

Aus der Klinik und Poliklinik für
Frauenheilkunde und Geburtshilfe-Großhadern
Abteilung Neonatologie
der Ludwig – Maximilians – Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Klaus Friese

**Monitoring der Hautmikrozirkulation mittels OPS-Imaging zur
frühzeitigen Infektionsdiagnostik bei Frühgeborenen**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig – Maximilians – Universität zu München

vorgelegt von
Kathrin Weidlich
aus Memmingen

2007

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. O. Genzel-Boroviczény

Mitberichterstatter: Prof. Dr. B Walzog
Prof. Dr. G Enders

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: –

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 08. März 2007

Meinen Eltern
Birgit und Thomas Weidlich
und meiner Omi

Gliederung

1	Einleitung	9
1.1	Einführung	9
1.2	Problematik der Frühgeburtlichkeit	10
1.3	Neugeboreneninfektion und Neugeborenensepsis	10
1.4	Pathophysiologie der Sepsis	12
1.5	Problematik der frühzeitigen Infektionsdiagnostik	14
1.6	Definition und Bedeutung der Mikrozirkulation	15
1.7	OPS-Imaging als Methode zur transkutanen nicht-invasiven Darstellung der Mikrozirkulation bei Frühgeborenen	15
1.8	OPS-Imaging als Methode zur Früherkennung neonataler Infektionen	18
1.9	Fragestellungen	19
2	Material und Methoden	21
2.1	Einverständniserklärung	21
2.2	Studiengruppe und Studienprotokoll	21
2.3	Definition der Patientengruppen	22
2.4	Technische Aspekte von OPS-Imaging	23
2.4.1	Funktionsprinzip der OPS-Imaging-Technik	23
2.4.2	Mikrozirkulatorische Parameter	25
2.4.3	Handhabung der OPS-Imaging-Sonde	27
2.5	Auswertung der mikrozirkulatorischen Bilder	28
2.5.1	Verblindung der Aufzeichnungen	29
2.5.2	Auswertung mittels des Videobildanalyse-Systems CapiScope	30
2.6	Allgemeine Versorgung der Frühgeborenen und Patientenmonitoring	32
2.6.1	Dokumentation der Werte	33
2.6.2	Fragebögen	35
2.7	Untersuchungen	37
2.7.1	Blutproben	37
2.7.2	Blutgasanalyse	37
2.8	Statistik	37

3	Ergebnisse	39
3.1	Demographische Daten des ersten Lebensmonats	39
3.2	Hämodynamische Veränderungen	40
3.3	Veränderungen von Körper- und Inkubator temperatur	40
3.4	Hämatologische Parameter	41
3.5	Blutgasanalyse	41
3.6	Medikamente	42
3.7	Einteilung der Infektionen	42
3.8	Mikrozirkulatorische Parameter	46
3.8.1	Anwendung von OPS-Imaging	46
3.8.2	Verlauf der mikrozirkulatorischen Parameter im ersten Lebensmonat	46
3.8.3	Verlauf der mikrozirkulatorischen Parameter während laborchemisch bestätigter Infektion	52
3.8.4	Vergleich der mikrozirkulatorischen Parameter während laborchemisch bestätigter Infektion und nicht bestätigter Infektion	58
3.9	Ärzte- und Schwestern-Scores	61
3.9.1	Erkennen der Infektion	61
3.9.2	Veränderung der Scores vor und während Infektion	62
4	Diskussion	63
4.1	Klinische Anwendbarkeit des OPS-Imaging	63
4.1.1	Vergleichbarkeit der Daten	63
4.1.2	Sicherheit der Anwendung	64
4.1.3	Artefaktentstehung	64
4.1.4	Qualität der Mikrozirkulationsbilder	66
4.1.5	Praktikabilität des Videobildanalyse systems CapiScope	67
4.2	Erhebung der mikrozirkulatorischen Parameter	68
4.2.1	Funktionelle Gefäßdichte	68
4.2.2	Erythrozytenfließgeschwindigkeit	69
4.2.3	Gefäßdurchmesser	70
4.3	Allgemeine Beobachtungen bezüglich der Infektion	71
4.4	Nachweis von Mikrozirkulationsstörungen während Infektion	72
4.4.1	Veränderungen der Funktionellen Gefäßdichte	73
4.4.2	Veränderungen der Erythrozytenfließgeschwindigkeit	75

4.4.3	Veränderungen des Gefäßdurchmessers	76
4.5	Diagnostisches Potential hinsichtlich neonataler Infektionen	76
4.6	Ärzte- und Schwestern-Scores	78
4.7	Limitationen und Verbesserungen für Folgestudien	79
5	Zusammenfassung	81
6	Anlagen	85
	Anlage 1: Tagesblatt	86
	Anlage 2: Ärztefragebogen	87
	Anlage 3: Schwesternfragebogen	88
7	Literaturverzeichnis	89
8	Abkürzungen	100
9	Danksagung	101
10	Lebenslauf	102

Tabellen und Abbildungen

Tabelle 1:	Ärztefragebogen	36
Tabelle 2:	Schwesternfragebogen	36
Tabelle 3:	Demographische Daten der drei Patientengruppen	39
Tabelle 4:	Kardiovaskuläre Parameter	40
Tabelle 5:	Körpertemperatur, Inkubator-temperatur, Temperatur der Messstelle	41
Tabelle 6:	Hämatokrit- und Hämoglobinwerte	41
Tabelle 7:	Blutgasanalyseparameter	42
Tabelle 8:	Unterscheidung der Infektionsfälle in PosInf und NegInf	44
Tabelle 9:	CRP- und IL-6Werte der PosInf-Gruppe an Infektionstag 0	44
Tabelle 10:	FVD, RBC Vel und Diam während des ersten Lebensmonats	52
Tabelle 11:	Vergleich der FVD der Gruppe 1 (PosInf) an Tag – 5, Tag – 1 und Tag + 5	53
Tabelle 12:	Vergleich der RBC Vel der Gruppe 1 (PosInf) an Tag – 5, Tag – 1 und Tag + 5	56
Tabelle 13:	Vergleich des Diam der Gruppe 1 (PosInf) an Tag – 5, Tag – 1 und Tag + 5	58
Tabelle 14:	Vergleich der Ärzte- und Schwestern-Scores der drei Patientengruppen	62
Abbildung 1:	Pathophysiologie des SIRS	13
Abbildung 2:	Entwicklung der Hautmikrozirkulation beim Neugeborenen	17
Abbildung 3:	Funktionsprinzip der OPS-Imaging-Technik	24
Abbildung 4:	Aufbau des Cytoscan TM A/R	25
Abbildung 5:	OPS-Imaging-Bild der Hautmikrozirkulation eines Frühgeborenen der 28. SSW	26
Abbildung 6:	Handhabung der OPS-Imaging-Sonde bei einem Frühgeborenen der 28. SSW	28
Abbildung 7:	Vergleich der FVD eines Frühgeborenen der 25. SSW mit bestätigter Infektion (PosInf) an Tag – 5 und an Tag – 1	55
Abbildung 8:	Vier-Felder-Tafel der Ärzte- und Schwestern-Scores der Bestätigten Infektionen (PosInf)	61

Diagramme

Diagramm 1: Verteilung der Infektionen innerhalb des ersten Lebensmonats	43
Diagramm 2: Vergleich des Geburtsgewicht der Frühgeborenen mit Infektion und der Frühgeborenen ohne Infektion	45
Diagramm 3: Häufigkeitsverteilung der FVD des Patientenkollektivs	46
Diagramm 4: Box-and-Whiskers-Plots der FVD der Patienten 1 bis 25	47
Diagramm 5: Häufigkeitsverteilung der RBC Vel des Patientenkollektivs	48
Diagramm 6: Box-and-Whiskers-Plots der RBC Vel der Patienten 1 bis 25	49
Diagramm 7: Häufigkeitsverteilung des Diam des Patientenkollektivs	50
Diagramm 8: Box-and-Whiskers-Plots des Diam der Patienten 1 bis 25	51
Diagramm 9: Box-and-Whiskers-Plots der FVD im Verlauf einer laborchemisch bestätigten Infektion (PosInf)	53
Diagramm 10: FVD-Abfall der Gruppe 1 (PosInf) von Tag – 5 nach Tag – 1	54
Diagramm 11: Box-and-Whiskers-Plots der RBC Vel im Verlauf einer laborchemisch bestätigten Infektion (PosInf)	56
Diagramm 12: Box-and-Whiskers-Plots des Diam im Verlauf einer laborchemisch bestätigten Infektion	57
Diagramm 13: Gegenüberstellung der FVD der PosInf-Gruppe und der NegInf-Gruppe	58
Diagramm 14: Gegenüberstellung der RBC Vel der PosInf-Gruppe und der NegInf-Gruppe	59
Diagramm 15: Gegenüberstellung des Diam der echten PosInf-Gruppe und der NegInf-Gruppe	60
Diagramm 16: Verlauf der Ärzte- und Schwestern-Scores (Mittelwerte), Vergleich der PosInf-Gruppe mit der NegInf-Gruppe	62

1 Einleitung

1.1 Einführung

Die Anzahl der Frühgeborenen ist in den letzten Jahren stark angestiegen und so kommen heute rund 50% mehr Kinder vor der vollendeten 37. Schwangerschaftswoche zur Welt als noch vor 30 Jahren. Für die steigende Zahl frühgeborener Kinder gibt es unterschiedliche Gründe, darunter die Häufung von Mehrlingsschwangerschaften durch den vermehrten Einsatz reproduktionsmedizinischer Verfahren oder die Möglichkeit des frühen und geplanten Kaiserschnitts unter Hinzuziehung von Neonatologen zur optimalen medizinischen Versorgung des Frühgeborenen. Die bessere Vorsorge in der Schwangerschaft und damit die verbesserte Chance auf ein Austragen des Kindes bis zu einem Zeitpunkt, zu dem die Wahrscheinlichkeit des Überlebens groß genug ist, trägt außerdem zu einer Steigerung der Frühgeborenenzahlen bei.⁷²

Die steigende Überlebensrate in der Neonatologie ist insbesondere in der Gruppe der sehr kleinen Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht unter 1500 g, den sogenannten very low birth weight (VLBW) infants, zu beobachten und besonders auf Fortschritte in der Neugeborenenintensivpflege zurückzuführen.^{1, 3, 25, 38, 50, 55, 62, 72, 78} Ein Problem, das nach wie vor eine Herausforderung an die moderne Medizin darstellt, ist die hohe Infektionsanfälligkeit der Frühgeborenen, speziell der VLBW-Kinderr, die auf eine deutlich eingeschränkte Immunabwehr zurückzuführen ist. Infektionen sind bei den sehr kleinen Frühgeborenen deutlich häufiger und zeigen nicht selten einen fulminanten Verlauf mit Übergang in eine neonatale Sepsis.^{79,87}

Eine frühzeitige Diagnosestellung und ein schnellstmöglicher Therapiebeginn sind unabdingbar, da der Behandlungserfolg deutlich von Dauer und Ausmaß der Infektion abhängt.^{1, 27, 79, 87}

Da es bei der Entstehung einer Sepsis durch endotheliale Dysfunktion zu mikrozirkulatorischen Veränderungen kommt, könnte ein Monitoring der Hautmikrozirkulation von Frühgeborenen helfen, Infektionen frühzeitig zu diagnostizieren und zu therapieren.

1.2 Problematik der Frühgeburtlichkeit

Von jährlich rund 800 000 Lebendgeborenen in Deutschland kommen 6 – 7 % als Frühgeborenen zur Welt, das heißt vor Vollendung der 37. Schwangerschaftswoche (WHO-Definition).⁹⁰ Die Zahl der Überlebenden nimmt fortwährend zu und insbesondere bei Kindern mit einem Geburtsgewicht unter 1500 g, den VLBW infants, zeigen sich die Fortschritte der Neugeborenenintensivpflege.^{3, 25, 38, 55, 66, 72, 78}

Die Überlebensrate sehr kleiner Frühgeborener betrug in den Jahren 1997 – 1999 deutschlandweit 83 %. In dieser Gruppe wird die vollendete 24. Schwangerschaftswoche (SSW) bzw. ein Geburtsgewicht von 700 g mit einer Überlebenschance von 50 % als untere Grenze angegeben. Zwischen der 24. und 28. Schwangerschaftswoche führt eine Tragzeitverlängerung zu einer Steigerung der Überlebensrate von 2 – 3 % pro Tag. Allerdings muss vor allem bei Kindern mit einem Gestationsalter von 24 SSW in 60 – 70 % der Fälle mit erheblichen bleibenden Beeinträchtigungen des Gesundheitszustandes gerechnet werden.⁵⁰

Während der ersten Lebenswochen führt insbesondere die mangelnde Reife der einzelnen Organ- und Regulationssysteme zu Gefährdungen der Frühgeborenen, die sich in den Bereichen Temperaturregulation, Atmung, Herz-Kreislauf, Ernährung, Stoffwechsel, Ausscheidung und Immunität zeigen.

Die eingeschränkte Immunabwehr ist zurückzuführen auf die schwächer ausgeprägte Phagozytose und Migrationfähigkeit der Abwehrzellen, die erniedrigte Produktion von IgG und Komplementfaktoren, sowie das insgesamt langsamer als beim Erwachsenen reagierende Immunsystem eines Neugeborenen.^{21, 55, 65}

1.3 Neugeboreneninfektion und Neugeborenenensepsis

Das unreife Immunsystem, die unvermeidliche Exposition gegenüber pathogenen Organismen im Geburtskanal und der perinatale Stress tragen zur erhöhten Infektionsrate der Neugeborenen bei. Diese wird in der Literatur mit 1 – 8 Infektionen pro 1000 Neugeborene insgesamt bzw. mit 10 – 20/1000 low birth weight Kinder (LBW) angegeben.¹⁶ Frühgeburtlichkeit stellt neben vorzeitigem Blasensprung, perinataler Asphyxie oder männlichem Geschlecht, sowie maternalem Fieber bzw.

Chorioamnionitis einen eigenen Risikofaktor für neonatale Infektionen dar und erhöht das Infektionsrisiko um den Faktor 7.^{55, 61}

Infektionen sind im Neugeborenenalter die häufigste Ursache für eine Systemische Entzündungsreaktion (SER) (engl. systemic inflammatory response syndrome (SIRS)) und können vor allem bei bakteriellen Erregern einen foudroyanten Krankheitsverlauf mit raschem Übergang in eine Sepsis zeigen.^{62, 67}

Ein neonatales SIRS liegt vor, wenn mindestens zwei der folgenden Kriterien zutreffen. Hypo- (< 36 °C) oder Hyperthermie (> 38 °C), Tachykardie (Herzfrequenz > 2 Standardabweichungen über dem altersentsprechenden Normalwert), Tachypnoe (Atemfrequenz > 2 Standardabweichungen über dem altersentsprechenden Normalwert), eine Leukozytose > 12.000/µl oder eine Leukopenie < 4.000/µl und/oder eine Linksverschiebung > 10 % im Differentialblutbild.^{1, 36, 56, 62} Lässt sich im Rahmen der Infektion ein Erreger im Blut nachweisen, spricht man von einer Sepsis, andernfalls sollte der Terminus „klinische Sepsis“ (Symptomatik ohne Erregernachweis) verwendet werden.⁶⁵

Bei der Neugeborenen-sepsis wird eine Unterscheidung in eine früh beginnende („early onset“) und eine spät beginnende („late onset“) Form getroffen.⁷⁹ Bei der early onset Form handelt es sich um ein fulminantes, multisystemisches Krankheitsbild während der ersten Lebensstage, das häufig bei Frühgeborenen auftritt. Hier liegen meist geburtshilfliche Risiken, wie vorzeitiger Blasensprung, vorzeitiger Wehenbeginn, Chorioamnionitis oder peripartales Fieber der Mutter vor.^{61, 79} Entsprechend dem prä- oder perinatalen Infektionsweg handelt es sich hierbei überwiegend um Infektionen mit Erregern der mütterlichen Vaginalflora, wie Streptokokken der Gruppe B, Escherichia coli oder Listeria monocytogenes.^{1, 37, 61, 79}

Symptome der late-onset-Infektionen treten frühestens am vierten Lebenstag auf, meist jedoch erst im Alter von zwei bis vier Lebenswochen.⁷⁷ Hierbei finden sich als Varianten die B-Streptokokken-Meningitis, bei der eine Infektion sowohl nosokomial als auch perinatal erfolgen kann und die nosokomiale Neugeboreneninfektion im engeren Sinne. Ihr bakterielles Erregerspektrum umfasst vor allem das Keimspektrum der Intensivstation. Als wichtigster Erreger gilt hierbei Staphylococcus epidermidis (als sogenannter „Stationsselektionskeim“), in Betracht kommen zudem Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter species, Enterococcus und Pseudomonas aeruginosa.^{1, 37, 61, 77, 78, 79} Risikofaktoren der nosokomialen Neugeboreneninfektion

sind neben den oben genannten Faktoren Frühgeburtlichkeit, niedriges Geburtsgewicht oder männliches Geschlecht.^{16, 55, 61}

Entscheidend für eine erfolgreiche Therapie ist der frühzeitige Beginn bei anamnestisch bzw. klinisch begründetem Infektionsverdacht. Die sofort einzuleitende Antibiotikatherapie ist so zu gestalten, dass neben dem Erregerspektrum der neonatalen Sepsis auch klinikspezifische Erreger erfasst werden. Außerdem müssen etwaige Resistenzen berücksichtigt werden. Die Therapiedauer richtet sich nach dem Infektionsverlauf und beträgt bei klinisch blandem Verlauf ohne Erregernachweis meist weniger als 10 Tage. Wenn sich der Verdacht durch den klinischen Verlauf und die Laborparameter nicht bestätigt, sollte die Therapie nach maximal 2 Tagen beendet werden.^{1, 2, 21, 26, 76, 79}

Konsequenterweise muss auch weiterhin akzeptiert werden, dass relativ viele Neugeborene wegen eines Sepsisverdacht es behandelt werden, obwohl sich nur bei wenigen Erregern in Blut-, Urin- oder Liquorkultur nachweisen lassen.⁷⁹

1.4 Pathophysiologie der Sepsis

In der Genese der Sepsis spielt das Zusammenwirken von Infektion und Immunantwort eine entscheidende Rolle. Prinzipiell sind alle Erreger, seien sie bakterieller, viraler, fungaler oder parasitärer Natur, in der Lage eine Sepsis zu triggern. Wie sich in einigen experimentellen Sepsismodellen zeigte, induzieren bakterielle Endotoxine auch ausgeprägte mikrovaskuläre Veränderungen.^{13, 20, 44, 60}

Weiterhin entscheidend für die Entstehung einer Sepsis ist die Aktivierung immunkompetenter Zellen des Organismus und die Ausschüttung der primären Inflammationsmediatoren Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α) und Interleukin-1 (IL-1). Diese primäre Immunantwort wird durch das Freisetzen einer Vielzahl sekundärer Mediatoren weiter verstärkt. Neben der Hyperinflammation kommt es ebenfalls zu einer antiinflammatorischen Reaktion, einerseits durch die Bildung antiinflammatorischer Substanzen (TNF- α -Rezeptoren, IL-1-Rezeptorantagonisten, IL-4, IL-10), andererseits durch Apoptose immunkompetenter Zellen, siehe Abbildung 1.

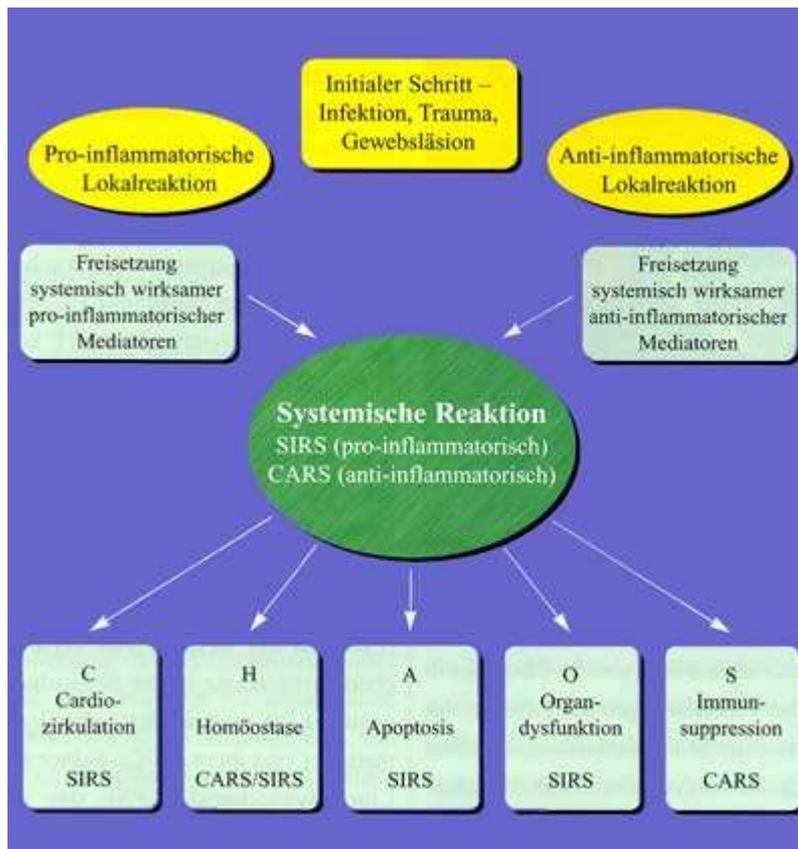


Abbildung 1. Pathophysiologie des SIRS

Diese Immunantwort führt zur Beeinträchtigung einer Reihe endothelialer Funktionen und daraus resultierenden klinischen Symptomen. So kommt es durch die Expression von tissue factor (TF) auf Monozyten, neutrophilen Granulozyten und Endothelzellen zur Aktivierung des Gerinnungssystems und durch die gleichzeitige Hemmung physiologischer Antikoagulantien (Antithrombin III, Protein C, Protein S, tissue factor pathway inhibitor) zur disseminierten intravasalen Gerinnung.

Leukozyten werden durch den Kontakt mit der Endothelzelloberfläche aktiviert, was zur Freisetzung zytotoxischer Substanzen („respiratory burst“) führt. Diese wirken nicht nur antimikrobiell, sondern schädigen auch Endothelzellen, was wiederum Störungen der Mikrozirkulation sowie die Ausbildung eines Kapillarlecks mit konsekutivem Übertritt intravasaler Flüssigkeit in das Interstitium nach sich zieht. Massive Flüssigkeitsverschiebungen können so zu einem ausgeprägten intravasalen Volumenmangel führen.

Inflammationsmediatoren stimulieren außerdem die endotheliale NO-Synthase und die hieraus resultierende NO-vermittelte Vasodilatation führt zu arterieller Hypotension, einem charakteristischen Merkmal des septischen Schocks. Zusätzlich zum Flüssigkeitsverlust über das Kapillarleck verringert die Vasodilatation die kardiale

Vorlast durch fehlenden venösen Rückstrom. Es resultiert das Vollbild des septischen Schocks mit Hypotonie und Organversagen.^{1, 15, 19, 22, 37, 39, 40, 45, 64, 81}

Uns stellte sich die Frage, ob diese infektionsassoziierten mikrovaskulären Veränderungen mittels mikrozirkulatorischem Monitoring frühzeitig erkennbar sind und somit neonatale Infektionen so frühzeitig erkannt werden können, dass sich Komplikationen und der Übergang in eine Sepsis vermeiden lassen.

1.5 Problematik der frühzeitigen Infektionsdiagnostik

Frühe klinische Zeichen einer neonatalen Infektion sind sehr diskret und unspezifisch. Veränderungen des Hautkolorits, Störungen der Atmung, wie Dyspnoe, Apnoe oder ein Atemnotsyndrom mit konsekutiven Sättigungsabfällen, eine verlängerte Kapilläre Füllungszeit > 3 Sekunden als Ausdruck gestörter Mikrozirkulationsverhältnisse, sowie Temperaturinstabilität, Nahrungsintoleranz oder ein geblähtes, vorgewölbtes Abdomen sind sensitive, aber unspezifische Zeichen einer Infektion.^{1, 16, 26, 65, 72, 87}

In der Studie von Gorelick und Mitarbeitern zum Beispiel hatte Fieber keinen Einfluss auf die Kapilläre Füllungszeit.²⁸ Kein Symptom, abgesehen von eindeutigen Hautinfektionen wie Pusteln oder Abszessen, beweist für sich allein gesehen eine Infektion.

Der Neonatologe ist in seiner Diagnostik zum einen auf diese oben beschriebenen, uncharakteristischen klinischen Zeichen angewiesen, zum anderen spielen aber auch die Beobachtungen der versorgenden Intensivschwestern eine nicht zu unterschätzende Rolle. Schon Feststellungen wie „Das Kind gefällt mir heute gar nicht“ können diagnostisch richtungsweisend sein.

Zur Diagnosesicherung sollten außerdem spezielle Laborkenngrößen bestimmt werden. Hierzu gehören ein Blutbild mit Differenzierung, Bestimmung der Thrombozytenzahl, Messung des C-reaktiven Proteins (CRP) und die Messung des Interleukin-6 (IL-6)-Wertes oder anderer Infektionsmarker, wie TNF- α oder weitere Interleukine.^{26, 51}

Trotz der Unspezifität klinischer Zeichen ist eine schnelle und möglichst frühzeitige Diagnose einer Neugeborenensepsis dringend notwendig und kann mitunter lebensrettend sein. Mit einem Anteil von 17 % waren die Neugeboreneninfektionen 1980 in den USA an neonatalen Todesfällen beteiligt. Perinatale Infektionen standen 1998 an 7. Stelle der kindlichen Todesursachenstatistik.⁷³

Mit dem Nachweis mikrozirkulatorischer Veränderungen während einer Infektion, die mittels OPS-Imaging sichtbar gemacht werden können, erhoffen wir uns daher eine neue Methode zur frühzeitigen Infektionsdiagnostik.^{27, 51}

1.6. Definition und Bedeutung der Mikrozirkulation

Eine intakte Mikrozirkulation ist die Voraussetzung für eine adäquate nutritive Versorgung eines Gewebes, die schlussendlich die Organfunktion garantiert. Die Gefäße der Endstrombahn, die Kapillaren, stellen mit einem Durchmesser von 5 – 15 µm und einer Länge von 0,5 – 1 mm die Verbindung zwischen arteriellem und venösem System dar und ermöglichen den Austausch von Sauerstoff und Kohlenstoffdioxid, sowie von Nährstoffen und Stoffwechselabbauprodukten.

Auf mikrozirkulatorischer Ebene interagieren somit Blut und Gewebe zur Entstehung und Aufrechterhaltung eines Milieus, das für das Überleben von Zellen und Gewebe notwendig ist und somit die Organfunktion garantiert. Dementsprechend existiert eine bedeutende Anzahl an Erkrankungen, darunter Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, koronare Herzkrankheit oder Sepsis, die durch Dysfunktion der Mikrozirkulation charakterisiert sind.³¹ Die Forschung fokussiert bei diesen Erkrankungen in erster Linie auf die Erfassung zellulärer und molekularer Mechanismen der mikrozirkulatorischen Dysfunktion, um das Verständnis der Pathophysiologie zu verbessern und neue therapeutische Strategien zu entwickeln.⁵⁴

1.7 OPS-Imaging als Methode zur transkutanen nicht-invasiven Darstellung der Mikrozirkulation bei Frühgeborenen

Von Groner, Winkelmann und Mitarbeitern wurde im Oktober 1999 in der Zeitschrift „Nature Medicine“ eine neue Technik zur nicht-invasiven Darstellung der Mikrozirkulation vorgestellt, die Orthogonal Polarization Spectral Imaging Technique (OPSTM A/R imaging).³¹ Diese Methode ermöglicht es, die Mikrozirkulation von Geweben und Organen beim Menschen ohne Verwendung von Kontrastmitteln in vivo darzustellen.⁸ Mit Hilfe spezieller Optiken werden im Auflichtverfahren Bilder erzeugt,

wie sie sonst bei Transillumination entstehen. Erstmals wurde diese Technik der Epi-illumination 1987 von Slaaf und Mitarbeitern beschrieben.⁷⁴

Die Auswertung der durch OPS-Imaging erzeugten Bilder ermöglicht eine quantitative Beschreibung der Mikrozirkulation des untersuchten Gewebes anhand der mikrozirkulatorischen Parameter Funktionelle Gefäßdichte (FVD), Erythrozytenfließgeschwindigkeit (RBC Vel) und Gefäßdurchmesser (Diam).

