

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital  
der Universität München

Direktor: Prof. Dr. D. Reinhardt

**Frühdiagnose der early-onset Sepsis aufgrund  
eines Amnioninfekts mit Hilfe von Interleukin-6  
Konzentrationen im Nabelschnurblut**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Charlotte Kraak

aus

Bonn

2005

**Mit Genehmigung der medizinischen Fakultät  
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. D. Reinhardt

Mitberichterstatter: Prof. Dr. R. Haas

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: Dr. H. Küster

Dekan: Prof. Dr. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 21.07.2005

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	3
Abkürzungsverzeichnis.....	7
1 Einleitung.....	9
1.1 Sepsis .....	9
1.2 Sepsis bei Neugeborenen.....	9
1.3 Ätiologie und Pathogenese der early-onset Sepsis.....	10
1.4 Risikofaktoren der early-onset Sepsis.....	11
1.5 Diagnose der early-onset Sepsis .....	12
1.6 Klinik .....	12
1.7 Blutkultur .....	13
1.8 Laborchemische Parameter in der Klinik .....	13
1.9 Laborchemische Parameter in der Forschung .....	14
1.10 Interleukin-6 .....	16
1.11 IL-6 und early-onset Sepsis.....	17
1.12 IL-6 und Risikofaktoren .....	19
1.13 IL-6 und histologische Chorioamnionitis.....	22
2 Fragestellungen.....	25
3 Material und Methoden.....	26
3.1 Patientenkollektiv .....	26
3.2 Klinische Daten.....	27
3.2.1 Erhebungsbogen für Perinataldaten .....	27
3.2.2 Erhebungsbogen für klinische Zeichen einer Sepsis .....	28
3.3 Probengewinnung und Bearbeitung.....	28
3.3.1 IL-6 Bestimmung mit dem Testautomaten .....	29

3.3.2	IL-6 Bestimmung mit dem Testkit Quantikine®.....	30
3.3.3	IL-6 Bestimmung mit dem Testkit Quantikine®HS.....	32
3.3.4	Histologie.....	34
3.3.5	Histologische Untersuchung .....	34
3.4	Definitionen.....	35
3.4.1	Definition der klinischen early-onset Sepsis.....	35
3.4.2	Definition der Risikofaktoren.....	36
3.4.3	Definition der klinischen Chorioamnionitis .....	36
3.4.4	Definition der histologischen Chorioamnionitis .....	36
3.5	Statistik .....	37
3.5.1	Wahl des Medians nach Überprüfung der Normalverteilung .....	37
3.5.2	Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer Vorhersagewert.....	37
3.5.3	Statistische Auswertung .....	38
4	Ergebnisse .....	39
4.1	Beschreibung des Patientenkollektivs.....	39
4.2	Darstellung der Studienpopulation .....	41
4.2.1	Perinataldaten der Studienpopulation.....	41
4.2.2	Risikofaktoren der early-onset Sepsis in der Studienpopulation.....	42
4.2.3	Infektionsparameter in der Studienpopulation.....	44
4.3	Ergebnisse abhängig von der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut.....	46
4.3.1	Abhängigkeit des IL-6 von Gestationsalter und Geburtsgewicht.....	46
4.3.2	Abhängigkeit des IL-6 von Risikofaktoren der early-onset Sepsis .....	49
4.3.3	Abhängigkeit des IL-6 von infektiösen Faktoren .....	52
4.4	Ergebnisse abhängig von der early-onset Sepsis .....	55
4.4.1	Abhängigkeit der early-onset Sepsis von Gestationsalter und	

Geburtsgewicht.....	57
4.4.2 Abhängigkeit der early-onset Sepsis von Risikofaktoren .....	59
4.4.3 Abhängigkeit der early-onset Sepsis von infektiösen Faktoren.....	61
4.5 Ergebnisse abhängig von der Histologie.....	66
4.5.1 Abhängigkeit der Histologie von Gestationsalter und Geburtsgewicht....	67
4.5.2 Abhängigkeit der Histologie von Risikofaktoren der early-onset Sepsis .	69
4.5.3 Abhängigkeit der Histologie von infektiösen Faktoren .....	71
5 Diskussion .....	75
5.1 Beurteilung der Studienpopulation .....	75
5.2 Beurteilung der Studiendurchführung .....	76
5.2.1 Sepsisscore .....	76
5.2.2 IL-6 Bestimmung.....	76
5.2.3 Histologische Beurteilung .....	77
5.3 Die Diagnose der early-onset Sepsis.....	78
5.3.1 Klinik.....	78
5.3.2 Antibiotische Behandlung .....	80
5.3.3 Laborchemische Parameter.....	82
5.4 Zusammenhang zwischen Risikofaktoren und dem Auftreten einer early-onset Sepsis .....	83
5.5 Zusammenhang zwischen Risikofaktoren der early-onset Sepsis und dem Auftreten einer histologischen Chorioamnionitis .....	85
5.6 Histologische Chorioamnionitis als ätiologischer Faktor für die early-onset Sepsis .....	86
5.7 Abhängigkeit des IL-6 von Gestationsalter und Geburtsgewicht.....	87
5.8 IL-6 als diagnostischer Parameter für die early-onset Sepsis .....	87
5.9 IL-6 als diagnostischer Parameter für die histologische Chorioamnionitis .....	88

5.10	Konsequenzen für Diagnostik und Therapie .....	89
6	Zusammenfassung.....	90
7	Literatur .....	92
8	Anhang.....	100
9	Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen .....	101
10	Danksagung .....	104
11	Lebenslauf.....	105

## Abkürzungsverzeichnis

BSG	Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit
C	Celsius
CRP	C-reaktives Protein
CAM	Chorioamnionitis
CI	Confidence interval
CTG	Cardiotokogramm
g	Gramm
G-CSF	Granulocyte colony stimulating factor
h	Stunden
HE	Hämatoxylin/Eosin
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule-1
IL-1 $\beta$	Interleukin-1 $\beta$
IL-2	Interleukin-2
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
I/T	Immature/Total
IUFT	Intrauteriner Fruchttod
i.v.	Intravenös
l	Liter
min	Minuten
mg	Milligramm
mm	Millimeter
NADH	reduziertes Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
NADPH	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat

NPV	Negative predictive value
nm	Nanometer
OR	odds ratio
pg	Pikogramm
PPV	positive predictive value
PROM	premature rupture of membranes
PPROM	preterm premature rupture of membranes
ROC	receiver operating characteristics
SGA	Small for gestational age
SSW	Schwangerschaftswochen
TNF $\alpha$	Tumor necrosis factor $\alpha$
$\mu$ l	Mikroliter
1. UFK	1. Universitäts Frauenklinik

# **1 Einleitung**

## **1.1 Sepsis**

Die Sepsis ist definiert als eine allgemeinentzündliche Reaktion des Körpers auf eine mikrobielle Infektion [Zabel 2000, Parrillo 1993]. Die Entzündungserreger lösen eine Vielzahl von humoralen und zellulären Vorgängen aus. Es kommt zu einer Aktivierung des Komplement-, Gerinnungs-, Fibrinolyse- und Kallikrein- Kinin- Systems sowie zu einer Freisetzung von Mediatorstoffen aus lysierten Zellen [Fink 1996]. Eine überschießende Ausschüttung von Zell- und Mediatorsystemen führt zu Störungen der Zellperfusion, zur Zelldysfunktion und zu Mikrozirkulationsstörungen [Fink 1996]. Betroffen sind Organsysteme wie Herz, Niere, Lunge, Leber, das zentrale Nervensystem und das Gerinnungssystem. Bei Beeinträchtigung eines oder mehrerer Organsysteme kann ein septischer Schock oder ein mediator-induziertes Multiorganversagen ausgelöst werden [Parrillo 1993].

## **1.2 Sepsis bei Neugeborenen**

Bis heute gehört die Sepsis bei Früh- und Neugeborenen zu einem Problem, das die behandelnden Ärzte vor eine große Herausforderung stellt. Aufgrund eines noch unreifen Immunsystems der Früh- und Neugeborenen zeigt sie nicht selten einen fulminanten Verlauf und sorgt für eine hohe Morbidität und Mortalität in der Population. Eine neonatale Sepsis hat eine Inzidenz von 1 bis 10 auf 1000 Lebendgeburten [Klein 1995]. In den letzten 75 Jahren ist aufgrund der gewachsenen Erkenntnisse über die Physiologie der Früh- und Neugeborenen sowie der Entwicklung spezieller Techniken und neuer Medikamente die Mortalität deutlich gesunken [Gladstone 1990]. Dies ist ein großer Fortschritt, aber noch immer kein befriedigendes Ergebnis.

Die Sepsis des Früh- und Neugeborenen wird in eine early-onset und eine late-onset Form unterteilt. Die late-onset Form entsteht ab dem dritten Lebenstag, häufig ausgelöst durch nosokomiale Keime. Die early-onset Form manifestiert sich bis zum 3. Lebenstag und entsteht fast immer durch eine prä- oder peripartale Infektion.

### 1.3 Ätiologie und Pathogenese der early-onset Sepsis

Auslöser für eine early-onset Sepsis sind meist prä- oder peripartal vaginal ascendierende Keime, seltener eine hämatogene Streuung bei systemischer Infektion der Mutter. Häufige Erreger sind  $\beta$ -hämolyisierenden Streptokokken der Gruppe B oder *Escherichia coli* [Gladstone 1990]. Ursache einer mikrobiellen Invasion der Fruchthöhle können Manipulationen im Zervixbereich, wie z.B. vaginale Untersuchung und Amnioskopie sein, meist jedoch ist die Genese unbekannt. Die Keime gehen auf die Plazenta, die Eihäute und das Fruchtwasser über und infizieren auf diesem Weg das Kind.

Als Reaktion auf eine Keiminvasion infiltrieren typischerweise polymorphkernigen Leukozyten die Dezidua, das Chorion und das Amnion und führen zu dem histologischen Bild einer Chorioamnionitis (CAM). Kommt es zusätzlich zu einer Infiltration der Wände der Nabelschnurgefäße und der Whartonsche Sulze mit neutrophilen Granulozyten, liegt das Bild einer Funisitis, einer Nabelschnurentzündung vor [Yoon 2000].

Eine histologische Chorioamnionitis ist in 4% bis 18% der Plazenten von reifen Neugeborenen zu finden. Bei Frühgeburtlichkeit steigt die Rate auf bis zu 74% an [Hillier 1991].

Aus einer histologischen Chorioamnionitis können eine early-onset Sepsis oder Meningitis resultieren. Die Untersuchung von Gewebeproben deckte auf, daß bei Vorliegen einer placentaren Keimbesiedlung eine schwerwiegende Infektion beim Neugeborenen entstehen kann, auch wenn keine positive Blutkultur des Neugeborenen vorliegt [Miyano 1996].

Aber nicht zwangsläufig entwickelt sich aus der histologischen Chorioamnionitis eine early-onset Sepsis. Ist mikroskopisch anhand des Präparates eindeutig eine Chorioamnionitis zu diagnostizieren, kann die Klinik des Früh- oder Neugeborenen dagegen völlig unauffällig verlaufen. Bei einer rein zufällig ausgewählten Population von Schwangeren und deren Früh- und Neugeborenen trat eine histologische Chorioamnionitis in 17,9% der Fälle auf, eine early-onset Sepsis entwickelt sich nur bei 5,4% der Gesamtpopulation der Neugeborenen [Büscher 2000].

Ob aus der Infektion der fetomaternalen Einheit eine early-onset Sepsis entsteht, hängt von verschiedenen Faktoren ab. So spielen Virulenz, Dauer und Intensität der Keimbefestigung eine wichtige Rolle, aber auch die Effizienz der immunologischen Abwehrreaktion des Neugeborenen. Die effiziente Antwort ist zum großen Teil abhängig vom Gestationsalter. Dies erklärt, warum eine Infektion bei Frühgeborenen auch durch fakultativ pathogene Keime ausgelöst werden kann.

#### **1.4 Risikofaktoren der early-onset Sepsis**

Als Risikofaktoren für das Entstehen einer early-onset Sepsis gelten bakterielle Vaginose der Mutter, vorzeitiger Blasensprung, Frühgeburtlichkeit und eine klinische Chorioamnionitis [Hillier 1988, Benitz 1999].

Eine bakterielle Vaginose mit einer hohen Konzentration an fakultativ pathogenen und pathogenen Keimen führt in der Schwangerschaft zu einer erhöhten Morbidität der Mutter und zu einer Gefährdung der Früh- und Neugeborenen. Infektionen im Urogenitaltrakt der Schwangeren gehen mit einer erhöhten Rate an vorzeitiger Wehentätigkeit, vorzeitigem Blasensprung und Frühgeburtlichkeit einher. Die Prävalenz einer mikrobiellen Invasion der Amnionhöhle lag bei Frühgeborenen mit intakten Eihäuten bei 10,7%, nach vorzeitigem Blasensprung stieg sie auf 57,7% an [Gomez 1998].

Ein vorzeitiger Blasensprung (premature rupture of the membranes=PRM) ist definiert als Ruptur des Amnions vor Beginn der Wehentätigkeit. In 25% der Fälle findet der vorzeitige Blasensprung vor dem Ende der 37.SSW statt (preterm premature rupture of the membranes=PPROM) [Kirschbaum 1995], häufig gefolgt von einer Frühgeburt. Hauptursache ist auch hier die aufsteigende vaginale Infektion. Ist das Amnion rupturiert, bedingt dies wiederum eine vermehrte Infektionsgefahr durch Wegfallen einer schützenden Hülle um den Fetus und erhöht die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer early-onset Sepsis [Harris 1994, Buck 1994].

Frühgeburt ist einer der Hauptgründe für perinatale Morbidität und Mortalität. Das Sterberisiko ist 120-fach höher bei Früh- als bei Neugeborenen. Intrauterine Infektion, einer der ätiologischen Hauptfaktoren für das Entstehen einer early-onset Sepsis, tritt bei Frühgeborenen in bis zu 20% der Fälle auf. Je niedriger das

Gestationsalter, desto höher ist die Erkrankungswahrscheinlichkeit [Gomez 1995]. In einer Population von Frühgeborenen ließ sich eine, für die Entstehung der early-onset Sepsis ätiologisch bedeutsame histologische Chorioamnionitis in 35,8% der Fälle nachweisen und bei Patientinnen mit vorzeitigem Blasensprung in 65,9% der Fälle [Gomez 1998].

Ein bedeutsamer Risikofaktor für das Entstehen einer early-onset Sepsis ist das Vorliegen einer klinischen Chorioamnionitis [St. Geme 1984, Benitz 1999]. Sie liegt vor, wenn es als Ausdruck eines infektiösen Geschehens der fetomaternalen Einheit zu klinischen Symptomen und erhöhten laborchemischen Parametern von Mutter und Kind kommt. Mütterliche Leukozytose, CRP-Anstieg, Fieber, ein druckdolenter Uterus, fötides Fruchtwasser und fetale Tachykardie werden als Zeichen einer klinischen Chorioamnionitis definiert [Singh 1996, Winkler 1997, Gomez 1998, Yoon 2000]. Bei einer diagnostizierten early-onset Sepsis liegt eine klinische Chorioamnionitis mit einer Inzidenz von 1,8 bis 20% vor [Smulian 1999]. Aber nur ca. 12% der Früh- und Neugeborenen, bei denen präpartal eine klinische Chorioamnionitis diagnostiziert werden konnte, zeigen postpartal Symptome einer early-onset Sepsis [Yoon 2000]. Die klinische Chorioamnionitis ist hinsichtlich der fetalen Infektionsmorbidity und Mortalität bedeutsamer als das Vorliegen einer histologischen Chorioamnionitis [Gibbs 1991].

## **1.5 Diagnose der early-onset Sepsis**

Die frühe und effiziente Diagnose einer neonatalen Sepsis ist bis heute problematisch [Gerdes 1991]. Die Diagnose der Früh- und Neugeborenen-sepsis wird in der Regel anhand einer Kombination aus Risikofaktoren in der Anamnese, klinischem Erscheinungsbild, positiver Blutkultur und laborchemischen Parametern gestellt [Töllner 1982].

## **1.6 Klinik**

Die klinischen Symptome einer Sepsis sind beim Früh- und Neugeborenen zunächst unspezifisch und weisen erst spät eindeutig auf eine Sepsis hin. Es finden sich Kreislaufsymptome wie graumarmoriertes Hautkolorit, Brady- oder Tachykardie, Temperaturunregelmäßigkeiten und eine Verlängerung der Rekapillarierungszeit

als Ausdruck von Mikrozirkulationsstörungen. Veränderungen der Atmung wie Apnoe oder Tachydyspnoe können den Beginn eines septischen Geschehen bedeuten. Berührungsempfindlichkeit, Hypotonie des Muskeltonus, Lethargie, Stimulationsbedarf und Trinkschwäche können im Rahmen einer Sepsis auf Affektion des neurologischen Systems im Sinne einer Meningitis hinweisen [Töllner 1982, Buck 1994, de Bont 1994, Lehrnbecher 1996].

Im klinischen Alltag ist eine beginnende Sepsis nur schlecht von anderen Erkrankungen zu unterscheiden. Ob z. B. eine transiente Tachydyspnoe Ausdruck einer Septicämie oder eines Atemnotsyndrom ist, läßt sich zu Beginn der Symptomatik häufig nicht eindeutig klären [Källmann 1999]. Auch Adaptationsstörungen aufgrund von peripartalem Streß sind von Zeichen einer Sepsis schwer abzugrenzen. Eine antibiotische Therapie erfolgt nicht selten erst bei einer akuten Verschlechterung der klinischen Symptome und damit zu spät. Aus Angst vor einem fulminanten Verlauf werden umgekehrt viele Neugeborene wegen anamnestischer Hinweise oder einer unspezifischen Klinik antibiotisch behandelt, ohne daß eine Infektion vorliegt.

## **1.7 Blutkultur**

Der Standard in der Diagnosesicherung einer Sepsis ist am beim Erwachsenen der kulturelle Erregernachweis in der Blutkultur [Gerdes 1991]. Dieser gelingt jedoch bei Früh- und Neugeborenen häufig nicht und ist zudem nicht selten kontaminiert. Die Sensitivität der Blutkultur im Hinblick auf die early-onset Sepsis betrug in einer Studie von Squire et al. 82% [Squire 1979]. Blutkulturen werden durch präpartale Antibiotikatherapie der Mutter beeinflusst [Sanghvi 1996]. Das Ergebnis einer Kultur steht jedoch frühestens nach 24 Stunden zur Verfügung und kann daher nicht zur primären Indikationsstellung einer antibiotischen Behandlung herangezogen werden.

## **1.8 Laborchemische Parameter in der Klinik**

Zur Diagnose einer neonatalen Sepsis gibt es bislang keine geeigneten laborchemischen Parameter, da diese entweder zu unspezifisch sind oder erst spät zur Verfügung stehen. Zum Nachweis eines infektiösen Geschehens werden in der Klinik vor allem das Akute-Phase-Protein C-reaktives Protein (CRP) und

Leukozytenindices wie Leukopenie, Neutropenie und vor allem der Anteil der Vorstufen unreifer Neutrophiler an der Gesamtzahl aller Neutrophilen (I/T-Ratio) hinzugezogen [Gomez 1998].

Weder Neutropenie noch der I/T-ratio treten vor einer klinischen Verschlechterung auf [Carache 1992]. Die Sensitivität der Neutropenie zur Diagnose der early-onset Sepsis beträgt je nach Autor 38-96%, die Spezifität 61-92%, der positiven Vorhersagewert 20-77% und der negative Vorhersagewert 96-99%. Für die I/T-Ratio wird die Sensitivität mit 90-100% und die Spezifität mit 50-78% angegeben. Der positive Vorhersagewert beträgt 11-55% und der negative Vorhersagewert beträgt 99-100% [Gerdes 1991]. Erkennbar ist die große Spannbreite der Angaben und bei beiden Parametern der schlechte positive Vorhersagewert.

Das CRP steht für die Frühdiagnose zu spät zur Verfügung [Berner 1998]. Zu Beginn einer early-onset Sepsis ist die Sensitivität des CRP niedrig und steigt erst mit der Zeit an. So betrug in einer Gruppe von Früh- und Neugeborenen (24-42SSW) mit klinisch diagnostizierter aber Blutkultur-negativer early-onset Sepsis die Sensitivität des CRP direkt nach der Geburt 44%, nach 24 Stunden verbesserte sie sich auf 83% [Messer 1996].

Auch Krediet et al. fanden in einer Studie, daß im Screening und damit vor Auftreten von klinischen Zeichen der sensitive Vorhersagewert für das CRP 23%, für die I/T-ratio 18% und für beide zusammen 32% betrug [Krediet 1992].

Dies verdeutlicht die Aussage einiger Autoren, daß zur Früherkennung einer early-onset Sepsis im Vergleich zu klinischen Symptomen weder das CRP noch Leukozytenindices eine große zusätzliche Bedeutung haben [Mathers 1987, Krediet 1992, Pourcyrous 1993].

## **1.9 Laborchemische Parameter in der Forschung**

Da bisherige Parameter in der Diagnose keine befriedigenden Ergebnisse liefern, wird seit Jahren nach brauchbareren Indikatoren gesucht. Gesucht sind Infektionsparameter, die im Rahmen einer Sepsis frühzeitig, bestenfalls vor Auftreten erster klinischer Symptome, positiv werden und sich dabei durch eine hohe Sensitivität und Spezifität auszeichnen.

PMN elastase, Tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), Granulocyte colony stimulating factor (G-CSF), das intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) und Zytokine wie Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), Interleukin-6 (IL-6) und Interleukin-8 (IL-8) sind bis heute Gegenstand von Studien.

TNF $\alpha$  wurde von mehreren Autoren als ein Marker mit einer geringeren Spezifität als der des IL-6 beschrieben [Buck 1994, de Bont 1994, Messer 1996]. In einer Gruppe von 43 Frühgeborenen (27;3SSW) waren die TNF $\alpha$  Werte im Nabelschnurblut in den Gruppen mit bestätigter oder klinischer Sepsis nicht signifikant höher als in der Kontrollgruppe [Kashlan 2000]. Dies könnte daran liegen, daß der Spitzenwert von TNF $\alpha$  bereits 90 Minuten nach einem infektiösen Impuls erreicht ist und schnell zum Ausgangswert zurückkehrt [Harris 1994].

Kennon et al. fanden gering erhöhte Werte von G-CSF im Nabelschnurblut von Früh- und Neugeborenen mit Sepsis, ein Vergleich mit anderen Sepsis-Parametern erfolgte nicht [Kennon1996]. Es wurde von stark erhöhten Plasma Werten von G-CSF im Blut von Erwachsenen mit Sepsis berichtet [Kawakami 1990], in Neugeborenen waren die Werte mäßig [Kennon 1996] bis gar nicht erhöht [Bailie 1994].

Die Aussagen bezüglich ICAM-1 sind in der Literatur sehr unterschiedlich. Lehrnbecher et al. fanden heraus, daß ICAM-1 im Nabelschnurblut septischer Früh- und Neugeborener signifikant erhöht war [Lehrnbecher 1996], während Smulian et al. postulierten, ICAM-1 Werte im Nabelschnurblut würden vom septischen Status des Früh- und Neugeborenen nicht beeinflusst [Smulian 1997]. In einer Studie von Berner et al. an 136 Früh- und Neugeborenen stieg das ICAM-1 zur gleichen Zeit wie das CRP an und steht damit zur Früherkennung zu spät zur Verfügung, außerdem war es abhängig vom Gestationsalter [Berner 1998].

PMN elastase ist während einer Sepsis zwar erhöht, bietet aber mit 23% keinen befriedigenden positiven Vorhersagewert [Tsaka 1990].

Das Zytokin IL-1 $\beta$  ist im Nabelschnurblut in Verbindung mit histologischer Chorioamnionitis erhöht, aber es fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen septischen und gesunden Früh- und Neugeborenen [Büscher 2000]. IL-1 $\beta$  Konzentrationen im Nabelschnurblut sind abhängig vom Geburtsmodus. So konnten Miller et al. herausfinden, daß IL-1 $\beta$  Konzentrationen bei Kindern mit induzierter vaginaler Geburt oder Notsektio erhöht waren [Miller 1990].

IL-8, ebenfalls ein Zytokin, zeigt bei infizierten Früh- und Neugeborenen erhöhte Konzentrationen [Lehrnbecher 1996], ist aber stark abhängig von einer präpartalen Steroidbehandlung der Mutter zur fetalen Lungenreife [Shimoya 1991]. Da diese Behandlung bei Frühgeborenen indiziert ist, Frühgeburtlichkeit aber auch ein Risikofaktor für die Entwicklung einer early-onset Sepsis darstellt, ist dieser Parameter von begrenzter Bedeutung.

## **1.10 Interleukin-6**

IL-6, ein Protein mit einem Molekulargewicht von 21,5 bis 28 kDa, gehört in die Familie der Zytokine. Es wird von vielen Zelltypen, vor allem von Monozyten, Makrophagen, Fibroblasten und Endothelzellen, aktivierten T Zellen [Holländer 1999] aber auch von Zellen der Plazenta gebildet [Horii 1988, Matsuzaki 1993]. Tumor-Nekrose-Faktor (TNF- $\alpha$ ) und Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) stimulieren die Synthese von IL-6 [Pichler 1996]. Da Plazentazellen IL-6 produzieren und die IL-6 Produktion von Plazenten mit histologischer Chorioamnionitis höher ist als von solchen ohne Entzündungszeichen, wird angenommen, daß plazentares IL-6 an dem fetomaternalen Abwehrmechanismen teilnimmt [Matsuzaki 1993]. Nicht nur Zellen Erwachsener, sondern auch mononucleäre Zellen der Nabelschnur können nach Stimulation mit bakteriellen Lipopolysacchariden in vitro IL-6 synthetisieren [Singh 1996].

Die wesentliche Wirkung des Zytokins IL-6 liegt in der Beeinflussung immunologischer, biologischer und inflammatorischer Reaktionen des Körpers. Immunologisch kommt es unter dem Einfluß von IL-6 zu einer Ausdifferenzierung von B-Zellen und zu einer Steigerung der Immunglobulin-Sekretion. IL-6 greift in die Frühphase der T-Zell-Aktivierung ein, indem es die Sensitivität der T-Zellen gegenüber IL-2 verbessert [Holländer 1999]. Zu den biologischen Eigenschaften des IL-6 zählt die Stammzellaktivierung über Hämopoetin 1 [Schindler 1990] und Mitwirkung bei der Induktion des endogenen pyrogenen Fiebers [Pichler 1996]. Bei der inflammatorischen Reaktion auf bakterielle Infektionen ist IL-6 der Hauptmediator für die Produktion von Akute-Phase-Proteinen und bewirkt direkt die Synthese von CRP in den Hepatozyten [Pichler 1996, Kishimoto 1989]. Ein Anstieg von IL-6 Konzentrationen im Plasma wird daher bei einer Infektion vor dem

Anstieg des CRP Wertes beobachtet [Kolb-Bachofen 1991, Buck 1994]. IL-6 bewirkt einen Anstieg des Fibrinogens, was sich in der (BSG) widerspiegelt. IL-6 beteiligt sich an der Rückkopplung der Immunantwort, indem es unterdrückend auf die Produktion von TNF  $\alpha$  und IL-1 wirkt [Schindler 1990]. IL-6 hat eine kurze Halbwertszeit, so daß seine Werte nach 24 Stunden deutlich verringert sind oder unterhalb der Nachweisgrenze liegen [Lehrnbecher 1996, Buck 1994]. Das Ergebnis einer IL-6 Untersuchung ist mit heutigen modernen Methoden schon nach 90 Minuten zu erhalten [Krueger 2001].

