeschlossen. Die erkrankten Neugeborenen mit ihren Müttern wurden in einer zweiten Datenanalyse gesondert betrachtet und mit den Ergebnissen der gesunden Gruppe verglichen.

4.2. Vergleich der Verteilung demographischer Faktoren bei den gesunden und kranken Neugeborenen

Zur Darstellung der Unterschiede zwischen den beiden Gruppen wurde die Verteilung der verschiedenen demographischen Parameter innerhalb der kranken und der gesunden Gruppe betrachtet.

Das Geschlecht der gesunden Neugeborenen war mit 48,8% (n=264) Mädchen und 51,2% (n=277) Jungen ausgeglichen verteilt (Binomial Test, $p=0,606$). 3,9% (n=21) der gesunden Neugeborenen wurden vor der 32+0 SSW, 11,3% (n=62) zwischen 32+0 SSW und 36+6 SSW und 84% (n=459) reif nach Vollendung der 37. SSW geboren.

Von den 28 kranken Neugeborenen waren 57,1% (n=16) männlich und 42,9% (n=12) weiblich. 28,6% (n=8) dieser Neugeborenen wurden vor der 32+0 SSW und 25% (n=7) zwischen 32+0 SSW und 36+6 SSW geboren. Die restlichen 13 (46,4%) waren Reifgeborene. Das am frühesten geborene Kind wurde in 24+0 SSW und das am spätesten geborene Kind mit 41+4 SSW zur Welt gebracht. Hier zeigte sich zwischen den beiden Gruppen (gesund vs. krank) ein deutlicher Unterschied, welcher sich auch im Geburtsgewicht (s. Grafik 2) widerspiegelt.



Grafik 2 – Häufigkeitsverteilung des Geburtsgewichts der Gruppe der gesunden (links) [$M = 3262,31$; $SD = 699,355$; $n = 541$] und der erkrankten Neugeborenen (rechts) [$M = 2710,36$; $SD = 1140,753$; $n = 28$].

Zwischen den beiden Histogrammen aus Grafik 2 zeigt sich ein deutlicher Unterschied, denn bei den gesunden Neugeborenen ist eine Annäherung an eine Gaus'sche Verteilungskurve zu erkennen. Diese Annäherung ist bei den erkrankten größtenteils aufgehoben. Ein großer Unterschied lag dabei jedoch in der Fallzahl der beiden Gruppen. So wurde die Gruppe der gesunden von insgesamt 541 Neugeborenen repräsentiert und die der erkrankten nur von 28.

Das Geburtsgewicht der gesunden Neugeborenen reichte von 780 g bis 4930 g, wobei der Mittelwert bei 3262 g und der Median bei 3340 g lagen. 25% der Neugeborenen waren leichter als 2937 g und 25% waren schwerer als 3712 g.

Im Vergleich dazu lagen das mittlere Gewicht (2710 g) und der Median (2790 g) der erkrankten etwa 500 g unter den Werten der gesunden Neugeborenen. In dieser Gruppe wogen die Neugeborenen zwischen 492 g und 4850 g.

Für die weitere statistische Auswertung war es sinnvoll, Gewichtsgruppen bei den gesunden Neugeborenen zu erstellen. Hierbei lagen 3,7% ($n=20$) unter 1500 g, 7,9% ($n=43$) zwischen 1500-2500 g und 88,4% ($n=478$) im Bereich des Normalgewichts über 2500 g.

Die Mütter der gesunden Gruppe waren mit einem mittleren Alter von 33 Jahren und einer Standardabweichung von 4,9 verteilt. Der Median lag nur 0,5 Jahre über dem Mittelwert. 25% der Mütter waren jünger als 30 Jahre, wobei die jüngste 18 Jahre alt war und 25% waren älter als 36 Jahre, mit der ältesten Mutter von 46 Jahren.

Die mütterliche Studienpopulation der erkrankten Neugeborenen unterschied sich bezüglich des Alters, statistisch gesehen, kaum von der der gesunden. Bei den 28 Müttern ergab sich ein mittleres Alter von 34 Jahren, mit der jüngsten Mutter von 18 Jahren und der ältesten von 56 Jahren. Der Median lag mit einer Standardabweichung von 7,4 bei 33,6 Jahren.

4.3. Entzündungswerverhöhung

Die Datengewinnung von beiden in die Studie einfließenden Entzündungsparametern gelang nicht bei allen Studienteilnehmern. So konnte bei 534 Neugeborenen ein IL-6 und bei 533 ein CRP bestimmt werden.

4.3.1. IL-6-Erhöhung

Um die gemessenen IL-6-Werte besser einordnen zu können, wurden die Ergebnisse nach einer Einteilung des Labor Chemnitz gruppiert und IL-6-Werte von ≥ 50 ng/l als signifikanter Anstieg betrachtet.

Wie in Tabelle 2 zu erkennen, war eine IL-6 Erhöhung bei 25 Neugeborenen festzustellen. 17 (3,1%) Neugeborene zeigten nur einen leichten Anstieg. Bei 3 (0,6%) Neugeborenen lagen die Werte zwischen 150 ng/l und 300 ng/l und bei weiteren 5 (0,9%) bei >300 ng/l. Der Mittelwert der gemessenen IL-6-Werte lag bei 19,9 ng/l mit einer Standardabweichung von 72,7. Der Median lag aufgrund der Ausreißer deutlich unter dem Mittelwert bei 7,4 ng/l. 25% (n=133) der Neugeborenen wiesen höhere Werte als 14,5 ng/l und 25% niedrigere als 4,2 ng/l auf. Der höchste Wert lag bei 868 ng/l.

Häufigkeitsverteilung von IL-6 unter den gesunden Neugeborenen

Interleukin-6 im Nabelvenenblut	Häufigkeit	Prozentualer Anteil
<50 ng/l	509	95,3
50-149 ng/l (leichter Anstieg)	17	3,2
150-300 ng/l (moderater Anstieg)	3	0,6
>300 ng/l (starker Anstieg)	5	0,9
Gesamt	534	100

Tabelle 2 - Häufigkeitsverteilung von IL-6-Werten der gesunden Neugeborenen: gruppiert in leichten, moderaten und starken Anstieg nach Angaben des „Labor Chemnitz – Zentrum für Diagnostik am Klinikum Chemnitz“

(<https://www.laborchemnitz.de/leistungsverzeichnis/detail/leistung/hirudineca-h.html>)

Im Vergleich dazu, wie in Tabelle 3 zu sehen, zeigten von den 28 Neugeborenen mit positiven Infektionszeichen nur 12 (42,8%) niedrige IL-6 Werte von < 50 ng/l. Bei knapp der Hälfte (n=16) der erkrankten konnte bereits bei Geburt eine IL-6-Erhöhung festgestellt werden.

Häufigkeitsverteilung von IL-6 unter den erkrankten Neugeborenen

Interleukin-6 im Nabelvenenblut	Häufigkeit	Prozentualer Anteil
<50 ng/l	12	42,9
50-149 ng/l (leichter Anstieg)	3	10,7
150-300 ng/l (moderater Anstieg)	4	14,3
>300 ng/l (starker Anstieg)	9	32,1
Gesamt	28	100

Tabelle 3 - Häufigkeitsverteilung von IL-6-Werten der erkrankten Neugeborenen: gruppiert in leichten, moderaten und starken Anstieg nach Angaben des "Labor Chemnitz - Zentrum für Diagnostik am Klinikum Chemnitz"

(<https://www.laborchemnitz.de/leistungsverzeichnis/detail/leistung/hirudineca-h.html>)

4.3.2. CRP-Erhöpfung bei den gesunden Neugeborenen

Eine CRP-Erhöpfung (CRP >10 mg/l) konnte nur in einem Fall festgestellt werden, weswegen dieser Fall im Folgenden einzeln betrachtet wird.

Das gesunde Neugeborene war ein in der 37. SSW reifgeborenes Mädchen, vaginal entbunden, mit einem Geburtsgewicht von 3625 g und einem APGAR von 10 nach 5 min. Im Nabelschnurblut wurden ein CRP von 13,1 mg/l und ein IL-6 von 148,7 ng/l gemessen. Des Weiteren zeigten sich im Differenzialblutbild leicht erhöhte unreife neutrophile Granulozyten (Wert: 0,23; Normwerte: <0,15) und ein erhöhter I/T-Quotient von 0,31 (Normwert: 0,15-0,25). Alle weiteren Blutwerte befanden sich im Normbereich.

Die 35-jährige Mutter des Neugeborenen zeigte im Blutbild eine erhöhte Leukozytenzahl (16,5 Mrd/l). Ein CRP wurde nicht gemessen.

Unter den restlich erhobenen Daten fielen ein pathologisches CTG, trübes Fruchtwasser und eine peripartale Antibiotikatherapie aufgrund eines positiven GBS-Status auf.

Insgesamt lag bei diesem Fall mit hoher Wahrscheinlichkeit ein beginnendes Amnioninfektionssyndrom vor, bei dem das Neugeborene trotz erhöhter laborchemischer Entzündungsparameter klinisch stets unauffällig blieb.

4.4. Einflussfaktoren auf das Interleukin-6

Insgesamt wurden 27 Faktoren auf einen Zusammenhang mit einer IL-6-Erhöpfung untersucht.

Mittels Kreuztabelle, Chi²-Test nach Pearson und Exaktem Test nach Fisher konnte bei 11 Faktoren in einer Einzelbetrachtung ein signifikanter Zusammenhang mit einer IL-6-Erhöpfung gezeigt werden.

In Tabelle 4 sind die drei Faktoren zusammengefasst, die als nominale Variable statistisch ausgewertet werden konnten. Der deutlichste Unterschied konnte beim trüben Fruchtwasser (p=0,001) mit einer prozentualen Differenz von 11,9% gezeigt werden. Weiterhin gaben auch die Signifikanzwerte des pathologischen CTGs (p=0,003) und der Lungenreifetherapie (p=0,043) Anhalt für einen Zusammenhang mit einer Interleukin-6-Erhöpfung.

Signifikanter Einfluss auf IL-6 nominaler Variablen

Faktoren	gesamte Studienteilnehmerzahl	Anteil an Neugeborenen mit IL-6 an positivem Faktor	Anteil an Neugeborenen mit IL-6 an negativem Faktor	Signifikanz <i>p</i>
pathologisches CTG (Chi-Quadrat)	524	9,4% von 138	3% von 386	0,003
trübes Fruchtwasser (Fisher)	525	15,3% von 59	3,4% von 466	0,001
Lungenreifetherapie (Fisher)	532	11,6% von 43	4,1% von 489	0,043

Tabelle 4 – Signifikante nominale Einflussfaktoren auf eine IL-6-Erhöhung. Dargestellt wurde der Anteil der Neugeborenen mit IL-6-Erhöhung an allen Neugeborenen in den verschiedenen Gruppen. Die pathologische Gruppe wurde rot markiert.

Bei den Einflussfaktoren in Tabelle 5 zeigten sich insgesamt deutliche prozentuale Unterschiede zwischen der pathologischen und der physiologischen Gruppe. In dieser statistischen Auswertung konnte zwischen maternalen Leukozyten und der IL-6-Erhöhung eine klare Abhängigkeit identifiziert werden ($p=0,002$). Den klarsten prozentualen Unterschied erbrachten die kindlichen unreifen Granulozyten aus dem Differentialblutbild ($p=0,002$). 50% der Neugeborenen mit pathologischen Werten ($> 0,15$) wiesen ein erhöhtes IL-6 auf, wohingegen bei den Neugeborenen mit normwertigen unreifen neutrophilen Granulozyten nur 4,1% erhöhte IL-6-Werte präsentierten. Der I/T-Quotient spiegelte mit 27,3% zu 4,2% ein ebenso signifikantes Ergebnis ($p=0,012$) wieder.

Signifikanter Einfluss auf IL-6 metrischer Variablen

Faktoren	gesamte Studienteilnehmerzahl	Anteil an Neugeborenen mit IL-6 an pathologischen Faktor-Werten	Anteil an Neugeborenen mit IL-6 an normalen Faktor-Werten	Signifikanz <i>p</i>
maternale Leukozyten (Chi-Quadrat)	476	10,1% von 138	3,3% von 338	0,002
kindliche unreife neutrophile Granulozyten (Fisher)	515	50% von 6	4,1% von 509	0,002
I/T-Quotient (Fisher)	534	27,3% von 11	4,2% von 523	0,012

Tabelle 5 - Einflussfaktoren, die in pathologische und physiologische Werte gruppiert wurden und eine signifikante Abhängigkeit ($p<0,05$) mit einer IL-6-Erhöhung aufzeigen. Dargestellt wurde der Anteil der Neugeborenen mit IL-6-Erhöhung an allen Neugeborenen in den verschiedenen Gruppen. Die pathologische Gruppe wurde rot markiert.

Bei fünf weiteren Faktoren (Gestationsalter, Geburtsgewicht, APGAR, kindlichen Leukozyten, kindlichen Thrombozyten) wurde zur Vereinfachung der statistischen Auswertung eine Unterteilung in jeweils drei Gruppen vorgenommen (Tabelle 6).

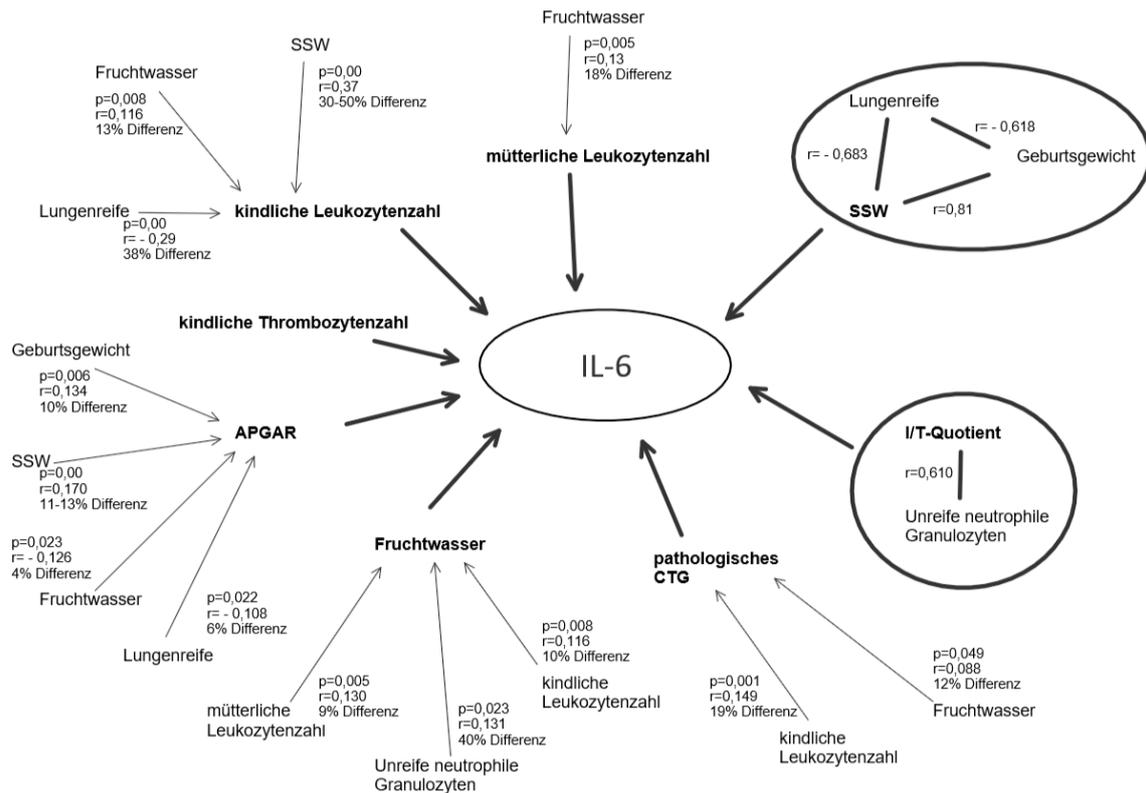
Bei vier der in Tabelle 6 aufgeführten signifikanten Faktoren [Gestationsalter ($p=0,008$), APGAR ($p=0,000$), Geburtsgewicht ($p=0,003$) und kindliche Thrombozyten ($p=0,036$)] war in den pathologischen Gruppen ein deutlich höherer Anteil von Neugeborenen mit IL-6-Erhöhungen im Vergleich zu der physiologischen Gruppe zu erkennen. Bei den kindlichen Leukozyten ($p=0,036$) zeigte sich zwar statistisch ebenfalls eine Abhängigkeit zu IL-6, aber nicht in die untersuchte Richtung, da bei keinem der Neugeborenen eine erhöhte Leukozytenzahl dokumentiert und unter den Neugeborenen mit erniedrigten Leukozyten keine IL-6-Erhöhungen gemessen werden konnte.

