

Aus der Neonatologie des
Dr. von Haunerschen Kinderspitals
am Perinatalzentrum Großhadern
Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. med. Dr. sci. nat. Christoph Klein

**Einführung von Spendermilch zur Ernährung extrem unreifer Frühgeborener
– eine retrospektive Beobachtungsstudie an einem Perinatalzentrum
nach Etablierung der Frauenmilchbank**

Dissertation
Zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Victoria Antonia Hedi Sofie Lieftüchter
aus München

2022

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität zu München

Berichtersteller:

PD Dr. Susanne Jonat

Mitberichtersteller:

Prof. Dr. Olaf Adam

Dekan:

Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung:

03.02.2022

Meiner Familie
und
Prof. Dr. med. Franz Müller-Spahn

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	3
Abbildungsverzeichnis	5
Tabellenverzeichnis	5
1. Einleitung	7
1.1. Die nekrotisierende Enterokolitis (NEC)	7
1.2. Positive Aspekte der Muttermilch	10
1.2.1. Vorteile der Ernährung mit Muttermilch für Früh- und Neugeborene	10
1.2.2. Stillen und Empfehlungen zur Ernährung mit Muttermilch	11
1.3. Zusammensetzung und Wirkstoffe in Frauenmilch	12
1.3.1. Besonderheiten von Preterm und Term Milch	17
1.4. Pasteurisierung	19
1.5. Formula Nahrung	23
1.5.1. Besonderheiten von Formula	23
1.5.2. Muttermilchverstärker (Fortifier)	23
1.6. Spendermilch und Frauenmilchbanken	25
1.6.1. Historie der Frauenmilchspende	25
1.6.2. Frauenmilchbanken in Deutschland und international	26
1.6.3. Aufbau und Betrieb der Frauenmilchbank am PNZ Grosshadern	26
2. Zielsetzung	29
3. Patienten und Methoden	30
3.1. Studiendesign	30
3.2. Patienten	30
3.2.1. Einschlusskriterien	30
3.2.2. Ausschlusskriterien	31
3.3. Klinische Parameter	31
3.4. Datenmaterial und –erhebung	31
3.5. Statistik	32
4. Ergebnisse	33
4.1. Demographische Daten	33
4.1.1. Häufigkeit der nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) und Sepsis in der Studienkohorte	35
4.1.2. Häufigkeit weiterer Morbiditäten der Frühgeburtlichkeit in der Kohorte	36

4.1.3. Enteraler Nahrungsaufbau.....	36
4.1.4. Ernährung bei Entlassung	36
4.2. Propensity Score.....	37
4.2.1. Häufigkeiten	37
4.2.2. NEC und Sepsis	38
4.2.3. Weitere Morbiditäten der Frühgeburtlichkeit nach gematchter Propensity-Score Analyse	38
4.2.4. Enteraler Nahrungsaufbau.....	39
4.2.5. Ernährung bei Entlassung	40
5. Diskussion	41
5.1. Zusammenfassung der Ergebnisse	41
5.2. Studiendesign	41
5.3. Propensity Score als statistisches Instrument bei fehlender Randomisierung..	43
5.4. Primäre Outcomekriterien	45
5.4.1. Nekrotisierende Enterokolitis (NEC)	45
5.4.2. Sepsis	47
5.5. Sekundäre Outcomekriterien.....	48
5.5.1. Enteraler Nahrungsaufbau.....	51
5.5.2. Ernährung bei Entlassung	51
6. Zusammenfassung und Ausblick	52
7. Anhang.....	53
7.1. Dokumente Frauenmilchbank	53
7.1.1. Vorgehen nach Erhalt des mikrobiologischen Befundes der Muttermilchprobe....	53
7.1.2. Aufklärungsbogen zum Erhalt von Spendermilch.....	54
7.1.3. Aufklärungsbogen zur Spende von Muttermilch.....	55
7.2. Dokumente zur Studie.....	57
7.2.1. Antrag Studienprotokoll	57
7.2.2. Ethikvotum.....	58
7.3. Begriffsdefinitionen	59
7.4. Abkürzungen	60
7.5. Danksagung.....	61
7.6. Eidesstattliche Erklärung	62
8. Literaturverzeichnis	63

Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1** Original Stadien Einteilung der NEC nach Bell
- Abb. 2** Zusammensetzung von Kolostrum
- Abb. 3** Variation des Proteingehaltes in unterschiedlichen Muttermilchproben
- Abb. 4** Kennzeichnung der Spendermilchproben nach mikrobiologischer Testung, Photo Frauenmilchbank Großhadern
- Abb. 5** Kreisdiagramm: Verteilung Formula- vs. Spendermilchgruppe.
- Abb. 6** NEC-Inzidenz vor und nach Einführung der Frauenmilchbank am PNZ Großhadern 2012
- Abb. 7** Verarbeitung der Spendermilch (roh vs. pasteurisiert).

Tabellenverzeichnis

- Tab. 1** Klassifikation der NEC
- Tab. 2** Inhaltsstoffe in Frauenmilch
- Tab. 3** Empfohlene Protein Aufnahme von Frühgeborenen
- Tab. 4** Vergleich von Kolostrum und Muttermilch bei Früh- und Reifgeborenen
- Tab. 5** Bestandteile von Spendermilch, die durch HoP nicht beeinflusst werden
- Tab. 6** Bestandteile von Spendermilch, die durch HoP signifikant beeinflusst werden
- Tab. 7** Bestandteile von Spendermilch, die durch HoP beeinflusst werden mit unstimulierten bzw. widersprüchlichen (signifikant vs. nicht signifikant) Ergebnissen
- Tab. 8** Inhaltsstoffe von Muttermilch, Formula und Kuhmilch im Vergleich
- Tab. 9** Wachstumsrate Frühgeborene vs. Neugeborene
- Tab. 10** Mittelwerte des Geburtsgewichts (GG) und Gestationsalters (in SSW) in beiden Gruppen
- Tab. 11** Geschlechtsverteilung, Mehrlingsanteil, Anteil an SGA Kindern und Auftreten von Amnioninfektiosnsyndromen in den beiden Gruppen Formula und SM, Signifikanzniveaus im Chi Quadrat Test.
- Tab. 12** Häufigkeit der nekrotisierenden Enterocolitis in beiden Gruppen
- Tab. 13** Häufigkeit Sekundärsepsis (LOS) in beiden Gruppen.
- Tab. 14** Häufigkeiten weiterer Morbiditäten der Frühgeburtlichkeit in der Kohorte
- Tab. 15** Dauer des enteralen Nahrungsaufbaus in Tagen
- Tab. 16** Ernährung bei Entlassung
- Tab. 17** Auswahl Matched Pairs und daraus resultierende Gruppengrößen
- Tab. 18** Häufigkeit der NEC (d.h. NEC und V.a. NEC als eine gemeinsame Variable)

- Tab. 19** Häufigkeit Sekundärsepsis (LOS) in beiden Gruppen nach Matchen durch Propensity Score
- Tab. 20** Weitere Morbiditäten der Frühgeburtlichkeit
- Tab. 21** Mittelwerte der Dauer des enteralen Nahrungsaufbaus nach Matchen mittels Propensity Score
- Tab. 22** Anteil der Kinder, die mit Formula oder purer Muttermilch nach Hause entlassen wurden

1. Einleitung

1.1. Die nekrotisierende Enterokolitis (NEC)

Die nekrotisierende Enterokolitis (NEC) ist eine schwere entzündliche Darmerkrankung bei Neugeborenen, die erstmals 1965 von Mizrahi et al. beschrieben wurde [1]. Die Krankheit ist durch eine Entzündung und Verletzung der Darmwandbarriere gekennzeichnet, die zur Nekrose und möglicherweise zur Perforation des Darms führen kann [2, 3]. In Deutschland liegt die Rate an operationsbedürftigen nekrotisierenden Enterokolitiden oder fokalen intestinalen Perforation (FIP) als Komplikationen extremer Frühgeburtlichkeit (d.h. bei Kindern mit einem Gestationsalter < 32 Schwangerschaftswochen (SSW) oder einem Geburtsgewicht (GG) < 1500g) im Mittel bei 5 - 6% [4]. In den USA und Kanada liegt die Rate der NEC bei etwa 7% der Kinder mit einem Geburtsgewicht zwischen 500 und 1500 g, etwa 20-30% dieser Kinder versterben [5, 6]. Trotz deutlich verbesserter therapeutischer und präventiver Maßnahmen ist in einigen Ländern die Inzidenz der NEC weiter gestiegen. Eine Ursache könnte die zunehmende intensivmedizinische Behandlung extremer unreifer Frühgeborener sein [7]. Die Definition der NEC bzw. der ihr zugeordneten Erkrankungen war in der Vergangenheit nicht einheitlich, so wurde eine NEC Stadium 1 nach Bell genauso wie eine FIP der NEC zugeordnet [8]. Bell et al. klassifizierten 1978 die NEC anhand des klinischen Schweregrades in 3 Stadien (Abbildung 1) [9]. Die klassische Einteilung der Stadien nach Bell ist modifiziert auch heute noch gültig (Tabelle 1) [10]. Die Erkrankung wird neben dem klinischen Erscheinungsbild im Wesentlichen mithilfe von Entzündungsparametern und radiologisch mittels konventionellem Röntgen diagnostiziert [10].

TABLE 1. NEC Staging System Based upon Historical, Clinical and Radiographic Data

STAGE I (Suspect)

- a. Any one or more historical factors producing perinatal stress.
- b. Systemic manifestations—temperature instability, lethargy, apnea, bradycardia.
- c. Gastrointestinal manifestations—poor feeding, increasing pre-gavage residuals, emesis (may be bilious or test positive for occult blood) mild abdominal distension, occult blood may be present in stool (no fissure).
- d. Abdominal radiographs show distension with mild ileus.

STAGE II (Definite)

- a. Any one or more historical factors.
- b. Above signs and symptoms plus persistent occult or gross gastrointestinal bleeding; marked abdominal distension.
- c. Abdominal radiographs show significant intestinal distension with ileus; small bowel separation (edema in bowel wall or peritoneal fluid), unchanging or persistent “rigid” bowel loops, pneumatosis intestinalis, portal vein gas.

STAGE III (Advanced)

- a. Any one or more historical factors.
- b. Above signs and symptoms plus deterioration of vital signs, evidence of septic shock or marked gastrointestinal hemorrhage.
- c. Abdominal radiographs may show pneumoperitoneum in addition to others listed in II c.

Abb. 1 Original Stadien Einteilung der NEC nach Bell et al. von 1978 [11]

Stadium	Systemische Zeichen	Gastrointesintale Zeichen	Radiologische Zeichen
Ia Verdachtsdiagnose NEC	Temperaturinstabilität, Apnoen, Bradykardien, Lethargie	Magenreste, Erbrechen, okkulte rektale Blutungen, geringgradige addominelle Distention	Normal oder geringe Dilatation, geringgradiger Ileus
Ib Verdachtsdiagnose NEC	Wie oben	Blutige Stühle	Wie oben
IIa definitive NEC, wenig krank	zusätzlich: milde, metabolische Azidose, mäßige Thrombozytopenie	zusätzlich: evtl. geringgradiges Erythem der Bauchwand, evtl. Resistenz im rechten Unterbauch	zusätzlich: portalvenöses Gas, evtl. Ascites
IIIa fortgeschrittene NEC, schwer krank, Darm intakt	zusätzlich: metabolische und respiratorische Azidose, Neutropenie, Sepsis mit Hypotension, Schock, Bradykardie und DIC	zusätzlich: generalisierte Peritonitis, hochgradige abdominelle Distention und Verfärbung, Resistenz im rechten Unterbauch	zusätzlich: definitiv Ascites
IIIb fortgeschrittene NEC, schwer krank, Darm perforiert	wie IIIa	wie IIIa	zusätzlich: Pneumoperitoneum

Tab. 1 Klassifikation der NEC nach Bell et al. [9], modifiziert nach Walsh et al. [12] aus der AWMF Leitlinie Nr. 024/009 [10]

Die Pathophysiologie der NEC, die auf unterschiedlichen Wegen zur intestinalen Nekrose führt, ist noch weitgehend ungeklärt und scheint multifaktoriell bedingt zu sein [8]. Ursächlich werden die Unreife des Gastrointestinaltraktes, reduzierte Peristaltik, dünne Schleimhaut, reduzierte Tight Junctions, erhöhte Apoptose der Enterozyten und eine gestörte Enterozytenregeneration [13, 14] im Zusammenspiel mit anderen Faktoren, wie Art der Nahrungszufuhr, Darmbakterienökologie in Zusammenhang mit entzündlichen Prozessen als multifaktorielle Ursache der NEC herangezogen [15-19]. Auch genetische Faktoren werden diskutiert, jedoch gibt es bisher nur wenige Studien, die Hinweise auf eine Mutation angeben, welche mit einem höheren Risiko für die Entstehung einer NEC assoziiert ist [20-24]. Zusätzlich scheint das noch unreife angeborene Immunsystem des Gastrointestinaltraktes von Frühgeborenen mit mehreren Faktoren für die Entwicklung der NEC zu prädisponieren. Durch die Aktivierung des angeborenen Immunrezeptors Toll Like Receptor 4 (TLR4) wird beispielsweise die Migration von Enterozyten gehemmt und dies führt zur Enterozyten-Apoptose. Frühgeburtlichkeit selbst ist mit einer erhöhten TLR4-Expression und Aktivierung im fötalen Darm assoziiert [25]. Darüber hinaus ist anzunehmen, dass die Interaktion des mikrobiellen Ökosystems mit dem angeborenen Immunsystem der unreifen Darmschleimhaut eine Rolle spielen. Bestimmte Bakterien, wie z.B. die Klebsiella-Gattung, sind in der Darmflora bei Kindern mit NEC überrepräsentiert [26].

Die NEC betrifft in erster Linie extreme Frühgeborene, weniger häufig moderate Frühgeborene oder reif geborene Kinder [16]. In Deutschland liegt die Inzidenz der NEC bei 0,1-0,3 aller Neugeborenen [10]. Bei reifen Neugeborenen wird die Inzidenz zwischen 1 pro 20.000 Geburten und 10% der gesamten NEC-Rate angegeben [27]. Bei Reifgeborenen können zugrunde liegende Ursachen wie kardiale Vitien (ASD, VSD, AV Kanal), Fehlbildungen (Gastroschisis, Hirschsprung-Krankheit), Polyzythämie, neonatale Hypoxämien (Atemnotsyndrom, Asphyxie), neonatale Hyperglykämien und mütterliche Erkrankungen (HIV, Hypertension) für eine NEC prädisponieren [28, 29]. Weitere Risiken für die Entstehung einer NEC können neben der Frühgeburtlichkeit, auch eine prolongierte empirische Antibiotikagabe [30] und möglicherweise die Gabe von Erythrozytenkonzentraten [31, 32] sein.

Gephart et al. entwickelten einen klinischen Risikoindex für die NEC. Aus einer zufällig ausgewählten Subgruppe von 35.013 Neugeborenen wurden für die NEC neun unabhängige Risikofaktoren errechnet: Gestationsalter, Gabe von Erythrozytenkonzentraten, NEC-Rate der Intensivstation, ‚late-onset‘-Sepsis, multiple Infektionen, mit inotropen Medikamenten behandelte Hypotonie, afrikanische oder hispanische Abstammung, außerhalb der Klinik Geborene und metabolische Azidose [33]. In der Studie von Gephart et. al wurden außerdem zwei Interventionen zur Risikoreduktion der Entwicklung einer NEC identifiziert: Muttermilch-Fütterung an Lebenstag 7 und 14, sowie die Gabe von Probiotika [33]. Auch Zwei Meta-Analysen [34, 35] deuten auf eine reduzierte Inzidenz von NEC bei Säuglingen hin, die mit Muttermilch gefüttert wurden. In einer großen Studie von Schanler et al., bei der verschiedene Ernährungsmodalitäten - früher versus (vs.) später enteraler Nahrungsaufbau - untersucht wurden, zeigt sich bereits 1999 eine verbesserte Nahrungsverträglichkeit, sowie eine geringere Inzidenz von später Infektion „Late-Onset-Sepsis“ (LOS) und nekrotisierender Enterokolitis, wenn die Kinder mit Muttermilch gefüttert wurden [36].

Die NEC stellt eine große klinische Herausforderung für die Neonatologie dar und beeinflusst als eine der schweren Komplikationen der Neonatalperiode maßgeblich Morbidität und Mortalität extremer Frühgeborener [5, 8, 15, 26, 37]. Durch Ernährung mit humaner Milch können extrem Frühgeborene präventiv ‚behandelt‘ und vor einer NEC geschützt werden [28, 38-40].

Aber auch viele andere Erkrankungen von Früh- und Neugeborenen wie z.B. die Retinopathie des Frühgeborenen (Retinopathia praematurorum, ROP) oder die bronchopulmonale Dysplasie (BPD) können durch die Ernährung mit Mutter- bzw. Spendermilch positiv beeinflusst werden [41] und so kann das Langzeit-Outcome dieser Patientengruppe möglicherweise verbessert werden.

1.2. Positive Aspekte der Muttermilch

1.2.1. Vorteile der Ernährung mit Muttermilch für Früh- und Neugeborene

Neben dem Schutz vor einer NEC legen aktuelle Studien einen positiven Effekt des Nahrungsaufbaus Früh- und Neugeborener mit Frauenmilch, im Vergleich zu aus Kuhmilch gefertigter Formula-Nahrung, in Bezug auf die Reifung des Immunsystems, die Entwicklung eines physiologischen Mikrobioms, die Reifung des Gastrointestinaltrakts und das Wachstum nahe [42-45].

Neben der Risikoreduktion schwerwiegender gastrointestinaler Komplikationen bei Frühgeborenen durch exklusive Frauenmilchernährung zeigt sich ein positiver Effekt hinsichtlich des Auftretens von schweren Infektionen [46, 47]. Patel et al. konnten sowohl die Reduktion von Sepsis bei Frühgeborenen, als auch eine Art Dosis-Wirkungs-Beziehung von Muttermilch und Sepsis zeigen. Pro 10 ml/kg/d Steigerung der Muttermilchmenge sank das Risiko für eine Sepsis um 19% [48]. Aufgrund ihrer Unreife produzieren Frühgeborene noch wenig Verdauungsenzyme. Lipase ist zu einem Teil in Muttermilch enthalten und somit profitieren Kinder beim Nahrungsaufbau mit eigener Muttermilch oder Spendermilch [49]. Weitere protektive Faktoren der Muttermilch sind u.a. Wachstumsfaktoren, wie z.B. EGF (epidermal growth factor), der die noch unreife Darmmukosa ausreifen lässt. Die zahlreichen in Muttermilch enthaltenen Immunzellen schützen besonders das unreife Kind vor Sepsis, NEC und Tod [50].

Frühgeburtslichkeit erhöht die Wahrscheinlichkeit einer anhaltenden dukalen Durchgängigkeit (persistierender Ductus arteriosus; PDA) und wird bei etwa 30% der Frühgeborenen beobachtet. Bei Frühgeborenen ist der PDA mit einer signifikanten Morbidität und Mortalität verbunden [51]. Die Inzidenz eines hämodynamisch relevanten PDA steigt mit abnehmendem Gestationsalter [52].

Außerdem wird in Folge einer Ernährung mit Muttermilch eine Verbesserung des neurologischen [53] und pulmonologischen Outcomes bei extrem Frühgeborenen angenommen [54]. Morley und Lucas ermittelten in ihrer randomisierten Untersuchung zur Ernährung mit Muttermilch versus Formulanahrung bereits Ende des letzten Jahrhunderts, dass der Intelligenzquotient von Muttermilch-ernährten Frühgeborenen signifikant höher ist [55]. Hair et al. berichten über eine Reduktion von BPD- und ROP-Rate bei extremen Frühgeborenen nach exklusiver Muttermilch Ernährung [41].

Höhere Endorphinlevel bei Frühgeborenen, die mit Muttermilch ernährt werden, könnten außerdem zur akuten Schmerzreduktion beitragen [56]. Soltani et al. konnten in einer doppelblinden, kontrollierten, randomisierten klinischen Studie zeigen, dass die wirksamste Methode zur Verringerung von Schmerzen bei Säuglingen, die sich schmerzhaften Eingriffen in der Klinik unterziehen müssen, das Stillen ist [57]. Auch die Cochrane Analyse von 2006 empfiehlt die Gabe von Muttermilch zur Prävention von Schmerzen bei Neonaten [58].

In einer Modellrechnung basierend auf der Annahme alle extrem Frühgeborenen mit Frauenmilch zu ernähren, errechneten englische Wissenschaftler der University of York eine mögliche Kostenersparnis von ca. 30 Millionen Pfund/Jahr für das britische Gesundheitssystem [59]. Eine Reduktion der Behandlungskosten ist durch eine Reduktion von Komorbiditäten in diesem Patientenkollektiv und der daraus resultierenden früheren Entlassung aus der Klinik möglich [49].

Zusammenfassend legt die ausschließliche Versorgung kleiner Frühgeborener mit Muttermilch bzw. Spendermilch neben einer Reduktion der NEC- Rate auch eine generelle Reduktion von perinataler Morbidität und Mortalität, sowie die Verbesserung des Langzeitoutcomes in dieser Patientengruppe nahe.

1.2.2. Stillen und Empfehlungen zur Ernährung mit Muttermilch

„Wenn das Stillen nicht schon existierte, würde jemand, der es heute erfunden hat, einen doppelten Nobelpreis in Medizin und Wirtschaft verdienen“– schrieb Keith Hansen im Lancet. Stillen ist die erste Impfung gegen Tod, Krankheit und Armut, aber auch die dauerhafteste Investition in körperliche, kognitive und soziale Fähigkeiten [60].

Die Ernährung in den ersten zwei Lebensjahren wirkt sich sowohl kurz- als auch langfristig auf die Gesundheit aus [45]. Stillen bietet die optimale Unterstützung für das physiologische Wachstum und die Entwicklung von reifen Neugeborenen [61]. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) empfiehlt daher alle Neugeborenen (auch Frühgeborene) die ersten sechs Lebensmonate voll zu stillen, und bis zu einem Alter von zwei Jahren teil zu stillen [45, 62]. Die Europäische Gesellschaft für Pädiatrische Gastroenterologie, Hepatologie und Ernährung (ESPGHAN) gibt an, dass ausschließliches Stillen für ungefähr sechs Monate ein wünschenswertes Ziel ist, aber auch nur teilweises Stillen, sowie das Stillen für kürzere Zeiträume ebenfalls sehr wertvoll ist. Die Fortsetzung des Stillens nach Einführung der Beikost soll so lange gefördert werden, wie es von Mutter und Kind toleriert wird [42]. Die ESPGHAN bezeichnet Stillen als die natürliche und empfehlenswerte Möglichkeit, gesundes Wachstum und Entwicklung von Kindern zu unterstützen [42].

Es wird empfohlen Frühgeborene, sowohl Low-Birth-Weight (LBW) als auch Very-Low-Birth-Weight (VLBW), primär mit eigener Muttermilch zu ernähren. Ist dies nicht möglich, sollen diese Kinder Spendermilch erhalten. Steht weder eigene Muttermilch noch Spendermilch zur Verfügung sollten diese

Kinder spezielle Frühgeborenen-Formula-Nahrung erhalten [63]. Frühgeborene die Muttermilch oder Spendermilch erhalten, sollen Muttermilchverstärker supplementiert bekommen, um eine regelrechte Gewichtsentwicklung gewährleisten zu können. Die Verstärker sollen möglichst nicht aus Kuhmilch, sondern aus humaner Milch hergestellt sein [64]. Moderate Frühgeborene, die in der Lage sind an der Brust zu trinken, sollen so früh wie möglich nach der Geburt angelegt werden, wenn sie klinisch stabil genug sind. Bei extremen Frühgeborenen empfiehlt es sich, bereits kleine Mengen (10 ml/kg/d) von Mutter- oder Spendermilch enteral zu verabreichen und den Rest des Flüssigkeitsbedarfs intravenös zu ergänzen [64]. Auch die American Academy of Pediatrics empfiehlt Spender-Muttermilch (SM) vor dem Einsatz von Formula-Nahrung für Frühgeborene, wenn eigene Muttermilch nicht verfügbar ist [65].

Je länger und exklusiver ein Säugling Muttermilch erhält, desto mehr gesundheitliche Vorteile gibt es für das Kind [66]. Stillen reduziert das Auftreten von akuter Otitis media im Kindesalter und das Risiko für infektiöse Diarrhöen [42]. Die American Academy of Pediatrics gibt zudem eine Dosis-Wirkungs-Beziehung für das Stillen an, d.h. ein geringeres Auftreten von Infektionen des oberen und unteren Respirationstraktes, Asthma, RSV Bronchiolitis, Übergewicht, Diabetes mellitus, Leukämie und SIDS bei erhöhter Stillrate [65].