### **1.11 IL-6 und early-onset Sepsis**

In mehreren Studien waren die IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut bei Früh- und Neugeborenen mit vermuteter oder klinisch diagnostizierter early-onset Sepsis gegenüber gesunden Früh- und Neugeborenen deutlich erhöht und scheinen somit einen geeigneten Parameter zur Identifizierung einer neonatalen Sepsis darzustellen [Lehrnbecher 1996, Smulian 1997, Berner 1998, Büscher 2000]. Auch im peripheren Blut von Früh- und Neugeborenen sind die IL-6 Konzentrationen signifikant erhöht [Buck 1994, de Bont 1994].

Besondere Bedeutung kommt dem IL-6 zu, da es von anderen Faktoren nicht beeinflusst zu werden scheint. Es ist unabgänglich vom Geburtsmodus [Miller 1990, Lehrnbecher 1996], vom Gestationsalter [Miller 1990, Messer 1996] und dem Gewicht des Früh- und Neugeborenen [Miller 1990] sowie einer präpartalen Steroidbehandlung [Lehrnbecher 1996]. Harris et al. fanden heraus, daß der IL-6 Anstieg bei Früh- und Neugeborenen mit Sepsis auch unabhängig vom Erreger war [Harris 1994]. Insbesondere aber steigt IL-6 bei neonataler Sepsis mit einer hohen Sensitivität vor dem Auftreten eindeutiger klinischer Symptome an [Küster 1998]. Dies lässt IL-6 nicht nur für Forschungszwecke, sondern auch für den klinischen Alltag brauchbar erscheinen.

De Bont et al. teilten 55 Früh- und Neugeborene in 3 Gruppen ein. Gruppe 1 bestand aus 15 Neugeborenen mit gesicherter early-oder late-onset Sepsis, Gruppe 2 aus 18 Neugeborenen mit vermuteter early-oder late-onset Sepsis und Gruppe 3 aus 22 gesunden Neugeborenen. Sepsis wurde definiert als das Vorliegen klinischer Zeichen einer Sepsis und das Vorliegen einer positiven Blutkultur oder zusätzlich zu

den klinischen Zeichen einer Sepsis das Ansteigen klassischer laborchemischer Parameter wie CRP oder Leukozyten. Eine Sepsis wurde vermutet, wenn klinische Zeichen einer Sepsis vorlagen, aber weder die laborchemischen Parameter noch eine positive Blutkultur den Verdacht bestätigten. Bei einem cut-off-point von 500pg/ml betrug die Sensitivität des IL-6 hinsichtlich der gesicherten und der vermuteten early-oder late-onset Sepsis (33 Neugeborene der Gruppe 1 und 2) 80% und die Spezifität 78% [de Bont 1994].

In einer Studie von Berner et al. an 136 Früh- und Neugeborenen (26-42SSW) lag der Median der IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut in der Gruppe mit early-onset Sepsis bei 523,7pg/ml (2,9-300000pg/ml), der Median der Kontrollgruppe betrug 4,0pg/ml (0,35-897pg/ml). Eine Sepsis lag laut Definition dann vor, wenn typische klinische Symptome einer Sepsis und entweder eine positive Blutkultur oder ein  $CRP \geq 20$ mg/l innerhalb der ersten 48 Stunden vorlagen. Für das Vorliegen einer early-onset Sepsis betrug die Sensitivität des IL-6 bei einem cut-off point von 100pg/ml 87%, die Spezifität 93%, der positive Vorhersagewert 76% und der negative Vorhersagewert 97% [Berner 1998].

In einer Studie von Lehrnbecher et al. erkrankten 13 von 46 Früh- und Neugeborenen (24-41SSW) an einer early-onset Sepsis. Eine Sepsis lag dann vor, wenn sie klinisch vermutet wurde plus positive Blutkultur oder wenn sie klinisch vermutet wurde und mindestens zwei pathologische Laborparameter innerhalb der ersten 48h vorlagen. Bei einem mit receiver operating characteristics (ROC) curve ermittelten cut-off point von 150pg/ml waren die IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut von Neugeborenen mit nach oben genannten Kriterien diagnostizierter Sepsis signifikant ( $p=0,0008$ ) erhöht. Die Sensitivität des IL-6 betrug 69%, die Spezifität 91% [Lehrnbecher1996].

In einer Studie von Messer et al. wurden IL-6 Konzentrationen aus der Nabelschnur oder aus peripherem Blut von 288 Früh- und Neugeborenen (24-42SSW) innerhalb der ersten Stunde nach der Geburt analysiert. Die Kinder wurden in 4 Gruppen eingeteilt. Gruppe 0: nicht infiziert, Gruppe 1: Infektion möglich, Gruppe 2a: infiziert, Blutkultur positiv und Gruppe 2b: Infektion möglich, Blutkultur negativ. Der Median der IL-6 Konzentration war in den Gruppen 2a, 2b und 1 signifikant höher als in der Gruppe 0. Bei einem mit ROC ermittelten cut-off point von 100pg/ml lag die Sensitivität für die Diagnose der early-onset Sepsis anhand von IL-6 bei 83,3% und

die Spezifität bei 90,3 %. Der positive Vorhersagewert betrug 58,8% und der negative Vorhersagewert 97% [Messer 1996].

In einer Studie von Buck et al. wurden 222 Früh- und Neugeborene in 5 Gruppen eingeteilt: 11 mit Blutkultur positiver Sepsis (Sensitivität des IL-6 bei Aufnahme 73%), 15 Früh- und Neugeborene mit klinischen Symptomen einer Sepsis (Sensitivität des IL-6 bei Aufnahme 87%), 41 mit laborchemisch nachgewiesener Sepsis (Sensitivität des IL-6 bei Aufnahme 68%) und 54 ohne klinischen oder laborchemischen Hinweis auf Sepsis (Spezifität 78%). Die übrigen 101 Früh- und Neugeborenen wurden als eine gemischte Gruppe definiert, da die Diagnose einer neonatalen Sepsis nicht sicher gestellt werden konnte. 75% der infizierten Früh- und Neugeborenen hatten 24 Stunden nach Aufnahme negative IL-6 Konzentrationen im peripheren Blut. 10 der 18 Früh- und Neugeborene mit negativen IL-6 Konzentrationen bei Aufnahme hatten erhöhte CRP Werte. Buck postulierte, daß die IL-6 Konzentrationen bereits wieder negativ waren, da das IL-6 über eine sehr kurze Halbwertszeit verfügt. Die Sensitivität von IL-6 im peripheren Blut bei negativem CRP aber positiven Blutkulturen und klinischer Sepsis bei 100%. Die Sensitivität des IL-6 war mit 73% dem CRP mit 58% überlegen [Buck 1994].

Andere Autoren fanden zwar erhöhte IL-6 Konzentrationen bei infizierten Früh- und Neugeborenen aber lediglich mit einer Sensitivität von 31%, ähnlich der des CRP mit 35% [Edgar 1994].

## **1.12 IL-6 und Risikofaktoren**

Gerade Frühgeborene haben ein erhöhtes Risiko an einer early-onset Sepsis zu erkranken. Es ist verständlich, daß diese Population in verschiedenen Studien gesondert betrachtet wurde.

In einer Studie von Weeks et al. wurden IL-6 Konzentrationen aus der Nabelschnur von 133 Frühgeborenen vor der 37.SSW untersucht. Die Frühgeborenen wurden in 2 Gruppen unterteilt. Gruppe 1 bestand aus 16 Frühgeborenen, die postpartal Komplikationen aufwiesen. Gruppe 2 bestand aus 117 gesunden Frühgeborenen. Die IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut der Gruppe 1 waren signifikant höher, als die der Gruppe 2 (145pg/ml vs. 0pg/ml). Dabei bestanden die postpartalen Komplikationen nicht ausschließlich aus neonataler Sepsis, sondern auch aus

congenitaler Pneumonie, nekrotisierende Enterokolitis oder Grad 2 bis 4 der intraventrikulären Hämorrhagie [Weeks 1997].

Smulian et al. untersuchten einer Population von 28 Frühgeborenen zwischen der 22.-36.SSW. In 71,4% der Fälle war ein vorzeitiger Blasensprung aufgetreten, Zeichen einer klinischen Chorioamnionitis zeigten sich in 35,7%. Bei 50% der Mütter fand sich bakterielle Vaginose oder eine positive zerviko-vaginal Kultur. Eine histologische Chorioamnionitis lag in 64,3% der Fälle vor. 14 Frühgeborene entwickelten eine early-onset Sepsis. IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut waren bei Vorliegen einer klinischen Chorioamnionitis mit  $p=0,35$  nicht signifikant erhöht. Bei Vorliegen einer histologischen Chorioamnionitis waren die IL-6 Konzentrationen bei einem cut-off point von 25pg/ml signifikant ( $p=0,003$ ) erhöht. Frühgeborene mit early-onset Sepsis hatten signifikant ( $p=0,0004$ ) höhere IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut als Frühgeborene ohne Anzeichen eines infektiösen Geschehen. Die OR für das Entwickeln einer early-onset Sepsis betrug bei einem IL-6 cut-off point von 25pg/ml 169pg/ml (95% CI 9,5 bis 3,000). Das Ergebnis läßt darauf schließen, daß IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut eine early-onset Sepsis besser vorhersagen können, als das Vorliegen einer klinischen Chorioamnionitis [Smulian 1999].

In einer Studie von Kashlan et al. wurde eine Population von 43 Frühgeborenen <32SSW in drei Gruppen eingeteilt. Die erste Gruppe bestand aus 3 Frühgeborenen, die eine durch eine positive Blutkultur bestätigte early-onset Sepsis hatten. Bei der zweiten Gruppe handelte es sich um 18 Frühgeborene mit negativer Blutkultur aber Zeichen einer klinischen Chorioamnionitis, erhöhten laborchemischen Parametern oder typischen klinischen Symptomen einer Sepsis. Die dritte Gruppe war die Kontrollgruppe und bestand aus 22 Frühgeborenen. Bei einem ROC ermittelten cut-off point von  $\geq 100$ pg/ml lag die Sensitivität von IL-6 für die kombinierte Gruppe 1 und 2 bei 80%, die Spezifität bei 90% der positive Vorhersagewert bei 89% und der negative Vorhersagewert bei 83%. Die histopathologische Untersuchung zeigte 55% der Plazenten keine, bei 2% milde, bei 19% moderate und bei 24% ausgeprägte Zeichen einer Chorioamnionitis. Mit  $5,9 \pm 1,6$  pg/ml in der Gruppe mit moderater und  $7,2 \pm 2,3$ pg/ml in der mit ausgeprägter histologischer Chorioamnionitis waren die IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurplasma signifikant höher als in der Gruppe ohne Läsion ( $1,9 \pm 1,6$ pg/ml) [Kashlan 2000].

In einer Studie von Krueger et al. an 171 Früh- und Neugeborenen wurden 4 Gruppen gebildet: Gruppe A: dokumentierte early-onset Sepsis, Gruppe B: Infektion möglich, Gruppe C: Infektion unwahrscheinlich und Gruppe D: gesund. In einer Subgruppe von 100 Frühgeborenen waren die IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut wie folgt: Gruppe A: 1920pg/ml (308-4660pg/ml), Gruppe B: 50pg/ml (15-102pg/ml), Gruppe C: 21pg/ml (12-71pg/ml) und Gruppe D: 8pg/ml (6-11pg/ml). Bei einem cut-off point von 80pg/ml lag die Sensitivität von IL-6 für die Diagnose einer early-onset Sepsis bei Frühgeborenen bei 96% und die Spezifität bei 95%. Dies zeigt, daß die Diagnose einer early-onset Sepsis bei Frühgeborenen anhand von IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut mit einem hohen Maß an Zuverlässigkeit getroffen werden kann [Krueger 2001].

Auch Gomez et al. fanden heraus, daß erhöhte Konzentrationen von IL-6 im Fetalblut von Frühgeborenen und bei Kindern mit vorzeitigem Blasensprung, das Auftreten von schwerer neonataler Morbidität im Sinne eines systemischen fetalen inflammatory response syndroms voraussagten. IL-6 Konzentrationen im fetalen Blut und die mikrobielle Invasion der Amnionhöhle, nachgewiesen mittels Amniozentese, wurden bei 155 Früh- und Neugeborenen, davon 52 Frühgeborenen mit vorzeitigem Blasensprung (PPROM) untersucht. In 27% der Fälle war eine mikrobielle Invasion der Amnionhöhle nachzuweisen. Dabei lag die Prävalenz bei Frühgeborenen ohne vorzeitigen Blasensprung bei 11%, bei Frühgeborenen mit vorzeitigem Blasensprung (PPROM) bei 58%. Eine histologische Chorioamnionitis zeigte sich bei Frühgeborenen ohne vorzeitigen Blasensprung in 36% der Fälle, bei Frühgeborenen mit vorzeitigem Blasensprung in 66% der Fälle. Bei fetalen IL-6 Konzentrationen von  $\geq 11$ pg/ml zeigten 78% der Früh- und Neugeborenen schwere Anzeichen einer neonatalen Morbidität, bei fetalen IL-6 Konzentrationen  $\leq 11$ pg/ml waren es 30% [Gomez 1998].

Höhere Konzentrationen des IL-6 ergaben sich bei verstorbenen Früh- und Neugeborenen als bei überlebenden, so daß postuliert wurde, die IL-6 Konzentration könnte den Tod aufgrund einer Sepsis vorhersagen [Harris 1994].

Döllner et al. halten IL-6 ausschließlich bei Frühgeborenen für einen geeigneten Parameter, da die Konzentrationen bei reifen Neugeborenen ein septisches Geschehen nicht von einer Krankheit anderer Genese abzugrenzen vermochten. [Döllner 2001].

Singh et al. untersuchten IL-6 im Nabelschnurblut von 32 reifen Neugeborenen (Median 39;5SSW), die in 4 Gruppen zu je 8 Neugeborenen eingeteilt wurden. In Gruppe 1 befanden sich ausschließlich Neugeborene, die durch elektive Sectio entbunden worden waren. Gruppe 2 bestand aus Neugeborenen, die durch einen unauffälligen vaginalen Spontanpartus zur Welt gekommen waren. Gruppe 3 bestand aus Neugeborenen mit vorzeitigem Blasensprung  $\geq 24$  Stunden in der Anamnese und Gruppe 4 aus Neugeborenen, bei denen Anzeichen einer klinischen Chorioamnionitis (mütterliche Temperatur  $\geq 37.8^{\circ}\text{C}$ , Leukozytose, grünes Fruchtwasser oder fetale Tachykardie) vorlagen. IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut von Neugeborenen der Gruppe 3 mit vorzeitigem Blasensprung waren zwar erhöht, der Unterschied war aber im Vergleich mit den Konzentrationen der Gruppe 2 statistisch nicht signifikant ( $5,45 \pm 1,49 \text{ pg/ml}$  vs.  $3,27 \pm 1,39 \text{ pg/ml}$ ,  $p=0.06$ ). Im Gegensatz dazu waren die IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut von Neugeborenen, bei denen Zeichen einer klinischen Chorioamnionitis aufgetreten waren (Gruppe 4) mit  $119,7 \pm 33,5 \text{ pg/ml}$  gegenüber den anderen 3 Gruppen signifikant erhöht ( $p < 0,005$ ) [Singh 1996].

### **1.13 IL-6 und histologische Chorioamnionitis**

Nicht nur eine manifeste early-onset Sepsis scheint durch IL-6 frühzeitig angezeigt zu werden, sondern auch die klinische und die histologische Chorioamnionitis, auf deren Boden eine early-onset Sepsis entstehen kann.

Im Hinblick auf die histologische Chorioamnionitis finden sich signifikant erhöhte IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut [Miyano 1996, Yoon 2000, Naccasha 2001].

In einer Studie von Naccasha et al. betrug in einer Population von 92 Frühgeborenen (24-34SSW) die Anzahl der Plazenten mit histologischer Chorioamnionitis 49%. Bei einem cut-off point von  $10 \text{ pg/ml}$  hatten von diesen 73% erhöhte IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut. Die Sensitivität von IL-6 für eine Chorioamnionitis betrug 73%, die Spezifität 87%, der positive Vorhersagewert 85% und der negative Vorhersagewert 77%. Dabei hatten die von anderen Autoren als potentielle Risikofaktoren angesehene Kriterien Gestationsalter und klinische Chorioamnionitis keinen Einfluß auf das histologischen Ergebnis [Naccasha 2001].

Büscher et al. untersuchte eine Population von 240 zufällig ausgewählten Früh- und Neugeborenen. Hier trat eine histologische Chorioamnionitis in 17,9% der Fälle auf,

eine early-onset Sepsis manifestierte sich bei 5,4%. Die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut in der Gruppe mit histologischer Chorioamnionitis lagen bei 15,6pg/ml (11,7-39,6pg/ml), in der Gruppe ohne bei 12,8pg/ml (10,2-16,2pg/ml). Die Sensitivität des IL-6 bei einem ROC errechneten cut-off point von 15pg/ml für das Vorliegen einer histologischen Chorioamnionitis lag bei 57,1%, die Spezifität bei 68,8%. Der positive Vorhersagewert lag bei 28,6%, der negative Vorhersagewert bei 88%. Die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut in der Gruppe der Kinder mit early-onset Sepsis lag bei 16,0pg/ml (14,0-33,1pg/ml) im Gegensatz zu 13,2pg/ml (10,6-17,6pg/ml) bei der Kontrollgruppe. Die early-onset Sepsis Vorhersage hatte eine Sensitivität von 53,8% und eine Spezifität von 61,7%. Der positive Vorhersagewert lag bei 7,4%, der negative Vorhersagewert bei 95,9% [Büscher 2000].

Miyano et al. verglichen in einer Studie an 215 Früh- und Neugeborenen (17-42SSW) die IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut in Abhängigkeit von dem Auftreten einer histologischen Chorioamnionitis. Bei Vorliegen einer histologischen Chorioamnionitis lagen die IL-6 Konzentrationen bei  $91,6 \pm 160,8$ pg/ml, ohne histologische Chorioamnionitis beliefen sich die Konzentrationen auf  $2,4 \pm 6,5$ pg/ml [Miyano 1996].

Einen etwas anderen Ansatz der Bewertung der histologischen Veränderungen von Plazenta und Nabelschnur zeigte eine Studie von Yoon et al. Ausgehend von der Annahme, die Infiltration von neutrophilen Granulozyten in der Nabelschnur seien fetalen Ursprungs, beurteilten sie die Nabelschnur getrennt von dem Chorioamnion. Bei 315 Frühgeborenen (20-35SSW) lag eine Funisitis in 25% der Fälle vor. Bei 92% der Frühgeborenen mit Funisitis lag eine histologische Chorioamnionitis vor, bei 18% eine klinische Chorioamnionitis, 12% der Kinder erkrankten an einer early-onset Sepsis. In der Gruppe der Frühgeborenen mit Funisitis lag die IL-6 Nabelschnur Plasma Konzentration bei 52,4pg/ml vs. 4,6pg/ml in der Gruppe ohne Funisitis. Bei einem ROC ermittelten cut-off point von 11pg/ml lag die Sensitivität von IL-6 bei der Identifikation von einer Funisitis bei 73%, die Spezifität bei 74%, der positive Vorhersagewert bei 46% und der negative Vorhersagewert bei 90% [Yoon 2000].

Negishi et al. fanden heraus, daß auch das IL-6 im Fruchtwasser in positiver linearer Beziehung zur histologischen Chorioamnionitis (CAM) steht. Bei 18 Patientinnen mit Frühgeburtsbestrebungen wurde zwischen der 24. und der 32.SSW Fruchtwasser durch Amniozentese gewonnen, um den mikrobiologischen Status der Amnionhöhle zu evaluieren. Dabei war es unerheblich, ob Zeichen einer klinischen

Chorioamnionitis vorlagen oder nicht. Kam es innerhalb der folgenden 24 Stunden nach der Amniozentese zur Geburt, so wurde die Plazenta auf Zeichen einer histologischen Chorioamnionitis untersucht. In der Gruppe der Frühgeborenen mit Zeichen einer histologischen Chorioamnionitis (n=6) waren die IL-6 Konzentrationen des Fruchtwassers signifikant höher als in der Gruppe der Frühgeborenen ohne histologische Chorioamnionitis (n=12). CAM positiv:  $20537,9 \pm 8853,7$  pg/ml vs. CAM negativ:  $65,6 \pm 27,5$  pg/ml. In der CAM positiven Gruppe lag zusätzlich eine klinische Chorioamnionitis in 83% der Fälle vor, während in der CAM negativen Gruppe die Inzidenz der klinischen Chorioamnionitis 0% betrug [Negishi 1996].

## 2 Fragestellungen

In dieser Studie sollte die Korrelation der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut zur early-onset Sepsis und histologischen Chorioamnionitis untersucht werden. IL-6 wurde ausgewählt, weil es auf infektiöse Stimuli hin von Zellen der Plazenta (Dezidua-, Chorion-, Amnionzellen und Trophoblasten) gebildet wird und eines der ersten Zytokine der Entzündungskaskade ist.

Der Schwerpunkt der Arbeit sollte dabei auf folgenden Fragestellungen liegen:

- 1a) Korreliert die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut mit der Ausprägung der histologischen Chorioamnionitis?
- 1b) Ist es möglich, aufgrund der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut eine histologische Chorioamnionitis vorherzusagen?
- 2a) Korreliert die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut mit der klinischen Ausprägung der early-onset Sepsis beim Früh- und Neugeborenen?
- 2b) Ist es möglich, aufgrund der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut eine beginnende early-onset Sepsis vor Beginn der klinischen Zeichen vorherzusagen?
- 3a) Korreliert die Ausprägung der Histologie mit den klinischen Zeichen einer early-onset Sepsis beim Neugeborenen?
- 3b) Ist es möglich, aufgrund der Histologie eine early-onset Sepsis vorherzusagen?

Ließe sich nachweisen, daß IL-6 mit hoher Sensitivität und Spezifität eine histologische Chorioamnionitis und eine daraus resultierende early-onset Sepsis frühzeitig anzeigt, könnte in Zukunft die antibiotische Therapie des Neugeborenen sowohl früher als vor allem auch gezielter durchgeführt werden.

### **3 Material und Methoden**

#### **3.1 Patientenkollektiv**

Bei dem Patientenkollektiv handelte es sich um Patientinnen der 1. Universitäts-Frauenklinik (1. UFK) Maistraße in München und deren im Haus geborenen Neugeborene.

Alle vom 14.12. 1998 bis 20.08. 1999 geborenen Kinder sowie der Mütter gingen unabhängig von Gestationsalter oder Geburtsgewicht in die Studie ein. Ziel war es, 1000 Histologien zu gewinnen, um eine ausreichend große Fallzahl sicherzustellen.

Es wurden ausschließlich Restmaterialien verwendet, die postpartal verworfen wurden. Nach Aufklärung der Mutter und mit deren Einverständnis wurde Proben von Plazenta, Eihäuten und Nabelschnur sowie Blut aus der Nabelschnur entnommen. Eine Analyse von laborchemischen Parametern wie dem CRP bei Mutter und Kind erfolgte ausschließlich aus medizinischer Sicht im Rahmen des stationären Aufenthaltes und unabhängig von der Studie. Das Votum der Ethik-Kommission war daher bei Planung der Studie im Sommer 1998 nicht einzuholen.

Es wurde von allen Geburten eine Histologie der Plazenta, der Eihäute und der Nabelschnur entnommen. Von allen Früh- und Neugeborenen wurde eine Blutprobe aus der Nabelschnur entnommen. Für jedes Früh- und Neugeborene wurde vom behandelnden Arzt in den ersten 5 Lebenstagen ein „Erhebungsbogen für klinische Zeichen einer Sepsis“ ausgefüllt.

Ziel war es, 1000 Histologien zu gewinnen, um eine ausreichend große Fallzahl sicherzustellen.

Nachträglich ausgeschlossen wurden alle Früh- und Neugeborenen, von denen die kindlichen Blutprobe aus der Nabelschnur, die Histologie oder der „Erhebungsbogen für die klinischen Zeichen einer Sepsis“ fehlten oder ein unvollständiger Datensatz vorlag.

## **3.2 Klinische Daten**

Für die Erfassung der Patientendaten standen zwei Erhebungsbögen zur Verfügung: ein "Erhebungsbogen für Perinataldaten" und ein "Erhebungsbogen für klinische Zeichen einer Sepsis" beim Kind. (Anhang)

### **3.2.1 Erhebungsbogen für Perinataldaten**

Auf dem standardisierten "Erhebungsbogen für Perinataldaten" wurden nach Abschluß der Behandlung von Mutter und Kind in der 1. UFK die Daten für Mutter und Kind notiert, die aus den Patientenakten hervorgingen. Die Auswertung erfolgte retrospektiv ohne Kenntnis der Histologie, der IL-6 Konzentration oder der Klinik. Erfasst wurden für die Mutter Aufnahme- und Entlassungsdatum, errechneter Termin, Parität, Cerclage, Geburtsrisiko, Tokolyse (i.v./oral), Wehendauer, Durchführung einer Oxytocin- oder Prostaglandintherapie, fetale Tachykardie, Zeitpunkt des Blasensprungs, Fruchtwasserbeschaffenheit (klar, grün, erbsbreiartig), Kindslage, Geburtsmodus, Temperatur in °C (Tag -2 bis +2), CRP-Werte in mg/l (Tag -2 bis +2), Leukozytenzahl pro mm<sup>3</sup> (Tag -2 bis +2), Thrombozytenzahl pro mm<sup>3</sup> (Tag -2 bis +2), positiver Keimnachweis im Zervixabstrich, positiver vaginaler B-Streptokokken Schnelltest, sonstige positive pathologische Abstriche und Durchführung einer peripartalen Antibiotikatherapie (Tag -2 bis +2).

Bezüglich des Früh- oder Neugeborenen wurden erfaßt: Geburten-, Kinder- und Mehrlingsnummer, Geburtsdatum, Geburtszeit, Geschlecht, Geburtsgewicht, Apgar-Score (Min. 1, 2, 5, 10), Nabelschnurblutgase, Verlegungsort, Entlassungstag, CRP in mg/l (1. bis 5. Lebenstag), Leukozytenzahl pro mm<sup>3</sup> (1. bis 5. Lebenstag), immature neutrophil/total neutrophil ratio (I/T-Quotient) (1. bis 5. Lebenstag), Thrombozytenzahl pro mm<sup>3</sup> (1. bis 5. Lebenstag), positiver B-Streptokokken-Schnelltest, Erreger-positive Blutkultur, Erreger-positive Liquorkultur, Erreger-positive Urinkultur, Erreger-positiver Ohrabstrich, kontaminiertes Magensekret sowie Durchführung und Dauer einer Antibiotikatherapie.

### **3.2.2 Erhebungsbogen für klinische Zeichen einer Sepsis**

Der klinische Verlauf der Früh- und Neugeborenen wurde prospektiv während der ersten 5 Lebenstage auf dem „Erhebungsbogen für klinische Zeichen einer Sepsis“ notiert. Es wurden täglich 14 Symptome zum Allgemeinzustand, dem neurologischen Status, der Herz-Kreislaufsituation und der Atmung erfaßt. Retrospektiv wurde letztere Kategorie durch das Kriterium der Beatmungspflichtigkeit ergänzt, so daß sich eine Gesamtsumme von 15 Symptomen ergab. Diese 15 Symptome hatten sich in einer retrospektiven Analyse eines Geburtsjahrgangs im Rahmen einer vorausgegangenen Promotionsarbeit als sensitiv bezüglich der Früherkennung der neonatalen early-onset-Sepsis erwiesen [Mühlberger1994]. Die Daten wurden einmal täglich vom behandelnden Arzt ohne Kenntnis der Histologie oder der IL-6 Konzentration auf dem Erhebungsbogen dokumentiert. Traf keines der Symptome zu, so war „gesund“ anzugeben.