Genzel-Boroviczény und Mitarbeiter zeigten, dass mittels OPS-Imaging die Mikrozirkulation von Frühgeborenen transkutan an verschiedenen Körperstellen visualisiert werden kann. Die Innenseite des Oberarms wurde als beste Position beschrieben, da hier kaum Artefakte durch Atemexkursionen zu erwarten sind und weniger Lanugobehaarung vorhanden ist als beispielsweise an Stirn oder Brust der Frühgeborenen.^{23, 24}

Zur Analyse der Hautmikrozirkulation ist eine genaue Kenntnis der Unterschiede zwischen der neonatalen und der adulten Hautmikrozirkulation unentbehrlich. Die Entwicklung des Gefäßsystems der Haut beginnt im Embryonalstadium, erreicht aber erst postnatal während der ersten Lebenswochen ihre endgültige Form. Während der ersten zwölf Wochen des intrauterinen Lebens finden sich keine Blutgefäße in der Dermis, die ebenso wie die nur zwei Schichten dicke Epidermis durch Diffusion von subkutanen Gefäßnetzen ernährt wird. Erst ab der 13. SSW lassen sich Gefäße in der Dermis deutlich darstellen. Ende des vierten intrauterinen Monats kann ein superfizieller kapillärer Plexus, der die Epidermis versorgt, von einem tiefer liegenden Plexus differenziert werden. Bis zur 28. SSW nähert sich das Gefäßmuster dem adulten Gefäßsystem mehr und mehr an,⁶⁶ die Mikrozirkulation der Haut unterscheidet sich in der Neonatalperiode jedoch weiterhin in einigen Punkten von der eines Erwachsenen. Beim Neugeborenen wird die Haut von dichten subepidermal gelegenen Gefäßplexus versorgt, die eine relativ geringe regionale Variabilität zeigen. Anders als beim Erwachsenen, wo die großen hautversorgenden Arterien und Venen in der Unterhaut verlaufen und nur kleine Gefäßäste in die Dermis aufsteigen, ist die mittlere und tiefe Lederhaut bei Neugeborenen reich vaskularisiert. Die Kapillarschlingen des Erwachsenen verlaufen weitgehend senkrecht zur Hautoberfläche, wohingegen die neonatalen eine eher horizontale Struktur aufweisen, die bereits durch die sehr dünnen oberen Hautschichten hindurchschimmert. Das charakteristische Muster aus Kapillarschlingen und subpapillärem Venenplexus ist bei Geburt noch nicht ausgereift.

Mit Ausnahme von Handfläche, Fußsohle und Nagelbett besitzt die Haut fast keine Papillarschlingen, sondern ein eher ungeordnetes Kapillargeflecht. Innerhalb der ersten Lebenswoche entwickelt sich daraus allmählich ein geordnetes Gefäßnetz, in der zweiten Woche werden dann die Papillarschlingen als superfizielle Dilatationen oder Knospen sichtbar.^{41, 42, 66}

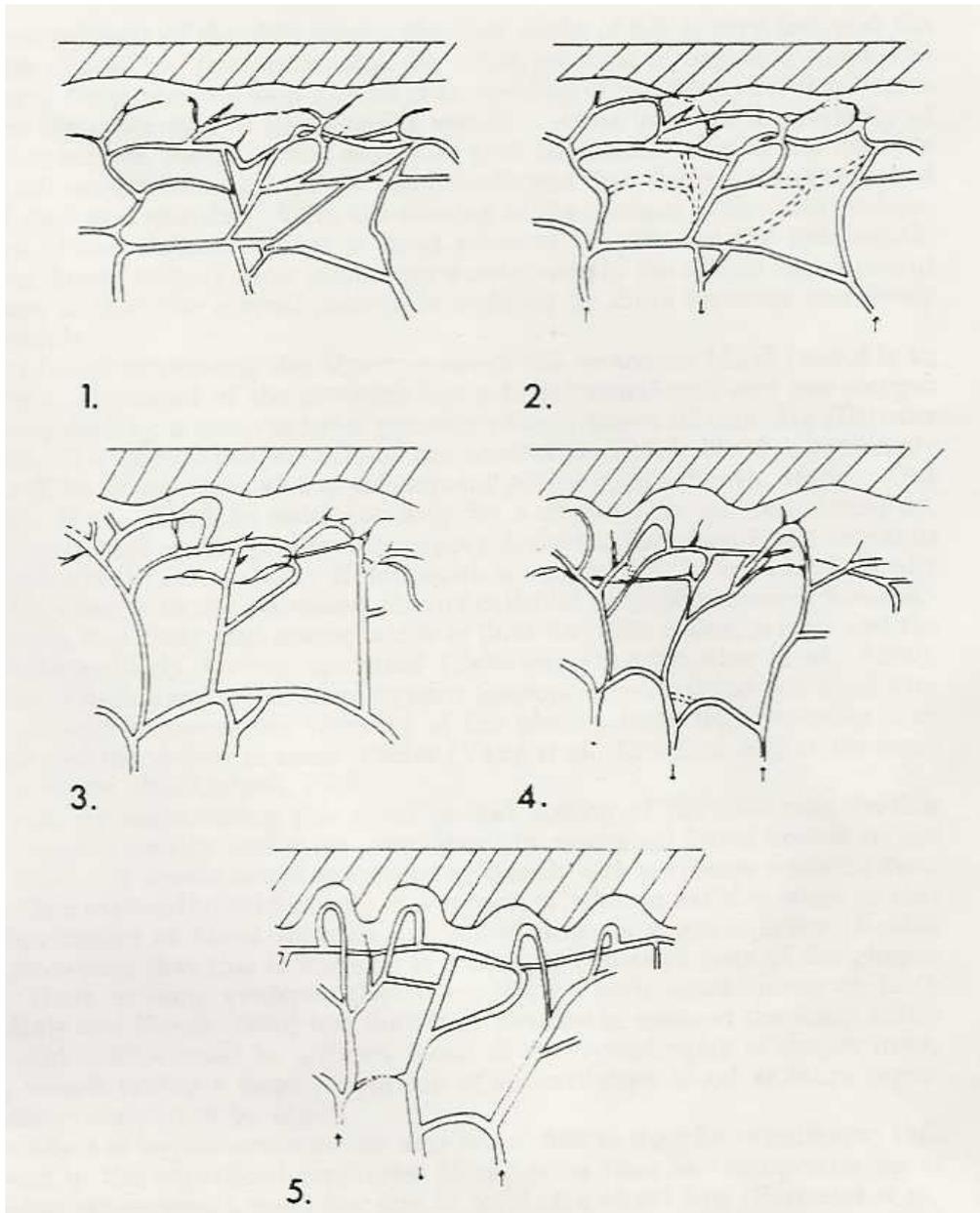


Abbildung 2. Entwicklung der Hautmikrozirkulation beim Neugeborenen (1) Blutversorgung der Epidermis bei Geburt; (2), (3), (4) graduelle Entwicklung der papillären Knospen und Organisation des subpapillären Plexus von der Geburt bis zum 3. Lebensmonat (5) Hautmikrozirkulationsmuster im Alter von 3 Monaten

1.8 OPS-Imaging als Methode zur Früherkennung neonataler Infektionen

Infektionsbedingte Veränderungen der Mikrozirkulation, vor allem des Gefäßdurchmessers und der Dichte des Kapillarnetzes, wurden bereits in verschiedenen experimentellen Sepsismodellen an Ratten und Hunden beschrieben.^{13, 17, 20}

In früheren OPS-Imaging Studien untersuchten De Backer und Mitarbeiter die Veränderung der sublingualen Mikrozirkulation bei erwachsenen Patienten mit schwerer Sepsis. Sie wiesen hier eine Abnahme der Gefäßdichte nach, die vor allem die kleinen sublingualen Gefäßen (Durchmesser $\leq 20 \mu\text{m}$) betraf. Die Mikrogefäße mit einem Durchmesser $> 20 \mu\text{m}$ blieben unbeeinträchtigt. Außerdem konnten sie zeigen, dass das Ausmaß der mikrozirkulatorischen Veränderungen mit einer verminderten Überlebensquote der Sepsis einhergingen.^{14, 15}

Sakr und Mitarbeiter charakterisierten den zeitlichen Verlauf mikrozirkulatorischer Veränderungen bei Patienten im septischen Schock und deren Zusammenhang mit dem weiteren Krankheitsverlauf. Dazu erfassten sie die sublinguale Mikrozirkulation mittels OPS-Imaging vom Beginn eines septischen Schocks an über mehrere Tage hinweg. Zu Beginn des septischen Schocks fanden sich keine Unterschiede in der Gefäßdichte und dem Prozentsatz perfundierter kleiner Gefäße (Durchmesser bis $20 \mu\text{m}$) zwischen Überlebenden und Nichtüberlebenden des Schocks. Im weiteren Verlauf stieg jedoch die Perfusion der kleinen Mikrogefäße bei Überlebenden signifikant gegenüber derjenigen von Nichtüberlebenden wieder an. Damit konnte gezeigt werden, dass das persistierende Fehlen von Kapillarperfusion über einen Zeitraum von mehr als 24 Stunden als sensitivster und spezifischster hämodynamischer Parameter galt, um den Verlauf eines septischen Schocks vorherzusagen.⁶⁸

Fischer und Mitarbeiter konnten eine Verschlechterung der intestinalen Mikrozirkulation (Reduktion von Kapillardichte und -perfusion) von neugeborenen Ferkeln im Lipopolysaccharid-(LPS)-induzierten Schock nachweisen. Die Veränderungen wurden bereits zu einem Zeitpunkt beobachtet, als sowohl die makroskopische Evaluation des Darmes als auch die klinischen und hämodynamischen Parameter noch unauffällig waren.²²

Diese Studien lassen die Annahme zu, dass ähnliche Ergebnisse auch bei der Untersuchung der Hautmikrozirkulation von Neugeborenen zu erwarten sind. Beim Neugeborenen kommt der mikrozirkulatorischen Hautdurchblutung eine wesentlich

größere Bedeutung als beim Erwachsenen zu, da die kardiovaskulären Mechanismen, die ihnen zur Kompensation einer Minderperfusion zur Verfügung stehen, sehr eingeschränkt sind. Limitierend ist hier zum einen die begrenzte Steigerungsfähigkeit der Herzfrequenz, zum anderen die nur unzureichend mögliche Erhöhung der myokardialen Kontraktilität. In erheblich größerem Maße als bei Erwachsenen besteht jedoch die Fähigkeit, die kutane Durchblutung zu drosseln und in diesem Zusammenhang kann die Haut bei Frühgeborenen als eine Art Schockorgan betrachtet werden. Die Schwere der Vasokonstriktion dient hierbei als Indikator für die unzureichende Gewebedurchblutung. Klinisch kann dies zum einen in einer Veränderung des Hautkolorits von rosig nach marmoriert bzw. blass erkannt werden, zum anderen in einer Verlängerung der Kapillären Füllungszeit, die zur Bewertung der Mikrozirkulation dient.¹⁰

Nachdem transkutane Messungen mittels OPS-Imaging schon bei sehr kleinen Frühgeborenen die nicht-invasive Messung der Hautmikrozirkulation erlauben, könnte diese Technik zur frühen Diagnostik einer neonatalen Infektion beitragen und damit zu einer Reduktion von Blutentnahmen und Antibiotikagaben führen.^{10, 23, 24}

1.9 Fragestellungen

Die tägliche Messung der Hautmikrozirkulation mittels OPS-Imaging könnte als diagnostische Methode frühzeitig Neugeboreneninfektionen anhand veränderter mikrozirkulatorischer Parameter erkennen lassen. Als Messort wählten wir die Innenseite des Oberarms, da diese leicht zugänglich ist und nur geringe Artefaktbildung durch Atembewegungen bzw. Lanugobehaarung zu erwarten ist. Um die diesbezügliche Anwendbarkeit des Geräts in der klinischen Routine zu testen, wurde auf der Neonatologischen Intensivstation des Klinikums Großhadern an 25 Frühgeborenen mit einem Gestationsalter von 23 – 30 SSW eine klinische Studie durchgeführt, über die in dieser Arbeit berichtet wird. Im Mittelpunkt unseres Interesses standen bei dieser Studie die Praktikabilität im klinischen Alltag und das diagnostische Potenzial der OPS-Imaging-Technik.

Folgende Fragestellungen sollen in dieser Studie untersucht werden:

1. Lassen sich mittels OPS-Imaging infektionsassoziierte Mikrozirkulationsveränderungen bei Frühgeborenen nachweisen?
2. Lassen sich Veränderungen der mikrozirkulatorischen Parameter Funktionelle Gefäßdichte, Erythrozytenfließgeschwindigkeit und Gefäßdurchmesser im zeitlichen Verlauf einer Infektion erkennen?
3. Besteht ein Zusammenhang der mikrozirkulatorischen Parameter mit gängigen Infektionsparametern?
4. Gibt es einen Zusammenhang zwischen mikrozirkulatorischen Parametern und kardiovaskulären und respiratorischen Parametern?
5. Korrelieren die Mikrozirkulationsparameter mit dem klinischen Erscheinungsbild des Kindes?
6. Sind Infektionen mittels OPS-Imaging früher erkennbar als mittels gängiger Infektionsparameter ?
7. Limitationen und Verbesserungen für nachfolgende Studien

2 Material und Methoden

2.1 Einverständniserklärung

Diese Studie wurde von der Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München genehmigt. Die Eltern der Frühgeborenen wurden über die Studie und die Methode des OPS-Imaging aufgeklärt und beide Elternteile unterzeichneten die von uns formulierte Einverständniserklärung.

2.2 Studiengruppe und Studienprotokoll

Die Analyse der Infektionsdaten der Neonatologischen Intensivstation des Universitätsklinikums Großhadern von 1997 bis 2002 ergab, dass bei Kindern mit einem Gestationsalter < 30 Schwangerschaftswochen (SSW) das höchste Risiko für eine nosokomiale Neugeboreneninfektion besteht.

In die Studie aufgenommen wurden daher alle in der Zeit von Januar 2003 bis Juli 2003 im Universitätsklinikum Großhadern geborenen Kinder mit einem Gestationsalter < 30 SSW, deren Eltern ihr Einverständnis zur Studie gaben. Die Studiengruppe umfasste 25 Frühgeborene (13 Knaben und 12 Mädchen) mit einem Gestationsalter von 23 + 6 bis 29 + 4 SSW.

Die Mikrozirkulation wurde nicht-invasiv an der Innenseite des Oberarms in der Nähe der Axilla mittels CYTOSCAN™ A/R visualisiert. Die Messungen begannen frühestens am dritten Lebenstag, dauerten maximal bis zum 30. Lebenstag an und wurden täglich zwischen 8h und 12h durchgeführt. Während der Zeit der Messungen wurden die Frühgeborenen in Inkubatoren (Dräger) versorgt.

Zum jeweiligen Messzeitpunkt notierten wir Körper- und Inkubator Temperatur, Herzfrequenz, systolischen und diastolischen Blutdruck sowie den mittleren arteriellen Druck (MAD) und die Temperatur der Messstelle. Bei maschineller Beatmung wurden zudem die Beatmungsparameter wie Art der Beatmung, inspiratorischer und expiratorischer Beatmungsdruck, Sauerstoffflow und Sauerstoffkonzentration aufgezeichnet.

Im Tagesverlauf wurden weitere respiratorische und kardiovaskuläre Parameter dokumentiert, zudem Instabilitäten der Körpertemperatur bzw. Veränderungen der

Inkubatortemperatur (Veränderungen $> 0,5$ °C), das aktuelle Gewicht, verabreichte Medikamente und diverse Laborwerte registriert, siehe Tagesblatt in Anlage 1.

Des Weiteren bewerteten die für das Kind zuständigen Ärzte und Schwestern jeden Tag den klinischen Zustand des Kindes mit Hilfe eines Fragebogens. (siehe Anlagen 2 und 3). Diese Fragebögen wurden von uns auf Grundlage allgemein verwendeter klinischer Zeichen für eine Neugeboreneninfektion erstellt und entstanden in Anlehnung an die Empfehlungen der Gesellschaft für Neonatologie und pädiatrische Intensivmedizin (GNPI).^{1, 16, 26, 63, 78} Von den Ärzten wurde täglich Hautkolorit, Extremitätentemperatur und Kapilläre Füllungszeit dokumentiert. Zudem nahmen sie eine Beurteilung des Abdomens vor, bestimmten den neurologischen Status und die Lebergröße. Die Schwestern beurteilten ebenfalls täglich Hautbefund, Allgemeinzustand, Trinkverhalten, Berührungsempfindlichkeit und Funktion des Magen-Darm-Trakts des Kindes. Bei der Auswertung dieser Fragebögen ermittelten wir durch Addition der vergebenen Punktwerte pro Tag je einen Ärzte- und einen Schwestern-Score.

2.3 Definition der Patientengruppen

Zur Auswertung wurden die Kinder retrospektiv in 3 Infektionsgruppen eingeteilt. Gruppe 1 (PosInf) bildeten dabei diejenigen Kinder, bei denen sich der klinisch geäußerte Infektionsverdacht laborchemisch bestätigte. Als laborchemische Bestätigung galten hierbei entweder ein erhöhter Wert des C-reaktiven Proteins (CRP $> 0,5$ mg/dl) oder des Interleukin-6 (IL-6 > 10 pg/ml) bzw. eine Erhöhung beider Infektionsmarker am Tag des Therapiebeginns. Diese beiden Laborgrößen zählen zu den etablierten Markern in der Diagnostik der Neugeboreneninfektionen, wobei im Falle einer CRP-Erhöhung von einer Sensitivität von 80% und einer Spezifität von 92% auszugehen ist, bei einer Erhöhung des IL-6 von 61% Sensitivität und 80% Spezifität.^{27, 63}

Die Frühgeborenen, bei denen auf Grund des klinischen Zustandes Infektionsverdacht bestand und eine antibiotische Therapie eingeleitet wurde, deren Infektionsmarker jedoch unter den oben angegebenen Grenzwerten blieben, wurden in Gruppe 2 (NegInf) subsumiert. In Gruppe 3 fassten wir die gesunden Kinder zusammen, die während der gesamten Zeit der Messungen keinen Anhalt für eine Neugeboreneninfektion boten und zu keiner Zeit antibiotisch behandelt wurden.

Um den zeitlichen Verlauf der erhobenen Daten während der Infektion darzustellen, betrachteten wir einen Zeitraum von fünf Tagen vor und fünf Tagen nach Äußerung des Infektionsverdachtes, den wir mit dem Beginn der antibiotischen Therapie gleichsetzten. Dazu wurde derjenige Lebenstag des Kindes, an dem die antibiotische Therapie angesetzt wurde, als Tag 0 der Infektion definiert und entsprechend die fünf Tage davor als Tag - 5, Tag - 4, Tag - 3, Tag - 2, Tag - 1 bzw. die fünf darauf folgenden Tage als Tag + 1, Tag + 2, Tag + 3, Tag + 4 und Tag + 5 bezeichnet. Außerdem unterteilten wir die Infektionsperiode in „vor der Infektion“ (Tag - 5 bis Tag - 1) und „während der Infektion“ (Tag 0 bis Tag + 5).

2.4 Technische Aspekte von OPS-Imaging

Das Verfahren des Orthogonal Polarization Spectral TM A/R Imaging, zu deutsch orthogonale polarisierte spektrale Bildgebung, ist eine neue Methode mittels derer die Mikrozirkulation nicht-invasiv und ohne Verwendung von Farbstoffen zur Kontrastverbesserung dargestellt werden kann. Spezielle Optiken erzeugen im Auflichtverfahren Bilder, wie sie bei der Transillumination entstehen.^{31, 33, 49, 71}

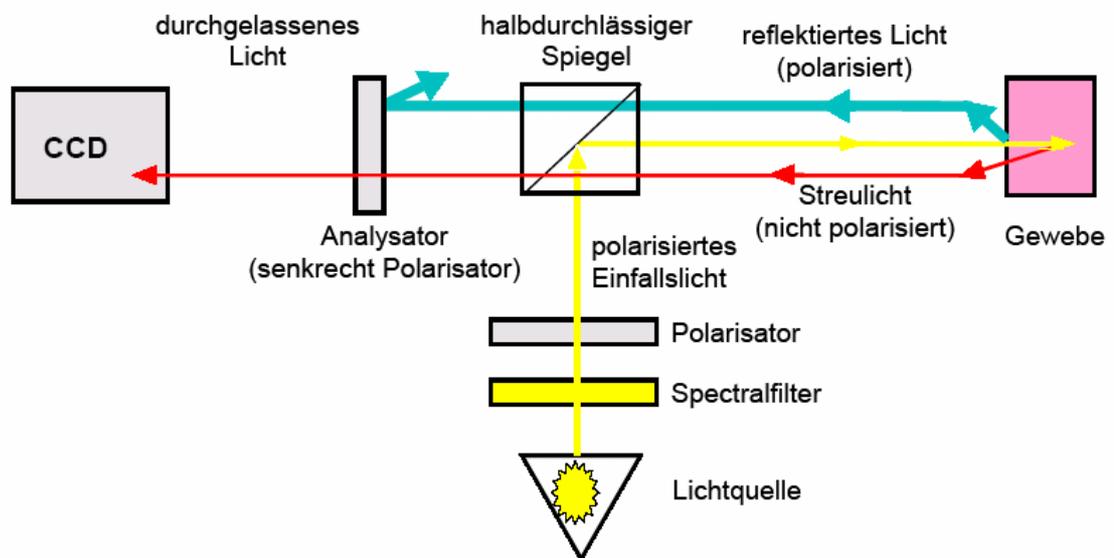
2.4.1 Funktionsprinzip der OPS-Imaging Technik

Bei der orthogonalen polarisierenden spektralen Bildgebung wird das Gewebe durch linear polarisiertes Licht beleuchtet. Hierfür wird weißes Licht einer Lichtquelle gebündelt und durch einen Spektralfilter geschickt, der Licht der erforderlichen Wellenlänge (548 nm) isoliert, bei der sowohl Oxy- als auch Desoxyhämoglobin das Licht absorbieren. Diese Wellenlänge stellt einen Kompromiss zwischen der maximalen Absorption durch Hämoglobin (ca. 420 nm) und optimaler Lichteindringtiefe mit multiplen Streuvorgängen in der Gewebetiefe (810 nm) dar um gute Kontrastierungen vor allem in kleineren Gefäßen zu gewährleisten.³¹ Durch den sich anschließenden, senkrecht zum Strahlengang stehenden Polarisator wird das Licht linear polarisiert und über einen halbdurchlässigen Spiegel (beam splitter) im rechten Winkel auf das zu untersuchende Gewebe reflektiert. Eine Objektivlinse fokussiert das Licht auf einen Bereich von annähernd 1 mm Durchmesser und bündelt wieder die vom

Zielgewebe reflektierten Lichtstrahlen. Diese gelangen dann über den beam splitter zu einem zweiten Polarisator (Analysator), der orthogonal zum ersten Polarisator steht und sich direkt vor einer „charge-coupled-device“ (CCD) Videokamera (Costar, CV-M536, CCIR, JAI, Tokyo, Japan) befindet. Dieser Analysator eliminiert das polarisiert verbliebene Licht, das nicht zur Bildgebung beiträgt, siehe Abbildung 3.

Wenn polarisiertes Licht schlicht reflektiert bzw. nur wenige Male gestreut wird, behält es seine Polarisierung. Für die zur Bildentstehung notwendige Depolarisation, muss es mehr als zehnmals im Gewebe gestreut werden, was erst in einer Tiefe der 10-fachen Streuungslänge geschieht. Durch dieses gestreute Licht entsteht eine virtuelle Lichtquelle, die das Gewebe wie bei der Transillumination beleuchtet.

Wird eine Wellenlänge im Absorptionsspektrum des Hämoglobin gewählt, ergibt sich mittels OPS-Imaging eine Darstellung der Blutgefäße der peripheren Mikrozirkulation wie bei der transilluminieren intravitalen Mikroskopie. Die Bildentstehung bei OPS-Imaging beruht somit auf zwei Prinzipien: Der Lichtstreuung im Gewebe als Lichtquelle und der Absorption durch Hämoglobin (gleichermaßen Oxy- und Desoxyhämoglobin) zur Kontrastentstehung. Blutgefäße müssen daher Erythrozyten enthalten, um sich vom umgebenden Gewebe abzuheben.¹¹



Nach Groner et. al. Nature Medicine, 1999

Abbildung 3. Funktionsprinzip der OPS-Imaging-Technik

Das Cytoscan™ A/R besteht aus der OPS-Imaging Sonde (Cytometrics, Inc. Philadelphia, PA, USA) und einer externen Lichtquelle. Das Gerät ist mit einem 10fach-Objektiv ausgestattet und erreicht zusammen mit dem Bildschirm (PVM-1442 QM

diagonal 33 cm Sony, München, Deutschland) eine 450-fache Vergrößerung.^{4, 5, 46} Die Auflösung liegt bei etwa 1 μm /Pixel.

Zur Aufzeichnung der Mikrozirkulationsbilder verwendeten wir einen PAL-Videorekorder (Video Cassette Recorder, AG-7350, Panasonic, Osaka, Japan) und sVHS-Videokassetten (H471S, FUJI).

Abbildung 4 zeigt den Aufbau des Cytoscan™ A/R. Oben befindet sich der Bildschirm, rechts daneben die Messsonde mit Kamera und darunter der Videorekorder.

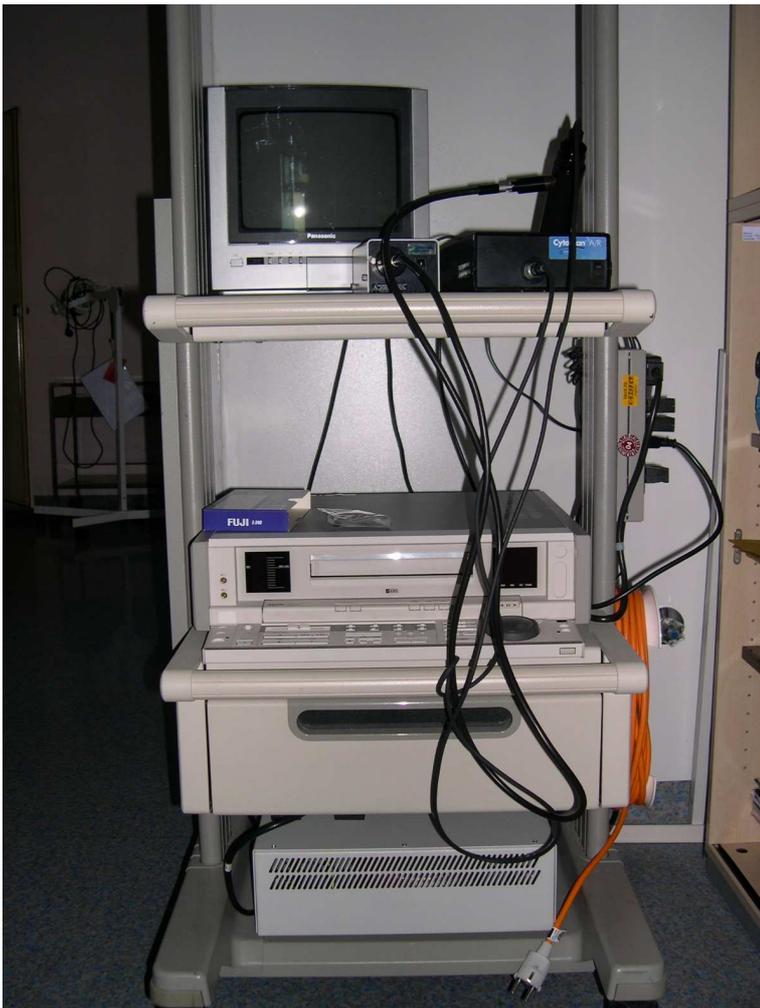


Abbildung 4. Aufbau des Cytoscan™ A/R

2.4.2 Mikrozirkulatorische Parameter

Die Messungen wurden transdermal an der Innenseite des Oberarms durchgeführt. Es wurde der Blutfluss in Gefäßen mit einem Durchmesser von 6 – 24 μm visualisiert und ausgewertet. Da sich größere Gefäße tiefer im Gewebe befinden und daher nur unscharf

zur Darstellung kommen, sind in diesem Größenintervall die genauesten Messergebnisse, vor allem der Erythrozytenfließgeschwindigkeit (RBC Vel), zu erwarten.^{23, 24} Da bei Neugeborenen eine Unterscheidung von Arteriolen, Kapillaren und postkapillären Venolen auf Grund der Unreife der Mikrozirkulation und der geringen Größe der Gefäße nicht mit Sicherheit möglich ist, definiert der Begriff „Kapillare“ bei Frühgeborenen ein Gefäß im Durchmesserbereich von 6 – 24 μm .^{23, 24}

Abbildung 5 zeigt ein typisches OPS-Imaging-Bild der kutanen Mikrozirkulation bei einem Frühgeborenen der 28. Schwangerschaftswoche (SSW) am 5. Lebenstag. Es erfolgte die Messung von Gefäßdurchmesser und Erythrozytenfließgeschwindigkeit in den Kapillaren, außerdem die Bestimmung der Funktionellen Gefäßdichte unter Einbeziehung aller Gefäße im oben erwähnten Durchmesserintervall.

Das gelbe Quadrat stellt die für die Auswertung interessante Region dar (Region of Interest, ROI). Von links oben nach rechts unten zieht sich ein Blutgefäß mit einem Durchmesser $> 24 \mu\text{m}$, wobei nicht differenziert werden kann, ob es sich hier um eine Arteriole oder eine postkapilläre Venole handelt. Grün markiert sieht man die Kapillaren, die in die Berechnung der FVD einbezogen wurden, rot markiert sind diejenigen Blutgefäße, in denen die RBC Vel gemessen wurde. Außerdem wurde von den rot markierten Gefäßen der Gefäßdurchmesser bestimmt.