Gerade bei Frühgeborenen ist das Stillen an der Brust aufgrund ihrer Unreife nicht immer einfach. Das Frühgeborene muss in der Lage sein Saugen, Schlucken und Atmen zu koordinieren. Mit frühen häufigen Still- bzw. Anlegeversuchen, viel Hautkontakt, Brusthütchen, speziellen Saugern und dem nötigen Verständnis der Physiologie und Anatomie von Reif- und Frühgeborenen kann das Stillen bei extrem Frühgeborenen gefördert werden.

Neben den Vorteilen für das Kind, erfährt auch die Mutter erhöhte gesundheitliche Vorteile mit längerer Laktationsdauer [66]. Stillende Mütter zeigen eine höhere und schnellere Gewichtsabnahme postnatal. Bei den Müttern die keinen Gestationsdiabetes hatten, zeigte sich eine Reduktion des Risikos für Typ-2-Diabetes. Außerdem wurde eine Reduktion des Risikos für rheumatoide Arthritis mit zunehmender Stilldauer beobachtet. Die kumulative Laktationsdauer korreliert außerdem mit einem geringeren Auftreten von Brust- bzw. Eierstockkrebs [65]. Eine große dänische Kohortenstudie aus 2018 zeigte nicht nur, dass Stillen zur kardiovaskulären Gesundheit der Mütter beiträgt sondern die Dauer des Stillens umgekehrt proportional zum mütterlichen Risiko für Bluthochdruck und kardiovaskulärer Erkrankung steht [67].

1.3. Zusammensetzung und Wirkstoffe in Frauenmilch

Die von der Brustdrüse der Frau sezernierte Milch durchläuft verschiedene Stadien: man unterscheidet die Vormilch (Kolostrum) und die reife Muttermilch.

Das Kolostrum ("flüssiges Gold") [68], ist eine sehr komplexe biologische Flüssigkeit, die deutlich reicher an antimikrobiellen Peptiden, immunmodulierenden Verbindungen und Wachstumsfaktoren ist als die nachfolgende reife Milch [69]. Kolostrum enthält neben den Nährstoffen eine hohe Konzentration

an verschiedenen Schutzfaktoren mit anti-infektiver Wirkung, wie Enzyme (Lysozym, Lactoferrin usw.), Immunglobuline, Cytokine, Komplement-Faktoren, Leukozyten, Oligosaccharide, Nukleotide, Lipide und Hormone (siehe Abb. 2), die miteinander und mit den Schleimhäuten des Magen-Darm-Traktes und der oberen Atemwege von Neugeborenen interagieren. Diese Inhaltsstoffe stärken das natürliche Abwehrsystem, fördern Wachstum und Regeneration verschiedener Gewebe und bieten neben passiver Immunität einen Stimulus für die Entwicklung und Reifung des kindlichen Immunsystems [69, 70]. Kolostrum reduziert so das Risiko für gastrointestinale Erkrankungen, wie eine NEC, mildert Entzündungsreaktionen und beeinflusst die Zusammensetzung der Darmflora von Neugeborenen [71-74]. Kolostrum und auch reife Milch stellen mit mehr als 200 verschiedenen Arten eine wichtige Quelle für Bakterien dar [75]. Darunter Streptococcus und Bacteroides spp., die zusammen mit probiotischen Bakterien wie Alloiococcus spp. das Auftreten und die Schwere verschiedener gastrointestinaler Infektionen reduzieren können [76, 77]. Darüber hinaus spielt menschliches Kolostrum eine besondere Rolle bei der Schutzwirkung gegen allergische und chronische Erkrankungen und bietet langfristige Stoffwechsellvorteile z.B. in der Prävention eines Diabetes mellitus Typ 2 [78].

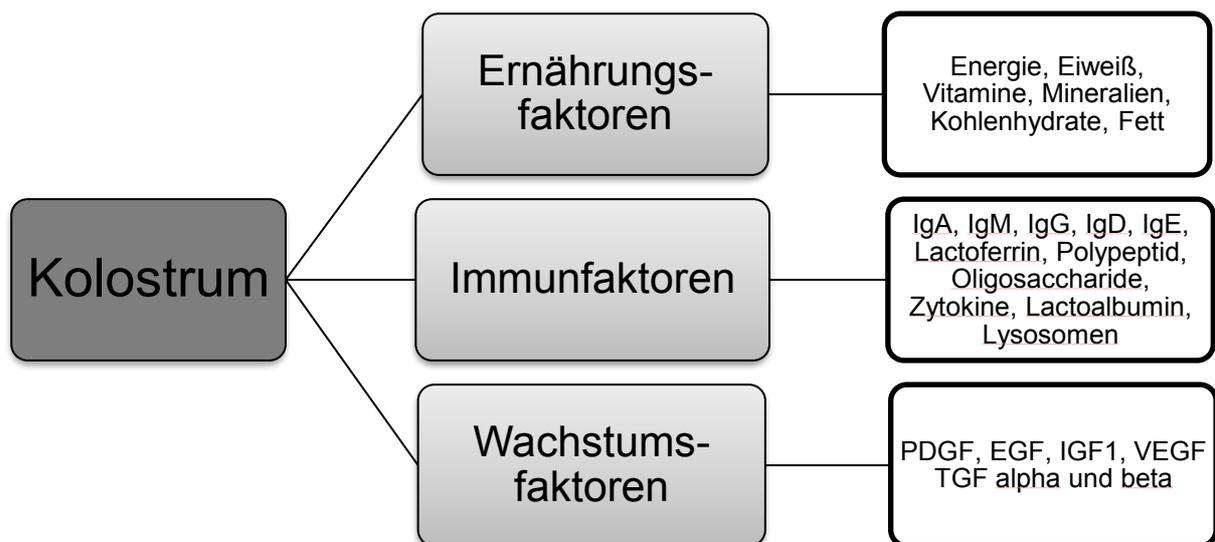


Abb. 2 Zusammensetzung von Kolostrum [79]; Abkürzungen: PDGF platelet derived growth factor, EGF epidermal growth factor, IGF insulin like growth factor, VEGF vascular endothelial growth factor, TGF alpha Transforming growth factor alpha, TGF beta Transforming growth factor beta

Reife Frauenmilch besteht zu 87% aus Wasser, zu 3,8% aus Fett, zu 1,0% aus Eiweiß und zu 7% aus Laktose. Fett und Laktose liefern 50% bzw. 40% der Gesamtenergie der Milch [80]. Frauenmilch enthält neben Makronährstoffen (Fette, Kohlenhydrate, Proteine), Mikronährstoffe (Vitamine, Mineralien) und Entwicklungsfaktoren (langkettige mehrfach ungesättigte Fettsäuren, Wachstumsfaktoren, Zytokine, Makrophagen) [81]. Außerdem befinden sich ‚multi‘-funktionale Proteine wie sIgA, Lysozym, Laktoferrin

und freie Fettsäuren, die infektionshemmend wirken, sowie lebende Zellen (Leukozyten, Brustepithelzellen, Stammzellen, Zellfragmente) als Immunschutz, Oligosaccharide, symbiotische Bakterien mit immunmodulatorischer und antientzündlicher Funktion (die als Teil der Darmflora, den Darm ansäuern, Laktose vergären, Lipide und Proteine zersetzen, sowie Vitamin K/Biotin produzieren) in der Milch. Bisher weitgehend unbekannt ist die Bedeutung der zahlreichen lebenden Zellen in frischer Frauenmilch.

Bisher wurden mehrere hundert Arten von apathogenen Bakterien entdeckt, die die Muttermilch kolonisieren können. Jede Muttermilch enthält ihre eigene Mikrobiota an Bakterien und Viren [82, 83]. Diese ist abhängig von Entbindungsmodus, Gewicht der Mutter und Laktationsdauer [84]. Man nimmt an, dass durch den enteromammären Kreislauf die mütterliche Darmflora über die Muttermilch auf das Neugeborene übertragen wird (über mononukleäre Immunzellen) [85]. Potenzielle Infektionserreger in Muttermilch können pathogene Bakterien (z.B. Staph. epidermidis oder Staph. aureus), HIV, HTLV I und II, Hepatitis B und C, CMV, Röteln, HSV I und II und VZV sein [86].

Zusätzliche Inhaltsstoffe der Muttermilch sind: Nukleotide, fett- und wasserlösliche Vitamine, Elektrolyte, Spurenelemente, Eisen, Zink, Fluor, und Jodid.

	Proteine	Menge (soweit angegeben und bekannt)	Wirkung
antimikrobielle Substanzen	Antikörper (sIgA)	100-350 mg/dl	Immunprotektion; Bindung an Mikroben zur Verhinderung der Schleimhaut-adhäsion derselben; Antibakterielle und antivirale Aktivität
	IgG	1,7 – 9 mg/dl	Antibakterielle und antivirale Aktivität
	IgM	bis 5 mg/dl	Antibakterielle und antivirale Aktivität
	Lactoferrin	100-300 mg/dl	Eisenbindungsfähigkeit (Eisen ist essentiell für das Wachstum von Bakterien) und transportiert Eisen; bakterizid, antiviral, fungizid, bakteriostatisch, antiadhäsiv, anti-inflammatorisch, Immunprotektion, wachstumsfördernd
	Laktoperoxidase		Bakteriostase, aerobe und anaerobe Bakterien (H.pylori)
	Antisekretorischer Faktor		Senkt evtl. das Risiko für Mastitis und Durchfallerkrankungen beim Kind
	Zytokine		Reguliert die Funktion von Makrophagen, NK-Zellen und T-Zellen

Proteine	Menge (soweit angegeben und bekannt)	Wirkung
Prostaglandin 1+2		Wirken Zytoprotektiv
Zytokine und Wachstums- faktoren		Sind wichtig für die Entwicklungsförderung bestimmter Organe, Verbesserung der antiinfektiösen Funktion der Leukozyten
Defensine und Cathelicidine		antimikrobielle Peptide
Lysozym	5-25 mg/dl	spaltet Zellwand/äußere Zellmembran von Mikroorganismen; Hydrolyse der Wand grampositiver Bakterien; bakterizid für Enterobacter und grampositive Bakterien
Lactadherin		Muttermilch-Fettkügelchenprotein, hemmt das Rotavirus
Osteopontin,		Immunstimulierende Funktion, Gehirnentwicklung
Beta Casein	< 100 mg/dl	Verhindert Adhäsion von Helicobacter pylori an gastraler Mukosa, Streptococcus pneumoniae und Hämophilus influenzae an respiratorischen Epithelzellen; transportiert Calcium
platelet- activating factor Acetylhydrolyse		Hydrolyse von platelet activating factor (ein potentes Ulzerogen bei NEC)
gallensalzakt. Lipase	10 mg/dl	Spaltung von Triglyzeriden in der Milch und freien Fettsäuren im Intestinum, antiprotozoisch, antiviral, antimikrobiell, wichtig für die Verdauung der Milchfette
Bifidus- /Lactobazillen		= Probiotika
Amylase		Hydrolyse von Polysacchariden
Lipoproetin/- lipase		Aufnahme von zirkulierenden Triglyzeriden
Bile-salt- stimulated Lipase		Hydrolyse von Triglyzeriden

Proteine	Menge (soweit angegeben und bekannt)	Wirkung
Beta Casein		Transportiert Calcium
Haptocorrin		Transportiert Vitamin B12
Folsäure bindendes Protein		Transportiert Folsäure
alpha Lactalbumin		Protein, antitumoröse Wirkung; transportiert Calcium und Zink
Lipasen		Bakterizid
Epidermal growth factor		Reguliert Wachstum der Darmmukosa
Insulin-like growth factor		Stimuliert DNA Synthese
Transforming growth factor		Unterstützt epitheliales Zellwachstum
Nerve growth factor		Stimuliert Wachstum von Nervenzellen v.a. im Gastrointestinaltrakt Trakt
Carnitin		Lipidsynthese im Gehirn
Insulin		Reguliert den Kohlenhydrat Stoffwechsel
Erythropoetin		Funktion im Gastrointestinal-Trakt noch unklar
Fett/Lipide		Nach enzymatischem Umbau entstehen freie Fettsäuren, die Viren und Bakterien angreifen können
Linolsäure		Essentieller Nährstoff → Phospholipide, Prostaglandine, Leukotriene
Linolensäure		Essentieller Nährstoff → Docosahexaensäure [87] – (Retina und Nervenzellen) → Eicosapentaensäure
Cholesterin		
LC-PUFA		Wichtig für die Entwicklung von ZNS, Retina; eine Vorstufe der Eicosaonoide
Kohlenhydrate	Lactose	

Proteine	Menge (soweit angegeben und bekannt)	Wirkung
Glukose		
Galaktose		
Oligosaccharide OS		= Glykane, können als Präbiotika wirken, fördern selektiv das Wachstum von symbiotischen Bakterien (Bifidusbakterien, Laktobazillen) im Darm, verhindern Bindung von pathogenen Keimen an Zielrezeptoren (Rezeptorenanaloga) an Schleimhautoberflächen im Darm (Schutz vor z.B. Noro- und Rotaviren, enterotoxischen E. coli, Campylobacter pylori) = antiadhäsive Eigenschaft; Bisher sind mehr als 200 verschiedene OS identifiziert, die nur in MM vorkommen und nicht industriell herstellbar sind. → protektive Wirkung gegenüber gastrointestinalen Infektionen im Kindesalter
Immunsystem- entwicklung	Immunzellen	Makrophagen, neutrophile Granulozyten, T- und B-Zellen, Stammzellen
	Leukozyten	Lymphozyten, Neutrophile, Makrophagen
	Human	Stammzellen (pluripotent)
	Embryonic Stem Cells (hESC)	

Tab. 2 Inhaltsstoffe in Frauenmilch (Zusammenstellung aus Veröffentlichungen von Medela, Hanson et al. 2007 [88], N. Haiden [89], Dr. Corinna Gebauer – Leipzig, Böttger, R. [86], Gila-Diaz et al. [90] und dem Bundesinstitut für Risikobewertung)

1.3.1. Besonderheiten von Preterm und Term Milch

Im Gegensatz zu Formula-Nahrung ist die Zusammensetzung der Frauenmilch dynamisch und variiert nicht nur zwischen den einzelnen Individuen sondern auch in einer Still-Mahlzeit, im Tagesverlauf und während der gesamten Dauer der Laktation [91-93]. Weitere Faktoren wie genetische Einflüsse, Alter der Mutter, Parität, Gestationsalter oder bestimmte Lebensumstände wie z.B. das Rauchen beeinflussen die Zusammensetzung von Muttermilch [94].

Die Bestandteile von reifer Muttermilch variieren also innerhalb einer Stillmahlzeit zwischen der sogenannten „Vormilch“ und „Hintermilch“ [95]. Die Vormilch wirkt als ‚Durstlöscher‘ und ist reich an Molke und Laktose, die Hintermilch ist vor allem fettreich und damit sättigend [80, 89].

Der Proteingehalt ist initial hoch, nimmt aber im Verlauf der Laktation ab und der Fettgehalt steigt parallel dazu an. Die genaue Zusammensetzung ist abhängig von der Dauer der Laktation. Der Fettgehalt variiert zudem signifikant in Zusammenhang mit der mütterlichen Ernährung und hängt auch positiv mit der Gewichtszunahme während der Schwangerschaft zusammen [80].

Das Einzigartige an Muttermilch ist nicht nur die Vielfalt an Inhaltsstoffen, sondern auch ihre individuelle Zusammensetzung, je nach Bedarf und Alter des Kindes. Die Frauenmilch von Frühgeborenen (Preterm-Milch) hat – den Bedürfnissen eines Frühgeborenen entsprechend - einen höheren Anteil an Energie, Lipiden, Proteinen [96] (siehe Tab. 3), Stickstoff, Vitaminen und mehr Immunfaktoren (Zellen, IgG, entzündungshemmende Bestandteile), verglichen mit reifer Neugeborenen-Milch (Term-Milch). Diese Unterschiede bleiben bis zu 8 Wochen nach der Geburt bestehen [97]. Der Mineralstoffgehalt von Milch Frühgeborener ist dem von ‚reifer‘ Milch sehr ähnlich, ausgenommen Calcium, welches in der Preterm-Milch deutlich geringer ist [96].

	Empfohlene Menge für FG	Frühgeborenen Muttermilch	Reife Muttermilch	Frühgeborenen Formula
Protein	3 -3,6 g	2,3 g	1,5 g	3,3-3,6 g

Tab. 3 Empfohlene Protein Aufnahme von Frühgeborenen (pro kg Körpergewicht/pro 100 kcal); Tabelle modifiziert nach Haschke et al. [45]

Gidrewicz et al. konnten in einer Untersuchung zeigen, dass Frühgeborenen Milch in den ersten Lebenstagen einen deutlich höheren Gehalt an Protein hat als Term-Milch. Der Fettgehalt unterschied sich in diesen Tagen nicht signifikant. Verglichen mit Kolostrum nahm der Proteingehalt der reifen Milch ab, während das Fett in der Preterm-Milch anstieg (siehe Tab. 4) [93].

The Milk maturity effect: Comparison of colostrum versus mature milk								
	<u>Energy (measured)</u>		<u>Protein</u>		<u>Fat</u>		<u>Lactose</u>	
	<u>Preterm</u>	<u>Term</u>	<u>Preterm</u>	<u>Term</u>	<u>Preterm</u>	<u>Term</u>	<u>Preterm</u>	<u>Term</u>
Colostrum	49	54	2.7	2.0	2.2	1.8	5.1	5.6
Mature Milk	73	63	1.1	1.0	3.3	3.4	6.2	6.5
Difference	49%	16%	-61%	-52%	50%	93%	21%	16%
p-value	<0,00001*	<0,00001*	<0,00001*	<0,00001*	<0,00001*	<0,00001*	<0,00001*	<0,00001*
	<u>Calcium</u>		<u>Phosphate</u>					
	<u>Preterm</u>	<u>Term</u>	<u>Preterm</u>	<u>Term</u>				
Colostrum	25	26	9.5	11	*met our approximate Bonferroni adjusted p-value criteria for statistical significance was < 0,001. Colostrum was milk collected in the first 3 days, mature milk was collected between 5 to 12 weeks. The difference values less than 100% reflect lower values for mature milk, differences greater than 100% reflect higher values for colostrum compared to mature milk.			
Mature Milk	29	26	12.8	16				
Difference	13%	-2%	35%	41%				
p-value	0,003	0,62	0,002	0,001				

Tab. 4 Vergleich von Kolostrum und Muttermilch bei Früh- und Reifgeborenen, Originaltabelle übernommen aus der Publikation von Gidrewicz et al. [93]

Außerdem zeigten Mathur et al. bereits 1990, dass im Kolostrum nach Frühgeburt die mittleren Konzentrationen von IgA, Lysozym und Lactoferrin signifikant höher waren, als in Kolostrum nach zeitgerechter Geburt. Auch Gesamtzellen, Makrophagen, Lymphozyten und Neutrophile waren im Frühgeborenen-Kolostrum signifikant höher [98].

Ein weiterer individueller Unterschied von Frauenmilch zu industriell gefertigter Formula-Nahrung auf Kuhmilchbasis besteht beispielsweise in der Zusammensetzung zwischen Milch von Müttern eines Sohnes gegenüber Müttern von Töchtern. Powe et al. konnten zeigen, dass Mütter männlicher Säuglinge Milch produzieren, die 25% mehr Energiegehalt hat, als Mütter weiblicher Säuglinge. Das größere Nährstoffangebot bei Söhnen könnte für die höhere Wachstumsrate bei männlichen im Vergleich zu weiblichen Säuglingen mit verantwortlich sein [99].

1.4. Pasteurisierung

Nationale und internationale Leitlinien zur Bereitstellung von Spendermilch und dem Betrieb von Frauenmilchbanken empfehlen die Pasteurisierung der gespendeten Milch vor der Weitergabe an Frühgeborene [100]. Pasteurisieren bezeichnet die kurzzeitige Erhitzung von flüssigen Lebensmitteln zur Inaktivierung von pathogenen Keimen. Das ursprünglich von Louis Pasteur entwickelte Verfahren wird heute als Holder-Pasteurisierung (HoP, 30 Minuten, 62°C) für Muttermilch eingesetzt. Beide Verfahren (lang-/kurzzeitig) inaktivieren zuverlässig Bakterien, Pilze und die meisten Viren [101].

Pasteurisierung senkt zwar einerseits das Risiko einer durch Milch übertragenen bakteriellen oder viralen Infektion, andererseits können hierdurch aber auch wichtige Bestandteile der Frauenmilch in ihrer Konzentration vermindert oder gar zerstört werden [102]. Unpasteurisierte Milch birgt außerdem wahrscheinlich den Vorteil der Übertragung eines gesunden Mikrobioms von der Mutter auf das Neugeborene [82].

Peila et. al geben in ihrer Übersichtsarbeit einen Überblick über die Effekte der Holder- Pasteurisierung auf die Bestandteile von Spendermilch (siehe Tab. 4, 5 und 6) [103].

FM-Bestandteil	Kein Effekt durch HoP
Cytokine	Il-2, Il-4, Il-5, Il-13, Il-12p70, Il-17
Wachstumsfaktoren (growth factors)	EGF, TGF β1, TGF β 2, mCP-1
Gesamtstickstoffgehalt	TN (Totalstickstoffgehalt)
Aminosäuren	Freie Aminosäuren, Taurin, Methionin, Cystin, Glutamat
Vitamine	D, E, B2, B5, Biotin, B3, B12, Zink
Lipide, mehrfach ungesättigte Fettsäuren n3	20:5, 22:5, 22:6
Mehrfach ungesättigte Fettsäuren n6	18:2, 18:3, 20:2, 20:3, 20:4, 22:4, 22:5
Einfach ungesättigte Fettsäuren	14:1, 15:1, 16:1, 17:1, 22:1, 20:,1, 24:1
Gesättigte Fettsäuren	10:0, 16:0, 15:0, 17:0, 20:0, 21:0, 22:0, 24:0

FM-Bestandteil	Kein Effekt durch HoP
Saccharide	Oligosaccharide, Glykosaminoglykane, Myoinositol, Lactose
Oxidative Stress Marker	Malondialdehyd, Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC), Hexanal

Tab. 5 Bestandteile von Spendermilch, die durch HoP **nicht beeinflusst** werden [103]

	FM-Bestandteil	Effekt durch HoP
Immunglobuline	IgG4	Reduktion (% nicht berichtet)
Enzyme	Lipase	Kompletter Verlust
	Alkalische Phosphatase	Kompletter Verlust
	Amylase	15% Reduktion
Cytokine	Il-7	Anstieg (% nicht berichtet)
	MIP-1 β	Reduktion (% nicht berichtet)
	MCAF/MCP-1	Reduktion (% nicht berichtet)
Wachstumsfaktoren	IGF1, IGF2, IGFBP2, IGFBP3	Reduktion (% nicht berichtet)
	EPO	Reduktion (% nicht berichtet)
	HB-EGF, HGF	Reduktion (% nicht berichtet)
	GM-CSF	Anstieg (% nicht berichtet)
Hormone	Insulin, Adiponectin	Reduktion (% nicht berichtet)
Freie Aminosäuren	Arginin, Leucin	Anstieg (% nicht berichtet)
	Aspartat	Reduktion (% nicht berichtet)
	Glutamin	Anstieg (% nicht berichtet)
Vitamine	Ascorbin, Dehydroascorbin	12% Reduktion
	Ascorbinsäure	16,2%-26% Reduktion
	B6	15% Reduktion
Oxidative Stress Marker	Glutathion, Glutathion Peroxidase Aktivität, Total antioxidative Kapazität	Reduktion (% nicht berichtet)
	Lactulose	Anstieg (% nicht berichtet)/ nicht in allen Proben detektiert
	Nucleotid Monophosphat Gehalt	Anstieg (% nicht berichtet)

Tab. 6 Bestandteile von Spendermilch, die durch HoP **signifikant beeinflusst** werden [103]

	FM-Bestandteil	Effekt durch HoP
Totaler Protein Gehalt		Reduktion (% nicht berichtet)
Immunglobuline	IgA	20%-62% Reduktion
	sIgA	20%-50% Reduktion
	IgM	50%-100% Reduktion
	IgG	23%-100% Reduktion
Lactoferrin		35%-90% Reduktion
Lysozym	Konzentration	20%-69% Reduktion
	Aktivität	Reduktion (% nicht berichtet)
Cytokine	Il-1 β , Il-6	Reduktion (% nicht berichtet)
	Il-8	Anstieg (% nicht berichtet)
	Il-10	Reduktion (% nicht berichtet)
	TNF alpha	Reduktion (% nicht berichtet)
	INF gamma	Reduktion (% nicht berichtet)
Vitamine	A	Anstieg (% nicht berichtet)/34% Reduktion
	Folacin	10%-30% Reduktion
	C	19,9%-36% Reduktion
	alpha und gamma Tocopherol	12%-47% Reduktion
	Delta Tocopherol	Reduktion (% nicht berichtet)
Totaler Fettgehalt		Reduktion (% nicht berichtet)/ Anstieg (% nicht berichtet)
Vielfach ungesättigte Fettsäuren	18:3	Reduktion (% nicht berichtet)
	18:1	Reduktion (% nicht berichtet)/ Anstieg (% nicht berichtet)
Einfach ungesättigte Fettsäuren	14:0	Reduktion (% nicht berichtet)/ Anstieg (% nicht berichtet)
	12:0	Reduktion (% nicht berichtet)/ Anstieg (% nicht berichtet)
	18:0	Reduktion (% nicht berichtet)/ Anstieg (% nicht berichtet)
Glucose		Reduktion (% nicht berichtet)/ Anstieg (% nicht berichtet)

Tab. 7 Bestandteile von Spendermilch, die durch HoP beeinflusst werden mit unstimulierten bzw. widersprüchlichen (signifikant vs. nicht signifikant) Ergebnissen in den einzelnen Arbeiten des Reviews [103]

Die vorliegende tabellarische Übersicht (siehe vor allem Tab. 7) zeigt eine deutliche Variabilität in den Daten bzgl. der Auswirkungen von HoP auf humane Milch. Saccharide werden durch die Wärmebehandlung wesentlich beeinflusst. Der Gesamtlipidgehalt wird ebenso wie die Fettsäurezusammensetzung durch HoP bewahrt. Dies deutet darauf hin, dass nach Pasteurisierung sowohl die ernährungsphysiologischen als auch die biologischen Eigenschaften der Frauenmilch, die für die Entwicklung des Zentralnervensystems relevant sind, erhalten bleiben. Durchgängig scheinen fettlösliche Vitamine ebenfalls unbeeinflusst zu sein, während wasserlösliche Vitamine und insbesondere Vitamin C im Allgemeinen durch HoP signifikant vermindert werden (siehe Tabelle 5 – 7). Die Ergebnisse bezüglich spezifisch biologisch aktiver Moleküle (wie Zytokine und Wachstumsfaktoren) bleiben aufgrund der großen Anzahl unterschiedlicher Substanzen, die in jeder Studie analysiert wurden, und der geringen Anzahl vergleichbarer Ergebnisse unsicher [103].