### **3.3 Probengewinnung und Bearbeitung**

Unmittelbar nach der Geburt wurden ca. 3 ml Blut durch Punktion aus der Nabelschnur in ein Lithium-Heparin Röhrchen entnommen. Eine Unterscheidung zwischen venösem und arteriellem Blut erfolgte nicht. Das Röhrchen wurde mit dem Namen des Früh- oder Neugeborenen und der Uhrzeit der Blutentnahme versehen. Die Röhrchen wurden in das Labor gebracht und das Plasma möglichst bald von den Blutzellen abzentrifugiert. Die Uhrzeit der Zentrifugation wurde notiert und so die Lagerungszeit des Vollblutes erfaßt. Das Plasma wurde in einem Eppendorfröhrchen bei  $-20^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt und binnen 48 Stunden auf  $-80^{\circ}\text{C}$  gefroren. Die Bestimmung des Interleukin-6 erfolgte automatisch nach Anonymisierung.

Zur Bestimmung der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut standen zwei manuelle Assays und ein Testautomat zur Verfügung. Anhand von 400 Doppelbestimmungen sowohl mit dem manuellen Assay als auch mit dem Testautomaten wurde ein Umrechnungsfaktor von 2 errechnet. Er wurde auf diejenigen 325 Proben angewandt, die zum Schluß der Studie ausschließlich mit dem Testautomaten bestimmt wurden.

### 3.3.1 IL-6 Bestimmung mit dem Testautomaten

#### Testprinzip:

Die Bestimmung des Interleukin-6 erfolgte mit dem Testautomaten Immulite® der Firma Biermann. Bei dem Verfahren handelt es sich um ein quantitatives Festphasen-Sandwich-Enzym-Chemilumineszenz-Immunoassay. Als Festphase dient eine mit einem Anti-Ligand beschichtete Polystyrolkugel. Es wird ein Ligand-markierter monoklonaler Antikörper hinzugegeben, der an den Anti-Liganden der Polystyrolkugel bindet. Die Patientenprobe wird hinzugegeben und die darin befindlichen IL-6 Moleküle binden an die Ligand-markierten monoklonalen Antikörper. Ein mit alkalischer Phosphatase markierter monoklonaler Antikörper, der ein unterschiedliches Epitop des IL-6 erkennt, wird hinzugefügt und es bildet sich während einer 60-minütigen Inkubation bei 37°C ein Sandwichkomplex aus, der über die Ligand/Anti-Ligand-Brücke an die Festphase gebunden ist. Ungebundene Komponenten werden anschließend mittels einer speziellen Zentrifugal-Waschtechnik entfernt. Chemilumineszenz-Substrat (PPD) wird hinzugefügt und von dem gebundenen Enzym während einer 10-minütigen Inkubation umgesetzt. Die dabei ausgelöste Lichtemission ist der Interleukin-6-Konzentration direkt proportional. Die untere Nachweisgrenze dieser Methode liegt bei 2 pg/ml, die obere Nachweisgrenze bei 2000 pg/ml.

#### Bestandteile der Testpackung:

- IL-6 Teströhrchen (LL61), enthalten Polystyrol-Kugeln beschichtet mit Anti-Ligand, farbcodiert
- IL-6 Reagenz-Modul (LL62), enthält Ligand-markierten Antikörper (monoklonal), barcodiert und IL-6 Antikörper (monoklonal), konjugiert mit alkalischer Phosphatase
- IL-6 Kalibratoren (LL6L, LL6H), Sollwerte im Barcode des Kits gespeichert in 2 Konzentrationen, humane Serum-Matrix

Zusätzlich benötigte Reagenzien und Zubehör:

- IL-6 Verdünnungspuffer (LL6Z)
- Chemilumineszenz-Substratmodul (LSUB X), Adamantylidioxethanphosphat in Puffermatrix
- Waschmodul (LPWS 2), 10fach Konzentrat

- Probenträger ( LCH1-50...LCH451-500), barcodiert
- Probenröhrchen 0,3 ml, PS, der Firma Sarstedt
- Destilliertes oder entionisiertes Wasser

#### Testdurchführung:

Die Patientenplasma-Proben wurden langsam und mit vorsichtigem manuellen Schwenken auf Raumtemperatur gebracht.

Nach Einsetzen der Reagenzien in das Gerät wurden 110µl einer jeden Patientenprobe in Probenröhrchen überführt und diese in Probenträger gestellt. Die Probenträger mit den Probenröhrchen wurden in die Ladestation gestellt wobei ein IL-6 Teströhrchen hinter jeden Probenträger kam. Bei jeder neuen Charge eines Tests wurde vorab mit den im Testkit enthaltenen Kalibratoren eine automatische Anpassung der Standardkurve durchgeführt.

Die Firma gibt eine within-run Präzision zwischen 3,6% (bei 813 pg/ml) und 5,5% (bei 96 pg/ml) an sowie eine Spezifität von 100% gegenüber IL-1, IL-2, IL-4 und IL-8 sowie eine Kreuzreaktion von 0,053% gegenüber TNF $\alpha$  und 0,065% gegenüber IFN $\gamma$  an. Bei einer Verdünnungsreihe als Prüfung der Linearität von 1:2, 1:4 und 1:8 wurde 106%, 108% und 114% der erwarteten Konzentration gemessen. Die Recovery wurde mit 99,3% spezifiziert.

### **3.3.2 IL-6 Bestimmung mit dem Testkit Quantikine®**

#### Testprinzip:

Die Bestimmung des Interleukin-6 erfolgte zu einem Teil mit dem Testkit Quantikine® der Firma R&D Systems. Bei dem Verfahren handelte es sich um ein quantitatives Sandwich-Enzyme-Immunoassay. In die Vertiefungen einer Mikrotiterplatte, versehen mit einem fixierten, für IL-6 spezifischen monoklonalen Antikörper, werden Standardreihen und Probenmaterial hinzugefügt. Während einer 2 stündigen Inkubationszeit bei Raumtemperatur bindet das in der Probe enthaltene IL-6 an den an die Mikrotiterplatte fixierten Antikörper. Nach Herauswaschen der ungebundenen Substanzen wird ein enzym-gebundener polyklonaler Antikörper hinzugefügt. Dieser bindet während einer 2 stündigen Inkubationszeit bei Raumtemperatur an einer anderen Stelle als der monoklonale Antikörper an das fixierte IL-6. Nicht gebundene

Antikörper werden herausgewaschen und ein Substrat für das Enzym hinzugefügt. Die entstehende Farbe ist dem gebundenen IL-6 direkt proportional und wird 20 Minuten später und nach dem Hinzufügen einer Stopplösung gemessen. Die untere Nachweisgrenze dieser Methode liegt bei 0,70 pg/ml.

#### Bestandteile der Testpackung:

- IL-6 Mikrotiterplatte mit 96 polystyrene Mikroküvetten, versehen mit einem IL-6 spezifischen monoklonalen Antikörper
- IL-6 Konjugator: polyklonaler Antikörper gegen IL-6, Peroxidase-konjugiert
- IL-6 Standard: rekombinantes humanes IL-6 in einer gepufferten Proteinbase
- Assay Puffer RD6F: Tierserum
- Waschpuffer Konzentrat: 25-fach konzentrierte Lösung eines gepufferten Surfactant
- Farbreagenz A: stabilisierte hydrogen Peroxidase
- Farbreagenz B: stabilisiertes Chromogen (Tetramethylbenzidine)
- Stopplösung: 2N Sulfursäure
- Mikrotiterplatten Lesegerät: Dynatech MR 7000

#### Testdurchführung:

Die dem Testkit beigelegte Standardlösung mit einer Konzentration von 300pg/ml diente als Ausgang für die Verdünnungen einer Standardreihe und zugleich als erster Standard. Die Standardlösung wurde auf 100 pg/ml, 50 pg/ml, 25pg/ml, 12,5pg/ml 6,25pg/ml und 3,12pg/ml verdünnt. Die Pufferlösung diente als Zero-Standard (0pg/ml). Es wurden zwei Standardreihen angefertigt.

In die ersten beiden Spalten der Mikrotiterplatte wurden in jede Vertiefung je 100µl Pufferlösung und 100µl der Standardlösungen, in die folgenden 10 Spalten je 150µl Pufferlösung und 50µl Patientenserum gegeben. Nach zwei Stunden Inkubationszeit wurde die Platte mit 250µl Waschpuffer pro Vertiefung vier mal gewaschen und mit je 200µl Konjugator pro Vertiefung versehen. Nach weiteren zwei Stunden Inkubationszeit wurde vier mal gewaschen, je 200µl Substrat hinzugegeben und weitere 20 Minuten inkubiert. Nach dieser Zeit wurden je 50µl Stopplösung hinzugefügt und innerhalb von 30 Minuten die IL-6 proportionale Farbanreicherung bei 450nm (Korrektur bei 550nm) abgelesen.

Laut Gebrauchsanleitung der Firma liegt die intra-assay Präzision zwischen 2,1% (bei 186 pg/ml) und 4,3% (bei 16,8 pg/ml), die inter-assay Präzision zwischen 3,8% (bei 191 pg/ml) und 6,3% (bei 17,2 pg/ml) und die Recovery für Serumproben bei durchschnittlich 93% (Spanne 86 – 99%). Bei einer Verdünnungsreihe als Prüfung der Linearität von 1:2, 1:4, 1:8 und 1:16 wurde 98%, 105%, 105% und 110% der erwarteten Konzentration gemessen. Die kleinste nachweisbare Konzentration als Maß der Sensitivität wird mit 0,7 pg/ml angegeben, die Kreuzreaktivität als Maß der Spezifität gegenüber anderen Cytokinen als nicht signifikant.

### **3.3.3 IL-6 Bestimmung mit dem Testkit Quantikine®HS**

#### Testprinzip:

Die Bestimmung des Interleukin-6 erfolgte zum anderen Teil mit dem Testkit Quantikine® HS der Firma R&D Systems. Bei dem Verfahren handelte es sich um ein high sensitive (HS) quantitatives Sandwich-Enzyme-Immunoassay. In die Vertiefungen einer Mikrotiterplatte, versehen mit einem fixierten, für IL-6 spezifischen monoklonalen Antikörper, werden Standardreihen und Probenmaterial hinzugefügt. Während einer 14-20 stündigen Inkubationszeit bei Raumtemperatur bindet das enthaltene IL-6 an den an die Mikrotiterplatte fixierten Antikörper. Nach Herauswaschen der ungebundenen Substanzen wird ein enzym-gebundener polyklonaler Antikörper hinzugefügt. Dieser bindet während einer 6 stündigen Inkubationszeit bei Raumtemperatur an das fixierte IL-6. Nicht gebundene Antikörper werden herausgewaschen und ein Substrat für das Enzym hinzugefügt. Nach einer 60 minütigen Inkubationszeit bei Raumtemperatur wird eine Amplifizier Lösung hinzugefügt und weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Bei diesem Amplifikationssystem dephosphoriliert eine alkalische Phosphatase die reduzierte Form von Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat (NADPH) zu reduziertem NADH. Dieses NADH dient als Cofaktor für einen, von einem Alkohol-Dehydrogenase und Diaphorase Enzym System (Amplifizier) geleiteten Redox-Zyklus. In dieser Reaktion, katalysiert von dem Enzym Diaphorase, reduziert NADH ein Tetrazolium Salz (INT-violet). Es entsteht eine intensive Farbe und NAD<sup>+</sup>. Die entstehende Farbe ist dem gebundenen IL-6 direkt proportional und wird 30 Minuten später und nach dem

Hinzufügen einer Stopplösung gemessen. Die untere Nachweisgrenze dieser Methode liegt bei 0,02pg/ml.

#### Bestandteile der Testpackung:

- IL-6 Mikrotiterplatte mit 96 polystyrene Mikroküvetten, versehen mit einem IL-6 spezifischen monoklonalen Antikörper
- IL-6 Konjugator: polyklonaler Antikörper gegen IL-6, alkalische Phosphatase-konjugiert
- IL-6 Standard: rekombinantes humanes IL-6 in einer gepufferten Proteinbase
- Assay Puffer RD6F: Tierserum
- Waschpuffer Konzentrat: 25-fach konzentrierte Lösung eines gepufferten Surfactant
- Substrat: stabilisierte NADPH
- Substrat Puffer: stabilisierte Pufferlösung
- Amplifier: stabilisierte Amplifier Enzyme
- Amplifier Puffer: stabilisierte INT-violette Pufferlösung
- Stopplösung: 2N Sulfursäure
- Mikrotiterplatten Lesegerät: Dynatech MR 7000

#### Testdurchführung:

Die dem Testkit beigelegte Standardlösung mit einer Konzentration von 10pg/ml diene als Ausgang für die Verdünnungen einer Standardreihe und zugleich als erster Standard. Die Standardlösung wurde auf 5pg/ml, 2,5pg/ml, 1,25pg/ml, 0,625pg/ml, 0,312pg/ml und 0,156pg/ml verdünnt. Die Pufferlösung diene als Zero-Standard (0pg/ml). Es wurden zwei Standardreihen angefertigt.

In die ersten beiden Spalten der Mikrotiterplatte wurden in jede Vertiefung je 50µl Pufferlösung und 200µl der Standardlösungen, in die folgenden 10 Spalten je 200µl Pufferlösung und 50µl Patientenserum gegeben. Nach 16 Stunden Inkubationszeit wurde die Platte mit 250 µl Waschpuffer pro Vertiefung vier mal gewaschen und mit je 200µl Konjugator pro Vertiefung versehen. Nach weiteren 6 Stunden Inkubationszeit wurde vier mal gewaschen, je 200µl Substrat hinzugegeben und weitere 60 Minuten inkubiert. Nach dieser Zeit wurden je 50µl Amplifier Lösung hinzugegeben und weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach dieser

Zeit wurden je 50µl Stopplösung hinzugefügt und innerhalb von 30 Minuten die IL-6 proportionale Farbanreicherung bei 490 nm (Korrektur bei 630nm) abgelesen.

Laut Gebrauchsanleitung der Firma liegt die intra-assay Präzision zwischen 2,1% (bei 186 pg/ml) und 4,3% (bei 16,8 pg/ml), die inter-assay Präzision zwischen 3,8% (bei 191 pg/ml) und 6,3% (bei 17,2 pg/ml) und die Recovery für Serumproben bei durchschnittlich 93% (Spanne 86 – 99%). Bei einer Verdünnungsreihe als Prüfung der Linearität von 1:2, 1:4, 1:8 und 1:16 wurde 98%, 105%, 105% und 110% der erwarteten Konzentration gemessen. Die kleinste nachweisbare Konzentration als Maß der Sensitivität wird mit 0,7 pg/ml angegeben, die Kreuzreaktivität als Maß der Spezifität gegenüber anderen Cytokinen als nicht signifikant.

### **3.3.4 Histologie**

Für die Histologie wurde unmittelbar nach der Geburt ein ca. 3cm breiter Streifen von Plazenta und Eihaut sowie ein ca. 1cm langes Stück Nabelschnur in ein vorbereitetes Gefäß gegeben. Die Proben wurden mit fortlaufenden Nummern markiert und so für die histologische Untersuchung anonymisiert. Die Gefäße wurden in der pathologischen Abteilung in einem Kühlschrank gelagert. Binnen einer Woche wurden die Plazentaprobe mitsamt des Stückes Nabelschnur in ein Mulsäckchen eingerollt und in 4% Formalin zur Fixierung eingelegt. Nach 2-4 Wochen wurde von Plazenta und Eihaut sowie aus der Mitte des Nabelschnurpräparates je ein ca. 3mm breiter Streifen entnommen und in 4% Formalin fixiert. Die Fixierungsdauer variierte stark, da das Zuschneiden und Einfärben der Präparate 8 Monate nach Studienbeginn begann. Proben vom Studienbeginn wurden länger fixiert als Proben vom Studienende. Von Plazenta und Nabelschnur wurden maschinell 2µm dicke Schnitte angefertigt, auf Objektträger aufgebracht und mit Hämatoxylin/Eosin (HE) gefärbt.

### **3.3.5 Histologische Untersuchung**

Die Untersuchung der Plazenta, der Eihäute und der Nabelschnur geschah ohne Kenntnis der Klinik oder der Laborwerte von einem Arzt der 1.UFK.

Die Auswertung der entzündlichen Veränderungen umfaßte jeweils 6 Gesichtsfelder bei 40 facher Vergrößerung. Der Auswertung wurde das Bewertungssystem von Beck et al. (1993) zugrunde gelegt.

<b>Stadium</b>	0	keine Entzündungsinfiltrate
	1	granulozytäre Entzündungsinfiltrate auf die Eihäute beschränkt
	2	granulozytäre Entzündungsinfiltrate in Eihäuten, Chorionplatte und Gefäßwand der Nabelschnurvene
	3	zusätzlich zu Stadium 2: granulozytäre Infiltrationen der Nabelschnurarterien
<b>Grad</b>	0	keine Entzündungsinfiltrate
	1	geringe, vereinzelte Entzündungsinfiltrate
	2	mäßige, bandförmige Entzündungsinfiltrate
	3	schwere, konfluierende Entzündungsinfiltrate, Mikroabszedierungen

**Tabelle 1: Bewertungssystem für entzündliche Veränderungen von Plazenta, Eihäuten und Nabelschnur.** Dargestellt ist die histologisch nachweisbare Intensität der Entzündungszeichen (Grad) und die Ausbreitung der entzündlichen Reaktion (Stadium) in Plazenta und Eihäuten.

### 3.4 Definitionen

#### 3.4.1 Definition der klinischen early-onset Sepsis

Auf dem „Erhebungsbogen für klinische Zeichen einer Sepsis“ wurde täglich, für jeden der ersten 5 Lebenstage getrennt, das Auftreten eines von 14 Symptomen klinisch erfaßt. Ein Symptom trat retrospektiv hinzu, so daß 15 Symptome vorlagen.

Es entstand ein Sepsisscore von 0 bis 75 Punkte. 0 Punkte lagen vor, wenn ein Kind während der ersten 5 Lebenstage kein Symptom einer early-onset Sepsis aufwies.

Es wurde definiert, daß eine early-onset Sepsis bei einem Sepsisscore von mindestens 3 Punkten vorlag [Buck 1994, Lehrnbecher 1996], d.h. wenn mindestens drei klinische Symptome einer early-onset Sepsis innerhalb der ersten 5 Tage vorlagen oder mindestens ein Symptom über mindestens drei Tage lang bestand.

### **3.4.2 Definition der Risikofaktoren**

Das Risiko des Kindes an einer Sepsis zu erkranken, wurde in Anlehnung an andere Autoren als erhöht angenommen, wenn ein vorzeitiger Blasensprung von  $\geq 18$  Stunden vor der Geburt, Frühgeburtlichkeit vor vollendeten 37.SSW aufgrund vorzeitiger Wehentätigkeit oder Zeichen einer klinischen Chorioamnionitis vorlagen [St. Geme 1984, Harris 1994, Chiesa 2001].

### **3.4.3 Definition der klinischen Chorioamnionitis**

Die klinische Chorioamnionitis wurde in Anlehnung an andere Autoren definiert als das Vorliegen 2 oder mehrerer der folgenden Symptome: eine axillär gemessene Temperatur der Mutter  $\geq 38^\circ\text{C}$ , mütterliche Leukozytose  $\geq 15000/\text{mm}^3$ , mütterliche CRP-Konzentration  $\geq 20\text{mg/l}$ , eine fetale Tachykardie mit einer Herzfrequenz  $\geq 180\text{bpm}$  über einen Zeitraum von mindestens 30 Minuten, gemessen als Durchschnittswerte im CTG, und grünes bzw. erbsbreiartiges Fruchtwasser [Singh 1996, Winkler 1997, Gomez 1998, Yoon 2000].

### **3.4.4 Definition der histologischen Chorioamnionitis**

Nach Klassifizierung der entzündlichen Veränderungen an den histologischen Präparaten nach oben genanntem Schema, wurde die Summe der Punktzahl aus „Stadium“ und „Grad“ gebildet. Bei einer Punktzahl von 0 Punkten lag keine histologisch erkennbare, bei 6 Punkten eine schwere Entzündungsreaktion vor. Anhand der Summe der Punkte wurde die Diagnose der histologischen Chorioamnionitis gestellt.

Es wurde definiert, daß eine histologische Chorioamnionitis bei einer Punktzahl von  $\geq 3$  Punkten vorlag.

## 3.5 Statistik

### 3.5.1 Wahl des Medians nach Überprüfung der Normalverteilung

Zur Überprüfung der Daten hinsichtlich ihrer Normalverteilung wurden folgende Bedingungen analysiert:

1. Wenn der Quotient zwischen Median und Mittelwert zwischen 0,9 und 1,1 liegt, kann angenommen werden, daß Differenzen zwischen Mittelwert und Median nur auf den Zufall im statistischen Sinne zurückzuführen sind.
2. Die Standardabweichung darf nicht größer sein als  $1/3$  des Mittelwerts.
3. Die Standardabweichung darf nicht größer sein als die Spannweite.
4. Die Standardabweichung darf nicht kleiner sein als  $1/7$  der Spannweite.

Für die Angabe der Ergebnisse wurde ausschließlich der Median gewählt, da die Daten nach Prüfung dieser Bedingungen sich als nicht normalverteilt herausstellten.

### 3.5.2 Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer Vorhersagewert

**Sensitivität:** Wahrscheinlichkeit, in einer Studienpopulation erkrankte Probanden tatsächlich als solche zu erkennen. Die Sensitivität errechnet sich als Anteil der richtig positiven Ergebnisse, geteilt durch die Gesamtzahl der Kranken in dem Versuchskollektiv.

**Spezifität:** Wahrscheinlichkeit, in der Studienpopulation bei Gesunden keine falsch positiven Ergebnisse zu erhalten. Die Spezifität errechnet sich als Anteil der richtig negativen Ergebnisse, geteilt durch die Gesamtzahl der gesunden Probanden im Versuchskollektiv.

**Positiver Vorhersagewert** (positive predictive value=PPV): Wahrscheinlichkeit, bei einem positiven Testergebnis auch tatsächlich erkrankt zu sein. Der PPV errechnet sich als der Anteil der Kranken mit positivem Testergebnis geteilt durch die Anzahl aller Probanden mit positivem Testergebnis.

**Negativer Vorhersagewert** (negative predictive value=NPV): Wahrscheinlichkeit, bei einem negativen Testergebnis auch tatsächlich gesund zu sein. Der NPV errechnet sich als der Anteil der Gesunden mit negativem Testergebnis geteilt durch die Anzahl aller Probanden mit negativem Testergebnis.

### 3.5.3 Statistische Auswertung

Kolmogorov-Smirnov-Test zur Überprüfung der Normalverteilung.

Vergleich von Kriterien, bei denen beide Kriterien aus kontinuierlichen Werten bestehen:

- Korrelationskoeffizient nach Pearson, wenn beide Kriterien normalverteilt sind.
- Korrelationskoeffizient nach Spearman, wenn eines der Kriterien nicht normalverteilt ist.

Vergleich von einem Kriterium mit kontinuierlichen Werten mit einem zweiten Kriterium mit kategorialen Werten:

- 2 seitiger t-Test für unverbundene Stichproben, wenn das kontinuierliche Kriterium normalverteilt ist.
- Mann-Whitney U-Test  $\square$  Wilcoxon Test, wenn das kontinuierliche Kriterium nicht normalverteilt ist.

Vergleich von Kriterien bei denen beide Kriterien aus kategorialen Werten bestehen:

- Chi-Quadrat Test nach Pearson

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Beschreibung des Patientenkollektivs

In dem Studienzeitraum vom 14.12.1998 bis zum 12.8.1999 wurden insgesamt 1195 Kinder in der 1.UFK Maistraße München geboren. Nicht in die Auswertung einbezogen wurden 565 Früh- und Neugeborene, bei denen eines oder mehrere der folgenden Kriterien vorlag:

- Verstorben innerhalb der ersten 7 Lebenstage
- Fehlen der Histologie von Plazenta und Nabelschnur
- Fehlen des Nabelschnur-Blutplasmas
- Fehlen des Erhebungsbogens für klinische Zeichen einer Sepsis

Bei 13 der Früh- und Neugeborenen lag ein intrauteriner Fruchttod (IUFT) vor, 6 Früh- und Neugeborene verstarben innerhalb der ersten 7 Lebenstage. Bei 318 Früh- und Neugeborenen fehlte die Histologie, bei 289 Nabelschnur-Blutplasma und bei 94 der Erhebungsbogen für klinische Zeichen einer Sepsis. 578 Mal fehlte mindestens eines der aufgelisteten Kriterien, so daß diese Früh- und Neugeborenen sekundär aus der Studie ausgeschlossen wurden (Tabelle 2).

Von den verbleibenden 630 Früh- und Neugeborenen waren bei 15 wesentliche Daten in den Akten nicht dokumentiert, was zum Ausschluß dieser Kinder führte. Damit ergab sich eine Studienpopulation von 615 Früh- und Neugeborenen.

<b>Insgesamt geborene Kinder</b>	<b>1195</b>
IUFT	13
Verstorben 1.-7. Lebenstag	6
Fehlende Histologie	318
Fehlendes Nabelschnur-Blutplasma	289
Fehlender Erhebungsbogen Klinik	94
Unvollständiger Datensatz	15
<b>Studienpopulation</b>	<b>615</b>

**Tabelle 2: Patientenkollektiv und Rekrutierung der Studienpopulation.** Da bei ein und demselben Früh- oder Neugeborenen mehr als eines der aufgelisteten Kriterien fehlen konnte, sind die Zahlenangaben nicht als Summe der fehlenden Kriterien zu werten, sondern geben die Zahlenwerte isoliert für jedes Kriterium an.

## 4.2 Darstellung der Studienpopulation

### 4.2.1 Perinataldaten der Studienpopulation

<b>Anzahl</b>		[n]	615
<b>Geschlecht</b>	m	[n]	332
	w	[n]	283
<b>Gestationsalter Median (Spanne)</b>		[SSW]	39,6 (24;0-43;3)
	<37SSW	[n]	50
	<32SSW	[n]	7
	<28SSW	[n]	1
<b>Geburtsgewicht Median (Spanne)</b>		[g]	3350 (640-5415)
	≤2500g	[n]	48
	≤1500g	[n]	5
<b>Kindslage</b>	Schädellage	[n]	572
	Querlage	[n]	3
	Beckenendlage	[n]	40
<b>Geburtsmodus</b>	Vaginal	[n]	423
	Vaginal operativ	[n]	65
	Primäre Sektio	[n]	62
	Sekundäre Sektio	[n]	57
	Notsektio	[n]	8
<b>5 Minuten Apgar-Score Median (Spanne)</b>		[Score]	10 (6-10)

**Tabelle 3: Allgemeine Perinataldaten der Studienpopulation.** Dargestellt sind das Geschlecht, Median (Spanne) des Gestationsalters in SSW und Median (Spanne) des Geburtsgewichts in g. Außerdem die Kindslage, der Geburtsmodus sowie Median (Spanne) des 5 Minuten Apgar-Scores.

Die Studienpopulation bestand zu 54% aus männlichen und zu 46% aus weiblichen Früh- und Neugeborenen (Tabelle 3).

Es handelte sich überwiegend um reife Neugeborene, das durchschnittliche Alter lag bei 39;6SSW. Nur 8% waren Frühgeborene mit einem Gestationsalter <37SSW.

Das mittlere Geburtsgewicht lag bei 3350g. Ein Geburtsgewicht von weniger als 2500g wiesen 8% der Früh- und Neugeborenen auf.

Mit 93% war die Schädellage die häufigste Kindslage. Eine Beckenendlage lag in 6% der Fälle vor, eine Querlage trat mit 0,5% sehr selten auf.