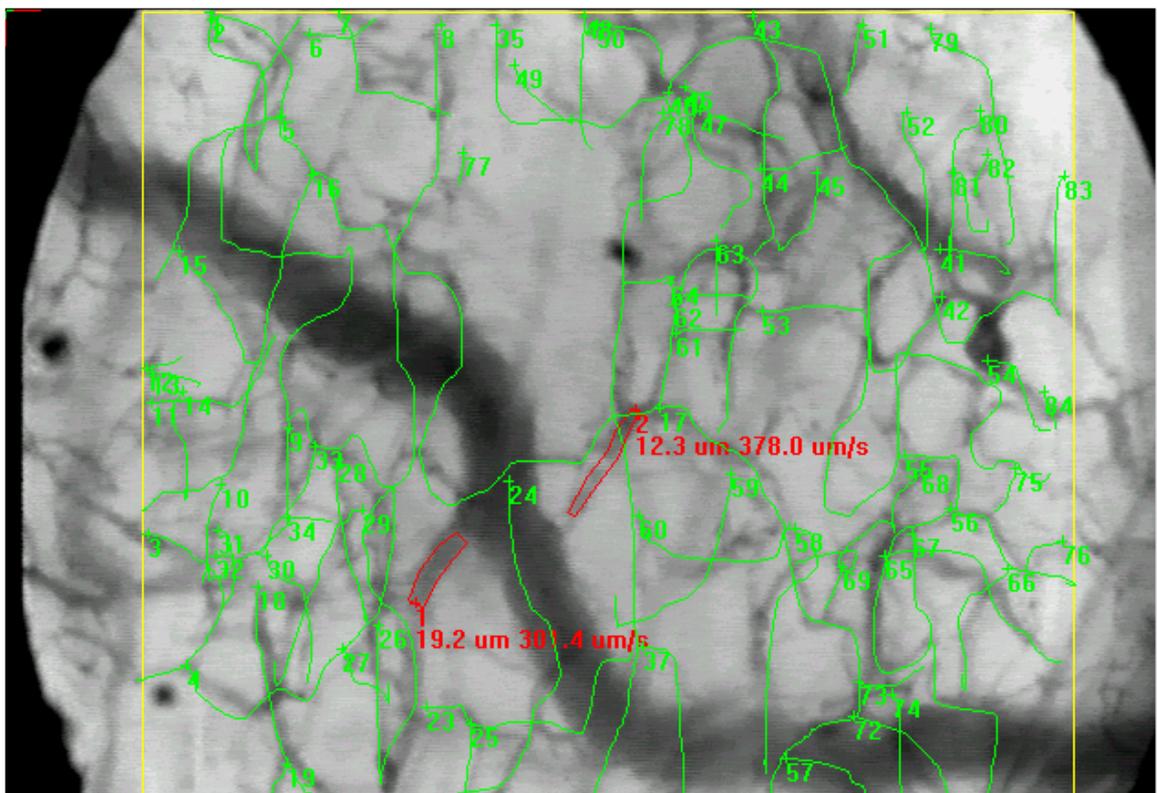


Abbildung 5. OPS-Imaging-Bild der Hautmikrozirkulation eines Frühgeborenen (Gestationsalter 28 + 0 SSW, Geburtsgewicht 900 g) am 5. Lebenstag

2.4.3 Handhabung der OPS-Imaging-Sonde

Genzel-Boroviczény und Mitarbeiter zeigten, dass die Innenseite des Oberarms bei Frühgeborenen die geeignetste Messstelle ist.²³ Die Cytoscan-Sonde ist hier leicht zu positionieren und kann unabhängig von Bauch- oder Rückenlage des Kindes dort platziert werden. Die Applikation der Messsonde unter der Zunge, dem bei Erwachsenen üblichen Messort,^{31, 71} ist bei Neugeborenen auf Grund der Größe des Messinstruments nicht möglich.¹⁰

An der Innenseite des Oberarms ist die ansonsten bei Frühgeborenen deutlich vorhandene Lanugobehaarung, die zu Verschlechterung der Bildqualität führen kann, schwächer ausgeprägt als beispielsweise an der Stirn oder den Schläfen. Messstellen an Sternum, Flanken oder Abdomen zeigen eine zu große Beeinträchtigung durch Atemexkursionen, was vermehrt zu Artefaktbildung führt. Außerdem sind die Kinder hier sehr sensibel gegenüber Berührungen, wachen auf und werden unruhig.

Wenn die Kinder schlafen, ist es möglich, innerhalb weniger Minuten die für die Auswertung notwendigen über zehn Sekunden bewegungsartefaktfreien Bilder der Mikrozirkulation aufzunehmen. Eine Sedierung ist zur Durchführung der Messungen nicht notwendig. Um die Bildqualität zu verbessern befeuchteten wir die Haut vor der Messung mit angewärmter 0,9 % iger Natriumchlorid-Lösung.^{23, 24}

Bei der Positionierung der Messsonde ist es wichtig, möglichst wenig Druck auf das zu untersuchende Gewebe auszuüben, um die Fließgeschwindigkeit der Erythrozyten nicht zu beeinträchtigen bzw. eine Blutstase herbeizuführen. Durch Erfahrung in der Anwendung des Geräts kann der Sondendruck minimiert werden und druckbedingte Artefakte können frühzeitig erkannt und vermieden werden.¹⁰

Nachstehende Abbildung zeigt die Handhabung der OPS-Imaging-Sonde im Inkubator bei einem Frühgeborenen (Gestationsalter 28 + 6 SSW, Geburtsgewicht 780 g) am 14. Lebenstag (Gewicht 948 g).



Abbildung 6. Handhabung der OPS-Imaging-Sonde

2.5 Auswertung der mikrozirkulatorischen Bilder

Die von uns visualisierten Bilder der Hautmikrozirkulation wurden mittels eines PAL-Videorekorders (Video Cassette Recorder, AG-7350, Panasonic, Osaka, Japan) auf sVHS-Videokassetten aufgenommen, verblindet und off-line ausgewertet. Dies geschah sequenzenweise unter Benutzung des Videobildanalysesystems CapiScope® (KK Technologies, UK). Es wurden folgende Parameter ermittelt:

die Funktionelle Gefäßdichte (Functional Vessel Density, FVD)

die Erythrozytenfließgeschwindigkeit (Red blood cell velocity, RBC Vel)

der Gefäßdurchmesser (Diameter, Diam)

Quantitative Messungen von Funktioneller Gefäßdichte, Erythrozytenfließgeschwindigkeit und Gefäßdurchmesser anhand von OPS-Imaging-Bildern sind gegenüber intravitaler Mikroskopie im Hamstermodell, an der Rattenleber und an menschlichem sublingualem Gewebe validiert.^{31, 33, 47}

Funktionelle Gefäßdichte (FVD)

Die Funktionelle Gefäßdichte ist definiert als Länge der perfundierten Kapillaren pro Beobachtungseinheit und wird in cm/cm^2 angegeben. Dieser Parameter kann zur Beurteilung der Gewebedurchblutung herangezogen werden, außerdem sind indirekte Aussagen über die Sauerstoffversorgung möglich, da nur die von Erythrozyten durchströmten Gefäße gezählt werden.⁵⁷

Erythrozytenfließgeschwindigkeit (RBC Vel)

Die Erythrozytenfließgeschwindigkeit ist die Geschwindigkeit, mit der die roten Blutkörperchen die Blutgefäße durchströmen. Der Blutstrom in Gefäßen ist normalerweise laminar, das heißt der an den Gefäßwänden haftende Flüssigkeitsfilm bewegt sich kaum, wohingegen die Geschwindigkeit im Zentrum der Blutsäule am höchsten ist. Es ergibt sich ein parabolisches Strömungsprofil.⁸² Daher muss die Erythrozytenfließgeschwindigkeit in der Mitte der Gefäße bestimmt werden, um Fehlerquellen zu vermeiden.

Die Erythrozytenfließgeschwindigkeit wurde von uns in möglichst vielen Gefäßen mit einem Durchmesser zwischen 6 und 24 μm pro Bildsequenz bestimmt. Dann wurde pro Tag ein Mittelwert aus den drei bis fünf gemessenen Einzelwerten errechnet. Die Einheit dieser Größe ist $\mu\text{m}/\text{sec}$.

Gefäßdurchmesser (Diam)

Der Gefäßdurchmesser ist die Entfernung zwischen den gefäßbegrenzenden Endothelwänden. Der Gefäßdurchmesser wurde in der Einheit μm ($\text{m} \cdot 10^{-6}$) bestimmt. Entsprechend der Erythrozytenfließgeschwindigkeit wurden auch hier Mittelwerte für jeden Tag berechnet.

2.5.1 Verblindung der Aufzeichnungen

Bei Aufnahme in die Studie ordneten wir jedem Patienten der Reihenfolge nach eine Ziffer von 1 bis 25 zu. Die zur Aufzeichnung notwendigen Videokassetten wurden mit den entsprechenden Patientenziffern gekennzeichnet. War mehr als eine Kassette zur Aufzeichnung notwendig, wurden Kleinbuchstaben in alphabetischer Reihenfolge angefügt. Die täglichen Messungen wurden kontinuierlich gespeichert, wobei Anfangs-

und Endzeiten notiert und die Sequenzen fortlaufend nummeriert wurden. Für die erste Messung bei Patient Nr. 1 ergab sich also folgende Codierung: 1a – 1. Eine Zuordnung der einzelnen Sequenzen zu den Lebenstagen des Kindes war somit nicht mehr möglich.

2.5.2 Auswertung mittels des Videobildanalyseystems CapiScope

Hardware

Das Bildanalyse-System setzt sich zusammen aus einem IBM-kompatiblen PC, einem Videorekorder als Bildquelle und einem Farbmonitor zur Anzeige der Videobilder und wird über die Tastatur des PC und die Maus bedient.⁴³

Software

Zur Auswertung verwendeten wir das Videobildanalyse-System CapiScope® (KK Technologies, UK). Mit diesem Programm können die Mikrozirkulationsbilder sowohl direkt während der Messung ausgewertet werden als auch, off-line nach Aufzeichnung auf Videokassetten. Dies stellt die üblichere und auch von uns verwendete Methode dar, die zudem den Vorteil hat, dass dann die mikrozirkulatorischen Parameter auch in mehreren Gefäßen einer Bildsequenz gemessen werden können. Das Programm erlaubt außerdem die individuelle Einstellung von Helligkeit und Kontrast der Bilder, um eine optimale Auswertbarkeit zu ermöglichen. Des Weiteren verfügt es über die Option der automatischen Bewegungskorrektur der Videosequenzen, wodurch ebenfalls die Qualität der Messergebnisse erhöht wird.⁷

Funktionelle Gefäßdichte (FVD)

Zur Berechnung der FVD werden die erythrozytenperfundierten Kapillaren in einem vordefinierten Fenster (region of interest, ROI) am Stand- oder Live-Bild nachgezeichnet. Das wiederholte Abspielen der Videosequenz in Echtzeit reduziert die Gefahr von Fehlmessungen durch scheinbar nichtperfundierte Areale, weil dadurch durchblutete Gefäße eindeutiger zu identifizieren sind. Da bei Neugeborenen auf Grund der geringen Größe der Gefäße Arteriolen, Kapillaren und postkapilläre Venolen nicht eindeutig unterschieden werden können, verwendeten wir Gefäße mit einem Durchmesser von 6 – 24 μm .^{23, 24} Die Gesamtlänge der markierten Mikrogefäße, dividiert durch die Fensterfläche, ergibt die funktionelle Gefäßdichte. In dieser Arbeit

bezieht sich die Bezeichnung „Funktionelle Gefäßdichte“ auf erythrozytenperfundierte Mikrogefäße. Da alle relevanten Gefäße der Bildsequenz in die Messung einbezogen wurden, bestimmten wir diesen Parameter einmal pro Videosequenz.

Erythrozytenfließgeschwindigkeit (RBC Vel)

Zur Messung der Erythrozytenfließgeschwindigkeit stehen prinzipiell mehrere Methoden zu Verfügung, unter anderem die Frame-to-Frame-Methode, das Line-Shift-Diagramm und die Spatial-Korrelationsmethode. Bei der Frame-to-Frame-Methode werden die mit dem Auge erkennbaren Bewegungen von Bild zu Bild („Frame to Frame“) markiert. Dieses manuell durchgeführte Verfahren ist jedoch sehr zeitaufwendig und kann auch fehlerbehaftet sein. Beim Line-Shift-Diagramm wird zum Beispiel die Fortbewegung einer Plasmalücke entlang einer Linie registriert und daraus die Geschwindigkeit berechnet.⁴³

Von der CapiScope-Software wird die Erythrozytenfließgeschwindigkeit mittels der Spatial-Korrelations-Methode berechnet.^{6, 43, 92} Hierbei wird entlang einer geraden oder beliebig gekrümmten Messlinie, die innerhalb des Blutgefäßes in Flussrichtung verläuft, kontinuierlich die räumliche Verschiebung des Grauwertprofils durch Korrelationsberechnung ermittelt.⁴³

Um bestmögliche Resultate zu erzielen sollten zur Auswertung möglichst gerade Gefäße ausgewählt werden, außerdem sollte die aufgenommene Videosequenz ungefähr zehn Sekunden betragen und möglichst frei von Bewegungsartefakten sein. Entlang des Blutgefäßes wird mit der Maus eine Linie mittig eingezeichnet und das Bild des Gefäßes wird auf eine Linie mit einer Dicke von 1 pixel projiziert. Je länger diese Linie ist, umso genauer ist die Messung.³³ Das Grauwertprofil entlang dieser Linie wird für jedes Gesichtsfeld alle 1/50 sec bestimmt. Das Muster des Grauwertprofils entlang jeder Linie wird mit dem Muster des nächsten Gesichtsfeldes verglichen. Der Vergleich wird durchgeführt indem der Korrelationskoeffizient für jede mögliche Verschiebung des vorherigen Grauwertprofils gegenüber dem folgenden berechnet wird. Die Verschiebung, bei der sich die höchste Korrelation ergibt, zeigt die Entfernung an, die das Muster zwischen den beiden Messungen des Grauwertprofils zurückgelegt hat. Wenn der Zeitunterschied („laspe“) zwischen den beiden Grauwertprofilen bekannt ist, kann die Geschwindigkeit berechnet werden.⁷

Die Erythrozytenfließgeschwindigkeit wurde pro Patient und Tag mindestens drei mal bestimmt und der Mittelwert gebildet.

Gefäßdurchmesser (Diam)

Um den Gefäßdurchmesser zu bestimmen wird eine Linie in das ausgewählte Gefäß eingezeichnet. Basierend auf Veränderungen des Grauwertprofils berechnet die Software den Durchmesser anhand senkrechter, 1 pixel dicker Linien über die gesamte Länge der gezeichneten Linie. Zur Bestimmung der mikrozirkulatorischen Parameter wurden nur Blutgefäße, deren Durchmesser im Intervall zwischen 6 µm und 24 µm lag, herangezogen. Größere Gefäße liegen tiefer in der Cutis und ergeben unscharfe Bilder, was die zuverlässige Messung von Gefäßdurchmesser und RBC Vel erschwert.²³

Der Gefäßdurchmesser wurde von den drei bis fünf Blutgefäßen pro Sequenz bestimmt, bei denen die Erythrozytenfließgeschwindigkeit gemessen wurde und ebenfalls pro Patient und Tag ein Mittelwert berechnet.

2.6 Allgemeine Versorgung der Frühgeborenen und Patientenmonitoring

Die Frühgeborenen der unter 2.3 definierten Patientengruppen wurden von Geburt an auf der neonatologischen Intensivstation des Universitätsklinikums Großhadern versorgt.

Inkubatoren und Temperaturmessungen

Die Frühgeborenen wurden in Inkubatoren (Dräger) versorgt, deren Temperatur je nach der Körpertemperatur des Kindes bzw. bei anstehenden Versorgungsmaßnahmen individuell reguliert werden konnte. Die Körpertemperatur der Frühgeborenen wurde kontinuierlich mittels einer Hautsonde auf Leberhöhe abgeleitet. Dieser Messfühler wurde ebenfalls zur Ermittlung der Temperatur der Messstelle verwendet und dazu temporär dort platziert.

Hämodynamik

Der systolische und der diastolische Blutdruckwert sowie der mittlere arterielle Druck (MAD) wurden automatisch über eine Blutdruckmanschette (Dinamap® Critikon Vital Data Monitor, Norderstedt, Deutschland), die an der unteren Extremität angebracht war, im Fünf-Minuten-Intervall ermittelt und jeweils zum Messzeitpunkt notiert. Die

Herzfrequenz wurde ebenfalls mittels Dinamap kontinuierlich abgeleitet und der Wert am Messzeitpunkt, sowie auch das Tagesmaximum und -minimum dokumentiert.

Maschinelle Beatmung

Bei der überwiegenden Anzahl der maschinell beatmeten Kinder wurde eine konventionelle Beatmung im SIMV (synchronized intermittent mandatory ventilation)-Modus verwendet (Beatmungsgerät Stephanie oder Infant Star). Des Weiteren wurde ein CPAP (continuous positive airway pressure) angewandt.

Medikamente

Die antibiotische Therapie bei Infektionsverdacht bestand aus Vancomycin in Kombination mit Ceftazidim, Meronem oder Ampicillin.

Im Rahmen einer parallel laufenden Studie wurde den meisten Frühgeborenen Coffein zur Reduktion von Apnoen verabreicht (Dosierung: initial 10 mg/kg KG, dann 2,5 – 5 mg/kg KG/Tag). Auf Grund erniedrigter Hämoglobinwerte wurden Erythrozytenkonzentrate transfundiert. Zur Stabilisierung des Blutdruckes wurde Dopamin und zusätzlich Dobutrex verabreicht.

2.6.1 Dokumentation der Werte

Die zum jeweiligen Messzeitpunkt erhobenen Daten wurden von uns auf einem Tagesblatt dokumentiert (siehe Anlage 1). Im Einzelnen sind dies

Patientennummer

Datum und Lebenstag des Kindes

aktuelles Gewicht

Körpertemperatur des Kindes

Inkubator Temperatur

Temperatur der Messstelle

Zeitpunkt der Messung

systolischer und diastolischer Blutdruck

mittlerer arterieller Blutdruck (MAD)

Herzfrequenz

Falls eine maschinelle Beatmung des Kindes erforderlich war wurden folgende Beatmungsparameter protokolliert.

Art der Beatmung

mittlerer Beatmungsdruck (MAD)

Flow

PEEP

Beatmungsfrequenz

FiO₂

PIP

Die sich im Tagesverlauf ergebenden klinischen Werte entstammten den Patientenkurven der Station, die von den Intensivschwestern geführt wurden. Nachstehend aufgeführte Werte wurden auf diesem Weg ermittelt.

Anzahl der Apnoen pro Tag

Anzahl der Bradykardien pro Tag

Temperaturinstabilität des Kindes (> 0,5 °C)

Änderung der Inkubator Temperatur (> 0,5 °C)

obere und untere Grenze der Herzfrequenz

Blutdruckwirksame Medikamente

Antibiotika

Laborparameter

Bei den Laborparametern notierten wir Abnahmezeitpunkt und Art der Blutentnahme (kapillär, venös oder arteriell). Täglich wurden außerdem

Hämoglobinwert

Base Excess (BE)

Blutzucker (BZ)

und Blut-pH durch Blutgasanalysen ermittelt.

Falls der Hämatokrit bestimmt worden war, wurde auch dieser protokolliert.

Ein Differentialblutbild wurde routinemäßig jeden dritten Tag bzw. bei kritischem Zustand des Kindes auch häufiger angefertigt. Vom Differentialblutbild wurden die folgenden Werte in das Tagesprotokoll aufgenommen.

Erythrozytenzahl

Leukozytenzahl

Granulozytenzahl

Interleukin-6 (IL-6)

C-reaktives Protein (CRP)

2.6.2 Fragebögen

Für jedes Kind wurde täglich sowohl vom zuständigen Arzt als auch von der versorgenden Intensivschwester der von uns entworfene Fragebogen ausgefüllt. Bei der Auswahl der zu beurteilenden Aspekte, die über den Gesundheitszustand des Frühgeborenen Auskunft geben sollten, orientierten wir uns an allgemeinen klinischen Zeichen einer Neugeboreneninfektion und an den Diagnosekriterien der GNPI.^{1, 16, 26, 65,}

⁸⁰ Hierzu gehören unter anderem Hautbefund, Trinkverhalten, Kapilläre Füllungszeit (Recap-Zeit) und Störungen der Magen-Darm-Passage. Wichtig sind außerdem Aussagen über den Allgemeinzustand wie „Das Kind sieht heute nicht gut aus“ oder „Das Kind gefällt mir heute gar nicht“.

Die Fragebögen waren nur mit den Patientennummern versehen, was eine Anonymisierung der Daten gewährleistete. Entsprechend der Angaben wurde täglich für jeden Aspekt ein Punktwert vergeben, wobei die Ziffer „0“ den Normalzustand darstellte. Bei der Auswertung errechneten wir daraus pro Tag den aktuellen Infektions-Score des Kindes.

Ärzte – Fragebögen

In Anlage 2 ist der Ärzte-Fragebogen dargestellt. Der Arzt musste täglich fünf Bereiche zum Gesundheitszustand des Kindes beurteilen, was meist im Anschluss an die morgendliche Untersuchung geschah. Lag der Normalzustand vor, wurde die Ziffer „0“ eingetragen. Bei Abweichungen wurden die Punkte je nach unseren Angaben bei den zu untersuchenden Parametern vergeben, was im Einzelnen folgendes bedeutete.

	1	2	3
Hautbefund	marmoriert	blass	-
Extremitäten	kühle Hände/Füße	kühle Extremität	-
Kapilläre Füllungszeit	> 2 sec	> 3 sec	-
Abdomen	auffälliger Befund	-	-
Neurologischer Status	hypoton	hyperton	Irritabel
Lebergröße	1 cm unterhalb RB	2 cm unterhalb RB	

RB = Rippenbogen

Tabelle 1. Ärzte-Fragebogen

Zur Ermittlung der täglichen Scores wurde durch Addition aller vergebenen Punkte ein Gesamtwert ermittelt, der Werte zwischen 0 und 12 annehmen konnte.

Schwestern – Fragebögen

Ähnlich wie bei den Ärzte-Fragebögen verhielt es sich auch bei den Fragebögen, die täglich von den Schwestern ausgefüllt wurden (Anlage 3). Die Verschiedenheit der zu beurteilenden Bereiche trägt den unterschiedlichen Tätigkeitsbereichen von Ärzten und Schwestern Rechnung. Lag der Normalzustand eines Aspektes vor, wurde auch hier die Ziffer „0“ eingetragen, abweichend verhielt es sich wie folgt.

	1	2	3
Hautbefund	marmoriert	blass	-
Allgemeinzustand	„Das Kind gefällt mir heute weniger“	„Das Kind gefällt mir heute gar nicht“	-
Trinkverhalten	Mäßig	schlecht	-
Berührungsempfindlichkeit	gesteigert	hoch	-
Magen-Darm-Trakt	Abdomen gebläht	Magenentleerung verzögert	Erbrechen

Tabelle 2. Schwestern-Fragebogen

Wurde das Frühgeborene über eine Magensonde ernährt, wurde beim Trinkverhalten ein „S“ eingetragen. Bei der Beurteilung des Magen-Darm-Traktes waren Mehrfachnennungen möglich.

Die Einzelpunkte wurden auch hier täglich zu einem Gesamtscore addiert, der zwischen 0 und 11 lag.

2.7 Untersuchungen

2.7.1 Blutproben

Die Blutentnahmen wurden von den Ärzten routinemäßig jeden dritten Tag durchgeführt oder je nach Indikationsstellung und Zustand des Kindes auch häufiger. Entsprechend dem liegendem Zugang wurde das Blut venös, kapillär oder arteriell entnommen. Die Blutproben wurden von der Abteilung für Klinische Chemie des Klinikums Großhadern analysiert und wir dokumentierten die unter 2.6.1 aufgeführten Werte.

2.7.2 Blutgasanalyse (BGA)

Die Intensivschwestern führten täglich eine Blutgasanalyse durch, für die das Blut meist aus der Ferse des Frühgeborenen gewonnen wurde. Es wurden die bereits oben angeführten Werte mittels des Blutgasanalysegerätes (ABL 735, Radiometer GmbH, Copenhagen) der Neonatologischen Intensivstation bestimmt. In Einzelfällen wurde der Hämatokrit mittels Zentrifugation direkt auf der Intensivstation aus Vollblut bestimmt.

2.8 Statistik

Die mikrozirkulatorischen Daten dieser Arbeit sind als Mittelwerte der Messzeitpunkte angegeben. Die Laborwerte verstehen sich als Einzelwerte des jeweiligen Tages. Die normalverteilten Daten wurden mittels t-Tests analysiert, wobei der Vergleich der Infektionsgruppen mittels unabhängiger t-Tests erfolgte. Die Unterschiedlichkeit der Messzeitpunkte analysierten wir mittels abhängiger t-Tests. Bei wiederholten statistischen Tests wählten wir ein Signifikanzniveau von $\alpha = 1\%$, entsprechend einem p-Wert $< 0,01$. Ansonsten wurden signifikante Unterschiede bei $p < 0,05$ angenommen. Die Korrelationen wurden mittels des Pearson'schen Korrelationskoeffizienten ermittelt. Die interindividuelle Variabilität wurde mittels Varianzanalyse (ANOVA) nachgewiesen.

Alle Berechnungen wurden mit der Statistiksoftware GraphPad Prism 4.0 für Windows 95 (GraphPad Software Inc, San Diego, CA) durchgeführt, die Graphiken wurden ebenfalls mit diesem Programm erstellt.

Soweit nicht anders angeführt sind die Daten in dieser Arbeit als Median mit 95%-igem Konfidenzintervall angegeben.

3 Ergebnisse

3.1 Demographische Daten des ersten Lebensmonats

Unser Patientenkollektiv setzte sich aus 25 Frühgeborenen (13 Knaben und 12 Mädchen) mit einem Gestationsalter von 23 + 6 bis 29 + 4 Schwangerschaftswochen (SSW) (27,8 [25,8 – 27,9] SSW) zusammen. Wir unterschieden eine Gruppe von 14 Frühgeborenen mit laborchemisch bestätigter Infektion (Gruppe 1, PosInf) von einer Gruppe mit 7 Frühgeborenen mit Infektionsverdacht, jedoch laborchemisch nicht bestätigter Infektion (Gruppe 2, NegInf). Die vier Kinder, die während der gesamten Messungen gesund waren, bildeten die Gruppe 3. Alle Frühgeborenen überlebten die ersten 30 Lebenstage und somit die gesamte Zeit der Messungen.

Das Gewicht der PosInf-Gruppe (879 [797 – 1017] g) war während des ersten Lebensmonats signifikant niedriger als das der gesunden Kinder (1116 [867 – 1482] g; $p = 0,0254$), siehe Tabelle 1. Die Dauer der Antibiotikagabe betrug in der PosInf-Gruppe sechs Tage [4,7 – 8,0], in der NegInf-Gruppe drei Tage [1,3 – 4,9] ($p = 0,0143$). Die Frühgeborenen der Gruppe 3 wurden im ersten Lebensmonat zu keiner Zeit antibiotisch behandelt. Im Gestationsalter unterschieden sich die Untergruppen nicht signifikant.

	Gruppe 1 (PosInf) n = 14	Gruppe 2 (NegInf) n = 7	Gruppe 3 n = 4
Geschlecht männlich	8	3	2
weiblich	6	4	2
Gestationsalter [Wo]	27,8 [25,8 – 27,9]	28,0 [26,4 – 29,1]	28,4 [27,8 – 28,8]
Gewicht [g]	879* [797 – 1017]	961 [742 – 1275]	1116 [867 – 1482]
Dauer Antibiotikagabe [d]	6** [4,7 – 8,0]	3 [1,3 – 4,9]	0

* Gruppe 1 versus Gruppe 3: $p < 0,05$

** Gruppe 1 versus Gruppe 2: $p < 0,05$

Tabelle 3. Demographische Daten

3.2 Hämodynamische Veränderungen

Bei den kardiovaskulären Parametern zeigten sich während des ersten Lebensmonats signifikante Unterschiede zwischen den Blutdruckwerten der Gruppe 1 (PosInf) und der Gruppe 3 (Tabelle 2). Der systolische Blutdruck war mit 68 [54 – 81] mm Hg, der diastolische Wert mit 41 [32 – 48] mm Hg und der mittlere arterielle Druck (MAD) mit 43 [40 – 44] mm Hg signifikant höher ($p = 0,0017$ bzw. $p = 0,0063$ bzw. $p = 0,0079$) bei den gesunden Kindern (Gruppe 3) als bei den Kindern mit laborchemisch bestätigter Infektion (Gruppe 1, PosInf). Die Herzfrequenz zeigte während des ersten Lebensmonats keine Abweichungen zwischen den einzelnen Patientengruppen.

	Gruppe 1 (PosInf)	Gruppe 2 (NegInf)	Gruppe 3
RR syst [mm Hg]	56* [55 – 59]	58 [52 – 64]	68 [54 – 81]
RR diast [mm Hg]	35* [32 – 35]	35 [30 – 41]	41 [32 – 48]
MAD [mm Hg]	43* [40 – 44]	41 [38 – 47]	51 [39 – 60]
Herzfrequenz [/min]	160 [156 – 166]	162 [154 – 169]	163 [130 – 191]

* Gruppe 1 versus Gruppe 3: $p < 0,05$

Tabelle 4. Kardiovaskuläre Parameter

3.3 Veränderung von Körper- und Inkubortemperatur

Bei den täglich dokumentierten Körpertemperaturen der Frühgeborenen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen, ebenso verhielt es sich bei den Temperaturen der Messstellen, siehe Tabelle 3. Die Inkubortemperatur war bei den gesunden Kindern (Gruppe 3) mit 30,8 [28,4 – 32,6] °C signifikant niedriger als in der PosInf-Gruppe (32,1 [31,6 – 32,5] °C; $p = 0,0057$).

	Gruppe 1 (PosInf)	Gruppe 2 (NegInf)	Gruppe 3
Temperatur Kind [°C]	36,9 [36,8 – 36,9]	36,9 [36,8 – 37,0]	37,0 [36,9 – 37,1]
Temperatur Inkubator [°C]	32,1* [31,6 – 32,5]	33,2 [32,4 – 33,7]	30,8 [28,4 – 32,6]
Temperatur Messstelle [°C]	35,6 [35,4 – 35,7]	35,6 [35,3 – 35,9]	35,6 [35,4 – 35,8]

* Gruppe 1 versus Gruppe 3: $p < 0,05$

Tabelle 5. Körpertemperatur, Inkubortemperatur und Temperatur der Messstelle

3.4 Hämatologische Parameter

Sowohl Hämatokrit als auch Hämoglobin waren in den drei Patientengruppen nicht signifikant unterschiedlich (Tabelle 4).