Proteine sind deutlicher von HoP betroffen. In der Tat werden spezifische Proteine mit signifikanter immunologischer und antiinfektiver Wirkung (wie Immunglobuline und Lactoferrin) durch Pasteurisierung reduziert. Es wurde auch eine wesentliche Verringerung der enzymatischen Aktivität beobachtet.

Die verfügbaren Daten bestätigen, dass HoP mehrere HM-Komponenten in unterschiedlichem Ausmaß beeinflusst, obwohl es schwierig ist, den Verschlechterungsgrad zu quantifizieren. Klinische Praktiken zeigen jedoch, dass viele vorteilhafte Eigenschaften der Muttermilch auch nach dem Pasteurisieren noch erhalten bleiben [103]. Ein offensichtlicher Nachteil der Pasteurisierung ist der Verlust des Muttermilch-Mikrobioms sowie die Inaktivierung eines großen Teils bioaktiver Komponenten [104].

Aktuell wird Spendermilch vor allem zum Schutz von Hochrisikopatienten (LBW, VLBW) und der Übertragung von Cytomegalievirus (CMV) oder anderer pathogener Bestandteile der HM pasteurisiert [101, 105, 106]. Hierdurch könnten möglicherweise elementare Vorteile einer Muttermilchernährung eliminiert werden. Aus diesem Grund wird an einigen Perinatalzentren in Deutschland (wie z.B. an der Neonatologie der Kinderklinik, Perinatalzentrum des LMU Klinikums München und in Leipzig) unter strengen hygienischen und qualitativen Maßstäben bevorzugt rohe, schockgefrostete Frauenmilch (von CMV-negativen Spenderinnen) als Spendermilch verwendet.

Im Vergleich dazu wird in den USA Spendermilch meist als Spendermilch-Mischung von verschiedenen Spenderinnen verwendet und immer erst nach HoP verfüttert. In Europa ist eine Mischung verschiedener Spendermilchproben laut Richtlinien aus Großbritannien nicht erlaubt. Neben wenigen Zentren in Deutschland wird nur in Norwegen rohe Frauenmilch an extrem Frühgeborene verabreicht [107].

1.5. Formula Nahrung

1.5.1. Besonderheiten von Formula

Muttermilch (MM) bzw. Humane Frauenmilch (HM) ist die Hauptnahrungsquelle für gesundes Säuglingswachstum [108]. Industriell hergestellte Frühgeborenen-Formulanahrung unterscheidet sich elementar von Muttermilch. Naturgemäß kann ein Großteil der Inhaltsstoffe von Muttermilch nicht industriell hergestellt werden, so dass Formulanahrung überwiegend Kohlehydrate, Protein und Fett als Nährstoffquelle enthält. Außerdem enthält Formula Mineralstoffe, Vitamine und Spurenelemente sowie mehrfach ungesättigte Fettsäuren. Neuere Produkte setzen außerdem Oligosaccharide zu. Tabelle 7 gibt einen Überblick hinsichtlich der Zusammensetzung von Formulanahrung im Vergleich zu Muttermilch.

	MM	Säuglingsanfangsnahrung	Folgenahrung	Kuhmilch
Eiweiß	1,2%	1,7%	1,9%	3,3%
Fett	3,5%	3,6%	3,8%	3,8%
Kohlenhydrate	7,0%	7,5%	8,1%	4,7%
Mineralstoffe	0,2%	0,3%	0,4%	0,7%
kcal	67	67	60-80	66

Tab. 8 Inhaltsstoffe von Muttermilch, Formula und Kuhmilch im Vergleich (Durchschnittswerte aus der Checkliste Neonatologie, 4. Auflage)

Aus der Tabelle ist ein höherer Proteinanteil in der Formula-Nahrung ersichtlich. Dieser führt zwar zu einer schnelleren Gewichtszunahme [109], zeigt aber keine intraindividuelle Variabilität wie in Muttermilch, wo der Proteingehalt zu Beginn der Laktation hoch ist und im Laufe der Laktation abnimmt, sich also den physiologischen Bedingungen des Wachstums postnatal anpasst. Der Energie- und Fettgehalt sind in der Formula-Nahrung nahezu gleich der Muttermilch. Nur der Kohlenhydratanteil ist in Formula-Nahrung gegenüber HM erhöht.

1.5.2. Muttermilchverstärker (Fortifier)

Frühgeborene haben im Vergleich zu reifen Neugeborenen höhere Wachstumsraten und dieser Bedarf kann durch native Muttermilch nicht allein gedeckt werden. Frauenmilch muss also verstärkt werden, um Wachstum und Entwicklung in der postnatalen Phase des extrem unreifen Frühgeborenen (Very Low Birth Weight – VLBW, Extremely Low Gestational Age) ausreichend zu unterstützen [110, 111].

	Frühgeborene	Reife Neugeborene
Proteinbedarf	bis 4,5 g/kg/d	1,5-1,8 g/kg/d
Kalorienbedarf	ca. 140 kcal/kg/d	ca. 100 kcal/kg/d
Wachstumsrate	17-22 g/kg/d	5-9 g/kg/d

Tab. 9 Wachstumsrate Frühgeborene vs. Neugeborene (modifiziert nach Fusch u. Agostoni [112], [111])

In einem systematischen Review von Kuschel und Harding konnte ein verbessertes Längen- und Kopfwachstum bei Frühgeborenen durch Muttermilchverstärkung gezeigt werden [113]. Fast alle ‚Standard‘-Muttermilchverstärker, in Europa meist kuhmilchbasiert, heben den Proteingehalt um ca. 1-1,1 g/dl und den Kaloriengehalt um 14-18 kcal/dl an [114]. Miller et al konnten zeigen, dass eine höhere Proteinzufuhr (1,4 g/dl im Vergleich zu 1,0 g/dl) zu einem verbesserten Wachstum führt [115]. Ein Nachteil der handelsüblichen Muttermilchverstärker ist der festgesetzte Anteil an Inhaltsstoffen. Eine Arbeit von Fusch et al. zeigt in diesem Zusammenhang die intraindividuelle Proteinzusammensetzung verschiedener Muttermilchproben [116].

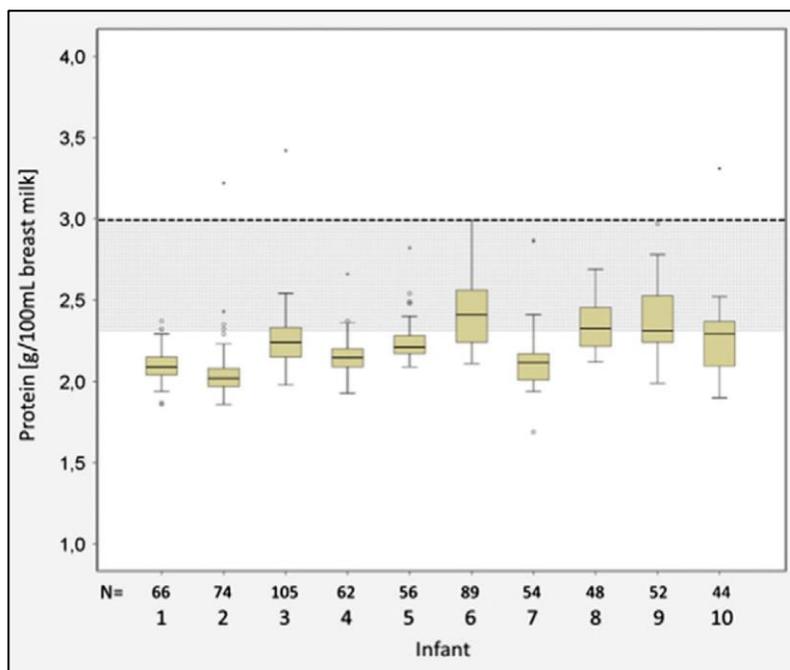


Abb. 3 Variation des Proteingehaltes in unterschiedlichen Muttermilchproben (aus C. Fusch und Samiee-Zafarghandy, 2014 [112])

Spendermilch enthält (gegenüber frischer eigener Muttermilch eines Neugeborenen) meist einen geringeren Anteil an Proteinen, da diese Milch erst in einer späteren Laktationsperiode gewonnen werden kann [117]. Das Wachstum von Frühgeborenen, die mit fortifizierter Muttermilch ernährt wurden, ist durchschnittlich schlechter, als bei Kindern, die mit Formula-Nahrung ernährt wurden [118] [119]. Als ursächlich werden hierfür der intraindividuelle Proteingehalt in Spendermilch und der unzureichende

Proteingehalt von ‚Standard‘-fortifizierter Muttermilch für die Bedürfnisse von VLBW/ ELGAN-Säuglingen angesehen.

Die Ernährung Frühgeborener mit Spendermilch ist also mit größeren Herausforderungen verbunden, als die Ernährung mit eigener Muttermilch. Ein besonderes Augenmerk muss auf die Protein- und Kalorienzufuhr gelegt werden, um die Vorteile von Muttermilch zu gewährleisten ohne Wachstum einzubüßen [120]. Das Wachstum von Frühgeborenen korreliert linear mit der Proteinaufnahme [121].

1.6. Spendermilch und Frauenmilchbanken

Um schwere Komplikationen wie die NEC in der Neonatalperiode zu verhindern und Morbidität und Mortalität der Frühgeborenen zu verbessern, leistet humane Spendermilch einen entscheidenden Beitrag. Gespendete Muttermilch ist jedoch kein allseits zugängliches Gut. Es benötigt Frauenmilchbanken zu Gewinnung und Verteilung dieser Milch.

1.6.1. Historie der Frauenmilchspende

Muttermilch zu spenden ist keineswegs eine Erscheinung der Moderne, seit jeher wurde und wird in verschiedenen Kulturkreisen Frauenmilch gespendet bzw. weitergegeben. Es gibt hierzu bereits Aufzeichnungen aus Ägypten von vor über 4000 Jahren. Die weltweit erste Frauenmilchsammelstelle (FMS) wurde 1909 in Wien durch die Ärzte Mayerhofer und Pribram eröffnet. Die gespendete Milch stammte hauptsächlich von den damals noch tätigen Ammen. In Deutschland wurde durch die Kinderärztin Dr. Marie-Elise Kayser im Jahr 1919 die erste Frauenmilchbank in Magdeburg und 1925 die zweite in Erfurt gegründet. Um für Frauenmilchsammelstellen zu werben, gestaltete die Künstlerin Käthe Kollwitz 1925 ein Plakat "Mütter, gebt von euerm Überfluss". Marie-Elise Kayser entwickelte 1939 einen Leitfaden für FMS, der auch heute noch in die Richtlinien für die Gründung bzw. Betreibung von Frauenmilchbanken mit eingeht. Bis in die Mitte des 20. Jahrhunderts, war die Spende von überschüssiger Frauenmilch in Deutschland vor allem in der ehemaligen Deutschen Demokratischen Republik (DDR) üblich. Im Jahr 1959 gab es in Deutschland 86 Frauenmilchbanken (FMB) - 62 davon in der DDR. Mit dem Aufkommen der Formula-Nahrung ab den 1970er Jahren gingen die Stillraten zurück, und die Rolle der Frauenmilchbanken nahm immer mehr ab [122]. Ihr ‚Ende‘ erlebten die Frauenmilchbanken in den 1980er Jahren, durch die Entdeckung der Übertragung des HI-Virus über die Muttermilch. Seither gab es einen enormen Zuwachs an Wissen, nicht nur bezüglich Übertragung und Prävention von Infektionskrankheiten, sondern auch im Umgang mit dem kostbaren Gut Muttermilch. Im letzten Jahrzehnt ist in Europa wieder ein Trend zur Gewinnung von humaner Spendermilch für schwerkranke Frühgeborene zu verzeichnen, nachdem Schutz-Maßnahmen, die jenen bei der Blutspende vergleichbar sind, die Übertragung von Infektionen weitestgehend verhindern können. 2020 gibt es Europaweit 249 aktive Milchbanken, 19 weitere befinden sich in der Planung (9 davon in Deutschland) [123].

1.6.2. Frauenmilchbanken in Deutschland und international

Im Jahr 2000 gab es in Deutschland nur 10 Frauenmilchbanken (FMB), die vor allem in den neuen Bundesländern angesiedelt waren. Im April 2017 gab es 213 FMB in Europa, 17 weitere waren in Planung. Im D A CH Raum (Deutschland, Österreich, Schweiz) sind es aktuell nach den Angaben der European Milk Bank Association (EMBA) 46 FMB, davon 31 in Deutschland [123].

Auch weltweit gibt es inzwischen immer mehr Milchbanken, in einer Übersicht von Haiden und Ziegler aus dem Jahr 2016 gab es in Asien 44 (3 in Planung), in den USA und Kanada 26, in Süd- und Zentralamerika 303, in Afrika 70 und in Australien 5 Frauenmilchbanken [124].

1.6.3. Aufbau und Betrieb der Frauenmilchbank am PNZ Großhadern

Im Jahr 2012 wurde die Frauenmilchbank (FMB) am Perinatalzentrum (PNZ) Großhadern von Andreas Schulze und Andreas Flemmer unter Mitarbeit von Susanne Herber-Jonat und Madeleine Wurm mit der Unterstützung des Vereins FrühStart ins Leben, e. V. aufgebaut. Als die Frühgeborenenstation des Perinatalzentrums Großhadern der LMU ihre Frauenmilchbank in Betrieb nahm, war dies die erste Neugründung in Westdeutschland seit Jahrzehnten – und die erste in den „alten“ Bundesländern.

Am PNZ Großhadern sollen nach Möglichkeit alle Frühgeborenen unter 28 SSW bzw. < 30 SSW mit einem GG < 1500g und alle SGA FG < 32 SSW Spendermilch erhalten. Aufgrund des limitierten Angebots roher Frauenmilch (Ressourcenknappheit, Lagermöglichkeiten) können aktuell jedoch nicht immer alle Frühgeborenen (in der Regel aber alle unter < 1000g Geburtsgewicht) mit Spendermilch versorgt werden.

Die Frauenmilchbank der Neugeborenen Intensivstation versorgt fast ausschließlich die Frühgeborenen am PNZ Großhadern. Es werden in der Regel keine Spenderinnen von extern angenommen, um die strengen Hygiene-Richtlinien einhalten zu können. Die Spendermilch wird nach dem Zeitpunkt der Spende aufgrund des unterschiedlichen Nährstoffgehaltes (< 28 Tage und > 28 Tage nach Entbindung) eingeteilt, so dass extrem Frühgeborene auch mit ‚Preterm-Milch‘ versorgt werden können.

Sofern möglich, wird unpasteurisierte Muttermilch (unter strengen hygienischen und mikrobiologischen Auflagen) verfüttert. Die Milch wird roh verwendet, wenn sich < 10⁵ KBE Keime der Hautflora (KNS, Enterokokken, vergrünende Streptokokken, nicht hämolysierende Streptokokken, Coryneforme Stäbchen, Micrococcus spp.) bzw. probiotische Bakterien (Lactobacillus spp., Bifidobacterium spp.) jeglicher Konzentration in der Milch befinden (siehe Anhang). Übersteigt die Anzahl der Kommensale eine Menge von 10⁵ und oder befinden sich pathogene Keime (wie z.B. E. Coli, Gruppe-B-Streptokokken, Candida spp.) in der Milch, wird diese verworfen oder pasteurisiert für das eigene Kind der spendenden Mutter verwendet. Die verschiedenen Muttermilchportionen werden dementsprechend farblich gekennzeichnet (siehe Abb. 5).



Abb. 4 Kennzeichnung der Spendermilchproben nach mikrobiologischer Testung an der Frauenmilchbank LMU Klinikum, Campus Großhadern (gelb: mikrobiologisch getestet, grün: Freigabe unpasteurisiert, rot: Freigabe nach Pasteurisierung).

Die Frauenmilchbank arbeitet nach dem Single-Donor-Prinzip, d.h. jedes Kind erhält Spendermilch von möglichst nur einer Spenderin. Hiermit wird das Risiko einer extrem unwahrscheinlichen aber möglichen Übertragung von Infektionskrankheiten nochmals deutlich minimiert.

Die Auswahl der Milchspenderinnen erfolgt am PNZ in Großhadern aus den Frauen, deren Frühgeborenes zu diesem Zeitpunkt auf der Station behandelt wird und deren Kinder in der Regel auch selbst von Spendermilch profitieren. Der Vorteil in diesem Vorgehen liegt darin, dass die Spenderinnen vor Ort sind und so hinsichtlich psychischer Stabilität, Milchmenge, Zuverlässigkeit und ‚Lifestyle‘ gut beurteilt werden können. Es kommen nur Mütter infrage, die über eine ausreichende Milchmenge verfügen (> 500 ml/d), gesund sind, nicht rauchen, keinen Alkohol konsumieren und compliant sind. Neben Aufklärung und Einwilligung in die Muttermilchspende werden mithilfe eines Fragebogens (siehe Anhang) der Gesundheitszustand und die eventuellen Risiken der Spenderinnen erfasst. Vor der Muttermilchspende wird entsprechend den Richtlinien der Transfusionsmedizin bei den Frauen serologisch auf HIV, CMV, HCV, HBV, Lues und Toxoplasmose, sowie die Transaminasen getestet. Ein negatives bzw. unauffälliges Testergebnis wird für 3 Monate als aktuell bewertet und wird dann wiederholt, allerdings liegt die mittlere Spendedauer nur bei $17,9 \pm 15,2$ Tage (Stand April 2017). Als Spenderinnen kommen nur CMV-negative Frauen in Frage, um eine Übertragung von CMV in den ersten Lebenswochen zu verhindern. Der CMV Status der Spenderinnen wird 4 wöchentlich kontrolliert. Spendermilch wird unter strengen Hygienerichtlinien in einem separaten Raum der Intensivstation mithilfe und dauernder Anwesenheit einer verantwortlichen Pflegekraft der FMB (ausgebildete Still- und

Laktationsberaterin) abgepumpt. Die Spenderinnen erhalten zudem ein Merkblatt über die speziellen Hygienemaßnahmen (erstellt in Zusammenarbeit mit der klinikinternen Abteilung für Hygiene). Die gewonnene Milch wird unmittelbar an einem getrennten sterilen Arbeitsplatz der Frauenmilchbank weiterverarbeitet. Unter sterilen Bedingungen erfolgt zunächst die Abnahme einer mikrobiologischen Probe jeder Frauenmilchportion. Die Milch wird nach Probenentnahme direkt portioniert, etikettiert und im Anschluss bei – 30°C für 4 Stunden schockgefroren. Die Freigabe zur Ausgabe und entsprechende farbliche Markierung erfolgt erst nach Erhalt der mikrobiologischen Befunde (ca. nach 2-3 Tagen) (Markierung siehe Abb. 2). Jede Probe wird Chargen-dokumentiert. Gespendete Frauenmilch wird in einem separaten Tiefkühlschrank bei -18°C für bis zu 3 Monate gelagert. Außerdem wird die gespendete Milch aufgrund des unterschiedlichen Nährstoffgehaltes, in Milch „bis 28 Tage“ nach Entbindung und „über 28 Tage“ nach Entbindung unterteilt. So ist es möglich, extrem unreife Frühgeborene mit ‚Preterm‘-Milch zu versorgen und größere Kinder mit ‚Term‘-Milch. Die Herkunft der Spendermilch, der Zeitpunkt der Gewinnung, die Portionsgröße, die mikrobiologischen Ergebnisse und die Ausgabe der Spendermilch (Zeitpunkt, Menge) werden schriftlich dokumentiert.

Eine Ausgabe von Spendermilch erfolgt nur nach Vorliegen der Einverständniserklärung (siehe Anhang) für den Empfang von Spendermilch. Die Eltern von Frühgeborenen werden bereits vor der Geburt des Kindes über die Möglichkeit und die Vorteile von Spendermilch informiert. Direkt prä-/bzw. postnatal werden die Eltern nochmals bzw. final aufgeklärt.

Die Gabe von Spendermilch muss schriftlich durch den jeweiligen Stationsarzt angeordnet werden. Die Milch wird dann durch eine Mitarbeiterin der Frauenmilchbank anonymisiert bei Raumtemperatur aufgetaut und anschließend in einem separaten Kühlschrank gelagert. Spendermilch wird für die kommenden 24 Stunden bereitgestellt.

Durch die restriktive Auswahl der Spenderinnen, die Art der Milchgewinnung und die mikrobiologische Testung jeder einzelnen gespendeten Milchportion, kann ein großer Anteil der Spendermilch unpasteurisiert, d.h. roh, für den Nahrungsaufbau extrem unreifer Frühgeborener in den ersten Lebenstagen zur Verfügung gestellt werden. Bis zum Zeitpunkt der Einrichtung der FMB am PNZ Großhadern bestand lediglich die Möglichkeit den enteralen Nahrungsaufbau bei extrem unreifen Frühgeborenen mit Formulanahrung zu beginnen, bis Milch der eigenen Mutter zu Verfügung stand.

Für den fortlaufenden Betrieb der FMB gibt es eine verantwortliche Neonatologin und speziell geschulte Mitarbeiterinnen unter den Pflegenden, die für das Abpumpen und Einhalten der Hygienerichtlinien, die Chargendokumentation etc. verantwortlich sind.

2. Zielsetzung

In der hier vorgelegten Arbeit soll untersucht werden, welchen Effekt die exklusive Ernährung von VLBW - Frühgeborenen mit Single-Donor Spendermilch im Vergleich zu einer historischen Vergleichsgruppe hat. Hierfür wurde am PNZ Grosshadern eine Datenbank von allen Frühgeborenen und deren Ernährungsregime, sowie deren Komplikationen retrospektiv und anonymisiert anhand der Krankenakten und Arztbriefe bei Verlegung angelegt.

Konkret sollten in dieser retrospektiven Analyse folgende Hypothese beantwortet werden:

Primäre Hypothese der Studie:

- Der exklusive und initiale Nahrungsaufbau von Frühgeborenen < 32 Schwangerschaftswochen bzw. <1500g Geburtsgewicht mit roher, gespendeter Frauenmilch bzw. Muttermilch (single-donor) reduziert im Vergleich zu Formula-Nahrung das Auftreten einer NEC und Sepsis.