Der größte Teil der Früh- und Neugeborenen (69%) wurde vaginal entbunden. Eine vaginal-operative Entbindung mittels Vakuum oder Forceps war mit 11% etwa genauso häufig wie eine primäre Sektio mit 10%, gefolgt von der sekundären Sektio mit 9%. Eine Notsektio erfolgte in 1% der Fälle.

Der Medianwert des 5 Minuten Apgar-Scores lag bei 10 Punkten.

#### **4.2.2 Risikofaktoren der early-onset Sepsis in der Studienpopulation**

Die durchschnittliche Dauer des Blasensprungs bis zur Geburt betrug 2,5 Stunden (Tabelle 4). Bei dem Wert von 438 Stunden handelte es sich um einen einzelnen, sehr hohen Wert. Der nächst niedrigere Wert lag bei 72 Stunden. Bei 11% der Patientinnen kam es zu einem Blasensprung von mehr als 18 Stunden vor der Geburt.

Bei 12% der Patientinnen wurde eine bakterielle Vaginose diagnostiziert. Dabei handelte es sich in 30% um B-Streptokokken, bei 70% um andere Erreger. In den meisten Fällen lag eine Mischinfektion vor, bei der mehrere Erreger gleichzeitig auftraten. Hier waren Enterokokken und koagulase negative Staphylokokken am häufigsten, gefolgt von *Escherichia coli*, *Candida albicans* und *Ureaplasma urealyticum*. Selten vorzufinden waren *Gardnerella vaginalis*, vergrünende Streptokokken und Corynebakterien.

<b>Anzahl</b>		[n]	615
<b>Blasensprungdauer Median (Spanne)</b>		[h]	2,5 (0,0-437,7)
$\geq 18h$		[n]	65
<b>Vaginaler Abstrich</b>	B-Streptokokken	[n]	22
	Andere Erreger	[n]	54
<b>Klinische Chorioamnionitis:</b>			
<b>Temperatur der Mutter Median (Spanne)</b>		[°C]	37,0 (36,0-39,9)
$\geq 37,8^{\circ}C$		[n]	50
$\geq 38,0^{\circ}C$		[n]	29
<b>Leukozyten der Mutter Median (Spanne)</b>		[mm <sup>3</sup> ]	12100 (5700-33500)
$\geq 15000mm^3$		[n]	31
<b>CRP der Mutter Median (Spanne)</b>		[mg/l]	8,0 (0,3-441,0)
$\geq 20mg/l$		[n]	85
<b>Fruchtwasser Farbe</b>	Grün	[n]	72
	Erbsbreiartig	[n]	3
<b>Fetale Tachykardie</b>	$\geq 180bpm$	[n]	103
<b>Davon <math>\geq 2</math> Symptome</b>		[n]	71

**Tabelle 4: Risikofaktoren der early-onset Sepsis in der Studienpopulation.**

Dargestellt sind Median (Spanne) der Dauer des Blasensprungs vor der Geburt in Stunden sowie das Vorliegen pathogener Keime im vaginalen Abstrich der Mutter und das Auftreten von Zeichen einer klinischen Chorioamnionitis (Median und Spanne). Die letzte Spalte gibt die tatsächliche Häufigkeit einer klinischen Chorioamnionitis in der Studienpopulation an.

Bei 17% der untersuchten Geburten ließ sich anhand des CTG eine fetale Tachykardie von  $\geq 180bpm$  diagnostizieren.

12% der Früh- und Neugeborenen wurden aus grünem oder erbsbreiartigem Fruchtwasser entbunden.

Bei 12% der Mutter-Kind Paare fanden sich peripartal Zeichen einer klinischen Chorioamnionitis, waren also zumindest zwei der in Tabelle 4 aufgeführten fünf Werte pathologisch. In 5% der Fälle lag bei der Mutter eine Temperatur von  $\geq 38^{\circ}C$  oder eine Leukozytose von  $\geq 15000mm^3$  vor, in 14% der Fälle ein erhöhtes CRP der Mutter von  $\geq 20mg/l$ .

### 4.2.3 Infektionsparameter in der Studienpopulation

<b>Anzahl</b>		[n]	615
<b>Histologische Chorioamnionitis</b>	≥3 Punkte	[n]	22
<b>Early-onset Sepsis beim Kind</b>	≥3 Punkte	[n]	30
<b>Antibiotische Therapie</b>		[n]	16
<b>CRP des Kindes Median (Spanne)</b>		[mg/l]	7 (0,3-76,0)
	≥10mg/l	[n]	74
<b>IL-6 Median (Spanne)</b>		[pg/ml]	3,9 (0-2025)
	≥20pg/ml	[n]	58
	≥10pg/ml	[n]	137
	≥5pg/ml	[n]	247
<b>Blutkultur</b>	Positiv	[n]	1
<b>Ohrabstrich</b>	Positiv	[n]	85
<b>Magensaftkultur</b>	Positiv	[n]	10
<b>Granulozyten im Magensaft</b>	Positiv	[n]	7
<b>B-Streptokokken-Schnelltest</b>	Positiv	[n]	7

**Tabelle 5: Infektionsparameter in der Studienpopulation.** Dargestellt ist die Häufigkeit des Auftreten einer histologischen Chorioamnionitis und einer early-onset Sepsis sowie die Anzahl der antibiotisch behandelten Früh- und Neugeborenen in der Studienpopulation. Außerdem angegeben sind jeweils Median (Spanne) der maximalen CRP Werte der Früh- und Neugeborenen in den ersten 5 Lebenstagen und der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut, auch angegeben für unterschiedliche cut-off-points. Dargestellt ist das Vorliegen einer positiven Blutkultur und die Häufigkeit pathologischer Abstriche verschiedener Herkunft.

Eine histologische Chorioamnionitis, definiert als Punktzahl von  $\geq 3$  Punkten bei der histologischen Untersuchung von Plazenta, Eihäuten und Nabelschnur, lag bei 4% der Studienpopulation vor (Tabelle 5).

Eine early-onset Sepsis, definiert als Vorliegen von  $\geq 3$  klinischen Symptomen des Sepsisscores, lag bei 5% der Früh- und Neugeborenen vor.

3% der Früh- und Neugeborenen wurden innerhalb der ersten 5 Lebenstage nach klinischer Indikationsstellung antibiotisch behandelt. In allen 16 Fällen erhielten die Früh- und Neugeborenen eine Therapie mit Mezlocillin, Cefotaxim und Gentamycin.

75% der antibiotisch behandelten Kinder waren Frühgeborene vor der abgeschlossenen 37.SSW. Von den 16 Früh- und Neugeborenen, die postpartal antibiotisch behandelt wurden, wiesen 69% klinische Zeichen einer early-onset Sepsis auf. Bei 63% der antibiotisch behandelten Früh- und Neugeborenen war bereits die Mutter prä- bzw. peripartal antibiotisch behandelt worden. Eine positive Plazentahistologie zeigte sich in 12% der Fälle. Ein IL-6 Konzentration des Nabelschnurbluts von  $\geq 10\text{pg/ml}$  lag in 19%, ein IL-6 Konzentration von  $\geq 20\text{pg/ml}$  in 12% der Fälle vor. Ein maximales CRP der ersten 5 Lebenstage von  $\geq 10\text{mg/l}$  und auch  $\geq 20\text{mg/l}$  lag in 2 Fällen (12%) vor.

Der Median des maximalen CRP der ersten 5 Lebenstage lag bei  $7\text{mg/l}$ . Ein maximales CRP von  $\geq 10\text{mg/l}$  lag bei 12% der Früh- und Neugeborenen vor.

Der Median der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut lag bei  $3,9\text{pg/ml}$ . Nur bei 4 Früh- und Neugeborenen lagen die Konzentrationen über  $1000\text{pg/ml}$  und nur bei 13 Früh- und Neugeborenen (2%) waren IL-6 Konzentrationen von mehr als  $100\text{pg/ml}$  zu messen. Bei 9% der Früh- und Neugeborenen war die IL-6 Konzentration  $\geq 20\text{pg/ml}$ , bei 22%  $\geq 10\text{pg/ml}$  und bei 45%  $\geq 5\text{pg/ml}$ .

Nur ein reifes Neugeborenes wies eine positive Blutkultur auf. Bei dem Erreger handelte es sich um *Staphylokokkus hominis*. Bei 16 weiteren Früh- und Neugeborenen wurde eine Blutkultur zu diagnostischen Zwecken angelegt, das Ergebnis blieb bei diesen Kulturen negativ.

Eine Liquorkultur wurde bei einem Neugeborenen angelegt, sie war negativ.

Ein Ohrabstrich wurde bei 20% der Früh- und Neugeborenen durchgeführt und war damit der häufigste Abstrich, der zur Diagnosestellung herangezogen wurde. Eine positive Kultur des Ohrabstrichs wurde bei 85, eine negative bei 40 Früh- und Neugeborenen gefunden.

Eine Magensaftkultur wurde bei 28 (5%) der Früh- und Neugeborenen angelegt. Bei 10 Früh- und Neugeborenen wurde ein positives Ergebnis nachgewiesen, 18 mal war das Ergebnis negativ.

Bei 7 Früh- und Neugeborenen (1%) wurden Granulozyten im Magensaft als Ausdruck eines Entzündungsgeschehens vorgefunden.

Bei 97 Früh- und Neugeborenen (15%) wurde ein B-Streptokokken–Schnelltest durchgeführt. Ein Testergebnis stand nach 48 Stunden fest. Bei 7 Früh- und Neugeborenen (1%) fand sich ein positives Testergebnis. Bei 90 Früh- und Neugeborenen (15%) blieb das Testergebnis negativ.

### **4.3 Ergebnisse abhängig von der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut**

Die Studienpopulation der 615 Schwangeren und deren Früh- und Neugeborenen wurden abhängig von der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut in 3 Gruppen eingeteilt. Eine Gruppe bestand aus 58 Mutter-Kind Paaren, deren IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut mit  $\geq 20$ pg/ml eindeutig erhöht war (IL-6 positive Gruppe). Eine weitere Gruppe bestand aus 402 Mutter-Kind Paaren, deren IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut zwischen 0 und 20pg/ml lag (IL-6 indifferente Gruppe). Eine dritte Gruppe bildeten 155 Mutter-Kind Paare, deren IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut mit 0pg/ml eindeutig negativ war (IL-6 negative Gruppe) (Tabelle 6).

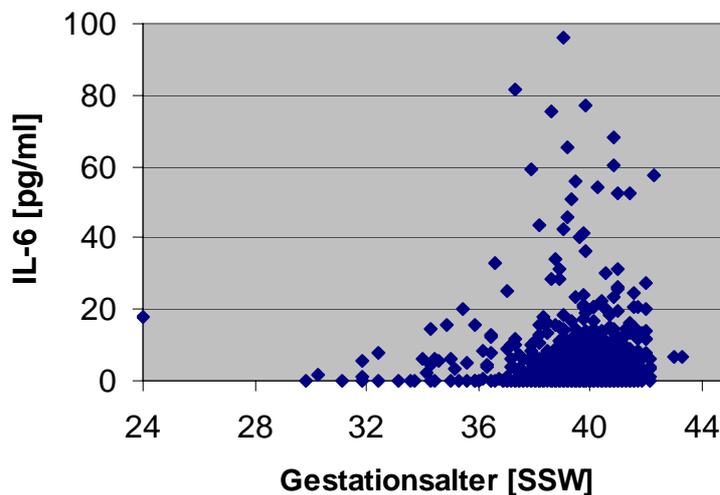
#### **4.3.1 Abhängigkeit des IL-6 von Gestationsalter und Geburtsgewicht**

In der Gruppe mit positiven IL-6 Konzentrationen waren 58 Studienpaare, 9% der Studienpopulation. In der IL-6 indifferenten Gruppe befanden sich 402 Studienpaare (65%), in der IL-6 negativen Gruppe 155 Studienpaare (25%) (Tabelle 6).

Der Median des Gestationsalters war in der IL-6 positiven Gruppe mit 40;1SSW tendentiell am höchsten. In der IL-6 indifferenten Gruppe lag der Median des Gestationsalters bei 39;6SSW und in der IL-6 negativen Gruppe bei 39;4SSW.

		IL-6 [pg/ml]			p
		≥20	0,1-19,9 0	0	
<b>Anzahl</b>	[n]	58	402	155	
<b>Gestationsalter Median (Spanne)</b>	[SSW]	40;1 (36;6-42;3)	39;6 (24;0-43;3)	39;4 (29;6-42;1)	0,1459
<b>Geburtsgewicht Median (Spanne)</b>	[g]	3400 (2570-5090)	3360 (640-5415)	3230 (1020-4510)	<0,0001

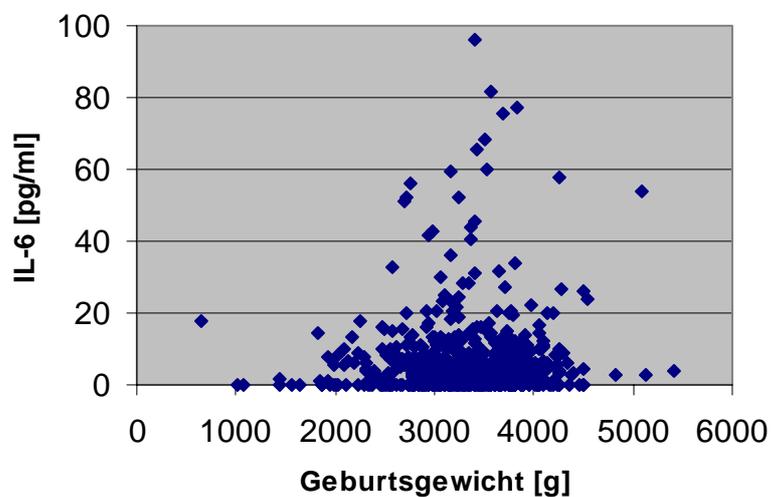
**Tabelle 6: Abhängigkeit des IL-6 von Gestationsalter und Geburtsgewicht in den drei Gruppen mit positiven, indifferenten und negativen IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut.** Dargestellt sind jeweils Median (Spanne) des Gestationsalters in SSW und des Geburtsgewichts in g. Korrelation der Frühgeburtlichkeit <37SSW mit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut: Chi Quadrat Test nach Pearson  $p=0,1459$ . Korrelation des Geburtsgewichts mit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut: t-Test  $p<0,0001$ .



**Abb. 1: Abhängigkeit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut vom Gestationsalter.** Angegeben ist die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut in pg/ml von 602 Früh- und Neugeborenen. 13 IL-6 Konzentrationen >100pg/ml sind nicht eingezeichnet. Angegeben ist das Gestationsalter in SSW.

In der IL-6 indifferenten Gruppe befand sich ein sehr unreifes Frühgeborenes mit einem Gestationsalter von 24;0SSW und einem Geburtsgewicht von 640g. Die IL-6 Konzentration aus dem Nabelschnurblut dieses Frühgeborenen betrug 18pg/ml.

Das durchschnittliche Geburtsgewicht war in der IL-6 positiven Gruppe mit 3400g signifikant am höchsten. Das Geburtsgewicht lag in der IL-6 indifferenten Gruppe bei 3360g und in der IL-6 negativen Gruppe bei 3230g.



**Abb. 2 : Abhängigkeit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut vom Geburtsgewicht.** Angegeben ist die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut in pg/ml von 602 Früh- und Neugeborenen. 13 IL-6 Konzentrationen >100pg/ml sind nicht eingezeichnet. Angegeben ist das Geburtsgewicht in g.

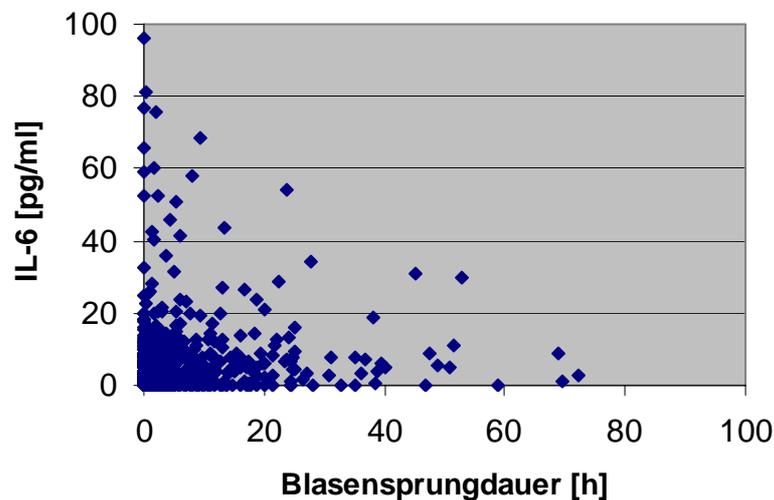
### 4.3.2 Abhängigkeit des IL-6 von Risikofaktoren der early-onset Sepsis

		IL-6 [pg/ml]			p
		≥20	0,1-19,9	0	
<b>Anzahl</b>	[n]	58	402	155	
<b>Blasensprungdauer</b> Median (Spanne)	[h]	4,8 (0-52,8)	2,7 (0-72,4)	1,7 (0-437,7)	
≥18h	[n]	11	43	11	0,0518
<b>Vaginaler Abstrich</b> B-Streptokokken	[n]	5	9	8	
Andere Erreger	[n]	5	35	14	0,9364
<b>Klinische Chorioamnionitis</b> ≥2 Punkte	[n]	14	44	13	0,0000

**Tabelle 7: Abhängigkeit des IL-6 von Risikofaktoren der early-onset Sepsis in den drei Gruppen mit positiven, indifferenten und negativen IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut.** Gezeigt sind Median (Spanne) der Blasensprungdauer sowie die Anzahl der Patientinnen mit einer Blasensprungdauer von mehr als 18 Stunden vor der Geburt. Dargestellt ist das Vorliegen eines positiven vaginalen Abstriches sowie das Vorliegen einer klinischen Chorioamnionitis. Korrelation der Blasensprungdauer von ≥18 Stunden vor der Geburt mit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut: Chi Quadrat Test nach Pearson  $p=0,0518$ . Korrelation des Auftretens einer bakteriellen Vaginose mit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut: Chi Quadrat Test nach Pearson  $p=0,9364$ . Korrelation des Auftretens einer klinischen Chorioamnionitis mit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut: Chi Quadrat Test nach Pearson  $p=0,0000$ .

In der IL-6 positiven Gruppe war die durchschnittliche Blasensprungdauer mit 4,8 Stunden tendentiell höher als in der IL-6 indifferenten Gruppe mit 2,7 Stunden und in der IL-6 negativen Gruppe mit 1,7 Stunden (Tabelle 7).

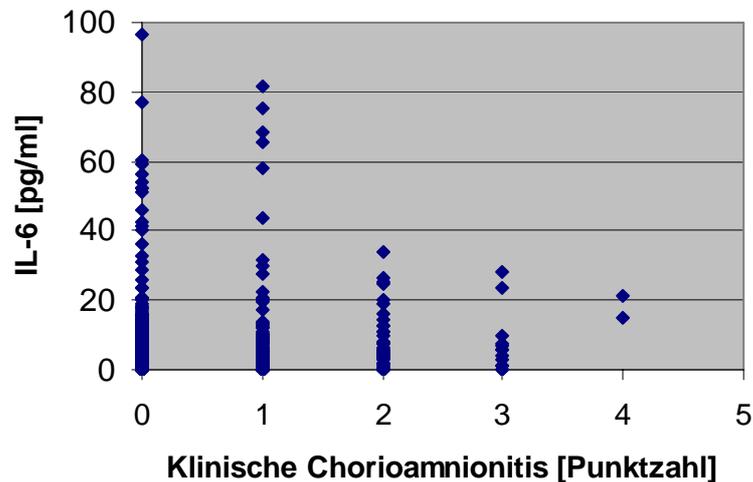
Der Risikofaktor vorzeitiger Blasensprung von  $\geq 18$  Stunden vor Geburt trat in der IL-6 positiven Gruppe in 19% der Fälle auf. Das war tendentiell häufiger als in der IL-6 indifferenten Gruppe mit 11% und in der IL-6 negativen Gruppe mit 7%.



**Abb. 3: Abhängigkeit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut von der Dauer des Blasensprungs.** Angegeben ist die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut in pg/ml von 602 Früh- und Neugeborenen. 13 IL-6 Konzentrationen  $>100$ pg/ml sind nicht eingezeichnet. Die Blasensprungdauer ist in Stunden vor der Geburt angegeben. Der Ausreißerwert von 438 Stunden ist der besseren Darstellbarkeit halber nicht gezeigt.

Eine bakterielle Vaginose lag in der IL-6 positiven Gruppe in 17% der Fälle vor. B-Streptokokken waren mit 9% ebenso häufig wie andere Erreger (9%) vorzufinden (Tabelle 7). In der IL-6 indifferenten Gruppe lag ein positives Abstrichergebnis in 11% der Fälle vor, hier dominierte das Auftreten anderer Erreger mit 9% gegenüber dem Auftreten von B-Streptokokken mit 2%. In der IL-6 negativen Gruppe betrug das Vorliegen pathogener Keime im vaginalen Abstrich 14% und war damit tendentiell seltener als in der IL-6 positiven Gruppe aber tendentiell häufiger als in der IL-6 indifferenten Gruppe. B-Streptokokken waren in 5%, andere Erreger in 9% der Fälle zu diagnostizieren. Eine statistisch signifikante Abhängigkeit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut von dem Vorliegen einer bakteriellen Vaginose war nicht gegeben.

Das Auftreten einer klinischen Chorioamnionitis als Risikofaktor war in der IL-6 positiven Gruppe mit 24% signifikant häufiger als in den Gruppen mit indifferenten (11%) und negativen IL-6 Konzentrationen (8%).



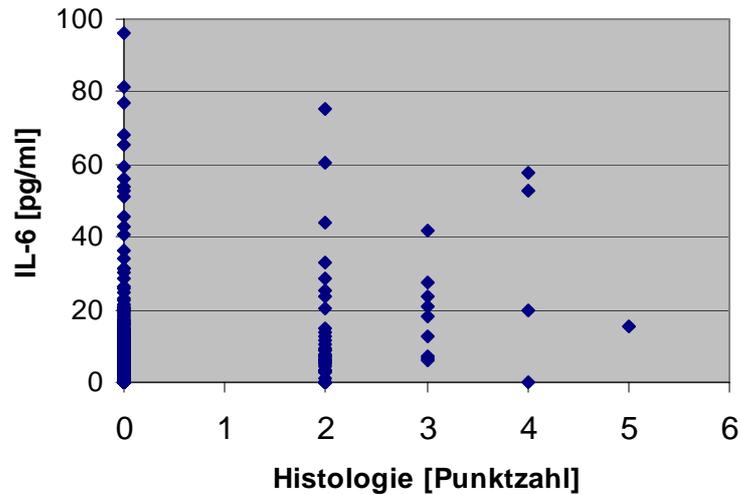
**Abb. 4: Abhängigkeit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut von dem Vorliegen einer klinischen Chorioamnionitis.** Angegeben ist die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut in pg/ml von 602 Früh- und Neugeborenen. 13 IL-6 Konzentrationen >100pg/ml sind nicht eingezeichnet. Die Punktzahl für die klinische Chorioamnionitis ist über das Vorliegen bestimmter Symptome angegeben. Maximal mögliche Punktzahl ist 5.

### 4.3.3 Abhängigkeit des IL-6 von infektiösen Faktoren

	IL-6 [pg/ml]				p
	≥20	0,1-19,9	0		
<b>Anzahl</b>	[n]	58	402	155	
<b>Histologische Chorioamnionitis ≥3 Punkte</b>	[n]	14	7	1	<0,0001
<b>Early-onset Sepsis beim Kind ≥3 Punkte</b>	[n]	3	14	13	0,8407
<b>Blutkultur positiv</b>	[n]	1	0	0	-----
<b>Antibiotische Therapie</b>	[n]	2	7	7	0,9941
<b>CRP Median (Spanne)</b>	[mg/l]	12 (3-61)	7 (0,3-76)	4 (0,3-49)	0,0000
≥10mg/l	[n]	17	42	15	
≥5mg/l	[n]	7	11	6	

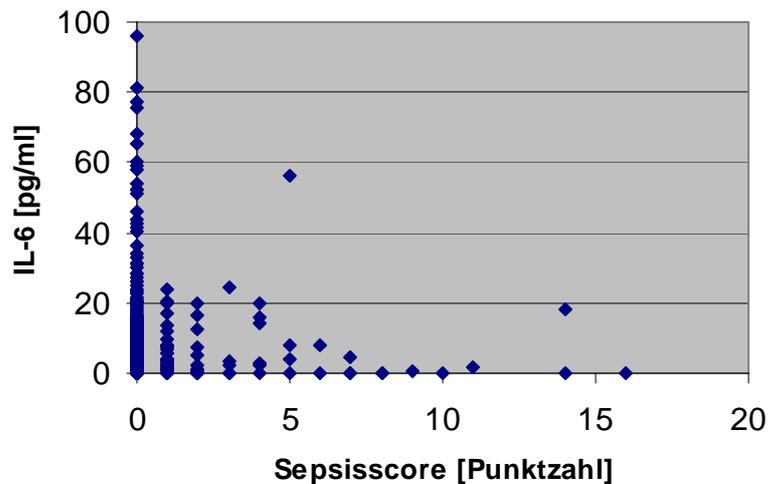
**Tabelle 8: Abhängigkeit des IL-6 von infektiösen Faktoren in den drei Gruppen mit positiven, indifferenten und negativen IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut.** Dargestellt ist die Anzahl der Plazentahistologien mit histologischer Chorioamnionitis (≥3 Punkte) und das Auftreten einer early-onset Sepsis beim Kind. Angegeben ist das Vorliegen einer positiven Blutkultur und die Behandlung mit Antibiotika. Das CRP der ersten 5 Lebenstage ist in mg/l als Median (Spanne) angegeben. Korrelation der histologischen Chorioamnionitis mit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut: Chi Quadrat Test nach Pearson  $p < 0,0001$ . Korrelation der early-onset Sepsis mit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut: Chi Quadrat Test nach Pearson  $p = 0,8407$ . Korrelation der antibiotischen Behandlung mit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut: Chi Quadrat Test nach Pearson  $p = 0,9941$ . Korrelation der kindlichen CRP Werte der ersten 5 Lebenstage mit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut: Korrelationskoeffizient nach Spearman  $r = 0,248$ ; CI 0,1141 bis 0,3723;  $p = 0,0000$ .

Eine histologische Chorioamnionitis war in der IL-6 positiven Gruppe mit 24% signifikant häufiger zu diagnostizieren als in den Gruppen mit indifferenten (2%) und negativen IL-6 Konzentrationen (1%) (Tabelle 8).



**Abb. 5: Abhängigkeit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut von der Histologie.** Angegeben ist die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut in pg/ml von 602 Früh- und Neugeborenen. 13 IL-6 Konzentrationen >100pg/ml sind nicht eingezeichnet. Für die Histologie ist die zutreffende Punktzahl des histologischen Bewertungssystems für entzündliche Veränderungen von Plazenta, Eihäuten und Nabelschnur angegeben.

Eine early-onset Sepsis wurde in der IL-6 positiven Gruppe bei 5% der Früh- und Neugeborenen diagnostiziert (Tabelle 8). In der IL-6 negativen Gruppe lag eine early-onset Sepsis in 8% der Fälle vor. In der IL-6 indifferenten Gruppe erkrankten 4% der Früh- und Neugeborenen an einer early-onset Sepsis. Eine statistische Signifikanz war hier nicht gegeben.