	Gruppe 1 (PosInf)	Gruppe 2 (NegInf)	Gruppe 3
Hämatokrit [%]	30 [28,8 – 33,4]	28,5 [26,7 – 34,6]	30 [27,7 – 33,3]
Hämoglobin [g/dl]	11,2 [10,7 – 11,8]	10,9 [9,9 – 12,7]	11,1 [9,8 – 12,2]

Tabelle 6. Hämatokrit- und Hämoglobinwerte

3.5 Blutgasanalyse und Blutzuckerbestimmung

Der Blutzucker der Gruppe 1 (PosInf) war mit 115 [101 – 132] mg/dl signifikant höher als der Blutzucker der Gruppe 3 (87 [76 – 94] mg/dl; $p = 0,0366$), siehe Tabelle 5. Beim Base Excess und beim Blut-pH der Frühgeborenen zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen.

	Gruppe 1 (PosInf)	Gruppe 2 (NegInf)	Gruppe 3
BE	1,4 [0,1 – 3,0]	1,1 [-2,4 – 2,8]	1,4 [-1,4 – 3,9]
BZ [mg/dl]	115* [101 – 132]	103 [86 – 131]	87 [76 – 94]
pH	7,34 [7,31 – 7,35]	7,33 [7,30 – 7,38]	7,37 [7,33 – 7,39]

* Gruppe 1 versus Gruppe 3: $p < 0,05$

Tabelle 7. Blutgasanalyseparameter

3.6 Medikamente

21 der 25 Frühgeborenen (84%) wurden während des Beobachtungszeitraums antibiotisch behandelt. Alle 26 Infektionsepisoden wurden im Verlauf mit Vancomycin und Ceftazidim behandelt, in 17,6% wurde additiv Meronem verabreicht. In einem Fall wurde Vancomycin in Kombination mit Ampicillin verwendet.

Des weiteren wurden 18 Kinder (72%) mit Coffein behandelt, fünf Kindern (20%) wurden Erythrozytenkonzentrate verabreicht. Zur Konstanthaltung des Blutdruckes wurden Dopamin oder Dobutrex angewandt.

3.7 Einteilung der Infektionen

Insgesamt wurde während der 7-monatigen Laufzeit der Studie in 26 Fällen auf Grund eines Infektionsverdachtes eine antibiotische Therapie begonnen. Wie aus Diagramm 1 ersichtlich, traten die laborchemisch bestätigten Infektionen (PosInf) in einen Zeitraum von Lebenstag 15 bis Lebenstag 23 auf. Hierbei kam es in der zweiten Lebenswoche der Kinder, von Lebenstag 8 bis Lebenstag 15, zu einer leichten Häufung der Infektionsfälle. Hier ereigneten sich 59 % der Infektionen (10 von 17 Infektionen). Nach der gängigen Unterteilung von neonatalen Infektionen in early und late onset Form, sind alle in dieser Studie aufgetretenen Infektionen als late onset Form zu werten. In keinem der Fälle konnte ein Erreger in der Blutkultur nachgewiesen werden, daher muss definitionsgemäß von klinischen Infektionsfällen bzw. klinischen Sepsisfällen

ausgegangen werden. Die laborchemisch nicht bestätigten Infektionen (NegInf) sind in nachfolgendem Diagramm nicht berücksichtigt.

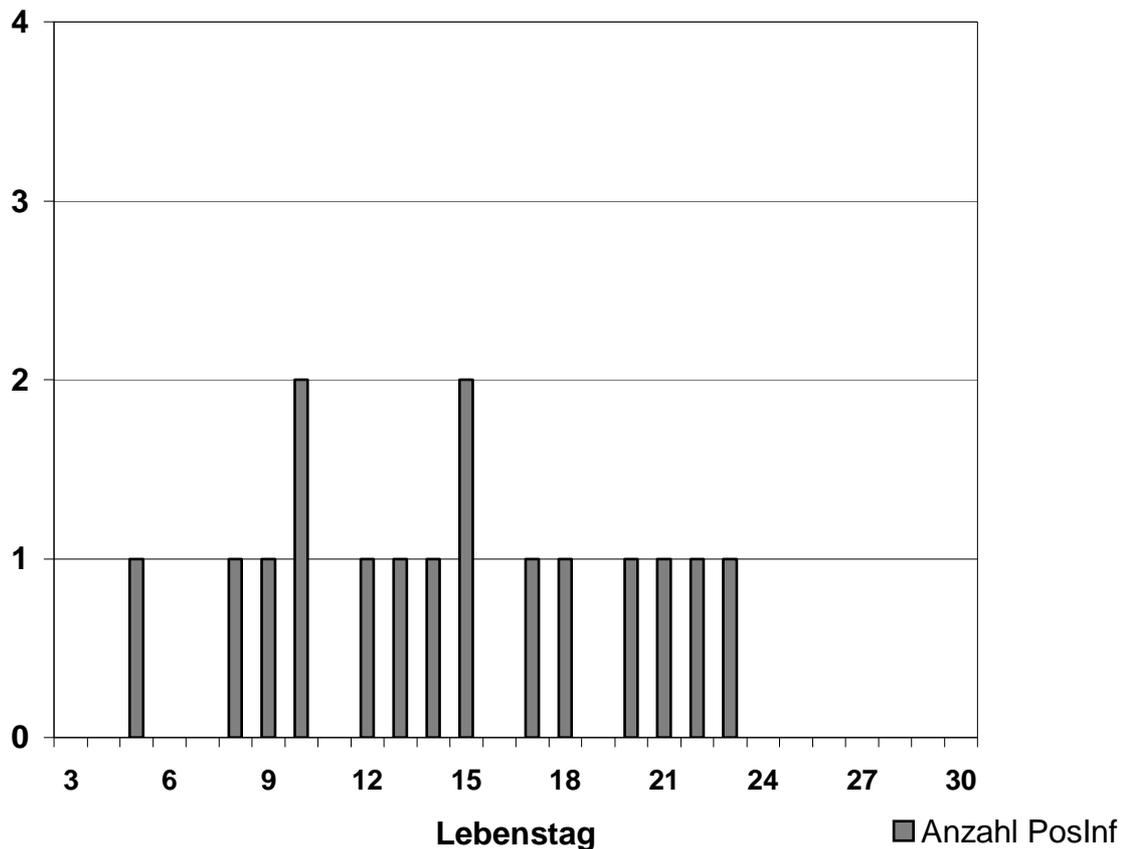


Diagramm 1. Verteilung der Infektionen (PosInf) innerhalb des ersten Lebensmonats

Während der Laufzeit der Studie wurde in 26 Fällen auf Grund eines Infektionsverdachtes eine antibiotische Therapie eingeleitet, wobei 19 Kinder je einmal, drei Kinder je zweimal und ein Kind dreimal antibiotisch behandelt wurden. Vier Kinder erhielten zu keiner Zeit Antibiotika.

Die 26 Infektionen (mit Mehrfachinfektionen) wurden in laborchemisch bestätigte Infektionen (PosInf) und laborchemisch nicht bestätigte Infektionen (NegInf) unterteilt. Bei den Kindern mit einer bestätigten Infektion (Gruppe 1 (PosInf): 14 Frühgeborene mit insgesamt 17 Infektionsfällen) waren entweder CRP- oder IL-6-Wert bzw. beide Infektionsmarker erhöht. Kinder, bei denen sich der Infektionsverdacht nicht laborchemisch bestätigte, wurden in die NegInf-Gruppe aufgenommen (Gruppe 2: 7

Frühgeborene mit insgesamt 9 Infektionsfällen). Die Gruppe 3 bildeten die gesunden Kinder, bei denen zu keiner Zeit Infektionsverdacht bestand (4 Frühgeborene).

Die beiden Infektionsgruppen unterschieden sich signifikant in der Dauer der antibiotischen Therapie (PosInf: 6 [5 – 8] Tage versus NegInf: 3 [1 – 5] Tage; $p < 0,05$), siehe Tabelle 6. Die laborchemisch bestätigten Infektionen (PosInf) ereigneten sich im Mittel am 15. Lebenstag, auf Grund eines Infektionsverdachtes wurde im Mittel am 11. Lebenstag eine antibiotische Therapie begonnen (NegInf).

	PosInf (Gruppe 1)	NegInf (Gruppe 2)
	14 Frühgeborene	7 Frühgeborene
	17 bestätigte Infektionen	9 Infektionsverdachtsfälle
Lebenstag	15 [12 – 18]	11 [6 – 17]
Dauer der Antibiotikatherapie	6* [5 – 8]	3 [1 – 5]
CRP erhöht	3	0
IL-6 erhöht	16	0
CRP und IL-6 erhöht	2	0
Erregernachweis in Blutkultur	0	0

CRP erhöht: $> 0,5$ mg/dl; IL-6 erhöht: > 10 pg/ml

* Gruppe 1 versus Gruppe 2: $p < 0,05$

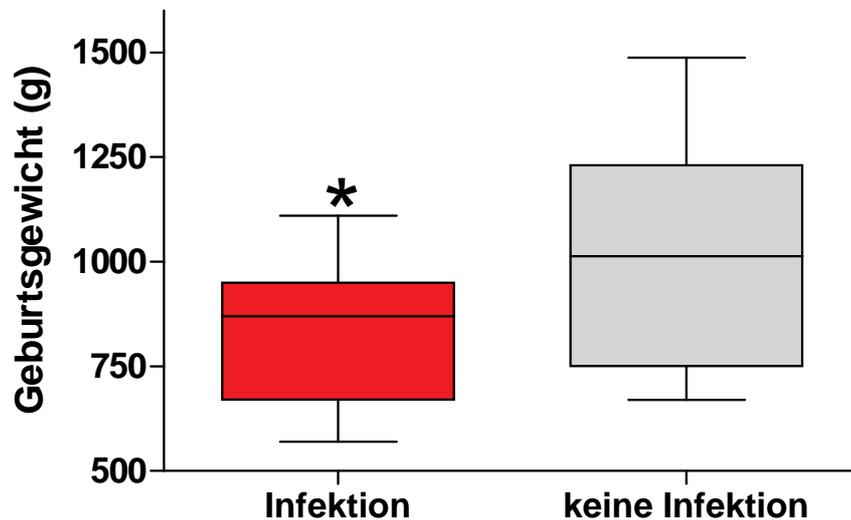
Tabelle 8. Unterscheidung der Infektionsfälle in echte Infektionen (PosInf) und Infektionsverdachtsfälle (NegInf) entsprechend der laborchemischen Infektionsparameter CRP und IL-6

Nachfolgende Tabelle (Tabelle 7) zeigt den mittleren CRP- bzw. IL-6-Wert bei den laborchemisch bestätigten Infektionen (PosInf) zu Beginn der antibiotischen Therapie (Infektionstag 0).

	PosInf (Gruppe 1)
CRP [mg/dl] an Tag 0	0,5 [0,5 – 6,6]
IL-6 [pg/ml] an Tag 0	28,3 [6,8 – 9173]

Tabelle 9. CRP- und Interleukin 6-Werte der PosInf-Gruppe am Infektionstag 0 als Median mit Minimum und Maximum

Das Geburtsgewicht der Frühgeborenen mit Infektion war signifikant niedriger als das Geburtsgewicht der Frühgeborenen, die während unseres gesamten Beobachtungszeitraumes gesund waren ($p = 0,0364$; Diagramm 2).



* Infektion vs keine Infektion $p < 0,05$

Diagramm 2. Vergleich des Geburtsgewichts der Frühgeborenen mit Infektion und der Frühgeborenen ohne Infektion

Es zeigte sich außerdem, dass 71 % der Frühgeborenen mit einem Gestationsalter < 26 SSW eine laborchemisch bestätigte Infektion durchmachten, im Gegensatz zu 50 % der Kinder, die mit einem Gestationsalter von > 26 SSW zur Welt kamen. Außerdem beobachteten wir eine höhere Anzahl von laborchemisch bestätigten Infektionen bei den Knaben (10 Infektionsfälle entsprechend 59 %), hingegen nur 7 laborchemisch bestätigte Infektionen (41 %) bei den Mädchen. Beide Beobachtungen erreichten jedoch keine statistische Signifikanz.

3.8 Mikrozirkulatorische Parameter

3.8.1 Anwendung von OPS-Imaging

OPS-Imaging konnte bei allen 25 Frühgeborenen nebenwirkungsfrei angewendet werden. Es wurden keine Hautirritationen an den Messstellen festgestellt.

Die Qualität der mikrozirkulatorischen Bilder konnte durch die Verwendung von 0,9 % iger Natriumchloridlösung verbessert werden.

3.8.2 Verlauf der mikrozirkulatorischen Parameter im ersten Lebensmonat

Funktionelle Gefäßdichte (FVD)

Diagramm 3 stellt die Häufigkeitsverteilung der Funktionellen Gefäßdichte (FVD) des Patientenkollektivs im ersten Lebensmonat dar. Die gemessenen Werte reichten von 88 cm/cm^2 (Patient 13) bis 308 cm/cm^2 (Patient 23), wobei sich ein deutlicher Gipfel um einen FVD-Wert von 240 cm/cm^2 zeigte.

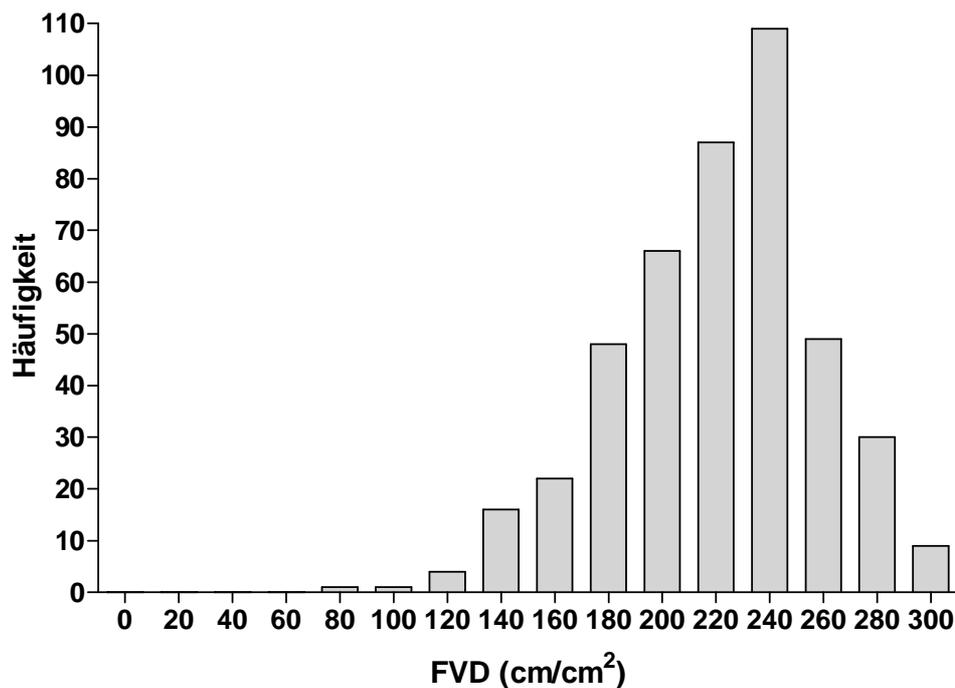


Diagramm 3. Häufigkeitsverteilung der FVD des Patientenkollektivs im ersten Lebensmonat

In Diagramm 4 ist die FVD des ersten Lebensmonats pro Patient als Box-and-Whiskers-Plots mit Medianen, 95 % CI, sowie auch Maximum und Minimum dargestellt.

Der Median bewegte sich zwischen 281 [236,4 – 309,6] cm/cm² (Patient 15) und 154 [141,7 – 167,5] cm/cm² (Patient 23). Bei der Durchführung einer Varianzanalyse ergaben sich hoch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Patienten (ANOVA: $p < 0,0001$)

Überdies konnte ein signifikanter Abfall der Funktionellen Gefäßdichte im ersten Lebensmonat beobachtet werden (Mittelwert Lebenstag 7 – 9 versus Mittelwert Lebenstag 27 – 29: $p = 0,0028$).

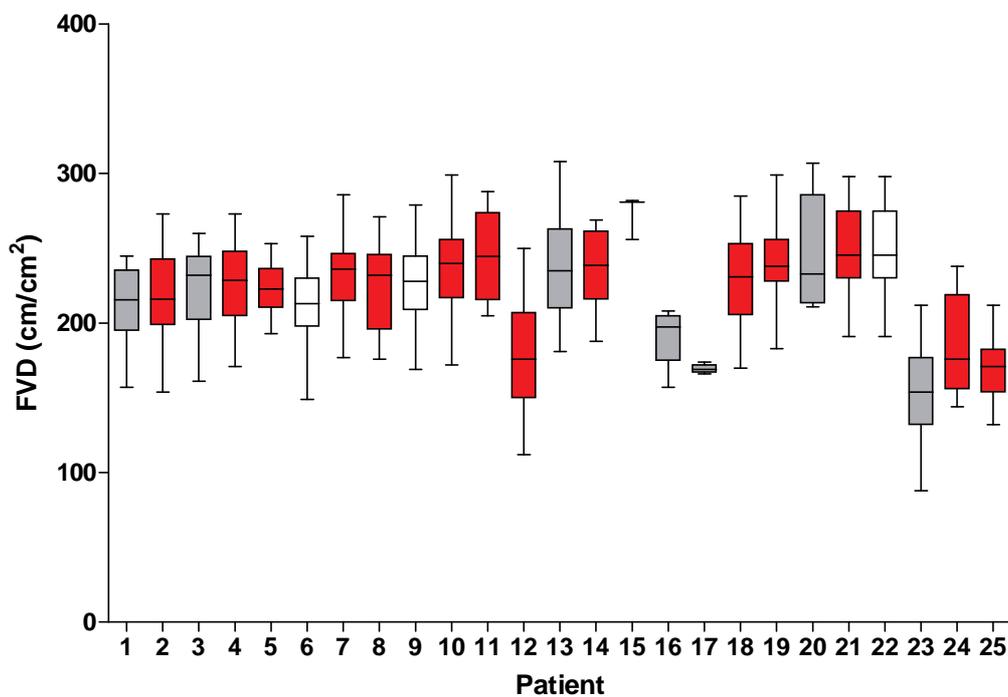


Diagramm 4. Box-and-Whiskers-Plots der FVD der Patienten 1 bis 25 im ersten Lebensmonat; Gruppe 1 rot, Gruppe 2 grau, Gruppe 3 weiß (inkl. Patient 15)

Erythrozytenfließgeschwindigkeit (RBC Vel)

Nachgestelltes Diagramm (Diagramm 5) spiegelt die Häufigkeitsverteilung der Erythrozytenfließgeschwindigkeit (RBC Vel) des gesamten Patientenkollektivs im ersten Lebensmonat wieder. Der niedrigste gemessene Wert betrug 171,8 $\mu\text{m}/\text{sec}$ (Patient 7), der höchste 726,3 $\mu\text{m}/\text{sec}$ (Patient 1). Es zeigt sich ein deutlicher Gipfel im Geschwindigkeitsbereich um 300 $\mu\text{m}/\text{sec}$.

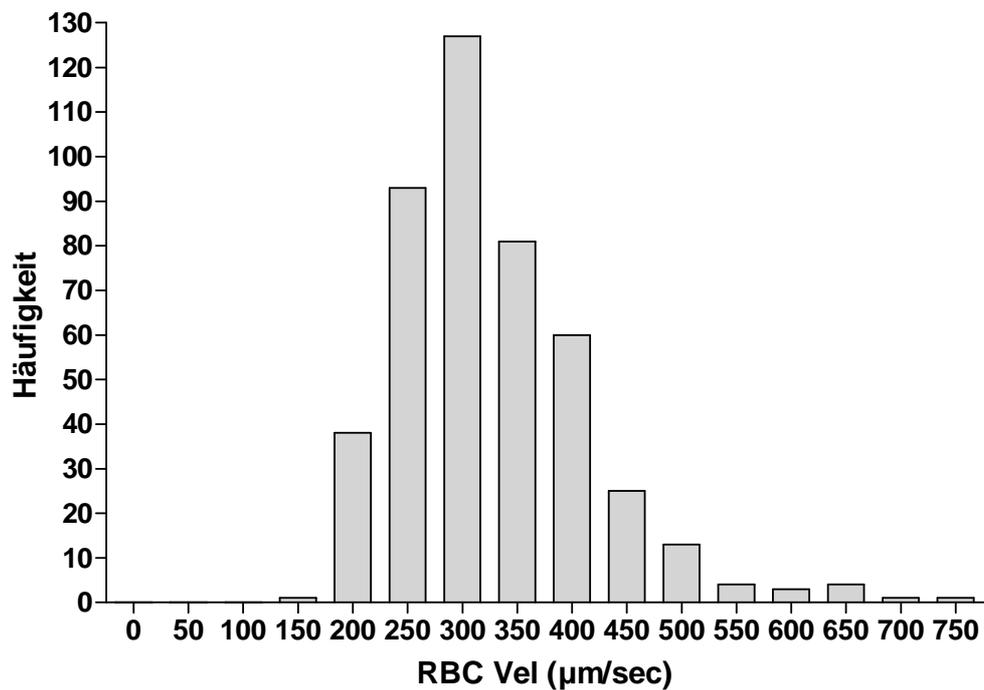


Diagramm 5. Häufigkeitsverteilung der RBC Vel des Patientenkollektivs im ersten Lebensmonat

In Diagramm 6 sind die gemessenen Erythrozytenfließgeschwindigkeiten (RBC Vel) des ersten Lebensmonats pro Kind als Box-and-Whiskers-Plots mit Median, CI und Maximum und Minimum dargestellt. Der Median variierte zwischen 256 [207,6 – 314,6] $\mu\text{m}/\text{sec}$ (Patient 14) und 413,5 [338,0 – 450,9] $\mu\text{m}/\text{sec}$ (Patient 13). Wie auch bei der FCD zeigten sich bei der Erythrozytenfließgeschwindigkeit hoch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Patienten (ANOVA: $p < 0,0001$). Es konnte keine statistisch signifikante Veränderung der RBC Vel während des ersten Lebensmonats festgestellt werden.

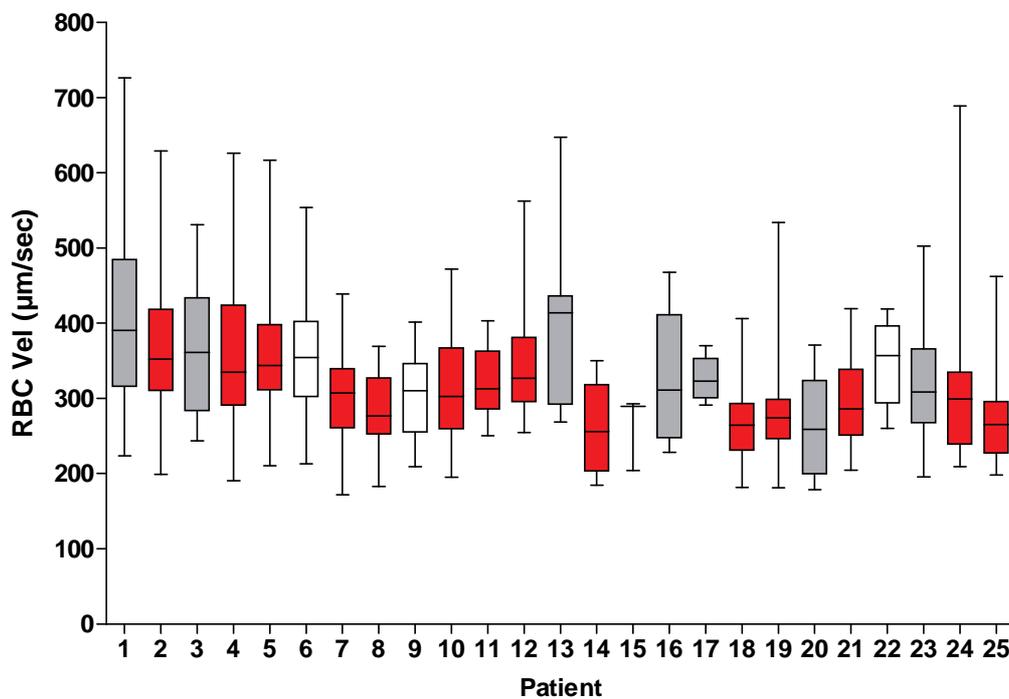


Diagramm 6. Box-and-Whiskers-Plots der RBC Vel der Patienten 1 bis 25 im ersten Lebensmonat; Gruppe 1 rot, Gruppe 2 grau, Gruppe 3 weiß (inkl. Patient 15)

Gefäßdurchmesser (Diam)

In Diagramm 7 ist die Häufigkeitsverteilung des Gefäßdurchmessers unseres Patientenkollektivs im ersten Lebensmonat ersichtlich. Im Gegensatz zu den beiden anderen mikrozirkulatorischen Parametern konnte beim Gefäßdurchmesser kein eindeutiger Gipfel, sondern nur eine Häufung der Werte in einem Bereich von 11 – 17 μm beobachtet werden. Das gemessene Minimum betrug 7,0 μm (Patient 1 und Patient 2), das Maximum 22,7 μm (Patient 10 und Patient 25).

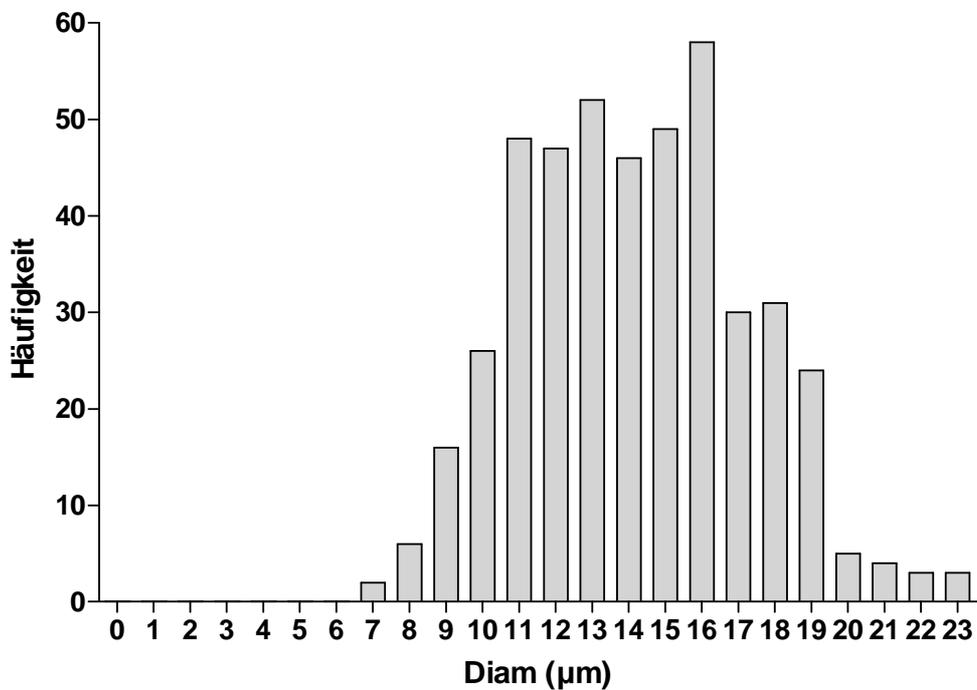


Diagramm 7. Häufigkeitsverteilung des Gefäßdurchmessers des Patientenkollektivs im ersten Lebensmonat

Die Box-and-Whiskers-Plots in Diagramm 8 zeigen den Median mit 95% CI und Maximum und Minimum des Gefäßdurchmessers pro Patient im ersten Lebensmonat. Der Median bewegte sich zwischen 17,6 [15,6 – 18,4] μm und 9,7 [11,4 – 12,8] μm . Auch hier zeigte sich ein hoch signifikanter Unterschied zwischen den Werten der einzelnen Patienten (ANOVA: $p < 0,0001$).