Signifikanter Einfluss auf IL-6 gruppierter Variablen

Faktoren	gesamte Studienteilnehmerzahl	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Signifikanz p
Gestationsalter (Fisher) gruppiert in <32+0 SSW, 32+0–36+6 SSW und >36+6 SSW	534	20% von 20	6,6% von 61	3,8% von 453	0,008
APGAR (Fisher) gruppiert in 0-3, 4-6 und 7-10 Punkte	534	100% von 1	57,1 von 7	3,8% von 526	0,000
Geburtsgewicht (Fisher) gruppiert in <1500g, 1500-2500g, >2500g	534	20% von 20	9,4% von 42	3,6% von 472	0,003
kindliche Leukozyten (Fisher) gruppiert in <9 Mrd/l, 9-34 Mrd/l und >34 Mrd/l	523	0% von 80	5,4% von 443	keine Daten	0,036
kindliche Thrombozyten (Fisher) gruppiert in <150 Mrd/l, 150-500 Mrd/l und >500 Mrd/l	523	5,4% von 37	4,3% von 485	100% von 1	0,036

Tabelle 6 - Einflussfaktoren, die in drei Gruppen geteilt wurden, um eine übersichtlichere Analyse zu gewährleisten und eine signifikante Abhängigkeit ($p<0,05$) zur IL-6-Erhöhung aufweisen. Dargestellt wurde der Anteil der Neugeborenen mit IL-6-Erhöhung an allen Neugeborenen in den verschiedenen Gruppen. Die pathologischen Gruppen wurden rot markiert.

Zur Überprüfung möglicher Korrelationen der 11 zuvor als signifikant erkannten Faktoren wurde eine bivariate Korrelationsanalyse durchgeführt. Hierbei stellte sich bei einigen eine Korrelation heraus (s. Anhang 8.3). Die anschließende Kreuztabellen-Analyse und graphische Darstellung (Grafik 3) der Abhängigkeiten, die auf medizinisch sinnvoller Überlegung basierte, konnte zeigen, dass zwar viele Faktoren eine gewisse Korrelation miteinander aufwiesen, aufgrund der Größe des Korrelationskoeffizienten jedoch nur bei wenigen Paaren von Faktoren ein relevanter [Kriterium: $r > 0,3$ und r signifikant $\neq 0$ ($p < 0,05$)] Zusammenhang festgestellt wurde:



Grafik 3 - Korrelationen der 11 signifikanten Faktoren untereinander mit Pearson's Korrelationskoeffizient r , p -Wert vom Testen der Hypothese, ob $r \neq 0$ ist und prozentualer Differenz in den Kreuztabellen.

Die Faktoren, die in Grafik 3 in schwarze Ringe zusammengefasst wurden, zeigten deutliche Korrelationen. Das Gestationsalter (SSW) korrelierte stark mit der Lungenreife und dem Geburtsgewicht [SSW x Lungenreife $r = -0,683$, SSW x Gewicht $r = 0,81$ und Lungenreife x Gewicht $r = -0,618$]. Außerdem zeigte der I/T-Quotient eine deutliche Korrelation mit den kindlichen unreifen neutrophilen Granulozyten [$r = 0,610$].

Für die weitere statistische Berechnung war aufgrund des deutlichen Korrelationskoeffizienten und der Kausalkette von unreifen neutrophilen Granulozyten auf I/T-Quotient und Lungenreife mit Geburtsgewicht auf das Gestationsalter (SSW) ein Weiterrechnen mit folgenden zwei Faktoren sinnvoll: der I/T-Quotient und das Gestationsalter (SSW).

Am Ende der Analyse blieben somit noch 8 Faktoren (Gestationsalter, I/T-Quotient, pathologisches CTG, trübes Fruchtwasser, APGAR, kindliche Thrombozyten, kindliche Leukozyten und maternale Leukozyten) übrig, die eine Auswirkung auf das IL-6 bei Neugeborenen zu haben schienen.

Von den zu Beginn 27 getesteten Faktoren zeigten 15 keine signifikante Abhängigkeit mit einem erhöhten IL-6 (s. Tabelle 7).

Faktoren ohne Signifikanz zu IL-6-Anstieg

<i>getestete Faktoren</i>	<i>p-Wert</i>	<i>Testverfahren</i>
Geschlecht	0,169	Chi-Quadrat nach Pearson
maternales CRP	0,541	
Antibiotikatherapie	0,421	
GBS	0,727	exakter Test nach Fisher
Geburtsmodus	0,524	
Hypertonus	1,000	
Neutrophile Granulozyten (gruppiert)	0,234	
Nabelschnur pH (gruppiert)	0,234	
segmentale Neutrophile Granulozyten (gruppiert)	1,000	
mütterliches Alter	0,899	Mann-Whitney Test
mütterliche Größe	0,486	
Kind-Mutter-Index	0,617	
Blasensprung [h vor Geburt]	0,486	
mütterliche Temperatur [bis 48h vor Geburt]	0,811	
Geburtsdauer	0,666	

Tabelle 7 - 15 Faktoren ohne signifikante Abhängigkeit mit einer IL-6-Erhöhung, unterteilt nach ihrem jeweiligem Testverfahren. Teilweise wurden auch hier Gruppierungen (gruppiert) aufgrund von Übersichtlichkeit und Sinnhaftigkeit erforderlich.

4.5. Risikobewertung der signifikanten Einflussfaktoren

Um nun eine Risikoabschätzung für einen IL-6-Anstieg für die einzelnen Faktoren zu erhalten, wurden zuerst die 8 Faktoren mittels logistischer Regression getestet. Hier zeigten sich zwar bei 4 Faktoren [I/T-Quotient, APGAR nach 5 min, mütterliche Leukozyten und Gestationsalter (SSW)] Signifikanzen mit relevanten Odds ratio > 1 (ITQ: 9,2, APGAR: 82,4, mütterliche Leukozyten: 3,4 und SSW: 41,1), jedoch waren die dazugehörigen 95%-Konfidenzintervalle verhältnismäßig breit und somit eine Aussage über den wahren Einfluss der Faktoren nur sehr ungenau zu treffen.

Bei einer anschließenden logistischen Regression der vier scheinbar relevanten Faktoren (s. Tabelle 8), ergab die statistische Auswertung ein ähnliches Bild. Auch hier ergaben sich, außer für die SSW, signifikante Zusammenhänge mit teils starken Odds ratio, aber wieder breiten 95%-Konfidenzintervallen. So zeigte sich beim I/T-Quotienten mit einem p-Wert von 0,015 und einem Odds ratio von 9,1 ein deutlicher Risikofaktor, der aber mit dem Konfidenzintervall von 1,5 bis 53,5 nicht sonderlich aussagekräftig war und eine Vorhersage, wie viel Einfluss dieser auf eine mögliche IL-6-Erhöhung wirklich hat,

unmöglich machte. Bei anderen Faktoren sah es ähnlich aus. Der APGAR weiste bei einer Odds ratio von 132,7 ein 95%-Konfidenzintervall zwischen 12,6 und 1401,4 auf. Der Faktor „mütterliche Leukozyten“ zeigte einen Odds ratio von 4,4 bei einem 95%-Konfidenzintervall von 1,7 bis 11,3. Das Gestationsalter (SSW) zeigte in dieser kleineren Analyse keine signifikanten Werte mehr.

Logistische Regression der 4 signifikanten Faktoren

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 ^a								
I/T-Quotient des Kindes	2,207	0,904	5,958	1	0,015	9,092	1,545	53,512
APGAR	4,888	1,203	16,519	1	0,000	132,695	12,564	1401,438
mütterliche Leukozyten [Mrd/l]	1,471	0,487	9,119	1	0,003	4,352	1,676	11,306
SSW	0,852	0,532	2,566	1	0,109	2,344	0,827	6,645
Constant	-4,048	0,406	99,185	1	0,000	0,017		

Tabelle 8 - Logistische Regression der vier relevanten Faktoren [Gestationsalter (SSW), APGAR, mütterliche Leukozyten und kindlicher I/T-Quotient]

Klassifikationstabelle der logistischen Regression

Observed			Predicted		
			K_IL6_gruphoch		Percentage Correct
			1.00	2.00	
Step 1	K_IL6_gruphoch	1.00	450	1	99,8
		2.00	20	5	20,0
Overall Percentage					95,6

Tabelle 9 – Prozentuale Klassifikationstabelle der logistischen Regression mit 4 Faktoren. (1.00 = IL-6 erhöht, 2.00 = IL-6 normwertig)

Zusätzlich kann man in der Klassifikationstabelle (s. Tabelle 9) der logistischen Regression erkennen, dass die Zuordnung in die IL-6-Gruppen nur unzureichend funktionierte. 20 der 25 Neugeborenen mit einem hohen IL-6-Wert wurden in diesem Verfahren in die Gruppe der normwertigen IL-6-Neugeborenen eingeordnet. Damit wurden nur 20% der Kinder mit erhöhtem IL-6 richtig zugeordnet. Bei den Neugeborenen mit normwertigem IL-6 waren es 99,8% (n=450).

Die ungenauen Odds-ratio-Angaben mit schlechter Aussagekraft sowie die schlechte Klassifizierung lassen sich auf die geringe Anzahl der Patienten mit IL-6-Erhöhung zurückführen. Somit waren die Gruppen für diese Analyse der binär logistischen Regression und damit der Risikoabschätzung zu unterschiedlich.

4.6. Zusammenhang von I/T-Quotient, APGAR und mütterlichen Leukozyten

Im nächsten Schritt wurden die Patienten mit einem erhöhten IL-6 bezogen auf die drei zuvor signifikant gezeigten Faktoren genauer betrachtet. Durch eine 3-stellige 0-1 Sequenz wurde das gleichzeitige Auftreten von spezifischen Ausprägungen der drei Variablen beschrieben. Dabei bedeutet 0 (bzw. 1), dass der Faktor-Wert physiologisch (bzw. pathologisch) war. Die erste Ziffer in dieser 0-1 Sequenz steht stellvertretend für den I/T-Quotient, die zweite für den APGAR nach 5 min und die dritte Ziffer für die mütterliche Leukozytenzahl.

Häufigkeitsverteilung dreier Faktoren mittels Zahlencode

Interleukin 6	Zahlencode	Häufigkeit	Gültige Prozenste
<50 ng/l	000	323	71,6
	001	122	27,1
	010	1	0,2
	100	3	0,7
	101	2	0,4
	Gesamt	451	100,0
50-149 ng/l	000	5	29,4
	001	9	52,9
	010	1	5,9
	011	1	5,9
	101	1	5,9
	Gesamt	17	100,0
150-300 ng/l	000	1	33,3
	010	1	33,3
	110	1	33,3
	Gesamt	3	100,0
>300 ng/l	000	1	20,0
	001	2	40,0
	010	1	20,0
	101	1	20,0
	Gesamt	5	100,0

Tabelle 10 - Häufigkeitsverteilung der 3 Faktoren in Form eines Zahlencodes (1. Stelle: I/T-Quotient, 2. Stelle: APGAR, 3. Stelle: mütterliche Leukozytenzahl); 0 = physiologisch, 1 = pathologisch)

Tabelle 10 zeigt die Häufigkeitsverteilung der verschiedenen Kombinationen der drei Faktoren. Hierbei zeigte sich, dass mit Anstieg des IL-6 die Wahrscheinlichkeit abnimmt, dass keiner der drei Faktoren erhöht ist. Bei normwertigem IL-6 hatten 71,6% (n=323) der Neugeborenen keinen pathologischen Wert, bei IL-6 von 50-149 ng/l (n=17) und 150-300

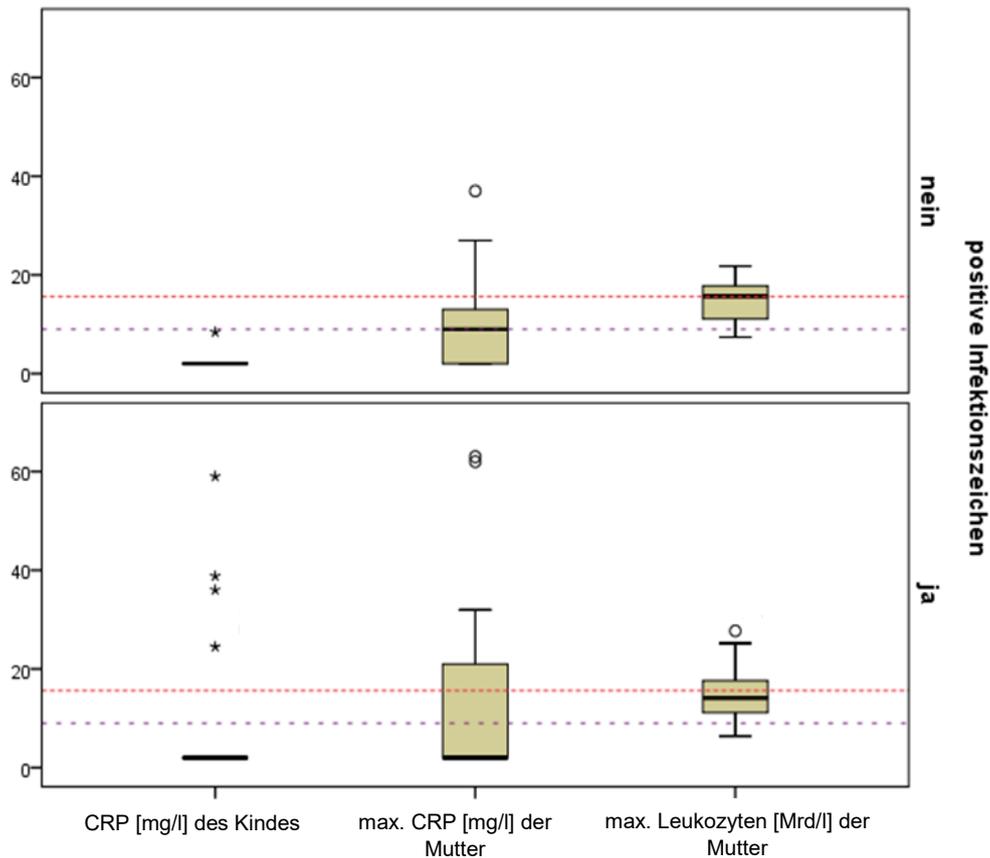
ng/l (n=3) waren es circa 30% und bei > 300 ng/l (n=5) nahm die Wahrscheinlichkeit noch weiter ab und lag bei 20% (n=1). Vor allem bei erhöhter mütterlichen Leukozytenzahl stieg der prozentuale Anteil mit Anstieg des IL-6. Bei einem kindlichen IL-6 < 50 ng/l wurde bei 27,5% (n=124) der Mütter ein pathologischer Wert der Leukozytenzahl dokumentiert. Bei den Neugeborenen mit Werten > 300 ng/l zeigten 60% (n=3) der Mütter pathologische Werte. Ebenfalls konnte ein Anstieg des prozentualen Anteils bei Vorliegen von zwei Faktoren beobachtet werden. Es wurde kein Fall dokumentiert, bei dem alle drei pathologischen Faktor-Werte vorlagen.

4.7. Vergleich der gesunden Neugeborenen mit IL-6-Erhöhung und der kranken Neugeborenen

Im Folgenden wird der Unterschied zwischen den gesunden Neugeborenen mit IL-6-Erhöhung und den kranken Neugeborenen herausgearbeitet. Mittels Kreuztabelle und Chi-Quadrat bzw. exakter Fisher-Test wurden die Gruppen bezüglich aller untersuchten Faktoren verglichen.