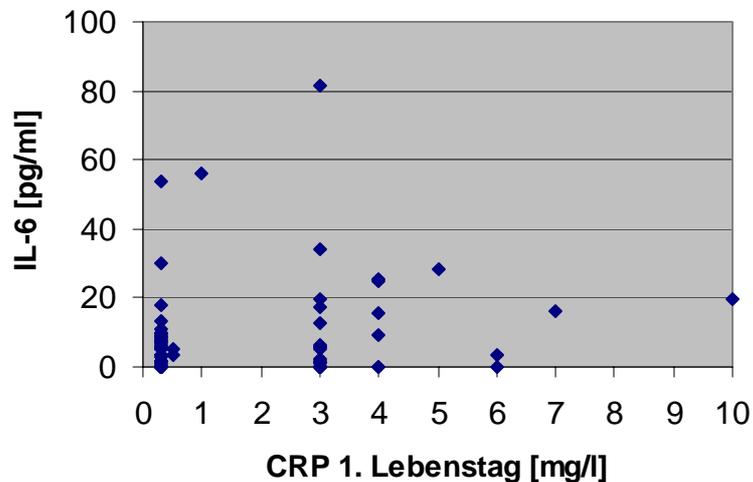


**Abb. 6: Abhängigkeit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut von der early-onset Sepsis.** Angegeben ist die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut in pg/ml von 602 Früh- und Neugeborenen. 13 IL-6 Konzentrationen >100pg/ml sind nicht eingezeichnet. Für das Vorliegen einer early-onset Sepsis des Früh- oder Neugeborenen ist jeweils die zutreffende Punktzahl auf dem Sepsisscore angegeben.

Bei nur einem Neugeborenen konnte ein Erreger in der Blutkultur nachgewiesen werden (Tabelle 8). Eine Statistik wurde nicht errechnet.

Eine antibiotische Therapie erfolgte in der IL-6 negativen Gruppe mit 4% der Früh- und Neugeborenen tendentiell am häufigsten. In der IL-6 positiven Gruppe erfolgte sie in 3%. Tendentiell seltener wurden Früh- und Neugeborene der IL-6 indifferenten Gruppe in 2% der Fälle antibiotisch behandelt.

Bei den maximalen CRP Werten der ersten 5 Lebenstage der Früh- und Neugeborenen lag der Median in der IL-6 positiven Gruppe mit 12 mg/l fast doppelt bzw. 3 mal, und damit signifikant, höher als in den Gruppen mit indifferenten (7mg/l) und negativen IL-6 Konzentrationen (4mg/l). In der IL-6 positiven Gruppe lag ein maximal erhöhtes CRP von  $\geq 10$ mg/l in den ersten 5 Lebenstagen bei 29% der Neugeborenen vor, in der IL-6 indifferenten Gruppe und in der IL-6 negativen Gruppe war ein erhöhtes CRP von  $\geq 10$ mg/l mit je 10% ein deutlich seltenerer Befund.



**Abb. 7: Abhängigkeit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut von den kindlichen CRP Werten des 1. Lebenstages.** Angegeben ist die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut in pg/ml von 602 Früh- und Neugeborenen. 13 IL-6 Konzentrationen >100pg/ml sind nicht eingezeichnet. Angegeben sind die kindlichen CRP Werte in mg/l von 81 Früh- und Neugeborenen soweit sie am 1. Lebenstag bestimmt wurden.

#### 4.4 Ergebnisse abhängig von der early-onset Sepsis

Die Studienpopulation der 615 Schwangeren und deren Früh- oder Neugeborenen wurden abhängig von der erreichten Punktzahl auf dem symptombezogenen Sepsisscores (Tabelle 8) bezüglich der Klinik des Früh- oder Neugeborenen in unterschiedliche Gruppen eingeteilt. Einer Gruppe wurden die 30 Studienpaare zugeteilt, bei denen ein Sepsisscore-Ergebnis von  $\geq 3$  symptombezogenen Punkten vorlag (klinisch erkrankte Gruppe). Bei den Früh- und Neugeborenen dieser Gruppe galt die Diagnose der early-onset Sepsis als klinisch gesichert. Eine weitere Gruppe bestand aus den 45 Studienpaaren, deren Punktzahl des Sepsisscores 1 oder 2 Punkte betrug (klinisch indifferente Gruppe). In dieser Gruppe war eine early-onset Sepsis klinisch weder gesichert noch auszuschließen. Gruppe 3 bildeten die 540 Studienpaare, die klinisch eindeutig nicht an einer early-onset Sepsis erkrankt waren,

deren Symptom-Punktzahl im Sepsisscore 0 betrug (klinisch gesunde Gruppe). Diese Früh- und Neugeborenen wurden im Hinblick auf die early-onset Sepsis als gesund angesehen.

<b>Organsystem</b>	<b>Symptome</b>
<b>Neurologisches System</b>	Berührungsempfindlichkeit Verringerter Muskeltonus Lethargie Stimulationsbedarf Trinkschwäche
<b>Kreislauf</b>	Graumarmoriertes Hautkolorit Tachykardie $\geq 180$ bpm Schwitzen Rekapillarierungszeit $\geq 2$ sek. Kalte Extremitäten
<b>ABC-Symptome</b>	Apnoen $\geq 20$ sek. Bradykardie $\leq 80$ bpm Sättigungsabfall $\leq 80\%$
<b>Atmung</b>	Tachydyspnoe $\geq 50$ /min Beatmungspflichtigkeit

**Tabelle 9: Zuordnung der Symptome des Erhebungsbogen für die klinischen Zeichen einer early-onset Sepsis.** Dargestellt sind die klinischen Symptome, mit denen eine early-onset Sepsis beim Neugeborenen diagnostiziert werden kann. Die Symptome sind organbezogen aufgeteilt.

#### 4.4.1 Abhängigkeit der early-onset Sepsis von Gestationsalter und Geburtsgewicht

	Early-onset Sepsis [Sepsisscore Punktzahl]				
		≥3	1-2	0	p
<b>Anzahl</b>	[n]	30	45	540	
<b>Gestationsalter</b> Median (Spanne)	[SSW]	36;6 (24;0-41;6)	39;4 (31;6-43;0)	39;6 (31;6-43;3)	<0,0001
<b>Geburtsgewicht</b> Median (Spanne)	[g]	2625 (640-4400)	3250 (1839-4540)	3380 (1857-5415)	<0,0001

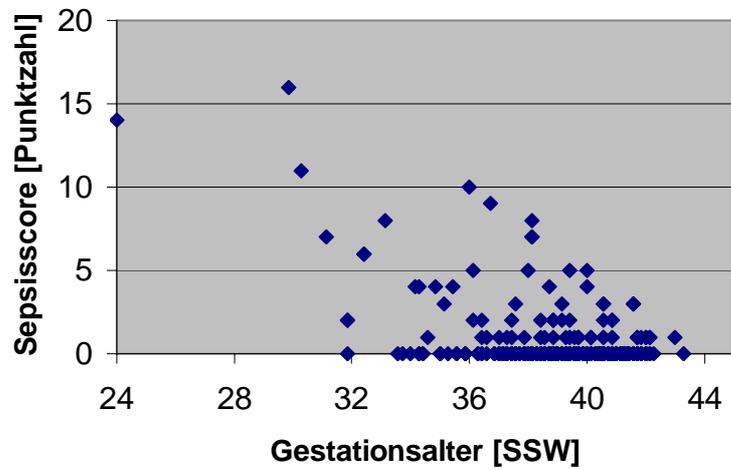
**Tabelle 10: Abhängigkeit der early-onset Sepsis von Gestationsalter und Geburtsgewicht in der klinisch erkrankten, der klinisch indifferenten und der klinisch gesunden Gruppe.** Angegeben sind Median (Spanne) des Gestationsalters in SSW und Median (Spanne) des Geburtsgewichts in g in Abhängigkeit klinischer Zeichen einer early-onset Sepsis (Punktzahl auf dem Sepsisscore). Korrelation der Frühgeburtlichkeit <37SSW mit der early-onset Sepsis: Chi Quadrat Test nach Pearson  $p < 0,0001$ . Korrelation des Geburtsgewichts mit der early-onset Sepsis: t-Test  $p < 0,0001$ .

30 Früh- und Neugeborene (5%) erkrankten klinisch an einer early-onset Sepsis (Tabelle 10). Bei 7% der Früh- und Neugeborenen war eine early-onset Sepsis weder gesichert noch ausgeschlossen. Mit 88% war der weitaus größte Teil der Früh- und Neugeborenen im Sinne einer early-onset Sepsis klinisch unauffällig.

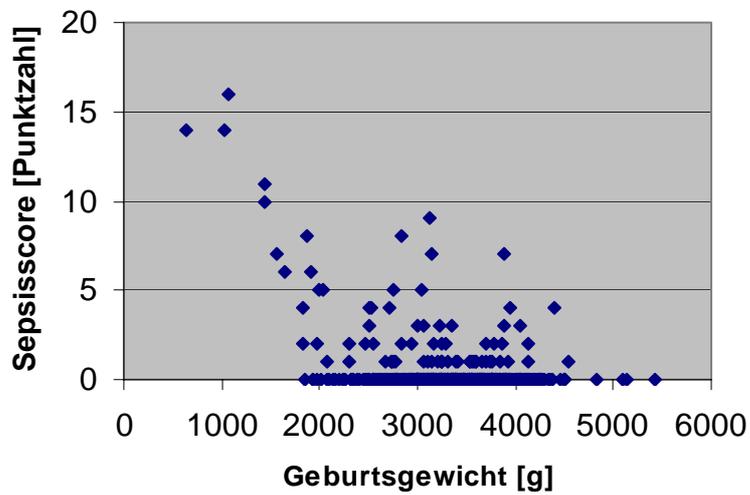
In der klinisch erkrankten Gruppe war das Gestationsalter der Früh- und Neugeborenen mit durchschnittlich 36;6SSW signifikant niedriger als in der klinisch indifferenten (39;4SSW) und der klinisch gesunden Gruppe (39;6SSW).

Von den 30 Früh- und Neugeborenen der klinisch erkrankten Gruppe waren 16 Frühgeborene <37SSW (53%).

Von den 50 Frühgeborenen <37SSW der Studienpopulation gehörten 16 (32%) der klinisch erkrankten Gruppe an. Von den 565 reifen Neugeborenen  $\geq 37$ SSW gehörten 14 (2,5%) der klinisch erkrankten Gruppe an.



**Abb. 8: Abhängigkeit der early-onset Sepsis vom Gestationsalter.** Angegeben sind die Zeichen der early-onset Sepsis als Punktzahl auf dem Sepsisscore. Angegeben ist das Gestationsalter in SSW.



**Abb. 9: Abhängigkeit der early-onset Sepsis vom Geburtsgewicht.** Angegeben sind die Zeichen der early-onset Sepsis als Punktzahl auf dem Sepsisscore. Angegeben ist das Geburtsgewicht in g.

Das Geburtsgewicht war in der klinisch erkrankten Gruppe mit 2625g signifikant niedriger als in der klinisch indifferenten (3250g) und der klinisch gesunden Gruppe (3380g).

#### 4.4.2 Abhängigkeit der early-onset Sepsis von Risikofaktoren

	[n]	Early-onset Sepsis [Sepsisscore Punktzahl]			p
		≥3	1-2	0	
<b>Anzahl</b>	[n]	30	45	540	
<b>Blasensprungdauer</b> Median (Spanne)	[h]	0,5 (0-437,7)	3,1 (0-69,4)	2,5 (0-68,9)	
≥18h	[n]	4	8	53	0,8549
<b>Vaginaler Abstrich</b> B-Streptokokken	[n]	4	2	16	0,0039
Andere Erreger	[n]	5	5	44	
<b>Klinische Chorioamnionitis</b> ≥2 Punkte	[n]	3	8	60	0,9845

**Tabelle 11: Abhängigkeit der early-onset Sepsis von Risikofaktoren in der klinisch erkrankten, der klinisch indifferenten und der klinisch gesunden Gruppe.** Dargestellt sind Median (Spanne) der Blasensprungdauer vor der Geburt in Stunden sowie die Anzahl der Früh- und Neugeborenen mit einem vorzeitigen Blasensprung von 18 Stunden und mehr vor der Geburt. Der Nachweis einer pathologischen Keimbefestigung des Geburtskanals ist unterteilt in B-Streptokokken und andere Erreger angegeben. Angegeben ist die Anzahl der Früh- und Neugeborenen die peripartal Anzeichen einer klinischen Chorioamnionitis zeigten. (Punktzahl ≥2). Korrelation der Blasensprungdauer von ≥18 Stunden vor der Geburt mit der early-onset Sepsis: Chi Quadrat Test nach Pearson  $p=0,8549$ . Korrelation der bakteriellen Vaginose mit der early-onset Sepsis: Chi Quadrat Test nach Pearson  $p=0,0039$ . Korrelation der klinischen Chorioamnionitis mit der early-onset Sepsis: Chi Quadrat Test nach Pearson  $p=0,9845$ .

Der Median der Blasensprungdauer lag in der Gruppe der klinisch erkrankten Früh- und Neugeborenen bei 0,5 Stunden (Tabelle 11). Bei der hohen Latenzzeit des Blasensprungs vor der Geburt von 438 Stunden handelte es sich um einen Ausreißerwert. Die nächst höchste Blasensprungdauer betrug 72 Stunden. Im Gegensatz dazu belief sich die durchschnittliche Blasensprungdauer der klinisch



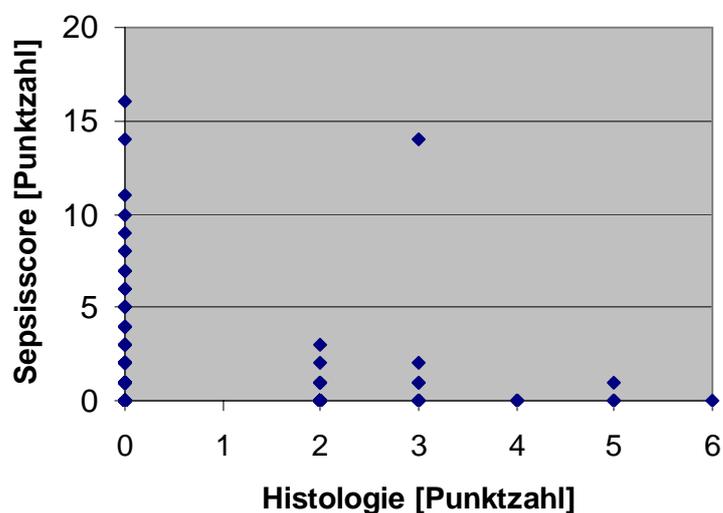
Bei 18% der Mutter-Kind Paare der klinisch indifferenten Gruppe lag eine klinische Chorioamnionitis vor. Das war häufiger als in der klinisch erkrankten (10%) und der klinisch gesunden Gruppe (11%). Eine statistisch Signifikanz lag nicht vor.

#### 4.4.3 Abhängigkeit der early-onset Sepsis von infektiösen Faktoren

		Early-onset Sepsis [Sepsisscore Punktzahl]			
		≥3	1-2	0	p
<b>Anzahl</b>	[n]	30	45	540	
<b>Histologische Chorioamnionitis ≥3 Punkte</b>	[n]	1	4	17	0,6708
<b>Blutkultur Positiv</b>	[n]	0	0	1	-----
<b>Antibiotische Therapie</b>	[n]	11	1	4	<0,0001
<b>CRP Median (Spanne)</b>	[mg/l]	4 (0,3-18)	9 (0,3-47)	7 (0,3-76)	0,0890
≥10mg/l	[n]	4	15	55	
≥20mg/l	[n]	0	7	17	
<b>IL-6 Median (Spanne)</b>	[pg/ml]	2 (0-143,5)	4 (0-368)	4 (0-2025)	0,8407
≥5pg/ml	[n]	9	21	301	
≥10pg/ml	[n]	7	12	118	
≥20pg/ml	[n]	3	7	48	

**Tabelle 12: Abhängigkeit der early-onset Sepsis von infektiösen Faktoren in der klinisch erkrankten, der klinisch indifferenten und der klinisch gesunden Gruppe.** Dargestellt sind die Anzahl der Plazentahistologien mit histologischer Chorioamnionitis (≥3 Punkte), das Vorliegen einer positiven Blutkultur und die Anzahl der antibiotisch behandelten Früh- und Neugeborenen in den einzelnen Gruppen. Dargestellt sind Median (Spanne) des CRP der ersten 5 Lebenstagen in mg/l und die Anzahl der Früh- und Neugeborenen mit einem erhöhten CRP mit cut-off-points von 10mg/l bzw. 20mg/l. Angegeben sind Median (Spanne) der IL-6 Konzentrationen aus dem Nabelschnurblut der Früh- und Neugeborenen und die absoluten Zahlen für die unterschiedlichen cut-off-points 5pg/ml, 10pg/ml und 20pg/ml. Korrelation der histologischen Chorioamnionitis mit der early-onset Sepsis: Chi Quadrat Test nach Pearson  $p=0,6708$ . Korrelation der antibiotischen Behandlung mit der early-onset Sepsis: Chi Quadrat Test nach Pearson  $p<0,0001$ . Korrelation der kindlichen CRP Werte der ersten 5 Lebenstage mit der early-onset Sepsis: Korrelationskoeffizient nach Spearman  $r=0,119$ ; CI  $-0,0185$  bis  $0,2524$ ;  $p=0,0890$ . Korrelation der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut mit der early-onset Sepsis: Chi Quadrat Test nach Pearson  $p=0,8407$ .

Eine histologische Chorioamnionitis lag in der klinisch erkrankten Gruppe bei lediglich einem Frühgeborenen vor (Tabelle 12). Bei diesem Frühgeborenen handelte es sich um ein extrem unreifes Kind mit einem Gestationsalter von 24;0SSW und einem Geburtsgewicht von 640g. Der Blasensprung erfolgte im Rahmen der Notsektio, also nicht vorzeitig. Die Punktzahl auf dem Sepsisscore betrug bei diesem Frühgeborenen 14 Punkte. Die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut betrug 18pg/ml, das maximale CRP der ersten 5 Lebenstage 9mg/l. In der klinisch indifferenten Gruppe lag eine histologische Chorioamnionitis in 9% und in der klinisch negativen Gruppe in 3% der Fälle vor. Eine statistische Signifikanz lag nicht vor.



**Abb. 11: Abhängigkeit der early-onset Sepsis von der Histologie.** Die Zeichen einer early-onset Sepsis sind als Punktzahl des Sepsisscores angegeben. Für die Histologie ist die jeweils zutreffende Punktzahl des histologischen Bewertungssystems für entzündliche Veränderungen von Plazenta, Eihäuten und Nabelschnur angegeben.

Für die histologische Chorioamnionitis ( $\geq 3$  Punkte) wurde die Sensitivität und Spezifität im Hinblick auf das Vorliegen einer early-onset Sepsis beim Kind errechnet:

	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV
<b>Histologie <math>\geq 3</math> Punkte</b>	3,3%	96,9%	4,5%	95,4%

**Tabelle 13: Wert der Histologie im Hinblick auf das Vorliegen der early-onset Sepsis.**

Die Sensitivität der Histologie ( $\geq 3$  Punkte) hinsichtlich der early-onset Sepsis betrug 3,3%. Die Spezifität betrug 96,9%, der positive Vorhersagewert (PPV) 4,5% und der negative Vorhersagewert (NPV) 95,4% (Tabelle 13).

Die eine positive Blutkultur fand sich bei einem reifen Neugeborenen (41;0SSW) in der klinisch gesunden Gruppe (Tabelle 12). Eine statistische Signifikanz wurde nicht errechnet.

Eine antibiotische Dreifachtherapie erhielten 37% der Früh- und Neugeborenen der klinisch erkrankten Gruppe. Die antibiotische Therapie war in der klinisch indifferenten Gruppe mit 2% und in der Gruppe klinisch gesunder Früh- und Neugeborener mit 1% signifikant seltener.

69% aller antibiotisch behandelten Früh- und Neugeborenen wiesen einen Sepsisscore  $\geq 3$  Punkte auf und waren somit an einer early-onset Sepsis erkrankt. 75% der antibiotisch behandelten Kinder waren Frühgeborene. 63% der Mütter der Früh- und Neugeborenen waren prä- bzw. peripartal antibiotisch behandelt worden. Bei 88% der Früh- und Neugeborenen lag die IL-6 Konzentration  $< 10\text{pg/ml}$ , das maximale CRP der ersten 5 Lebenstage lag bei diesen Früh- und Neugeborenen  $< 10\text{mg/l}$ . 94% der Früh- und Neugeborenen wiesen keine positive Plazentahistologie im Sinne einer histologischen Chorioamnionitis auf. Nur bei einem Frühgeborenen war eine positive Plazentahistologie mit 3 Punkten vorhanden. Bei diesem Kind handelte es sich um das extrem Frühgeborene mit einem Gestationsalter von 24;0SSW. In der gesamten Studienpopulation wurden 12% der Mütter prä- bzw. peripartal antibiotisch behandelt. 10 Früh- und Neugeborene, deren Mütter bereits

präpartal antibiotisch behandelt wurden, erhielten unmittelbar postpartal eine Antibiose. An einer early-onset Sepsis erkrankten im Sinne der Definition auf dem Sepsisscore 15% Früh- und Neugeborene von antibiotisch behandelten Müttern, 85% Früh- und Neugeborene blieben im Sinne einer early-onset Sepsis per definitionem gesund. Das CRP war bei keinem der erkrankten Früh- und Neugeborenen der antibiotisch behandelten Mütter  $\geq 10\text{mg/l}$  und auch nicht  $\geq 20\text{mg/l}$ . Eine IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut von  $\geq 10\text{pg/ml}$  lag bei 2 Kindern vor. Der B-Streptokokken Schnelltest war in keinem Fall positiv und Zeichen einer klinischen Chorioamnionitis zeigte sich in einem Fall. Eine positive Plazentahistologie zeigte sich unter den erkrankten Früh- und Neugeborenen antibiotisch behandelter Mütter nicht.

In der klinisch erkrankten Gruppe wurde bei 87% der Früh- und Neugeborenen innerhalb der ersten 5 Lebenstage ein CRP Wert bestimmt. In der klinisch indifferenten Gruppe wurde ein CRP Wert bei 64% und in der klinisch negativen Gruppe bei 27% der Früh- und Neugeborenen bestimmt. Der Median des maximalen CRP innerhalb der ersten 5 Lebenstage war in der Gruppe der klinisch erkrankten Früh- und Neugeborenen mit  $4\text{mg/l}$  tendentiell am niedrigsten. In der Gruppe der klinisch indifferenten Früh- und Neugeborenen betrug der durchschnittliche CRP Wert  $9\text{mg/l}$  und in der Gruppe der klinisch gesunden Früh- und Neugeborenen  $7\text{mg/l}$ . Ein CRP von  $\geq 10\text{mg/l}$  lag in der klinisch erkrankten Gruppe bei 13%, in der klinisch indifferenten Gruppe mit 33% am häufigsten und in der Gruppe der klinisch gesunden Früh- und Neugeborenen in 10% der Fälle vor.

In der Gruppe der klinisch erkrankten Früh- und Neugeborenen lag die durchschnittliche IL-6 Konzentration aus dem Nabelschnurblut bei  $2\text{pg/ml}$ . Dies war tendentiell niedriger als in der Gruppe der klinisch indifferenten und der klinisch gesunden Früh- und Neugeborenen mit je  $4\text{pg/ml}$ .

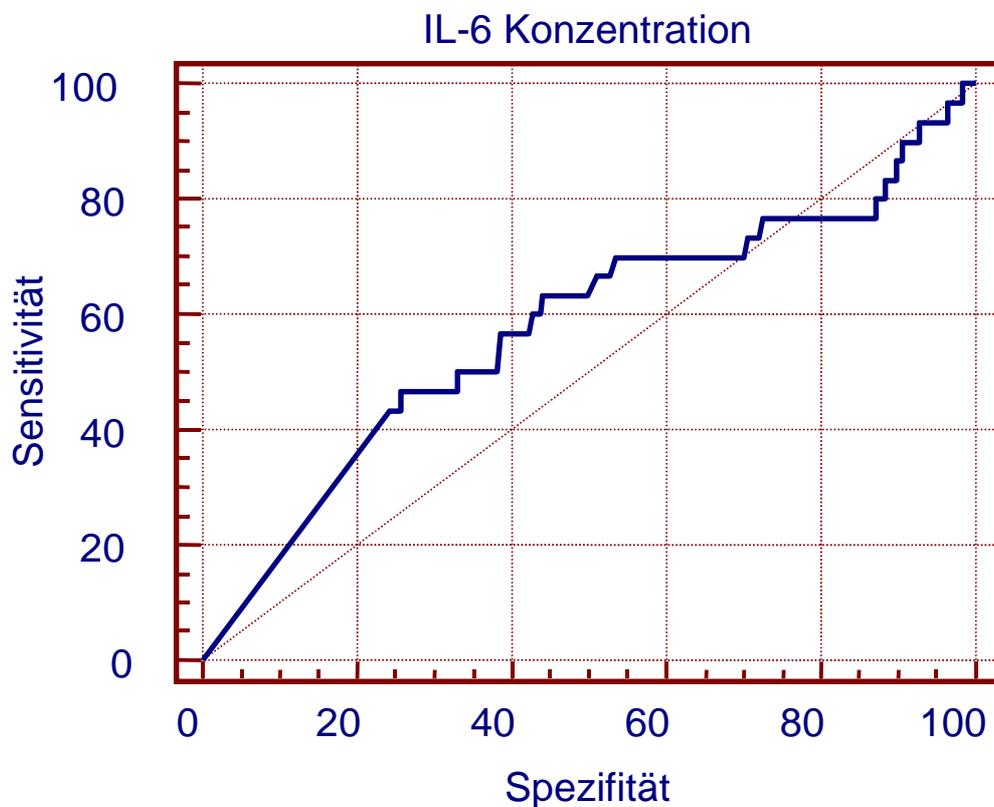
Für die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut wurde die Sensitivität und Spezifität im Hinblick auf das Vorliegen einer early-onset Sepsis für unterschiedliche cut-off points errechnet:

IL-6 Konzentration	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV
<b>0,43pg/ml (ROC)</b>	47%	74%	9%	97%
<b>5pg/ml</b>	30%	55%	3%	87%
<b>10pg/ml</b>	23%	78%	5%	88%
<b>20pg/ml</b>	10%	91%	5%	88%

**Tabelle 14: Wert der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut im Hinblick auf das Vorliegen einer early-onset Sepsis für unterschiedliche cut-off points.** Die IL-6 Konzentrationen sind in pg/ml angegeben. Der erste Wert gibt die ROC ermittelte IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut an, die anderen cut-off points wurden willkürlich gewählt.

Das beste Verhältnis zwischen Sensitivität und Spezifität ergab sich bei einem willkürlich gewählten cut-off point von 5pg/ml (Tabelle 14). Die Sensitivität betrug hierbei 30%, die Spezifität 55%, der positive Vorhersagewert 3% und der negative Vorhersagewert 87%.

Mit der receiver operating characteristics (ROC) Methode wurde die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut ermittelt, bei der sich die Gruppe der Früh- und Neugeborenen mit early-onset Sepsis (Gruppe der klinisch erkrankten) von klinisch indifferenten und gesunden Früh- und Neugeborenen im Hinblick auf Sensitivität und Spezifität am besten differenzierte (Abb. 8). Die ROC ermittelte optimale IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut hinsichtlich der early-onset Sepsis betrug 0,43pg/ml. Die Sensitivität betrug 47%, die Spezifität 74%. Der PPV betrug 9%, der NPV 97%. Die area under the ROC curve lag bei 0,577 bei einem CI von 0,537 bis 0,616.