Sekundäre Zielkriterien:

- Auftreten eines Persistierenden Ductus arteriosus (PDA), von Bronchopulmonaler Dysplasie (BPD) und einer Retinopathia praematurorum (ROP) sowie das neurologische Outcome von Frühgeborenen bei Ernährung mit Spendermilch
- Dauer des enteralen Nahrungsaufbaus von Frühgeborenen
- Stillquote bei Entlassung

3. Patienten und Methoden

3.1. Studiendesign

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine monozentrische, retrospektive Beobachtungsstudie. Es wurden demographische und klinische, standardisiert erhobene Parameter der Frühgeborenen (< 32 SSW, < 1500g) erfasst, die von Januar 2010 bis März 2015 am Perinatalzentrum Grosshadern geboren wurden. Es handelt sich um eine Vollerhebung.

Primäre Endpunkte der Studie waren die Häufigkeiten der NEC und Sepsis.

Sekundäre Endpunkte waren ROP, BPD, PDA, intrazerebrale Blutung ICH, Dauer der parenteralen Ernährung und Ernährung bei Entlassung. Neben der deskriptiven Beschreibung der Kohorte an Spendermilchernährten Frühgeborenen (Frühgeborene der Jahrgänge 2012-2015) erfolgt eine vergleichende Analyse der Endpunkte in einer historischen Kohorte an Frühgeborenen vor Einführung der Frauenmilchbank (Frühgeborene <1500g der Jahre 2010-2012) der Neu- und Frühgeborenen Intensivstation des Perinatalzentrums der LMU München, Campus Großhadern.

Es wurden keine studieninitiierten Behandlungen vorgenommen. Die Kinder wurden innerhalb der untersuchten Zeiträume nach den jeweils aktuellen Ernährungsrichtlinien ernährt und nach den Therapiestandards der Neonatologie am Perinatalzentrum Großhadern versorgt.

Aus der retrospektiven Erhebung anonymisierter Daten über die Dauer und Art des Nahrungsaufbaus sowie neonataler Komplikationen ergab sich kein ethisch-relevantes Problem. Beschrieben wurden lediglich die Häufigkeiten der einzelnen Parameter in den beiden Vergleichsgruppen ohne die Möglichkeit der Rückverfolgung auf den einzelnen Patienten. Die retrospektive Studie mit dem Titel ‚Morbidity und Mortalität von spendermilchernährten vs. Formula-ernährten extremen Frühgeborenen eine retrospektive Beobachtungsstudie am Perinatalzentrum Grosshadern‘ erhielt am 03.05.2017 ein positives Ethikvotum mit der Projektnummer 17-231 (siehe Anhang).

3.2. Patienten

Die Kohortenanalyse der vorliegenden Arbeit umfasst Frühgeborene mit einem Gestationsalter unter 32 vollendeten Schwangerschaftswochen (SSW) und einem Geburtsgewicht (GG) unter 1500 g, die am Perinatalzentrum Großhadern im Zeitraum 02/2010 bis 03/2015 geboren wurden.

3.2.1. Einschlusskriterien

Eingeschlossen wurden alle Frühgeborenen mit einem Gestationsalter bis 32+0 vollendete Schwangerschaftswochen mit einem Geburtsgewicht < 1500g, die in der Neonatologie der Kinderklinik am PNZ Großhadern betreut wurden.

Das Gestationsalter zum Zeitpunkt der Geburt wurde durch die Kollegen der Geburtshilfe und Gynäkologie rechnerisch bestimmt, bei einer Diskrepanz zwischen rechnerisch und sonographisch bestimmten Gestationsalter, wurde das sonographisch in der Frühschwangerschaft bestimmte Alter verwendet.

3.2.2. Ausschlusskriterien

Von der vergleichenden Analyse der beiden Studienzeiträume ausgeschlossen wurden Kinder, die nicht am PNZ Großhadern geboren wurden, außerdem Kinder mit schweren kongenitalen Anomalien, gesicherten chromosomalen Aberrationen, Stoffwechseldefekten, und Kinder, die während des stationären Aufenthaltes verstorben waren.

3.3. Klinische Parameter

Aus den Arztbriefen und Patientenakten wurden untenstehende numerische wie auch nicht numerische Parameter anonymisiert erhoben.

Folgende Parameter wurden in der Datenbank erfasst: Einling/Mehrling, Alter, Geschlecht, Körpermaße bei Geburt, SGA-Status (small-for-gestational-Age) definiert als Geburtsgewicht < 10. Perzentile, Lebenstag (LT) bei Erreichen 120% Geburtsgewicht, Amnioninfektionssyndrom bei positiven Befunden in der Plazentahistologie, Anzahl der Mahlzeiten/24h, Nahrungsbeginn mit Spendermilch oder Formula, Dauer der parenteralen Ernährung in Tagen (d), Ernährung und Ernährungsform bei Entlassung aus Großhadern, Körpermaße bei Entlassung aus Großhadern, Sepsis definiert als CrP > 2 mg/dl und/oder positiver Blutkultur, NEC definiert als \geq Stadium II nach Bell, andere Pathologien des Gastrointestinaltraktes, ROP Stadium nach ophthalmoskopischer Untersuchung bei Entlassung, ICH Stadium entsprechend der Gradeinteilung ermittelt durch Schädelsonographie, Beatmungstage, Anzahl der Tage mit einer $FiO_2 > 21\%$, BPD definiert als Sauerstoffbedarf nach 36+0SSW, PDA erhoben mittels Echokardiographie, Tod, Tage auf Station im Perinatalzentrum Großhadern, Entlassung nach Hause oder Verlegung, bei Verlegung Körpermaße, Ernährung und Datum der Entlassung aus der Verlegungsklinik sowie Alter bei Entlassung nach Hause.

3.4. Datenmaterial und –erhebung

Die Datenerhebung erfolgte nach Erhalt des positiven Votums der Ethikkommission (siehe Anhang). Die klinischen Daten (siehe oben) der Frühgeborenen wurden (retrospektiv) aus den bestehenden Patientenakten erhoben und vollständig anonymisiert in eine Datenbank eingepflegt.

3.5. Statistik

Für die Auswertung der Daten wurden diese anonymisiert in das Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel für Mac 2011 eingetragen und im Anschluss zur deskriptiven Analyse der Daten und zur explorativen Statistik in SPSS 24 (IBM) importiert und weiterbearbeitet.

Als statistisches Signifikanzniveau wurde $p < 0,05$ festgelegt. Zur statistischen Evaluation wurden Verfahren eingesetzt wie die Kaplan-Meier-Analyse, die logistische Regressionsanalyse für die Prädiktion von nominal oder ordinal skalierten klinischen Parametern, der Propensity Score, Chi²-Tests für das Aufdecken von Verteilungsunterschieden nominal skalierten Daten. Alle erhobenen metrischen Daten wurden einem Test auf Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov-Test) unterzogen. Bei Nichtvorliegen der Normalverteilung wurde geprüft, ob durch Anwenden einer geeigneten Transformation die Daten der Normalverteilung genügen. Gelingt die Transformation in normalverteilte Variablen nicht, so wurden nichtparametrische Verfahren zur Hypothesenprüfung wie der Mann-Whitney U-Test für metrische Daten herangezogen. Bei normalverteilten Daten wurde der T-Test angewendet. Begleitet wurde die statistische Aufarbeitung von Frau Dr. Coenen aus dem Institut für Medizinische Informationsverarbeitung Biometrie und Epidemiologie (IBE) der LMU.

4. Ergebnisse

4.1. Demographische Daten

Im Zeitraum der ‚Spendermilch Kohorte‘ wurden 147 Frühgeborene (< 32 SSW; < 1500g Geburtsgewicht) im Perinatalzentrum Grosshadern geboren. Aufgrund des teilweise mangelnden Angebotes bzw. hohen Bedarfs an Spendermilch konnten in diesem Zeitraum 12 Frühgeborene nicht mit Spendermilch versorgt werden (8,2 %).

Die Gesamtkohorte (2010 – 2015) umfasst 309 Kinder (n = 309), davon erfolgte im Zeitraum 2010 – 2012 bei 174 Kindern (56,3%) der Nahrungsaufbau mit Formula und im Zeitraum 2012 – 2015 bei 135 Frühgeborenen (43,7%) der Nahrungsaufbau mit Spendermilch.

Ausgeschlossen wurden von der Gesamtkohorte insgesamt 44 Kinder; davon 4 Kinder mit einem Geburtsgewicht >1500 g (Spendermilchgruppe) und 2 Kinder mit einem Gestationsalter > 32 SSW, 6 Kinder, die außerhalb des PNZ Grosshadern geboren wurden, insgesamt 24 Kinder sind verstorben, 7 Kinder mit Fehlbildungssyndrom (Gastrochisis, V.a. Osteochondroplasiesyndrom. Congenitale Myotone Dystrophie Curschmann Steinert, Trisomie 16 Mosaik mit Herzvitium (TI, Inlet VSD), Septum pellucidum Agenesie, Alkoholembryopathie, Truncus art. Communis) und 1 Kind mit einer Stoffwechselstörung.

Eingeschlossen wurden damit insgesamt 265 Kinder im gesamten Studienzeitraum (2010 – 2015) (Tabelle 9), davon 149 Kinder in der Formula Gruppe (2010 – 2012) und 116 Kinder in der Spendermilchgruppe (2012 – 2015) (siehe Abb. 5). Die folgenden Berechnungen beziehen sich auf die in die Studie eingeschlossenen Frühgeborenen.

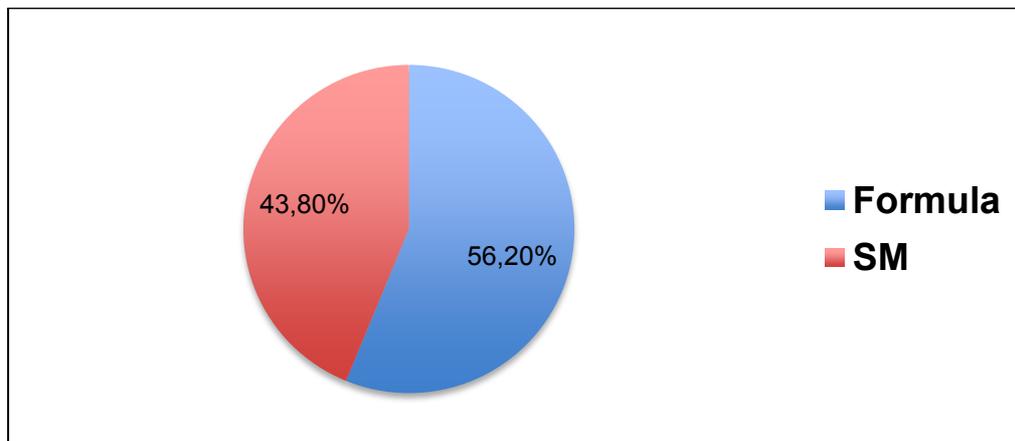


Abb. 5 Verteilung der eingeschlossenen Patienten in der Formula (n= 149) - vs. Spendermilch (n= 116) – gruppe in Form eines Kreisdiagramms.

Die Kinder der Formula Gruppe waren im Mittel 28 + 5 SSW alt und wogen 1043 ± 297 g. Die Kinder der Spendermilch ernährten Gruppe waren im Mittel 27 + 1 SSW alt und wogen 863 ± 235 g (p < 0,005 bzw. p < 0,005, Mann-Whitney-U bei nicht normalverteilten Daten).

Mittelwerte	n	Mittelwert	Standardabweichung
Geburtsgewicht (g) Formula	149	1042,6	± 297,3
Gestationsalter (SSW) Formula	149	28,48	± 2,54
Geburtsgewicht (g) SM	116	862,5	± 235,2
Gestationsalter (SSW) SM	116	27,08	± 2,38

Tab. 10 Mittelwerte des Geburtsgewichts (GG) und Gestationsalters (in SSW) der Gesamtkohorte.

Tabelle 11 zeigt die Verteilung von Geschlecht, Mehrlingen, SGA – Kindern und dem Auftreten eines Amnioninfektionssyndroms in der jeweiligen Gruppe (Formula vs. SM).

	Formula	SM	P Wert
Geschlecht	M = 49,7% F = 50,3%	M = 39,7% F = 60,3%	p = 0,104
Mehrlingsanteil	38,9 %	37,1 %	p = 0,757
SGA	15,4 %	16,4 %	p = 0,835
AIS	27,6%	32,8%	p = 0,364

Tab. 11 Geschlechtsverteilung, Mehrlingsanteil, Anteil an SGA Kindern und Auftreten von Amnioninfektiosnsyndromen in den beiden Gruppen Formula und SM, Signifikanzniveaus im Chi Quadrat Test.

Bezüglich der Geschlechtsverteilung zeigte sich ein Trend in beiden Gruppen (ca. 10% Unterschied), jedoch ohne statistische Signifikanz (Chi Quadrat = 2,637, df = 1, p= 0,104). Der Anteil an Mehrlingen ist in beiden Gruppen etwa gleich groß, ebenso das Auftreten von Small for Gestational Age (SGA) Kindern. Das Auftreten eines Amnioninfektionssyndroms in beiden Gruppen ist nur geringfügig unterschiedlich. Auch hier ergibt sich im Chi Quadrat Test (Wert 0,823, df = 1, p = 0,364) keine statistische Signifikanz.

4.1.1. Häufigkeit der nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) und Sepsis in der Studienkohorte

Um die primäre Hypothese zu bestätigen, dass Spendermilch ernährte Kinder weniger häufig eine NEC erleiden, wurden die Gruppen Formula und SM bzgl. des Auftretens einer NEC miteinander verglichen. Aufgrund der geringen Fallzahl bzw. des schon vor Beginn der Ernährung mit Spendermilch seltenen Auftretens einer NEC in beiden Kohorten war ein Chi Quadrat Test nicht möglich bzw. aussagekräftig. Für eine verwertbare Signifikanzbestimmung mittels Kreuztabelle und Chi Quadrat Test wird mindestens ein Wert von > 5 in jedem Feld gefordert.

Nekrotisierende Enterokolitis	ja	nein	Verdacht
Formula	2 (1,3%)	144 (96,6%)	3 (2%)
SM	1 (0,9%)	115 (99,11%)	0
Gesamt	1,1%	97,7%	1,1%

Tab. 12 Häufigkeit der nekrotisierenden Enterocolitis in beiden Gruppen

Das zweite Zielkriterium der primären Hypothese, die Verringerung der Sepsisrate durch die Ernährung mit Spendermilch, wird ebenfalls mittels Vergleich beider Gruppen überprüft. Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied für das Auftreten einer Sekundärsepsis in beiden Gruppen (Chi Quadrat 0,085, df =1, p = 0,770).

Sepsis	ja	nein	Gesamt
Formula	26 (17,6%)	122 (82,4%)	148
SM	22 (19%)	94 (81%)	116
	48	216	264

Tab. 13 Häufigkeit Sekundärsepsis (LOS) in beiden Gruppen.

4.1.2. Häufigkeit weiterer Morbiditäten der Frühgeburtlichkeit in der Kohorte

Neben dem Einfluss auf das Auftreten von NEC und Sepsis, wurde der Einfluss der Ernährung auf weitere Erkrankungen der Neonatalperiode (PDA, BPD, ROP und Intrazerebrale Blutung) untersucht.

Auftreten von	Formula	SM	p-Wert
PDA	41,8%	62,9%	0.007
BPD	16,9%	36,2%	0.001
ROP	27,5%	36,6%	0.119
ICH	24,8%	25,9%	0.802

Tab. 14 Häufigkeit weiterer Morbiditäten der Frühgeburtlichkeit in der Kohorte, Signifikanzniveau ($p < 0,05$)

Es zeigt sich ein signifikanter Unterschied (Chi Quadrat 12,124, $df=3$, $p= 0,007$) zwischen den beiden Gruppen Formula und SM bzgl. des Auftretens eines PDA. Ein signifikanter Unterschied zeigt sich zwischen den Gruppen Formula und SM bzgl. des Auftretens einer BPD (Chi Quadrat 15,134, $df= 2$, $p= 0,001$) zugunsten der Formula-Gruppe. Kein signifikanter Unterschied (Chi Quadrat 2,426, $df = 1$, $p= 0,119$) besteht zwischen den Gruppen bzgl. des Auftretens einer ROP und des Auftretens einer ICH, PVL, Hydrocephalus oder Plexuszysten.

4.1.3. Enteraler Nahrungsaufbau

Erhoben wurden die Lebenstage an denen die Frühgeborenen jeweils voll oral/enteral aufgebaut waren (siehe Tabelle 15). Die Mittelwerte unterscheiden sich signifikant im Mittel um 1,3 Tage zugunsten der Spendermilchgruppe ($p = 0,014$).

Voll enteral an Lebenstag	n	Mittelwert	p *
Formula	143	11,88 ± 4,752	0,014
SM	116	10,57 ± 3,749	

Tab. 15 Dauer des enteralen Nahrungsaufbaus in Tagen, * Berechnung mittels Mann-Whitney Test bei Normalverteilung

4.1.4. Ernährung bei Entlassung

Um die Dauer der enteralen Nahrung mit Muttermilch einschätzen zu können bzw. den Verlauf des weiteren Ernährungsregimes, wurde die Ernährung bei Entlassung aus dem Krankenhaus nach Hause untersucht (siehe Tabelle 16).

Entlassernahrung	n	Muttermilch + Formulaanteil	ausschließlich Muttermilch
Formula	137	64 (46,7%)	73 (53,3%)
SM	109	37 (33,9%)	72 (66,1%)

Tab. 16 Ernährung bei Entlassung

Der Anteil der ausschließlich mit Muttermilch ernährten Kinder zum Zeitpunkt der Entlassung lag in der Gruppe der initial mit spendermilchernährten Kinder im Mittel um 12% höher als bei den initial Formula ernährten Kindern (Chi Quadrat 4,091, df = 1, p = 0,043).

4.2. Propensity Score

Die beiden beobachteten Gruppen (Formula vs. Spendermilch) waren bezüglich Geschlecht, Schwangerschaftswoche und Geburtsgewicht signifikant unterschiedlich (siehe deskriptive Beschreibung der beiden Studienabschnitte). Aufgrund der überwiegend nicht normal verteilten Daten und der retrospektiven Analyse, wurde der Propensity Score für eine alternative deskriptive Beurteilung der Kohorten angewendet. In diesem Fall wurden die Gruppen für fünf Variablen (SSW, GG, Geschlecht, SGA, AIS) gematched. Die resultierende Gruppengröße ist in Tabelle 17 dargestellt.

	Auswahl Matched Pairs (SSW, GG, Geschlecht, SGA, AIS)	in %
Formula	63	50
SM	63	50
Gesamt	126	100

Tab. 17 Auswahl Matched Pairs und daraus resultierende Gruppengrößen

4.2.1. Häufigkeiten

Eine vollständige Datenerhebung war nicht bei allen Variablen möglich, da teilweise Befunde nicht einsehbar waren oder in den Arztbriefen der Kinderkliniken, in die das jeweilige Kind verlegt wurde, nicht vermerkt waren. Deshalb variieren die Gruppengrößen bzw. die Matches der Kinder bei der Berechnung mit dem Propensity Score teilweise. Bei NEC und ICH ist eine vollständige Erfassung möglich. Bei der Sepsis fehlt ein Fall, bei PDA sieben Fälle, bei der BPD drei Fälle und bei der ROP sieben Fälle.

4.2.2. NEC und Sepsis

Die Häufigkeit von NEC bei SM und Formula nach Matchen durch Propensity Score beträgt in beiden Gruppen 1,6%. Aufgrund der niedrigen Feldwerte ist auch hier die Berechnung durch einen Chi Quadrat Test weiterhin nicht möglich. Bei V.a. eine NEC wurde das gleichen Behandlungsregime angewandt, so dass die Variable, V.a. NEC mit NEC zusammengefasst wurde (siehe Tabelle 18).

NEC (gematchte Kohorte)	n	ja/V.a.	nein
Formula	63	4 (6,3%)	59 (93,7%)
SM	63	1 (1,6%)	62 (98,4%)

Tab. 18 Häufigkeit der NEC (d.h. NEC und V.a. NEC als eine gemeinsame Variable)

In dieser Analyse zeigt sich in der Formula-Gruppe eine höhere Inzidenz (6,3%) für das Auftreten einer NEC (4 Fälle) im Vergleich zu 1 Fall in der Spendermilchgruppe (1,6%). Auch hier ist jedoch aufgrund der geringen Fallzahl pro Feld (< 5) keine Signifikanzberechnung mittels Chi Quadrat Test möglich.

Für das Auftreten einer Sekundärsepsis zeigt sich, wie in der nicht gematchten Analyse, kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen (Chi Quadrat 0,489, df = 1, p = 0,485, siehe Tabelle 19).

Sepsis (gematchte Kohorte)	n	ja	nein
Formula	62	15 (24,2%)	47 (75,8%)
SM	62	12 (19%)	51 (81%)

Tab. 19 Häufigkeit Sekundärsepsis (LOS) in beiden Gruppen nach Matchen durch Propensity Score

4.2.3. Weitere Morbiditäten der Frühgeburtlichkeit nach gematchter Propensity-Score Analyse

Auftreten von (in gematchter Kohorte)	Formula	SM	p-Wert
PDA	30 (53,6%)	36 (57,1%)	0,548
BPD	15 (24,6%)	20 (32,3%)	0,346
ROP	21 (35%)	19 (32,2%)	0,002
ICH	15 (23,8%)	12 (19%)	0,377

Tab. 20 Weitere Morbiditäten der Frühgeburtlichkeit, Signifikanzniveau (p < 0,05)

Im Gegensatz zur Häufigkeit des PDA in der Vollerhebung zeigt sich in der gematchten Analyse kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen (Chi Qudarat Test 2,117, df = 3, p = 0,548). Werden die Werte des PDA in Gruppen zusammengefasst (0= kein PDA, 1= PDA ohne Therapieindikation, 3= irgendeine Therapie des PDA), zeigt sich ebenfalls kein Unterschied in den beiden Gruppen (Chi Quadrat 1,111, df=2, p= 0,574). Unterteilt man die Variablen nur noch in PDA vs. kein PDA, zeigt sich ebenso kein Unterschied in den beiden Gruppen (Chi Quadrat 0,153, df=1, p= 0,696).

Auch in Bezug auf die Häufigkeit der BPD ist in der gematchten Analyse kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen nachweisbar (Chi Quadrat 0,888, df =1, p = 0,346).

In der gematchten Analyse ergibt sich ein signifikanter Unterschied für das Auftreten einer schweren ROP zugunsten der Spendermilchgruppe (weniger ROP, Chi Quadrat 14,434, df =3, p = 0,002). Der Chi Quadrat Test ist aber aufgrund der zu geringen Felderzahl nicht korrekt verwertbar. Kodiert man die Variablen der ROP um (in ‚keine ROP‘ und ‚jegliches Auftreten einer ROP‘) zeigt sich keine Signifikanz mehr (Chi Quadrat 0,104, df = 1, p = 0,747).

Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen für das Nicht-Auftreten einer ICH (Chi Quadrat 6,424, df = 6, p = 0,377). Auch hier sind nicht alle Felder mittels Chi Quadrat Test zu berechnen, aufgrund der niedrigen Fallzahl pro Feld.

4.2.4. Enteraler Nahrungsaufbau

Wie bereits in der Analyse der Gesamtkohorte zeigt sich in der gematchten Analyse eine Signifikanz bzgl. des schnelleren enteralen Nahrungsaufbaus in der mit Spendermilch ernährten Gruppe von Kindern (T-Test p = 0,008). Die Kinder die initial und exklusiv mit Frauenmilch ernährt wurden sind bis zu 2 Tage schneller enteral aufgebaut (siehe Tabelle 21).

<u>Voll enteral an Lebenstag</u>	n	Mittelwert	
<u>(gematchte Kohorte)</u>		(in Tagen)	
Formula	58	12,02	± 3,991
SM	63	10,30	± 2,982

Tab. 21 Mittelwerte der Dauer des enteralen Nahrungsaufbaus nach Matchen mittels Propensity Score, p = 0,008, T-Test bei unabhängiger Stichprobe.

4.2.5. Ernährung bei Entlassung

Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied (Chi Quadrat 3,471, df = 1, p = 0,062) in den Gruppen, bezogen auf den Formulaanteil in der Entlassernahrung, allerdings ergibt sich eine Tendenz zu voll Muttermilch ernährten Kindern in der Spendermilchgruppe (Tabelle 22).