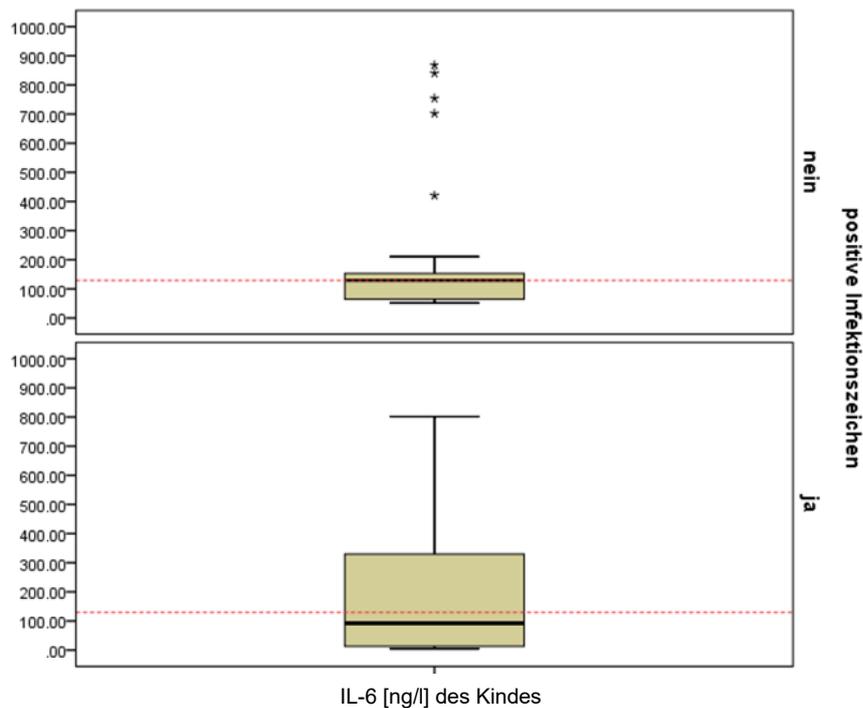
Hierbei zeigte sich, dass in beiden Gruppen die Häufigkeitsverteilungen aller Faktoren gleich waren ($p > 0,05$). Im Anhang (8.4) befinden sich die Kreuztabellen der zuvor signifikanten Faktoren. Speziell auch die als zuvor signifikant erkannten Einflussfaktoren (Gestationsalter (SSW) [$p=0,295$], APGAR [$p=0,845$], mütterliche Leukozytenzahl [$p=0,571$] und I/T-Quotient [$p=0,552$]) zeigten im Vergleich der Gruppen keinen signifikanten Unterschied.

Um die Unterschiede der metrischen Faktoren besser erkennen zu können, wurden diese über einen Box Plot Vergleich dargestellt und anschließend mit einem Mann-Whitney-U-Test genauer analysiert. Man erkannte bei zuvor schon beschriebenen, nicht-signifikanten Unterschieden der beiden Gruppen, dass diese trotzdem nicht vollkommen identisch waren.



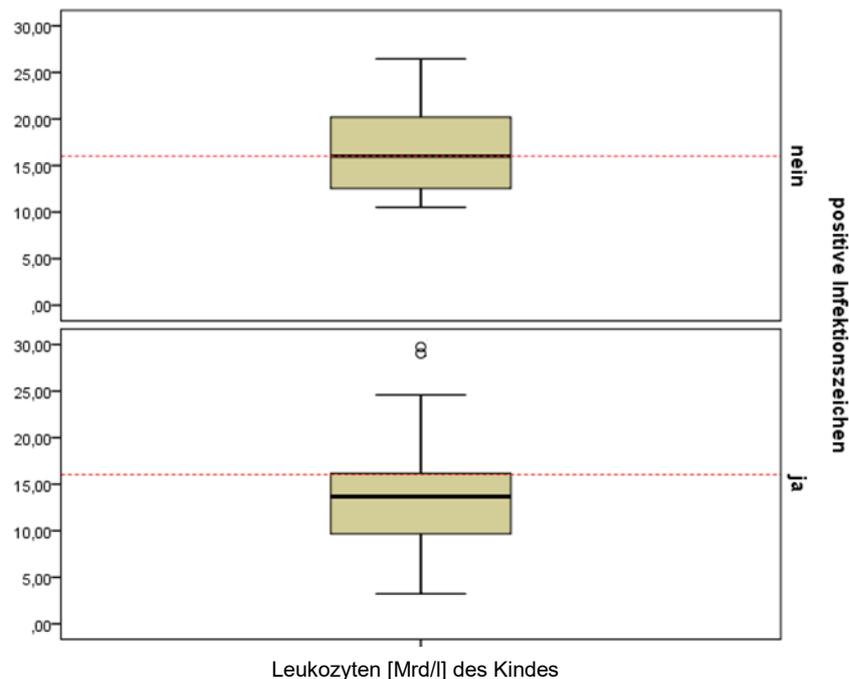
Grafik 4 - Boxplot-Vergleich der IL-6 hohen (gesund) mit den kranken Neugeborenen bezüglich der mütterlichen Blutwerte CRP und Leukozyten. rote Linie: Median maternale Leukozyten der gesunden Gruppe; lila Linie: Median maternales CRP der gesunden Gruppe (= positive Infektionszeichen: „nein“)

In Grafik 4 erkennt man die Unterschiede in den beiden Gruppen bezüglich der mütterlichen Entzündungswerte. Obwohl die maternalen CRP Werte nicht signifikant (Chi-Quadrat nach Pearson $p=0,255$) verschieden waren, lag der Median (lila gestrichelte Linie) der gesunden Neugeborenen 7 mg/dl höher als bei den erkrankten (krank: 2mg/dl und gesund 9 mg/dl). Bezüglich der maternalen Leukozyten (rot gepunktete Linie) zeigte sich ein ähnliches Bild bei geringerer Ausprägung und in gruppierter Form ebenfalls ein nicht-signifikantem Unterschied (Chi-Quadrat nach Pearson $p=0,571$). Auch hier lag der Median der gesunden Neugeborenen 2,1 Mrd/l höher als bei den erkrankten Neugeborenen (krank: 13,5 Mrd/l und gesund: 15,6 Mrd/l). Der Mann-Whitney-U-Test bestätigte die bereits in den Kreuztabellen erkannte nicht-Signifikanz [maternales CRP ($p=0,7$), maternale Leukozytenzahl ($p=0,3$)].



Grafik 5 - Boxplot-Vergleich der IL-6 hohen (gesund) mit den kranken Neugeborenen bezüglich der bei Geburt gemessenen IL-6-Werte; rote Linie: Median der IL-6-Werte der gesunden Neugeborenen

In den Kreuztabellen zeigte sich auch beim kindlichen IL-6 kein signifikanter Unterschied ($p=0,493$). Im Boxplot von Grafik 5 erkennt man dennoch eine deutliche Differenz zwischen beiden Graphen. Der Median des IL-6 der gesunden Neugeborenen lag bei Geburt etwas höher als der der kranken Neugeborenen. Der wesentliche Unterschied machte sich in der Streuung der Werte bemerkbar, welche bei den erkrankten deutlich größer ausfiel. So ließen sich bei der Hälfte der kranken Neugeborenen Werte zwischen 12,9 ng/l und 341 ng/l messen. Bei den gesunden war diese Spanne niedriger und lag zwischen 61 mg/l und 182 mg/l. Die Spannweite der IL-6-Werte war demnach bei den erkrankten Neugeborenen deutlich größer und die Werte stiegen auch höher als bei den gesunden. Bei einer anschließenden Gruppierung der IL-6-Werte, wie bereits in vorherigen Analysen, ließ sich doch ein signifikanter Unterschied berechnen (Chi-Quadrat nach Pearson $p=0,0$). 12 (42,8%) erkrankte Neugeborene zeigten im Nabelvenenblut noch keine relevante IL-6-Erhöhung von ≥ 50 ng/l. Wie auch im Boxplot schon zu erahnen ist, waren bei den gesunden Neugeborenen deutlich mehr (68% vs. 10%) in der Gruppe der leicht erhöhten IL-6-Werte (50-149 ng/l) und in der Gruppe der stark erhöhten IL6-Werte (> 300 ng/l) deutlich weniger (20% vs. 32%).

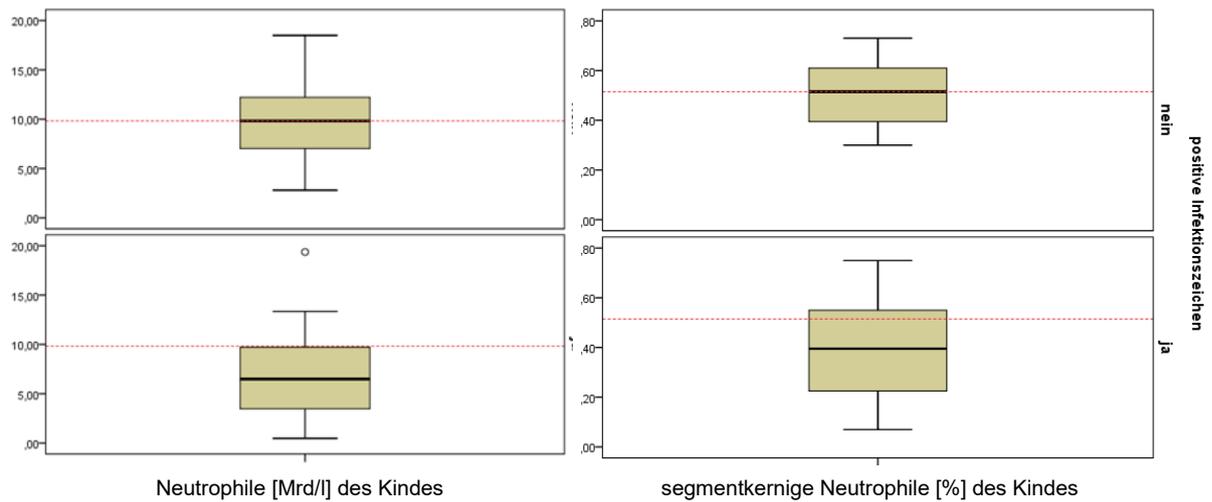


Grafik 6 - Boxplot-Vergleich der IL-6 hohen (gesund) mit den kranken Neugeborenen bezüglich der kindlichen Leukozytenzahl; rote Linie: Median der Leukozytenzahl der gesunden Neugeborenen

Die kindlichen Leukozyten lassen im Boxplot-Vergleich (s. Grafik 6) ebenfalls einen Unterschied erkennen. Bereits in der Spannweite der Leukozytenzahl war ein Unterschied zu erkennen. Die Leukozytenzahl der gesunden Neugeborenen bewegte sich in einem Bereich von 10,52 Mrd/l bis 26,46 Mrd/l. Im Gegensatz dazu war bei den erkrankten Neugeborenen ein Bereich von 3,24 Mrd/l bis ca. 25 Mrd/l mit zwei Ausreißerwerten bis ca. 30 Mrd/l zu erkennen. Zusätzlich lag der Median der Leukozytenzahl der gesunden Neugeborenen bei 16,02 Mrd/l und damit 2,34 Mrd/l höher als der Median der Erkrankten. Auffällig war außerdem, dass nur etwa 25% der erkrankten Neugeborenen Leukozytenzahlen größer als der Median der gesunden Neugeborenen aufwiesen.

Auch bei der Gesamtzahl der Neutrophilen sowie dem Anteil der Segmentkernigen Neutrophilen ergeben sich ähnliche Unterschiede der beiden Gruppen im Boxplot-Vergleich (s. Grafik 7). Hier ist zu erkennen, dass die Spannweite der Werte bei den nicht erkrankten Neugeborenen etwas höher ausfiel (von 2,8 Mrd/l bis 18,49 Mrd/l) als bei den erkrankten (von 0,48 Mrd/l bis ca. 15 Mrd/l mit einem Ausreißer von 19,37 Mrd/l). Der Median der absoluten Neutrophilenkonzentration der gesunden Neugeborenen lag bei 9,82 Mrd/l, wobei sich der Median der erkrankten Neugeborenen bei 6,4 Mrd/l präsentierte. Nur ca. 25% der erkrankten Neugeborenen wiesen einen Neutrophilen-Wert oberhalb des Medians der gesunden auf. Bei dem prozentualen Anteil der segmentkernigen Neutrophilen zeigte sich ein ganz ähnliches Bild, mit dem Unterschied, dass die Spannweite der Werte bei den

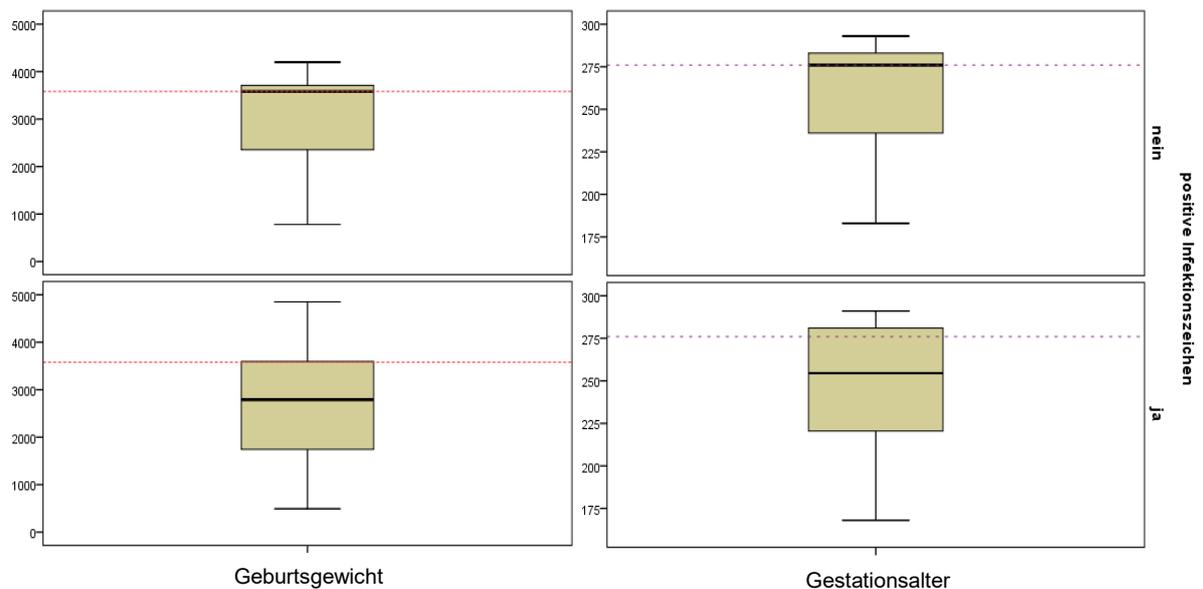
erkrankten Neugeborenen (7 - 75%) höher ausfiel als bei den gesunden (30 - 73%). Der Median des segmentkernigen Anteils an Neutrophilen lag bei den gesunden Neugeborenen bei 51,29% und bei den kranken nur bei 39,5% und damit deutlich niedriger. Auch bei diesem Faktor lagen fast nur 25% der kranken Neugeborenen oberhalb des Medians der gesunden Neugeborenen.



Grafik 7 - Boxplot-Vergleich der IL-6 hohen (gesund) mit den kranken Neugeborenen bezüglich der kindlichen Neutrophilenkonzentration [in Mrd/l] (links) und dem Anteil der segmentkernigen Neutrophilen [in %] (rechts). rote Linie: Median der (segmentkernigen) Neutrophilen der gesunden Neugeborenen mit IL-6-Erhöhung

Der Mann-Whitney-U-Test zeigte zusätzlich zum erkennbaren Unterschied im Boxplot-Vergleich auch einen statistischen signifikanten Unterschied der beiden Gruppen in Bezug auf die Leukozytenzahl ($p=0,024$), der Gesamtkonzentration der Neutrophilen ($p=0,008$) und den segmentkernigen Anteil davon ($p=0,033$).

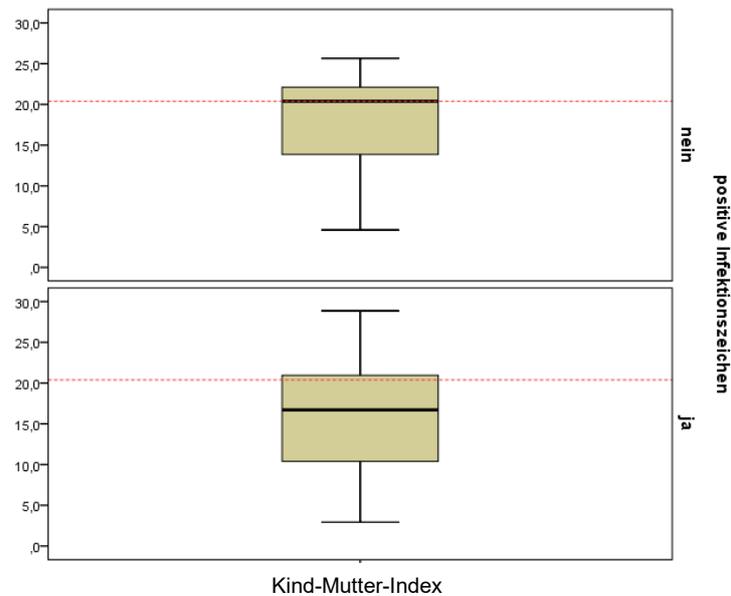
Bei Betrachtung des Medians von Gestationsalter und Geburtsgewicht in Grafik 8, ist festzustellen, dass die gesunden Neugeborenen etwas älter und schwerer waren als die der Vergleichsgruppe. So befanden sich der Median des Geburtsgewichtes bei 3580g (rot-gepunktete Linie) und der des Gestationsalters bei 276 Tagen (lila-gestrichelte Linie) bei den gesunden Neugeborenen. Bei den kranken Neugeborenen lag der Median des Geburtsgewichtes bei 2790 g und der des Gestationsalters bei 254 Tagen. Das machte einen Unterschied von 790 g und 22 Tagen.