**Abb. 12: Receiver operating characteristics (ROC) für die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut hinsichtlich der early-onset Sepsis.** Dargestellt ist die Sensitivität und Spezifität unterschiedlicher IL-6 Konzentrationen im Hinblick auf die early-onset Sepsis in der Gruppe der klinisch erkrankten, gegenüber der Gruppen der klinisch indifferenten und gesunden Früh- und Neugeborenen.

#### 4.5 Ergebnisse abhängig von der Histologie

Die Studienpopulation der 615 Schwangeren und deren Früh- und Neugeborenen wurden abhängig von der Punktzahl des histologischen Bewertungssystems für entzündliche Veränderungen von Plazenta, Eihäuten und Nabelschnur und in 3 Gruppen eingeteilt. Einer Gruppe wurden die 22 Studienpaare zugeteilt, bei denen eine Summe aus Stadium und Grad analog den angelegten Kriterien von  $\geq 3$  Punkten vorlag. Bei den Früh- und Neugeborenen dieser Gruppe galt eine histologische Chorioamnionitis als gesichert (histologisch positive Gruppe). Eine zweite Gruppe

bestand aus den 45 Studienpaaren, deren Punktzahl 1 oder 2 Punkte betrug. In dieser Gruppe konnte eine histologische Chorioamnionitis nicht mit Sicherheit angenommen, aber auch nicht ausgeschlossen werden (histologisch indifferente Gruppe). Eine dritte Gruppe bildeten die 548 Studienpaare, die anhand des Präparates eindeutig keine histologische Chorioamnionitis aufwiesen, deren Punktzahl der histologischen Kriterien 0 Punkte betrug (histologisch negative Gruppe).

#### 4.5.1 Abhängigkeit der Histologie von Gestationsalter und Geburtsgewicht

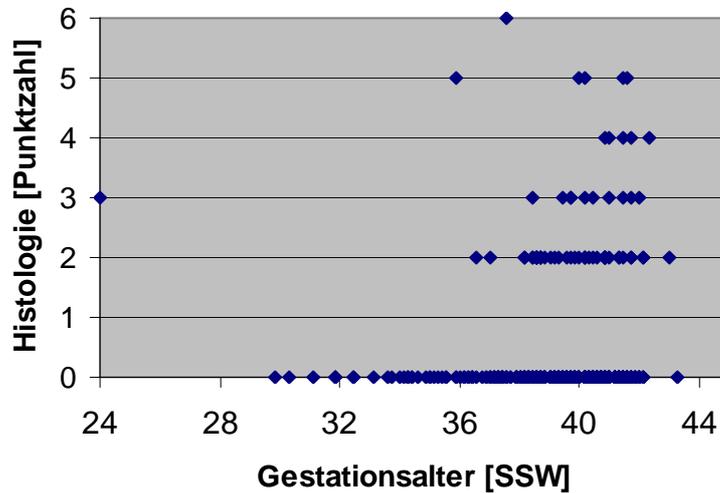
	Histologie [Punktzahl]				p
		≥3	1-2	0	
<b>Anzahl</b>	[n]	22	45	548	
<b>Gestationsalter</b> Median (Spanne)	[SSW]	40;6 (24;0-42;3)	40;0 (36;6-43;0)	39;6 (29;6-43;3)	0,9065
<b>Geburtsgewicht</b> Median (Spanne)	[g]	3705 (640-4540)	3340 (2080-4510)	3345 (1020-5415)	<0,0001

**Tabelle 15: Abhängigkeit der Histologie von Gestationsalter und Geburtsgewicht in den Gruppen mit positiver, indifferenter und negativer Histologie.** Dargestellt sind Median (Spanne) des Gestationsalters in SSW und des Geburtsgewichts in g in den einzelnen Gruppen. Korrelation der Frühgeburtlichkeit <37SSW mit der Plazentahistologie: Chi Quadrat Test nach Pearson  $p=0,9065$ . Korrelation des Geburtsgewichts mit der Plazentahistologie: t-Test  $p<0,0001$ .

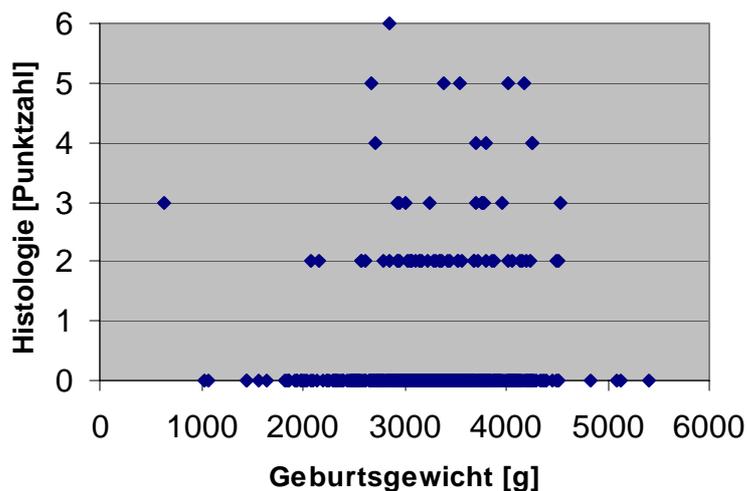
Die histologisch positive Gruppe enthielt die 22 Studienpaare, das entsprach 4% der Studienpopulation (Tabelle 15). In der histologisch indifferenten Gruppe befanden sich 45 Studienpaare (7%). Ein Score von 0 Punkten lag 548 mal vor (89%). Diese Studienpaare wurden der histologisch negativen Gruppe zugeordnet.

Das durchschnittliche Gestationsalter war in der histologisch positiven Gruppe mit 40;6 SSW tendentiell höher als in der histologisch indifferenten (40;0SSW) und der

histologisch negativen Gruppe (39;6SSW). In der Gruppe mit positiver Histologie befanden sich lediglich 2 Frühgeborene (9%).



**Abb. 13: Abhängigkeit der Histologie vom Gestationsalter.** Für die Histologie ist jeweils die zutreffende Punktzahl des histologischen Bewertungssystems für entzündliche Veränderungen von Plazenta, Eihäuten und Nabelschnur angegeben. Das Gestationsalter ist in SSW angegeben.



**Abb. 14: Abhängigkeit der Histologie vom Geburtsgewicht.** Für die Histologie ist jeweils die zutreffende Punktzahl des histologischen Bewertungssystems für entzündliche Veränderungen von Plazenta, Eihäuten und Nabelschnur angegeben. Das Geburtsgewicht ist in g angegeben.

Das durchschnittliche Geburtsgewicht war in der Gruppe mit positiver Histologie bei einem Median von 3705g signifikant höher als in den Gruppen mit indifferenter und negativer Histologie. In diesen beiden Gruppen war das Geburtsgewicht gleich (3340g bzw. 3345g).

#### 4.5.2 Abhängigkeit der Histologie von Risikofaktoren der early-onset Sepsis

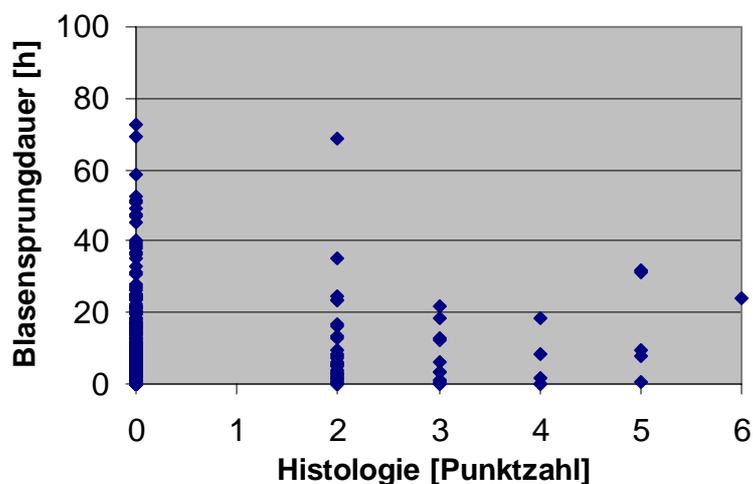
	Histologie [Punktzahl]				p
	≥3	1-2	0		
<b>Anzahl</b>	[n]	22	45	548	
<b>Blasensprungdauer</b> Median (Spanne)	[h]	7,6 (0-31,7)	3,2 (0-68,9)	2,4 (0-437,7)	0,0000
≥18h	[n]	6	5	54	0,0257
<b>Vaginaler Abstrich</b> B-Streptokokken	[n]	1	3	18	0,9795
Andere Erreger	[n]	2	5	47	
<b>Klinische Chorioamnionitis</b> ≥2 Punkte	[n]	4	8	59	0,5163

**Tabelle 16: Abhängigkeit der Histologie von Risikofaktoren der early-onset Sepsis in den Gruppen mit positiver, indifferenter und negativer Histologie.** Dargestellt sind Median (Spanne) der Blasensprungdauer vor der Geburt in Stunden sowie die Anzahl der Früh- und Neugeborenen mit einem vorzeitigen Blasensprung von 18 Stunden und mehr vor der Geburt. Der Nachweis einer pathologischen Keimbefestigung des Geburtskanals ist in B-Streptokokken und andere Erreger unterteilt. Angegeben ist die Anzahl der Früh- und Neugeborenen die peripartal Anzeichen einer klinischen Chorioamnionitis zeigten (Punktzahl ≥2). Korrelation der Blasensprungdauer (kontinuierliche Werte) mit der Plazentahistologie: Wilcoxon Test p=0,0000. Korrelation der Blasensprungdauer von ≥18 Stunden vor der Geburt mit der Plazentahistologie: Chi Quadrat Test nach Pearson p=0,0257. Korrelation der bakteriellen Vaginose (alle Erreger) mit der Plazentahistologie: Chi Quadrat Test nach Pearson p=0,9795. Korrelation der klinischen Chorioamnionitis mit der Plazentahistologie: Chi Quadrat Test nach Pearson p=0,5163.

Bei Vorliegen einer histologischen Chorioamnionitis (≥3 Punkte) war die Latenz des Blasensprungs bis zur Geburt signifikant erhöht (Tabelle 16). So betrug die durchschnittliche Blasensprungdauer in der histologisch positiven Gruppe 7,6

Stunden, in der histologisch indifferenten Gruppe 3,2 Stunden und in der histologisch negativen Gruppe 2,4 Stunden.

Ein vorzeitiger Blasensprung von  $\geq 18$  Stunden vor der Geburt war in der histologisch positiven Gruppe mit 27% der Fälle signifikant am häufigsten. In der histologisch indifferenten Gruppe betrug der Prozentsatz für das Vorliegen dieses Risikofaktors 11%, in der histologisch negativen Gruppe 10%.



**Abb. 15: Abhängigkeit der Histologie von der Blasensprungdauer.** Für die Histologie ist jeweils die zutreffende Punktzahl des histologischen Bewertungssystems für entzündliche Veränderungen von Plazenta, Eihäuten und Nabelschnur angegeben. Die Blasensprungdauer ist in Stunden vor der Geburt angegeben. Der Ausreißerwert von 438 Stunden ist der besseren Darstellbarkeit halber nicht gezeigt.

Eine bakterielle Vaginose war in der histologisch positiven Gruppe mit 14% tendentiell häufiger als in der histologisch negativen Gruppe mit 12% (Tabelle16). In der histologisch indifferenten Gruppe lag eine bakterielle Vaginose in 18% der Fälle vor. In allen drei Gruppen waren B-Streptokokken insgesamt seltener als andere Erreger.

Eine klinische Chorioamnionitis lag in der histologisch positiven Gruppe und der histologisch indifferenten Gruppe mit je ca. 18% gleich häufig vor. Niedriger war die

Inzidenz in der Gruppe mit negativer Histologie mit 10,8%. Eine statistische Signifikanz lag nicht vor.

### 4.5.3 Abhängigkeit der Histologie von infektiösen Faktoren

	[n]	Histologie [Punktzahl]			p
		≥3	1-2	0	
<b>Anzahl</b>	[n]	22	45	548	
<b>Early-onset Sepsis beim Kind ≥3 Punkte</b>	[n]	1	1	28	0,6708
<b>Blutkultur positiv</b>	[n]	0	1	0	-----
<b>Antibiotische Therapie</b>	[n]	2	1	13	0,2072
<b>CRP Median (Spanne)</b>	[mg/l]	11 (0,3-37)	9 (0,3-61)	6 (0,3-76)	0,0000
≥10mg/l	[n]	6	8	60	
≥20mg/l	[n]	2	2	20	
<b>IL-6 Median (Spanne)</b>	[pg/ml]	34,4 (0-2025)	6,9 (0-700)	3,5 (0-1384)	<0,0001
≥5pg/ml	[n]	21	29	224	
≥10pg/ml	[n]	18	16	103	
≥20pg/ml	[n]	14	11	33	

**Tabelle 17: Abhängigkeit der Histologie von infektiösen Faktoren in den Gruppen mit positiver, indifferenter und negativer Histologie.** Dargestellt ist die Anzahl der an einer early-onset Sepsis erkrankten Früh- und Neugeborenen sowie das Vorliegen einer positiven Blutkultur und die Anzahl der antibiotisch behandelten Früh- und Neugeborenen in den einzelnen Gruppen. Dargestellt sind Median (Spanne) des CRP der ersten 5 Lebenstage in mg/l und die Anzahl der Früh- und Neugeborenen mit einem erhöhten CRP mit cut-off-points von 10mg/l bzw. 20mg/l. Angegeben sind Median (Spanne) der IL-6 Konzentrationen aus dem Nabelschnurblut der Früh- und Neugeborenen und die absoluten Zahlen für die unterschiedlichen cut-off-points 5pg/ml, 10pg/ml und 20pg/ml. Korrelation der early-onset Sepsis mit der Plazentahistologie: Chi Quadrat Test nach Pearson  $p=0,6708$ . Korrelation der antibiotischen Behandlung mit der Plazentahistologie: Chi Quadrat Test nach Pearson  $p=0,2072$ . Korrelation der kindlichen CRP Werte der ersten 5 Lebenstage mit der Plazentahistologie: Korrelationskoeffizient nach Spearman  $r=0,427$ ; CI 0,3078 bis 0,5332;  $p=0,000$ . Korrelation der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut mit der Plazentahistologie: Chi Quadrat Test nach Pearson  $p<0,0001$ .

Eine early-onset Sepsis lag in der histologisch positiven und der histologisch negativen Gruppe zu jeweils 5% und in der histologisch indifferenter Gruppe zu 2%

vor. Damit unterschied sich die Inzidenz nicht signifikant zwischen den drei Gruppen (Tabelle 17). Allerdings befand sich in der histologisch positiven und der histologisch indifferenten Gruppe nur je 1 an einer early-onset Sepsis erkranktes Kind.

Das Neugeborene mit der positiven Blutkultur war in der histologisch indifferenten Gruppe. Eine statistische Signifikanz wurde nicht errechnet.

In der histologisch positiven Gruppe war eine antibiotische Behandlung mit 10% 5 mal, aber nicht signifikant, häufiger als in den beiden anderen Gruppen mit jeweils 2% antibiotisch behandelten Früh- und Neugeborenen.

Der Median des maximalen CRP in den ersten 5 Lebenstagen der Früh- und Neugeborenen war in der Gruppe mit positiver Histologie mit 11mg/l signifikant höher als in den Gruppen mit histologisch indifferenter (9mg/l) und negativer Histologie (6mg/l). Ein pathologisch erhöhtes CRP von  $\geq 10$ mg/l wurde in der Gruppe mit eindeutig positiver Histologie mit 27% am häufigsten beobachtet. In der Gruppe mit indifferenter Histologie lag ein CRP von  $\geq 10$ mg/l in 18% und in der Gruppe mit negativem Histologie in lediglich 11% der Blutanalysen vor.

Die IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut waren in der histologisch positiven Gruppe mit einem Median von 34,4pg/ml signifikant (5 mal bzw. 9 mal) höher als in den beiden anderen Gruppen. In der histologisch indifferenten Gruppe lag die durchschnittliche IL-6 Konzentration bei 6,9pg/ml und in der histologisch negativen Gruppe bei 3,5pg/ml.

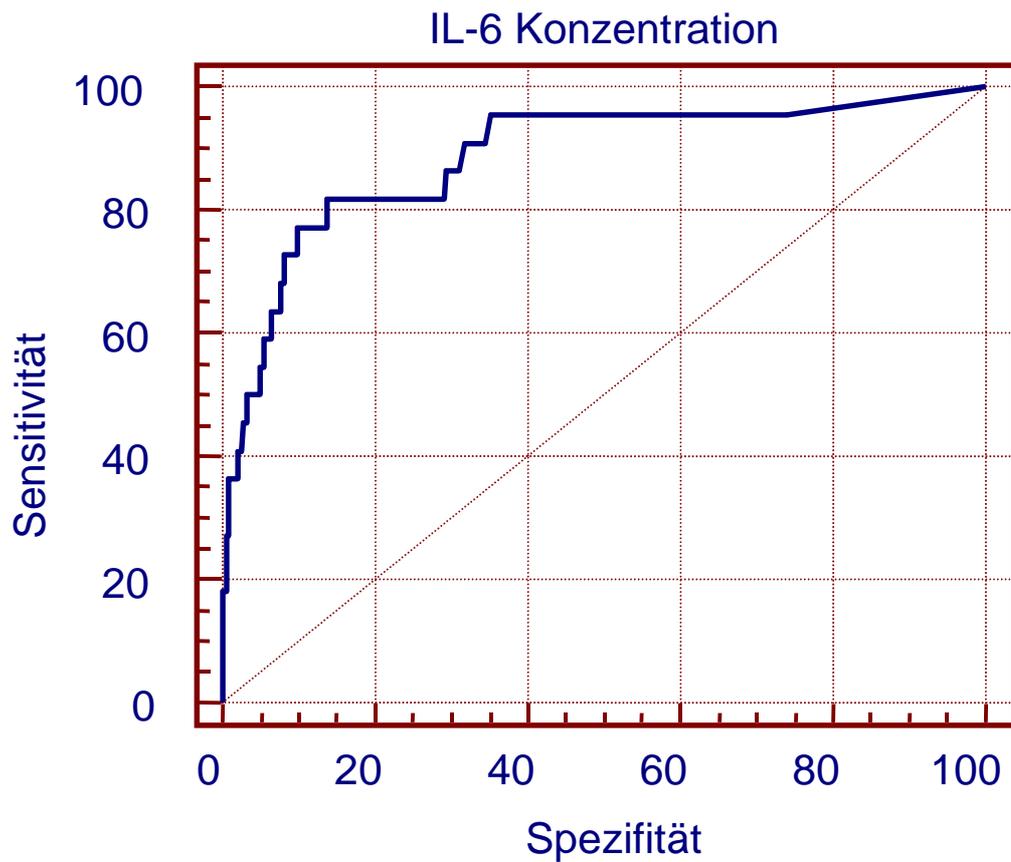
Für das IL-6 im Nabelschnurblut wurde die Sensitivität und Spezifität im Hinblick auf das Vorliegen einer histologischen Chorioamnionitis für unterschiedliche cut-off points errechnet:

IL-6 Konzentration	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV
<b>12,6pg/ml (ROC)</b>	82%	86%	18%	99%
<b>5pg/ml</b>	96%	59%	8%	95%
<b>10pg/ml</b>	82%	81%	13%	93%
<b>20pg/ml</b>	64%	94%	24%	93%

**Tabelle 18: Wert des IL-6 im Nabelschnurblut im Hinblick auf das Vorliegen einer histologischen Chorioamnionitis für unterschiedliche cut-off points.** Die IL-6 Konzentrationen sind in pg/ml angegeben. Der erste Wert gibt die ROC ermittelte IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut an, die anderen cut-off points wurden willkürlich gewählt.

Das beste Verhältnis zwischen Sensitivität und Spezifität ergab sich bei einem willkürlich gewählten cut-off point von 10pg/ml (Tabelle18). Die Sensitivität betrug hierbei 82%, die Spezifität 81%, der positive Vorhersagewert (positive predictive value=PPV) 13% und der negative Vorhersagewert (negative predictive value=NPV) 93%.

Mit der receiver operating characteristics (ROC) Methode wurde die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut ermittelt, bei der sich die Gruppe der Früh- und Neugeborenen mit histologischer Chorioamnionitis (histologisch positive Gruppe) von der Gruppe Früh- und Neugeborener mit indifferenter und negativer Histologie im Hinblick auf Sensitivität und Spezifität am besten differenzierte (Abb. 11). Die ROC ermittelte optimale IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut hinsichtlich der histologischen Chorioamnionitis betrug 12,6pg/ml. Die Sensitivität betrug 82%, die Spezifität 86%. Der PPV betrug 18%, der NPV 99%. Die area under the ROC curve lag bei 0,886 bei einem CI von 0,859 bis 0,910.



**Abb. 16: Receiver operating characteristics (ROC) für die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut hinsichtlich der histologischen Chorioamnionitis.** Dargestellt ist die Sensitivität und Spezifität unterschiedlicher IL-6 Konzentrationen im Hinblick auf die histologische Chorioamnionitis in der Gruppe mit positiver Histologie, gegenüber der Gruppen mit indifferenter und negativer Histologie.

## 5 Diskussion

### 5.1 Beurteilung der Studienpopulation

Die Studienpopulation stellt einen repräsentativen Ausschnitt des Gesamtkollektivs der geburtshilflichen Abteilung der 1. Universitäts-Frauenklinik München dar. Da für die Studie keine Ausschlußkriterien wie das Gestationsalter oder das Vorliegen von Risikofaktoren definiert wurden, können die Ergebnisse auf andere Populationen von Früh- und Neugeborenen übertragen werden. Darin unterscheidet sich die vorliegende Studie von anderen, in denen die Untersuchungen an einem ausgewählten Klientel, wie beispielsweise nur an Frühgeborenen oder nur nach vorzeitigem Blasensprung, stattfanden [Smulian 1999, Kashlan 2000]. Allerdings muß Rechnung getragen werden, daß sich auch bei dem Kollektiv der 1. UFK ein über dem Durchschnitt liegender Anteil an Risikoschwangerschaften und –geburten befand.

Die erreichte Fallzahl der Studienpopulation lag mit 615 Studienpaaren vergleichsweise hoch. In den meisten anderen Studien war die Fallzahl wesentlich geringer und damit statistisch weniger aussagekräftig. So betrug die Fallzahl in einer Studie von Messer et al. 288 [Messer 1996], von Berner et al. 136 [Berner 1998] und von Lehrnbecher et al. lediglich 46 [Lehrnbecher 1996].

Von den gesammelten 1000 Histologien konnten 615 in die Auswertung eingeschlossen werden, dies entspricht einer Einschluß-Quote von 62%. Einfluß auf die Verlustquote der verbleibenden 38% hatte vor allem das Fehlen der Histologie von Plazenta und/oder Nabelschnur und das Fehlen des Erhebungsbogen für klinische Zeichen einer Sepsis.

Das Fehlen dieser beiden Parameter kann möglicherweise auf die Beteiligung vieler Personen beim Sammeln und Bearbeiten des Studienmaterials zurückgeführt werden. Der Ausschluß dieser Neugeborenen war wahrscheinlich nicht nur zufällig, da Risikogeburten oftmals der ganze Aufmerksamkeit des geburtshilflichen und neonatologischen Teams bedurften und deswegen besonders bei diesen Patienten das Sammeln von Studienmaterial offensichtlich zu kurz kam. Das könnte den, für eine Universitätsklinik wie die 1. UFK, geringen Prozentsatz an Frühgeborenen

erklären, die in die Studie eingeschlossen werden konnten. Der Datensatz dieser ausgeschlossenen Kinder war nicht prospektiv dokumentiert und ließ sich daher nicht zurückverfolgen.

## **5.2 Beurteilung der Studiendurchführung**

### **5.2.1 Sepsisscore**

Ein limitierender Faktor bei der Auswertung des Sepsisscores war die an einzelnen Tagen fehlende Dokumentation des klinischen Status einiger Früh- und Neugeborenen auf dem „Bogen für klinische Zeichen einer Sepsis beim Kind“. Damit war eine Sepsisscore-Einstufung nicht möglich. Wurde ein Kind innerhalb der ersten 5 Lebenstage, also vor Abschluß der für die vorliegende Studie vorgegebenen 5-tägigen Dokumentation aus der 1. UFK entlassen oder in eine andere Klinik verlegt, so war eine weitere Beurteilung des klinischen Status nicht möglich. Teilweise fehlten an einzelnen Tagen die Auswertung des klinischen Zustandes des Neugeborenen durch den behandelnden Arzt. Auch diese einzelnen Tage konnten bei der Auswertung mittels des Sepsisscores nicht berücksichtigt werden. Möglich wäre es, daß bei Erhebung auch dieser fehlenden Daten ein erhöhter Prozentsatz an klinisch erkrankten Früh- und Neugeborenen aufgetreten wäre.

### **5.2.2 IL-6 Bestimmung**

Als problematisch erwies sich im Nachhinein die Bestimmung der IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut, da aus methodischen und organisatorischen Erwägungen drei verschiedene Testverfahren zum Einsatz kamen. Am Anfang wurden die Blutproben mit einem manuell durchzuführenden ELISA bestimmt. Nachdem – erwartungsgemäß – bei einem großen Teil dieser Proben die IL-6 Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze dieses Tests lagen, wurde bei einem Teil der Proben eine zusätzliche Bestimmung mit dem hochsensitiven IL-6 ELISA Quantikine® HS durchgeführt um zu ermitteln, bei welchem Wert diese Proben im Bereich um 0pg/ml konkret liegen.

Gegen Ende der Studie stand ein Testautomat zur Bestimmung von IL-6 zur Verfügung. Da diese Methode der IL-6 Bestimmung schneller und billiger als die manuellen Assays war, wurde sie für die letzten 325 Proben benutzt.

Dabei wurde davon ausgegangen, dass die Messung mit diesem kommerziell vertriebenen und vielfach eingesetzten Testautomaten dasselbe Ergebnis erzielt wie die Bestimmung mit dem manuellen ELISA. Bei Doppelbestimmungen unterschiedlich hoher IL-6 Konzentrationen mit verschiedenen Testverfahren unterschieden sich die Konzentrationen jedoch teilweise deutlich. Proben, die in beiden manuellen Assays niedrige Konzentrationen bis 43pg/ml aufwiesen, wurden in der Nachbestimmung mit dem Testautomaten als 0pg/ml gemessen. Hohe Konzentrationen zwischen 81 und 327pg/ml, gemessen mit den manuellen Assays, waren bei Messung mit dem Testautomaten um durchschnittlich die Hälfte reduziert. Anhand von 400 Doppelbestimmungen wurde der Umrechnungsfaktor 2 errechnet und auf diejenigen Proben angewandt, die ausschließlich mit dem Testautomaten bestimmt worden waren.

Dieses völlig unerwartete Ergebnis ließ sich im nachhinein auf eine falsche Lagerung des internationalen Eichstandards durch die Herstellerfirma des Testautomaten zurückführen und machte eine rechnerische Angleichung der IL-6 Meßwerte aus den verschiedenen Testverfahren notwendig. Im nachhinein wäre es zweifellos besser gewesen, eine einheitliche Methode zur Bestimmung der IL-6 Konzentration zu verwenden, um eine höhere Aussagekraft und eine bessere Vergleichbarkeit der einzelnen Konzentrationen zu erreichen.

### **5.2.3 Histologische Beurteilung**

Die Einteilung der histologischen Chorioamnionitis erfolgte bisher in der Literatur nicht einheitlich. Unterschiedliche Definitionen einer histologischen Chorioamnionitis bedingten abweichende Ergebnisse.

Bei Hillier et al. wurden eine histologische Chorioamnionitis dann als signifikant definiert, wenn in mindestens 10 aneinandergrenzenden Blickfeldern mindestens 10 Leukozyten gesehen wurden [Hillier 1988]. Für Guzick et al. galten als Entzündungskriterium im Sinne einer histologischen Chorioamnionitis bereits eine Infiltration von 4 Leukozyten pro Blickfeld im Amniongewebe, sowie in einer weiteren

Lokalisation [Guzick 1985]. Beurteilt wurde also lediglich die Intensität der Entzündung, nicht aber die Ausbreitung.

In der vorliegenden Studie erfolgte die Untersuchung der Intensität der Entzündungszeichen (Grad) und zusätzlich die Ausbreitung der entzündlichen Reaktion (Stadium) getrennt. So ließen sich diese Kriterien unabhängig voneinander betrachten, bevor anhand der Summe der beiden Kriterien die Diagnose der histologischen Chorioamnionitis gestellt wurde (Klassifizierung von Beck 1993). Die Güte der Klassifizierung von Beck et al. erschien daher besser und umfassender zu sein und wurde deswegen in der vorliegenden Studie verwendet.

Möglicherweise böte auch das Bewertungssystem von Yoon et al. eine Alternative, da es die Histologie der Nabelschnur zum Nachweis einer Funisitis getrennt von der histologischen Bewertung des Chorioamnioms hinzuzieht [Yoon 2000].

## **5.3 Die Diagnose der early-onset Sepsis**

### **5.3.1 Klinik**

In der Studienpopulation erkrankten knapp 5% der Früh- und Neugeborenen an einer early-onset Sepsis. Dieses Ergebnis stimmte in der Größenordnung mit Angaben von 5,4% in einer zufällig ausgesuchten Population von Früh- und Neugeborenen überein [Büscher 2000].

Von den 30 per definitionem (Sepsisscore  $\geq 3$  Punkte) an einer early-onset Sepsis erkrankten Früh- und Neugeborenen lautete bei 4 Kindern auch die postpartale klinische Diagnose Amnioninfekt, bei 7 weiteren lautete die Diagnose V.a. Amnioninfektionssyndrom. Bei einem weiteren Neugeborenen wurde eine konnatale Pneumonie diagnostiziert. Die übrigen Früh- und Neugeborenen litten an Erkrankungen wie Adaptationsstörungen, Hypoglykämien, Entzugssyndrom, nasse Lunge, Asphyxie, Mekoniumaspiration, Hyperbilirubinämie und Polyglobulie. Ein Neugeborenes hatte allerdings außer einem Pierre-Robin-Syndrom keine weiteren Erkrankungen.

In dieser Gruppe der 30 Kinder mit einem positiven Sepsisscore ( $\geq 3$  Punkte) handelte es sich zusätzlich zu einer der oben aufgeführten Erkrankungen, unabhängig ob tatsächlich infektiöser Genese oder nicht, bei über 50% um

Frühgeborene vor der abgeschlossenen 37.SSW oder um SGA (small for gestational age) Neugeborene.

So waren Symptome auf dem Sepsisscore nicht unbedingt eindeutig einem Amnioninfektionssyndrom mit einhergehender early-onset Sepsis zuzuordnen. Es konnte also durchaus ein Sepsisscore  $\geq 3$  Punkte vorliegen, obwohl das Kind retrospektiv nicht an einer early-onset Sepsis litt. Möglicherweise waren die klinischen Symptome viel mehr Ausdruck einer Frühgeburtlichkeit mit beispielsweise einer postnatalen Atemstörung oder bei reifen Neugeborenen Ausdruck einer Adaptationsstörung. Sowohl bei Früh- als auch bei Neugeborenen konnten die Symptome auch Ausdruck einer der oben aufgeführten, nicht entzündungsassoziierten Erkrankung sein.

Auch konnte die Genese von Symptomen beim Vorliegen einer early-onset Sepsis durch zusätzliche Frühgeburtlichkeit oder Adaptationsstörungen maskiert werden. Beispielsweise war Trinkschwäche bei einem Früh- oder Neugeborenen als ein klassisches Symptom einer early-onset Sepsis nicht zu unterscheiden von Trinkschwäche als Ausdruck der Frühgeburtlichkeit oder einer Erkrankung anderer Genese, beispielsweise einer Hyperbilirubinämie. Diese Schwierigkeiten beschrieben auch andere Autoren [Buck 1994, Källmann 1999].

Da die auf dem Sepsisscore aufgeführten Symptome nicht eindeutig und zuverlässig einer early-onset Sepsis zugeordnet werden können, müßte man möglicherweise den Sepsisscore überdenken und versuchen spezifischere, entzündungsassoziierte Symptome zu definieren. Diese Tatsache könnte auch erklären, warum die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut als Entzündungsparameter nicht mit dem Sepsisscore korreliert.

In der Studienpopulation der 30 an einer early-onset Sepsis erkrankten Früh- und Neugeborenen war nur bei einem Kind die Blutkultur Erreger-positiv. Bei dem Erreger handelte es sich um *Staphylokokkus hominis*. Bei 16 weiteren erkrankten Früh- und Neugeborenen, bei denen ebenfalls eine Blutkultur abgenommen worden war, blieb diese Kultur jedoch ohne Erregernachweis. In anderen Studien wurde ebenfalls die Beobachtung gemacht, daß eine schwerwiegende Infektion des Neugeborenen vorliegen kann, auch wenn keine Erreger-positive Blutkultur vorliegt; die Infektion ist dann nur anhand klinischer Symptome zu diagnostizieren [Miyano 1996]. 37% der

Mütter der Früh- und Neugeborenen in der klinisch erkrankten Gruppe erhielten prä- bzw. peripartal eine antibiotische Therapie. Dieses Ergebnis legte übereinstimmend mit anderen Literaturangaben die Vermutung nahe, daß eine präpartale Antibiose der Mutter Einfluß auf die neonatale Blutkultur hat [Sanghvi 1996].

Die Mutter des Neugeborenen mit Erreger-positiver Blutkultur erhielt präpartal keine antibiotische Therapie, entwickelte jedoch bei einem vorzeitigem Blasensprung von 23,5 Stunden unter der Geburt Temperatur bis 38,0°C und am zweiten Tag nach der Geburt Temperatur bis 38,9°C und ein CRP von 19mg/l. In den ersten beiden Lebenstagen war das Kind laut Sepsisscore zunächst klinisch gesund, entwickelte im Laufe des 2. Lebenstages Zeichen einer Sepsis. Am 1. Lebenstag lag der CRP Wert im kindlichen Blut bei 3mg/dl, am 3. Lebenstag fand sich ein CRP Wert von 61mg/l. Die klinischen Zeichen der Sepsis wurden ab dem dritten Lebenstag nicht auf dem „Bogen zur Erhebung klinischer Zeichen einer Sepsis“ dokumentiert, die Diagnose „Amnioninfektionssyndrom“ war aber retrospektiv aus der Krankenakte der Intensivstation der 1. UFK zu entnehmen. Die Blutkultur wies Staphylokokkus hominis auf, im Magensekret und im Ohrabstrich waren Enterokokken und D-Streptokokken nachzuweisen. Das Kind wurde ab dem 2. Lebenstag aufgrund der Befunde antibiotisch behandelt. Bei diesem Neugeborenen lag die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut bei 700pg/ml, das bedeutet, das IL-6 war bereits einen Tag vor den ersten klinischen Zeichen einer Infektion nachweisbar

### **5.3.2 Antibiotische Behandlung**

In der gesamten Studienpopulation wurden lediglich 2,6% der Kinder antibiotisch behandelt. Bei 6 dieser 16 Früh- und Neugeborenen galt die Diagnose der early-onset Sepsis als gesichert, bei 8 Kindern lautete die postpartale Hauptdiagnose zumindest V.a. AIS. Bei 2 Neugeborenen lautete die Diagnose V.a. Meningitis bzw. V.a. konnatale Pneumonie. Das bedeutet, daß alle antibiotisch behandelten Kinder retrospektiv tatsächlich eine entzündungsassoziierte klinische Diagnose hatten.

Der für die Diagnose der early-onset Sepsis zugrunde gelegte Sepsisscore für die klinischen Zeichen einer early-onset Sepsis filterte an einer early-onset Sepsis erkrankte Früh- und Neugeborene mit einer Sensitivität von 69% heraus, wenn man eine durchgeführte antibiotische Therapie des Kindes als Kriterium einer tatsächlich

zu behandelnden klinischen early-onset Sepsis anlegte. Dies zeigt die Möglichkeiten eines Sepsisscores, Symptome einer early-onset Sepsis relativ zuverlässig anzuzeigen und eine unnötige Antibiotikatherapie reduzieren zu können. Damit ließen sich nicht nur tatsächlich erkrankte Früh- und Neugeborene gezielt behandeln, nicht an einer Sepsis erkrankten Kindern könnte eine nebenwirkungsreiche Belastung erspart bleiben [Philips 1981]. In Anbetracht der schlechten Sensitivität und Spezifität kann ein so hoher Anspruch jedoch ohne weitere Studien nicht formuliert werden.

Die überwiegende Mehrheit der Früh- und Neugeborenen zeigte trotz antibiotischer Behandlung auch tatsächlich klinische Symptome einer early-onset Sepsis. Da aber in mehr als der Hälfte der Fälle zusätzlich die Mutter prä- bzw. peripartal eine Antibiose erhielt, konnte man gut 30% der antibiotisch behandelten Kinder möglicherweise einen symptomatischen Verlauf des Entzündungsgeschehen ersparen bzw. der Entwicklung einer generalisierten early-onset Sepsis vorbeugen. Möglicherweise hatte die präpartale antibiotische Therapie der Mutter ebenfalls einen Einfluß sowohl auf die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut und die CRP Werte der ersten 5 Lebenstage des Früh- und Neugeborenen als auch auf die Entzündungsreaktion der Plazenta, der Eihäute und der Nabelschnur.

Auffallend war, daß ein Kind nicht zwangsläufig nur aufgrund prä- bzw. peripartaler Risikofaktoren und Zeichen einer klinischen Chorioamnionitis postpartal antibiotisch behandelt wurde, die Mutter aber häufig schon. Möglicherweise konnte man den nicht antibiotisch behandelten Neugeborenen antibiotisch behandelter Mütter durch eine frühzeitige Antibiotikatherapie der Mutter das Auftreten klinischer und/oder laborchemischer Zeichen einer early-onset Sepsis oder einen fulminanten Verlauf einer Sepsis ersparen. Vielleicht hätten diese Früh- und Neugeborenen aber auch ohne antibiotische Therapie der Mutter keine early-onset Sepsis entwickelt. Im Gegensatz dazu zeigt der Verlauf der zwei Neugeborenen mit der Erreger-positiven Blutkultur bzw. dem positiven B-Streptokokken Schnelltest, daß ohne peripartale antibiotische Behandlung der Mutter eine antibiotische Behandlung des Neugeborenen durchaus notwendig sein kann, auch wenn keine eindeutigen klinischen Zeichen einer early-onset Sepsis vorliegen. Zur Indikationsstellung einer antibiotischen Behandlung beim Neugeborenen reichen auch heute die Anamnese, der Verdacht auf das Entwickeln einer Sepsis und die Laborparameter aus [Buck

1994, de Bont 1994, Gomez 1998]. Die IL-6 Konzentrationen aus dem Nabelschnurblut des Neugeborenen mit Erreger-positiver Blutkultur und dem Neugeborenen mit positivem B-Streptokokken Schnelltest waren bereits 2 Tage vor dem CRP Nachweis erhöht und hätten einen Hinweis auf das entzündliche Geschehen geben können. In diesen Fällen zeigt sich eine Übereinstimmung mit anderen Studien, die ebenfalls erhöhte IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut vor ersten klinischen Zeichen einer Sepsis und vor Anstieg des CRP Wertes feststellten [Küster 1998, de Bont 1994, Berner 1998, Lehrnbecher 1996].

### **5.3.3 Laborchemische Parameter**

In der vorliegenden Studie wurden nur die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut mit der Plazentahistologie und den klinischen Symptomen der early-onset Sepsis der Früh- und Neugeborenen verglichen. Andere laborchemische Parameter wie das CRP sind bereits hinreichend untersucht worden und gelten in der Klinik als etabliert [Gerdes 1991, Gomez 1998]. Das CRP lag daher nur dann vor, wenn im Rahmen einer klinisch indizierten Blutentnahme dieser Parameter bestimmt wurde und retrospektiv der Krankenakte entnommen werden konnte.

In der klinisch indifferenten Gruppe wurde das CRP bei 64% der Früh- und Neugeborenen innerhalb der ersten 5 Lebenstage ein CRP Wert bestimmt. Möglicherweise geschah dies, gerade weil die Klinik nicht eindeutig war und ein zusätzlicher laborchemischer Parameter hinzugezogen werden sollte. Eine Konsequenz für die antibiotische Therapie schienen die erhöhten CRP Werte der ersten 5 Lebenstage für sich alleine nicht zu spielen, da in der klinisch indifferenten Gruppe lediglich 1 Kind und in der klinisch gesunden Gruppe nur 4 Kinder überhaupt eine postpartale Antibiose erhielten. Umgekehrt wiesen nur 13% der Früh- und Neugeborenen in der erkrankten Gruppe in den ersten 5 Lebenstagen ein CRP  $\geq 10\text{mg/l}$  auf, ein CRP  $\geq 20\text{mg/l}$  kam überhaupt nicht vor.

Da aus ethischen Erwägungen nicht bei allen Kindern Blut für eine CRP-Bestimmung abgenommen worden war, konnte die Sensitivität des CRP hinsichtlich der early-onset Sepsis nicht sicher bestimmt werden, blieb aber in den bestimmten Fällen deutlich hinter den Angaben in der Literatur mit 47-100% zurück [Gerdes 1991].

Der maximale CRP Wert der ersten 5 Lebenstage war zwischen Tag 2 und Tag 4 nachzuweisen und stieg, wie bereits beschrieben, erst nach Auftreten klinischer Zeichen an [Mathers 1987, Messer 1996, Berner 1999]. So war das CRP nicht geeignet, eine early-onset Sepsis frühzeitig anzuzeigen, könnte aber möglicherweise zur Verlaufskontrolle hinzugezogen werden [Philips 2000]. Aufgrund der obengenannten Einschränkung lag keine ausreichende Zahl von CRP-Verläufen vor, die eine systematische Analyse die Aussagekraft des CRP-Verlaufs ermöglicht hätte. Dies war aber auch nicht Inhalt der vorliegenden Studie gewesen.

Bei den maximalen CRP Werten der ersten 5 Lebenstage der Neugeborenen lag der Median in der IL-6 positiven Gruppe fast 2 mal höher als in der IL-6 indifferenten und sogar 3 mal höher als in den Gruppen mit negativen IL-6 Konzentrationen. Somit war eine Übereinstimmung zwischen den IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut mit den CRP Werten der Früh- und Neugeborenen als Gruppe gegeben. Auch stimmten sowohl CRP als auch IL-6 Konzentrationen mit dem Auftreten einer histologischen Chorioamnionitis überein. Ein pathologisch erhöhtes CRP der ersten 5 Lebenstage von  $\geq 10\text{mg/l}$  zeigte sich bei Vorliegen einer positiven Plazentahistologie um 16% häufiger als bei unauffälliger Plazentahistologie. In der Gruppe mit positiver Plazentahistologie lag der Median der IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut um etwa das 10-fache höher als in der Gruppe mit unauffälliger Plazentahistologie. Da aber weder die CRP Werte noch die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut mit dem Auftreten klinischer Zeichen einer early-onset Sepsis korrelierten, bleibt ihr Nutzen in der frühzeitigen Diagnostik der early-onset Sepsis weiterhin unzureichend. Auch ist, trotz einer Korrelation in der gesamten Studienpopulation, die Vorhersagekraft für das individuelle Kind völlig unzureichend.

#### **5.4 Zusammenhang zwischen Risikofaktoren und dem Auftreten einer early-onset Sepsis**

Mehr als die Hälfte der an einer early-onset Sepsis erkrankten Früh- und Neugeborenen waren Frühgeborene. Das Gestationsalter und das Geburtsgewicht waren folglich in der Gruppe der erkrankten Kinder statistisch signifikant niedriger als in den anderen Gruppen. Darin stimmten die Ergebnisse mit denen anderer Autoren überein, die in der Unreife des Immunsystems einen der Hauptrisikofaktoren für die

Entstehung einer early-onset Sepsis postulierten [Hillier 1988, Gomez 1995, Benitz 1999].

Eine Übereinstimmung der Dauer des Blasensprungs vor der Geburt und dem Auftreten einer early-onset Sepsis war nicht gegeben. In der Gruppe der klinisch erkrankten Früh- und Neugeborenen lag Blasensprungdauer bei lediglich 0,5 Stunden. Auch trat ein vorzeitiger Blasensprung von  $\geq 18$  Stunden vor der Geburt in der Gruppe der klinisch erkrankten Kinder seltener auf als in der klinisch indifferenten Gruppe. Dieses Ergebnis stimmte mit Beobachtungen von Ohlsson et al. [1990] und Schöll et al. [1993] überein, die ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen einem vorzeitigen Blasensprung und dem Auftreten einer early-onset Sepsis bei Früh- und Neugeborenen herausfinden konnten. Das Ergebnis widersprach dagegen den Aussagen anderer Autoren, die in einem vorzeitigen Blasensprung einen ätiologischen Faktor für das Entstehen einer early-onset Sepsis postulierten [Harris 1994, Buck 1994].

In der Gruppe der klinisch erkrankten Früh- und Neugeborenen war 3 mal häufiger eine präpartale Vaginose der Mutter zu diagnostizieren als in der Gruppe der klinisch gesunden Neugeborenen. In dieser Hinsicht stimmten die Ergebnisse mit anderen Literaturangaben überein [Gomez 1998, Hillier 1988]. Relativ gesehen war nicht nur die Rate der bakteriellen Vaginose sondern auch der prozentuale Anteil von B-Streptokokken in der Gruppe der klinisch erkrankten Kinder erhöht [Gladstone 1990].

In 55% der Fälle ging eine bakterielle Vaginose der Mutter mit einem vorzeitigen Blasensprung von  $\geq 18$  Stunden vor der Geburt einher. Übereinstimmend mit Harris et al. und Buck et al. zeigte sich somit eine signifikante Korrelation zwischen diesen beiden Risikofaktoren [Harris 1994, Buck 1994]. 78% der Kinder, deren Mütter eine bakterielle Vaginose aufwiesen waren Frühgeborene. Dies belegt erneut die These, daß entweder gerade Frühgeborene bereits intrauterin anfälliger für vaginal ascendierende Keime sind, auch wenn die Fruchtblase noch intakt ist, oder eine Vaginose vermehrt zu einem Blasensprung und damit zur Frühgeburtslichkeit führt [Harris 1994, Buck 1994, Kirschbaum 1995]. Somit könnte ein Blasensprung bereits ein fortgeschrittenes Zeichen einer Keimbesiedlung der feto-maternalen Einheit sein und eine Infektion des Frühgeborenen besteht bereits vor dem Auftreten eines vorzeitigen Blasensprungs [Harris 1994, Buck 1994, Gomez 1998]. Dieser Aussage widerspricht allerdings das Ergebnis, daß bei lediglich einem klinisch erkrankten

Frühgeborenen eine positive Plazentahistologie im Sinne einer histologischen Chorioamnionitis vorlag.

Eine klinische Chorioamnionitis lag in der Gruppe der klinisch erkrankten Früh- und Neugeborenen in 10% der Fälle vor. Darin stimmte das Ergebnis mit Smulian et al. überein, die die Inzidenz des Auftretens einer klinischen Chorioamnionitis bei einer diagnostizierten early-onset Sepsis des Früh- und Neugeborenen mit 1,8% bis 20% angaben [Smulian 1999]. In der gesamten Studienpopulation wiesen 12% der Mutter-Kind Paare peripartal eine klinische Chorioamnionitis auf. Im Gegensatz zu St. Geme et al. und Benitz et al. waren Zeichen einer klinischen Chorioamnionitis aber nicht eindeutig mit einer klinischen early-onset Sepsis des Früh- und Neugeborenen assoziiert [St. Geme 1984, Benitz 1999]. Lediglich 4% der Früh- und Neugeborenen, bei denen präpartal eine klinische Chorioamnionitis diagnostiziert werden konnte, zeigten postpartal Symptome einer early-onset Sepsis. Dieses Ergebnis blieb hinter den von Yoon et al. angegebenen 12% deutlich zurück [Yoon 2000]. Daher kann nicht allein aufgrund des Vorliegens einer klinischen Chorioamnionitis auf eine postpartal entstehende early-onset Sepsis geschlossen werden. Dieses Ergebnis verdeutlicht, wie wichtig das Hinzuziehen anderer diagnostischer Parameter, wie vor allem die klinische Symptomatik, weiterhin bleibt.

## **5.5 Zusammenhang zwischen Risikofaktoren der early-onset Sepsis und dem Auftreten einer histologischen Chorioamnionitis**

Das durchschnittliche Gestationsalter lag sowohl in der Gruppe mit als auch in der ohne histologische Chorioamnionitis bei 40SSW. Von 50 Frühgeborenen wiesen nur 2 Zeichen einer histologischen Chorioamnionitis auf. Dieses Ergebnis stimmte mit Untersuchungen von Naccasha et al. überein, bei denen das Gestationsalter keinen Einfluß auf die Histologie nahmen [Naccasha 2001], widerspricht aber anderen Studien, die die Häufigkeit einer histologischen Chorioamnionitis indirekt proportional zum Gestationsalter finden [Yoon 2000]. Das Geburtsgewicht war bei Vorliegen histologischer Entzündungszeichen sogar statistisch signifikant höher.

Eine Übereinstimmung fand sich zwischen dem Auftreten eines vorzeitigen Blasensprungs und der Manifestation einer histologischen Chorioamnionitis

[Gomez1998]. Übereinstimmend war bei Vorliegen einer histologischen Chorioamnionitis ein vorzeitiger Blasensprung von  $\geq 18$  Stunden vor der Geburt dreimal und damit statistisch signifikant häufiger als in der Gruppe mit indifferenter und negativer Plazentahistologie.

Eine peripartale bakterielle Vaginose der Mutter hatte keinen Einfluß auf das Vorliegen einer histologischen Chorioamnionitis. In der histologisch positiven und in der histologisch negativen Gruppe lag eine bakterielle Vaginose der Mutter fast gleich häufig vor. Vielleicht spielt zusätzlich zu dem Vorliegen pathogener Keime im Geburtskanal die Quantität, die Virulenz und Einwirkungszeit der Erreger sowie die individuelle Abwehrlage der Mutter eine Rolle in dem Vorkommen und der Ausprägung der histologischen Chorioamnionitis.

Der Risikofaktor klinische Chorioamnionitis war mit einer histologischen Chorioamnionitis nicht assoziiert. Eine histologische Chorioamnionitis trat bei 3%, eine klinische Chorioamnionitis in 10% der klinisch erkrankten Früh- und Neugeborenen auf. Darin stimmen die Ergebnisse mit denen von Gibbs et al. überein, die ebenfalls die klinische Chorioamnionitis hinsichtlich der early-onset Sepsis bedeutsamer fanden als das Vorliegen einer histologischen Chorioamnionitis [Gibbs 1991].

## **5.6 Histologische Chorioamnionitis als ätiologischer Faktor für die early-onset Sepsis**

Eine early-onset Sepsis trat etwas häufiger auf, als eine histologische Chorioamnionitis. Dabei war das Auftreten einer early-onset Sepsis unabhängig von dem Vorliegen einer histologischen Chorioamnionitis. Dies widerspricht den Untersuchungsergebnissen anderer Autoren, die eine histologische Entzündungsreaktion als ätiologischen Faktor für das Entstehen einer early-onset Sepsis ansehen und bei denen eine histologische Chorioamnionitis mehr als 7 mal [Yoon 2000] bzw. mehr als 3 mal [Büscher 2000] häufiger zu diagnostizieren war als eine early-onset Sepsis. Eine histologische Chorioamnionitis tritt laut Literatur zwar häufiger auf als eine early-onset Sepsis, aber auch nicht jedes Früh- und Neugeborene, das an einer early-onset Sepsis erkrankt, tut dies ausschließlich auf dem Boden einer histologischen Chorioamnionitis [Yoon 2000, Büscher 2000].

## **5.7 Abhängigkeit des IL-6 von Gestationsalter und Geburtsgewicht**

Die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut war, wie bereits beschrieben, unabhängig vom Gestationsalter [Miller 1990, Messer 1996]. Auch in der Teilpopulation der Frühgeborenen war die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut im Gegensatz zu Döllner et al. kein geeigneter Parameter, ein infektiöses Geschehen anzuzeigen [Döllner 2001].

Das Geburtsgewicht war in der IL-6 positiven Gruppe statistisch signifikant höher als in den anderen beiden Gruppen. Das Ergebnis widersprach Miller et al. und Messer et al., bei denen die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut auch unabhängig vom Geburtsgewicht war [Miller 1990, Messer 1996].

## **5.8 IL-6 als diagnostischer Parameter für die early-onset Sepsis**

Entgegen der Literatur wurden in der Gruppe der an einer early-onset Sepsis erkrankten Neugeborenen keine erhöhten IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut gefunden [Smulian1999, Krueger 2001]. Mit 0,43pg/ml lag der ROC ermittelte cut-off point des IL-6 deutlich niedriger als bei anderen Autoren [Buck 1994, Messer 1996, Berner 1998]. Auch lag diese Konzentration rein rechnerisch viel zu niedrig, als daß sie für die Klinik an Bedeutung gewinnen könnte. Auch im Hinblick auf Sensitivität, Spezifität, positivem und negativem Vorhersagewert blieben die Ergebnisse deutlich hinter den Studien anderer Autoren zurück [de Bont 1994, Buck 1994, Messer 1996, Berner 1998, Kashlan 2000, Krueger 2001]. Entsprechend niedrig war in der ROC Analyse auch die area under the curve: der Wert lag mit 0,58 nahe an der Zufallsverteilung. Die deutlich besseren Ergebnisse in anderen Studien dürften darin ihre Ursache haben, dass dort nicht systematisch und prospektiv ein ganzer Geburtenjahrgang untersucht wurde, sondern nur bestimmte Risikogruppen. Damit wird erneut deutlich, dass derartige, an Risikogruppen gewonnenen Ergebnisse nicht auf normale Alltagssituationen übertragbar sind.

In der gesamten Studienpopulation lag bei 22% eine IL-6 Konzentration von  $\geq 10$ pg/ml im Nabelschnurblut vor. Bei einem Drittel dieser Früh- und Neugeborenen stand zusätzlich retrospektiv ein CRP Wert in den ersten 5 Lebenstagen zur Verfügung. Bei 28% lag dieser CRP Wert  $\geq 5$ mg/l und bei 21% sogar  $\geq 10$ . Dabei lag

das Maximum des CRP Werts zwischen Tag 2 und 4. Das bedeutet, daß das IL-6 vor dem CRP ansteigt. Dies war zu erwarten, da IL-6 in der Leber die Synthese von akute-Phase-Proteinen wie dem CRP induziert.

Daher könnte die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut bei Fehlen klinischer Zeichen einer early-onset Sepsis beim Neugeborenen zumindest einen ersten Anhaltspunkt für das Entstehen eines infektiösen Geschehen geben und könnte als zusätzlicher Parameter für die Diagnostik zum CRP als etablierten laborchemischer Parameter hinzugezogen werden. Ein erhöhter IL-6 Wert könnte dann Anlass zu intensiverer Überwachung sein. Ob Interleukinspiegel ab einer bestimmten Höhe angesichts experimenteller Hinweise auf ihre neurotoxische Wirkung eine Indikation zur antibiotischen Behandlung darstellen kann, bleibt zu diskutieren.

## **5.9 IL-6 als diagnostischer Parameter für die histologische Chorioamnionitis**

Der Median der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut war in der histologisch positiven Gruppe fast 10 mal höher als in der Gruppe ohne histologische Entzündungszeichen. Diese Ergebnisse entsprachen den Ergebnissen anderer Autoren [Miyano 1996, Yoon 2000, Kashlan 2000]. Der ROC ermittelte cut-off point für IL-6 im Nabelschnurblut hinsichtlich der histologischen Chorioamnionitis von 12,6 pg/ml bewegte sich im gleichen Rahmen wie die cut-off points bei Büscher et al. (15pg/ml) und Yoon et al. (11pg/ml) [Büscher 2000, Yoon 2000]. Die Sensitivität und Spezifität der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut war im Hinblick auf das Vorliegen einer histologischen Chorioamnionitis [Büscher 2000, Naccasha 2001] und einer Funisitis [Yoon 2000] mit 82% bzw. 81% im Vergleich mit anderen Studien sogar noch um 10% bis 20 % höher [Büscher 2000, Yoon 2000, Naccasha 2001]. Das liegt möglicherweise daran, dass in dieser Studie durch eine ROC analyse der für diese Propulation optimale Wert gefunden wurde. Andere Autoren legten einen willkürlich gewählten cut-off point zugrunde.

Erwähnenswert erscheint der ROC ermittelte NPV von 99% der IL-6 Konzentration hinsichtlich der histologischen Chorioamnionitis. Er impliziert, dass man trotz einer relativ geringeren Sensitivität des IL-6 hinsichtlich der early-onset Sepsis fast

genauso gut die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut bestimmen könnte als eine kosten- und personalintensivere Plazentahistologie anfertigen zu lassen.

## **5.10 Konsequenzen für Diagnostik und Therapie**

Als frühzeitiger Predictor für das Entstehen einer early-onset Sepsis bei Früh- und Neugeborenen ist das IL-6 im Nabelschnurblut nicht ausreichend. Es stimmt zwar mit dem Vorliegen einer histologischen Chorioamnionitis überein, aber auch die Histologie ergibt keinen sicheren Hinweis auf das Entstehen einer symptomatischen early-onset Sepsis beim Neugeborenen. Das CRP als etablierter laborchemischer Parameter stimmt zwar mit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut und dem Auftreten einer histologischen Chorioamnionitis überein, gibt aber ebenfalls keine Auskunft über das Entstehen einer early-onset Sepsis beim Früh- und Neugeborenen. Die Bestimmung der IL-6 Konzentration und die Anfertigung einer Histologie von Plazenta, Nabelschnur und Eihäuten sind zu teuer, zu aufwendig und nicht aussagekräftig genug, als daß man deren Anwendung in der klinischen Routine empfehlen könnte. Daher müssen auch weiterhin die klinischen Symptome des Früh- und Neugeborenen zur Diagnose der early-onset Sepsis herangezogen werden. Weitere Untersuchungen auf dem Gebiet der Früherkennung einer neonatalen Sepsis bleiben unerlässlich.

## 6 Zusammenfassung

Bis heute gehört die Diagnose und Behandlung der early-onset Sepsis des Früh- und Neugeborenen zu einem Problem, das die behandelnden Ärzte vor eine große Herausforderung stellt. Trotz zunehmender Erkenntnisse und Behandlungsmöglichkeiten hat die early-onset Sepsis bis heute eine hohe Morbidität und Mortalität zur Folge. Daher ist das Bestreben, neben etablierten laborchemischen Parametern wie dem CRP und unspezifischen klinischen Symptomen des Früh- und Neugeborenen eine Möglichkeit zu entwickeln, eine early-onset Sepsis früher erkennen und behandeln zu können.

Da sich IL-6 in mehreren Studien als frühzeitiger Entzündungsindikator ausgewiesen hatte, sollte in dieser Studie untersucht werden, ob eine hohe IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut das post-partale Auftreten einer early-onset Sepsis beim Früh- und Neugeborenen bereits zum Zeitpunkt der Geburt vorhersagen kann. Die histologisch nachgewiesene Chorioamnionitis diene als Goldstandard.

Im Zeitraum von Dezember 1998 bis August 1999 wurde fortlaufend von allen Früh- und Neugeborenen und deren Müttern Studienmaterial gesammelt. Von jedem Früh- und Neugeborenen wurde Blutserum aus der Nabelschnur tiefgefroren und später die IL-6 Konzentration bestimmt. Auf einem prospektiven, standartisierten Erfassungsbogen wurden prä- und peripartale Risikofaktoren der early-onset Sepsis, wie beispielsweise ein vorzeitiger Blasensprung, das Vorliegen einer klinischen Chorioamnionitis bzw. einer bakteriellen Vaginose der Mutter erfaßt. Außerdem wurden bei den Früh- und Neugeborenen aus den ersten 5 Lebenstagen die klinischen Symptome einer early-onset Sepsis und entzündungsspezifische laborchemische Parameter wie das CRP erfaßt.

Ebenfalls wurde während dieser 9 Monate von jedem Früh- und Neugeborenen ein histologisches Präparat von Plazenta, Nabelschnur und Eihäuten auf Leukozyteninfiltration als Hinweis auf das Vorliegen einer histologischen Chorioamnionitis untersucht.

Von 1195 geborenen Kindern wurden 580 wegen fehlenden Studienmaterials oder unvollständigem Datensatz sekundär aus der Studie ausgeschlossen. Damit lag dieser Studie eine Studienpopulation von 615 Früh- und Neugeborenen zugrunde.

Die in Formalin fixierten, aufgearbeiteten und angefärbten histologischen Präparate wurden in jeweils 6 Gesichtsfeldern bei 40facher Vergrößerung auf entzündliche Veränderungen hin untersucht. Die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut wurde mit dem quantitativen Sandwich-Enzyme-Immunoassay Quantikine®HS, Quantikine® und mit dem Testautomaten Immulite® der Firma Biermann bestimmt.

Die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut konnte eine early-onset Sepsis des Früh- oder Neugeborenen nicht vorhersagen. Zwar korrelierten die IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut mit dem Auftreten einer histologischen Chorioamnionitis und den CRP-Werten des Kindes in den ersten 5 Lebenstagen, doch auch diese Parameter konnten eine early-onset Sepsis nicht vor dem Auftreten klinischer Symptome vorhersagen. Sensitivität, Spezifität sowie der ROC ermittelte cut-off point der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut hinsichtlich der Frühdiagnose der early-onset Sepsis erlauben nicht, diesem Laborparameter einen Stellenwert in der klinischen Routine einzuräumen.

Signifikant häufiger erkrankten Frühgeborene mit weniger als 37 abgeschlossenen Schwangerschaftswochen an einer early-onset Sepsis. Eine early-onset Sepsis trat bei den Früh- und Neugeborenen unabhängig von typischen Risikofaktoren wie einem vorzeitigen Blasensprung  $\geq 18$  Stunden vor der Geburt oder einer klinischen Chorioamnionitis auf. Eine bakterielle Vaginose der Mutter lag bei erkrankten Kindern dagegen signifikant häufiger vor als in der Gruppe der gesunden Kinder.

Diese Ergebnisse zeigen, daß die Diagnose der early-onset Sepsis und der Beginn einer adäquaten antibiotischen Behandlung des Früh- und Neugeborenen weiterhin auf der Beurteilung der klinischen Symptome sowie auf anamnestischen Risikofaktoren beruhen muß. Die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut erlaubt nicht, eine early-onset Sepsis vor Beginn der klinischen Zeichen vorherzusagen.

## 7 Literatur

Bailie KEM., Irvine AE., Bridges JM., Mc Clure C. (1994) Granulocyte and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in cord and maternal serum at delivery. *Pediatr. Res.* 35:164-168.

Beck T., Bahlmann F., Weikel W. (1993) Die Histologie der Chorioamnionitis: Beziehungen zu mütterlichen und kindlichen Infektionsparametern. *Z. Geburtsh. Perinat.* 197:129-134.

Benitz WE., Gould JB., Druzin ML. (1999) Risk factors for early-onset group B-streptococcal sepsis: estimation of odds ratios by critical literature review. *Pediatrics* 103(6):e77.

Berner R., Niemeyer CM., Leititis JU., Funke A., Schwab C., Rau U., Richter K., Tawfeek MSK., Clad A., Brandis M. (1998) Plasma levels and gene expression of granulocyte colony-stimulating factor, tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 and soluble intercellular adhesion molecule-1 in neonatal early onset sepsis. *Pediatric Research* 44:469-477.

Buck C., Bundschu J., Gallati H., Bartman P., Pohland F. (1994) Interleukin-6: A sensitive parameter for the early diagnosis of neonatal bacterial infection. *Pediatrics* 93:54-58.

Büscher U., Chen FCK., Pitzen A., Menon R., Vogel M., Obladen M., Dudenhausen JW. (2000) IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 and G-CSF in the diagnosis of early-onset neonatal infections. *J. Perinat. Med.* 28:383-388.

Carache S., Nelson L., Saw D., Keyser E., Wingfield S. (1992) Accuracy and utility of differential white blood cell count in the neonatal intensive care unit. *AM. J. Clin. Pathol.* 97:338-344

Chiesa C., Signore F., Assumma M., Buffone E., Tramontozzi P., Osborn JF., Pacifico L. (2001) Serial measurement of C-reactive protein and interleukin-6 in the immediate postnatal period: reference intervals and analysis of maternal and perinatal confounders. *Clinical Chemistry* 47, No. 6:1016-1022.

De Bont ESJM., Martens A., Raan J. van, Samson G., Fetter WPF., Okken A., Leij LHF. De, Kimpen JLL. (1994) Diagnostic value of plasma levels of tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) and interleukin-6 (IL-6) in newborns with sepsis. *Acta Paediatrica* 83: 696-9

Doellner H., Vatten L., Linnebo I., Zanussi GF., Laerdal A., Austgulen R. (2001) Inflammatory mediators in umbilical plasma from neonates who develop early-onset sepsis. *Biol. Neonate* 80(1):41-7.

Edgar DM., Wilson DC., Mc Millan SA., Crockard AD., Halliday MI., Gardiner KR., Rowlands BJ., Halliday HL., Mc Neill TA. (1994) Predictive value of soluble immunological mediators in neonatal infection. *Clinical Science* 87:165-171.

Fink PC. (1996) Septischer Schock und Endotoxinämie In: *Klinische Immunologie* Hrsg.: Peter HH., Pichler WJ. 2. Auflage S. 834-842 Urban & Schwarzenberg Verlag, München Wien Baltimore

Gerdes JS. (1991) Clinicopathologic approach to the diagnosis of neonatal sepsis. *Clinics in Perinatology* 18:361-379.

Gibbs RS., Duff P. (1991) Progress in pathogenesis and management of clinical intraamniotic infection. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 164:1317-26

Gladstone IM., Ehrenkranz RA., Edberg SC., Baltimore RS. (1990) A ten-year review of neonatal sepsis and comparison with the previous fifty-year experience. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 9:819-25.

Gomez R., Ghezzi F., Romero R., Munoz H. (1995) Premature labor and intra-amniotic infection. *Clin. Perinatol.* 22:281-342.

Gomez R., Romero R., Ghezzi F., Yoon BH., Mazor M., Berry SM. (1998) The fetal inflammatory response syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 179:194-202.

Guzick DS., Winn K. (1985) The association of chorioamnionitis with preterm delivery. *Obstet. Gynecol.* 65:11-16.

Harris MC., Costarino AT., Sullivan JS., Dulkerian S., McCawley L., Corcoran L., Butler S., Kilpatrick L. (1994) Cytokine elevations in critically ill infants with sepsis and necrotizing enterocolitis. *J. Pediatr.* 124:105-11.

Hillier SL., Martius J., Krohn M. (1988) A case-control study of chorioamnionic infection and histologic chorioamnionitis in prematurity. *New Engl. J. Med.* 319:972-978.

Hillier SL., Krohn MA., Kiviat NB., Watts DH., Eschenbach DA. (1991) Microbiologic causes and neonatal outcome associated with choriomnion infection. *AM. J. Obstet. Gynecol.* 165:955-61.

Horii Y., Muraguchi A., Suematsu S., Matsuda T., Yoshizaki K., Hirano T., Kishimoto T. Regulation of BSF-2/IL-6 production by human mononuclear cells. Macrophage-dependent synthesis of BSF-2/IL-6 by T cells. *J. Immunol.* 141(5):1529-1535.

Källmann J., Ekholm L., Eriksson M., Malmström B., Schollin J. (1999) Contribution of interleukin-6 in distinguishing between mild respiratory disease and neonatal sepsis in the newborn infant. *Acta Paediatr.* 88:880-4.

Kashlan F., Smulian J., Shen-Schwarz S., Anwar M., Hiatt M., Hegyi T. (2000) Umbilical vein interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha plasma concentrations in the very preterm infant. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 19:238-43.

Kawakami M., Tsutsumi H., Kawakami T., Abe H., Hirai M., Kurosawa S., Mori M., Fukushima M. (1990) Levels of serum granulocyte colony-stimulating factor in patients with infections. *Blood* 76:1962-1964.

Kennon C., Overturf G., Bessman S., Sierra E., Smith KJ., Brann B. (1996) Granulocyte colony-stimulating factor as a marker for bacterial infection in neonates. *J. Pediatr.* 128:765-9.

Kirschbaum M., Hermsteiner M. (1995) Vorzeitiger Blasensprung bei Frühgeburt. *Gynäkologe* 28:139-143.

Kishimoto T. (1989) The biology of interleukin-6. *Blood* 74:1-10.

Klein JO., Marcy SM. (1995) Bacterial sepsis and meningitis. In: Remington JS., Klein JO, eds. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*. Philadelphia: WB Saunders Company 835-78

Kolb-Bachofen V. (1991) A review on the biological properties of C-reactive protein. *Immunobiol.* 183:133-145.

Krediet T., Gerards L., Fler A., van Stekelenburg G. (1992) The predictive value of CRP and I/T-ratio in neonatal infection. *J. Pediatr.* 20:479-485.

Krueger M., Nauck MS., Sang S., Hentschel R., Wieland H., Berner R. (2001) Cord blood levels of interleukin-6 and interleukin-8 for the immediate diagnosis of early-onset infection in premature infants. *Biol. Neonate* 80(2):118-23.

Küster H., Weiss M., Willeitner AE., 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. *Lancet* 352:1271-1277.

Lehrnbecher T., Schrod L., Rutsch P., Roos T., Martius J., von Stockhausen HB. (1996) Immunologic parameters in cord blood indicating early-onset sepsis. *Biol. Neonate* 70:206-212.

Mathers NJ., Pohland F. (1987) Diagnostic audit of C-reactive protein in neonatal infection. *Eur. J. Pediatr.* 146:147-151.

Matsuzaki N., Taniguchi T., Shimoya K., Neki R., Okada T., Saji F., Nakayama M., Suehara N., Tanizawa O. (1993) Placental interleukin-6 production is enhanced in intrauterine infection but not in labor. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 168:94-7.

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. *J. Pediatr.* 129:574-80.

Miller LC., Isa S., Lo Preste G., Schaller JG., Dinarello CA. (1990) Neonatal interleukin-1 $\beta$ , interleukin-6 and tumor necrosis factor: Cord blood levels and cellular production. *J. Pediatr.* 117:961-5.

Miyano A., Miyamichi T., Nakayama M., Kitajima H., Shimizu A. (1996) Effect of chorioamnionitis on the levels of serum proteins in the cord blood of premature infants. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 120:245-248.

Naccasha N., Hinson R., Montag A., Ismail M., Bentz L., Mittendorf R. (2001) Association between funisitis and elevated interleukin-6 in cord blood. *Obstet. Gynecol.* 97:220-4.

Negishi H., et al. (1996) Correlation between cytokin levels of amniotic fluid and histological chorioamnionitis in preterm delivery. *J. Perinat. Med.* 24:633-9.

Ohlsson A., Wang E. (1990) An analysis of antenatal tests to detect infection in preterm premature rupture of the membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 162:809-818.

Parrillo JE. (1993) Pathogenetic mechanisms of septic shock. *The New English Journal of Medicine* Vol. 328 20:1471-1477.

Philip AGS. (1981) Decreased use of antibiotics using a neonatal sepsis screening technique. *J. Pediatr.* 98:795-799.

Philip AGS., Mills PC. (2000) Use of C-reactive protein in minimizing antibiotic exposure: experience with infants initially admitted to a well-baby nursery. *Pediatrics* 106:4-6

Pourcyrous M., Bada HS., Korones SB., Baselski V., Wong SP. (1993) Significance of serial C-reactive protein response in neonatal infection and other disorders. *Pediatrics* 92:431-435.

Sanghvi KP., Tudehope DI. (1996) neonatal bacterial sepsis in a neonatal intensive care unit: a 5 year analysis. *J. Paediatr. Child Health* 32(4):333-8.

Schindler R., Mancilla J., Endres S., Ghorbani R., Clark SC., Dinarello CA. (1990) Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF. *Blood* 75(1):40-47.

Schöll W., Auner H., Pürstner P. (1993) Das fetale Amnioninfektionssyndrom bei vorzeitigem Blasensprung im Vergleich zu perinatalen Infektionen ohne vorzeitigem Blasensprung. *Gynäkol. Geburtshilfliche Rundsch.* 33 (Suppl. 1):347-348.

Shimoya K., Matsuzaki N., Taniguchi M., Jo T., Saji F., Kitajima H., Fujimura M., Nakayama M., Tanizawa O. (1992) Interleukin-8 in cord sera: A sensitive and specific marker for the detection of preterm chorioamnionitis. *J.I.D.* 165:957-60.

Singh B., Merchant P., Walker CR., Kryworuchko M., Diaz-Mitoma F. (1996) Interleukin-6 expression in cord blood of patients with clinical chorioamnionitis. *Pediatr. Res.* 39:976-979.

Smulian JC., Vintzileos AM., Lai YL.(1999) Maternal chorioamnionitis and umbilical vein interleukin-6 levels for identifying early neonatal sepsis. *J. Matern. Fetal Med.* 8(3):88-94.

Squire E., Favara B., Todd J. (1979) Diagnosis of neonatal bacterial infection: hematologic and pathologic findings in fatal and nonfatal cases. *Pediatrics* 64:60-64.

St. Geme Jr. JW., Murray DL., Carter J., Hobel CJ., Leake RD., Anthony BF., Thibeault DC., Ross IB., Drage JS. (1984) perinatal bacterial infection after prolonged rupture of amniotic membranes: an analysis of risk management. J. Pediatr. 104:608-613.

Töllner U. (1982) Early diagnosis of septicemia in the newborn. Eur. J. Pediatr. 138:331-337.

Tsaka T., Herkner T. (1990) Polymorphnuclear elastase in neonatal sepsis. Clin. Chim. Acta 193:103

Weeks JW., Reynolds L., Taylor D., Lewis J., Wan T., Gall SA. (1997) Umbilical cord blood interleukin-6 levels and neonatal morbidity. Obstet. Gynecol. 90:815-8.

Winkler M., Biesterfeld S., Marquet KL., Heindricks U., Rath W. (1997) Zur Häufigkeit entzündlicher Plazentaveränderungen bei drohender Frühgeburt mit und ohne antibiotische Zusatztherapie. Zentralblatt Gynäkologie 119:54-59

Yoon BH., Romero R., Park JS., Kim M., Oh SY., Kim CJ., Jun JK. (2000) The relationship among inflammatory lesions of the umbilical cord (funisitis), umbilical cord plasma interleukin 6 concentration, amniotic fluid infection, and neonatal sepsis. AM. J. Obstet. Gynecol. 183:124-9.

Zabel P., Rietschel ET. (2000) Sepsis In:Klinische Infektiologie. Hrsg.: Marre R., Trautmann M., Mertens T., Vanek E. 1. Auflage S. 859-870 Urban & Fischer Verlag, München Jena

## 8 Anhang

### Erhebungsbogen für klinische Zeichen einer Sepsis

Aufkleber:

Mehrlingsnummer:

Blut der Mutter entnommen Datum \_\_\_\_\_

Blut des Kindes entnommen Datum \_\_\_\_\_

Histologie von Mutter und Kind entnommen Datum \_\_\_\_\_

Fruchtwasserprobe der Mutter entnommen Datum \_\_\_\_\_

**Nach dem Ausfüllen Bogen bitte in das Kinderjournal legen**

**Bitte auf Station vom zuständigen Arzt ausfüllen:**

### Erhebungsbogen für klinische Zeichen einer Sepsis beim Kind

Lebenstag	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5
Gesund					
Berührungsempfindlich					
Graumarmoriert					
Muskeltonus verringert					
Bradykardie(<80/min.)					
Tachykardie(>180/min.)					
Lethargisch					
Apnoe(>20 Sek.)					
Schwitzen					
Tachydyspnoe					
Sättigungsabfall(<80%)					
Stimulationsbedarf					
Rekapillarierungszeit(>2 Sek)					
Kalte Extremitäten					
Trinkschwäche					

Nach den 5 Tagen den Bogen auf der allgemeinen Kinderstation bitte in das Arztfach legen, auf der Intensivstation bitte in das Postfach von Herrn Dr. Küster

## 9 Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen

Tabelle 1: Bewertungssystem für entzündliche Veränderungen von Plazenta, Eihäuten und Nabelschnur .....	35
Tabelle 2: Patientenkollektiv und Rekrutierung der Studienpopulation .....	40
Tabelle 3: Allgemeine Perinataldaten der Studienpopulation .....	41
Tabelle 4: Risikofaktoren der early-onset Sepsis in der Studienpopulation .....	43
Tabelle 5: Infektionsparameter in der Studienpopulation.....	44
Tabelle 6: Abhängigkeit des IL-6 von Gestationsalter und Geburtsgewicht in den drei Gruppen mit positiven, indifferenten und negativen IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut.....	47
Tabelle 7: Abhängigkeit des IL-6 von Risikofaktoren der early-onset Sepsis in den drei Gruppen mit positiven, indifferenten und negativen IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut.....	49
Tabelle 8: Abhängigkeit des IL-6 von infektiösen Faktoren in den drei Gruppen mit positiven, indifferenten und negativen IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut. ....	52
Tabelle 9: Zuordnung der Symptome des Erhebungsbogen für die klinischen Zeichen einer early-onset Sepsis .....	56
Tabelle 10: Abhängigkeit der early-onset Sepsis von Gestationsalter und Geburtsgewicht in der klinisch erkrankten, der klinisch indifferenten und der klinisch gesunden Gruppe .....	57
Tabelle 11: Abhängigkeit der early-onset Sepsis von Risikofaktoren in der klinisch erkrankten, der klinisch indifferenten und der klinisch gesunden Gruppe. ....	
Tabelle 12: Abhängigkeit der early-onset Sepsis von infektiösen Faktoren in der klinisch erkrankten, der klinisch indifferenten und der klinisch gesunden Gruppe. ....	60
Tabelle 13: Wert der Histologie im Hinblick auf das Vorliegen der early-onset Sepsis.....	62
Tabelle 14: Wert der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut im Hinblick auf das Vorliegen einer early-onset Sepsis für unterschiedliche cut-off points .....	64

Tabelle 15: Abhängigkeit der Histologie von Gestationsalter und Geburtsgewicht in den Gruppen mit positiver, indifferenter und negativer Histologie. ....	67
Tabelle 16: Abhängigkeit der Histologie von Risikofaktoren der early-onset Sepsis in den Gruppen mit positiver, indifferenter und negativer Histologie.....	69
Tabelle 17: Abhängigkeit der Histologie von infektiösen Faktoren in den Gruppen mit positiver, indifferenter und negativer Histologie. ....	71
Tabelle 18: Wert des IL-6 im Nabelschnurblut im Hinblick auf das Vorliegen einer histologischen Chorioamnionitis für unterschiedliche cut-off points.....	73
Abb. 1: Abhängigkeit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut vom Gestationsalter.. .....	47
Abb. 2 : Abhängigkeit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut vom Geburtsgewicht.....	48
Abb. 3: Abhängigkeit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut von der Dauer des Blasensprungs.....	50
Abb. 4: Abhängigkeit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut von dem Vorliegen einer klinischen Chorioamnionitis .....	51
Abb. 5: Abhängigkeit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut von der Histologie.....	53
Abb. 6: Abhängigkeit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut von der early- onset Sepsis.....	54
Abb. 7: Abhängigkeit der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut von den kindlichen CRP Werten des 1. Lebenstages .....	55
Abb. 8: Abhängigkeit der early-onset Sepsis vom Gestationsalter .....	58
Abb. 9: Abhängigkeit der early-onset Sepsis vom Geburtsgewicht.. .....	58
Abb. 10: Abhängigkeit der early-onset Sepsis von der Blasensprungdauer. ....	60
Abb. 11: Abhängigkeit der early-onset Sepsis von der Histologie. ....	62
Abb. 12: Receiver operating characteristics (ROC) für die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut hinsichtlich der early-onset Sepsis.....	66
Abb. 13: Abhängigkeit der Histologie vom Gestationsalter .....	68
Abb. 14: Abhängigkeit der Histologie vom Geburtsgewicht .....	68
Abb. 15: Abhängigkeit der Histologie von der Blasensprungdauer.....	70

Abb. 16: Receiver operating characteristics (ROC) für die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut hinsichtlich der histologischen Chorioamnionitis..... 74

## **10 Danksagung**

Mein ganzer Dank gilt Prof. Dr. med. D. Reinhardt, der mir dieses Thema zur Verfügung gestellt hat.

Danken möchte ich im besonderen auch Prof. Dr. med. G. Lipowsky und Dr. med. H. Küster für die Betreuung der wissenschaftlichen Untersuchungen, die Bereitstellung und Einweisung in die Geräte, für die Planung und Betreuung bei der Durchführung und die stets vorhandene Diskussionsbereitschaft. Ohne Ihre jahrelange Erfahrung und unermüdliche Unterstützung wäre diese Arbeit wohl niemals geschrieben worden.

Weiterhin danke ich Dr. Hantschmann für die Beurteilung des histologischen Materials.

Danken möchte ich auch den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der pathologischen Abteilung, des Labors, des Kreißsaals, der neonatologischen Intensivstation und dem Kinderzimmer der 1. Universitäts-Frauenklinik für die freundliche Unterstützung, Bereitstellung der Geräte, Sammeln und Aufarbeiten des histologischen Materials und der Blutproben.

Nicht zuletzt gilt mein Dank meinen Eltern, meiner Schwester und meinen Freunden, die mich immer wieder motiviert haben, diese Arbeit zu einem guten Ende zu führen.

## 11 Lebenslauf

**Name** KRAAK, Charlotte

**Geburtsdatum** 09.07.1974

**Geburtsort** Bonn

---

### Schulische Laufbahn

1980-1984 Grundschole, Bonn-Ippendorf  
1984-1990 Liebfrauenschule, Bonn  
9/1990-12/1990 St. Claire`s College, Oxford, England  
1991-1993 Otto-Kühne-Schule, Bonn Bad-Godesberg  
6/1993 Abitur

### Akademische Laufbahn

5/1994-7/1997 Studium der Medizin an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg  
3/1996 Physikum  
3/1997 1. Staatsexamen  
9/1997-7/1998 Studium der Medizin an der Université de Montpellier, Frankreich  
11/1998-5/2001 Studium der Medizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München  
3/2000 2. Staatsexamen  
5/2001 3. Staatsexamen

### Ärztliche Tätigkeit

12/2001-5/2003 AIP in der Gynäkologie und Geburtshilfe im ev. Krankenhaus Bergisch Gladbach  
seit 7/2003 Assistenzärztin in der Gynäkologie und Geburtshilfe im St. Josefs Krankenhaus Hilden

Düsseldorf, den 20.07.05

Charlotte Kraak