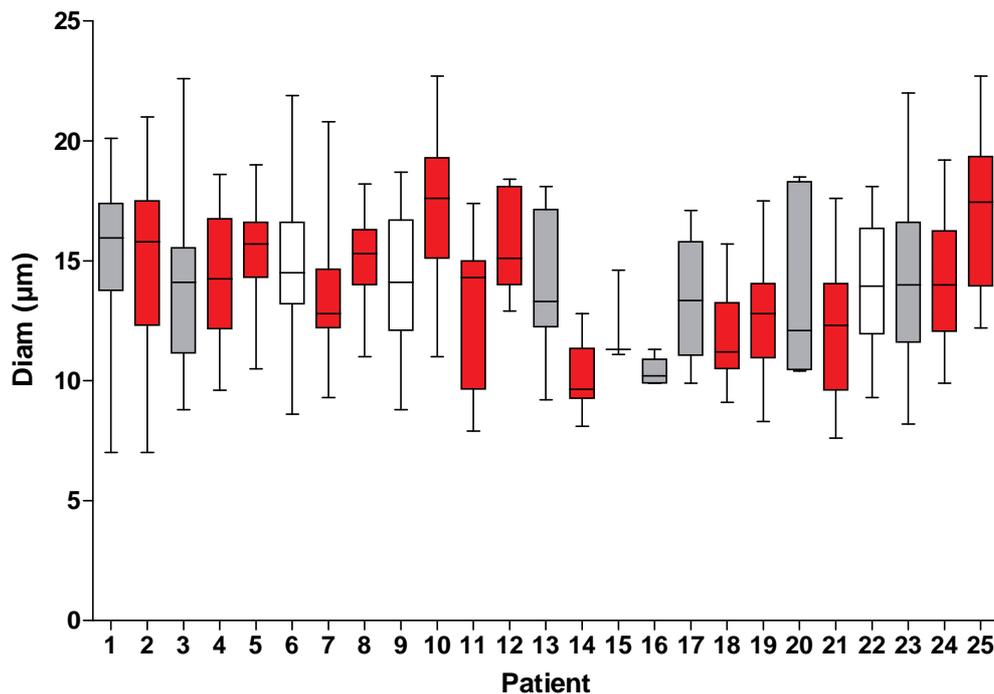


Diagramm 8. Box-and-Whiskers-Plots der Gefäßdurchmesser der Patienten 1 bis 25 im ersten Lebensmonat;

Gruppe 1 rot, Gruppe 2 grau, Gruppe 3 weiß (inkl. Patient 15)

Für die einzelnen Patientengruppen konnten die in Tabelle 10 dargestellten Werte ermittelt werden. Dabei zeigte sich, dass die Funktionelle Kapillardichte der Gruppe 2 (NegInf) signifikant niedriger war als die Werte der Funktionellen Kapillardichte der beiden anderen Gruppen (Gruppe 1 (PosInf) versus Gruppe 2 (NegInf): $p < 0,0001$; bzw. Gruppe 2 (NegInf) versus Gruppe 3 (gesunde Kinder): $p = 0,0001$). Außerdem stellten wir fest, dass die RBC Vel in der Gruppe der laborchemisch bestätigten Infektionen (PosInf, Gruppe 1) signifikant niedriger war als in der Gruppe der laborchemisch nicht bestätigten Infektionen (NegInf, Gruppe 2) ($p = 0,0001$).

	Gruppe 1 (PosInf)	Gruppe 2 (NegInf)	Gruppe 3
FVD [cm/cm^2]	267 [218 – 227]	209** [195 – 213]	230 [221 – 237]
RBC Vel [$\mu\text{m}/\text{sec}$]	300* [306 – 325]	333 [335 – 376]	328 [315 – 350]
Diam [μm]	14,0 [13,8 – 14,5]	14,0 [13,5 – 14,8]	14,1 [13,7 – 15,1]

* $p = 0,0001$ Gruppe 1 versus Gruppe 2;

** $p < 0,0001$ Gruppe 1 versus Gruppe 2 bzw. $p = 0,0001$ Gruppe 2 versus Gruppe 3

Tabelle 10. FVD, RBC Vel und Diam während des ersten Lebensmonats in den drei Patientengruppen

3.8.3 Verlauf der mikrozykulatorischen Parameter während laborchemisch bestätigter Infektion (PosInf)

Zur Auswertung der mikrozykulatorischen Parameter wurde zunächst derjenige Lebenstag des Frühgeborenen, an dem die antibiotische Therapie begonnen wurde, als Tag 0 der Infektion definiert und ein Zeitraum von fünf Tagen vor und fünf Tagen nach Infektionsdiagnose näher betrachtet (Tag – 5 bis Tag + 5 der Infektion).

Funktionelle Gefäßdichte

Diagramm 9 beschreibt den Verlauf der Funktionellen Gefäßdichte von Tag – 5 bis Tag + 5 einer laborchemisch bestätigten Infektion (Gruppe 1, PosInf). Der höchste Wert wurde an Tag + 4 gemessen (236 [203 – 246] $\mu\text{m}/\text{sec}$), der niedrigste an Tag – 2 (210 [189 – 257] $\mu\text{m}/\text{sec}$).

Die Funktionelle Gefäßdichte betrug vor der Infektion 228 [210 – 229] $\mu\text{m}/\text{sec}$ und währenddessen 229 [210 – 228] $\mu\text{m}/\text{sec}$ (Mittelwert Tag – 5 bis Tag – 1 versus Mittelwert Tag 0 bis Tag + 5; $p = 0,6835$). Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied der FVD vor und während der laborchemisch bestätigten Infektionen.

An Tag 0 konnte eine signifikante Korrelation zwischen der FVD und dem Hämoglobinwert des Kindes beobachtet werden ($p = 0,0103$, $r^2 = 0,4649$). Ansonsten zeigten sich keine Korrelationen zwischen der FVD und hämatologischen bzw. kardiologischen Parametern oder den Infektionsscores.

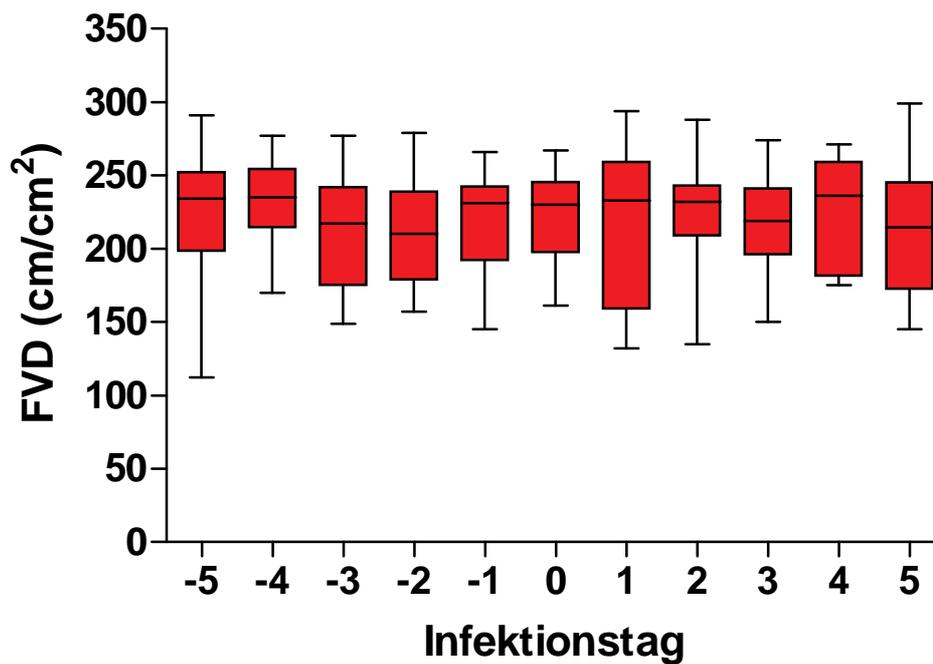


Diagramm 9. Box-and-Whiskers-Plots der FVD im Verlauf einer laborchemisch bestätigten Infektion (Gruppe 1, PosInf)

Tabelle 9 vergleicht die Funktionelle Gefäßdichte an Tag – 5, Tag – 1 und Tag + 5 der laborchemisch bestätigten Infektionen (PosInf) miteinander. Dabei konnte ein signifikanter Abfall der FVD von Tag – 5 nach Tag – 1 nachgewiesen werden (siehe Diagramm 10), was im Gegensatz dazu bei den laborchemisch nicht bestätigten Infektionen (NegInf) nicht der Fall war.

	FVD [cm/cm ²] (PosInf)		
	Tag – 5	Tag – 1	Tag + 5
Median	234*	231	215
[95% CI]	[189 – 257]	[200 – 236]	[185 – 239]

* Tag –1 versus Tag –5: p = 0,0127

Tabelle 11. Vergleich der FVD der laborchemisch bestätigten Infektionen (PosInf) an Tag – 5, Tag – 1 und Tag + 5

Einem Median von 234 [190 – 257] cm/cm^2 an Tag – 5 steht ein Median von 231 [187 – 236] cm/cm^2 gegenüber. Die statistische Signifikanz ($p = 0,0127$) ergibt sich allein aus dem intraindividuellen Vergleich der einzelnen Wertepaare.

In Diagramm 10 ist zu sehen, dass die Funktionelle Gefäßdicke bei sieben der insgesamt 17 laborchemisch bestätigten Infektionen (PosInf) Infektionen abfiel, in je zwei Fällen unverändert blieb bzw. anstieg. Im intraindividuellen Vergleich der FVD von Tag – 5 und Tag – 1 ließ sich ein statistisch signifikanter Abfall nachweisen.

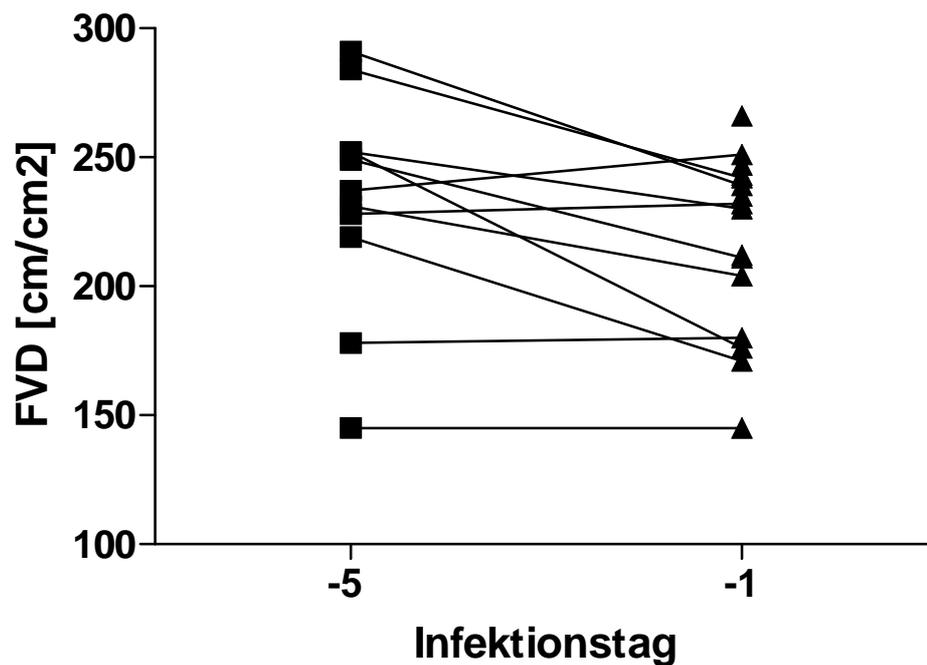


Diagramm 10. Signifikanter FVD-Abfall der PosInf-Gruppe von Tag – 5 nach Tag – 1 der Infektion

Ein typisches Bild dieser mikrozykulatorischen Veränderung zeigt Abbildung 7. Es lässt sich ein deutlicher Rückgang der perfundierten Gefäße an Tag – 1 gegenüber Tag – 5 erkennen, was sich in einer FVD-Veränderung von 291 cm/cm^2 an Tag – 5 gegenüber 239 cm/cm^2 an Tag – 1 objektivieren lässt.

Links sieht man das mikrovaskuläre Netzwerk eines Frühgeborenen (Gestationsalter 25 + 1 SSW, Geburtsgewicht 570 g) an Tag – 5 einer laborchemisch bestätigten Infektion (Lebenstag 9) und im Vergleich dazu rechts das Bild an Tag – 1 der Infektion (Lebenstag 13). Beide Bilder wurden mittels OPS-Imaging an der Innenseite des Oberarms nahe der Axilla aufgenommen. Die erythrozytendurchflossenen Mikrogefäße sind zur Bestimmung der Funktionellen Gefäßdicke grün markiert. Rot markiert erkennt man die Gefäße, in denen die RBC Vel und der Gefäßdurchmesser gemessen wurden.

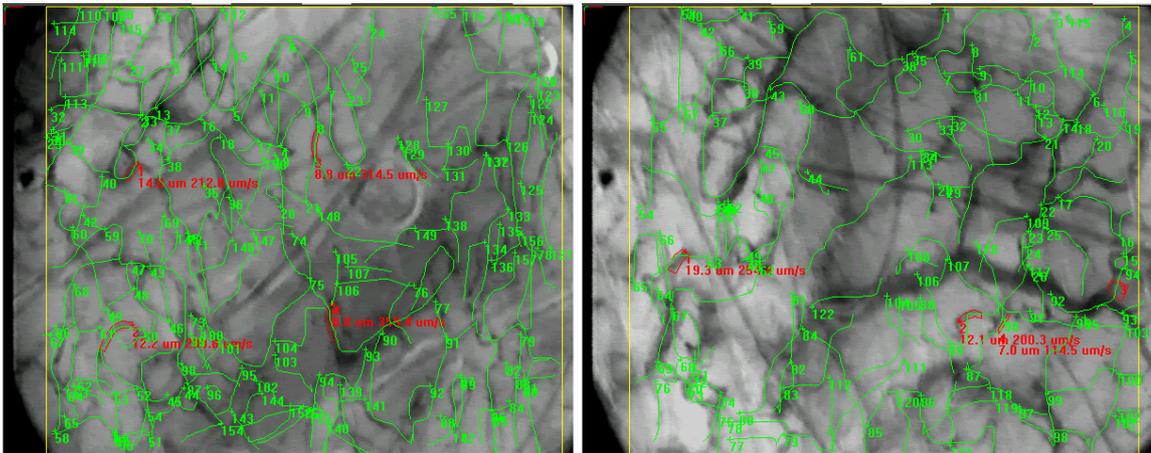


Abbildung 7. Mikrovasculäres Netzwerk eines Frühgeborenen der 25. SSW mit laborchemisch bestätigter Infektion (PosInf) an Tag -5 (FVD 291 cm/cm², links) und an Tag -1 (FVD 239 cm/cm², rechts)

Erythrozytenfließgeschwindigkeit

Diagramm 11 zeigt den Verlauf der Erythrozytenfließgeschwindigkeit während einer laborchemisch bestätigten Infektion (Gruppe 1, PosInf), von fünf Tagen vor bis fünf Tage nach der Diagnosestellung und Beginn der antibiotischen Therapie. Der höchste Wert konnte an Tag – 3 mit 339 [293 – 413] $\mu\text{m}/\text{sec}$ ermittelt werden, der niedrigste an Tag + 3 (257 [248 – 292] $\mu\text{m}/\text{sec}$).

Bei Unterteilung der Infektionsperiode in „vor der Infektion“ (Tag – 5 bis Tag – 1) und „während der Infektion“ (Tag 0 bis Tag +5) ließ sich ein tendenzieller Abfall der Erythrozytenfließgeschwindigkeit von 306 [297 – 334] $\mu\text{m}/\text{sec}$ vor der Infektion auf 280 [283 – 317] $\mu\text{m}/\text{sec}$ während der Infektion beobachten. Diese Änderung erreichte jedoch keine statistische Signifikanz (Mittelwert Tag – 5 bis Tag – 1: 306 [297– 334] $\mu\text{m}/\text{sec}$ versus Mittelwert Tag 0 bis Tag + 5 280 [283 – 317] $\mu\text{m}/\text{sec}$, $p = 0,2$).

Die Erythrozytenfließgeschwindigkeit an Tag 0 korrelierte signifikant mit dem Schwestern-Score an Tag 0 ($p = 0,0489$, $r^2 = 0,3344$). Es konnten jedoch keine Korrelationen der RBC Vel mit hämatologischen bzw. kardiovaskulären Parametern festgestellt werden.

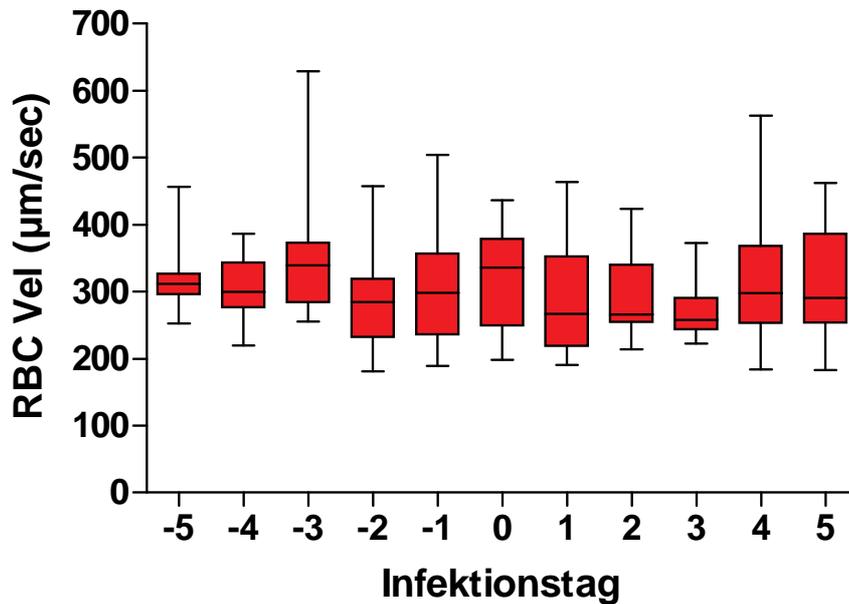


Diagramm 11. Box-and-Whiskers-Plots der RBC Vel im Verlauf einer laborchemisch bestätigte Infektion (Gruppe 1, PosInf)

Tabelle 10 zeigt den Vergleich der RBC Vel von Tag – 5, Tag – 1 und Tag + 5. Im Gegensatz zur Funktionellen Kapillardichte konnte bei der Erythrozytenfließgeschwindigkeit kein signifikanter Abfall von Tag – 5 nach Tag – 1 beobachtet werden ($p = 0,2863$).

RBC Vel [$\mu\text{m}/\text{sec}$] (PosInf)			
	Tag – 5	Tag – 1	Tag + 5
Median	312	298	291
[95% CI]	[290 – 360]	[260 – 350]	[268 – 359]

Tabelle 12. Vergleich der RBC Vel der laborchemisch bestätigten Infektionen (PosInf) an Tag – 5, Tag – 1 und Tag + 5

Gefäßdurchmesser

In Diagramm 12 sind die Gefäßdurchmesser als Box-and-Whiskers-Plots pro Tag der laborchemisch bestätigten Infektionen (PosInf, Gruppe 1) dargestellt. Der größte Gefäßdurchmesser wurde an Tag + 2 beobachtet (15,2 [12,8 – 17,2] μm), der kleinste an Tag – 5 (13,2 [12,3 – 15,9] μm).

Vor der Infektion betrug der Gefäßdurchmesser 14,1 [13,5 – 14,9] μm , während der Infektion 14,4 [13,7 – 15,1] μm (Mittelwert Tag – 5 bis Tag – 1 versus Mittelwert Tag 0 bis Tag + 5; $p = 0,4125$). Hier ließen sich keine statistisch signifikanten Unterschiede nachweisen. Es wurden keine Korrelationen zwischen Gefäßdurchmesser und anderen erhobenen Parametern beobachtet.

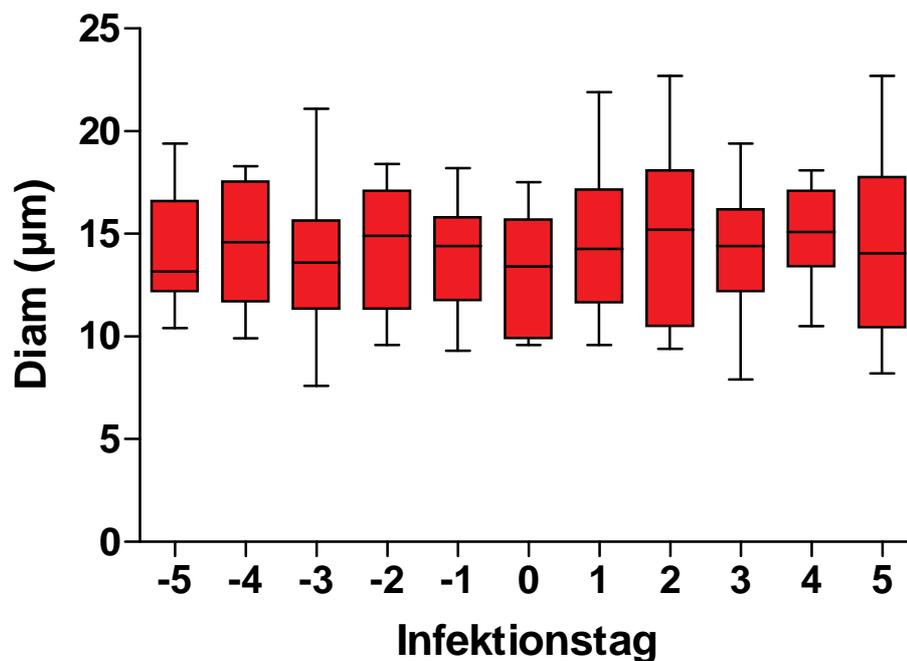


Diagramm 12. Box-and-Whiskers-Plots des Gefäßdurchmessers im Verlauf einer laborchemisch bestätigten Infektion (Gruppe 1, PosInf)

Tabelle 11 zeigt den Vergleich der Gefäßdurchmesser von Tag – 5, Tag – 1 und Tag + 5. Auch hier konnte keine signifikante Veränderung von Tag – 5 (13,2 [12,3 – 15,9] μm) nach Tag – 1 (14,4 [12,5 – 15,3] μm) nachgewiesen werden ($p = 0,6567$).

Diameter [μm] (PosInf)			
	Tag - 5	Tag - 1	Tag + 5
Median	13,2	14,4	14,1
[95% CI]	[12,3 – 15,9]	[12,5 – 15,3]	[11,9 – 17]

Table 13. Vergleich des Diameters der Gruppe 1 (PosInf) an Tag - 5, Tag - 1 und an Tag + 5

3.8.4 Vergleich der mikrozirkulatorischen Parameter während laborchemisch bestätigter Infektion und nicht bestätigter Infektion

Funktionelle Gefäßdichte (FVD)

Der signifikante Abfall der Funktionellen Gefäßdichte von Tag - 5 nach Tag - 1, der bei den Kindern mit laborchemisch bestätigten Infektionen (PosInf) zu beobachten war, fand sich nicht bei den nicht bestätigten Infektionen (NegInf) ($p = 0,7021$).

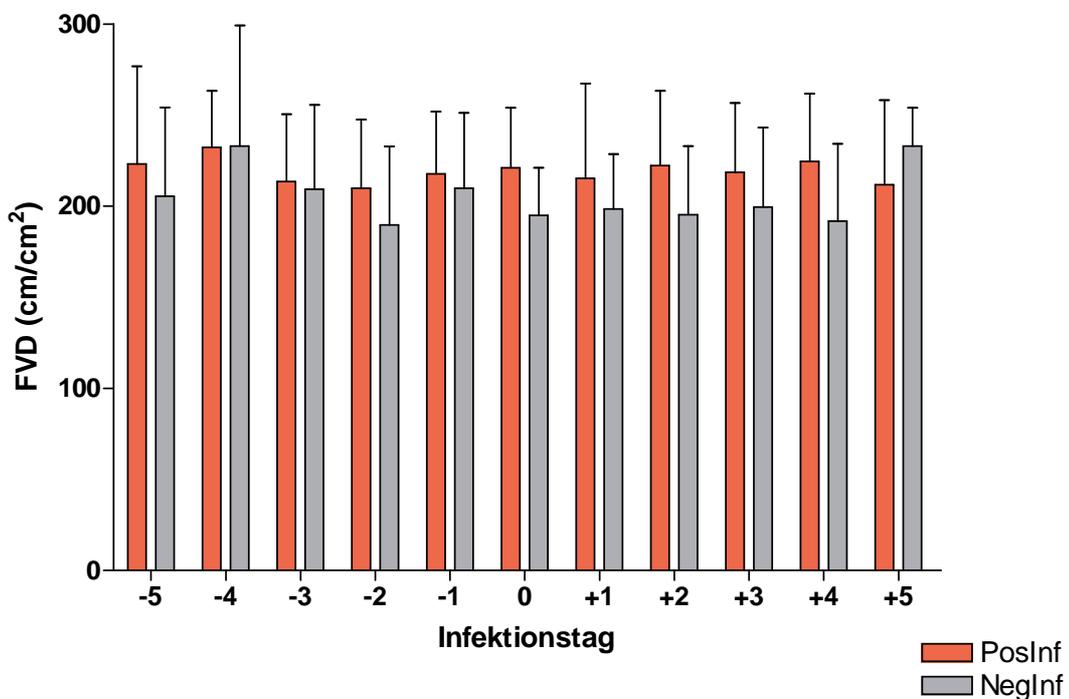


Diagramm 13. Gegenüberstellung der FVD der laborchemisch bestätigten Infektionen (PosInf) und der laborchemisch nicht bestätigten Infektionen (NegInf) als Mittelwerte mit Standardabweichungen

Erythrozytenfließgeschwindigkeit (RBC Vel)

Bei den laborchemisch bestätigten Infektionen (PosInf) zeigte sich ein tendenzieller, jedoch statistisch nicht signifikanter Abfall der Erythrozytenfließgeschwindigkeit während der Infektion (Tag 0 bis Tag + 5). In der Gruppe der laborchemisch nicht bestätigten Infektionen (NegInf) konnte diese Veränderung nicht nachgewiesen werden.

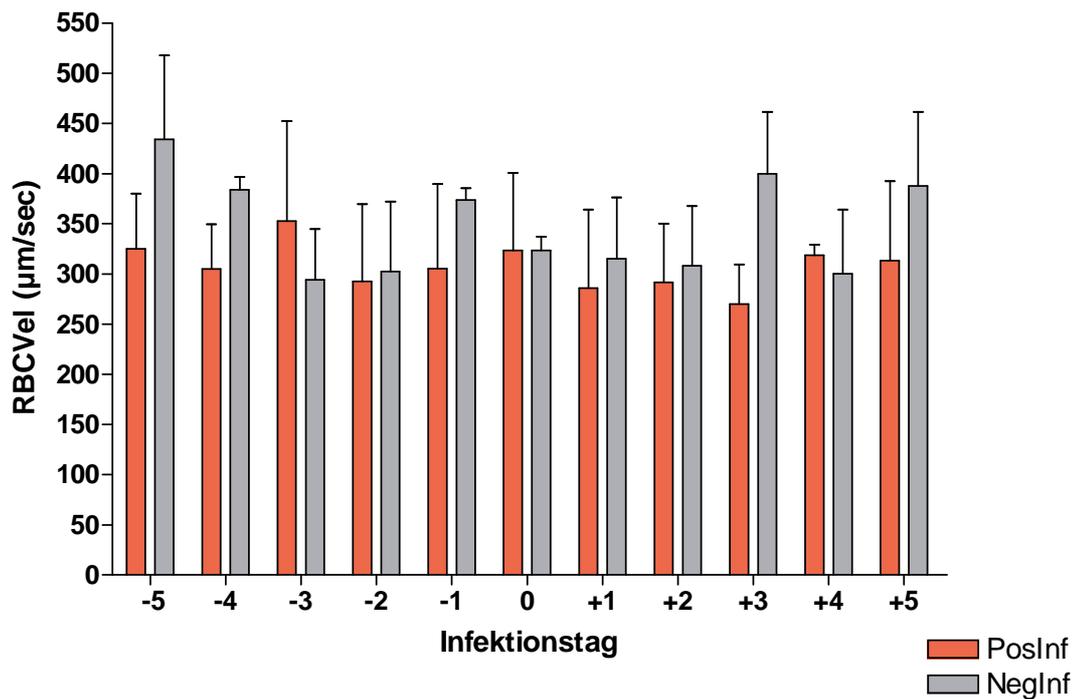


Diagramm 14. Gegenüberstellung der RBC Vel der laborchemisch bestätigten Infektionen (PosInf) und der laborchemisch nicht bestätigten Infektionen (NegInf2) als Mittelwerte mit Standardabweichung

Gefäßdurchmesser (Diam)

Weder bei den laborchemisch bestätigten Infektionen (PosInf) noch bei den laborchemisch nicht bestätigten Infektionen (NegInf) beobachteten wir signifikante infektionsassoziierte Veränderungen des Gefäßdurchmessers.

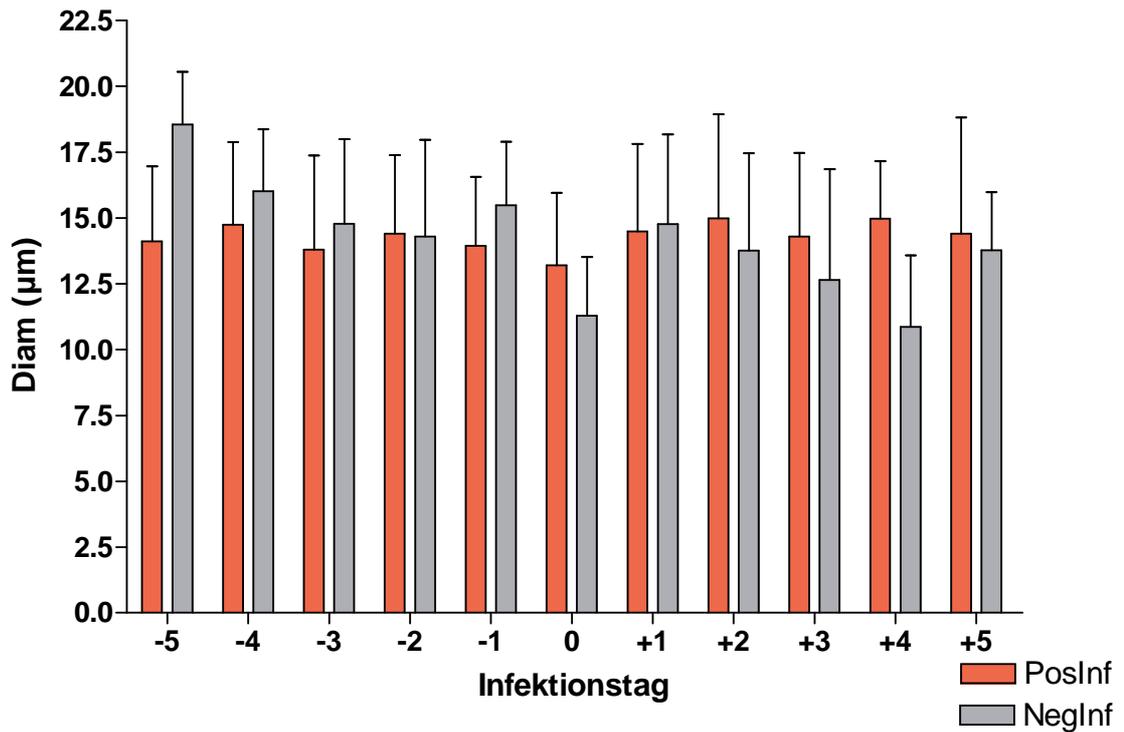


Diagramm 15. Gegenüberstellung des Gefäßdurchmessers der laborchemisch bestätigten Infektionen (PosInf) und der laborchemisch nicht bestätigten Infektionen (NegInf) als Mittelwerte mit Standardabweichung

3.9 Ärzte- und Schwestern-Scores

Täglich beurteilten sowohl Ärzte als auch Schwestern den Allgemeinzustand des Kindes anhand der in Anlage 2 und 3 aufgeführten Fragebögen. Durch Addition der vergebenen Punktwerte wurde pro Tag ein Ärzte- und ein Schwestern-Score errechnet, wobei der Ärzte-Score Werte zwischen 0 und 12 annehmen konnte, der Schwestern-Score Werte zwischen 0 und 11. Während der Studie wurde jedoch eine Punktsomme (Score) von 6 bei den Ärzten bzw. 8 bei den Schwestern nicht überschritten.