Grafik 8 - Boxplot-Vergleich der IL-6 hohen (gesund) mit den kranken Neugeborenen bezüglich des Geburtsgewichts (links) bzw. des Gestationsalters (rechts); rote Linie: Median des Geburtsgewichts der gesunden Neugeborenen; lila Linie: Median des Gestationsalters der gesund Neugeborenen.

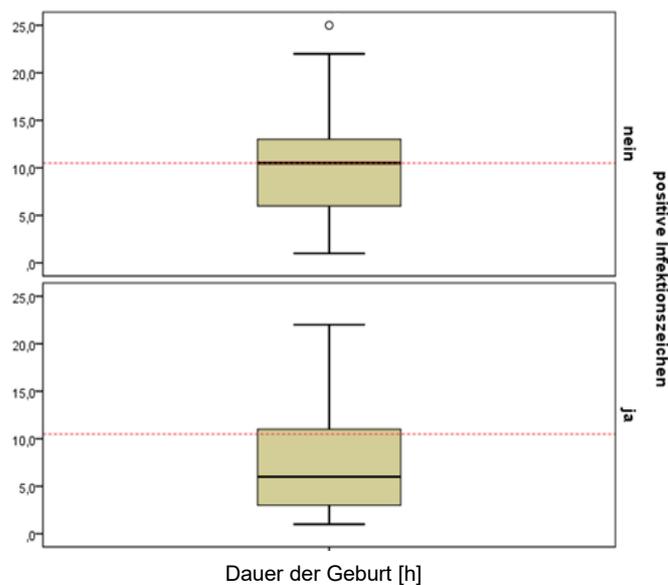
Aber auch hier, trotz der deutlich erkennbaren Unterschiede, konnten bei der statistischen Analyse mittels Chi-Quadrat nach Pearson und Exaktem Test nach Fisher keine signifikanten Werte berechnet werden [Gestationsalter ($p=0,485$), Geburtsgewicht ($p=0,981$)]. Diese Nicht-Signifikanz bestätigte sich auch im Mann-Whitney-U-Test [Geburtsgewicht ($p=0,3$), Gestationsalter ($p=0,2$)].

Ein weiterer Unterschied wurde im Boxplot-Vergleich des Kind-Mutter-Index (s. Grafik 9) sichtbar. Hier lag der Median bei den gesunden Neugeborenen mit hohem IL-6 bei 20,4 und bei den kranken bei 16,7. Die Werte des Kind-Mutter-Index stiegen bei den erkrankten Neugeborenen insgesamt höher (max. 30). Bei den gesunden Neugeborenen ließen sich nur Werte bis knapp über 25 berechnen. Auch beim Kind-Mutter-Index machte der Mann-Whitney-U-Test keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen erkennbar ($p=0,3$).



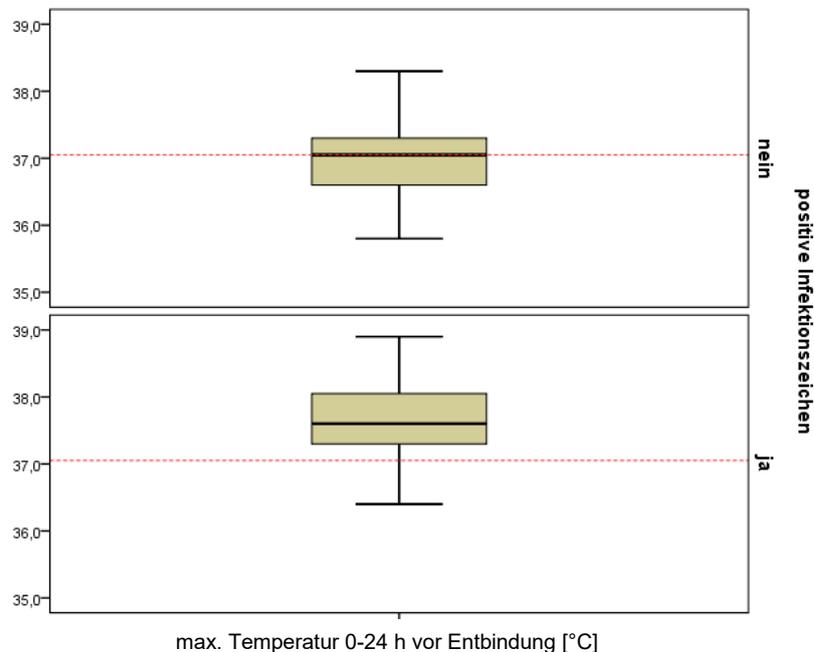
Grafik 9 - Boxplot-Vergleich der IL-6 hohen (gesund) mit den kranken Neugeborenen bezüglich des Kind-Mutter-Index. rote Linie: Median des Kind-Mutter-Index der gesunden Neugeborenen mit IL-6 Erhöhung (= positive Infektionszeichen: „nein“)

Ein Unterschied konnte auch bei der Dauer der Geburt beobachtet werden. Hier fiel in Grafik 10 vor allem der deutlich höhere Median der Geburtsdauer der gesunden Neugeborenen mit 10,5 h auf. Dieser lag 3,5 h über des Medians der erkrankten Neugeborenen. Außerdem wiesen nur knapp mehr als 25% der erkrankten Neugeborenen eine längere Geburtsdauer als 10,5 h auf. Die Spannweiten der Dauer beider Gruppen waren vergleichbar. Der Mann-Whitney-U-Test konnte den Unterschied im Boxplot nicht signifikant untermauern ($p=0,117$).



Grafik 10 - Boxplot-Vergleich der IL-6 hohen (gesund) mit den erkrankten Neugeborenen bezüglich der Geburtsdauer; rote Linie: Median der Geburtsdauer der gesunden Neugeborenen.

Als letzte metrische Variable wurde im Boxplot-Vergleich die maximale mütterliche Körperhöchsttemperatur bis 24 h vor Geburt betrachtet. Wie der Boxplot in Grafik 11 zeigt, war die gemessene Körpertemperatur bei den Müttern der gesunden Neugeborenen deutlich niedriger als die der Vergleichsgruppe mit positiven Infektionszeichen.



Grafik 11 - Boxplot-Vergleich der IL-6 hohen (gesund) und kranken Neugeborenen in Bezug auf die höchste mütterliche Körpertemperatur in den letzten 24 h vor Geburt; rote Linie: Median der maternalen Körpertemperatur der gesunden Neugeborenen mit IL-6-Erhöhung.

Der Median lag bei 37,05 °C und damit etwa 0,6 °C niedriger als bei den Müttern der erkrankten Neugeborenen (37,6 °C). Es ist zu erkennen, dass mehr als 75% der Mütter der erkrankten Neugeborenen eine höhere Körpertemperatur aufwiesen als der Median der gesunden maß. Mehr als 25% dieser Mütter wiesen sogar eine Temperatur über 38 °C auf. Ein signifikanter Unterschied konnte hier letztendlich auch mittels Mann-Whitney-U-Test erkannt werden ($p=0,01$).

Die restlichen Boxplot-Vergleiche ohne eindeutig sichtbaren Unterschied bezüglich des Medians oder Signifikanz im Mann-Whitney-U-Test befinden sich im Anhang (8.5).

5. Diskussion

5.1. Limitation der Methodik

Bei der Durchführung der Studie zeigten sich im Verlauf einige Herausforderungen, sowohl bei der Datenerfassung als auch im Anschluss bei der statistischen Auswertung.

5.1.1. Datenerfassung

Um möglichst wenig in den routinierten Ablauf des Kreißsaals einzugreifen, wurden abgesehen von den kindlichen laborchemischen Entzündungswerten ausschließlich Daten verwendet, die bei jeder Mutter und ihrem Neugeborenen regulär erhoben wurden. Die Datenerhebung, die für die klinische Routine völlig ausreichend ist, erwies sich jedoch teilweise als unzulänglich für optimale Studienbedingungen. Als Beispiel kann hier die CTG-Bewertung aufgeführt werden.

In vielen Fällen wurde ein „suspektes CTG“ im System erfasst, welches in unserer Studie als nicht-pathologisch gewertet wurde. Bei genauerer Betrachtung der Geburtsdokumentation, wurde im Kommentarfeld wiederholt die Eintragung „DIP 2“ gefunden. Diese späten Dezelerationen sind formal als pathologisch zu werten (Schmidt & Kopf-Löchel, 2014). In anderen Fällen wurden genau solche „DIP 2“-CTGs von den Geburtshelfern als „pathologisches CTG“ dokumentiert. Diese Abweichungen lassen sich darauf zurückführen, dass ein „suspektes“-CTG ein subjektiv betrachtetes, leicht von der Norm abweichendes CTG ist, das man engmaschig beobachten muss. Es kann aber eben noch nicht zwingend als pathologisch gewertet werden und bringt vorerst keine weiteren Konsequenzen mit sich. In unserer Studie entschieden wir uns letztendlich für eine Einteilung in „eindeutig pathologisch“ und „nicht-eindeutig pathologisch“.

5.1.2. Fallzahlen

Für diese Studie wurden Daten von über 500 Mutter-Kind-Paaren ausgewertet. Insbesondere für die Auswertung der gesunden Neugeborenen ergibt sich somit eine relevante Fallzahl. Allerdings waren die beiden Untergruppen (gesunde Neugeborene mit IL-6-Erhöhung und Neugeborene mit Infektion) relativ klein ($n < 30$), was bei der Interpretation der Auswertung berücksichtigt werden muss.

Daher lassen sich teilweise nur Tendenzen ablesen und keine statistisch signifikanten Ergebnisse formulieren. Um die Ergebnisse einer Auswertung untermauern zu können, würde sich zum Beispiel eine Multicenter-Studie anbieten, um auch bei den beiden Untergruppen eine deutlich höhere Fallzahl generieren zu können.

5.2. Einordnung der Ergebnisse in den aktuellen Forschungsstand und Bewertung

5.2.1. Einordnung und Bewertung des ersten Analyseteils (gesund vs. gesund mit IL-6)

Bei den meisten Studien zur Diagnostik der Neugeborenenensepsis mittels CRP oder IL-6 geht es unter anderem um die Optimierung der Wahl der Cut-off-Werte unter Berücksichtigung der nicht-spezifischen Erhöhung dieser Werte in den ersten Lebenstagen (Barug, et al., 2014; Chiesa, et al., 2001). Nur wenige Studien beschäftigen sich mit der Frage warum das CRP und IL-6 in den ersten Lebenstagen physiologisch ansteigt (Jokic, et al., 2000).

Die signifikante positive Korrelation zwischen maternalen Leukozyten und kindlichem IL-6 kann durch den klassischen Pathomechanismus einer Akute-Phase-Reaktion erklärt werden. Die gesteigerten Leukozyten produzieren in der Mutter aufgrund eines Triggers IL-6, um eine Akute-Phase-Reaktion anzustoßen. Da IL-6 plazentagängig ist, gelangt es vom mütterlichen in das fetale Blut, wohingegen das CRP nicht bzw. nur in sehr geringen Mengen plazentagängig ist (Jaye & Waites, 1997; De Jongh, et al., 1999) und somit beim Neugeborenen bei Geburt physiologischerweise kein CRP zu erwarten ist. Dieses könnte sich eventuell durch das maternale IL-6 im Neugeborenen in den nächsten beiden Tagen mit seiner typischen Latenzzeit in der kindlichen Leber bilden, was ein Faktor für einen nicht-infektiösen Anstieg des kindlichen CRP sein könnte.

An dieser Stelle wäre interessant gewesen, das maternale IL-6 unmittelbar präpartal und ein erneutes kindliches CRP 24h oder 48h postnatal zu messen, um hier eine genauere Aussage treffen zu können.

Auch Stress spielt bei dem prä- und perinatalen IL-6-Anstieg eine große Rolle (De Jongh, et al., 1999). Durch die Ausschüttung von Adrenalin aus den Zellen der Nebenniere kann ein IL-6-Anstieg induziert werden (Zhou, et al., 1993). Zu solchen Stressfaktoren zählt unter anderem auch hypoxischer Stress (Jokic, et al., 2000), den man unter anderem indirekt über ein CTG detektieren kann. Damit lässt sich der signifikante Unterschied bei pathologischen CTGs in unseren Studienergebnissen erklären. Die 3 % der Neugeborenen die trotz pathologischem CTG keine IL-6-Erhöhung aufwiesen, lassen sich eventuell durch eine kürzere Stresssituation aufgrund einer schnelleren Geburt erklären.

In diesem Zusammenhang ist jedoch nicht gut erklärbar, dass in unserer Studie kein Zusammenhang zwischen Nabelschnur-pH und IL-6 Wert gefunden wurde, obwohl eine Azidose in der Regel mit einem erhöhten Stress unter der Geburt einhergeht. Dieses Ergebnis steht jedoch im Einklang mit verschiedenen Studien, die ebenfalls keine Korrelation zwischen IL-6 und pH oder Laktat fanden (Jokic, et al., 2000).

Unsere Ergebnisse bezüglich der negativen Korrelation zwischen APGAR-Punkten und einem IL-6-Wert entsprechen der Studie von Chiesa, et al., bei der eine 5-fache Erhöhung der IL-6-Werte bei APGAR-Werten ≤ 8 gezeigt wurde (Chiesa, et al., 2001). Auch andere Studien bestätigen eine negative Korrelation von IL-6 mit dem APGAR (De Jongh, et al., 1999).

Als einzelner Faktor ist der APGAR-Wert jedoch schwierig zu bewerten, da dieser von verschiedensten anderen Faktoren, wie Geburtsgewicht, Gestationsalter, Lungenreife oder Fruchtwasser, beeinflusst wird. Zudem waren hier die Fallzahlen vor allem in den unteren beiden Gruppen (0-3 und 4-6 Punkte) sehr niedrig, was einen Vergleich der drei Gruppen untereinander schwierig machte.

Ein geringes Gestationsalter und ein damit eng verknüpft, niedriges Geburtsgewicht zeigten sich in unseren Studienergebnissen ebenfalls als wichtige Einflussfaktoren auf das IL-6. Auch dies konnte durch andere Studien belegt werden. Chiesa, et al. konnten eine 6,4-fach höhere Konzentration von IL-6 bei Frühgeborenen im Vergleich zu Reifgeborenen feststellen (Chiesa, et al., 2001).

Eine IL-6-Erhöhung bei gesunden Frühgeborenen ist möglicherweise durch eine subklinische perinatale Infektion zu erklären, welche zu einer frühzeitigen Geburt des Kindes führt. Zusätzlich ist hier auch wieder der Faktor „Stress“ nicht zu vernachlässigen, der durch eine Frühgeburt zwangsläufig gegeben ist (Chiesa, et al., 2001). Die Faktoren „trübes Fruchtwasser“ und „erfolgte Lungenreifetherapie“ sind ebenfalls in diesen Pathomechanismus einzuordnen, da diese zum einen Stress für den Fetus bedeuten und zum anderen häufig in Verbindung mit einer Frühgeburt stehen. In einer Studie von Mestan et al. wurde beschrieben, dass es bei einem Amnioninfektionssyndrom auch ohne klinische Symptomatik zu einem fetalen Zytokinanstieg (inkl. IL-6) komme (Mestan, et al., 2009). Demnach hätte das Immunsystem des Fetus bereits darauf reagiert, obwohl das Neugeborene nicht erkrankt ist.