<u>Ernährung bei Entlassung</u>	n	Formulaanteil	Muttermilch pur
Formula	59	30 (50,8%)	29 (49,2%)
SM	59	20 (33,9%)	39 (66,1%)

Tab. 22 Anteil der Kinder, die mit Formula oder purer Muttermilch nach Hause entlassen wurden.

5. Diskussion

5.1. Zusammenfassung der Ergebnisse

Im Zeitraum 2010 – 2015 wurden 309 Frühgeborene < 32 SSW und < 1500g (n = 309) im Perinatalzentrum des Dr. von Haunerschen Kinderospitals am Campus Großhadern betreut. In die hier vorgestellte Analyse wurden insgesamt 265 Kinder eingeschlossen, davon wurden initial 149 Kinder mit Formulanahrung im Zeitraum 2010 – 2012 ernährt. Exklusiv mit unpasteurisierter Spendermilch (Single-Donor) wurden 116 Kinder im Zeitraum 2012 – 2015 ernährt. Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied für das Auftreten einer nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) oder einer Sekundärsepsis in beiden Gruppen.

Aufgrund der unterschiedlichen Gruppengröße und der signifikanten Unterschiede von Geburtsgewicht und Gestationsalter, sowie der unterschiedlichen Geschlechterverteilung in den beiden Gruppen bei Vollerhebung wurden die Daten zur besseren Vergleichbarkeit mittels Propensity Score berechnet und ausgewertet. Hierfür wurden die beiden Gruppen nach SSW, GG, AIS, SGA und Geschlecht gematcht. Im gematchten Studienkollektiv zeigt sich bei den exklusiv mit Spendermilch ernährten Kindern eine geringere Häufigkeit der NEC als in der Gruppe der Kinder die initial Formulanahrung bekamen. Aufgrund der geringen Fallzahlen konnte jedoch keine valide statistischen Testung durchgeführt werden. Die Inzidenz der Sepsis war sowohl im Kollektiv der mit Formula ernährten Kinder als auch bei den mit Spendermilch ernährten Kindern identisch. Es ergab sich kein Unterschied im Auftreten von PDA, BPD oder ICH/zerebralen Komplikationen in den beiden Gruppen. Die Häufigkeit der schweren ROP (Grad II bzw. III mit Plussymptomatik) war in der Gruppe der mit Formula ernährten Kinder signifikant häufiger.

Der enterale Nahrungsaufbau in der Spendermilchgruppe war mit im Mittel zwei Tagen schneller, sowohl in der nicht- als auch in der gematchten Analyse im Vergleich zu Kindern der Formulagruppe. Die Rate an Kindern, die zum Zeitpunkt der Entlassung vollständig mit Muttermilch ernährt wurden, war signifikant höher in der Spendermilchgruppe (66,1%) im Vergleich zu Formulagruppe (53,3% , p = 0,043).

5.2. Studiendesign

Randomisierte klinische Studien sind in der klinischen Forschung fest etabliert, allerdings lassen sich bestimmte Fragestellungen idealerweise mit epidemiologischen Beobachtungsstudien beantworten [125]. Vor allem prospektive randomisierte Studien sind der Goldstandard der medizinischen Forschung.

Aufgrund der bereits bekannten Evidenz der Vorteile von Muttermilch für Früh- und Reifgeborene, der individuellen Entscheidung einer Mutter, ihr Kind mit Muttermilch zu versorgen und des Bestehens der Frauenmilchbank für Frühgeborene am Campus Großhadern seit 2015, war eine randomisierte Studie zur Untersuchung der Auswirkungen des Nahrungsaufbaus ausschließlich mit unpasteurisierter Muttermilch einer Spenderin (Single-Donor) gegenüber Formulanahrung ethisch nicht vertretbar.

Um diesbezügliche Fragestellungen trotzdem bearbeiten zu können, bieten sich Kohortenuntersuchungen an. Zur Untersuchung der vorliegenden Fragestellung wurde deshalb 2015 eine retrospektive Beobachtungsstudie konzipiert und durchgeführt. Zu diesem Zeitpunkt war die Frauenmilchbank am Campus Großhadern bereits drei Jahre in Betrieb. Die zum damaligen Zeitpunkt geltenden Ernährungsleitlinien der Station waren seit 2010 entsprechend den Empfehlungen der ESPGHAN zur parenteralen und oralen Ernährung von Frühgeborenen in Kraft [100, 111]. Vor diesem Hintergrund ist davon auszugehen, dass ein Bias durch möglicherweise unterschiedliche Standards in beiden Gruppenzeiträumen (2010-2012 bzw. 2012-2015) als gering zu bewerten ist. Eine prospektive Erfassung der Daten von mit Spendermilch ernährten Frühgeborenen und deren Vergleich mit einer historischen Kohorte erschien vor dem Hintergrund der geänderten stationsinternen Standards nach Ende 2015 nicht sinnvoll. Darüber hinaus hat der hier angewandte retrospektive Ansatz den Vorteil, relativ zeitnah Ergebnisse zu erhalten, da die Patienten nicht erst rekrutiert werden müssen, sondern die Daten aus Datenbanken und bereits bestehenden Gesundheitsakten erhoben werden können.

Ein Nachteil der retrospektiven Analyse ist die teilweise mangelhafte Datenqualität durch die nachträgliche Erhebung bei teilweise lückenhaften Dokumentation in den Patientenakten, sowie die fehlende Randomisierung der Probanden. Der Propensity Score ist ein statistisches Instrument um den Nachteil der fehlenden Randomisierung in Kohortenuntersuchungen auszugleichen [126].

Der Beobachtungszeitraum der beiden Gruppen wurde, trotz des in der Folge geringen Stichprobenumfangs, aufgrund des bereits beschriebenen Standards zur Ernährung nicht weiter ausgedehnt.

Die Daten der Vollerhebung zeigten signifikante Unterschiede bzgl. der demographischen Parameter Gewicht und Gestationsalter zwischen den beiden Studiengruppen. Beide Parameter beeinflussen nachgewiesenermaßen Morbidität und Mortalität [127-133]. In den letzten Jahrzehnten haben sich die Überlebenschancen von Frühgeborenen mit extrem niedrigem Geburtsgewicht (VLBW) kontinuierlich verbessert. In den 1940er Jahren waren Frühgeborene < 1000g so gut wie nicht überlebensfähig, seit Anfang des 21. Jahrhunderts zeigen sich inzwischen sogar Verbesserungen der Überlebenschancen nach periviablen Geburten (< 24 SSW) [134]. Die deutlich geringeren Mittelwerte von Geburtsgewicht und Schwangerschaftswoche in der Spendermilch Gruppe könnten damit durch die unterschiedlichen Beobachtungszeiträume und die stattgehabten Fortschritte der Therapie sowie einer Fokussierung des Perinatalzentrums des LMU Klinikums, Campus Großhadern auf extrem unreife Frühgeborenen vor dem Hintergrund der Versorgungslage für Frühgeborene im Einzugsgebiet München und Umgebung erklärt werden. Die sogenannte Grenze der Lebensfähigkeit in der Frühgeburtlichkeit, definiert als das Gestationsalter, bei dem die Überlebenschance bei 50% liegt, betrug 2015 in den entwickelten Ländern etwa 23-24 Wochen [127].

Ein weiterer Grund für die Unterschiede bezüglich der demographischen Parameter der beiden Grundkohorten könnte sein, dass im SM Zeitraum (02/2012-03/2015) aufgrund des limitierten Angebotes unserer Frauenmilchbank nicht alle Kinder < 1500 g bzw. 32 SSW mit Spendermilch versorgt werden konnten. Im Rahmen der Triagierung der Versorgung mit Frauenmilch, wurden die Frühgeborenen einer geringeren Schwangerschaftswoche und mit leichterem Geburtsgewicht, sowie extrem SGA Kinder sowie Mehrlingsfrühgeburten bevorzugt mit Spendermilch versorgt. Dies erklärt den

Trend zu unreiferen und leichteren Kindern in der Spendermilchgruppe. Vor diesem Hintergrund ist von einem Selektionsbias in der Spendermilch Gruppe gegenüber der Formula Gruppe auszugehen.

Ein weiterer Kritikpunkt der vorliegenden Kohorten ist der Ausschluss von weiteren 14,2% (n = 44) Kindern aus der Kohorte. Wir halten den Ausschluss allerdings aus den im Folgenden genannten Gründen gerechtfertigt:

i) Bei aus peripheren Kliniken zu verlegten Kindern entsteht ein großer Bias durch unterschiedliche Standards in der Erstversorgung. Diese können die Entstehung einer NEC, ICH oder auch BPD beeinflussen. ii) Außerdem gibt es in anderen erstversorgenden Kliniken sehr unterschiedliche Standards bzgl. des Ernährungsaufbaus, dies kann ebenfalls ein Faktor mit Einfluss auf die Entstehung einer NEC sein. iii) Kinder mit schwerwiegenden Erkrankungen wurden deshalb ausgeschlossen, da diese teilweise ein anderes Ernährungsregime erhalten haben oder ein Nahrungsaufbau im Rahmen ihrer Grunderkrankung vorerst nicht möglich war. Außerdem beeinflussen die genannten Erkrankungen bzw. Fehlbildungen Morbidität und Mortalität der Kinder (i.e. Gastrochisis, V.a. Osteochondroplasiesyndrom, Congenitale Myotone Dystrophie Curschmann Steinert, Trisomie 16 Mosaik mit Herzvitium (TI, Inlet VSD), Septum pellucidum Agenesie, Alkoholembryopathie, Truncus art.communis).

iiii) Bei den ausgeschlossenen verstorbenen Kindern ist keines an einer NEC verstorben, fünf Kinder verstarben an einer fulminanten Sepsis innerhalb der ersten Lebenstage. Das primäre Outcome-Kriterium Sepsis wäre bei Einschluss dieser Kinder zwar nicht beeinflusst worden, da in unserer Arbeit die late onset sepsis (LOS) untersucht wurde, aber die Morbidität wäre hierdurch beeinflusst worden. Fünf Kinder < 23 SSW verstarben bereits in den ersten Lebensstunden bis Tagen, so dass ein Einfluss der Ernährung auf diese Kinder nicht untersuchbar gewesen wäre. Weitere Todesursachen waren Lungenhypoplasie, eine fibrinöse granulomatöse Bronchopneumonie, schwere Hirnblutungen, die bereits innerhalb der ersten Lebenstage zum Tod bzw. zur Therapiezieländerung und im Verlauf zum Versterben führten, eine Enzephalopathie, ein Kind mit therapierefraktären Krampfanfällen, 2 Kinder mit schwerem AIS, ein Kind mit kardialer Fehlbildung (siehe oben), ein Kind mit beidseitigen Spannungspneumothoraces, eine floride CMV Infektion mit pulmonaler und neurologischer Beteiligung, eine systemische Candidainfektion.

Der Ausschluss von weiteren 14,2% der Kinder war demnach gerechtfertigt, da die Kinder aufgrund schwerer Erkrankung neben ihrer Frühgeburtlichkeit oder Tod die Outcomekriterien signifikant beeinflusst hätten und nicht bzw. nicht im ganzen Studienzeitraum beobachtbar waren.

5.3. Propensity Score als statistisches Instrument bei fehlender Randomisierung

Aus oben angeführten Gründen war zur Beantwortung der Fragestellung eine randomisierte Studie nicht möglich. Die zu vergleichenden Gruppen der Gesamtkohorte unterschieden sich bezüglich der demographischen Zusammensetzung signifikant. Zur Optimierung der Aussagekraft der Beobachtungsstudie, wurde daher das statistische Instrument des Propensity Scores angewendet. Der Propensity Score beschreibt die Wahrscheinlichkeit, mit der ein Patient die zu prüfende Therapie erhält. ,Die Propensity Score Methode ist eine gute Alternative zur Auswertung von nicht randomisierten

Therapiestudien' [126], da in manchen Fällen eine Randomisierung nicht bzw. nicht mehr möglich ist, wie bei der vorliegenden Fragestellung in unserem Patientenkollektiv.

Propensity-Score-Methoden werden verwendet, um eine Verzerrung von Behandlungseffekten zu reduzieren [135]. Am gebräuchlichsten ist das Propensity-Score-Matching, bei dem zwei Gruppen von Studienteilnehmern zusammengestellt werden, eine Gruppe, die die Behandlung von Interesse erhielt (in unserem Fall Spendermilch), und die andere, die dies nicht tat (Formula), während Individuen mit ähnlichen oder identischen Propensity-Scores gepaart werden. Die Analyse einer ‚Propensity-Score-Matched-Stichprobe‘ nähert sich dann derjenigen einer randomisierten Studie an, indem Ergebnisse zwischen Personen, die die Behandlung von Interesse erhalten haben, und solchen, die dies nicht getan haben, direkt verglichen werden können [135].

In unserer Analyse des Volldatensatzes unterschieden sich die beiden Gruppen signifikant in Gestationsalter und Geburtsgewicht, deshalb wurden die Gruppen hierfür gematched. Ebenso gab es Unterschiede in der Geschlechtsverteilung. Mehrlinge wurden zusätzlich gematched, da sie im Vergleich zu Einlingen eine höhere Mortalität und ein höheres Risiko für schwere Hirnblutungen aufweisen (vor allem im Bereich der extrem Frühgeborenen, 24 - 27 SSW) [136]. Alle potenziellen Risikofaktoren beim Matching zu berücksichtigen ist jedoch selten möglich [125]. Der Anteil von ‚Small for gestational age‘- Kindern (SGA) (d.h. den Kindern die ein GG < der 10. Perzentile des entsprechenden Gestationsalters hatten) war in beiden Gruppen gleich, so dass dieser Faktor nicht in die Berechnung des Propensity Scores aufgenommen wurde.

Die Propensity Score Methode hat jedoch Limitationen. Denn der Score für jeden Studienteilnehmer basiert auf den verfügbaren gemessenen Patientenmerkmalen. Es kann deshalb weiterhin zu Messfehlern kommen, wenn ungemessene Faktoren die Behandlungsauswahl beeinflussen.

Obwohl Beobachtungsdaten, wie in der hier vorgelegten retrospektiven Studie, kausale Zusammenhänge nicht eindeutig nachweisen oder Behandlungseffekte nicht wie in einer randomisierten klinischen Studie nachweisen können, können diese Methoden unter der Annahme, dass Propensity-Score-Methoden richtig angewendet werden und die Stichprobengröße ausreichend groß ist, eine nützliche Annäherung an die wahrscheinliche Wirkung einer Behandlung liefern [135]. So kann der Propensity Score eine Randomisierung nicht ersetzen, stellt aber eine relevante Alternative zur Auswertung von nicht randomisierten Therapiestudien dar [126].

Dennoch bleiben Propensity-Score-Methoden umstritten, und es gibt bisher keinen Konsens darüber, wann sie anstelle traditioneller Outcome-Regressionsmodelle verwendet werden sollten [137]. In der hier vorgelegten Studie wurden die Kinder aus beiden Gruppen bzgl. der oben angegebenen demographischen Merkmale gematched, der Nachteil der Anwendung dieser Methode ist die deutliche Reduktion des Stichprobenumfangs um ca. 47,5 % (von n = 265 auf n = 126), d.h. in der SM Gruppe n = 63 und in der Formula Gruppe n = 63.

5.4. Primäre Outcomekriterien

5.4.1. Nekrotisierende Enterokolitis (NEC)

Die Rate an Nekrotisierender Enterokolitis (NEC) lag bereits vor Einführung der Frauenmilchbank (2012) am Perinatalzentrum des LMU Klinikums, Campus Großhadern mit ca. 3 % unter dem bundesweiten Durchschnitt (ca. 5-6% [4]). Nach Einführung der Frauenmilchbank wurden noch 2 Fälle von NEC bzw. des Verdachts einer NEC beobachtet. Diese Patienten hatten jedoch pasteurisierte Spendermilch erhalten. Seit 2013 wird ausschließlich rohe Spendermilch ausgegeben und es gab im Beobachtungszeitraum keine weitere NEC mehr am Perinatalzentrum Großhadern (Abbildung 6).

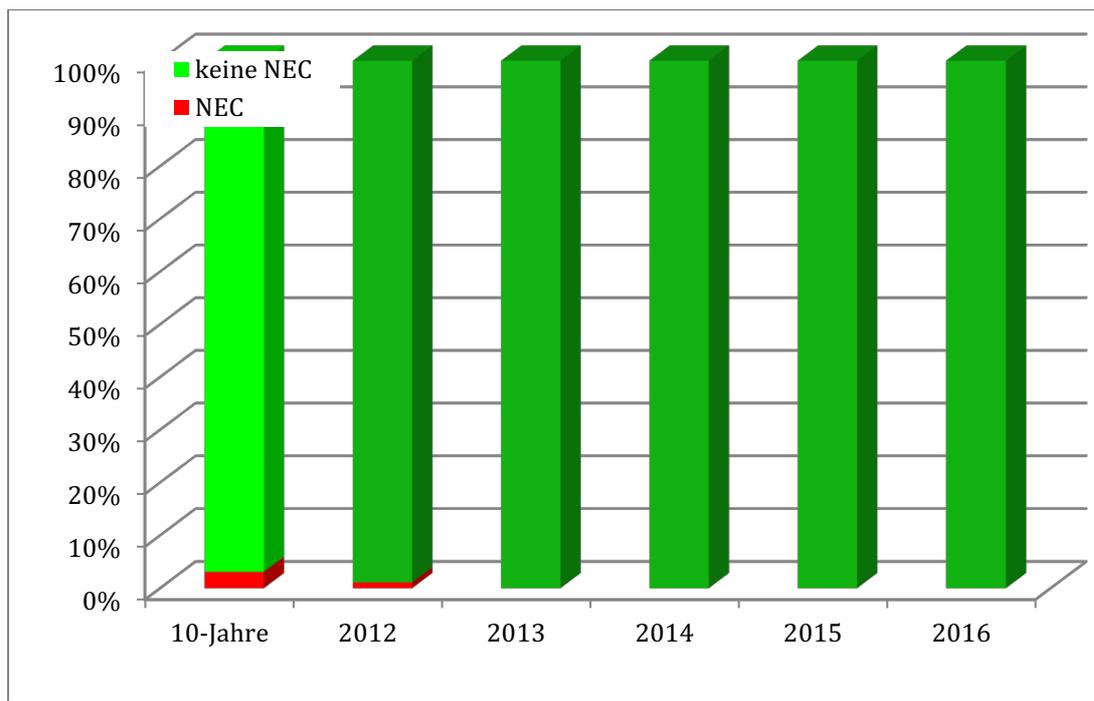


Abb. 6 NEC-Inzidenz vor und nach Einführung der Frauenmilchbank am PNZ Großhadern 2012.

Mit dieser Ausgangslage in der untersuchten Kohorte ist ein statistisch signifikanter Vorteil der geringeren NEC Rate in der SM Gruppe aufgrund der geringen Fallzahl des Ereignisses nicht nachweisbar.

Betrachtet man die Verarbeitung der Spendermilch, zeigt sich, dass in 77% der Kinder Spendermilch roh verfüttert wurde und lediglich in 23% der Kinder aufgrund bakteriologischer Gesichtspunkte eine pasteurisierte Frauenmilch erhielten. In drei Fällen gab es keine sichere Angabe zur Pasteurisierung (siehe Abbildung 7).

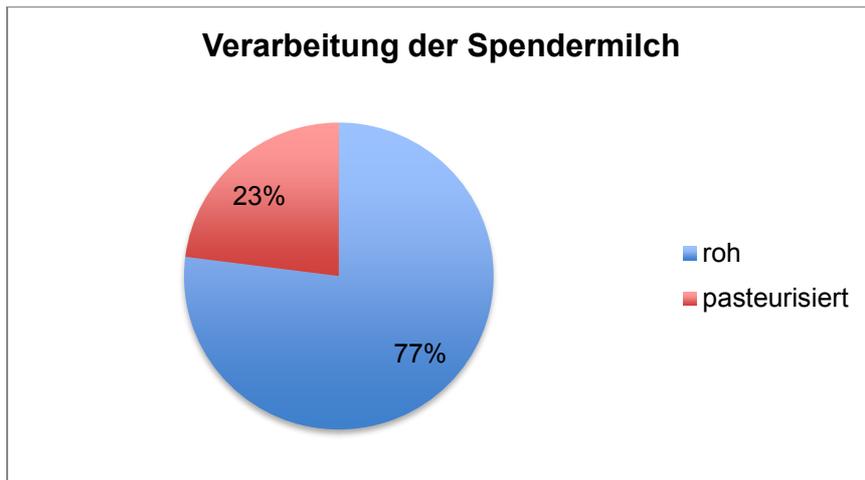


Abb. 7 Verarbeitung der Spendermilch (roh vs. pasteurisiert).

Durch diese Unterteilung der SM Gruppe in rohe vs. pasteurisierte Milch, zeigt sich dann, dass die Kinder die nur rohe Frauenmilch erhalten haben, keine einzige NEC erlitten haben. Vergleicht man nun die Kinder, der SM Gruppe die rohe Spendermilch erhalten haben, mit der Formula Gruppe, ergibt sich wiederum (aufgrund der geringen Fallzahl) kein signifikanter Unterschied. Aber rein deskriptiv trat in der ‚rohen‘ SM Gruppe kein einziger Fall mehr einer NEC auf. Leider ist auch hier die Durchführung des Chi Quadrat Test aufgrund der geringen Zellenbesetzung nicht möglich und es lässt sich keine Signifikanz errechnen. Die Pasteurisierung reduziert möglicherweise den protektiven Effekt der Spendermilch [124].

Bereits 1990 berichteten Lucas und Cole über eine Verringerung der Inzidenz von NEC bei Säuglingen, die nur Muttermilch erhielten [138]. Drei Metaanalysen mit hauptsächlich kontrollierten randomisierten Studien bestätigen, dass die Ernährung mit Spendermilch mit weniger Auftreten von NEC assoziiert ist [34, 35, 139]. Darunter auch die Cochrane Metaanalyse von Quigley und McGuire aus 2013. In einer multizentrischen, randomisierten, kontrollierten Studie mit vergleichbarer Kohortengröße (n = 53) zeigen Cristofalo et al., dass die Inzidenz von NEC geringer und von operationsbedürftiger NEC signifikant geringer in der Spendermilchgruppe als in der Formulagruppe war [49]. Hier ist jedoch kritisch anzumerken, dass die NEC Rate in der Formulagruppe bei 21% lag und die Dauer der parenteralen Ernährung sehr lang war, so dass dies die Aussagekraft der Studie sicherlich einschränkt.

Weitere, vor allem prospektive, randomisierte Studien mit großen Fallzahlen sind notwendig, um den Effekt von Spendermilch (insbesondere von nicht pasteurisierter vs. pasteurisierter Spendermilch) bezüglich der Inzidenz der NEC nachweisen zu können. Die geringe NEC Rate (n = 4) am PNZ Großhadern seit 2013 (Stand 2019) ist eine Bestätigung des klinischen Erfolgs der exklusiven Ernährung mit nicht-pasteurisierter Spendermilch. Sicherlich haben Faktoren wie eine verbesserte perinatale Betreuung, eine höhere Rate an durchgeführter pränataler Steroidprophylaxe, standardisierte Erstversorgungsabläufe und ein schonender und zügiger Nahrungsaufbau mit der Umstellung auf häufigere, kleine orale Milchmahlzeiten seit 2016 ebenfalls einen Einfluss auf das Risiko des Auftretens einer NEC.

Ein möglicher, ursächlicher Unterschied bezüglich der NEC Entstehung zwischen Formula und humaner Milch könnte in der Menge, Diversität und Komplexität der in Muttermilch enthaltenen Oligosaccharide liegen [140]. Oligosaccharide der humanen Milch (HMO) wirken präbiotisch und antimikrobiell, können das Immunsystem des Säuglings modulieren und die Infiltration und Aktivierung der neutrophilen Schleimhäute reduzieren [140]. Im Tiermodell konnte bereits der Nachweis erbracht werden, dass die Zusammensetzung der HMO in Muttermilch zu einer Reduktion der NEC Inzidenz führt [140]. Humane Studien zum protektiven Mechanismus der Oligosaccharide fehlen jedoch noch.