3.9.1 Erkennen der Infektion

Das Erkennen einer Infektion wurde dann als gegeben erachtet, wenn ein Score ≥ 3 Punkte vergeben worden war. Zur Auswertung wurden nur die 17 laborchemisch bestätigten Infektionen (PosInf) herangezogen.

Die Vier-Felder-Tafel zeigt die Verteilung der von Ärzten bzw. Schwestern klinisch erkannten und laborchemisch bestätigten Infektionen (Gruppe 1, PosInf). Die Schwestern vergaben dabei in acht der 17 Fälle einen Score ≥ 3 Punkten, die Ärzte in drei Fällen. Von den Schwestern stellte demnach in 47 % der Fälle eine Veränderung des kindlichen Zustandes anhand von klinischen Zeichen fest, was bei den Ärzten nur in 20% der Fälle zutraf. Ebenfalls in 20 % der Fälle vergaben Ärzte und Schwestern gleichzeitig einen Score ≥ 3 Punkte.

Ärzte \ Schwestern	Infektion erkannt (Score ≥ 3)	Infektion nicht erkannt (Score < 3)	gesamt
Infektion erkannt (Score ≥ 3)	3	5	8
Infektion nicht erkannt (Score < 3)	0	9	9
gesamt	3	14	17

Abbildung 8. Vier-Felder-Tafel der Ärzte- und Schwestern-Scores der laborchemisch bestätigten Infektionen (Gruppe 1, PosInf)

3.9.2 Veränderung der Scores vor und während der Infektion

Diagramm 16 zeigt den Verlauf der Mittelwerte der Ärzte- und Schwestern-Scores von Tag – 5 bis Tag + 5 der Infektion in den beiden Infektionsgruppen (PosInf und NegInf). Am Infektionstag 0 vergaben die Ärzte im Mittel einen Score von 1,4 ($\pm 1,6$), wohingegen die Schwestern den Zustand der Kinder im Mittel mit 2,8 ($\pm 2,0$) bewerteten. Dieser Unterschied erwies sich als statistisch signifikant ($p = 0,0206$).

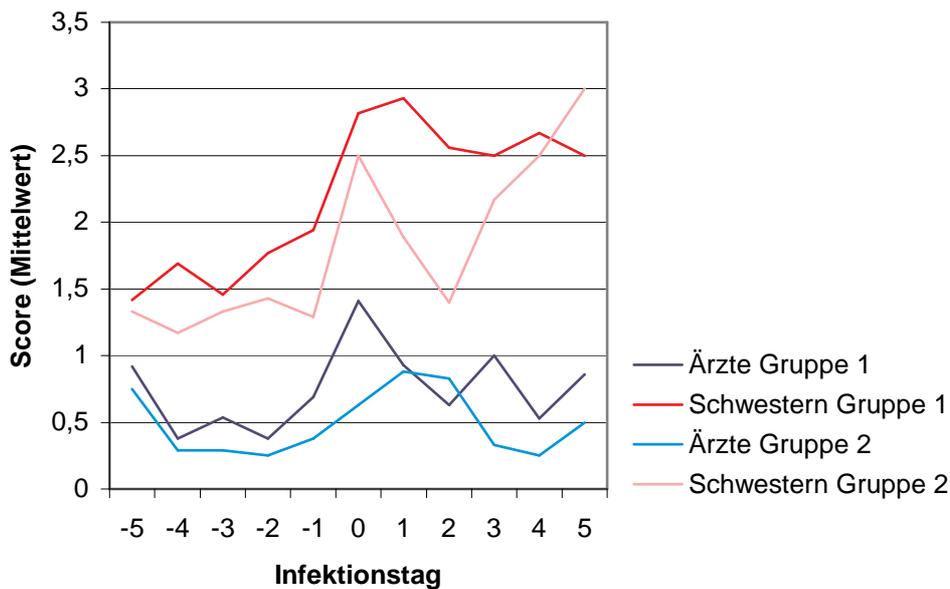


Diagramm 16. Verlauf der Ärzte- und Schwestern-Scores (Mittelwerte) von Tag – 5 bis Tag + 5, Vergleich der echten Infektionen (Gruppe 1, PosInf) mit den Pseudoinfektionen (Gruppe 2, NegInf)

Außerdem wick sowohl der Ärzte- als auch der Schwestern-Score der Gruppe 1 an Tag 0 statistisch signifikant von den Scores der Gruppe 3 ab (Mittelwerte des ersten Lebensmonats: Ärzte-Score: $0,5 \pm 0,3$; Schwestern-Score: $1,4 \pm 0,8$) (Ärzte $p = 0,0022$; Schwestern $p = 0,0043$).

	Gruppe 1 (PosInf)	Gruppe 2 (NegInf)	Gruppe 3
Ärzte-Score	1 [0,6 – 2,2]	0,5 [0 – 1,3]	0 [0,3 – 0,6]
Schwester-Score	2 [1,8 – 3,9]	1 [0,6 – 4,7]	1 [1,2 – 1,9]

Tabelle 14. Vergleich der Ärzte- und Schwestern-Scores der Gruppen 1 und 2 an Tag 0 und dem Mittelwert der Gruppe 3

4 Diskussion

4.1 Klinische Anwendbarkeit des OPS-Imaging

In dieser Studie standen die klinische Anwendbarkeit und das diagnostische Potential der OPS-Imaging-Technik bei Frühgeborenen im Mittelpunkt unseres Interesses.

Als Messort wurde die Innenseite des Oberarms gewählt, da diese Stelle bei Frühgeborenen gut zugänglich ist und in vorausgegangenen Studien als zu bevorzugende Messstelle bei Frühgeborenen beschrieben wurde.^{23, 24}

4.1.1 Vergleichbarkeit der Daten

Die prinzipielle Vergleichbarkeit des OPS-Imaging mit der Intravitalmikroskopie (IVM) wurde in diversen tierexperimentellen Studien bereits belegt. Es wurden identische Gefäße jeweils mittels OPS-Imaging und IVM untersucht, die quantitativen Daten korrelierten und es konnte gezeigt werden, dass mittels OPS-Imaging und IVM vergleichbare Daten erhoben werden können.^{5, 31, 46, 47, 48, 51, 53}

Ein Problem ergibt sich hingegen in der Vergleichbarkeit der mikrozirkulatorischen Parameter Erythrozytenfließgeschwindigkeit (RBC Vel), Funktionelle Gefäßdichte (FVD) und Gefäßdurchmesser (Diam) zu unterschiedlichen Messzeitpunkten. In der Hamster-Rückenhautkammer können die untersuchten Gefäßareale markiert und damit die identischen Gefäße zu einem späteren Zeitpunkt erneut untersucht werden.^{33, 34} Bei der humanen Anwendung der OPS-Imaging-Technik ist eine derartige Markierung nicht durchführbar und daher ist es nicht möglich, identische Gefäße in unterschiedlichen Phasen zu beobachten. Die Messungen wurden jedoch durchweg in der identischen Körperregion (Regio axillaris) vorgenommen und spiegeln daher die funktionellen Veränderungen einer zu jedem Messzeitpunkt anatomisch gleichen Mikrozirkulationsregion wieder.

4.1.2 Sicherheit der Anwendung

Genzel-Boroviczény und Mitarbeiter konnten bereits in früheren Studien zeigen, dass OPS-Imaging auch bei sehr kleinen Frühgeborenen (Gestationsalter < 30SSW) angewendet werden kann. Dies ließ sich in unserer Studie bestätigen. Weil das OPS-Imaging auf einer Kaltlichtquelle basiert, die die Haut weder irritiert noch erwärmt, konnte die Technik sogar bei sehr kleinen Frühgeborenen mit einem Gestationsalter von 23 – 24 SSW eingesetzt werden. OPS-Imaging erwies sich in unserer Studie als nebenwirkungsfreie Methode zur Untersuchung der Mikrozirkulation bei Frühgeborenen mit einem Gestationsalter < 30 SSW.^{23, 24} Die geringe Größe des Messinstruments ermöglichte außerdem eine relativ unproblematische Handhabung im Inkubator.

Im Rahmen der Studie wurden die mikrozirkulatorischen Messungen täglich zu vergleichbaren Zeitpunkten durchgeführt, um Aussagen über infektionsassoziierte Veränderungen der Mikrozirkulationsparameter treffen zu können. Wir bemühten uns dabei um eine Integration in den Stationsalltag, um diesen so wenig wie möglich zu stören. Sofern diese Messungen von Stationspersonal (Ärzte oder Schwestern) durchgeführt werden müssten, wären mit hoher Wahrscheinlichkeit zeitliche Engpässe zu erwarten, da pro Kind mit einem Zeitaufwand von etwa 15 Minuten zu rechnen ist und meist mehrere Kinder pro Tag zu untersuchen sind.

Wir kamen in unserer Studie zu der Schlussfolgerung, dass die OPS-Imaging-Technik eine nebenwirkungsfreie, klinisch problemlos anwendbare Methode ist, die jedoch zur Durchführung der Messungen einen gewissen Zeitaufwand erfordert.

4.1.3 Artefaktentstehung

Bewegungsartefakte

Als Voraussetzung für die computergestützte Auswertung werden Videosequenzen benötigt, die möglichst artefaktfrei sind und eine Länge von mindestens zehn Sekunden aufweisen. Um Artefakte durch Atemexkursionen möglichst gering zu halten, wurde von uns die Innenseite des Oberarms als Messstelle verwendet, die bereits von Genzel-Boroviczény und Mitarbeitern als beste Position beschrieben wurde.²³ Dennoch

entstehen gelegentlich Artefakte durch Bewegungen des Kindes oder des Untersuchers, was die optimale Fokussierung erschwert und die Qualität der OPS-Imaging-Bilder beeinträchtigt. Dadurch verlängert sich außerdem die Untersuchungszeit bei unruhigen Kindern möglicherweise erheblich.⁴⁹

Druckartefakte

Im Gegensatz zum Tiermodell ist der Applikationsdruck in der vorgestellten Anwendung nicht sicher kontrollierbar. Wird die Sonde mit zu hohem Druck auf die Haut aufgesetzt, kommt es zu einer Kompression der Mikrogefäße und zu einer Behinderung des Blutflusses bis hin zur Stase. Dadurch können fehlerhafte Messungen der Erythrozytenfließgeschwindigkeit (RBC Vel) und der Funktionellen Gefäßdichte (FVD) entstehen. Fehler in der Berechnung der FVD versuchten wir dadurch zu minimieren, dass wir die Blutgefäße nicht nur am Standbild markierten, sondern die Sequenzen wiederholt abspielten und die Blutgefäße auch am bewegten Bild nachzeichneten. Kapillaren, die durch erhöhten Applikationsdruck nicht perfundiert sind, können so erkannt und trotzdem in die Berechnung einbezogen werden. Außerdem ermöglicht es die Erfahrung im Umgang mit dem Cytoscan-Gerät, dass zu großer Applikationsdruck schnell erkannt wird und die Messung erneut vorgenommen werden kann.

Eine objektive Kontrollmöglichkeit des Applikationsdruckes stand uns jedoch nicht zur Verfügung, was gewiss einen Kritikpunkt unserer Arbeit darstellt. Es bedürfte einer Geräthalterung, die sich problemlos unter den beengten Platzverhältnissen in einem Inkubator anwenden lässt, die empfindliche Haut der Frühgeborenen nicht beeinträchtigt und den Hygienestandards beim Umgang mit Inkubatoren entspricht. Diesbezüglich existiert bislang jedoch kein Studienmaterial.

Uhl und Mitarbeiter verwendeten bei ihrer Untersuchung der Mikrozirkulation während intrazerebraler Aneurysma-Operationen und intrakranieller Tumorentfernung eine Vorrichtung zur Kontrolle des Applikationsdrucks. Dabei wurde die OPS-Imaging-Sonde in ein Stereotaxiegerät eingebaut, was eine konstante Entfernung von 2 mm zwischen Sonde und Untersuchungs gewebe gewährleistete.⁸⁴ Thomale und Mitarbeiter setzten ebendiese Technik bei ihren Untersuchungen im Tiermodell ein.⁸³

Zur Reduktion von Druck- und Bewegungsartefakten wurde 2002 von Lindert, Pries und Mitarbeitern eine sterilisierbare Saugvorrichtung aus Stahl entwickelt an die die sterile Plastikkappe (CYTOLENSTM) der OPS-Imaging-Sonde montiert wird.⁴⁹ Diese

Apparatur gewährleistet einen konstanten Abstand von 0,5 mm zwischen Plastikcappe und Gewebe und vermindert somit eine Kompression der Gefäße. Hierzu wird eine Saugvorrichtung über einen Konnektor an der Seite eines mit 24 Öffnungen durchsetzten Rings angeschlossen und der Sog (30 mmHg) bewirkt über diese Ringöffnungen eine Fixierung des Gewebes im Ringbereich. In der Ringmitte kann die Mikrozirkulation dann ohne direkten Gewebekontakt gemessen werden. Bei Frühgeborenen kann diese Technik jedoch auf Grund der Empfindlichkeit der Haut nicht vorbehaltlos angewendet werden und Studien zur nebenwirkungsfreien Anwendung hierzu fehlen bislang.

Artefakte durch Lanugobehaarung und Hautfaltenbildung

Die Haut von Frühgeborenen ist weitgehend mit Lanugobehaarung bedeckt, was mitunter zu einer Beeinträchtigung der Bildqualität führen kann.²³ Die Unterscheidung von Haaren und Blutgefäßen ist jedoch problemlos möglich und so kann das Beobachtungsareal gewechselt werden, falls zu viele Lanugohaare die Bildqualität verschlechtern. Handelt es sich nur um vereinzelte Haare, können diese bei der Auswertung ignoriert werden und es entstehen in der Regel keine Fehlmessungen. Die initiale Befeuchtung des Messareals mit einigen Tropfen angewärmter 0,9 % iger Natriumchlorid-Lösung mindert störende Hautfalten und führt somit zu einer deutlichen Erhöhung der Bildqualität.

4.1.4 Qualität der Mikrozirkulationsbilder

Die Bildqualität der OPS-Imaging-Technik hängt in erster Linie von der korrekten Handhabung des Instruments ab. Diese ist ohne großen Zeitaufwand zu erlernen und daher gehen wir davon aus, dass die durch den exakten Umgang mit dem Gerät vermeidbaren Fehlerquellen geringstmöglich gehalten wurden.

Bei der Anwendung der OPS-Imaging-Technik in der herzchirurgischen Anaesthesie verminderte die Verwendung der Herz-Lungen-Maschine durch Kontrastreduktion infolge Hämodilution und Gewebeödem die Qualität der OPS-Imaging-Bilder, was die Auswertung erschwerte^{10, 70} und zu einem Abfall der funktionellen Gefäßdichte führte.³⁵ Diese Veränderungen wurden ab einem Hämatokritwert < 25 % des

Ausgangswertes evident und könnten auch die FVD in unserer Studie beeinflusst haben, da unsere Frühgeborenen mitunter deutliche Hämatokritschwankungen zeigten. Dies ist insbesondere im Hinblick auf die großen inter- und intraindividuellen FVD-Unterschiede in allen Patientengruppen zu berücksichtigen. Harris und Mitarbeiter konnten keinen Einfluss der Hämodilution auf die Erythrozytenfließgeschwindigkeit oder den Gefäßdurchmesser nachweisen.³⁵

Zu diskutieren ist zudem, dass insgesamt drei Kindern während der antibiotischen Therapie Erythrozytenkonzentrate verabreicht wurden. Hierbei handelte es sich um zwei Kinder mit laborchemisch bestätigter Infektion (PosInf) und ein Kind mit laborchemisch nicht bestätigter Infektion (NegInf), die Gabe erfolgte in allen drei Fällen an Tag + 1 der Infektion. Laut Genzel-Boroviczény und Mitarbeitern muss davon ausgegangen werden, dass die Gabe von Erythrozytenkonzentraten die FVD signifikant erhöht.²⁴ Der von uns festgestellte signifikante FVD-Abfall von Tag – 5 nach Tag – 1 im Rahmen einer laborchemisch bestätigten Infektion (PosInf) bleibt davon jedoch unbeeinflusst, da die Erythrozytenkonzentrate jeweils an Tag + 1 verabreicht wurden.

4.1.5 Praktikabilität des Videobildanalyse-Systems CapiScope

Zur computergestützten Auswertung verwendeten wir das Videobildanalyse-System CapiScope® (KK Technologies, UK). Dies ist ein neues Programm, das mit dem Vorgängerprogramm Cap Image vergleichbare Werte in der Validierung der mikrozirkulatorischen Parameter Erythrozytenfließgeschwindigkeit, Funktionelle Kapillardichte und Gefäßdurchmesser lieferte,⁶⁹ dabei aber weniger Zeit zur Auswertung in Anspruch nimmt. Dies wird unter anderem durch systemintegrierte Verfahren zur digitalen Bildnachbearbeitung, Grauwertveränderungen und Bewegungskorrektur erreicht.

Um zur Auswertung geeignete Stellen zu identifizieren müssen die Videobilder off-line wiederholt abgespielt und nach Sequenzen durchsucht werden, die über eine Zeitspanne von mindestens zehn Sekunden möglichst geringe Bewegungsartefakte zeigen. Bei durchschnittlich zehn Video-Minuten pro Kind und Tag erwies sich diese Selektion relevanter Sequenzen als zeitaufwendigster Schritt bei der Auswertung.

4.2 Erhebung der mikrozykulatorischen Parameter

Obwohl bei Erwachsenen unterschiedliche Methoden der Kapillarmikroskopie mittlerweile seit fast 30 Jahren angewendet werden,^{18, 19} existieren nur wenige Publikationen über Anwendungen bei Neugeborenen, die sich wiederum meist auf die Nagelfalzkapillaroskopie reifgeborener Kinder beschränken.⁵⁸ Genzel-Boroviczény und Mitarbeiter veröffentlichten 2002 erstmals mittels OPS-Imaging erhobene mikrozykulatorische Parameter von Frühgeborenen.²³

In unserer Studie wurde nun erstmals unter Verwendung der OPS-Imaging-Technik die veränderte Mikrozykulation von Frühgeborenen während einer Infektion untersucht. Neben den mikrozykulatorischen Parametern Erythrozytenfließgeschwindigkeit (RBC Vel), Funktioneller Gefäßdichte (FVD) und Gefäßdurchmesser (Diam) wurden zusätzlich diverse quantitative Daten ermittelt.

4.2.1 Funktionelle Gefäßdichte

Die Funktionelle Gefäßdichte (FVD) zählt zu den besten quantitativen Indikatoren für die mikrovaskuläre Gewebedurchblutung. Da bei ihrer Messung nur die erythrozytendurchflossenen Kapillaren gezählt werden, kann sie auch als indirektes Maß für den Sauerstofftransport und damit die nutritive Versorgung des Gewebes angesehen werden.⁵⁷

Die von uns gemessenen Werte für die Funktionelle Gefäßdichte sind vereinbar mit den bisher veröffentlichten Daten von Frühgeborenen und befinden sich zwischen den Werten von anämischen und von gesunden Frühgeborenen.^{23, 24} Auch die bei unseren gesunden Kindern (Gruppe 3: 230 [221,2 – 236,9] cm/cm²) gemessene FVD liegt unter der von Genzel-Boroviczény und Mitarbeitern publizierten FVD gesunder Frühgeborenen (290 [277 – 296] cm/cm²). Den Grund hierfür vermuten wir im unterschiedlichen Gestationsalter der Patientengruppen (28,4 [27,8 – 28,8] SSW unserer Studie versus 30,0 [28,5 – 30,6] SSW bei Genzel-Boroviczény und Mitarbeitern).²³ Gerade bei Frühgeborenen verändert sich das Muster der Hautkapillaren erheblich innerhalb der ersten Lebenswochen und erreicht erst einige Wochen postnatal einen Zustand, der dem adulten Gefäßsystem identisch ist.^{41, 42, 66} Änderungen des kapillären

Blutflusses (blood flow) in Abhängigkeit vom Gestationsalter bzw. vom postnatalen Alter konnten bereits in früheren Studien belegt werden.⁹¹ Zu FVD-Veränderungen liegen vergleichbare Daten jedoch nur in geringer Menge vor. In unserer Studie zeigte sich, dass die FVD invers mit dem postnatalen Alter innerhalb des ersten Lebensmonats korrelierte und folglich mit steigendem Lebensalter abfiel. Auch in den Untersuchungen von Genzel-Boroviczény und Mitarbeitern fiel die FVD vom ersten auf den fünften postnatalen Lebenstag der Frühgeborenen signifikant ab.²³

Unsere Untersuchungen der Funktionellen Gefäßdichte zeigten außerdem deutlich, dass die FVD bei Frühgeborenen < 30 SSW eine hohe Heterogenität aufweist. Dies ist sowohl in Diagramm 3 (Häufigkeitsverteilung) als auch in Diagramm 4 des Ergebnisteils (Box-and-Whiskers-Plots) ersichtlich.

Die Funktionelle Gefäßdichte an Tag 0 der Infektion korrelierte signifikant mit dem an Tag 0 bestimmten Hämoglobinwert des Kindes ($p = 0,0103$, $r^2 = 0,4649$). Bei De Backer und Mitarbeitern korrelierte die FVD der kleinen Mikrogefäße überdies signifikant mit dem pH-Wert, was sich bei uns jedoch nicht feststellen ließ. Darüber hinaus ergaben sich keine signifikanten Korrelationen zwischen der FVD und klinischen Parametern, wie Gestationsalter, Blutdruck oder Herzfrequenz, was in Einklang mit den von Genzel-Boroviczény und Mitarbeitern veröffentlichten Daten steht.^{23, 24}

Grundsätzlich ist festzustellen, dass unsere Ergebnisse bezüglich allgemeiner Veränderungen der Funktionellen Gefäßdichte von Frühgeborenen innerhalb des ersten Lebensmonats mit den bisher veröffentlichten Daten übereinstimmen.^{23, 24}

4.2.2 Erythrozytenfließgeschwindigkeit

Norman und Mitarbeiter ermittelten bei ihren Reifgeborenen Werte für die Kapilläre Blutzellgeschwindigkeit von 40 – 1200 $\mu\text{m}/\text{sec}$ mit einem Mittel von 380 ± 210 $\mu\text{m}/\text{sec}$.⁵⁸ Die in unserer Studie gemessenen Erythrozytenfließgeschwindigkeiten (Median: 309,5 [318,2 – 334,] $\mu\text{m}/\text{sec}$) lassen sich in diesen Bereich einordnen. Die RBC Vel gesunder Frühgeborener wurde von Genzel-Boroviczény und Mitarbeitern am fünften Lebenstag mit 570 [548 – 662] $\mu\text{m}/\text{sec}$ angegeben, bei anämischen Frühgeborenen 24 Stunden nach Transfusion mit 371 [323 – 392] $\mu\text{m}/\text{sec}$. Unsere Werte

liegen unterhalb dieser Angaben. Dies ließe sich aus den größeren Gefäßdurchmessern erklären, die in unserer Studie gemessen wurden, wenn man postuliert, dass sich der Blutfluss nicht veränderte. Da sich die Fließgeschwindigkeit aus Stromstärke (flow) und Gefäßquerschnitt ergibt, wird nach dem Hagen-Poiseuille-Gesetz erwartet, dass es zu einem Abfall der RBC Vel kommt, wenn die Stromstärke abnimmt und/oder der Gefäßquerschnitt zunimmt. In unseren Untersuchungen wurde der Blutfluss jedoch nicht gemessen, daher sind Aussagen zu diesem Punkt nicht möglich.

Genzel-Boroviczény und Mitarbeiter beobachteten eine signifikante Korrelation der RBC Vel mit dem Hämatokritwert der Kinder, was sich bei uns jedoch nicht zeigte.

Entsprechend der Ergebnisse früherer Untersuchungen fanden sich keine statistisch signifikanten Korrelationen der Erythrozytenfließgeschwindigkeit mit klinischen Parametern, wie Hauttemperatur, MAD, Herzfrequenz, Hämoglobinwert oder postnatalem Alter.^{23, 24, 58} Einzig der Schwestern-Score an Tag 0 korrelierte signifikant mit der RBC Vel an diesem Tag ($p = 0,0489$, $r^2 = 0,3344$), wobei einem hohen Score eine niedrige RBC Vel gegenüberstand.

Generell sind die von uns gemessenen Erythrozytenfließgeschwindigkeiten mit den bislang publizierten Werten von Frühgeborenen zu vereinbaren.

4.2.3 Gefäßdurchmesser

Die Gefäßdurchmesser, die in dieser Studie gemessen wurde lassen sich mit den von Norman und Mitarbeitern mittels Nagelfalzkapillaroskopie erhobenen Werten (6 – 15 μm) gut vereinbaren.⁵⁸ Mit einem Median von 14,0 [13,88 – 14,44] μm befinden wir uns jedoch in einem anderen Größenbereich als die bisher bei Frühgeborenen mittels OPS-Imaging gemessenen Werte. Genzel-Boroviczény und Mitarbeiter beobachteten bei gesunden Frühgeborenen einen Gefäßdurchmesser mit einem Mittelwert von 8,0 [7,7 – 8,6] μm bzw. bei anämischen Frühgeborenen 24 Stunden nach Transfusion mit einem Mittelwert von 10,3 [9,2 – 11,3] μm .^{23, 24}

Grundsätzlich gilt, dass bei Verwendung der OPS-Imaging-Technik der Gefäßdurchmesser auf Grund eines systemischen Messfehlers geringer berechnet wird als bei der Intravitalmikroskopie. Dies resultiert aus den unterschiedlichen Techniken zur Ermittlung des Gefäßdurchmessers der beiden Verfahren. Beim OPS-Imaging wird

der Durchmesser als Breite der Erythrozytensäule berechnet, wohingegen die Intravitalmikroskopie (IVM) das mit Fluoreszenzfarbstoffen markierte Blutplasma zur Bestimmung heranzieht. Zwischen den fließenden Erythrozyten und der Gefäßwand befindet sich eine 0,4 – 0,6 µm dicke Plasmaschicht, die nur durch die Verwendung von Kontrastmitteln darstellbar ist und somit nur bei der IVM erfasst wird. Darüber hinaus kommt es bei der Intravitalmikroskopie zu einem Missverhältnis zwischen Brechungsindex des Gewebes und des Plasmas („interfacial scattering“), was zu einem „out of focus halo“ des Lichts führt. Dies lässt die Strukturen größer erscheinen und somit wird der Gefäßdurchmesser um etwa 10 % zu groß gemessen.²⁹

Bei Erwachsenen ist es bei der sublingualen Anwendung möglich, große Gefäße deutlich zu visualisieren und in Arteriolen und Venolen zu unterscheiden. Bedingt durch die geringe Größe der neonatalen Hautgefäße kann hier keine Differenzierung in Arteriolen, Kapillaren und postkapilläre Venolen vorgenommen werden. Wie bereits unter Punkt 2.5.2 beschrieben, wurden zur Auswertung nur Gefäße mit einem Durchmesser von 6 – 24 µm herangezogen. Gefäße mit einem Durchmesser > 25 – 30 µm können nicht scharf abgebildet werden, da sie sich zu tief in der Dermis befinden und nur kleine Gefäßschleifen visualisiert werden können, bevor die Gefäße in tieferen Schichten verschwinden. Daraus würden Fehlmessungen von Erythrozytenfließgeschwindigkeit und Gefäßdurchmesser resultieren.