Unter den untersuchten Laborwerten zeigten die unreifen neutrophilen Granulozyten und der daraus errechnete I/T-Quotient ebenfalls einen signifikanten Zusammenhang mit einem IL-6-Anstieg. Die Linksverschiebung ist aufgrund der gesteigerten Produktion von Abwehrzellen im Knochenmark ein typisches Bild einer infektiösen Erkrankung, wie bei einer Sepsis (Ansari-Lari, et al., 2003). Daher könnte die positive Korrelation zwischen Granulozyten und IL-6 bei den klinisch gesunden Neugeborenen der Studienpopulation entweder eine Reaktion auf eine latente intrauterine Infektion anzeigen (Manroe, et al., 1979) oder es besteht eine umgekehrte Abhängigkeit, da IL-6 unter anderem die Granulozytenproduktion induziert (De Jongh, et al., 1999). An diesem Punkt wäre zusätzlich interessant, wie sich das kindliche IL-8 verhält, da dieses Zytokin als Hauptstimulator für die Granulozytenbildung gilt (Barug, et al., 2014).

Die signifikanten Ergebnisse von kindlichen Thrombozyten und Leukozyten müssen kritisch betrachtet werden, da hier die Fallzahlen der beiden Gruppen zu unterschiedlich für eine aussagekräftige statistische Bewertung sind.

Die Kombination der Einflussfaktoren scheinen Einfluss auf die Wahrscheinlichkeit eines IL-6-Anstiegs zu haben. Ob die Höhe eines IL-6-Anstieges auch davon abhängig ist, kann bei der geringen Fallzahl nicht ausreichend beurteilt werden. Dies wäre für eine weitere Studie als Fragestellung interessant, da damit möglicherweise die Bedeutung des postnatalen nicht-infektiösem IL-6-Anstiegs besser bewertet werden könnte.

5.2.2. Einordnung und Bewertung des zweiten Analyseteils (gesund mit IL-6-Erhöhung vs. krank)

In der klinischen Routine ist es essentiell beurteilen zu können, welche Neugeborenen mit einer IL-6-Erhöhung eine antibiotische Therapie benötigen und welche nicht. Hierzu wurden in dieser Arbeit klinisch gesunde Neugeborene mit einer IL-6-Erhöhung (n=25) mit Neugeborenen mit einer nachweisbaren EONS (n=28) verglichen.

Neben einzelner signifikanter Unterschiede fanden sich Ergebnisse die, aufgrund von visuell darstellbaren Unterschieden, nur als Tendenz zu werten sind. Solche visuellen Unterschiede konnten bei folgenden Faktoren beobachtet werden: maternales CRP, Gestationsalter, Geburtsgewicht, Dauer der Geburt und Kind-Mutter-Index.

Gestationsalter und Geburtsgewicht können gemeinsam betrachtet werden, da diese beiden Faktoren direkt voneinander abhängig sind. In dieser zweiten Analyse zeigte sich, dass die gesunden Neugeborenen mit IL-6-Anstieg verhältnismäßig älter und schwerer waren als die erkrankten Neugeborenen. Dies lässt sich dadurch erklären, dass Frühgeburtlichkeit oft mit Infektionen wie einem Amnioninfektionssyndrom einhergeht.

Obwohl das maternale CRP nicht über die Plazenta in den Fetus gelangen kann, scheint es einen Einfluss auf das IL-6 des Neugeborenen zu haben. Denn visuell zeigte sich im Boxplot-Vergleich, dass die Mütter der gesunden Neugeborenen mit IL-6-Erhöhung ein höheres CRP aufwiesen als die Mütter der erkrankten. Hierbei stellt sich die Frage, über welchen Mechanismus ein solcher IL-6-Anstieg möglich sein könnte.

Es wäre möglich, dass das maternale IL-6, das das maternale CRP triggert auf den Fetus übertritt, welches dann in der postnatalen Blutabnahme nachgewiesen werden kann. Die fehlende CRP-Erhöhung beim Neugeborenen könnte dadurch erklärt werden, dass zwischen maternaler IL-6-Sekretion und Geburt nicht ausreichend Zeit für die Bildung in der fetalen Leber bestand. Diese These wird von einer Studie von Zaretsky, et al. gestützt. Hier wurde gezeigt, dass der IL-6-Clearance-Index der Plazenta bei 0,3 liege (Zaretsky, et al.,

2004), sodass es Zeit benötigen würde, um einen für einen CRP-Anstieg ausreichenden IL-6-Wert im Fetus zu erreichen.

Bei den erkrankten Neugeborenen hingegen wird das eigene IL-6 aufgrund eines Entzündungsgeschehens im kindlichen Körper ausgeschüttet, sodass ein vergleichsweise höherer Anteil von Müttern keine erhöhten Entzündungswerte aufweisen.

Die Faktoren, die in der zweiten Analyse einen signifikanten Unterschied der beiden Gruppen zeigten, waren die mütterliche Temperatur, die Anzahl der Neutrophilen, der Anteil der segmentkernige Neutrophilen im Differentialblutbild sowie die Anzahl der Leukozyten.

Im Differenzialblutbild der Neugeborenen lagen alle drei Faktoren (Zahl der Neutrophilen, Zahl der Leukozyten, Anteil der segmentkernigen Neutrophilen) bei den gesunden Neugeborenen mit IL-6-Erhöhung signifikant höher als bei den erkrankten Neugeborenen.

Die signifikant geringere Anzahl von Leukozyten ($p=0,024$) in den kranken Neugeborenen im Vergleich zu den gesunden mit IL-6-Erhöhung könnte sich durch verschiedene Ansätze erklären lassen. Es könnte zu einem infektassoziierten Leukozytenverbrauch gekommen sein (Zemlin, et al., 2019). In diesem Falle ließen sich die hoch-normalen Werte der gesunden Gruppe damit erklären, dass hier zwar die Produktion der Leukozyten und vor allem die der Neutrophilen im Knochenmark durch das IL-6 angestoßen wurde (Ulrich, et al., 1989), aber aufgrund fehlender Erreger kein Verbrauch einsetzt. So käme es zu höheren Leukozyten- und Neutrophilenzahlen in den gesunden Neugeborenen. Die niedrigen, aber noch normwertigen Leukozytenwerte bei den erkrankten Neugeborenen könnten sich in diesem Sinne durch einen noch nicht lange genug andauernden Krankheitsprozess erklären lassen, wodurch der Leukozytenverbrauch noch nicht seinen vollständigen Umfang erreichen konnte. Dies wäre ähnlich wie bei den niedrigen CRP-Werten.

Des Weiteren könnte sich die Ereigniskette auch umgekehrt darstellen, sodass die niedrige Leukozytenzahl zu einer geringeren Immunantwort führt und diese eine EONS erst ermöglicht.

Bei einer bakteriellen Infektion würde man in der Regel eine Linksverschiebung mit einem Anstieg der unreifen Neutrophilen erwarten (Lehmeyer & Stumpfe, 2017). In dieser Arbeit zeigte sich bei den erkrankten Neugeborenen ein niedrigerer segmentkerniger Anteil im Differentialblutbild, jedoch führte dies nicht gleichzeitig zu einem Anstieg des Anteils der unreifen Neutrophilen. Letzterer ergab im Box-Plot-Vergleich mit den gesunden Neugeborenen mit IL-6-Erhöhung weder einen signifikanten noch einen visuellen Unterschied. Somit muss im Differentialblutbild der erkrankten der Anteil an Lymphozyten, eosinophiler und basophiler Granulozyten höher sein als bei den gesunden.

Obwohl bezüglich der Reihe der weißen Blutzellen ein signifikanter Unterschied in den Studienergebnissen gezeigt werden konnte, befand sich der Großteil der Ergebnisse im Normbereich für Leukozyten von 9 – 34 Mrd/l. Die Tatsache dass unter den gesunden Neugeborenen mit IL-6-Erhöhung im Gegensatz zu der erkrankten Gruppe keine Leukozytopenie nachgewiesen werden konnte, weist auf die wichtige Bedeutung der Leukozytopenie bei der bakteriellen Infektion und somit auch für die Indikationsstellung einer antibiotischen Therapie hin. Umgekehrt kann bei normwertigen Leukozytenzahlen nicht zwangsläufig auf eine Antibiotikatherapie verzichtet werden.

Zwischen den beiden Gruppen zeigte sich ein signifikanter Unterschied ($p=0,01$) bezüglich der mütterlichen Temperatur bis 24 Stunden vor Entbindung. Bei den Müttern der kranken Neugeborenen wurden im Durchschnitt höhere Körpertemperaturen gemessen, als bei den Müttern der gesunden Neugeborenen mit IL-6-Anstieg. Dass die maternalen Temperaturen der erkrankten Neugeborenen häufiger erhöht bis febril waren, kann durch die Tatsache erklärt werden, dass eine Neugeboreneninfektion unter anderem durch ein Amnioninfektionssyndrom ausgelöst werden kann (Simonsen, et al., 2014).

Für die überwiegend normwertigen Temperaturen der Mütter der gesunden Neugeborenen können zwei Gründe bestehen. Entweder ist der kindliche IL-6 Anstieg unabhängig von maternalen Faktoren, was die Ergebnisse im ersten Analyseteil unterstützen würde (s. Tabelle 7) oder es handelt sich um eine latente Infektion der Mutter. Hierbei könnte eine erst kurz bestehende maternale Infektion vorliegen und zu einer Synthese von plazentagängigem IL-6 führen, ohne sich auf die mütterliche Temperatur auszuwirken.

Die Wertigkeit dieses Faktors ist schwierig zu beurteilen, da die mütterliche Temperatur innerhalb der definierten 24 Stunden teilweise nur einmalig gemessen wurde und dies zu unterschiedlichen Zeitpunkten vor der Entbindung.

5.3. Schlussfolgerung und Ausblick

Die Ergebnisse dieser Studie lassen vermuten, dass eine beträchtliche Menge klinisch gesunder Neugeborener einer intrauterinen Entzündung ausgesetzt ist, die zu einer systemischen fetalen Entzündungsreaktion führt. In Bezug auf erhöhte IL-6 Spiegel bei Neugeborenen bleibt die Unterscheidung zwischen Säuglingen, die einer begrenzten intrauterinen Entzündung ausgesetzt sind, und solchen, die eine schwere Neugeboreneninfektion entwickeln, eine wichtige Herausforderung in der klinischen Routine.

Daher ist für die frühe und akkurate Diagnose der Neugeboreneninfektion, um weder potenziell fatale Verläufe zu verpassen, noch unnötige Antibiotikatherapien durchzuführen, die Fortsetzung intensiver Erforschung neuer Biomarker unerlässlich.

Vielversprechende Ergebnisse diesbezüglich hat beispielsweise bereits der Biomarker Presepsin (sCD14-ST) gezeigt. Der 2004 entdeckte Sepsismarker kann nicht nur als Diagnosemarker, sondern auch als Prognosemarker verwendet werden (Zou, et al., 2014). Aktuelle Studien zeigten wiederholt auch gute Ergebnisse bei der EONS- und LONS-Diagnostik, wobei hier der unterschiedlich starke Anstieg der Presepsin-Werte noch nicht verstanden ist (Maldeghem, et al., 2019; Değirmencioğlu, et al., 2019).

6. Zusammenfassung

Die early-onset Neugeborenenensepsis (EONS) ist eine schwere Infektionserkrankung, die innerhalb der ersten Lebensstage auftritt und eine erhebliche Komplikationsrate aufweist. Unbehandelt geht sie mit einer hohen Morbidität und Mortalität einher. Eine frühe und umfassende Therapie ist daher von größter Priorität. Die Diagnosestellung ist jedoch aufgrund von anfangs oft fehlender Klinik vor allem beim Frühgeborenen schwierig, weswegen man auf einen oder mehrere, möglichst aussagekräftige Laborparameter angewiesen ist. Hier haben sich nach heutigem Stand die Kombination aus IL-6 und CRP durchgesetzt. Allerdings kommt es infolge der nicht optimalen Sensitivitäts- und Spezifitäts-Werte regelmäßig zu falsch-positiven Ergebnissen. Dies bedeutet, dass wiederholt bei gesunden Neugeborenen eine Antibiotikatherapie aufgrund von IL-6 oder CRP-Erhöhungen eingeleitet wird.

In dieser Arbeit wurde untersucht, welche mütterlichen oder kindlichen Faktoren bei gesunden Neugeborenen zu einem IL-6 oder CRP-Anstieg führen können und um mit Hilfe dieser Erkenntnisse die Spezifität in der Diagnose der EONS zu verbessern.

Wir bestimmten aus venösem Nabelschnurblut von 500 Neugeborenen sowie venösem Blut von 69 Neugeborenen IL-6, CRP und ein Differenzialblutbild. Zudem wurden kindliche und mütterliche Daten prä- und peripartal sowie postnatal erhoben, die mittels statistischer Analysen auf eine Korrelation mit IL-6 oder CRP getestet wurden. Zudem verglichen wir die gesunden Neugeborenen mit IL-6-Erhöpfung mit den kranken Neugeborenen.

Bei 4,6% der gesunden Neugeborenen zeigte sich eine IL-6-Erhöpfung. Ein CRP-Anstieg war hingegen nur bei 0,3% der Studienteilnehmer zu verzeichnen. Bei insgesamt zehn Faktoren konnte ein signifikanter Zusammenhang mit einer IL-6-Erhöpfung festgestellt werden. Dazu gehören ein pathologisches CTG, trübes Fruchtwasser, durchgeführte Lungenreifeprophylaxe, niedriges Gestationsalter, niedriger APGAR, niedriges Geburtsgewicht, erhöhte maternale Leukozytenzahl, hohe oder niedrige kindliche Thrombozytenzahl, erhöhter I/T-Quotient und ein erhöhter Anteil an unreifen neutrophilen Granulozyten. Es zeigte sich, dass bei niedrigen IL-6 Werten häufig keiner (71,6%) oder nur einer der Faktoren (28,4%) vorlag. Als Ursache hierfür ergaben sich Stress unter Geburt, eine Übertragung mütterlicher Infektionsparameter auf den Fetus oder eine subklinische fetale Infektion. Beim Vergleich zwischen gesunden Neugeborenen mit IL-6-Erhöpfung mit den kranken Neugeborenen zeigten sich signifikante Unterschiede, bei der Anzahl der Neutrophilen, dem Anteil der segmentkernigen Neutrophilen und der Leukozytenzahl, aber auch bei der mütterlichen Maximaltemperatur 24 Stunden vor Entbindung. Weitere Faktoren zeigten zwar keine signifikanten Unterschiede jedoch konnten im Boxplot-Vergleich Unterschiede dargestellt werden.

Insgesamt weisen die Studienergebnisse darauf hin, dass ein beträchtlicher Teil klinisch

gesunder Neugeborener einer intrauterinen Entzündung ausgesetzt ist, die zu einer kindlichen IL-6-Erhöhung führen kann.

7. Summary

Early-onset neonatal sepsis is a severe infectious disease with a high rate of complication that occurs within the first few days of life. Without therapy, morbidity and mortality are increased. Therefore an early and comprehensive therapy has significant priority. The diagnostic confirmation is difficult regarding minor initial symptoms, especially in preterm infants. Thus significant lab parameters are required. In daily clinical practice, a combination of IL-6 and CRP proves to be convenient. As a result of non-optimal sensitivity and specificity, there are continually false-positive results. This implies unnecessary antibiotic treatments for healthy infants with elevated IL-6 or CRP levels.

In this clinical study, we investigated whether there are promotive factors for the elevation of IL-6 and CRP in healthy neonates to improve the specificity of the EONS diagnostic.

We took 500 samples of venous cord-blood and 69 venous blood samples to analyse the IL-6 and CRP levels as well as a differential blood count. Also, we statistically correlated them with numerous peripartum and postnatal data. Furthermore, we compared the group of healthy neonates with an IL-6 elevation with a group of infected neonates.

4.6% of the healthy neonates showed an IL-6 elevation. CRP levels only rose in 0.3% of neonates. Ten factors shows a significant effect on IL-6. Those are pathological CTG, meconium-stained amniotic fluid, an antenatal corticosteroid therapy, early gestational age, low APGAR score, low birth weight, increased maternal white blood cells, platelets, high I/T-quotient and immature neutrophil granulocytes. In patients with low IL-6 values, none (71.6%) or only one (28.4%) of those factors are represented. This might be caused by stress-induced elevation of IL-6, transmission maternal infection parameters to the fetus, or subclinical fetal infection.

A comparison of healthy and infected neonates showed significant changes in various blood values (count of neutrophils, percentage of segmented neutrophil granulocytes, and count of white blood cells) but also of the maximal maternal temperature within 24 hours before delivery. Although most of the factors did not significantly differ, the boxplot analysis revealed patterns of change.