5.4.2. Sepsis

Humane Milch enthält bioaktive Substanzen, die das Risiko für eine Sepsis reduzieren; möglicherweise enthält Kuhmilch-basierte Formula Nahrung Faktoren, die das Risiko erhöhen [141]. In der hier untersuchten Kohorte zeigte sich kein signifikanter Vor- bzw. Nachteil von SM gegenüber Formula bezogen auf das Auftreten einer (Sekundär-)Sepsis. Patel et al. beobachteten in ihrer prospektiven Kohortenstudie mit 175 Kindern eine dosisabhängige Reduktion der Sepsisrate in ihrem Kollektiv extrem unreifer Frühgeborener, die unterschiedliche Anteile an Muttermilch in den ersten 28 Lebenstagen erhalten haben [48]. Corpeleijn et al. und Schanler et al. vergleichen in ihren randomisierten Studien pasteurisierte SM mit Formula und sehen keinen Vorteil in der Verhinderung von schweren Infektionen bzw. ‚Late onset Sepsis‘ (LOS) bei den Spendermilch-ernährten Kindern [141, 142]. Allerdings wurde in der Studie von Corpeleijn et al. „nur“ die ersten 10 Tage randomisiert, in denen zusätzlich zur eigenen Muttermilch entweder Formula oder SM gegeben wurde. Der Anteil an eigener Milch im Studienzeitraum lag bei 89,1% vs. 84,5% in der SM vs. Formulagruppe. Daher ist es nicht überraschend, dass sich kein Unterschied in den beiden Gruppen zeigt. Hinzu kommt, dass die Milch pasteurisiert verfüttert wurde und sich so der protektive Aspekt von SM abgeschwächt haben könnte. Bei Schanler et al. zeigte sich ebenfalls keine Überlegenheit von SM vs. Formula bezüglich einer LOS, aber es zeigte sich ein Trend hin zu weniger LOS bei den Kindern, die überwiegend mit eigener MM ernährt wurden – dies könnte ein Hinweis dafür sein, dass Pasteurisierung den protektiven Werte der MM abschwächt.

Im hier vorgestellten Kollektiv haben die Kinder der Spendermilchgruppe hauptsächlich nicht-pasteurisierte, also rohe Spendermilch erhalten. Der Vorteil der rohen Frauenmilch liegt zum einen im Erhalt verschiedener immunmodulatorisch wirksamer Substanzen und zum anderen in der Persistenz des Frauenmilch-eigenen Mikrobioms. Allerdings birgt die Verwendung natürlich auch die Gefahr, dass pathogene Erreger, die im Rahmen einer Pasteurisierung eliminiert werden würden, in roher Milch erhalten bleiben und zu einer Infektion im Spendermilch-ernährten Kind führen. Dieses Risiko besteht sowohl in Bezug auf pathogene Bakterien in relevanter Keimzahl als auch in Bezug auf Viren, hier vor allem das Cytomegalievirus. Zur Protektion der Empfängerkinde verwendet die Frauenmilchbank am Perinatalzentrum des LMU Klinikums, Campus Großhadern lediglich Milch von Spenderinnen, die bisher keine Infektion mit Cytomegalie durchgemacht hatten und damit einen negativen Nachweis auf CMV-Antikörper haben. Jede einzelne Milchprobe wird bakteriologisch untersucht und wird nur zur Spende freigegeben, wenn keinerlei pathogene Erreger bzw. Kommensale eine gewisse Keimzahl nicht überschreiten (siehe Anhang). In der hier untersuchten Kohorte zeigte sich, dass die Kinder trotz der

Ernährung mit nicht-pasteurisierter Milch, keine höhere Rate an Sekundärsepsen bzw. schweren Infektionen erlitten. De Silva et al. schlussfolgern in ihrem Review von 2004, dass die Ergebnisse aus neun Studien (drei randomisierten und sechs prospektiven Beobachtungs-Studien) darauf hindeuten, dass humane Milch eine schützende Wirkung bei der Verringerung von Infektion im Vergleich zu Formula hat. Insgesamt wurden 1131 Säuglinge - 769 Säuglinge aus Kohortenstudien und 362 aus randomisierten Studien – untersucht. Die Ernährung mit humaner Milch führte auch hier in keiner Studie zu einer Erhöhung der Infektionsraten [47]. Ein Kritikpunkt an diesem Review ist die unterschiedliche Definition von humaner Milch in den zugrunde liegenden neun Studien: es wird teilweise pasteurisierte, rohe und/oder ‚gepoolte‘ (d.h. eine Milchportion von verschiedenen Spenderinnen) Milch in unterschiedlicher Menge oder auch nur Kolostrum verwendet.

Wir konnten in hier untersuchten Kollektiv keine signifikante Reduktion der Sepsisrate bei den Spendermilch-ernährten Kindern zeigen. Umgekehrt konnte jedoch auch keine Erhöhung der Infektionsrate aufgrund des Verfütterns von roher Spendermilch beobachtet werden. Der Gebrauch roher Spendermilch wird immer noch kontrovers diskutiert, wie Cossey et al. in einer randomisiert kontrollierten Studie [143] konnten aber auch in der hier vorgelegten Untersuchung gezeigt werden, dass die Kinder der Spendermilch-Gruppe keine höhere Sepsisrate hatten. Dennoch beinhalten die aktuellen Empfehlungen für den Betrieb einer Frauenmilchbank und die Bereitstellung von Spendermilch die ausschließliche Verwendung von pasteurisierter Milch [144].

Die Inzidenz der neonatalen Sekundärsepsis (LOS) steht in umgekehrter Beziehung zum Reifegrad des Neugeborenen und variiert geografisch zwischen 0,61% und 14,2% bei hospitalisierten Neugeborenen [145]. Boghassian et al. geben eine Inzidenz für LOS von 25,0% bei Einlings- und 22,6% bei Mehrlingsgeburten von VLBW-Kindern an [146]. Die Prävalenz einer LOS in der hier untersuchten Kohorte liegt mit 19% in der SM Gruppe deutlich unter den in der Literatur berichteten Raten. Es kann demnach postuliert werden, dass aufgrund der geringen Ausgangsrate an Septitiden und der insgesamt niedrigen Fallzahl ein positiver Effekt der exklusiven Ernährung mit roher SM möglicherweise nicht nachweisbar war.

5.5. Sekundäre Outcomekriterien

In der hier untersuchten Kohorte zeigte sich im Volldatensatz ein Unterschied bzgl. des Nicht-Auftretens eines PDA zugunsten der Formula-Gruppe. Dies ist am wahrscheinlichsten durch das höhere mittlere Geburtsgewicht und das höhere mittlere Gestationsalter in dieser Kohorte bedingt. Die Inzidenz des PDA steht in umgekehrt proportionaler Beziehung zum Geburtsgewicht und zum Gestationsalter [147, 148]. Risikofaktoren für einen PDA sind Frühgeburtlichkeit, fehlende pränatale Steroide, Atemnotsyndrom und die Notwendigkeit einer mechanischen Beatmung [147]. Nach Matching mittels Propensity Scores zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. In einer retrospektiven Studie von Maayan-Metzger et al. zeigt sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen den Spendermilch- und den Formula-ernährten Kindern [149], was die Ergebnisse der hier gezeigten Untersuchung stützt.

Möglicherweise kann aber die frühe Ernährung mit SM bzw. Muttermilch über einen schnelleren Nahrungsaufbau [49] zu einer gesteigerten Darmperfusion und damit einem Herabsetzen des

Systemwiderstandes führen, wodurch es im Ductus arteriosus leichter zu einer Shuntumkehr und somit zu dessen früherem Verschluss kommt. Park et al. zeigten hierzu in einer randomisierten Studie dass Verzögerungen bei der Nahrungsaufnahme von Säuglingen mit einem PDA signifikant häufiger mit einer chirurgischen Therapie des PDA verbunden war [150].

Die Bronchopulmonale Dysplasie (BPD) ist eine chronische Lungenerkrankung, die Frühgeborene betrifft. In der Vergangenheit betraf die BPD etwa 30% der Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht unter 1000 Gramm. Sanftere Beatmungstechniken, pränatale Steroide und die Behandlung mit Surfactant haben die Inzidenz dieser Lungenschäden reduziert. Trotz dieser Fortschritte geht die Inzidenz der BPD nicht wesentlich zurück, sondern das klinische Bild der BPD hat sich gewandelt [151]. Mehrere Faktoren gelten als verantwortlich für die Veränderung der Lungenentwicklung und können in der Folge die Entstehung der BPD unterstützen. Neben der pränatalen Entzündung spielt die Ernährung eine wichtige Rolle für die normale Entwicklung und Reifung der Lunge [152]. Die Ernährung hat einen direkten Einfluss auf die sich entwickelnde Lunge, da sie die Lungenstruktur modulieren kann [151].

Bezüglich des Auftretens einer Bronchopulmonalen Dysplasie (BPD), definiert als Sauerstoffbedarf an Lebenstag 28 bzw. in SSW 36 + 0, ergab sich kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen der hier untersuchten Kohorte, auch nicht nach Matching mittels Propensity Score. In verschiedenen Untersuchungen konnte aber ein Vorteil der Spendermilch Ernährung von Kindern für das Risiko der Entwicklung einer BPD nachgewiesen werden: Daten aus dem Deutschen Neonatalen Netzwerk (GNN) von Spiegler et al. zeigen, dass ausschließlich mit Formula ernährte Kinder ein 2,6-fach höheres Risiko haben, eine BPD zu entwickeln [54]. In einer Metaanalyse aus 8 Beobachtungsstudien konnten Villamor-Martinez et al. wiederum zeigen, dass eine Ernährung mit Spendermilch das Risiko einer BPD senkt [153]. Zwei Studien zeigen vor allem, dass eine Ernährung mit roher Muttermilch (im Vergleich zu pasteurisierter Muttermilch) vor BPD eher schützt [143, 154]. Patel et al. sehen zudem eine Reduktion der Odds Ratio von 9,5% für BPD (nach multivariater Analyse) pro 10% Steigerung der eigenen Muttermilchportion [87]. Dass in der hier gezeigten Kohorte kein Effekt auf das Auftreten einer BPD gesehen wurde, kann einerseits den etwas leichteren bzw. jüngeren Kindern in der Spendermilchgruppe geschuldet sein, und andererseits durch die Verringerung der Fallzahl nach Anwendung des Propensity Scores erklärt werden.

Die Retinopathia praematurorum (ROP) ist eine multifaktorielle Erkrankung, und Risikofaktoren wie niedriges Gestationsalter, Sauerstofftherapie und oxidativer Stress werden mit ihrer Entstehung in Verbindung gebracht [155]. Humane Milch enthält eine Reihe von antioxidativen Komponenten, die potenziell vor ROP schützen könnten [156]. Nach Matchen mittels Propensity Score ergab sich in der hier untersuchten Kohorte ein signifikanter Vorteil für die Kinder, die initial Spendermilch erhalten hatten, keine schwere ROP zu entwickeln. Diese Ergebnisse werden gestützt von Daten aus der Literatur. So deuten die Ergebnisse der Metaanalyse aus 5 Studien von Zhou et al. deuten darauf hin, dass die Verfütterung von Muttermilch bei extremen Frühgeborenen eine Rolle bei der Prävention der ROP jeden Stadiums und insbesondere bei der Prävention der schwerern ROP spielen könnte [156]. Spiegler et al. fanden darüber hinaus ein 1,8-fach höheres Risiko für die Entstehung einer ROP, wenn Frühgeborene mit Formula ernährt werden [54].

Die Vorteile einer Ernährung mit humaner Milch - Spendermilch bzw. Muttermilch - hinsichtlich des neurologischen Outcomes zu messen bzw. zu bewerten ist komplex. Als Kurzzeitkriterium kann die Rate an intrazerebraler Blutung bzw. periventrikulärer Leukomalazie herangezogen werden.

In der hier vorgestellten Kohorte zeigte sich in beiden Gruppen kein Unterschied bezüglich des Auftretens einer ICH oder schwerer zerebraler Komplikationen wie PVL oder Hydrocephalus. Die bisher veröffentlichten Publikationen beschäftigen sich allerdings hauptsächlich mit dem längerfristigen neurologischen Outcome, gemessen beispielsweise mittels Bayley-Testung im Alter von 18 bzw. 24 Monaten. In einer randomisierten Studie von O'Connor et al. wurde kein Vorteil der Spendermilch-ernährten Kinder für die neurologische Entwicklung (gemessen anhand Bayley Scales III) im Alter von 18 Monaten gesehen [157]. Vohr et al. hingegen sahen einen Vorteil in der Verfütterung von Muttermilch auf der neonatologischen Intensivstation für Kinder mit extrem niedrigem Geburtsgewicht nach korrigiert 30 Monaten [53]. Die Metaanalyse von Koo et al. ergab, dass es bisher keine randomisierte klinische Studie gibt, in der das neurologische Outcome von Frauenmilch- bzw. Spendermilch-ernährten Kindern mit Formula-ernährten Kindern verglichen wurde, welche nur extrem Frühgeborene eingeschlossen hatte. Bisherige Studien weisen relevante methodische Einschränkungen auf, obwohl einige Daten einen möglichen protektiven Effekt auf die neurologische Entwicklung durch Muttermilch-Fütterung nach der Geburt und einen möglichen Dosiseffekt der Muttermilch-Fütterung hinweisen [158].

Das weniger entwickelte noch unreife Gehirn von extremen Frühgeborenen, könnte theoretisch von der Fütterung mit Muttermilch profitieren, da es kritische Nährstoffe wie langkettige mehrfach ungesättigte Fettsäuren (LCPUFA) und möglicherweise andere neurotrophe Faktoren enthält [158]. Dies wird durch eine Metaanalyse von Anderson et al. gestützt, die bereits 1999 eine Verbesserung des kognitiven Ergebnisses bei Säuglingen mit niedrigem Geburtsgewicht zeigten, die anstelle von Formula, Muttermilch erhielten [159]. Lucas et al. berichten über eine Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen dem Anteil der Muttermilch in der Nahrung und dem IQ im Alter von 7,5 - 8 Jahren und weisen auf eine positive Wirkung von Muttermilch bezogen auf die neurologische Entwicklung Frühgeborener hin [160]. In all diesen Studien wurden jedoch die perinatalen und postnatalen Komplikationen, sozialen und umweltbedingten Faktoren, die die neurologische Entwicklung dieser Kinder zusätzlich beeinflussen (können), nicht ausreichend bzw. kaum kontrolliert.

Zusammenfassend zeigt sich also, dass die Rolle von Spendermilch in der neurologischen Entwicklung und kognitiven Funktion von extremen Frühgeborenen dringend eine Neubewertung mit qualitativ hochwertigen, prospektiven und randomisierten Studien erfordert, in der auch die peri- und postnatalen Komplikationen (wie z.B. intrazerebrale Blutungen) erfasst werden.

Die neurologische Entwicklung eines Kindes ist schwer in nur einer Untersuchung erfassbar. Der Bayley-Test (Bayley-II oder Bayley-III), nach der amerikanischen Psychologin Nancy Bayley benannt, wird von vielen verschiedenen Variablen beeinflusst und nicht alle positiven Entwicklungsschritte bei extrem Frühgeborenen sind allein auf den Erhalt von Muttermilch zurückzuführen.

Dennoch gibt es Hinweise, dass die Ernährung mit Muttermilch die Bindung von Mutter und Kind fördert. Diese Kinder gehen meistens, eher gestillt nach Hause. Möglicherweise führt auch diese engere Bindung zu einer verbesserten neurologischen Entwicklung. Von großem Interesse wären deshalb,

Bayley-Daten der Kinder z.B. dieser Studie zu erheben, um die neurologische Entwicklung beurteilen bzw. eingrenzen zu können, dies war allerdings nicht Ziel der vorliegenden Arbeit und sollte in einer weiteren Studie untersucht werden.

5.5.1. Enteraler Nahrungsaufbau

Hair et al. wiesen in ihrer Arbeit nach, dass eine längere Dauer mit Totaler Parenteraler Ernährung (TPN) mit einem erhöhten Risiko von Late onset Sepsis (LOS) assoziiert ist ($p < 0.001$) [161]. Ghandehari et al. haben in einer randomisierten Studie gezeigt, dass eine vollständige Ernährung mit humaner Milch die Wahrscheinlichkeit einer Total Parenteralen Ernährung (TPN) für extrem Frühgeborene, im Vergleich zu einer Ernährung mit Formula, signifikant reduziert [162]. In der hier untersuchten Kohorte konnte ein signifikant schnellerer Nahrungsaufbau – um 2 Tage - bei den initial Spendermilch-ernährten Kindern nachgewiesen werden. Hierdurch wird die Dauer der TPN signifikant und klinisch relevant reduziert. Die durch einen schnelleren Nahrungsaufbau postulierte Reduktion an Sekundärinfektionen konnten wir in der hier untersuchten Kohorte nicht nachweisen. Dies kann zum einen auf die limitierte Fallzahl der Untersuchung zurückgeführt werden. Ein weiteres Problem der statistischen Aufarbeitung ist die Definition der Sekundärsepsis. Der Goldstandard der Diagnostik einer Sekundärinfektion, die positive Blutkultur, ist aufgrund der geringen Blutabnahmemengen bei Frühgeborenen und dem sofortigen Beginn einer antibiotischen Therapie bei klinischem Verdacht häufig auch vor Abnahme einer Blutkultur, nur eingeschränkt verlässlich. Surrogat Parameter, wie die Liegedauer und Häufigkeit zentraler Katheter wurden in der vorliegenden Studie jedoch nicht erfasst.

5.5.2. Ernährung bei Entlassung

Initial mit Spendermilch ernährte Kinder konnten zu einem höheren Anteil mit purer Muttermilch ernährt, nach Hause entlassen werden. Alle im Perinatalzentrum Grosshadern entbundenen Mütter erhalten eine intensive Stillberatung und -unterstützung während des stationären Aufenthaltes. Eine mögliche Erklärung für diesen Effekt könnte eine stillfreundlichere Grundhaltung sowohl der Mitarbeiter als auch der Mütter nach Einführung von Spendermilch sein. So konnten auch Williams et al. zeigen, dass die Einführung von Spendermilch einen signifikant positiven Einfluss auf das Stillen bei Entlassung hatte [163]. Diese Ergebnisse gewinnen besondere Bedeutung, wenn man sich die Empfehlungen der American Academy of Pediatrics [50] und WHO vor Augen führt, die zeigen, wie wichtig und sinnvoll das Stillen bzw. die Ernährung mit Muttermilch über die ersten 6 Lebensmonate hinaus ist. Im Jahr 2012 verließen in den USA beispielsweise nur 6% der Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht unter 1500g voll gestillt das Krankenhaus nach Hause [164]. In Deutschland liegt die Stillrate aller Neugeborenen bei ca. 72-97%, wobei in den ersten zwei Monaten ein starker Abfall zu beobachten ist [165]. Diesen Abfall gilt es sowohl bei Früh- als auch bei Neugeborenen durch eine gute Still- und Laktationsberatung, sowie entsprechende Aufklärung der Eltern zu vermeiden. Aufgrund der fehlenden Nachverfolgung der Kinder lassen sich leider keine Aussagen über die gesamte Stilldauer der Früh- und Neugeborenen des PNZ Großhadern machen.

6. Zusammenfassung und Ausblick

Muttermilch gilt heute als das beste und einfachste Fast Food der Welt. Frauenmilch ist dabei nicht nur ein Nahrungsmittel, sondern ein bioaktives dynamisches System. Für Frühgeborene ist eine Ernährung mit Muttermilch eine zwingende medizinische und damit zugleich therapeutische Intervention, da sie die typische Morbidität dieser Kinder signifikant reduzieren, die Überlebensrate erhöhen und die Langzeitergebnisse verbessern kann. Menschliche Muttermilch ist daher nicht nur eine perfekt angepasste Nährstoffversorgung für den Säugling, sondern wahrscheinlich die spezifischste personalisierte Medizin, die er oder sie erhalten kann. Dies ist eine Chance für die gesundheitliche Prägung, die nicht verpasst werden sollte. Die Bereitstellung von Spendermilch fällt deshalb eine überragende Rolle in der Betreuung sehr unreifer Frühgeborener zu. Durch die physiologische Adaptation der Frauenmilch an die Bedürfnisse des Neugeborenen in Abhängigkeit von der Gestationswoche bei Geburt, kommt die Bereitstellung von ausschließlich Frauenmilch zur Ernährung dieser Kinder einer personalisierten Medizin sehr nahe. Auch in der hier vorgestellten Kohorte konnten, trotz eines kleinen Stichprobenumfangs, die Vorteile der Ernährung extrem Frühgeborener mit Spendermilch gegenüber Formula-Nahrung bestätigt werden. Die ausgeprägte Reduktion der NEC Rate machte sich bereits vor Beginn der Studie im klinischen Alltag sichtlich bemerkbar, da am Perinatalzentrum des LMU Klinikums im Beobachtungszeitraum keine NEC mehr beobachtet wurde. Der Gebrauch roher Spendermilch wird in der Literatur immer noch kontrovers diskutiert, anhand der hier vorgelegten Daten konnte jedoch gezeigt werden, dass Frühgeborene in Bezug auf die Rate an Sekundärsepsis keinem erhöhten Risiko ausgesetzt sind. Dass der Anteil der Kinder, die Muttermilch-ernährt nach Hause gehen nach initialem Erhalt von Spendermilch größer ist, ist ein sehr positives Ergebnis dieser Erhebung. Bedingt durch den schnelleren enteralen Nahrungsaufbau, ist eine kürzere Liegedauer von zentralen oder peripheren Zugängen zu erwarten, so dass das Risiko einer Sekundärinfektion sogar vermindert werden könnte. Wir postulieren, dass dieser Effekt erst in größeren Studienkollektiven erkennbar wird. Um den Effekt der Muttermilch in kontrollierten prospektiven randomisierten Studie nachzuweisen, wäre eine Möglichkeit, eine Studie bei größeren Kindern >1250 g durchzuführen und diese in den ersten Lebenstagen randomisiert mit MM oder Formula zu ernähren. Im Rahmen der täglichen klinischen Arbeit und nach dieser retrospektiven Erhebung wurde beobachtet, dass vor allem Kinder mit einem Geburtsgewicht zwischen 1000 - 1500g aktuell selten bzw. nicht immer mit Spendermilch (aufgrund des mangelnden Angebotes) versorgt werden können. Diese Tatsache würde es ermöglichen, in diesem engen, definierten Kollektiv eine randomisierte Studie zum Einfluss von Spendermilch zu planen und durchzuführen.

Durch exklusive Ernährung mit humaner Frauenmilch lassen sich Morbidität und Mortalität extremer Frühgeborener zusätzlich reduzieren. Um diese Chance ergreifen zu können, muss das Angebot an Spendermilch vom ersten Lebenstag an und auch die anschließende Bereitstellung eigener Muttermilch erhöht werden. Hierfür benötigen die meisten neonatologischen Abteilungen eine noch bessere Laktationsunterstützung. Angefangen bei vermehrt ausgebildeten Still- und Laktationsberaterinnen, sowie der Bereitstellung von entsprechenden Räumlichkeiten. Spendermilch aus klinikeigenen Frauenmilchbanken sollte deshalb eine infrastrukturelle Forderung der Gesundheitsversorgung für Frühgeborene werden.

7. Anhang

7.1. Dokumente Frauenmilchbank

7.1.1. Vorgehen nach Erhalt des mikrobiologischen Befundes der Muttermilchprobe

Keimzahl	Keimdifferenzierung	Maßnahme
0 /ml	Kein Bakterienwachstum	<ul style="list-style-type: none"> ▪ uneingeschränkte Verwendung der Spendermilch
≤ 10 ⁵ /ml	Pathogene Keime	<ul style="list-style-type: none"> ▪ keine Verwendung der Spendermilch, sowie aller vorherigen Portionen bis zur letzten „sauberen“ Testung ▪ Information an den Arzt ▪ Erneute bakteriologische Kontrolle nach Hygieneinstruktion der Spenderin (ca. 2 Tage danach)
	Kommensale	<ul style="list-style-type: none"> ▪ uneingeschränkte Verwendung der Spendermilch ▪ ggf. hygienische Instruktion der Spenderin
	Probiotische Flora	<ul style="list-style-type: none"> ▪ uneingeschränkte Verwendung der Spendermilch
> 10 ⁵ /ml	Pathogene Keime	<ul style="list-style-type: none"> ▪ keine Verwendung der Spendermilch, sowie aller vorherigen Portionen bis zur letzten „sauberen“ Testung ▪ Information an den Arzt ▪ Erneute bakteriologische Kontrolle nach Hygieneinstruktion der Spenderin (ca. 2 Tage danach)
	Kommensale	<ul style="list-style-type: none"> ▪ keine Verwendung der Spendermilch, sowie aller vorherigen Portionen bis zur letzten „sauberen“ Testung ▪ Information an den Arzt ▪ Erneute bakteriologische Kontrolle nach Hygieneinstruktion der Spenderin (ca. 2 Tage danach)
	Probiotische Flora	<ul style="list-style-type: none"> ▪ uneingeschränkte Verwendung der Spendermilch

Pathogene Keime: *Staphylococcus aureus*, Enterobacteriaceae, Nonfermenter, β-hämolyisierende Streptokokken der Gruppe A + B, Pneumokokken, *Bacillus cereus*, *Listeria* sp.

Kommensale: Koagulase-negative Staphylokokken, coryneforme Bakterien, vergrünende Streptokokken, nicht-hämolyisierende Streptokokken, Enterokokken, *Micrococcus* sp., *Leuconostoc* sp.

Probiotische Flora: *Lactobacillus* sp., Bifidobakterien

7.1.2. Aufklärungsbogen zum Erhalt von Spendermilch



EINWILLIGUNG ZUM ERHALT VON GESPENDETER FRAUENMILCH

Liebe Eltern,

Muttermilch ist unbestritten die optimale Ernährung für den Säugling. Vor allem für zu früh geborene oder kranke Neugeborene bietet Muttermilch besondere Vorteile.

Steht jedoch zu wenig oder keine Muttermilch zur Verfügung, ist gespendete Frauenmilch die beste Alternative für Ihr Baby.

Mit Unterstützung von FrühStart ins Leben e.V. und der Stiftung "MSD – Neighbours of choice" sind wir seit kurzen in der Lage, Ihrem Kind Spendermuttermilch anzubieten.

Die Frauenmilchbank am Perinatalzentrum Großhadern stellt Spendermilch ausschließlich kostenlos zur Verfügung. Die Ablehnung zum Erhalt von gespendeter Frauenmilch ist mit keinerlei Nachteilen für die Mutter oder ihr Kind verbunden.

Diese Milch stammt ausnahmslos von gezielt ausgewählten Müttern, die nach strengen Kriterien, welche sich an die Blutspende anlehnen, ausgesucht werden. Die Spenderinnen werden auf Erreger für Hepatitis B, Hepatitis C, HIV, CMV und Syphilis getestet. Die Laboruntersuchungen können die genannten Infektionen, besonders in der Frühphase, jedoch nicht zu 100% ausschließen. Für die Empfänger von gespendeter Frauenmilch verbleibt ein geringes Restrisiko, sich eine solche Infektion zuzuziehen.

Des Weiteren wird die gespendete Milch regelmäßigen mikrobiologischen Untersuchungen unterzogen und auf ihren Bakteriengehalt geprüft, um auch hier die Übertragung von Infektionen zu minimieren.

Wir sind/ich bin über die Vorteile und Risiken der Frauenmilchspende durch den Arzt/die Ärztin informiert worden. Ebenso ist uns/mir die Gelegenheit offen gestanden, bei Unklarheiten nachzufragen.

Wir erklären uns/ich erkläre mich damit einverstanden, dass unser/mein Kind die Milch einer anonymen Spenderin erhält.

Name der Mutter/des Vaters:

Name des Kindes:

Geburtsdatum:

Unterschriften der Eltern

bzw. des gesetzlichen Vertreters:

Datum:

Name des Arztes/der Ärztin:

Unterschrift Arzt/Ärztin:

Datum:



7.1.3. Aufklärungsbogen zur Spende von Muttermilch



EINWILLIGUNG ZUR FRAUENMILCHSPENDE



Name Vorname
 Adresse
 Telefonnummer E-Mail-Adresse
 Name des Kindes
 Geburtsdatum des Kindes SSW des Kindes

Im Rahmen der Qualitätssicherung und für die Sicherheit des Empfängerkindes werden vor der Freigabe zur Frauenmilchspende folgende Blutuntersuchungen durchgeführt: Hepatitis B, Hepatitis C, Syphilis, CMV, HIV, Leberwerte. Bei positiven Laborbefunden werden Sie selbstverständlich von Ihrem Arzt/Ihrer Ärztin informiert.

Wir versichern Ihnen, dass die im Rahmen der Milchspende erhobenen Daten und Ergebnisse der Untersuchungen dem Datenschutz und der Schweigepflicht unterliegen. Die Speicherung der Daten erfolgt ausschließlich zum Zweck der Rückverfolgung der gespendeten Milch und zum Zwecke der Qualitätssicherung.

Wir sind uns bewusst, dass die folgenden Fragen Ihren sehr persönlichen Bereich betreffen.

Fühlen Sie sich gesund?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
Hatten Sie in den letzten vier Wochen Durchfall, anhaltende Bauchschmerzen, Erbrechen, Fieber oder einen Infekt (z.B. Schnupfen, Erkältung, Harnwegsinfekt)?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
Rauchen Sie?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
Trinken Sie Alkohol? Wenn ja, wie viel und wie oft?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
Sind Sie Veganerin?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
Trinken Sie täglich mehr als 3 Tassen koffeinhaltige Getränke?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
Leiden Sie an einer chronischen Krankheit? Wenn ja, welche?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein

Nehmen Sie regelmäßig Medikamente (z.B. Antibiotika, Schmerzmittel, Mittel gegen Bluthochdruck, Mittel gegen Allergien), Vitamine oder homöopathische Mittel ein? Wenn ja, welche?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
Haben Sie in den letzten 6 Monaten eine Bluttransfusion erhalten? Wenn ja, in welchem Land?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
Wurden Sie in den letzten 4 Wochen geimpft (z.B. Röteln)?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
Waren Sie in den letzten Monaten im außereuropäischen Ausland? Wenn ja, in welchem Land?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
Haben Sie sich in den letzten 6 Monaten tätowieren oder piercen lassen?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
Nehmen Sie oder Ihr Partner Drogen oder haben Sie diese in der Vergangenheit konsumiert?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
Hatten Sie jemals gewerbsmäßig sexuelle Kontakte?	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein

Wir bitten Sie, folgende Feststellungen nochmals per Kreuz zu bestätigen:

- Ich bin damit einverstanden, meine überschüssige Milch der Frauenmilchbank Großhadern zur Verfügung zu stellen. Die Milchspende erfolgt anonym.
- Das Merkblatt zur Frauenmilchspende habe ich zur Kenntnis genommen.
- Ich bin mit der Untersuchung zur Spendetauglichkeit und damit der laborchemischen Untersuchung meines Blutes, auch auf Hepatitis und HIV, einverstanden. Die erhobenen Ergebnisse werden ausschließlich im Rahmen der Milchspende erhoben.
- Falls sich an den oben angeführten Antworten etwas ändern sollte, oder ich eine akute Erkrankung oder Infektion bekomme, werde ich die Ärzte bzw. das Pflegepersonal hierüber informieren.
- Alle Fragen rund um die Milchspende wurden ausreichend beantwortet.
- Ich bestätige hiermit, alle Fragen wahrheitsgetreu beantwortet zu haben.
- Mit der Speicherung meiner Daten zum Zwecke der Qualitätssicherung und der späteren Rückverfolgung erkläre ich mich einverstanden. Mit der wissenschaftlichen Auswertung meiner Daten erkläre ich mich einverstanden.

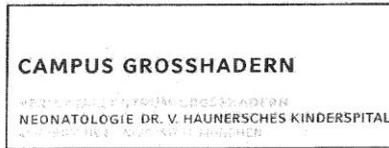
Die von Ihnen gespendete Milch wird innerhalb von sechs Monaten an ein Empfängerkind abgegeben.

Wir danken Ihnen sehr, dass wir Ihre gespendete Milch für andere Kinder verwenden dürfen.

Das Aufklärungsgespräch ist erfolgt durch:	Einwilligung zur Milchspende seitens der Spenderin:
Name des Arztes:	Name:
Unterschrift:	Unterschrift:
Ort, Datum:	Ort, Datum:

7.2. Dokumente zur Studie

7.2.1. Antrag Studienprotokoll



Perinatalzentrum Großhadern - Klinikum der Universität München
Marchioninstr. 15 - 81377 München

Leiter Neonatologie
Prof. Dr. med. Andreas Flemmer
Telefon +49 (0)89 4400 - 72801/00
Telefax +49 (0)89 4400 - 72809
andreas.flemmer@med.uni-muenchen.de

Leiter Geburtshilfe
Prof. Dr. med. Uwe Hasbargen
Telefon +49 (0)89 4400 - 74541
Telefax +49 (0)89 4400 - 77541
uwe.hasbargen@med.uni-muenchen.de

www.klinikum.uni-muenchen.de
www.mutter-kind-zentrum-grosshadern.de

Postanschrift:
Marchioninstr. 15
D-81377 München
München, 26.04.2017

Studienprotokoll

Morbidität und Mortalität von spendermilchernährten vs. formulaernährten extremen Frühgeborenen – eine RETROSPEKTIVE Beobachtungsstudie am Perinatalzentrum Großhadern

Das Studienprotokoll beschreibt die standardisierte Erhebung anamnestischer Daten und klinischer Parameter der Entwicklung der Frühgeborenen in der dargestellten Patientenkohorte.

Verantwortliche Prüfarzte:

PD Dr. Susanne Herber-Jonat
Neonatologie am PNZ Großhadern
Dr. von Haunersches Kinderspital
Klinikum der Universität München
Marchioninstr. 15
81377 München
Tel.: 089 - 4400 - 72808
Fax.: 089 - 4400 - 72809
Susanne.jonat@med.uni-muenchen.de

Victoria Liefertüchter
Neonatologie am PNZ Großhadern
Dr. von Haunersches Kinderspital
Klinikum der Universität München
Marchioninstr. 15
81377 München
Tel.: 089 - 4400 - 72801
Fax.: 089 - 4400 - 72809
victoria.liefertuechter@med.uni-muenchen.de

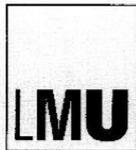
Prof. Dr. Andreas Flemmer
Neonatologie am PNZ Großhadern
Dr. von Haunersches Kinderspital
Klinikum der Universität München
Marchioninstr. 15
81377 München
Tel.: 089 - 4400 - 72801
Fax.: 089 - 4400 - 75807
andreas.flemmer@med.uni-muenchen.de

Direktor der Frauenklinik: Prof. Dr. S. Mahner (Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe und Frauenheilkunde – Großhadern)
Direktor der Kinderklinik: Prof. Dr. med. C. Klein (Dr. von Haunersches Kinderspital der Universität München, Kinderklinik und Kinderpoliklinik)

Das Klinikum der Universität München ist eine Anstalt des öffentlichen Rechts

Vorstand: Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. Karl-Walter Jauch (Vorsitz), komm. Kaufmännischer Direktor: Philip Rieger,
Pflegedirektorin: Helle Dokken, Vertreter der Medizinischen Fakultät: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel (Dekan)
Institutionskennzeichen: 260 914 050, Umsatzsteuer-Identifikationsnummer gemäß §27a Umsatzsteuergesetz: DE813536017

7.2.2. Ethikvotum



LUDWIG-
MAXIMILIANS-
UNIVERSITÄT
MÜNCHEN

ETHIKKOMMISSION BEI DER LMU MÜNCHEN



Ethikkommission · Pettenkoferstr. 8 · 80336 München

Victoria Liefertüchter
Klinikum der Universität München
Neonatologische Abteilung
Dr. von Haunersches Kinderspital
Klinikum Großhadern
81377 München

Vorsitzender:
Prof. Dr. W. Eisenmenger
Telefon+49 (0)89 440055191
Telefax+49 (0)89 440055192
Ethikkommission@
med.uni-muenchen.de
www.ethikkommission.med.uni-muenchen.de

Anschrift:
Pettenkoferstr. 8a
D-80336 München

03.05.2017/ba

Projekt Nr: **17-231** (bitte bei Schriftwechsel angeben)

Beratung nach Fakultätsrecht

Studientitel: Morbidität und Mortalität von spendermilchernährten vs. formulaernährten extremen Frühgeborenen – eine Beobachtungsstudie am Perinatalzentrum Großhadern

Antragsteller: Victoria Liefertüchter, Klinikum der Universität München, Neonatologische Abteilung, Dr. von Haunersches Kinderspital, Klinikum Großhadern, 81377 München

Sehr geehrte Frau Liefertüchter,

der Antrag zur o.g. Studie wurde auf der Basis der vorgelegten Unterlagen und Informationen entsprechend § 15 der Berufsordnung und des Fakultätsrechts beraten.

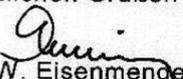
Die Ethikkommission (EK) erhebt keine Einwände gegen die Durchführung der Studie.

Allgemeine Hinweise:

- Änderungen im Verlauf der Studie sind der EK zur erneuten Prüfung vorzulegen.
- Schwerwiegende unerwartete studienabhängige Ereignisse sind der EK mitzuteilen.
- Das Ende der Studie ist anzuzeigen und das Ergebnis vorzulegen.
- Die ärztliche und juristische Verantwortung bei der Durchführung der Studie verbleibt uneingeschränkt bei Ihnen und Ihren Mitarbeitern.

Die Ethikkommission wünscht Ihnen für Ihr Vorhaben viel Erfolg.

Mit freundlichen Grüßen


Prof. Dr. W. Eisenmenger
Vorsitzender der Ethikkommission

Mitglieder der Kommission:
Prof. Dr. W. Eisenmenger (Vorsitzender), Prof. Dr. E. Held (stellv. Vorsitzender), Prof. Dr. C. Bausewein, PD Dr. Th. Beinert, Prof. Dr. B. Emmertch, Prof. Dr. H. U. Gallwas, Prof. Dr. K. Hahn, Dr. B. Henrikus, Dr. V. Mönch, Prof. Dr. D. Nowak, Prof. Dr. R. Penning, Prof. Dr. K. Pfeifer, Dr. A. Yassouridis, Dr. Ch. Zach

7.3. Begriffsdefinitionen

Frauenmilch	Milch von (stillenden) Frauen, die nicht die leibliche Mutter des Empfänger(-kindes) sind
Frauenmilchbank	Annahme- und Abgabestelle für gespendete Frauenmilch, meist sind diese an ein Perinatalzentrum angegliedert
Galaktogenese	Beginn der Milchproduktion
Galaktopoese	Aufrechterhaltung der Milchsekretion
Hintermilch	Letztes Drittel der Stillmahlzeit
Laktation	Bildung und Sekretion der Milch
Laktogenese	Proliferation des Brustdrüsengewebes (ab 2. Schwangerschaftsmonat)
Late Onset Sepsis	Sekundäre Sepsis, > 3 Tage nach Geburt
LBW (-Säugling)	Frühgeborenes < 1500 g Geburtsgewicht
Level 1 Perinatalzentrum	Perinatalzentrum, das von erfahrenen GeburtshelferInnen und NeonatologInnen geleitet wird und das über mind. 6 Intensivpflegebetten für Neonaten verfügt
Muttermilch	Frauenmilch zur Ernährung des eigenen Kindes
Nachmilch/Hintermilch	Drittes Drittel der Stillmahlzeit
Preterm Milch	Humane Milch Frühgeborener
Single-Donor-Prinzip	Die gespendete Milch, die ein Kind erhält, stammt nur von einer Mutter/Frau, d.h. die Milch wird nicht von verschiedenen Spenderinnen zusammengeführt.
Small-for-gestational-Age	Das Neugeborene ist zu leicht für die entsprechende Gestationswoche (< 10. Perzentile)
Term Milch	Humane Milch reifer Neugeborener
VLBW (-Säugling)	Frühgeborenes < 1000 g Geburtsgewicht
Vormilch	Erstes Drittel der Stillmahlzeit

7.4. Abkürzungen

AAP	American Academy of Pediatrics
AIS	Amnioninfektionssyndrom
ANS	Atemnotsyndrom
ASD	Atriumseptumdefekt
AV Kanal	Atrioventrikulärer-Septumdefekt
BPD	Bronchopulmonale Dysplasie
CMV	Cytomegalievirus
EGF	Epidermal Growth Factor
EMBA	European Milk Bank Association
ESPGHAN	European Society für Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition
FIP	Fokale Intestinale Perforation
FM	Frauenmilch
FMB	Frauenmilchbank
GG	Geburtsgewicht
HBV	Hepatitis B Virus
HCV	Hepatitis C Virus
HIV	Humanes Immundefizienz Virus
HM	Humane (Frauen-)Milch
HMBANA	Human Milk Bank Association of North America
HoP	Holder-Pasteurisierung
LBW	Low-Birth-Weight
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
LOS	Late-Onset-Sepsis
MIT	Medizinisch-Administrative Informationstechnologie
MM	Muttermilch
NEC	Nekrotisierende Enterokolitis
PDA	Persistierender Ductus arteriosus
PNZ	Perinatalzentrum
ROP	Retinopathia praematurorum
SGA	Small-for-gestational-Age
SM	Spendermilch
SSW	Schwangerschaftswoche
TPN	Totale Parenterale Ernährung
VLBW	Very-Low-Birth-Weight
VSD	Ventrikelseptumdefekt
WHO	Weltgesundheitsorganisation

7.5. Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei meiner Doktormutter Frau PD Dr. Susanne Herber-Jonat und dem Leiter der neonatologischen Abteilung des Dr. von Haunerschen Kinderspitals am Perinatalzentrum Großhadern Prof. Dr. Andreas W. Flemmer für die Bereitstellung des Themas, ihre Betreuung und die Möglichkeit des eigenständigen wissenschaftlichen Arbeitens bedanken.

Besonderer Dank gilt Frau Dr. Michaela Coenen vom Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie (IBE), die mir mit viel Geduld die Anwendung des Propensity Score und vor allem die grundlegende Nutzung von SPSS näher gebracht hat.

Den Mitarbeitern des Archivs am Campus Großhadern gilt mein Dank für die unermüdliche Bereitstellung der (noch nicht digitalisierten) Akten für die retrospektive Studie. Ebenso möchte ich mich bei Frau Sybille Auer für ihre stets gute Laune bei der erneuten Suche nach alten Briefen oder Akten und ihre große Hilfe dabei bedanken.

Ein sehr großer Dank gilt Fuchs und Luise für Ihre Geduld, meinen Eltern und engen Freunden, für das stetige an mich Denken und Bestärken.

7.6. Eidesstattliche Erklärung

Eidesstattliche Versicherung

Victoria Lieftüchter

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

**Einführung von Spendermilch zur Ernährung extrem unreifer Frühgeborener
– eine retrospektive Beobachtungsstudie an einem Perinatalzentrum
nach Etablierung der Frauenmilchbank**

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 12.02.2022

Victoria Lieftüchter

Ort, Datum

Unterschrift Doktorandin

8. Literaturverzeichnis

1. Mizrahi, A., et al., *Necrotizing Enterocolitis in Premature Infants*. J Pediatr, 1965. **66**: p. 697-705.
2. Shulhan, J., et al., *Current Knowledge of Necrotizing Enterocolitis in Preterm Infants and the Impact of Different Types of Enteral Nutrition Products*. Adv Nutr, 2017. **8**(1): p. 80-91.
3. Gregory, K.E., et al., *Necrotizing enterocolitis in the premature infant: neonatal nursing assessment, disease pathogenesis, and clinical presentation*. Adv Neonatal Care, 2011. **11**(3): p. 155-64; quiz 165-6.
4. Gopel, W., et al., *Less invasive surfactant administration is associated with improved pulmonary outcomes in spontaneously breathing preterm infants*. Acta Paediatr, 2015. **104**(3): p. 241-6.
5. Fitzgibbons, S.C., et al., *Mortality of necrotizing enterocolitis expressed by birth weight categories*. J Pediatr Surg, 2009. **44**(6): p. 1072-5; discussion 1075-6.
6. Holman, R.C., et al., *Necrotising enterocolitis hospitalisations among neonates in the United States*. Paediatr Perinat Epidemiol, 2006. **20**(6): p. 498-506.
7. Ahle, M., P. Drott, and R.E. Andersson, *Epidemiology and trends of necrotizing enterocolitis in Sweden: 1987-2009*. Pediatrics, 2013. **132**(2): p. e443-51.
8. Neu, J., *Necrotizing enterocolitis: the mystery goes on*. Neonatology, 2014. **106**(4): p. 289-95.
9. Bell, M.J., et al., *Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging*. Ann Surg, 1978. **187**(1): p. 1-7.
10. Genzel-Boroviczeny, O., et al., *Nekrotisierende Enterokolitis - Leitlinie der Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin, der Deutschen Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin, der Gesellschaft für Pädiatrische Gastroenterologie und Ernährung und der Deutschen Gesellschaft für Kinderchirurgie*. Leitlinien Register der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V. (AWMF), 2017. **Nr. 024/009**.
11. Bell, M.J., *Neonatal necrotizing enterocolitis*. N Engl J Med, 1978. **298**(5): p. 281-2.
12. Walsh, M.C. and R.M. Kliegman, *Necrotizing enterocolitis: treatment based on staging criteria*. Pediatr Clin North Am, 1986. **33**(1): p. 179-201.
13. Siggers, R.H., et al., *Nutritional modulation of the gut microbiota and immune system in preterm neonates susceptible to necrotizing enterocolitis*. J Nutr Biochem, 2011. **22**(6): p. 511-21.
14. Neu, J., *Gastrointestinal development and meeting the nutritional needs of premature infants*. Am J Clin Nutr, 2007. **85**(2): p. 629S-634S.
15. Neu, J., *Necrotizing enterocolitis*. World Rev Nutr Diet, 2014. **110**: p. 253-63.
16. Sharma, R. and M.L. Hudak, *A clinical perspective of necrotizing enterocolitis: past, present, and future*. Clin Perinatol, 2013. **40**(1): p. 27-51.
17. Sharma, R., C. Young, and J. Neu, *Molecular modulation of intestinal epithelial barrier: contribution of microbiota*. J Biomed Biotechnol, 2010. **2010**: p. 305879.
18. Lin, P.W. and B.J. Stoll, *Necrotising enterocolitis*. Lancet, 2006. **368**(9543): p. 1271-83.
19. Kasivajjula, H. and A. Maheshwari, *Pathophysiology and current management of necrotizing enterocolitis*. Indian J Pediatr, 2014. **81**(5): p. 489-97.

20. Treszl, A., et al., *Lower prevalence of IL-4 receptor alpha-chain gene G variant in very-low-birth-weight infants with necrotizing enterocolitis*. J Pediatr Surg, 2003. **38**(9): p. 1374-8.
21. Szebeni, B., et al., *Genetic polymorphisms of CD14, toll-like receptor 4, and caspase-recruitment domain 15 are not associated with necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2006. **42**(1): p. 27-31.
22. Moonen, R.M., et al., *Carbamoyl phosphate synthetase polymorphisms as a risk factor for necrotizing enterocolitis*. Pediatr Res, 2007. **62**(2): p. 188-90.
23. Sampath, V., et al., *The NFKB1 (g.-24519delATTG) variant is associated with necrotizing enterocolitis (NEC) in premature infants*. J Surg Res, 2011. **169**(1): p. e51-7.
24. Hartel, C., et al., *Tumor necrosis factor-alpha promoter -308 G/A polymorphism and susceptibility to sepsis in very-low-birth-weight infants*. Crit Care Med, 2011. **39**(5): p. 1190-5.
25. Hackam, D.J., et al., *Innate immune signaling in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis*. Clin Dev Immunol, 2013. **2013**: p. 475415.
26. Torrazza, R.M., N. Li, and J. Neu, *Decoding the enigma of necrotizing enterocolitis in premature infants*. Pathophysiology, 2014. **21**(1): p. 21-7.
27. Lambert, D.K., et al., *Necrotizing enterocolitis in term neonates: data from a multihospital health-care system*. J Perinatol, 2007. **27**(7): p. 437-43.
28. Gephart, S.M., et al., *Necrotizing enterocolitis risk: state of the science*. Adv Neonatal Care, 2012. **12**(2): p. 77-87; quiz 88-9.
29. Fisher, J.G., et al., *Serious congenital heart disease and necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates*. J Am Coll Surg, 2015. **220**(6): p. 1018-1026 e14.
30. Alexander, V.N., V. Northrup, and M.J. Bizzarro, *Antibiotic exposure in the newborn intensive care unit and the risk of necrotizing enterocolitis*. J Pediatr, 2011. **159**(3): p. 392-7.
31. Marin, T., et al., *Feeding preterm infants during red blood cell transfusion is associated with a decline in postprandial mesenteric oxygenation*. J Pediatr, 2014. **165**(3): p. 464-71 e1.
32. Martin, F.G., et al., *Risk factors for the development of necrotizing enterocolitis: a case-control study*. J Neonatal Perinatal Med, 2013. **6**(4): p. 311-8.
33. Gephart, S.M., et al., *Discrimination of GutCheck(NEC): a clinical risk index for necrotizing enterocolitis*. J Perinatol, 2014. **34**(6): p. 468-75.
34. Boyd, C.A., M.A. Quigley, and P. Brocklehurst, *Donor breast milk versus infant formula for preterm infants: systematic review and meta-analysis*. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2007. **92**(3): p. F169-75.
35. Quigley, M. and W. McGuire, *Formula versus donor breast milk for feeding preterm or low birth weight infants*. Cochrane Database Syst Rev, 2014(4): p. CD002971.
36. Schanler, R.J., R.J. Shulman, and C. Lau, *Feeding strategies for premature infants: beneficial outcomes of feeding fortified human milk versus preterm formula*. Pediatrics, 1999. **103**(6 Pt 1): p. 1150-7.
37. Neu, J. and W.A. Walker, *Necrotizing enterocolitis*. N Engl J Med, 2011. **364**(3): p. 255-64.
38. Bode, L., *Human Milk Oligosaccharides in the Prevention of Necrotizing Enterocolitis: A Journey From in vitro and in vivo Models to Mother-Infant Cohort Studies*. Front Pediatr, 2018. **6**: p. 385.

39. Hodzic, Z., A.M. Bolock, and M. Good, *The Role of Mucosal Immunity in the Pathogenesis of Necrotizing Enterocolitis*. *Front Pediatr*, 2017. **5**: p. 40.
40. Good, M., C.P. Sodhi, and D.J. Hackam, *Evidence-based feeding strategies before and after the development of necrotizing enterocolitis*. *Expert Rev Clin Immunol*, 2014. **10**(7): p. 875-84.
41. Hair, A.B., et al., *Beyond Necrotizing Enterocolitis Prevention: Improving Outcomes with an Exclusive Human Milk-Based Diet*. *Breastfeed Med*, 2016. **11**(2): p. 70-4.
42. Nutrition, E.C.o., et al., *Breast-feeding: A commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2009. **49**(1): p. 112-25.
43. Pacheco, A.R., et al., *The impact of the milk glycomicrobiome on the neonate gut microbiota*. *Annu Rev Anim Biosci*, 2015. **3**: p. 419-45.
44. Cacho, N.T. and R.M. Lawrence, *Innate Immunity and Breast Milk*. *Front Immunol*, 2017. **8**: p. 584.
45. Haschke, F., et al., *Feeding patterns during the first 2 years and health outcome*. *Ann Nutr Metab*, 2013. **62 Suppl 3**: p. 16-25.
46. Ronnestad, A., et al., *Late-onset septicemia in a Norwegian national cohort of extremely premature infants receiving very early full human milk feeding*. *Pediatrics*, 2005. **115**(3): p. e269-76.
47. de Silva, A., P.W. Jones, and S.A. Spencer, *Does human milk reduce infection rates in preterm infants? A systematic review*. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2004. **89**(6): p. F509-13.
48. Patel, A.L., et al., *Impact of early human milk on sepsis and health-care costs in very low birth weight infants*. *J Perinatol*, 2013. **33**(7): p. 514-9.
49. Cristofalo, E.A., et al., *Randomized trial of exclusive human milk versus preterm formula diets in extremely premature infants*. *J Pediatr*, 2013. **163**(6): p. 1592-1595 e1.
50. Corpeleijn, W.E., et al., *Intake of own mother's milk during the first days of life is associated with decreased morbidity and mortality in very low birth weight infants during the first 60 days of life*. *Neonatology*, 2012. **102**(4): p. 276-81.
51. Vettukattil, J.J., *Pathophysiology of Patent Ductus Arteriosus in the Preterm Infant*. *Curr Pediatr Rev*, 2016. **12**(2): p. 120-2.
52. Prescott, S. and J. Keim-Malpass, *Patent Ductus Arteriosus in the Preterm Infant: Diagnostic and Treatment Options*. *Adv Neonatal Care*, 2017. **17**(1): p. 10-18.
53. Vohr, B.R., et al., *Persistent beneficial effects of breast milk ingested in the neonatal intensive care unit on outcomes of extremely low birth weight infants at 30 months of age*. *Pediatrics*, 2007. **120**(4): p. e953-9.
54. Spiegler, J., et al., *Does Breastmilk Influence the Development of Bronchopulmonary Dysplasia?* *J Pediatr*, 2016. **169**: p. 76-80 e4.
55. Morley, R. and A. Lucas, *Influence of early diet on outcome in preterm infants*. *Acta Paediatr Suppl*, 1994. **405**: p. 123-6.
56. Lawrence, R.A.L.R.M., *Breastfeeding: a guide for the medical profession*. Vol. 7th. 2011: Maryland Heights. 1114.
57. Soltani, S., D. Zohoori, and M. Adineh, *Comparison the Effectiveness of Breastfeeding, Oral 25% Dextrose, Kangaroo-Mother Care Method, and EMLA Cream on Pain Score Level Following Heal Pick Sampling in Newborns: a randomized clinical trial*. *Electron Physician*, 2018. **10**(5): p. 6741-6748.

58. Shah, P.S., L.I. Aliwalas, and V. Shah, *Breastfeeding or breast milk for procedural pain in neonates*. Cochrane Database Syst Rev, 2006(3): p. CD004950.
59. Mahon, J., L. Claxton, and H. Wood, *Modelling the cost-effectiveness of human milk and breastfeeding in preterm infants in the United Kingdom*. Health Econ Rev, 2016. **6**(1): p. 54.
60. Hansen, K., *Breastfeeding: a smart investment in people and in economies*. Lancet, 2016. **387**(10017): p. 416.
61. Prell, C. and B. Koletzko, *Breastfeeding and Complementary Feeding*. Dtsch Arztebl Int, 2016. **113**(25): p. 435-44.
62. WHO. *WHO recommendations on Newborn Health*. 2017; Available from: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/259269/1/WHO-MCA-17.07-eng.pdf?ua=1>.
63. PATH. *Ensuring equitable access to human milk for all infants: a comprehensive approach to essential newborn care*. 2017; Available from: https://www.path.org/publications/files/MNCHN_EquitableAccessstoHumanMilk_PolicyBrief.pdf.
64. WHO. *Optimal feeding of low birth- weight infants in low-and middle-income countries*. WHO Guidelines 2011; Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/85670/1/9789241548366_eng.pdf.
65. Section on, B., *Breastfeeding and the use of human milk*. Pediatrics, 2012. **129**(3): p. e827-41.
66. Spatz, D.L., *SPN Position Statement: The Role of Pediatric Nurses in the Promotion and Protection of Human Milk and Breastfeeding*. J Pediatr Nurs, 2017. **37**: p. 136-139.
67. Kirkegaard, H., et al., *Breastfeeding and later maternal risk of hypertension and cardiovascular disease - The role of overall and abdominal obesity*. Prev Med, 2018. **114**: p. 140-148.
68. Pletsch, D., et al., *Mothers' "liquid gold": a quality improvement initiative to support early colostrum delivery via oral immune therapy (OIT) to premature and critically ill newborns*. Nurs Leadersh (Tor Ont), 2013. **26 Spec No 2013**: p. 34-42.
69. Menchetti, L., et al., *Potential benefits of colostrum in gastrointestinal diseases*. Front Biosci (Schol Ed), 2016. **8**: p. 331-51.
70. Palmeira, P. and M. Carneiro-Sampaio, *Immunology of breast milk*. Rev Assoc Med Bras (1992), 2016. **62**(6): p. 584-593.
71. Sohn, K., et al., *Buccal administration of human colostrum: impact on the oral microbiota of premature infants*. J Perinatol, 2016. **36**(2): p. 106-11.
72. Amoudruz, P., et al., *Maternal country of birth and previous pregnancies are associated with breast milk characteristics*. Pediatr Allergy Immunol, 2009. **20**(1): p. 19-29.
73. Holmlund, U., et al., *Maternal country of origin, breast milk characteristics and potential influences on immunity in offspring*. Clin Exp Immunol, 2010. **162**(3): p. 500-9.
74. Peroni, D.G., et al., *Immune regulatory cytokines in the milk of lactating women from farming and urban environments*. Pediatr Allergy Immunol, 2010. **21**(6): p. 977-82.
75. Fernandez, L., et al., *The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease*. Pharmacol Res, 2013. **69**(1): p. 1-10.

76. Drago, L., et al., *Microbiota network and mathematic microbe mutualism in colostrum and mature milk collected in two different geographic areas: Italy versus Burundi*. ISME J, 2017. **11**(4): p. 875-884.
77. Jimenez, E., et al., *Staphylococcus epidermidis: a differential trait of the fecal microbiota of breast-fed infants*. BMC Microbiol, 2008. **8**: p. 143.
78. Bardanzellu, F., V. Fanos, and A. Reali, "Omics" in Human Colostrum and Mature Milk: Looking to Old Data with New Eyes. *Nutrients*, 2017. **9**(8).
79. Godhia, M.L. and N. Patel, *Colostrum - its Composition, Benefits as a Nutraceutical - A Review*. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 2013.
80. Martin, C.R., P.R. Ling, and G.L. Blackburn, *Review of Infant Feeding: Key Features of Breast Milk and Infant Formula*. *Nutrients*, 2016. **8**(5).
81. Medela, *Mother's Milk*. <https://www.medela.de/dam/medela-de/breastfeeding-professional/documents/general/forschung/broschuereoeconomischerwertmuttermilch.pdf?uud=jcr:ed408891-db85-4433-8f26-e4fc483ccfdb> 06.03.2021
82. Le Doare, K., et al., *Mother's Milk: A Purposeful Contribution to the Development of the Infant Microbiota and Immunity*. *Front Immunol*, 2018. **9**: p. 361.
83. Pannaraj, P.S., et al., *Shared and Distinct Features of Human Milk and Infant Stool Viromes*. *Front Microbiol*, 2018. **9**: p. 1162.
84. Cabrera-Rubio, R., et al., *The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery*. *Am J Clin Nutr*, 2012. **96**(3): p. 544-51.
85. Rodriguez, J.M., *The origin of human milk bacteria: is there a bacterial entero-mammary pathway during late pregnancy and lactation?* *Adv Nutr*, 2014. **5**(6): p. 779-84.
86. Böttger, R.J., Gerhard, *Frauenmilchbanking im Perinatalzentrum*. *Neonatologie Scan* 2015. **1**: p. 45-57.
87. Patel, A.L., et al., *Influence of own mother's milk on bronchopulmonary dysplasia and costs*. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2017. **102**(3): p. F256-F261.
88. Hanson, C., et al., *A Comparison of Nutritional Antioxidant Content in Breast Milk, Donor Milk, and Infant Formulas*. *Nutrients*, 2016. **8**(11).
89. Haiden, N., *Muttermilchernährung bei Frühgeborenen*, ed. T. Kühn. Vol. 1. 2015, UNI-MED Verlag Ag: Kühn, T. . 5.
90. Gila-Diaz, A., et al., *A Review of Bioactive Factors in Human Breastmilk: A Focus on Prematurity*. *Nutrients*, 2019. **11**(6).
91. Ballard, O. and A.L. Morrow, *Human milk composition: nutrients and bioactive factors*. *Pediatr Clin North Am*, 2013. **60**(1): p. 49-74.
92. Hernell, O., *Human milk vs. cow's milk and the evolution of infant formulas*. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program*, 2011. **67**: p. 17-28.
93. Gidrewicz, D.A. and T.R. Fenton, *A systematic review and meta-analysis of the nutrient content of preterm and term breast milk*. *BMC Pediatr*, 2014. **14**: p. 216.
94. Wu, X., et al., *Human Milk Nutrient Composition in the United States: Current Knowledge, Challenges, and Research Needs*. *Curr Dev Nutr*, 2018. **2**(7): p. nzy025.
95. White, R.D., *Circadian Variation of Breast Milk Components and Implications for Care*. *Breastfeed Med*, 2017. **12**(7): p. 398-400.
96. Underwood, M.A., *Human milk for the premature infant*. *Pediatr Clin North Am*, 2013. **60**(1): p. 189-207.

97. Bauer, J. and J. Gerss, *Longitudinal analysis of macronutrients and minerals in human milk produced by mothers of preterm infants*. Clin Nutr, 2011. **30**(2): p. 215-20.
98. Mathur, N.B., et al., *Anti-infective factors in preterm human colostrum*. Acta Paediatr Scand, 1990. **79**(11): p. 1039-44.
99. Powe, C.E., C.D. Knott, and N. Conklin-Brittain, *Infant sex predicts breast milk energy content*. Am J Hum Biol, 2010. **22**(1): p. 50-4.
100. Nutrition, E.C.o., et al., *Donor human milk for preterm infants: current evidence and research directions*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2013. **57**(4): p. 535-42.
101. Kietzerow, S. and T. Kühn, *Muttermilchernährung bei Frühgeborenen*. 2015, UNI-MED Verlag Ag: Kühn, T.
102. Picaud, J.C. and R. Buffin, *Human Milk-Treatment and Quality of Banked Human Milk*. Clin Perinatol, 2017. **44**(1): p. 95-119.
103. Peila, C., et al., *The Effect of Holder Pasteurization on Nutrients and Biologically-Active Components in Donor Human Milk: A Review*. Nutrients, 2016. **8**(8).
104. Cacho, N.T., et al., *Personalization of the Microbiota of Donor Human Milk with Mother's Own Milk*. Front Microbiol, 2017. **8**: p. 1470.
105. Hamprecht, K., et al., *Cytomegalovirus (CMV) inactivation in breast milk: reassessment of pasteurization and freeze-thawing*. Pediatr Res, 2004. **56**(4): p. 529-35.
106. Hamprecht, K. and R. Goelz, *Postnatal Cytomegalovirus Infection Through Human Milk in Preterm Infants: Transmission, Clinical Presentation, and Prevention*. Clin Perinatol, 2017. **44**(1): p. 121-130.
107. Weaver, G., et al., *Recommendations for the Establishment and Operation of Human Milk Banks in Europe: A Consensus Statement From the European Milk Bank Association (EMBA)*. Front Pediatr, 2019. **7**: p. 53.
108. Qian, L., et al., *Metabolomic Approaches to Explore Chemical Diversity of Human Breast-Milk, Formula Milk and Bovine Milk*. Int J Mol Sci, 2016. **17**(12).
109. Heinig, M.J., et al., *Energy and protein intakes of breast-fed and formula-fed infants during the first year of life and their association with growth velocity: the DARLING Study*. Am J Clin Nutr, 1993. **58**(2): p. 152-61.
110. Radmacher, P.G. and D.H. Adamkin, *Fortification of human milk for preterm infants*. Semin Fetal Neonatal Med, 2017. **22**(1): p. 30-35.
111. Agostoni, C., et al., *Enteral nutrient supply for preterm infants: commentary from the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2010. **50**(1): p. 85-91.
112. Fusch, C. and S. Samiee-Zafarghandy, *Promoting healthy growth and nutrition in preterm infants: a challenge for clinicians and researchers*. Clin Biochem, 2014. **47**(9): p. 711-3.
113. Kuschel, C.A. and J.E. Harding, *Multicomponent fortified human milk for promoting growth in preterm infants*. Cochrane Database Syst Rev, 2004(1): p. CD000343.
114. Fusch, C., *Muttermilchernährung bei Frühgeborenen*, ed. T. Kühn. Vol. 1. 2015, UNI-MED Verlag Ag.: Kühn, T. 6.
115. Miller, J., et al., *Effect of increasing protein content of human milk fortifier on growth in preterm infants born at <31 wk gestation: a randomized controlled trial*. Am J Clin Nutr, 2012. **95**(3): p. 648-55.
116. Fusch, G., et al., *"Bed Side" Human Milk Analysis in the Neonatal Intensive Care Unit: A Systematic Review*. Clin Perinatol, 2017. **44**(1): p. 209-267.

117. Michaelsen, K.F., et al., *Variation in macronutrients in human bank milk: influencing factors and implications for human milk banking*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 1990. **11**(2): p. 229-39.
118. Maas, C., et al., *Early feeding of fortified breast milk and in-hospital-growth in very premature infants: a retrospective cohort analysis*. BMC Pediatr, 2013. **13**: p. 178.
119. Colaizy, T.T., *Donor human milk for very low birth weights: patterns of usage, outcomes, and unanswered questions*. Curr Opin Pediatr, 2015. **27**(2): p. 172-6.
120. Colaizy, T.T., et al., *Growth in VLBW infants fed predominantly fortified maternal and donor human milk diets: a retrospective cohort study*. BMC Pediatr, 2012. **12**: p. 124.
121. Kashyap, S., et al., *Growth, nutrient retention, and metabolic response of low-birth-weight infants fed supplemented and unsupplemented preterm human milk*. Am J Clin Nutr, 1990. **52**(2): p. 254-62.
122. <http://www.zeit.de/wissen/gesundheit/2016-09/muttermilch-banken-nachfrage-fruehgeborenenzentren>, 21. September 2016, 12:06 Uhr. Zeit 2016.
123. <http://europeanmilkbanking.com/map/> 05.03.2021, 11:52 Uhr. 2017
124. Haiden, N. and E.E. Ziegler, *Human Milk Banking*. Ann Nutr Metab, 2016. **69 Suppl 2**: p. 8-15.
125. Hammer, G.P., J.B. du Prel, and M. Blettner, *Avoiding bias in observational studies: part 8 in a series of articles on evaluation of scientific publications*. Dtsch Arztebl Int, 2009. **106**(41): p. 664-8.
126. Kuss, O., M. Blettner, and J. Bergermann, *Propensity Score: an Alternative Method of Analyzing Treatment Effects*. Dtsch Arztebl Int, 2016. **113**(35-36): p. 597-603.
127. Glass, H.C., et al., *Outcomes for extremely premature infants*. Anesth Analg, 2015. **120**(6): p. 1337-51.
128. Ray, J.G., A.L. Park, and D.B. Fell, *Mortality in Infants Affected by Preterm Birth and Severe Small-for-Gestational Age Birth Weight*. Pediatrics, 2017. **140**(6).
129. Chang, H.H., et al., *Preventing preterm births: analysis of trends and potential reductions with interventions in 39 countries with very high human development index*. Lancet, 2013. **381**(9862): p. 223-34.
130. Ancel, P.Y., et al., *Survival and morbidity of preterm children born at 22 through 34 weeks' gestation in France in 2011: results of the EPIPAGE-2 cohort study*. JAMA Pediatr, 2015. **169**(3): p. 230-8.
131. Patel, R.M., et al., *Causes and timing of death in extremely premature infants from 2000 through 2011*. N Engl J Med, 2015. **372**(4): p. 331-40.
132. Stoll, B.J., et al., *Trends in Care Practices, Morbidity, and Mortality of Extremely Preterm Neonates, 1993-2012*. JAMA, 2015. **314**(10): p. 1039-51.
133. Liu, L., et al., *Global, regional, and national causes of child mortality in 2000-13, with projections to inform post-2015 priorities: an updated systematic analysis*. Lancet, 2015. **385**(9966): p. 430-40.
134. Patel, R.M., et al., *Survival of Infants Born at Perivable Gestational Ages*. Clin Perinatol, 2017. **44**(2): p. 287-303.
135. Haukoos, J.S. and R.J. Lewis, *The Propensity Score*. JAMA, 2015. **314**(15): p. 1637-8.

136. Papiernik, E., et al., *Differences in outcome between twins and singletons born very preterm: results from a population-based European cohort*. Hum Reprod, 2010. **25**(4): p. 1035-43.
137. Williamson, E., et al., *Propensity scores: from naive enthusiasm to intuitive understanding*. Stat Methods Med Res, 2012. **21**(3): p. 273-93.
138. Lucas, A. and T.J. Cole, *Breast milk and neonatal necrotising enterocolitis*. Lancet, 1990. **336**(8730): p. 1519-23.
139. McGuire, W. and M.Y. Anthony, *Donor human milk versus formula for preventing necrotising enterocolitis in preterm infants: systematic review*. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2003. **88**(1): p. F11-4.
140. Jantscher-Krenn, E., et al., *The human milk oligosaccharide disialyllacto-N-tetraose prevents necrotising enterocolitis in neonatal rats*. Gut, 2012. **61**(10): p. 1417-25.
141. Corpeleijn, W.E., et al., *Effect of Donor Milk on Severe Infections and Mortality in Very Low-Birth-Weight Infants: The Early Nutrition Study Randomized Clinical Trial*. JAMA Pediatr, 2016. **170**(7): p. 654-61.
142. Schanler, R.J., et al., *Randomized trial of donor human milk versus preterm formula as substitutes for mothers' own milk in the feeding of extremely premature infants*. Pediatrics, 2005. **116**(2): p. 400-6.
143. Cossey, V., et al., *Pasteurization of mother's own milk for preterm infants does not reduce the incidence of late-onset sepsis*. Neonatology, 2013. **103**(3): p. 170-6.
144. Moro, G.E., et al., *Processing of Donor Human Milk: Update and Recommendations From the European Milk Bank Association (EMBA)*. Front Pediatr, 2019. **7**: p. 49.
145. Dong, Y. and C.P. Speer, *Late-onset neonatal sepsis: recent developments*. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2015. **100**(3): p. F257-63.
146. Boghossian, N.S., et al., *Late-onset sepsis in very low birth weight infants from singleton and multiple-gestation births*. J Pediatr, 2013. **162**(6): p. 1120-4, 1124 e1.
147. Antonucci, R., et al., *Patent ductus arteriosus in the preterm infant: new insights into pathogenesis and clinical management*. J Matern Fetal Neonatal Med, 2010. **23 Suppl 3**: p. 34-7.
148. Hoffman, J.I. and S. Kaplan, *The incidence of congenital heart disease*. J Am Coll Cardiol, 2002. **39**(12): p. 1890-900.
149. Maayan-Metzger, A., et al., *Human milk versus formula feeding among preterm infants: short-term outcomes*. Am J Perinatol, 2012. **29**(2): p. 121-6.
150. Park, J., et al., *Factors associated with feeding progression in extremely preterm infants*. Nurs Res, 2015. **64**(3): p. 159-67.
151. Wemhoner, A., et al., *Nutrition of preterm infants in relation to bronchopulmonary dysplasia*. BMC Pulm Med, 2011. **11**: p. 7.
152. Coalson, J.J., *Pathology of new bronchopulmonary dysplasia*. Semin Neonatol, 2003. **8**(1): p. 73-81.
153. Villamor-Martinez, E., et al., *Donor Human Milk Protects against Bronchopulmonary Dysplasia: A Systematic Review and Meta-Analysis*. Nutrients, 2018. **10**(2).
154. Dicky, O., et al., *Policy of feeding very preterm infants with their mother's own fresh expressed milk was associated with a reduced risk of bronchopulmonary dysplasia*. Acta Paediatr, 2017. **106**(5): p. 755-762.

155. Hartnett, M.E., *Pathophysiology and mechanisms of severe retinopathy of prematurity*. Ophthalmology, 2015. **122**(1): p. 200-10.
156. Zhou, J., et al., *Human Milk Feeding as a Protective Factor for Retinopathy of Prematurity: A Meta-analysis*. Pediatrics, 2015. **136**(6): p. e1576-86.
157. O'Connor, D.L., et al., *Effect of Supplemental Donor Human Milk Compared With Preterm Formula on Neurodevelopment of Very Low-Birth-Weight Infants at 18 Months: A Randomized Clinical Trial*. JAMA, 2016. **316**(18): p. 1897-1905.
158. Koo, W., et al., *Human milk and neurodevelopment in children with very low birth weight: a systematic review*. Nutr J, 2014. **13**: p. 94.
159. Anderson, J.W., B.M. Johnstone, and D.T. Remley, *Breast-feeding and cognitive development: a meta-analysis*. Am J Clin Nutr, 1999. **70**(4): p. 525-35.
160. Lucas, A., et al., *Breast milk and subsequent intelligence quotient in children born preterm*. Lancet, 1992. **339**(8788): p. 261-4.
161. Hair, A.B., et al., *Human milk feeding supports adequate growth in infants \leq 1250 grams birth weight*. BMC Res Notes, 2013. **6**: p. 459.
162. Ghandehari, H., et al., *An exclusive human milk-based diet in extremely premature infants reduces the probability of remaining on total parenteral nutrition: a reanalysis of the data*. BMC Res Notes, 2012. **5**: p. 188.
163. Williams, T., et al., *Use of Donor Human Milk and Maternal Breastfeeding Rates: A Systematic Review*. J Hum Lact, 2016. **32**(2): p. 212-20.
164. Koletzko, B., B. Poindexter, and R. Uauy, *Nutritional care of preterm infants : scientific basis and practical guidelines*. World review of nutrition and dietetics,. 2014, Basel: Karger. xii, 314 pages.
165. Weissenborn, A., et al., *[Breastfeeding Rates and Duration in Germany - A Systematic Review]*. Gesundheitswesen, 2016. **78**(11): p. 695-707.