4.3 Allgemeine Beobachtungen bezüglich der Infektion

In unserer Studie häuften sich die laborchemisch bestätigten Infektionsfälle (PosInf) zwischen dem 8. und dem 15. Lebenstag der Frühgeborenen und sind daher alle als late onset Formen der neonatalen Infektionen zu werten (Diagramm 1).⁷⁹ Überdies sind alle Episoden als klinische Infektionen zu bezeichnen, da wir nur eine Erhöhung des Infektionsparameter CRP und IL-6 fest stellten, jedoch in keinem Fall der Erregernachweis in Blut-, Urin- oder Liquorkultur möglich war.⁶⁵

Bei allen Infektionsfällen, insbesondere aber bei den 17 laborchemisch bestätigten Infektionen (PosInf, Gruppe 1) ließ sich eine geringe Bevorzugung des männlichen Geschlechts erkennen. Der Anteil der Knaben war mit 59 % (10 Infektionsfälle) höher als bei den Mädchen (41 % bzw. 7 Infektionsfälle).⁶¹ Obschon dieser Unterschied keine

statistische Signifikanz erreichte, lässt er sich mit der Literatur vereinbaren, die das männliche Geschlecht als Risikofaktor für neonatale Infektionen sieht.⁵⁷

Ferner beobachteten wir, dass 71 % der Frühgeborenen mit einem Gestationsalter unter 26 SSW eine laborchemisch bestätigte Infektion durchmachten, im Gegensatz zu nur 50 % der Kinder, die mit einem Gestationsalter über 26 SSW zur Welt kamen. Obschon hier die statistische Signifikanz fehlt, steht diese Beobachtung damit in Einklang, dass bei Frühgeborenen mit einem geringeren Gestationsalter ein höheres Risiko für eine Neugeboreneninfektion besteht.⁵⁷

Das Auftreten einer laborchemisch bestätigten Infektion korrelierte signifikant mit dem Geburtsgewicht, wobei ein höheres Geburtsgewicht das Infektionsrisiko minderte ($p = 0,0364$, $r^2 = 0,1767$). Ähnliche Angaben finden sich bei Stoll und Mitarbeitern, die ebenfalls einen Zusammenhang zwischen Geburtsgewicht und dem Auftreten einer Infektion beschrieben.⁷⁷

4.4 Nachweis von Mikrozirkulationsstörungen während Infektion

Zur Erklärung mikrozirkulatorischer Veränderungen während Infektion oder Sepsis kann eine Vielfalt von Faktoren herangezogen werden. Prinzipiell besteht die Möglichkeit, dass die Hautmikrozirkulation der Frühgeborenen von mehreren Faktoren beeinflusst wurde.

In Untersuchungen von De Backer und Mitarbeitern scheint die sofortige Wiederherstellung eines normalen mikrovaskulären Gefäßmusters nach Acetylcholingabe vor allem auf eine zentral vermittelte Rolle der Vasokonstriktion hinzuweisen.¹⁵ Hinzu kommen eine Reihe verschiedener inflammatorischer Mediatoren, die schließlich zu einer Veränderung der mikrozirkulatorischen Parameter führen. Bei Ratten rief die Verabreichung von TNF- α , einem zentralen Sepsismediator, einen Abfall des mikrovaskulären Blutflusses hervor.⁸⁶ Ebenso kann Endothelin, ein potenter Vasokonstriktor, der oftmals bei septischen Patienten erhöht ist, eine Konstriktion von Mikrogefäßen auslösen.³⁰

4.4.1 Veränderungen der Funktionellen Gefäßdichte

Trotz der hohen Schwankungsbreite in unserer Studie konnte erstmals eine infektionsassoziierte Veränderung der Funktionellen Gefäßdichte bei Frühgeborenen nachgewiesen werden.

In der Gruppe der laborchemisch bestätigten Infektionen (Gruppe 1, PosInf) stellten wir ein signifikantes Absinken der Funktionellen Gefäßdichte von Tag – 5 auf Tag – 1 der Infektion fest ($p = 0,0127$), was in der Gruppe der laborchemisch nicht bestätigten Infektionen (Gruppe 2, NegInf) nicht der Fall war. Zu diskutieren ist jedoch die Tatsache, dass die statistische Signifikanz dieses FVD-Abfalls nicht in einer Unterschiedlichkeit der Mediane der beiden Tage deutlich wird, da einem Median von 234 [190 – 257] cm/cm^2 an Tag – 5 ein nur unwesentlich geringerer Median von 231 [187 – 236] cm/cm^2 an Tag – 1 gegenüber steht. Die Signifikanz des FVD-Abfalls ist allein aus dem intraindividuellen Vergleich der Wertepaare erklärbar ($p = 0,0127$).

Wir nehmen daher an, dass die Funktionelle Gefäßdichte von Frühgeborenen mit einem Gestationsalter < 30 SSW eine hohe interindividuelle Variabilität aufweist und Aussagen über eine Infektion des Kindes anhand des FVD-Wertes nur durch tägliche intraindividuelle Vergleiche zu treffen sind. Es lässt sich jedoch kein Absolutwert für die FVD definieren, ab dem eine Infektion des Frühgeborenen als sicher angenommen werden kann bzw. das Kind als gesund gilt.

Die Gruppe 2 (NegInf) zeigte über den gesamten Verlauf der Messungen signifikant niedrigere FVD-Werte (209,0 [194,9 – 212,5] cm/cm^2) als die gesunden Kinder (Gruppe 3: 230 [221,2 – 236 ,9] cm/cm^2 ; $p = 0,0001$) und auch signifikant niedrigere Werte als die Kinder mit laborchemisch bestätigter Infektion (PosInf: 226,5 [218,3 – 226,7] cm/cm^2 ; $p < 0,0001$). Wie oben bereits erwähnt, stellt die Funktionelle Gefäßdichte einen Marker für die Gewebedurchblutung dar⁵⁷ und eine erniedrigte Funktionelle Gefäßdichte kann sich in Hautblässe oder anderen klinischen Zeichen gestörter Mikrozirkulation, zum Beispiel verlängerter Kapillärer Füllungszeit, äußern. Hieraus ließe sich der Infektionsverdacht in Gruppe 2 und die damit verbundenen Antibiotikagaben erklären, obwohl letztendlich keine echten Infektionen mit laborchemischer Bestätigung vorlagen. Des weiteren muss der Beginn der antibiotischen Therapie in Gruppe 2 durch klinische Zeichen, weniger durch mikrozirkulatorische Veränderungen erklärbar sein.

Ein Rückgang der Funktionellen Gefäßdichte während einer Infektion wurde bereits sowohl im Tierexperiment als auch in Studien mit adulten Patienten nachgewiesen. In Tierexperimenten kam es während einer Sepsis zu einer Verringerung der Funktionellen Gefäßdichte der intestinalen Mukosa von Hunden, Ratten und neonatalen Ferkeln. Außerdem konnte eine Reduktion der FVD in der quergestreiften Muskulatur von septischen Ratten und ein Rückgang der sublingualen FVD von septischen Schweinen beobachtet werden^{17, 20, 22, 44, 52}.

In früheren Studien wurde beobachtet, dass die Mikrozirkulation bei Erwachsenen im septischen Schock durch eine verminderte Perfusion der sublingualen Kapillaren, nicht jedoch der größeren Mikrogefäße charakterisiert ist. Die Funktionelle Gefäßdichte war in den jeweiligen Studien signifikant vermindert, stieg jedoch mit der Zeit bei den Überlebenden des septischen Schocks signifikant gegenüber den Werten der Nichtüberlebenden wieder an.^{15, 68, 75} Im Gegensatz dazu konnten wir mit den von uns erhobenen Daten keine Aussagen über das Überleben einer neonatalen Infektion in Abhängigkeit veränderter mikrozirkulatorischer Parameter treffen, da glücklicherweise keines der Frühgeborenen an der Infektion oder deren Folgen verstarb. Es ließ sich außerdem kein signifikanter Anstieg gegen Ende der Infektion erkennen, wie dies in den oben erwähnten Studien der Fall war.^{15, 68} Wir konnten daher keinen Zusammenhang zwischen mikrozirkulatorischen Parametern und dem weiteren Krankheitsverlauf herstellen.¹⁵

Die Funktionelle Gefäßdichte an Tag 0 der Infektion korrelierte signifikant mit dem an Tag 0 bestimmten Hämoglobinwert des Kindes ($p = 0,0103$, $r^2 = 0,4649$), wobei eine Erhöhung des Hämoglobinwertes zu einer erhöhten FVD führte, was in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Vicaut und Mitarbeitern steht.⁸⁵

Zusammenfassend ist festzustellen, dass wir bei Frühgeborenen mit einer laborchemisch bestätigten Infektion (PosInf) einen signifikanten Rückgang der Funktionellen Gefäßdichte von fünf Tagen vor einer Infektion (Tag -5) gegenüber einem Tag vor dem klinischen Sichtbarwerden der Infektion (Tag -1) nachweisen konnten, der sich bei den Kindern mit laborchemisch nicht bestätigter Infektion (NegInf) nicht zeigte. Es ließ sich jedoch kein Absolutwert definieren, oberhalb dessen ein Kind als gesund bzw. unterhalb dessen ein Kind als krank zu bezeichnen ist, da der Abfall der Funktionellen Gefäßdichte auf Grund der hohen interindividuellen Variabilität der FVD nur durch direkten intraindividuellen Wertevergleich zu erkennen ist.

4.4.2 Veränderungen der Erythrozytenfließgeschwindigkeit

Bei der Erythrozytenfließgeschwindigkeit wurde kein Unterschied zwischen Tag – 5 und Tag – 1 festgestellt, es zeigte sich lediglich eine Reduktion der RBC Vel während laborchemisch bestätigter Infektion (PosInf, Gruppe 1), ohne jedoch statistische Signifikanz zu erreichen. (Mittelwert Tag – 5 bis Tag – 1: 306 [297– 334] $\mu\text{m}/\text{sec}$ versus Mittelwert Tag 0 bis Tag + 5: 280 [283 – 317] $\mu\text{m}/\text{sec}$; $p = 0,2$). Dies zeigte sich nicht bei den laborchemisch nicht bestätigten Infektionen (NegInf, Gruppe 2). Wertet man diese Ergebnisse trotz der fehlenden Signifikanz als Tendenz, so lassen sie sich in die Reihe der zu diesem Thema vorhandenen Publikationen einordnen. In der Literatur werden jedoch meist Veränderungen des Blutflusses (blood flow) während einer Sepsis angegeben und weniger Änderungen der RBC Vel. Allein Weinberg und Mitarbeiter wiesen mittels Nagelfalzmikroskopie bei normotensiven febrilen Patienten eine Abnahme der Kapillären Blutzellgeschwindigkeit nach.⁸⁹ Daneben gibt es mehrere Untersuchungen, bei denen es zu einer Änderung des Kapillären Blutflusses (blood flow) kam. So beobachteten etwa Fischer und Mitarbeiter bei Ferkeln im LPS-induzierten septischen Schock einen Rückgang der intestinalen Kapillarperfusion. Bei der sublingualen Anwendung von OPS-Imaging an septischen Schweinen stellten Mathew und Mitarbeiter einen Rückgang des Microvascular Flow Score (MFS) um 53,4 % fest.⁵² Christ und Mitarbeiter konnten Veränderungen des mikrovaskulären Blutflusses bei kritisch kranken Patienten nachweisen, die bei Nichtüberlebenden wesentlich stärker ausgeprägt waren als bei Überlebenden.⁹ Die Untersuchungen von De Backer und Mitarbeitern zeigten außerdem eine zunehmende Heterogenität des Blutflusses in Gefäßen mit einem Durchmesser $< 20 \mu\text{m}$.¹⁵

Wir möchten festhalten, dass wir einen tendenziellen, statistisch jedoch nicht signifikanten Abfall der Erythrozytenfließgeschwindigkeit während echter Infektion (Gruppe 1) beobachten konnten, was sich mit bisherigen Veröffentlichungen durchaus vereinbaren lässt.

4.4.3 Veränderungen des Gefäßdurchmessers

Im Gefäßdurchmesser der einzelnen Patientengruppen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Daher gelangen wir zu der Annahme, dass der Gefäßdurchmesser bei Frühgeborenen keinen infektionsassoziierten Schwankungen unterliegt. Im Tiermodell zeigte sich bei Ratten mit normotensiver Sepsis ein Verringerung des Gefäßdurchmesser großer Arteriolen und eine Zunahme des Durchmesser bei kleinen Arteriolen.¹³ Spronk und Mitarbeiter visualisierten mittels OPS-Imaging eine Vasokonstriktion kleiner und mittlerer sublingualer Gefäße während septischem Schock, die durch Gabe von Nitroglycerin rückgängig gemacht werden konnte.⁷⁵

4.5 Diagnostisches Potential hinsichtlich Infektion

Generell ist zu diskutieren, ob die von uns beobachteten mikrozirkulatorischen Veränderungen überhaupt infektionsassoziiert sind und nicht von anderen, ebenfalls während der Infektionen veränderten Parametern herrühren. Obwohl der mittlere arterielle Blutdruck (MAD) der Kinder mit laborchemisch bestätigter Infektion signifikant niedriger war als der MAD der gesunden Kinder (Gruppe 1 (PosInf) versus Gruppe 3: $p = 0,0079$), ist es unwahrscheinlich, dass dieser Faktor allein für die von uns beobachteten Unterschiede verantwortlich ist. In tierexperimentellen Studien zeigte sich, dass mikrozirkulatorische Veränderungen unabhängig von arterieller Hypotension sind. Bei septischen Ratten zum Beispiel konnte ein merklicher Abfall der Perfusion diaphragmatischer Kapillaren im Vergleich zu einer Kontrollgruppe mit gleichem Hypotensionsgrad beobachtet werden. Hinzu kommt, dass unsere Mikrozirkulationsveränderungen nicht mit den Blutdruckwerten der Kinder korrelierten. Diese Resultate lassen den Schluss zu, dass die von uns beobachteten Veränderungen der Mikrozirkulation durchaus mit den Infektionen in Verbindung gebracht werden können.

Des weiteren ist zu bedenken, dass die Veränderungen der Hautmikrozirkulation möglicherweise nicht repräsentativ für andere Körperregionen sind. Es wird allgemein angenommen, dass die Mikrozirkulation des Splanchnikusgebietes sich während Sepsis früher verändert und später wieder normalisiert als andere Körperregionen.¹⁵ Die sublinguale Mukosa scheint sich unter anderem auf Grund der gleichen embryonalen

Herkunft in entsprechender Weise zu verhalten, ihre Untersuchung bei Frühgeborenen ist aber auf Grund der Größe des Messinstruments nicht möglich.^{10, 23, 88}

Untersuchungen zur expliziten Vergleichbarkeit von Hautmikrozirkulation und der Mikrozirkulation anderer Körperregionen, insbesondere das Splanchnikusgebietes, existieren bislang nicht. Die Annahme, dass die dermale Anwendung der OPS-Imaging-Technik zum Nachweis infektionsassoziierter Veränderungen der Mikrozirkulation von Frühgeborenen dienen könnte, lässt sich aus folgender physiologischen Besonderheit bei Neugeborenen erklären. Da bei Neugeborenen kardiovaskuläre Mechanismen zur Kompensation von Minderperfusion nur eingeschränkt vorhanden sind und über die Fähigkeit, die kutane Durchblutung zu drosseln, ausgeglichen werden, gilt die Haut des Neugeborenen als eine Art Schockorgan.¹⁰ Daher zeigen sich neonatale Infektionen unter anderem in Veränderungen des Hautkolorits und einer Verlängerung der Kapillären Füllungszeit.

Zusammenfassend ließ sich in unserer Studie erkennen, dass die mikrozirkulatorischen Parameter FVD, RBC Vel und Diameter bei Frühgeborenen im ersten Lebensmonat eine hohe interindividuelle und intraindividuelle Variabilität aufweisen. Eine Definition eines Absolutwertes, oberhalb dessen das Kind als gesund bzw. unterhalb dessen das Kind als krank gilt, ist daher nicht möglich. Allein der tägliche Vergleich der mikrozirkulatorischen Parameter jedes einzelnen Kindes ermöglicht eine Wahrnehmung der infektionsassozierten Veränderungen.

Da sich die von uns beobachtete signifikante Abnahme der Funktionellen Gefäßdichte einen Tag vor der klinischen Infektionsdiagnose nur bei den Frühgeborenen mit laborchemisch bestätigter Infektionen (PosInf, Gruppe 1) fand, kann mittels OPS-Imaging das Erkennen einer echten Infektionen unterstützt werden und der Einsatz dieser Technik folglich zu einer Reduktion von Blutentnahmen und Antibiotikagaben führen.

4.6 Ärzte- und Schwestern-Scores

Ärzte und Schwestern beurteilten täglich den klinischen Allgemeinzustand der Kinder durch die Vergabe von Punkten (2.6.2, bzw. Fragebögen in Anlage 2 und 3), die von uns zu einem Infektions-Score addiert wurden. Dabei werteten wir einen Score von ≥ 3 Punkten als Veränderung des kindlichen Zustandes und wenn dieser an Tag 0 vergeben wurde, als klinische erkannte Infektion. Hierbei ergaben sich deutliche Unterschiede zwischen den Ärzte- und Schwestern-Scores. So bewerteten die Schwestern acht der 17 echten Infektionen an Tag 0 mit einer Punktsumme ≥ 3 (47 % der Fälle), die Ärzte hingegen nur drei der echten Infektionen an Tag 0 mit ≥ 3 Punkten (20 %). Am Infektionstag 0 vergaben die Ärzte im Mittel einen Score von 1,4 ($\pm 1,6$), wohingegen die Schwestern den Zustand der Kinder im Mittel mit 2,8 ($\pm 2,0$) bewerteten. Dieser Unterschied erwies sich als statistisch signifikant ($p = 0,0206$) und ist möglicherweise aus den durchaus unterschiedlichen Fragebögen zu erklären. Diese Abweichungen waren jedoch aus unserer Sicht notwendig, da Ärzte und Schwestern generell verschiedene Bereiche in der Betreuung der Frühgeborenen übernehmen und daher differente Bewertungskriterien anzusetzen sind.⁶⁵

Die geringe Anzahl der laut Scores erkannten Infektionen steht in deutlichem Gegensatz zu den dennoch angesetzten Antibiotikatherapien. Daher stellt sich die Frage, ob die verwendeten Fragebögen tatsächlich infektionsspezifische Veränderungen abfragten, obwohl zu ihrer Erstellung gängige klinische Parameter verwendet wurden, die auf neonatale Infektionen hinweisen. Da jedoch frühe klinische Zeichen einer Neugeboreneninfektionen sehr diskret und unspezifisch sind,^{1, 16, 26, 65, 80, 87} darf die Subjektivität, die durch die Beurteilung der einzelnen Parameters durch unterschiedliche Personen entsteht, nicht außer Acht gelassen werden. Insbesondere die Beurteilung der Kapillären Füllungszeit unterliegt diesen beobachterabhängigen Variationen, da sie unter anderem von der Zeit des applizierten Druckes abhängt.⁸⁰

Außerdem muss trotz der von uns zur Erstellung der Fragebögen sorgfältig durchgeführten Literaturrecherche davon ausgegangen werden, dass auch andere nicht abgefragte Parameter zur Diagnosestellung beigetragen haben.

Trotz dieser Diskrepanzen zwischen Scores und Antibiotikagaben fanden wir sowohl bei Ärzten als auch bei Schwestern einen signifikanten Unterschied zwischen den Scores der Frühgeborenen mit laborchemisch bestätigter Infektion (PosInf) an Tag 0 und den Mittelwerten der Scores der gesunden Kinder (Gruppe 3) im ersten Lebensmonat (PosInf versus gesunde Kinder (Gruppe 3): Ärzte: $p = 0,0022$; Schwestern: $p = 0,0043$).

4.7 Limitationen und Verbesserungen für Folgestudien

Ein Hauptproblem bei der Anwendung von OPS-Imaging stellt die Variabilität der untersuchten Gefäße dar. Bei der Verwendung der Hamster-Rückenhautkammer ermöglicht ein beim Menschen nicht praktikabler Versuchsaufbau, das identische Gefäßbett in den unterschiedlichen Phasen bzw. zu unterschiedlichen Zeitpunkten zu beobachten.³³ Darüber hinaus macht die Gefäßvariabilität und Größe des dermalen Mikrozirkulationsbettes die gezielte Identifikation der identischen Gefäße zu verschiedenen Messzeitpunkten unmöglich. Dies führt zu einer fraglichen Vergleichbarkeit der Messdaten an den einzelnen Tagen und erfordert zur klinischen Anwendung die Ermittlung einer wesentlich größeren Datenmenge, um statistische Signifikanz zu erreichen.²⁴

Als weiterer limitierender Faktor gilt der nicht sicher kontrollierbare Applikationsdruck, der zu Artefakten führen kann. Da ein erhöhter Sondendruck Gefäße komprimieren kann, wird die Erythrozytenfließgeschwindigkeit möglicherweise vermindert und die funktionelle Kapillardichte durch scheinbar nicht-perfundierte Areale unterschätzt. Da uns keine objektive Kontrollmöglichkeit des Applikationsdruckes zur Verfügung stand, wendeten wir größte Sorgfalt auf, um den Sondendruck zu minimieren und platzierten die Messsonde mit geringst möglichem Druck auf der Frühgeborenhaut. Pries und Mitarbeiter erarbeiteten eine Apparatur, die Druck- und Bewegungsartefakte weitgehend vermeiden lässt,⁴⁹ jedoch auf Grund der Empfindlichkeit der Frühgeborenenhaut ungeeignet ist, da sie unter Erzeugung eines Soges arbeitet.

Bewegungsartefakte, verursacht sowohl von Seiten des Untersuchers als auch des Kindes, beeinträchtigen ebenfalls die Qualität der Mikrozirkulationsbilder, erfordern wiederholte Korrekturen der Sondenspitze und erneute Fokussierung. Dies führt zu erhöhtem Zeitaufwand, einmal bei den Messungen, aber auch bei der anschließenden Auswertung der Daten und beeinträchtigt somit die klinische Anwendbarkeit der Technik.

Grundsätzlich gilt, dass mittels OPS-Imaging infektionsassoziierte Mikrozirkulationsstörungen bei Frühgeborenen nachgewiesen werden können. Es erfordert jedoch eine gewisse Routine in der Anwendung des Gerätes und der Auswertung, um mit möglichst geringem Zeitaufwand praktiziert werden zu können. Daher wäre eine Weiterentwicklung des Messgerätes speziell zur Reduktion von Druck- und Bewegungsartefakten wünschenswert. Eine Weiterentwicklung der on-line-Auswertung ist ebenfalls erstrebenswert, da sie unmittelbare Rückschlüsse auf mikrozirkulatorische Veränderungen erlaubt. Dann könnte über eine permanente Sonde ein dauerhaftes Monitoring der Hautmikrozirkulation erfolgen.

5 Zusammenfassung

Die steigende Überlebensrate in der Neonatologie ist insbesondere in der Gruppe der sehr kleinen Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht unter 1500 g, den sogenannten very low birth weight infants (VLBW), zu beobachten und vor allem auf Fortschritte in der Neugeborenenintensivpflege zurückzuführen. Ein Problem, das nach wie vor eine Herausforderung an die moderne Medizin darstellt, ist die hohe Infektionsanfälligkeit dieser unreifen Neugeborenen, die als Folge der eingeschränkten Immunabwehr anzusehen ist.

Da frühe klinische Zeichen einer neonatalen Infektion bzw. Sepsis sehr diskret und unspezifisch sind, der schnellstmögliche Therapiebeginn jedoch deutlich den Krankheitsverlauf beeinflusst, ist eine frühzeitige Diagnosestellung unabdingbar. Da nach Forschungsergebnissen der letzten Jahre das Krankheitsbild Sepsis zunehmend als Endothelerkrankung angesehen wird, bei der es durch endotheliale Dysfunktion zu mikrozirkulatorischen Veränderungen kommt, könnte ein Monitoring der Hautmikrozirkulation von Frühgeborenen helfen, neonatale Infektionen frühzeitig zu diagnostizieren.

Zur Erfassung der hautmikrozirkulatorischen Parameter verwendeten wir OPS-Imaging, eine neue nicht-invasive Technik, die mittels polarisiertem Licht und Epi-Illumination die Entstehung von Mikrozirkulationsbildern ohne den Einsatz von Fluoreszenzfarbstoffen ermöglicht.

Im Mittelpunkt unseres Interesses standen die klinische Anwendbarkeit und das diagnostische Potential von OPS-Imaging. Unsere Studiengruppe umfasste 25 Frühgeborene mit einem Gestationsalter < 30 SSW, die während des ersten Lebensmonats beobachtet und retrospektiv in drei Gruppen unterteilt wurden. In Gruppe 1 befanden sich 14 Frühgeborene mit einer laborchemisch bestätigten Infektion (PosInf: CRP $> 0,5$ mg/dl und/oder IL-6 > 10 pg/ml), Gruppe 2 bestand aus sieben Frühgeborenen, bei denen sich der klinische Infektionsverdacht laborchemisch nicht bestätigte (NegInf: keine Erhöhung der laborchemischen Infektionsparameter) und Gruppe 3 umfasste die vier gesunden Kinder.

Täglich wurden Funktionelle Gefäßdichte (FVD), Erythrozytenfließgeschwindigkeit (RBC Vel) und Gefäßdurchmesser (Diam) zu vergleichbaren Zeitpunkten bestimmt. Bei den Infektionen wurde der Beginn der Antibiotikatherapie als Tag 0 definiert, die Auswertung konzentrierte sich auf fünf Tage vor (Tag – 5 bis Tag – 1) und fünf Tage nach Infektionsbeginn (Tag + 1 bis Tag + 5).

Es ließ sich generell eine hohe interindividuelle und intraindividuelle Variabilität aller mikrozirkulatorischen Parameter während des ersten Lebensmonats feststellen. Überdies fiel die FVD am Ende der vierten Lebenswoche gegenüber der FVD am Ende der ersten Lebenswoche signifikant ab (Mittelwert Lebenstag 7 – 9 versus Mittelwert Lebenstag 27 – 29: $p = 0,0028$).

In insgesamt 26 Fällen wurde während der Laufzeit der Studie auf Grund eines Infektionsverdachtes eine antibiotische Therapie eingeleitet. Eine gewisse Häufung der laborchemisch bestätigten Infektionen zeigte sich in der zweiten Lebenswoche der Kinder, von Lebenstag 8 bis Lebenstag 15 (10 von 17 Infektionen, entsprechend (59% der Fälle). Es handelte sich definitionsgemäß ausschließlich um late-onset-Formen einer neonatalen Infektion und außerdem um klinische Infektionsfälle, d. h. es ließ sich zwar eine Erhöhung der Infektionsparameter CRP und IL-6 nachweisen, jedoch war kein Erregernachweis in Blut-, Urin- oder Liquorkultur möglich. Das Geburtsgewicht der Frühgeborenen korrelierte signifikant mit dem Auftreten einer echten Infektion, wobei ein höheres Geburtsgewicht das Infektionsrisiko minderte.

Die Funktionelle Gefäßdichte war bei den laborchemisch bestätigten Infektionen (Gruppe 1) einen Tag vor der Infektion signifikant niedriger als noch fünf Tage vor der Infektion (Tag – 5: 231 [187 – 236] cm/cm^2 versus Tag – 1: 234 [190 – 257] cm/cm^2 ; $p = 0,0127$). Dies konnte in der NegInf-Gruppe (Gruppe 2) nicht beobachtet werden ($p = 0,58$).

Bei der Erythrozytenfließgeschwindigkeit wurde kein Unterschied zwischen Tag – 5 und Tag – 1 gefunden, es zeigte sich lediglich eine Reduktion der RBC Vel während Infektion, ohne jedoch statistische Signifikanz zu erreichen (Mittelwert Tag – 5 bis Tag – 1: 306 [297– 334] $\mu\text{m}/\text{sec}$ versus Mittelwert Tag 0 bis Tag + 5 280 [283 – 317] $\mu\text{m}/\text{sec}$, $p = 0,2$). Beim Gefäßdurchmesser ließen sich keine infektionsassoziierten Veränderungen nachweisen.

Die Funktionelle Gefäßdichte der laborchemisch bestätigten Infektionen (PosInf) korrelierte am Tag 0 signifikant mit dem Hämoglobinwert des Kindes an Tag 0, die RBC Vel korrelierte invers mit dem Schwestern-Score an Tag 0. Weitere Korrelationen mit hämatologischen oder hämodynamischen Parametern fanden sich nicht.

Die OPS-Imaging-Technik ließ sich nebenwirkungsfrei bei allen 25 Frühgeborenen anwenden. Es konnten qualitativ hochwertige Bilder der dermalen Mikrozirkulation erhoben werden, wobei Artefaktbildung und ein Verminderung des Hämatokritwertes um 25% des Ausgangswertes zu einer Einschränkung der Bildqualität geführt haben könnten. Druck- und Bewegungsartefakte, sowie ausgeprägte Lanugobehaarung erfordern wiederholte Lagekorrekturen der Sondenspitze und erneute Fokussierung. Da der Applikationsdruck nicht sicher kontrollierbar ist, können durch den Sondendruck Gefäße komprimiert werden und als Folge die RBC Vel vermindert gemessen wird und die FVD durch scheinbar nicht-perfundierte Areale unterschätzt wird. Der von Pries und Mitarbeitern erarbeitete Lösungsansatz für Druck- und Bewegungsartefakte ließ sich jedoch wegen der Empfindlichkeit der Frühgeborenenhaut und auf Grund nicht vorhandenen Studienmaterials nicht anwenden.

Darüber hinaus besteht bei der klinischen Anwendung das Problem der fraglichen Vergleichbarkeit der Daten zu unterschiedlichen Messzeitpunkten. Im Gegensatz zum Tiermodell besteht auf Grund von Gefäßvariabilität und Größe der zu untersuchenden Hautregion keine Möglichkeit, identische Gefäße zu verschiedenen Messzeitpunkten gezielt zu identifizieren. Es müssen daher in der klinischen Anwendung wesentlich mehr Daten ermittelt werden, um statistische Signifikanz zu erreichen.

Grundsätzlich gilt, dass wir mittels OPS-Imaging infektionsassoziierte Mikrozirkulationsstörungen bei Frühgeborenen nachweisen konnten. Die hohe inter- und intraindividuelle Variabilität der mikrozirkulatorischen Parameter unserer Frühgeborenen im ersten Lebensmonat machte jedoch die Definition eines Absolutwertes unmöglich, mittels dessen sich generelle Aussagen über den Gesundheitszustand eines Kindes treffen ließen.

Ein mikrozirkulatorisches Monitoring mit täglichen intraindividuellen Vergleichen der Funktionellen Gefäßdichte könnte trotzdem zu einer Reduktion von Blutentnahmen und Antibiotikagaben führen, da sich Veränderungen nur bei laborchemisch bestätigten Infektionen (PosInf) zeigten und nicht bei den Infektionsverdachtsfällen (ohne laborchemische Bestätigung, NegInf).

Eine gewisse Routine im Umgang mit dem Gerät und in der Auswertung ist jedoch erforderlich, um das mikrozirkulatorische Monitoring mit möglichst geringem Zeitaufwand in den Stationsalltag zu integrieren. Die Entwicklung einer speziell bei Frühgeborenen anwendbaren Apparatur zur Reduktion von Druck- und Bewegungsartefakten würde sicherlich dazu beitragen. Eine Weiterentwicklung der online-Auswertung ist ebenfalls erstrebenswert, da sie unmittelbare Rückschlüsse auf mikrozirkulatorische Veränderungen erlaubt und mittels einer permanenten Sonde ein kontinuierliches Monitoring der Hautmikrozirkulation ermöglichen würde.

6 Anlagen

Patientennummer _____ **Datum** _____ 2003
 Aktuelles Gewicht _____ g **Lebenstag** _____
 Inkubatortemperatur _____ °C **sig. Veränderung** _____
 Temperatur Kind _____ °C **Instabilität** _____

Beatmung SIMV / HFOV
 MAD [cm H₂O] _____ **FiO₂** _____
 Flow [l/min] _____ **Frequenz [1/min]** _____
 PEEP [cm H₂O] _____ **PIP [cm H₂O]** _____
 Anzahl d. Apnoen _____ **d. Bradykardien** _____

Blutdruck NAK / periphere Arterie / Dinamap / HP-Monitor
 Syst./diast. [mmHg] _____ **MAD [mmHg]** _____
 Hf [1/min] _____ **obere Grenze** _____ **untere Grenze** _____
 Volumen-Boli _____
 Blutdruckwirksame Medikamente: _____

Labor **Abnahmezeit** _____ h
 Erythrozyten _____ Mio/ μ l **Retikulozyten** _____ % Erys
 Hb _____ g/dl **Hk** _____ %
 Leukozyten _____ 10³/ μ l **korr. Leukozahl** _____
 BE _____ mmol/l **pH** _____
 Blutzucker _____ mg/dl **Il-6** _____
 CRP _____ mg/dl **I/T** _____
 seg. Granulozyt. _____ / μ l
 stab. Granulozyt. _____ / μ l **neutr. Granulozyt.** _____ / μ l

Infektion
 Blutkultur _____
 Urin _____
 Liquor _____
Antibiotika _____

Messung **Zeit** _____ h
 Stelle _____ **Temp. d. Stelle** _____ °C
 Video von _____ bis _____ **Video-Nr.** _____
 FVD _____ cm/cm² **RBC velocity** _____ μ m/s
 Diameter _____ μ m

CYTOSCAN-STUDIE
Fragebogen für Ärzte

Frau PD Dr. Genzel
Station I 10B

Patientennummer: _____

	3. LT	4. LT	5. LT	6. LT	7. LT	8. LT	9. LT	10. LT	11. LT	12. LT	13. LT
<u>Datum :</u>											
<u>Haut :</u> 1 (= marmoriert) oder 2 (= blass)											
<u>Extremität :</u> 1 (= kühle Füße / Hände) oder 2 (=kühle Extremität)											
<u>RecapZeit :</u> 0 (≤ 2s) oder 1 (> 2s) oder 2 (> 3s)											
<u>Abdomen :</u> 0 (= unauffällig) oder 1 (= auffällig)											
<u>Neurologisch :</u> 1 (= hypoton) oder 2 (= hyperton) oder 3 (=irritabel)											
<u>Leber :</u> 0 (= nicht tastbar) oder 1 (= 1cm tastbar) oder 2 (= 2 cm tastbar)											

0 bitte eintragen, wenn Werte normal!

7 Literaturverzeichnis

1. Adis International Limited: Sepsis and Septic Shock: Early Recognition and Multipronged Approach to Management Paramount in Children. *Drug Ther Perspect* 2001; 17 (16): 8 – 13
2. Baumgartner J-D, Calandra T; Treatment of sepsis: past and future avenues. *Drugs* 1999; 57 (2): 127 – 132
3. Beck-Sague CM, Fonseca AP, et al: Bloodstream infections in neonatal intensive care unit patients: results of a multicenter study. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13: 1110 – 1116
4. Biberthaler P, Langer S: Comparison of the New OPS Imaging Technique with Intravital Microscopy: Analysis of the Colon Microcirculation. *Eur Surg Res* 2002; 34: 124-8.
5. Biberthaler P, Langer S, Luchting B, Khandoga A, and Messmer K. In Vivo Assessment of Colon Microcirculation: Comparison Of The New OPS imaging Technique With Intravital Microscopy. *Eur J Med Res* 2001; 6: 525-534.
6. Bollinger A, Butti P, Barras JP, Trachsler H, Siegenthaler W: Velocity of red blood cells in human nail fold capillaries measured by a television microscopy technique. *Vasa* 1974; 4 (2): 163 – 164
7. CapiScope: www.kktechnology.com/help/capiscope.html
8. Christ F, Bauer A, Brügger D: Different Optical Methods for Clinical Monitoring of the Microcirculation. *Eur Surg Res* 2002; 34: 145 – 151
9. Christ F, Gartside IB, Kox WJ, Gamble J: The assessment of the microcirculatory effects of dobutamine using mercury in silastic strain gauge plethysmography in man. *Postgrad Med J* 1991; 67: S42 – S50

10. Christ F, Genzel-Boroviczény O, Schaudig S, Niklas M, Schießler C, Strötgen J, Eifert S, Reichenspurner H, Harris AG, Messmer K: Monitoring of the Microcirculation in Cardiac Surgery and Neonates Using Orthogonal Polarization Spectral Imaging. *Prog Appl Microc. Basel, Karger* 2000; 24: 82 – 93
11. Christ F, Schaudig S, Schließler C, Harris AG, Reichenspurner H, Seifert S, Theil M, Messmer K: First visualisation of microvessels and rolling leukocytes during cardiac surgery in man using OPSimaging. *Anaesthesiology* 2000; 92: 632
12. Cohen J: The immunopathogenesis of sepsis. *Nature* 2002; 420 (19): 885 – 891
13. Cryer HM, Garrison RN, Kaebnick HW, Harris PD, Flint LM: Skeletal microcirculatory responses to hyperdynamic Escherichia coli sepsis in unanesthetized rats. *Arch Surg* 1987; 122: 86 – 92
14. De Backer D, Creteur J, Vincent L-J: Use of Orthogonal Polarization Spectral Imaging in Intensive Care. *Prog Appl Microc. Basel, Karger* 2000; 24: 104 – 109
15. De Backer D, Creteur J, Preiser J-C, Dubois M-J, Vincent L-J: Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 24 (166): 98 – 104
16. Deutsche Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie e. V.: Handbuch, Infektionen bei Kindern und Jugendlichen. Neonatale bakterielle Infektionen S 598 – 607. Futuramed Verlag, München 1995
17. Drazenovic R, Samsel RW, Wylam ME, Doerschuk CM, Schumacker PT: Regulation of perfused capillary density in canine intestinal mucosa during endotoxemia. *J Appl Physiol* 1992; 72: 259 – 265

18. Fagrell B: Advances in microcirculation network evaluation: an update. *Int J Microcirc Clin Exp* 1995; 15 (Suppl 1): 34 – 40
19. Fagrell B, Intaglietta M: Microcirculation: its significance in clinical and molecular medicine. *J Intern Med* 1997; 241: 349 – 362
20. Farquhar I, Martin CM, Lam C, Potter R, Ellis CG, Sibbald WJ: Decreased capillary density in vivo in bowel mucosa of rats with normotensive sepsis. *J Surg Res* 1996; 61: 190 – 196
21. Franz A, Steinbach G, Kron M, Pohlandt F: Reduction of Unnecessary Antibiotic Therapy in Newborn Infants Using Interleukin-8 and C-Reactive Protein as Markers of Bacterial Infections. *Pediatr* 1999; 104 (3): 447 – 453
22. Fischer D, Veldman A, Schlösser RL, Bauer K: Messung der intestinalen Mikrozirkulation im LPS-induzierten septischen Schock beim neugeborenen Schwein mittels Intravitalmikroskopie (OPS-Imaging). *Z Geburtshilfe Neonatol* 2004: 208
23. Genzel-Boroviczény O, Strötgen J, Harris AG, Messmer K, Christ F: Orthogonal Polarization Spectral Imaging (OPS): A Novel Method to Measure the Microcirculation in Term and Preterm Infants Transcutaneously. *Pediatr Res* 2002; 3: 386 – 391
24. Genzel-Boroviczény O, Christ F, Glas V: Blood transfusion increases Functional Capillary Density in the skin of anemic preterm infants. *Pediatr Res* 56: 751 – 755
25. Gladstone IM, Ehrenkranz RA, Edberg SC, Baltimore RS: A ten-year review of neonatal sepsis and comparison with the previous fifty-year experience. *Pediatr Infect Dis J* 1990; 9: 819 – 825
26. GNPI: Leitlinien: Bakterielle Infektionen bei Neugeborenen. *Perinatal-Medizin* 1997; 9: 85 – 86

27. Gonzalez G: Early markers of late-onset sepsis in premature neonates: clinical, haematological and cytokine profile. 2003 *J Perinat Med*; 31 (1): 60
28. Gorelick M, Shaw KN, Murphy KO, Baker D: Effect of fever on capillary refilling time. *Pediatr Emerg Care* 1997; 13 (5): 305 – 307
29. Gretz JE, Duling BR: Measurement uncertainties associated with the use of brightfield and fluorescent microscopy in the microcirculation. *Microvascular Research* 1995; 49: 134 – 140
30. Groeneveld AB, Hartemink KJ, de Groot MC, Visser J, Thijs LG: Circulating endothelin and nitrate-nitrite relate to hemodynamic and metabolic variables in human septic shock. *Shock* 1999; 11: 160 – 166
31. Groner W, Winkelmann JW, Harris AG, Ince C, Bouma GJ, Messmer K, Nadeau RG: Orthogonal polarization spectral imaging: A new method for study of the microcirculation. *Nat Med* 2000; 5 (10): 1209 – 1213
32. Harris AG, Hecht R, Peer F, Nolte D, Messmer K: An Improved Intravital Microscopy System. *Int J Microcirc Clin Exp* 1997; 17: 332 – 327
33. Harris AG, Sinitsina I, Messmer K: Quantitative Analysis of Orthogonal Polarization Spectral Images. Validation in the Hamster Dorsal Skinfold Chamber. *Prog Appl Microc. Basel Karger* 2000; 24: 21 – 31
34. Harris AG, Sinitsina I, Messmer K: The Cytoscan Modell E-II, a new reflectance microscope for intravital microscopy: comparison with standard fluorescence method. *J Vasc Res* 2000; 37: 469 – 476
35. Harris AG, Sinitsina I, Messmer K: Validation of OPS imaging for microvascular measurements during isovolumic hemodilution and low hematocrits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282: H1502 – H1509

36. Hayden WR: Sepsis terminology in pediatrics. *J Pediatr* 1994; 124: 657 – 658
37. Hotchkiss RS, Karl I: The Pathophysiology and Treatment of Sepsis. *N Engl J Med* 2003; 348; 2: 138 – 150
38. Issacs D, Barfield C, Clothier T, et al: Late-onset infections of infants in neonatal units. *J Pediatr Child Health* 1996; 32: 158 – 161
39. Ince C, Sinaasappel M: Microcirculatory oxygenation and shunting in sepsis and shock. *Crit Care Med* 1999; 27 (7): 1369 – 1377
40. Ince C: Microcirculation in distress: A new resuscitation endpoint? *Crit Care Med* 2004; 32 (9): 1963 – 1964
41. Johnson CL, Holbrook K: Development of Human Embryonic and Fetal Dermal Vasculature. *J Invest Dermatol* 1989; 93 (Suppl): 10S – 17S
42. Kalia YN, Nonato LB, Lund CH, Guy RH: Development of Skin Barrier Function in Premature Infants. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 320 – 326
43. Klyszcz T, Junger M, Jung F, Zeintl H: Cap Image – a newly developed computer-aided videoframe analysis system for dynamic capillaroscopy. *Biomed Technik* 1997; 42: 168 – 175
44. Lam CJ, Tyml K, Martin CM, Sibbald WJ: Microvascular perfusion is impaired in a rat model of normotensive sepsis. *J Clin Invest* 1994; 94: 2077 – 2083
45. Landry DW, Oliver JA: The pathogenesis of vasodilatory shock. *N Engl J Med* 2001; 345: 588 – 595
46. Langer S, Born F, Hatz R, Biberthaler P, Messmer K: Orthogonal Polarization Spectral Imaging versus Intravital Fluorescent Microscopy for Microvascular Studies in Wounds. *Ann Plast Surg* 2001; 48: 646-53

47. Langer S, Harris AG, Biberthaler P, von Dobschütz E, Messmer K: OPS Imaging as a tool for the assessment of hepatic microcirculation. *Transplantation* 2001; 71: 1249 – 1256
48. Langer S, von Dobschütz E, Harris AG, Krombach F, Messmer K: Validation of the Orthogonal Polarization Spectral Imaging Technique on Solid Organs. *Prog Appl Microcirc* 2000; 24: 32 – 46
49. Lindert J, Werner J, Redlin M, Kuppe H, Habazettl H, Pries AR: OPS imaging of Human Microcirculation: A Short Technical Report. *J Vasc Res* 2002; 39: 368 – 372
50. Lukacs SL, Schoendorf K, Schuchat A: Trends in Sepsis-Related Neonatal Mortality in the United States, 1985 – 1998. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23 (7): 599 – 603
51. Mathers NJ, Pohlandt F: Diagnostic audit of C-reactive Protein in neonatal infection. *Eur J Pediatr* 1987; 146: 147 – 151
52. Mathew NJ, Ross F, Bajaj J, Waheed SB, Kassas E, Jasty P, Goldfarb RD, Dellinger RP, Parrillo JE, Hollenberg SM, Guglielmi M: Orthogonal Polarization Spectral (OPS) imaging demonstrates microvascular impairment in a porcine model of sepsis. *Chest*
53. Mathura KR, Ince C: First Clinical Use of Orthogonal Polarization Spectral Imaging. *Prog Appl Microcirc* 2000; 24: 94 – 101
54. Menger MD, Laschke MW, Vollmar B: Viewing the Microcirculation through the Window: Some Twenty Years Experience with the Hamster Dorsal Skinfold Chamber. *Eur Surg Res* 2002; 34:83 – 91
55. Moro MI, DeToni A, Stolfi I, Carrieri MP, Braga M, Zunin C: Risk factors for nosocomial sepsis in newborn intensive and intermediate care units. *Eur Pediatr Res* 1996; 155: 315 – 322

56. Muckart DJJ, Bhagwanjee S: American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference definitions of the systemic inflammatory response syndrome and allied disorders to critically injured patients. *Crit Care Med* 1997; 25 (11): 1789 – 1795
57. Nolte D, Zintl H, Steinbauer M, Pickelmann S, Messmer K: Functional capillary density: an indicator of tissue perfusion? *Int J Microcirc* 1995; 23: 508 – 12
58. Norman M, Herin P, Fagrell B Zetterström R: Capillary blood cell velocity in full-term infants as determined in skin by videophotometric microscopy. *Pediatr Res* 1988; 23: 585 – 588
59. Perera P, Kurban AK, Ryan TJ: The Development of the Cutaneous Microvascular System in the Newborn. *Br J Derm* 1970; 82 (Suppl 5): 86 – 91
60. Piper RD, Pitt-Hyde M, Li F, Sibbald WJ, Potter RF: Microcirculatory changes in rat skeletal muscle in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 931 – 937
61. Polin RA, Fox WW: Fetal and neonatal physiology. Philadelphia. Saunders, 1998
62. Proulx F, Fayon M, Farrell CA, Lacroix J, Gauthier M (1996): Epidemiology of sepsis and multiple organ dysfunction syndrome in children. *Chest* 1996; 109 (4): 1033 – 1037
63. Reyes CS, Garcia-Muñoz F, Reyes D: Role of cytokines (interleukin-13, 6, 8, tumour necrosis factor-3 and soluble receptor of interleukin-2) and C-reactive protein in the diagnosis of neonatal sepsis. *Acta Paed* 2003; 92 (2): 221 – 227 (7)
64. Riedemann NC, Guo RF, Ward PA: Novel strategies for the treatment of sepsis. *Nat Med* 2003; 9: 517 – 524
65. Roos R, Proquitté H, Genzel-Boroviczény O: Neonatologie. Das Neo-ABC. Stuttgart, Thieme 2001

66. Ryan TJ: Development of the Cutaneous Circulation. In: Polin RA, Fox WW (eds) Pathophysiology of the Fetus and Neonate. WB Saunders, Philadelphia; 752 – 761
67. Saez – Llorens X, Mc Cracken GH: Sepsis syndrome and septic shock. J Pediatr 1993; 123: 497
68. Sakr Y, Dubios M-J, De Backer D, et al: Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock. Crit Care Med 2004; 32: 1825 – 1831
69. Schaudig S, Dadasch B, Kellam K, Christ F: Validation of an analysis software for OPS Imaging used in humans. Proceedings of the 7th World Congress for Microcirculation 2001; 2 – 59
70. Schaudig S, Schießler C, Harris AG, Reichensperner H, Messmer K, Christ F: Intravital microscopy in humans following circulatory arrest for surgery of the ascending aorta. J Vasc Res 2001; 38: 502
71. Schießler C, Schaudig S, Harris AG, Christ F: “Orthogonal polarization spectral imaging” Eine neu klinische Methode für das Monitoring der Mikrozirkulation. Anaesthesist 2002; 51: 576 – 579
72. Schöber JG: Beatmung von Neugeborenen und Kleinkindern. In: Steinbereithner K, Bergmann H (eds.); Intensivstation, -pflege, -therapie: Möglichkeiten. Stuttgart 1984, Thieme
73. Sinha A, Yokoe D, Platt R: Epidemiology of neonatal infections: experience during and after hospitalisation. Pediatr Infect Dis J 2003; 22: 244 – 250
74. Slaaf DW, Tangelder GJ, Reneman RS, Jäger K, Bollinger A: A versatile incident illuminator for intravital microscopy. Int J Microcirc 1987; 6: 391 – 397

75. Spronk PE, Ince C, Gardien MJ, Mathura KR, Oudemans-van Straaten HM, Zandstra DF: Nitroglycerin in Septic Shock After Intravascular Volume Resuscitation. *The Lancet* 2002; 360 (9343): 1395 – 1395
76. Starr SE: Antimicrobial therapy of bacterial sepsis in the newborn infant. *J Pediatr* 1985; 106: 1043
77. Stoll B, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, Lemons JA, Donovan EF, Stark AR, Tyson JE, Oh W, Bauer CR, Korones SB, Shankaran S, Laptook AR, Stevenson DK, Papile L-A, Poole WK: Late Onset Sepsis in Very Low Birth Weight Neonates: The Experience of the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatr* 2002; 110 (2): 285 – 291
78. Stoll BJ, Gordon T, Korones SB: Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: a report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *J Pediatr* 1996; 129: 63 – 71
79. Stopfkuchen H: Neonatal sepsis. In: Tibboel D, van der Voort E (eds.): *Intensive care in childhood. A challenge to the future*. Berlin, Heidelberg; Springer Verlag 1996; 219 – 228
80. Strozik KS, Pieper CH, Cools F: Capillary refilling time in newborns – optimal pressing time, sites of testing and normal values. *Acta Paediatr* 1998; 87: 310 – 312
81. ten Cate H, Schoenmakers SE, Franco R, Timmerman JJ, Groot AP, Spek CA, Reitsma PH: Microvascular coagulopathy and disseminated intravascular coagulation. *Crit Care Med* 2001; 29: S95 – 98
82. Thiel M, Zourelidis C, Peter K: Die Rolle der polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten in der Pathogenese des akuten Lungenversagens (ARDS). *Anaesthesist* 1996; 45: 113 – 130

83. Thomale UW, Schaser KD, Unterberg AW, Stover JF: Visualization of rat pial microcirculation using the novel OPSimaging after brain injury. *J of Neuroscience Methods* 2001; 108: 85 – 90
84. Uhl E, Lehmborg J, Steiger HJ, Messmer K: Intraoperative observation of human cerebral microcirculation. *Prog Appl Microcirc* 2000; 24: 72 – 81
85. Vicaut E, Stucker O, Teisseire B, Duvelleroy M: Effects of changes in systemic hematocrit on the microcirculation in rat cremaster muscle. *Int J Microcirc Clin Exp* 1987; 6: 225 – 235
86. Vicaut E, Hou X, Payen D, Bousseau A, Tedgui A: Acute effects of tumor necrosis factor on the microcirculation in rat cremaster muscle. *J Clin Invest* 1991; 87: 1537 – 1540
87. von Rosenstiel N, von Rosenstiel I, Adam D: Management of sepsis and septic shock in infants and children. *Paediatr Drugs* 2001; 3 (1): 9 – 27
88. Weil MH, Nakagawa Y, Tang W, Sato Y, Ercoli F, Finegan R, Grayman G, Bisera J: Sublingual capnometry: a new noninvasive measurement for diagnosis and quantitation of severity of circulatory shock. *Crit Care Med* 1999; 27: 1225 – 1229
89. Weinberg JR, Boyle P, Thomas K, Murphy K, Tooke JE, Guz A: Capillary blood cell velocity is reduced in fever without hypotension. *Int J Microcirc Clin Exp* 1991; 10: 13 – 19
90. World Health Organisation: International statistical classification of disease and health problems. 10th revision, WHO, Geneva, 1992
91. Wu PYK, Hong WH, Guerra G, Miranda R, Godoy RR, Preston B, Schoentgen S, Levan NE: Peripheral Blood Flow in the Neonate. 1. Changes in Total, Skin, and Muscle Blood Flow with Gestational and Postnatal Age. *Pediatr Res* 1980; 14: 1374 – 1378

92. Zeintl H, Tompkins WR, Messmer K, Intaglietta M: Analyse stehender und bewegter Videobilder in der klinischen Mikrozirkulationsforschung. Methoden der klinischen Kapillaroskopie. Karger Verlag, Basel, 1986; 1 – 10

8 Abkürzungen

AZ	Allgemeinzustand
BE	Base Excess
BGA	Blutgasanalyse
BZ	Blutzucker, Blutglucose
CI	Konfidenzintervall
CPAP	continous positive airway pressure
CRP	C-reaktives Protein
Diam	Kapillärer Gefäßdurchmesser
FCD	Funktionelle Kapillardichte
HF	Herzfrequenz
Hb	Hämoglobinwert
Hk	Hämatokritwert
IgG	Immunglobulin G
IL-1	Interleukin 1
IL-4	Interleukin 4
IL-6	Interleukin 6
IL-10	Interleukin 10
IVM	Intravitalmikroskopie
KG	Körpergewicht
LBW	low birth weight, Neugeborenes < 2000g
LT	Lebenstag
LPS-induziert	Lipopolysaccharid-induziert
MAD	mittlerer arterieller Blutdruck
n	Anzahl
NaCl	Natriumchlorid, Kochsalz
NegInf	laborchemisch nicht bestätigte Infektion
NO	Stickstoffmonooxid
OPS-Imaging	orthogonal polarization spectral imaging
pCO ₂	Arterieller Kohlendioxidpartialdruck
PEEP	positive endexpiratory pressure
pH	Blut-pH-Wert
PIP	positive inspiratory pressure
PosInf	laborchemisch bestätigte Infektion
RBC Vel	Erythrozytenfließgeschwindigkeit
Recap-Zeit	Rekapillarierungszeit
ROI	region of interest
RR syst	Systolischer Blutdruckwert
RR diast	Diastolischer Blutdruckwert
SER	Systemische Entzündungsreaktion
SIMV	synchronized intermittent mandatory ventilation
SIRS	systemic inflammatory response syndrome
SSW	Schwangerschaftswoche
TF	tissue factor
TNF- α	Tumor-Nekrose-Faktor- α
VLBW	very low birth weight, Neugeborenes < 1500 g

Leider lässt sich eine wahrhafte Dankbarkeit mit Worten nicht ausdrücken.
(Johann Wolfgang von Goethe)

Ich bedanke mich hiermit bei allen, die zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben. Sehr herzlich danke ich meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. Orsolya Genzel-Boroviczény für ihre ausgezeichnete Betreuung und die motivierende Unterstützung, ohne die diese Arbeit immer noch in einer Schublade läge. Für das Korrekturlesen der Doktorarbeit und die unermüdliche Unterstützung bei meinem Poster und den Vorträgen bedanke ich mich sehr herzlich bei Herrn Dr. Stephan Hiedl.

Darüber hinaus danke ich Herrn Dr. Andreas Bauer und Herrn PD Dr. Frank Christ für ihre Unterstützung und Hilfe bei unseren Computerproblemen und anderen technischen Belangen.

Den reibungslosen Ablauf der Messungen verdanke ich Herrn Dr. Lars Kellner und allen Ärzten und Schwestern der Neonatologischen Intensivstation im Klinikum Großhadern und natürlich meiner Kommilitonin Julia Kroth. Ein besonderer Dank gebührt den Eltern der Frühgeborenen und auch den Kindern ohne die unsere Arbeit nicht zustande gekommen wäre.

Zuletzt danke ich meinen Eltern und Korrekturlesern für die Zeit, die sie in meine Arbeit investiert haben.

10 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Kathrin Weidlich
Geburtsdaten 16. August 1979 in Memmingen

Schulbildung

1986 – 1990 Grundschule Erkheim
1990 – 1999 Bernhard-Strigel-Gymnasium Memmingen
06 / 1999 Abitur

Studium

1999 – 2006 Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München
08 / 2001 Physikum
08 / 2002 1. Staatsexamen
08 / 2004 2. Staatsexamen
04 / 2006 3. Staatsexamen
05 / 2006 Approbation als Ärztin

Famulaturen

03 / 2002 und 03 / 2004 Pädiatrie Kinderklinik Memmingen
08 / 2002 Allgemeinmedizin Praxis Dr. Weidlich, Erkheim
08 / 2003 Anaesthesie Klinik für Anaesthesiologie,
Allgemeines Krankenhaus Wien

Praktisches Jahr

1. Tertial Chirurgie Städtisches Klinikum München-Schwabing
2. Tertial Pädiatrie Dr. von Haunersches Kinderspital,
München
3. Tertial Innere Medizin Städtisches Klinikum München-Schwabing

Promotion

2003 – 2005 Klinisch-experimentelle Doktorarbeit in der Abteilung für Neonatologie des Klinikums Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität, München (Thema: Monitoring der Hautmikrozirkulation mittels OPS-Imaging zur frühzeitigen Infektionsdiagnostik bei Frühgeborenen; Doktormutter: Prof. Dr. Orsolya Genzel-Boroviczény)

Berufliche Tätigkeit

Seit 07/06 Assistenzärztin in der Klinik für Kardiologie und Pneumologie
Städtisches Klinikum München-Schwabing

Zusätzliche Qualifikationen

WS 02/03 Koassistenz im Anatomischen Präparierkurs der LMU
SS 2003

WS 04/05 Mitorganisation und Crashkurstutor des L-Kurs „Strukturierte
SS 2005 Anamnese und körperliche Untersuchung“, Mecum der LMU
WS 05/06

WS 05/06 EKG-Kurs, KH München-Schwabing

WS 05/06 Sonografie-Kurs, KH München-Schwabing

Abstracts und Kongressbeiträge

Weidlich K, Kroth J, Bauer A, Christ F, Hiedl S, Genzel-Boroviczény O: Mikrozirkulatorische Parameter als frühe Infektionsindikatoren bei Frühgeborenen.
Kubus-Vortrag Dr. von Haunersches Kinderspital München 12 / 2005

Weidlich K, Kroth J, Bauer A, Christ F, Genzel-Boroviczény O: Microcirculatory parameters as early Markers of Infection in preterm infants.
Pediatri Res 2005; 58 (2): 411; 46th Annual Meeting of the European Society for Pediatric Research, Siena 2005; Vortrag

Weidlich K, Kroth J, Bauer A, Christ F, Genzel-Boroviczény O: Mikrozirkulatorische Parameter als frühe Infektionsindikatoren bei Frühgeborenen.
Z Geburtsh Neonatol 2005; 209: V19; 31. Jahrestagung der Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin, Magdeburg 2005; Vortrag

Weidlich K, Kroth J, Bauer A, Christ F, Genzel-Boroviczény O: Microcirculatory Parameters as early Markers for Infection in preterms infants.
Pediatric Academic Society, Annual Meeting 2005, Washington DC; Abstract 662; Posterpräsentation

Kroth J, Weidlich K, Bauer A, Christ F, Genzel-Boroviczény O: Functional Capillary Density in the first month of life in preterms neonates.
Pediatri Res 2005; 58 (2): 412

Kroth J, Weidlich K, Bauer A, Christ F, Genzel-Boroviczény O: Verlauf der Funktionellen Kapillardichte im ersten Lebensmonat von Frühgeborenen.
Z Geburtsh Neonatol 2005; 209: V84