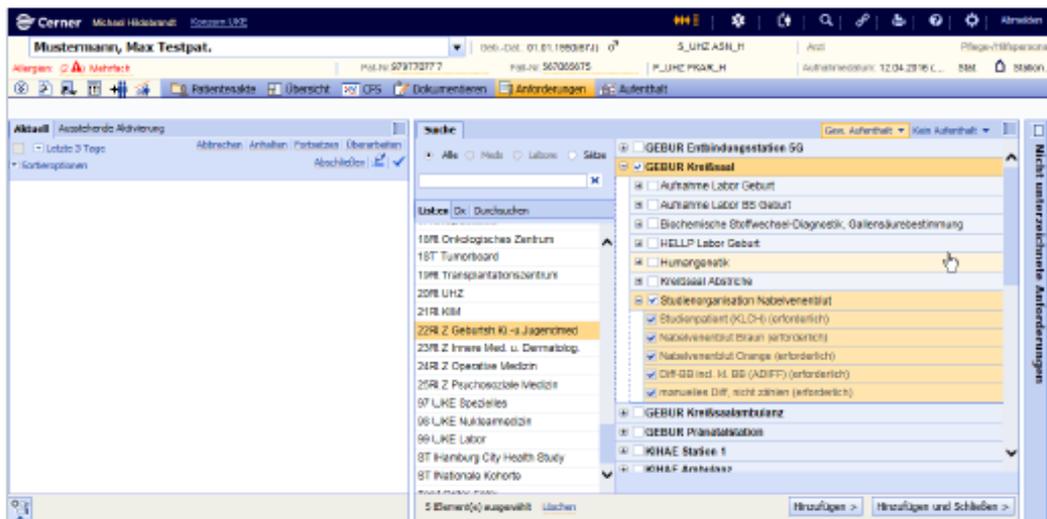
The study results suggest that a considerable part of healthy neonates are exposed to an intrauterine inflammation, which may lead to an elevation of fetal IL-6.

8. Anhang

8.1. Soarian®-Anleitung

Soarian®-Anleitung – Nabelschnurblut-Studie

1. Patientin (Mutter) in Soarian® öffnen
2. Anforderungen
3. Listen → „22R Geburtsh. Ki- u. Jugendmed“
4. Reiter → „GEBUR Kreißsaal“
5. Haken setzen bei „Studienorganisation Nabelvenenblut“
6. „Hinzufügen und Schließen“ (aktuelle Uhrzeit)



7. 4 Etiketten werden gedruckt → Blutröhrchen (rot, braun, orange) + Dokumentationsaufkleber
8. Dokumentationsaufkleber in Studienbuch einkleben
9. Rohrpost → Box mit schwarzem Punkt

wichtige Hinweise:

- In das rote Blutröhrchen (EDTA) muss nur etwa 1ml Blut hineingefüllt werden (Kappe voll)
- Die anderen beiden Röhrrchen (Serum und Heparin) nach Möglichkeit voll machen.
- **bei Zwillingen:**
 - zwei Mal nacheinander Etiketten drucken (zwei verschiedene Uhrzeiten auf den Aufklebern)
 - Dokumentation im Studienbuch: Zuordnung der Zwillinge zu den Uhrzeiten (Bsp. siehe 1. Seite im Studienbuch)

8.2. Aufklärungsbogen für die Eltern

Zentrum für Geburtshilfe, Kinder- und
Jugendmedizin

Dr. med. Chinedu U. Ebenebe, MBA
Facharzt für Kinder- & Jugendmedizin

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Martinistraße 52
D - 20246 Hamburg
Telefon: (040) 7410-20400
Email: c.ebenebe@uke.de

Informationsblatt und Einwilligungserklärung zur Teilnahme an einem klinischen Forschungsprojekt

Einflussfaktoren auf den Anstieg von Interleukin-6 und C-reaktivem Protein im Nabelschnurblut von Neugeborenen

Liebe Eltern,

wir möchten Sie hiermit bitten, an unserer wissenschaftlichen Untersuchung teilzunehmen.

Die Aufklärung dazu erfolgt in einem ärztlichen Gespräch. Die wichtigsten Punkte sind hier festgehalten, damit Sie diese jederzeit nachlesen können. Diese Untersuchung wurde von der Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg ethisch und fachrechtlich positiv beraten.

Zweck der Studie:

Vor oder während der Geburt können Krankheitserreger von der Mutter auf das Kind übertragen werden und eine Infektion verursachen. Wenn die Infektion frühzeitig erkannt und eine Antibiotikatherapie eingeleitet wird, führt dies in der Regel zu einer raschen Gesundung des Neugeborenen. Um einen Infekt zu erkennen, ist neben den klinischen Symptomen v.a. die Bestimmung der sogenannten Entzündungsparameter im Blut hilfreich. Zwei im klinischen Alltag am häufigsten verwendete Entzündungsparameter sind das C-reaktive Protein (CRP) und das Interleukin-6 (IL-6). Diese Entzündungsparameter können jedoch in einigen Fällen auch bei gesunden Neugeborenen ohne Infektion erhöht sein. Diese Neugeborenen laufen Gefahr unnötigerweise eine Antibiotikatherapie zu erhalten.

Anhand dieser Studie möchten wir besser verstehen, welche nicht-infektiöse Faktoren zu einer Erhöhung der Entzündungsparameter CRP und IL-6 im Nabelschnurblut führen.

Mit Ihrer Teilnahme an dieser Studie tragen Sie dazu bei, dass diese wertvollen Erkenntnisse gewonnen werden können.

Ablauf:

Nach der Geburt Ihres Kindes werden durch die Hebamme aus der durchtrennten Nabelschnur ca. 2 ml Blut entnommen. Die Blutentnahme erfolgt nach der Abnabelung und ist ohne jedes Risiko für das Neugeborene und die Mutter, da der an der Plazenta (Mutterkuchen) verbleibende Nabelschnurteil punktiert wird. Anschließend wird die Blutprobe in das Zentrallabor des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf geschickt. Dort werden die Werte für CRP, IL-6 sowie weitere für eine Entzündung potenziell wichtige Laborparameter bestimmt (z.B. Blutbild). Die Ergebnisse der Analysen werden pseudonymisiert¹ (verschlüsselt) in eine speziell für die Studie angelegte Datenbank eingegeben und erst nach Entlassung von Mutter und Kind aus der stationären Behandlung an das Studienteam übermittelt. Die Behandlung von Mutter und Kind bleibt während des gesamten stationären Aufenthaltes von der Studie unbeeinflusst. Die Laborwerte werden mit verschiedenen mütterlichen und kindlichen Faktoren korreliert, um solche zu identifizieren, die bei gesunden Neugeborene eine Erhöhung von CRP und IL-6 verursachen.

Bei Kindern, die in den ersten Lebenstagen Zeichen einer Infektion zeigen, werden Diagnostik und Therapie nach Standard durchgeführt.

Mögliche Risiken:

Weder für die Mutter noch für das Kind entstehen durch die Studie zusätzliche Risiken. Für die Studienteilnehmer entstehen weder ein zeitlicher noch ein finanzieller Aufwand. Weiterhin ergeben sich aus der Teilnahme an der Studie weder Vorteile, noch Nachteile bezüglich der Versorgung von Mutter und Kind.

Potentieller Nutzen:

Das bessere Verständnis dieser Zusammenhänge könnte dazu beitragen, spezifischere diagnostische Verfahren für eine Neugeboreneninfektion zu entwickeln. Dies würde nicht nur dazu führen, dass kranke Neugeborene zuverlässiger diagnostiziert werden, sondern auch, dass gesunden Neugeborenen die Belastungen einer Antibiotikatherapie erspart bleiben.

Freiwilligkeit der Teilnahme:

Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig und unentgeltlich. Sie kann ohne Angabe von Gründen abgelehnt werden, ein Nachteil für Ihre weitere Behandlung entsteht hieraus nicht.

Falls Sie sich zur Teilnahme an dieser Studie entschließen, können Sie die gegebene Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne Nachteile für Ihre Behandlung widerrufen.

Datenschutz

Die im Rahmen des Forschungsvorhabens nach Einwilligungserklärung des Studienteilnehmers erhobenen persönlichen Daten, insbesondere Befunde, unterliegen der Schweigepflicht und den datenschutzgesetzlichen Bestimmungen. Sie werden in Papierform und auf Datenträgern in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf aufgezeichnet und pseudonymisiert für die Dauer von 10 Jahren gespeichert. Bei der Pseudonymisierung werden der Name und andere Identifikationsmerkmale (z.B. Teile des Geburtsdatums) durch z.B. eine mehrstellige Buchstaben- oder Zahlenkombination, auch Code genannt, ersetzt, um die Identifizierung des Studienteilnehmers auszuschließen oder wesentlich zu erschweren. Die Verschickung der Blutproben ins Zentrallabor des UKE erfolgt ebenfalls in pseudonymisierter Form.

Zugang zu dem „Schlüssel“, der eine persönliche Zuordnung der Daten des Studienteilnehmers ermöglicht, haben neben dem Studienleiter Dr. Ebenebe nur von diesem ausdrücklich autorisierte Personen des Zentrums für Geburtshilfe, Kinder- und Jugendmedizin des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf. Die Auswertung und Nutzung der Daten durch den Studienleiter und seine Mitarbeiter erfolgt in pseudonymisierter Form. Die Veröffentlichung der Studienergebnisse erfolgt ausschließlich in anonymisierter Form. Die Studienteilnehmer haben das Recht, über die von ihnen erhobenen personenbezogenen Daten Auskunft zu verlangen. Im Falle des Widerrufs der Einwilligungserklärung werden die bereits erhobenen Messwerte und Patientendaten gelöscht. Eine Löschung bereits anonymisierter Daten ist nicht möglich.

¹ Pseudonymisieren ist das Ersetzen des Namens und anderer Identifikationsmerkmale durch ein Kennzeichen zu dem Zweck, die Identifizierung des Betroffenen auszuschließen oder wesentlich zu erschweren (§ 3 Abs. 6a Bundesdatenschutzgesetz).

Einwilligungserklärung

Ich willige in die Teilnahme an dem oben beschriebenen Forschungsvorhaben ein:	ja / nein
Ich willige in den oben beschriebenen Datenschutz für dieses Forschungsvorhaben ein:	ja / nein
Alle meine Fragen wurden ausreichend beantwortet:	ja / nein
Mir wurden Abschriften/Kopien der Information und Einwilligungserklärung ausgehändigt:	ja / nein

Datum	Vor- und Zunahme	Unterschrift Eltern
-------	------------------	---------------------

Ich bestätige, die werdenden Eltern aufgeklärt und eine unterzeichnete Kopie des Informationsblattes und der Einwilligungserklärung ausgehändigt zu haben.

Datum	Vor- und Zunahme	Unterschrift der Ärztin / des Arztes
-------	------------------	--------------------------------------

Bei Problemen oder Fragen sind die Studienverantwortlichen jederzeit zu erreichen:
Dr. med. C. U. Ebenebe, Sektion Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin, Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Martinistr. 52, 20246 Hamburg
Tel.: 040 7410-20421 email: c.ebenebe@uke.de

8.3. Ergebnisse der bivariaten Korrelationsanalyse

		Korrelationen										
		path. CTG	trübes Fruchtwasser	Lungenreife-prophylaxe	SSW	APGAR	Geburts-gewicht	maternale Leukozyten	kindliche Leukozyten	kindliche Thromb.	unreife neutrophile Granulozyten	I/T-Quotient
	Korrelation nach	1	,088*	-0,005	0,017	-0,079	-0,008	0,045	,149**	0,034	0,016	0,034
path. CTG	Signifikanz (2-seitig)		0,045	0,914	0,696	0,068	0,851	0,327	0,001	0,442	0,717	0,438
	N	531	522	529	531	531	531	475	519	519	511	531
	Korrelation nach	,088*	1	-0,039	0,051	-,126**	0,000	,130**	,116**	0,002	,131**	0,075
trübes Fruchtwasser	Signifikanz (2-seitig)	0,045		0,369	0,241	0,004	0,996	0,005	0,008	0,964	0,003	0,084
	N	522	532	531	532	532	532	473	520	520	512	532
	Korrelation nach	-0,005	-0,039	1	-,683**	-,108*	-,618**	0,029	-,290**	-0,079	-0,033	0,005
Lungenreife-prophylaxe	Signifikanz (2-seitig)	0,914	0,369	0,000	0,000	0,012	0,000	0,531	0,000	0,070	0,454	0,910
	N	529	531	539	539	539	539	480	527	527	519	539
	Korrelation nach	0,017	0,051	-,683**	1	-,170**	,810**	-,090*	,370**	,090*	0,043	0,030
SSW	Signifikanz (2-seitig)	0,696	0,241	0,000		0,000	0,000	0,047	0,000	0,039	0,324	0,490
	N	531	532	539	541	541	541	482	529	529	521	541
	Korrelation nach	-0,079	-,126**	-,108*	,170**	1	,134**	0,035	-0,014	0,071	-,236**	-,168**
APGAR	Signifikanz (2-seitig)	0,068	0,004	0,012	0,000		0,002	0,447	0,750	0,105	0,000	0,000
	N	531	532	539	541	541	541	482	529	529	521	541
	Korrelation nach	-0,008	0,000	-,116**	-,618**	,134**	1	-0,051	,349**	0,054	0,037	0,049
Geburts-gewicht	Signifikanz (2-seitig)	0,851	0,996	0,000	0,000	0,002		0,264	0,000	0,218	0,393	0,256
	N	531	532	539	541	541	541	482	529	529	521	541
	Korrelation nach	0,045	,130**	0,029	-0,090	0,035	-0,051	1	0,070	0,035	0,072	0,060
maternale Leukozyten	Signifikanz (2-seitig)	0,327	0,005	0,531	0,047	0,447	0,264		0,131	0,455	0,120	0,189
	N	475	473	480	482	482	482	482	471	471	464	482
	Korrelation nach	,149**	,116**	-,290**	,370**	-0,014	,349**	0,070	1	,253**	-0,004	-0,048
kindliche Leukozyten	Signifikanz (2-seitig)	0,001	0,008	0,000	0,000	0,750	0,000	0,131		0,000	0,920	0,266
	N	519	520	527	529	529	529	471	529	529	520	529
	Korrelation nach	0,034	0,002	-0,079	0,090	0,071	0,054	0,035	,253**	1	-0,044	-0,064
kindliche Thrombozyten	Signifikanz (2-seitig)	0,442	0,964	0,070	0,039	0,105	0,218	0,455	0,000		0,313	0,142
	N	519	520	527	529	529	529	471	529	529	520	529
	Korrelation nach	0,016	,131**	-0,033	0,043	-,236**	0,037	0,072	-0,004	-0,044	1	,610**
unreife neutrophile Granulozyten	Signifikanz (2-seitig)	0,717	0,003	0,454	0,324	0,000	0,393	0,120	0,920	0,313		0,000
	N	511	512	519	521	521	521	464	520	520	521	521
	Korrelation nach	0,034	0,075	0,005	0,030	-,168**	0,049	0,060	-0,048	-0,064	,610**	1
I/T-Quotient	Signifikanz (2-seitig)	0,438	0,084	0,910	0,490	0,000	0,256	0,189	0,266	0,142	0,000	
	N	531	532	539	541	541	541	482	529	529	521	541

*. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.

**.. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

8.4. Kreuztabellen mit Häufigkeitsverteilung

APGAR Kreuztabelle

		positive Infektionszeichen		Gesamt
		nein	ja	
APGAR	0-3 Punkte	Anzahl: 1	1	2
		% innerhalb von AFGAR_grup: 50,0%	50,0%	100,0%
	4-6 Punkte	Anzahl: 4	3	7
		% innerhalb von AFGAR_grup: 57,1%	42,9%	100,0%
	7-10 Punkte	Anzahl: 20	24	44
		% innerhalb von AFGAR_grup: 45,5%	54,5%	100,0%
Gesamt		Anzahl: 25	28	53
		% innerhalb von AFGAR_grup: 47,2%	52,8%	100,0%

IT-Quotient Kreuztabelle

		positive Infektionszeichen		Gesamt
		nein	ja	
ITQ	< 0,25	Anzahl: 22	23	45
		% innerhalb von ITQ_grup: 48,9%	51,1%	100,0%
	>= 0,25	Anzahl: 3	5	8
		% innerhalb von ITQ_grup: 37,5%	62,5%	100,0%
Gesamt		Anzahl: 25	28	53
		% innerhalb von ITQ_grup: 47,2%	52,8%	100,0%

SSW Kreuztabelle

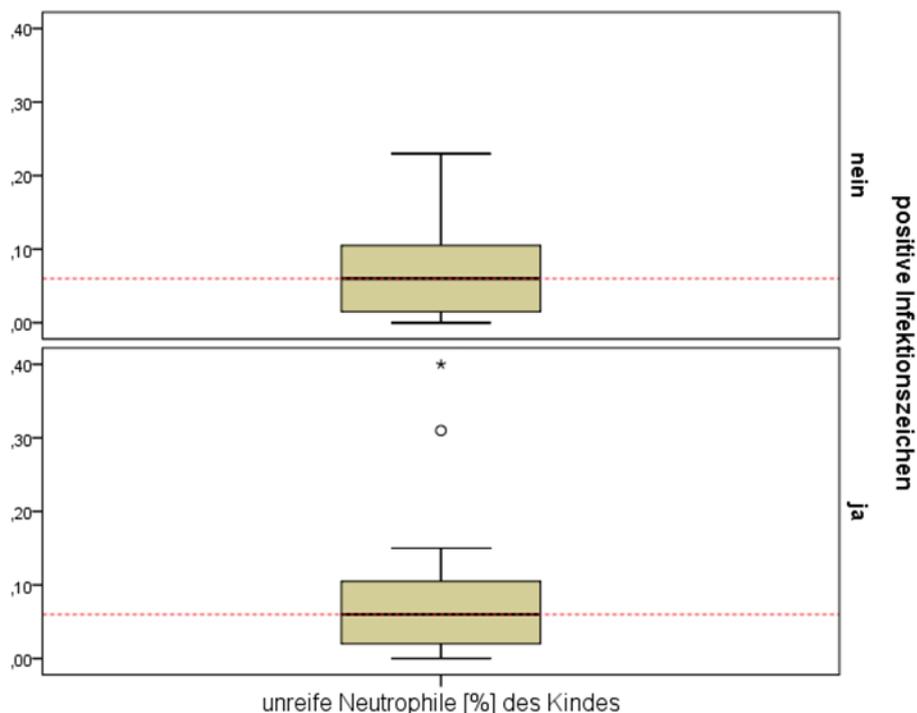
		positive Infektionszeichen		Gesamt
		nein	ja	
SSW	<32+0	Anzahl: 4	8	12
		% innerhalb von SSW: 33,3%	66,7%	100,0%
	32+0 - 36+6	Anzahl: 4	7	11
		% innerhalb von SSW: 36,4%	63,6%	100,0%
	>36+6	Anzahl: 17	13	30
		% innerhalb von SSW: 56,7%	43,3%	100,0%
Gesamt		Anzahl: 25	28	53
		% innerhalb von SSW: 47,2%	52,8%	100,0%

M. Leuko Kreuztabelle

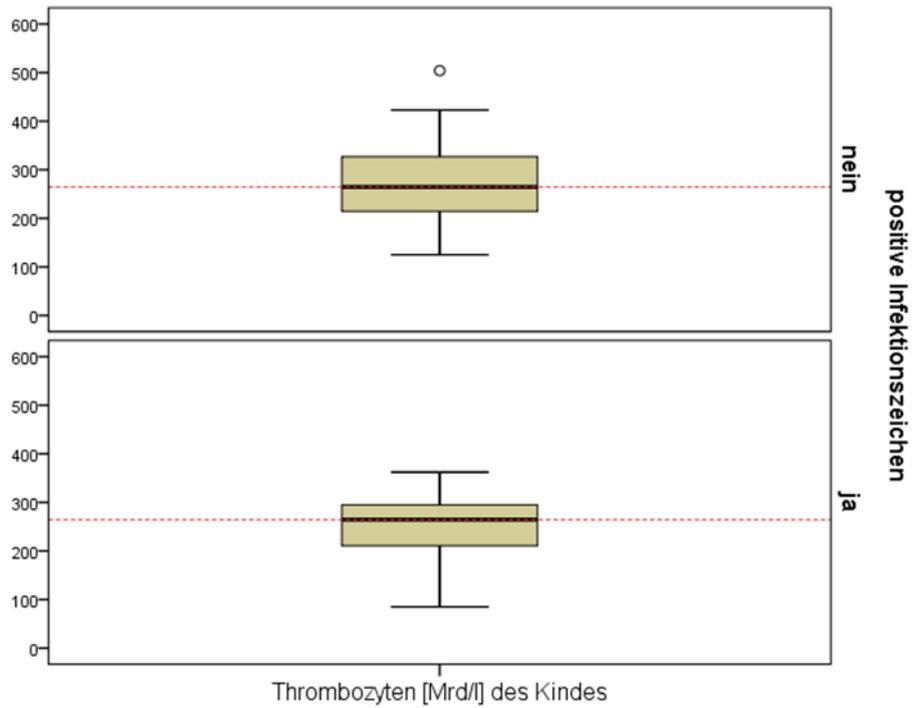
		positive Infektionszeichen		Gesamt
		nein	ja	
M. Leuko	normalwertig	Anzahl: 11	14	25
		% innerhalb von M. Leuko_grup: 44,0%	56,0%	100,0%
	erhöht	Anzahl: 14	13	27
		% innerhalb von M. Leuko_grup: 51,9%	48,1%	100,0%
Gesamt		Anzahl: 25	27	52
		% innerhalb von M. Leuko_grup: 48,1%	51,9%	100,0%

Tabelle 11 – Kreuztabellen zum Vergleich von gesunden Neugeborenen mit IL-6-Erhöhung und erkrankten Neugeborenen. Dargestellt sind die vier Faktoren, die im ersten Analyse Teil eine Signifikanz zu einem IL-6-Anstieg aufzeigten

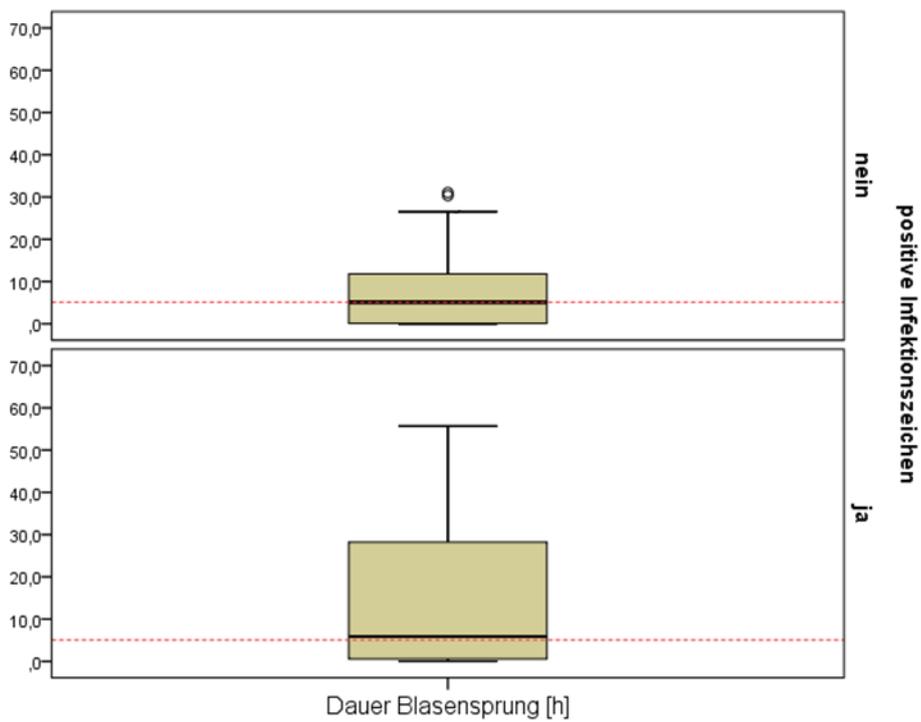
8.5. Nicht-signifikante Boxplot-Vergleiche ohne relevante, erkennbare Unterschiede



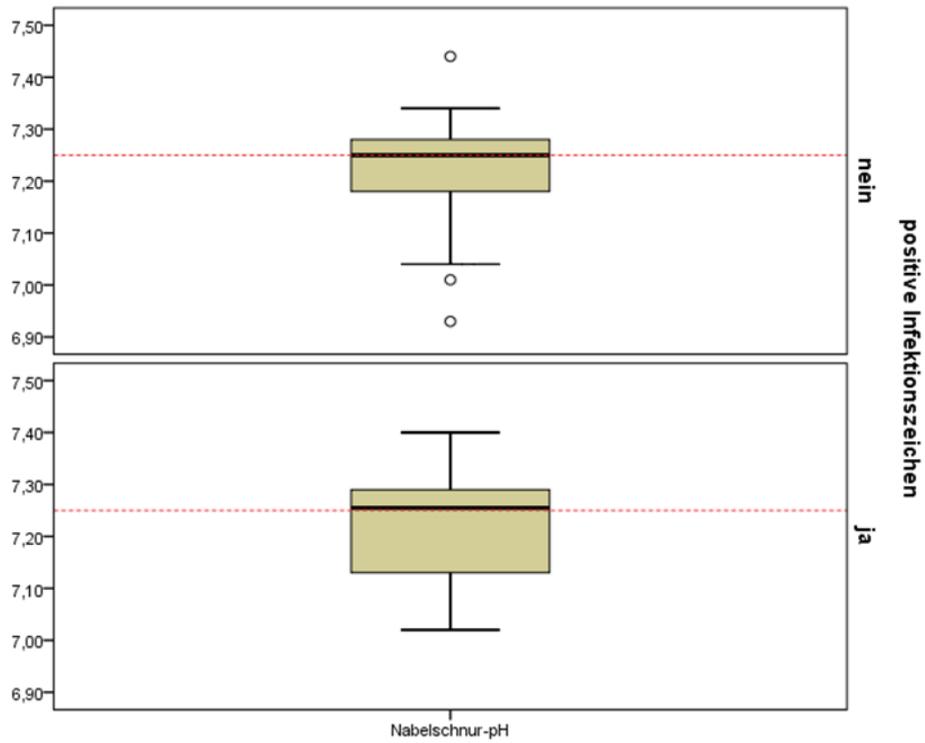
Grafik 12 - Boxplot-Vergleich der gesunden und kranken Neugeborenen in Bezug auf den prozentualen Anteil der unreifen Neutrophilen; rote Linie: Median der gesunden Neugeborenen mit IL-6-Erhöhung



Grafik 13 - Boxplot-Vergleich der gesunden und kranken Neugeborenen in Bezug auf die kindliche Thrombozytenzahl; rote Linie: Median der gesunden Neugeborenen mit IL-6-Erhöhung



Grafik 14 - Boxplot-Vergleich der gesunden und kranken Neugeborenen in Bezug auf die Dauer des Blasensprungs; rote Linie: Median der gesunden Neugeborenen mit IL-6-Erhöhung



Grafik 15 - Boxplot-Vergleich der gesunden und kranken Neugeborenen in Bezug auf den Nabelschnur-pH; rote Linie: Median der maternalen Körpertemperatur der gesunden Neugeborenen mit IL-6-Erhöhung

9. Literaturverzeichnis

- Aggarwal R, Sarkar N, Deorari A, Paul V (2001). Sepsis in the Newborn. *Indian Journal of Pediatrics*, 68(12):1143-7.
- Aktories K, Förstermann U, Hofmann F, Starke K (2017). *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 12. Aufl. Elsevier, München.
- Anderson-Berry A, Bellig L, Ohning B, Rosenkrantz T, Clark D, MacGilvray S, Windle M (2015). *MedScape*.
[Online im Internet] URL: <https://emedicine.medscape.com/article/978352-overview>
[Stand: 06 Januar 2019, 8:25].
- Ansari-Lari A, Kickler T, Borowitz M (2003). Immature Granulocyte Measurement Using the Sysmex XE-2100 - Relationship to Infection and Sepsis. *American Journal of Clinical Pathology*, 120(5):795-9.
- Baker C, Kasper D (1976). Correlation of Maternal Antibody Deficiency with Susceptibility to Neonatal Group B Streptococcal Infection. *The New England Journal of Medicine*, 294(14):753-6.
- Barug D, Goorden S, Herruer M, Müller M, Brohet R, Winter P (2014). Reference Values for Interleukin-6 and Intreleukin-8 in Cord-Blood of Healthy Term Neonates and their Association with Stress-Related Perinatal Factors. *PLoS ONE*, 9(12):e114109.
- Baumann H, Gauldie J (1994). The Acute Phase Response. *Immunology Today*, 15(2):74-80.
- Brodth HR (2012). *Antibiotika-Therapie: Klinik und Praxis der antiinfektiösen Behandlung*. 12. Aufl. Schattauer Verlag, Stuttgart.
- Buck C, Bundschu J, Gallati H, Bartmann P, Pohlandt F (1994). Interleukin-6: A Sensitive Parameter for the Early Diagnosis of Neonatal Bacterial Infection. *Pediatrics*, 93(1):54-8.
- Camacho-Gonzales A, Spearman P, Stoll B (2013). Neonatal infectious diseases: evaluation of neonatal sepsis. *Pediatric Clinics of North America*, 60(2):367-89.
- Can E, Hamilcikan S, Can C (2018). The Value of Neutrophil to Lymphocyte Ratio and Platelet to Lymphocyte Ratio for Detecting Early-onset Neonatal Sepsis. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 40(4):e229-e232.
- Cermak J, Key N, Bach R, Balla J, Jacob H, Vercellotti G (1993). C-reactive Protein Induces Human Peripheral Blood Monocytes to Synthesize Tissue Factor. *Blood*, 82(2):513-20.
- Chiesa C, Signore F, Assumma M, Buffone E, Tramontozzi P, Osborn J, Pacifico L (2001). Serial Measurements of C-Reactive Protein and Interleukin-6 in the Immediate Postnatal Period: Reference Intervals and Analysis of Maternal and Perinatal Confounders. *Clinical Chemistry*, 47(6):1016-22.
- Chiesa C, Pellegrini G, Panero A, Osborn J, Signore F, Assumma M, Pacifico L (2003). C-Reactive Protein, Interleukin-6, and Procalcitonin in the Immediate Postnatal Period: Influence of Illness Severity, Risk Status, Antenatal and Perinatal Complications, and Infection. *Clinical Chemistry*, 49(1):60-8.
- Chiesa C, Pacifico L, Natale F, Hofer N, Osborn J, Resch B (2015). Fetal and Early Neonatal interleukin-6 response. *Cytokine*, 76(1):1-12.

- Chronos Z, Sever-Chronos Z, Shepherd V (2009). Pulmonary Surfactant: An Immunological Perspective. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 25(1):13-26.
- Clark R, Bloom B, Spitzer A, Gerstmann D (2006). Empiric Use of Ampicillin and Cefotaxime, Compared With Ampicillin and Gentamicin, for Neonates at Risk for Sepsis Is Associated With an Increased Risk of Neonatal Death. *Pediatrics*, 117(1):67-74.
- Cohen-Wolkowicz M, Moran C, Benjamin D, Cotten C, Clark R, Benjamin Jr D, Smith P (2009). Early and Late Onset Sepsis in Late Preterm Infants. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 28(12):1052-6.
- De Jongh R, Puylaert M, Bosmans E, Ombelet W, Maes M, Heylen R (1999). The Fetomaternal Dependency of Cord Blood Interleukin-6. *American Journal of Perinatology*, 16(3):121-8.
- Değirmencioğlu H, Bekmez B, Derme T, Öncel M, Canpolat F, Tayman C (2019). Presepsin and fetuin-A Dyad for the Diagnosis of Proven Sepsis in Preterm Neonates.. *BMC Infectious Diseases*, 19(1):695.
- Frank U (2019). *Antibiotika in der Praxis 2019 - 2020*. 10. Aufl. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Gabay C, Kushner I (1999). Acute-phase Proteins and Other Systemic Responses to Inflammation. *The New England Journal of Medicine*, 340(6):448-54.
- Gabriel H, Müller H, Kindermann W (2000). Standards der Sportmedizin - Die Akute-Phase-Reaktion. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin*, 51(1):31.
- Giannoni E, Berger C, Stocker M, Agyeman P, Posfay-Barbe K, Heiniger U, Konetzny G, Niederer-Loher A, Kahler C, Donas A, Leone A, Hasters P, Relly C, Baer W, Aebi C, Schlapbach L, Swiss Pediatric Sepsis Study Group (2016). Incidence and Outcome of Group B Streptococcal Sepsis in Infants in Switzerland. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 35(2):222-4.
- Gortner L, Meyer S, Sitzmann F (2012). *Duale Reihe Pädiatrie*. 4. Aufl. Thieme, Stuttgart.
- Gressner A, Arndt T (2012). *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. 1. Aufl. Springer-Verlag, Berlin.
- Hägnevik K, Faxelius G, Irestedt L, Lagercrantz H, Lundell B, Persson B (1984). Catecholamine Surge and Metabolic Adaptation in the Newborn after Vaginal Delivery and Caesarean Section. *Acta Paediatrica Scandinavica*, 73(5):602-9.
- Hammerschlag M, Klein J, Herschel M, Chen F, Fermin R (1977). Patterns of Use of Antibiotics in Two Newborn Nurseries. *The New England Journal of Medicine*, 296(22):1268-9.
- Heinrich P, Castell J, Andus T (1990). Interleukin-6 and the Acute Phase Response. *Biochemical Journal*, 265(3):621-636.
- Hofer N, Zacharias E, Müller W, Resch B (2012). An Update on the Use of C-reactive Protein in Early-Onset Neonatal Sepsis: Current Insights and New Tasks. *Neonatology*, 102(1):25-36.
- Hornik C, Fort P, Clark R, Watt K, Benjamin Jr D, Smith P, Manzoni P, Jacqz-Aigrain E, Kaguelidou F, Cohen-Wolkowicz M (2012). Early and Late Onset Sepsis in Very-Low-Birth-Weight Infants From a Large Group of Neonatal Intensive Care Units. *Early Human Development*, 88(2):69-74.

- Ing V (1984). The Etiology and Management of Leukopenia. *Canadian Family Physician*, 30:835-1839.
- Jaye D, Waites K (1997). Clinical Applications of C-reactive Protein in Pediatrics. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 16(8):735-46.
- Jobe A, Bancalari E (2001). Bronchopulmonary Dysplasia. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 163(7):1723-9.
- Johnson A (2001). *Immunologie auf 70 Seiten*. 1. Aufl. Georg Thieme Verlag, New York.
- Jokic M, Guillois B, Cauquelin B, Giroux J, Bessis J, Morello R, Levy G, Ballet J (2000). Fetal Distress Increases interleukin-6 and interleukin-8 and Decreases Tumour Necrosis Factor-Alpha Cord Blood Levels in Noninfected Full-Term Neonates. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 107(3):420-5.
- Jung P, Härtel C, Heilmann A, Grüning G, Brenner S (2015). Sekundär verfallendes Neugeborenes. *Monatsschrift Kinderheilkunde*, 163(4):352-60.
- Kim C, Romero R, Chaemseithong P, Chaiyasit N, Yoon B, Kim Y (2015). Acute Chorioamnionitis and Funisitis: Definition, Pathologic Features, and Clinical Significance. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 213(40):29-52.
- Klinger G, Levy I, Sirota L, Boyko V, Lerner-Geva L, Reichman B, Israel Neonatal Network (2010). Outcome of Early-Onset Sepsis in a National Cohort of Very Low Birth Weight Infants. *Pediatrics*, 125(4):e736-40.
- Kusari A, Han A, Virgen C, Matiz C, Rasmussen M, Friedlander S, Eichenfield D (2019). Evidence-based Skin Care in Preterm Infants. *Pediatric Dermatology*, 36(1):16-23.
- Küster H, Weiss M, Willeitner A, Detlefsen S, Jeremias I, Zbojan J, Geiger R, Lipowsky G, Simbruner G (1998). Interleukin-1 Receptor Antagonist and interleukin-6 for Early Diagnosis of Neonatal Sepsis 2 Days Before Clinical Manifestation. *The Lancet*, 352(9136):1271-7.
- Labor Chemnitz - Zentrum für Diagnostik am Klinikum Chemnitz. Interleukin 6. Chemnitz. [Online im Internet.] URL: <https://www.laborchemnitz.de/leistungsverzeichnis/detail/leistung/hirudineca-h.html> [Stand: 06.05.2018, 13:25].
- Lehmeyer L, Stumpfe F (2017). *BASICS Anamnese und Untersuchung*. 2. Aufl. Elsevier, Urban & Fischer, München.
- Lohr A, Batfalsky A, Heussen N, Neunhoffer F, Vaeßen P, Orlikowsky (2010). IL-6-Bedside-Test in der Diagnose von bakteriellen Infektionen bei Früh- und Reifgeborenen. *Klinische Pädiatrie*, 222.
- Maldeghem I, Nusman C, Visser D (2019). Soluble CD14 Subtype (sCD14-ST) as Biomarker in Neonatal Early-Onset Sepsis and Late-Onset Sepsis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *BMC Immunology*, 20(1):17.
- Manroe B, Weinberg A, Rosenfeld C, Browne R, 1979. The Neonatal Blood Count in Health and Disease. I. Reference Values for Neutrophilic Cells. *The Journal of Pediatrics*, 95(1):89-98.
- Martius J, Ros T, Gora B, Oehler M, Schrod L, Papadopoulos T, Gross U (1999). Risk Factors Associated with Early-Onset Sepsis in Premature Infants. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 85(2):151-8.

- Messer J, Eyer D, Donato L, Gallati H, Matis J, Simeoni U (1996). Evaluation of interleukin-6 and Soluble Receptors of Tumor Necrosis Factor for Early Diagnosis of Neonatal Infection. *The Journal of Pediatrics*, 129(4):574-80.
- Mestan K, Yu Y, Thorsen P, Skogstrand K, Matoba N, Liu X, Kumar R, Hougaard D, Gupta M, Pearson C, Oritz K, Bauchner H, Wang X (2009). Cord Blood Biomarkers of the Fetal Inflammatory Response. *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, 22(5):379-87.
- Mishra U, Jacobs S, Doyle L, Garland S (2006). Newer Approaches to the Diagnosis of Early Onset Neonatal Sepsis. *Archives of Disease in Childhood. Fetal and Neonatal Edition*, 91(3):208-12.
- Moore M, Schrag S, Schuchat A (2013). Effects of Intrapartum Antimicrobial Prophylaxis for Prevention of group-B-streptococcal Disease on the Incidence and Ecology of Early-Onset Neonatal Sepsis. *The Lancet Infectious Diseases*, 3(4):201-13.
- Moshage H (1997). Cytokines and the Hepatic Acute Phase Response. *Journal Of Pathology*, 181(3):257-66.
- Ng P (2004). Diagnostic Markers of Infection in Neonates. *Archives of Disease in Childhood. Fetal and Neonatal Edition*, 89(3):F229-35.
- Ng P, Lam H (2006). Diagnostic Markers for Neonatal Sepsis. *Current Opinion in Pediatrics*, 18(2):125-31.
- Niehues T (2017). C-reaktives Protein und andere immunologische Biomarker. *Monatsschrift Kinderheilkunde*, 165(7):560-71.
- Papadatos C, Kafetzis D, Kanarios J (1980). Cefotaxime in the Treatment of Severe Paediatric Infections. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 6:243-8.
- Parker R, Park S (1984). Safety of Cefotaxime and Other New β -lactam Antibiotics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 14:331-5.
- Philip A, Hewitt J (1980). Early Diagnosis of Neonatal Sepsis. *Pediatrics*, 65(5):1036-41.
- Placzek M, Whitelaw A (1983). Early and Late Neonatal Septicaemia. *Archives of Disease in Childhood*, 58(9):728-31.
- Polin R, Committee on Fetus and Newborn (2012). Management of Neonates With Suspected or Proven Early-Onset Bacterial Sepsis. *Pediatrics*, 129(5):1006-15.
- Pourcyrous M, Korones S, Crouse D, Bada H 1998. Interleukin-6, C-reactive Protein, and Abnormal Cardiorespiratory Responses to Immunization in Premature Infants. *Pediatrics*, 101(3):E3.
- Raio L, Ghezzi F, Mueller M, McDougall J, Malek A (2003). Evidence of Fetal C-reactive Protein Urinary Excretion in Early Gestation. *Obstetrics & Gynecology*, 101(5 Pt 2):1062-3.
- Rose-John S, Scheller J, Elson G, Jones S (2006). Interleukin-6 Biology is Coordinated by Membrane-Bound and Soluble Receptors: Role in Inflammation and Cancer. *Journal of Leukocyte Biology*, 80(2):227-36.
- Sankar MJ, Agarwal R, Deorari A, Paul V (2008). Sepsis in the Newborn. *Indian Journal of Pediatrics*, 75(3):261-6.
- Schartl M, Gessler M, von Eckardstein A (2009). *Biochemie und Molekularbiologie des Menschen*. 1. Aufl. Elsevier GmbH - Urban & Fischer, München.

Schauseil S, Burak S, Engels-Schwarzlose S, Geisel R, Herzum I, Kuschak D, Schröer KP, Lutz T (2013). Hämatologie. *Medizinische Laboratorien Düsseldorf*.

Schlech W (2019). Epidemiology and Clinical Manifestations of *Listeria monocytogenes* Infection. *Microbiology Spectrum*, 7(3).

Schmidt S, Kopf-Löchel U (2014). *CTG-Praxis - Grundlagen und klinische Anwendung der Kardiotokografie*. 6. Aufl. Thieme Verlagsgruppe, Stuttgart.

Shah B, Padbury J (2014). Neonatal Sepsis - An Old Problem With New Insights. *Virulence*, 5(1):170-8.

Shane A, Sánchez P, Stoll B (2017). Neonatal Sepsis. *The Lancet*, 390(10104):1770-80.

Simonsen K, Anderson-Berry A, Delair S, Davies D (2014). Early-onset Neonatal Sepsis. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(1):21-47.

Stamminger G. *Labor Chemnitz*.

[Online im Internet] URL:

<https://www.laborchemnitz.de/leistungsverzeichnis/detail/leistung/hirudineca-h.html>

[Stand: 07 Mai 2018, 17:30].

Stocker M, van Herk W, El Helou S, Dutta S, Fontana M, Schuerman F, Tooren-de Groot R, Wieringa J, Janota J, van der Meer-Kappelle L, Monen R, Sie S, de Vries E, Donker A, Zimmerman U, Schlapbach L, de Mol A, Hoffman-Haringsma A, Roy M, Tomaske M, Kornelisse R, van Gijssel J, Visser E, Willemsen S, van Rossum A, NeoPlnS Study Group (2017). Procalcitonin-guided Decision Making for Duration of Antibiotic Therapy in Neonates with Suspected Early-Onset Sepsis: A Multicentre, Randomised Controlled Trial (NeoPlns). *The Lancet*, 390(10097):871-81.

Stoll B, Hansen N, Sánchez P, Faix R, Poindexter B, Van Meurs K, Bizzarro M, Goldberg R, Frantz 3rd I, Hale E, Shankaran S, Kennedy K, Carlo W, Watterberg K, Bell E, Walsh M, Schibler K, Laptook A, Shane A, Schrag S, Das A, Higgins R (2011). Early Onset Neonatal Sepsis: The Burden of Group B Streptococcal and *E. coli* Disease Continues. *Pediatrics*, 127(5):817-26.

Suerbaum S, Burchard GD, Kaufmann S, Schulz T (2016). *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. 8. Aufl. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.

Thomas P, Daly S, Misan G, Steele T (1992). Comparison of the Efficacy and Adverse Effect Profile of Cefotaxime and Ceftriaxone in ICU Patients with Susceptible Infections. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 15(1):89-97.

Tita A, Andrews W (2010). Diagnosis and Management of Clinical Chorioamnionitis. *Clinics in Perinatology*, 37(2):339-54.

Ulevitch R (2004). Therapeutics Targeting the Innate Immune System. *Nature Reviews Immunology*, 4(7):512-20.

Ulrich T, del Castillo J, Guo K (1989). In Vivo Hematologic Effects of Recombinant interleukin-6 on Hematopoiesis and Circulating Numbers of RBCs and WBCs. *Blood*, 73(1):108-10.

Visscher M, Narendran V, Pickens W, LaRuffa A, Meinzen-Derr J, Allen K, Hoath S (2005). Vernix Caseosa in Neonatal Adaption. *Journal of Perinatology*, 25(7):440-6.

Weston E, Pondo T, Lewis M, Martell-Cleary P, Morin C, Jewell B, Daily P, Apostol M, Petit S, Farley M, Lynfield R, Reingold A, Hansen N, Stoll B, Shane A, Zell E, Schrag S (2011).

- The Burden of Invasive Early-onset Neonatal Sepsis in the United States, 2005-2008. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 30(11):937-41.
- Wright J (2005). Immunoregulatory Functions of Surfactant Proteins. *Nature Reviews Immunology*, 5(1):58-68.
- Wyllie D, Bowler I, Peto T (2004). Relation Between Lymphopenia and Bacteraemia in UK Adults with Medical Emergencies. *Journal of Clinical Pathology*, 57(9):950-5.
- Wynn J (2016). Defining Neonatal Sepsis. *Current Opinion in Pediatrics*, 28(2):135-40.
- Zaretsky M, Alexander J, Byrd W, Bawdon R (2004). Transfer of Inflammatory Cytokines Across the Placenta. *Obstetrics & Gynecology*, 103(3):546-50.
- Zemlin M, Berger A, Franz A, Gille C, Härtel C, Küster H, Müller A, Pohlandt F, Simon A, Merz W (2019). AWMF-Leitlinie: Bakterielle Infektion bei Neugeborenen. *AWMF online - Das Portal der wissenschaftlichen Medizin*.
- Zhou D, Kusnecov A, Shurin M, DePaoli M, Rabin B (1993). Exposure to Physical and Psychological Stressors Elevates Plasma Interleukin 6: Relationship to the Activation of Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis. *Endocrinology*, 133(6):2523-30.
- Zhu M, Jin Y, Duan Y, He M, Lin Z, Lin J (2019). Multi-Drug Resistant Escherichia coli Causing Early-Onset Neonatal Sepsis – a Single Center Experience from China. *Infection and Drug Resistance*, 12:3695-3702.
- Zou Q, Wen W, Zhang X (2014). Presepsin as a Novel Sepsis Biomarker. *World Journal of Emergency Medicine*, 5(1):16-19.

10. Danksagung

Zunächst möchte ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Dominique Singer ganz herzlich für die Bereitstellung des Themas danken, aber auch dafür, dass er mir das Gefühl gegeben hat, mich jederzeit bei Problemen und Fragen an ihn wenden zu können.

Nicht weniger Dank möchte ich an meinen Betreuer Herrn Dr. Chinedu Ebenebe richten, der mich von Anfang an in die Studie miteingebunden und mir das Vertrauen für die Studiendurchführung geschenkt hat. Zudem stand er mir immer mit Rat und Tat zur Seite und hat mich bestmöglich unterstützt.

Auch dem Kreißsaalteam und dem Team der Wochenbettstation gebührt für die Rücksichtnahme und das Durchhaltevermögen bei der Probenentnahme mein größter Dank. Ohne ihre Unterstützung wären die Studie und damit meine Doktorarbeit nicht möglich gewesen.

Des Weiteren möchte ich den Mitarbeitern des Labors für ihre Arbeit und Geduld mit den teilweise fehlerhaften Blutröhrchen danken. Außerdem ein großer Dank, dass mir das Mikroskop für die Blutausstriche so bereitwillig zur Verfügung gestellt wurde.

Für die tatkräftige Unterstützung bei der statistischen Auswertung meiner Daten möchte ich Frau R. Plätke herzlich danken, die mir in konstruktiven Sitzungen mit einer Engelsgeduld die Welt der Statistik näher gebracht hat.

Auch den Eltern der kleinen Studienprobanden möchte ich für ihr Vertrauen und die Bereitschaft, ihre Daten zur Verfügung zu stellen, meinen Dank aussprechen, denn ohne sie gäbe es keine Studie.

Ein ganz besonders großes Dankeschön geht auch an meine Familie, meine Eltern, die mir das Studium ermöglicht und mich immer bestmöglich unterstützt haben sowie an meine Schwester die immer für mich da ist, wenn ich sie brauche.

Zu guter Letzt möchte ich noch einen wirklich großen Dank an meine Freunde richten. Somit geht ein gebührender Dank an Lena, Heiko, Caro und Marvin, die mich von Anfang an durchs Studium begleitet haben und mir immer wieder aufmunternd zugeredet haben, wenn die Dissertation mal am Tiefpunkt war und mir immer mit Rat und Tat zur Seite standen. Zudem möchte ich auch Jasmin und Rebecca für ihre bedingungslose Freundschaft, ihre Unterstützung und das tapfere Korrekturlesen danken.

11. Lebenslauf

Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt

12. Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: