

**Aus der Universitätsklinik für Kinderheilkunde und Jugendmedizin  
Kinderheilkunde IV mit Poliklinik  
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. Ch. F. Poets**

**Interleukin-8-Konzentration  
in Plasma und in lysiertem Vollblut:  
Referenzwerte bei gesunden Neugeborenen und die  
Wertigkeit bei neonataler bakterieller Infektion**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard-Karls-Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von  
Felix Sebastian Daniel Neunhoffer  
aus Tübingen  
2005**

**Dekan:**

**Professor Dr. C. D. Claussen**

**1. Berichterstatter:**

**Professor Dr. C. F. Poets**

**2. Berichterstatter:**

**Professor Dr. G. Pawelec**

**Meinen Eltern  
zum Dank**

## Inhaltsverzeichnis:

Seitenzahl:

### Abkürzungen

#### 1. Einleitung

1.1	Die Bedeutung der neonatalen bakteriellen Infektion	1
1.2	Definition und Formen der neonatalen bakteriellen Infektion	1
1.3	Epidemiologie	3
1.4	Risikofaktoren und Pathogenese	4
1.5	Erregerspektrum der neonatalen Sepsis	6
1.6	Mögliche Spätfolgen einer neonatalen bakteriellen Infektion	7
1.7	Das Immunsystem des Neu- und Frühgeborenen	8
1.8	Pathophysiologie	9
1.9	Klinik der neonatalen bakteriellen Infektion	13
1.10	Diagnostik und ihre Probleme	14
1.11	Therapie	17
1.12	Interleukin-8	18
1.13	Fragestellung	21

#### 2. Patienten, Material und Methode

2.1	Patientenkollektiv	23
2.2	Gruppeneinteilung	23
2.3	Ausschlusskriterien	24
2.4	Definition der neonatalen bakteriellen Infektion	24
2.5	Versuchsdurchführung	25
2.6	Der klinische Befund	25
2.7	Interleukin-8 Immunoassaysystem IMMULITE®	26
2.7.1	Aufbereitung von Proben für die Bestimmung des Interleukin-8 in lysiertem Vollblut (Lysat)	27

2.7.2	Aufbereitung von Proben für die Bestimmung des Interleukin-8 in Plasma	27
2.8	Bestimmung des C-reaktiven Proteins	28
2.9	Bestimmung der Leukozyten	28
2.10	Bestimmung des I/T-Quotienten	28
2.11	Mikrobiologische Untersuchung	29
2.12	Statistische Auswertung	29
3.	<u>Ergebnisse</u>	
3.1	Merkmale der Patienten	32
3.1.1	Geschlecht	33
3.1.2	Gestationsalter	33
3.1.3	Geburtsgewicht	33
3.1.4	Geburtsmodus	34
3.1.5	APGAR-Score	34
3.1.6	Klinische Auffälligkeiten	35
3.2	Bakteriologische Ergebnisse bei Neugeborenen mit neonataler bakterieller Infektion	35
3.3	Antibiotikabehandlung	36
3.4	Pränatale Risikofaktoren	37
3.5	Kinetik der Infektionsparameter	39
3.5.1	Vergleich der Kinetik von Interleukin-8 in Lysat und Plasma in der Kontrollgruppe	39
3.5.2	Vergleich der Kinetik von Interleukin-8 in Lysat und Plasma in der NBI-Gruppe	41
3.5.3	Einfluss des Geschlechts auf Interleukin-8-Konzentrationen in Lysat und Plasma	43
3.5.4	Einfluss von Geburtsgewicht und Geburtsmodus Auf Interleukin-8-Werte in Lysat und Plasma in der Kontrollgruppe	45

3.5.5	Zusammenhang zwischen APGAR-Score und Interleukin-8-Werten in Lysat und Plasma bei Geburt	48
3.5.6	Einfluss mütterlicher Risikofaktoren auf Interleukin-8-Werte in Lysat und Plasma	50
3.5.7	Vergleich der Kinetik des CRP in der Kontroll- und NBI-Gruppe	52
3.5.8	Vergleich der Kinetik der Leukozytenzahl in der Kontroll- und NBI-Gruppe	54
3.5.9	Vergleich der Kinetik des I/T-Quotienten in der Kontroll- und NBI-Gruppe	56
3.6	Sensitivität, Spezifität und prädiktive Werte	59
3.6.1	ROC-Kurven zum Zeitpunkt des ersten Verdachts auf eine NBI	59
3.6.2	Sensitivität der Entzündungsparameter	61
3.6.3	Spezifität der Entzündungsparameter	63
3.6.4	Positiv prädiktiver Wert der Entzündungsparameter	64
3.6.5	Negativ prädiktiver Wert der Entzündungsparameter	65
4	<b><u>Diskussion</u></b>	
4.1	Ziel der Studie	67
4.2	Anforderungen an Infektionsparameter	68
4.3	Patientenkollektiv	68
4.4	Die Infektionsparameter im Vergleich bei einer neonatalen bakteriellen Infektion	73
4.4.1	Bakteriologische Ergebnisse aus Blutkultur und Abstrichen	73
4.4.2	Leukozytenzahl	74
4.4.3	I/T-Quotient	74
4.4.4	CRP	75
4.4.5	Interleukin-8 in Plasma	77
4.4.6	Interleukin-8 in lysiertem Vollblut	83
4.5	Einfluss des Geschlechts auf Interleukin-8 Werte	85

4.6	Einfluss des Geburtsgewichts auf Interleukin-8 Werte	85
4.7	Einfluss des APGAR-Scores auf Interleukin-8 Werte	85
4.8	Einfluss mütterlicher Risikofaktoren auf Interleukin-8 Werte	86
4.9	Einfluss des Geburtsmodus auf Interleukin-8 Werte – „Gedächtnis“ bei Messungen aus Lysat und aus Plasma	87
4.10	Interleukin-8 in Kombination mit anderen Infektionsparametern	88
4.11	Reduzierung unnötiger Antibiotikatherapie	89
4.12	Einschränkungen bei der Interleukin-8 Bestimmung	90
4.13	Bestimmung von Interleukin-8 mittels des Immunoassaysystems IMMULITE® und präanalytisches Handling	91
4.14	Schlussfolgerung	93
5	<u>Zusammenfassung</u>	95
6	<u>Anhang</u>	97
7	<u>Literaturverzeichnis</u>	
	<u>Danksagung</u>	
	<u>Lebenslauf</u>	

## Abkürzungen:

In der vorliegenden Arbeit wurden die folgenden Abkürzungen verwendet:

<b>Abb</b>	<b>Abbildung</b>
<b>AIS</b>	<b>Amnioninfektionssyndrom</b>
<b>BPD</b>	<b>Bronchopulmonale Dysplasie</b>
<b>CRP</b>	<b>C-reaktives Protein</b>
<b>CTG</b>	<b>Kardiotokogramm</b>
<b>d</b>	<b>Tag/-e</b>
<b>EDTA</b>	<b>Ethylendiamintetraessigsäure</b>
<b>G</b>	<b>Gramm</b>
<b>Ig</b>	<b>Immunglobulin</b>
<b>IL</b>	<b>Interleukin</b>
<b>Kap</b>	<b>Kapitel</b>
<b>LBP</b>	<b>Lipopolysaccharid-bindendes-Protein</b>
<b>LPS</b>	<b>Lipopolysaccharid</b>
<b>MAX</b>	<b>Maximum</b>
<b>MIN</b>	<b>Minimum</b>
<b>MTA</b>	<b>Medizinisch technische Assistentin</b>
<b>NBI</b>	<b>Neonatale bakterielle Infektion</b>
<b>PVL</b>	<b>Periventrikuläre Leukomalazie</b>
<b>SD</b>	<b>Standardabweichung</b>
<b>SIRS</b>	<b>systemic inflammatory response syndrome</b>
<b>Tab</b>	<b>Tabelle</b>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	<b>Tumornekrosefaktor-alpha</b>
<b>VBS</b>	<b>Vorzeitiger Blasensprung</b>
<b>VE</b>	<b>Vakuumentraktion</b>
<b>VK</b>	<b>Variationskoeffizient</b>
<b>ZNS</b>	<b>Zentrales Nervensystem</b>

## **1. Einleitung**

### **1.1 Die Bedeutung der neonatalen bakterielle Infektion**

Die extreme Form der neonatalen bakteriellen Infektion (NBI), die Sepsis, ist die häufigste Ursache der neonatalen Morbidität und Mortalität und gehört damit weltweit zu den häufigsten Erkrankungen der Neugeborenenperiode (11/151/152). Die Infektion/Sepsis stellt neben der peripartalen Hypoxie nach wie vor eines der Hauptprobleme in der Neonatologie dar. In Deutschland kommen zirka 770 000 Kinder pro Jahr zur Welt (143), davon sind etwa 1000-8000 von einer neonatalen Sepsis betroffen (143). Aufgrund des Fehlens spezifischer klinischer Symptome gestaltet sich die frühzeitige Diagnosestellung und damit auch eine rasch einsetzende verlaufsentscheidende Therapie oft schwierig (47).

### **1.2 Definition und Formen der neonatalen bakteriellen Infektion**

Unter der neonatalen bakteriellen Infektion, im Extremfall der neonatalen Sepsis, wird eine disseminierte mikrobielle Erkrankung verstanden, welche durch die klinischen Symptome einer systemischen Infektion und die Septikämie charakterisiert ist. Unter einer Septikämie wird der kulturelle Nachweis pathogener Erreger in der Blutkultur und/oder der Liquorkultur verstanden. Da ein Erregernachweis in der Blutkultur häufig nicht gelingt (z.B. durch zunehmende präpartale Antibiotikatherapie der Schwangeren) wird alternativ zum Begriff der Sepsis von einer bakteriellen Infektion mit systemischer Reaktion (SIRS = systemic inflammatory response syndrome) bei entsprechendem klinischen Bild mit positiven Entzündungszeichen gesprochen (51).

Die neonatale Sepsis manifestiert sich in zwei Verlaufsformen: der früh einsetzenden Form (early-onset sepsis) und der späteinsetzenden Form (late-

onset sepsis). Diese Studie beschäftigt sich ausschließlich mit der early-onset Sepsis.

Die **früh einsetzende Form (early-onset sepsis)** zeichnet sich durch einen Krankheitsbeginn innerhalb der ersten 72 Lebensstunden aus (42/107/146), geht also auf eine prä- oder intrapartale Infektion zurück. Der Verlauf ist oftmals foudroyant, häufig fortschreitend bis zur Sepsis und zum septischen Schock mit folgendem Multiorganversagen. Bei protrahiertem Verlauf vor Therapiebeginn besteht ein hohes Risiko für die Ausbildung einer Meningitis. Das typische Erregerspektrum entstammt meist der pathogenen mütterlichen Vaginalflora. Die Sterblichkeit beträgt abhängig vom Diagnosezeitpunkt 5-75% (143).

Die **spät einsetzende Form (late-onset sepsis)** tritt in der Regel nach 72 Lebensstunden auf und ist postnataler bzw. nosokomialer Genese. Der klinische Verlauf kann foudroyant oder langsam fortschreitend sein. Die Erreger stammen meistens aus dem postnatalen Umfeld. Die Sterblichkeit beträgt 10-20%. (vgl. Abb.1)

	<u>Frühe</u> <u>Verlaufsform:</u>	<u>Späte</u> <u>Verlaufsform:</u>
Erkrankungsbeginn	≤ 72 Stunden	72 Stunden
Durchschnittliches Erkrankungsalter	20 Stunden	18 Tage
Schwangerschafts- Komplikationen	+	±
Herkunft der Erreger	mütterlicher Genitaltrakt	mütterlicher Genitaltrakt, postnatales Umfeld
Klinische Verlaufsform	foudroyant	foudroyant oder langsam fortschreitend
Häufige Komplikation	Pneumonie/Meningitis	Meningitis
Sterblichkeit	15-50%	10-20%

Abb. 1: Verlaufsformen der neonatalen Sepsis (26/28/38/70/107/119/143/146)

### 1.3 Epidemiologie

Die Inzidenz der früh einsetzenden Form (early-onset sepsis) der neonatalen bakteriellen Infektion bewegt sich zwischen 1-10 auf 1000 Lebendgeborene (47/70/143). Die Mortalitätsrate bewegt sich je nach Literaturquelle zwischen 5-75% und hängt vom Gestationsalter, dem Geburtsgewicht und dem Zeitpunkt

des Therapiebeginns ab (69/135). Die Infektionsrate bei Frühgeborenen ist im Vergleich zu reifen Neugeborenen überproportional hoch (128). Bis zu 25% der Kinder entwickeln durch eine zu spät diagnostizierte Sepsis eine eitrige Meningitis. Bis zu 25% der Patienten auf neonatologischen Intensivstationen erkranken an einer nachgewiesenen Sepsis (70). Die Häufigkeit schwerer neonataler Erkrankungen und Todesfälle durch Infektionen hat in den letzten Jahren nicht ab-, sondern zugenommen, da extrem kleine Frühgeborene und andere Neugeborene mit hohem Risiko durch intensivmedizinische Maßnahmen überleben (151).

#### **1.4 Risikofaktoren und Pathogenese**

Da bei einer early-onset Infektion zwischen Geburt und ersten klinischen Symptomen nur wenige Stunden liegen, ist es wahrscheinlich, dass die Infektion schon intrauterin erworben wurde. Zu einer intrauterinen Infektion kann es retrograd über die Tuben, iatrogen (z.B. durch Amniozentese ) oder durch hämatogene Streuung über die Plazenta kommen. Am häufigsten sind vaginal ascendierende Infektionen (6/51/126). Zu den geburtshilflichen Risikofaktoren einer neonatalen Infektion zählen:

- **Vorzeitiger Blasensprung (VBS)** (Blasensprung  $\geq$  12 Stunden vor Geburt): 30% aller vorzeitigen Blasensprünge werden durch eine intrauterine Infektion ausgelöst (127). Die neonatale Infektion hat bei vorzeitigem Blasensprung eine Inzidenz von 7% (50). Durch einen vorzeitigen Blasensprung können zusätzlich vaginale Erreger ascendieren. In 50% der Fälle ist eine bakterielle Besiedelung des Fruchtwassers nach vorzeitigem Blasensprung gegeben (23/101). Je länger der zeitliche Abstand zwischen Blasensprung und Geburt ist, desto größer wird für Mutter und Kind das Risiko einer Infektion (63/80/108/160).

- **Amnioninfektionssyndrom (AIS)** (Zusammenfassung aller Symptome bei Infektion der Fruchthöhle): Es wird ein synergistischer Effekt von VBS und AIS auf die neonatale Infektion beschrieben (149). Durch den VBS können leichter Erreger durch den Geburtskanal aszendieren und zu einem AIS führen (160).
- **Fieber unter der Geburt** ( $\geq 38,0^{\circ}\text{C}$ ): Intrapartales Fieber, meist ausgelöst durch eine systemische Entzündungsreaktion ist ein wichtiger Vorhersagewert für neonatale Morbidität und infektbezogene Mortalität (115).
- **Bakteriämie der Mutter:** Im Rahmen einer mütterlichen Bakteriämie können pathogene Erreger hämatogen streuen und in utero das Neugeborene infizieren (127).
- **Frühgeburtlichkeit:** Eine bakterielle Infektion der Amnionhöhle ist die führende Ursache vorzeitiger Wehentätigkeit, mit den Folgen eines vorzeitigen Blasensprungs (VBS) und Frühgeburtlichkeit (51/63/128/149). Sie wird für 20% aller Frühgeburten verantwortlich gemacht (126).
- **Besiedelung des Vaginaltrakts mit pathogenen Erregern:** Bis zu 30% der westeuropäischen Schwangeren sind vaginal oder rektal mit  $\beta$ -hämolisierenden Streptokokken der Gruppe B und bis zu 50% mit pathogenen Escherichia coli besiedelt. Nach einer vaginalen Geburt, durch Kontamination während der Passage durch den Geburtskanal, lassen sich bei bis zu 70% der Neugeborenen auf Haut und Schleimhäuten diese pathogenen Erreger nachweisen. Nach lokalem Bakterienkontakt erfolgt schnell eine generalisierte Besiedlung des Neugeborenen über verschiedene Eintrittspforten, u.a. Nasen-Rachen-Raum, Ohr, Nabel und Anus. Man kann davon ausgehen, dass 1% aller Neugeborenen, die mit  $\beta$ -hämolisierenden Streptokokken der Gruppe B besiedelt sind, an einer Sepsis erkranken (11).
- **Tachykardes CTG** ( $> 160/\text{min}$ ): Häufig werden bei Neugeborenen mit in utero erworbenener Infektion im peripartal aufgezeichneten CTG fetale Tachykardien beobachtet (164).

- Vorzeitiger Blasensprung (VBS)
- Amnioninfektionssyndrom (AIS)
- Fieber, Bakteriämie der Mutter
- Frühgeburtlichkeit
- Besiedelung des Vaginaltrakts mit pathogenen Erregern
- (B-Streptokokken)

*Abb.2: Hauptrisikofaktoren der early-onset sepsis*

### **1.5 Erregerspektrum der neonatalen Sepsis**

Die neonatale Sepsis manifestiert sich in zwei Verlaufsformen, dementsprechend unterscheidet sich das Erregerspektrum:

- Früheinsetzende Form (early-onset sepsis): Das typische Erregerspektrum entstammt meist der mütterlichen Vaginalflora, bestehend hauptsächlich aus Streptokokken der Gruppe B (30-50%) (10/65), *Escherichia coli* (13-16%), *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* und Enterokokken (65/107/151).
- Späteinsetzende Form (late-onset sepsis): Die Erreger stammen meistens aus dem postnatalen Umfeld und bestehen aus *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella-Enterobacter-Spezies*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus-Spezies* und *Candida albicans* (65). Eine Kontrolle der Erregerbesiedelung und eine Überwachung der klinikspezifischen Resistenzsituation ist deswegen hilfreich.

In der Vorantibiotika-Ära überwiegen Streptokokken der Gruppe A, und in den 50-er und 60-er Jahren *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* (65).

Frühe Verlaufsform:	Späte Verlaufsform:
Streptokokken der Gruppe B	Escherichia coli
Escherichia coli	Staphylococcus epidermidis
Staphylococcus aureus	Klebsiella-Enterobacter-Spezies
Listeria monocytogenes	Pseudomonas aeruginosa
Enterokokken u.a.	Proteus-Spezies
	Candida albicans u.a.

*Abb.3: Wesentliche Erreger der früh- und späteinsetzenden Form der neonatalen Infektion*

## **1.6 Mögliche Spätfolgen einer neonatalen bakteriellen Infektion**

Neben der akuten Problematik einer Infektion gibt es eine unbekannte Zahl von an den Spätfolgen einer peripartal erworbenen Infektion leidenden Kindern. Es wird auf einen Zusammenhang zwischen perinatalen Infektionen und dem späteren Auftreten einer Zerebralparese bei Frühgeborenen hingewiesen. Diese wird durch proinflammatorische Zytokine: Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- $\alpha$ ), Interleukin-1-beta (IL-1 $\beta$ ), Interleukin-6 (IL-6) und Interleukin-8 (IL-8) (83) ausgelöst, die eine Entzündungsreaktion hervorrufen aber auch direkte neurotoxische Wirkung besitzen (32/97/111). Dabei ist nicht eine lokale Entzündung im Gehirn sondern eine allgemeine Entzündungsreaktion des Organismus mit Aktivierung des Komplementsystems, Vermehrung von Zytokinen und Freiwerden von Sauerstoffradikalen ursächlich (170). Oft kommt es zu Folgekomplikationen, wie Hirnblutungen (167). Die einsetzende Entzündungsreaktion mit einem Anstieg von Zytokinen, TNF- $\alpha$  und Plättchenaktivierendem Faktor führt, wie auch bei der nekrotisierenden Enterokolitis diskutiert, zu Mikroembolien mit nachfolgend hypoxisch-ischämischen Hirnläsionen (145). Die prä- und perinatale Exposition gegenüber TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 und IL-8 stellt ein Risiko für die Entwicklung einer

bronchopulmonalen Dysplasie (BPD) dar (18/48/58/102/165). Die erhöhten proinflammatorischen Zytokine TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und IL-6 spielen eine Schlüsselrolle in der Genese der periventrikulären Leukomalazie (PVL). 7-26% aller Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht unter 1500 Gramm sind davon betroffen (51).

## **1.7 Das Immunsystem des Neu- und Frühgeborenen**

Neu- und Frühgeborenen weisen ein noch unreifes Immunsystem auf. Durch diese verminderte immunologische Kompetenz wird das Auftreten neonataler Infektionen begünstigt (119/130). Die gesteigerte Empfindlichkeit des Neugeborenen, speziell des Frühgeborenen für Infektionen liegt in einer verzögerten Reifung der spezifischen humoralen und zellulären Immunantwort der neonatalen B- und T- Zellen, einer nicht effektiven Aktivierung des Komplementsystems und eines Defizits des myeloopoetischen Systems (70/168). Besonders das Immunsystem von Frühgeborenen weist wesentliche Besonderheiten auf. Zugunsten von inhibitorischen, TH2-wirksamen Zytokinen wird die Produktion und Sezernierung von einigen proinflammatorischen, TH1-wirksamen Zytokinen unterdrückt.

Eine effektive Abwehr gegen bakterielle Infektionen ist nur in Gegenwart eines funktionierenden phagozytären Systems möglich. Kommt es zu einer Herabsetzung der Aktivität der neutrophilen Granulozyten entweder durch verminderte Anzahl oder durch gestörte Funktionen, so ist in diesen Fällen die Häufigkeit und der Schweregrad von Infektionen deutlich erhöht. Obwohl das Abwehrsystem der neutrophilen Granulozyten bei der Geburt schon vorhanden ist, ist deren Funktion zu diesem Zeitpunkt unreif und nicht optimal (136). Diese Funktionsstörungen beruht auf einer verzögerten Adhärenz, Chemotaxis, geringer Verformbarkeit und eingeschränkter Phagozytoseaktivität der neutrophilen Granulozyten (95). Neugeborene haben im Vergleich zum Erwachsenen auch deutlich eingeschränkte Knochenmarksreserven für neutrophile Granulozyten.

Eine lokal umschriebene Entzündung kann zum Ausgangspunkt einer Sepsis werden. Ein Mangel an spezifischen IgG-Antikörpern führt zur Beeinträchtigung der opsoninabhängigen Phagozytose. Da die im kindlichen Blut zirkulierenden IgG-Antikörper ausschließlich mütterlichen Ursprungs sind und der Mutter spezifische Antikörper gegen Erreger konnataler und neonataler Infektionen fehlen können, weist selbst das reife Neugeborene ein spezifisches Antikörpermangelsyndrom auf. Man spricht von einer Nestschutz-Reduktion. Bei Frühgeborenen ist dieses Antikörpermangelsyndrom sehr ausgeprägt, da der maternofetale Transport von IgG-Antikörper erst nach der 22. SSW einsetzt und seinen Höhepunkt in der 30.-40. SSW erreicht.

Einen weiteren Faktor stellt die geringe Barrierewirkung der Haut und Schleimhäute gegenüber der Umwelt dar. Da Immunglobulin A (IgA) erst postpartal gebildet wird, können pathogene Erreger schneller penetrieren.

Einige Früh- und Neugeborene zeigen zusätzlich eine verminderte Aktivität der klassischen und alternativen Komplement-Kaskade.

- Serum-Immunglobulinkonzentration bei Frühgeborenen ↓
- Konzentration spezifischer Antikörper ↓
- Opsoninabhängige Phagozytose ↓
- Knochenmarksreserven von Granulozyten ↓
- Granulozytenfunktion: Adhärenz/Chemotaxis ↓
- Makrophagenaktivierung durch Gamma-Interferon ↓

*Abb.4: Partielle Immundefizienzen Neu- und Frühgeborener*

## **1.8 Pathophysiologie**

Nahezu alle humanpathogenen Erreger können eine Sepsis hervorrufen. Die pathogene Wirkung grampositiver Bakterien, wie Staphylokokken (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*), Streptokokken (*Streptococcus pneumoniae*) und Enterokokken beruht auf der Bildung von Exotoxinen (z. B. Enterotoxin B, Shiga-Toxin, Streptolysin O), die als Membranporenbildner wirken. Dabei werden zelluläre Inhaltsstoffe (TNF- $\alpha$ , IL-1,

Elastase) freigesetzt und in letzter Konsequenz tritt der Tod der befallenen Zelle durch Apoptose oder Nekrose ein.

Gramnegative Bakterien, wie Escherichien (*Escherichia coli*), Pseudomonaden (*Pseudomonas aeruginosa*), Klebsiellen (*Klebsiella pneumoniae*), Proteus (*Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*), Enterobakter (*Enterobacter cloacae*); Salmonellen oder Serratien (*Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens*) bilden bei der Bakteriolyse Lipopolysaccharide (LPS) und setzen Endotoxine frei, welche die Bildung und Ausschüttung von Immunmediatoren wie der proinflammatorischen Zytokine bewirken. Zur Koordination und Regulation der komplexen Immunantwort müssen beteiligte Zellen gut aufeinander abgestimmt sein. Als Kommunikationsmittel dienen Zytokine oder andere lösliche Faktoren. Im Ruhezustand sind systemisch nur geringe Mengen an proinflammatorischen Zytokinen messbar. Wird jedoch im Rahmen einer Entzündungsantwort das Immunsystem aktiviert, werden verstärkt Zytokine gebildet, die systemisch oder lokal am Entzündungsherd messbar sind.

Inflammatorische Zytokine spielen als Mediatoren eine zentrale Rolle bei der Entstehung der intrauterinen und neonatalen Infektionsantwort (41/99).

Durch Stimulation des Monozyten-Makrophagensystems durch die Endotoxine gramnegativer Bakterien wird die Produktion der inflammatorischen Zytokine angeregt. Es werden zuerst für wenige Stunden TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$  sezerniert, im weiteren IL-6 und IL-8 (89/98)(Abb.5). Auch Exotoxine (z.B. von Streptokokken) stimulieren die Produktion inflammatorischer Zytokine (vgl. Abb.6) (89/101).

IL-6 ist der Hauptmediator der Akut-Phase-Reaktion und induziert die CRP-Synthese in der Leber. IL-8 ist in seinem Stellenwert als Entzündungsmarker mit IL-6 vergleichbar (10/18). IL-8 stimuliert die neutrophilen Granulozyten zur Chemotaxis und zur Degranulation (Elastase) (vgl. Abb 6).

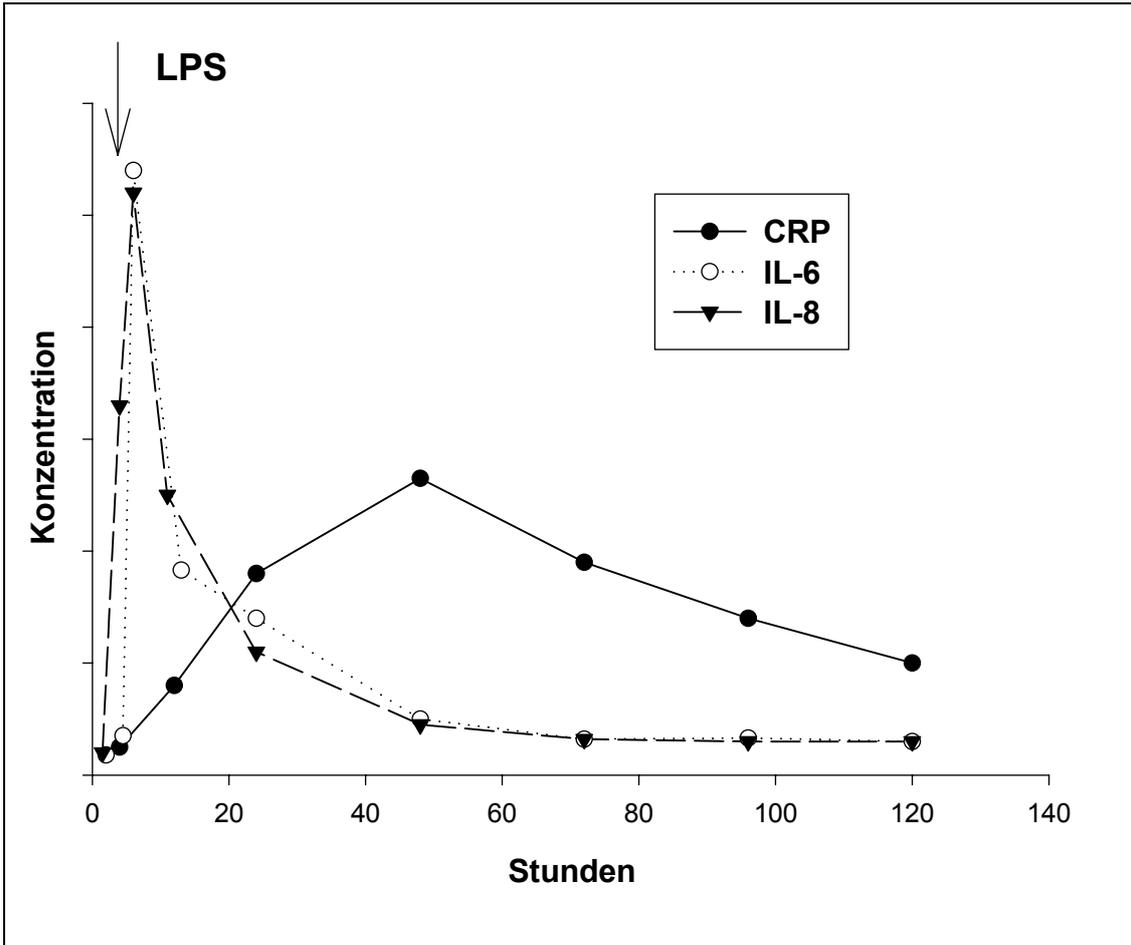


Abb.5: Zeitlicher Verlauf der Bildung von IL-6/IL-8 und CRP einer experimentell erzeugten Sepsis (89)

Untersuchungen im Serum Neugeborener zeigten die Fähigkeit der neonatalen mononukleären Zellen, Zytokine in hohen Konzentrationen zu produzieren und freizusetzen, die in den pathogenen Ablauf einer Sepsis involviert sind. Stark erhöhte Plasmakonzentrationen von IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8 und G-CSF konnten bei Neugeborenen mit Sepsis nachgewiesen werden (10).

Die ausgeschütteten Zytokine setzen synergetisch durch Aktivierung der Phospholipase A<sub>2</sub> die Prostaglandinsynthese in Dezidua, Amnion und Endometrium in Gang. Lipopolysaccharide können direkt oder indirekt im Rahmen der Immunreaktion die intrauterine Prostaglandinsynthese stimulieren. Die Prostaglandine bewirken verstärkte myometriale Aktivität mit den Folgen einer einsetzenden Wehentätigkeit, vorzeitigem Blasensprung und schließlich Frühgeburtlichkeit.

Es konnte nachgewiesen werden, dass man zwei unterschiedliche immunologische Phasen der Sepsis unterscheiden kann (97): eine Phase der überschießenden Immunreaktion (Hyperinflammation) mit sehr hohen inflammatorischen Zytokinspiegeln (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ ), sowie eine Phase der Immunsuppression (Immunparalyse), die sich insbesondere darin äußert, dass die Monozyten eine verminderte Expression von HLA-DR und eine verminderte Bildung von TNF- $\alpha$  auf einen LPS-Stimulus hin aufweisen (vgl. Abb.7).

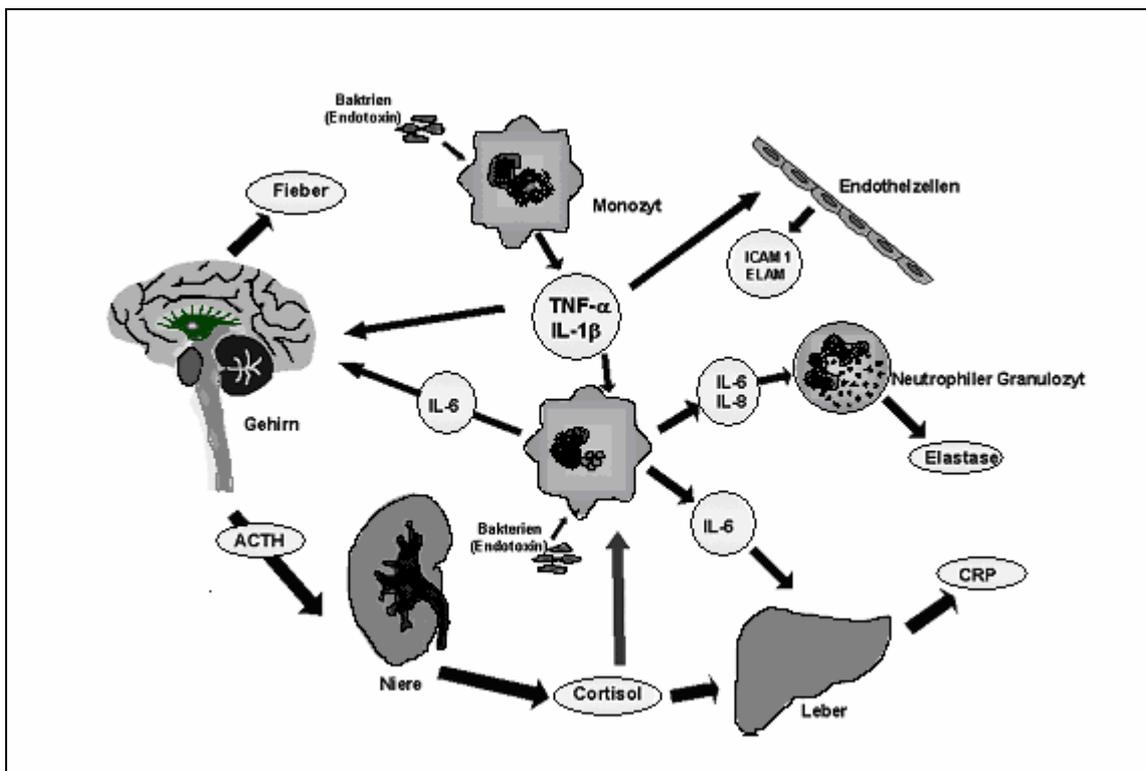


Abb.6: Ablauf einer systemischen Entzündungsreaktion (SIRS)

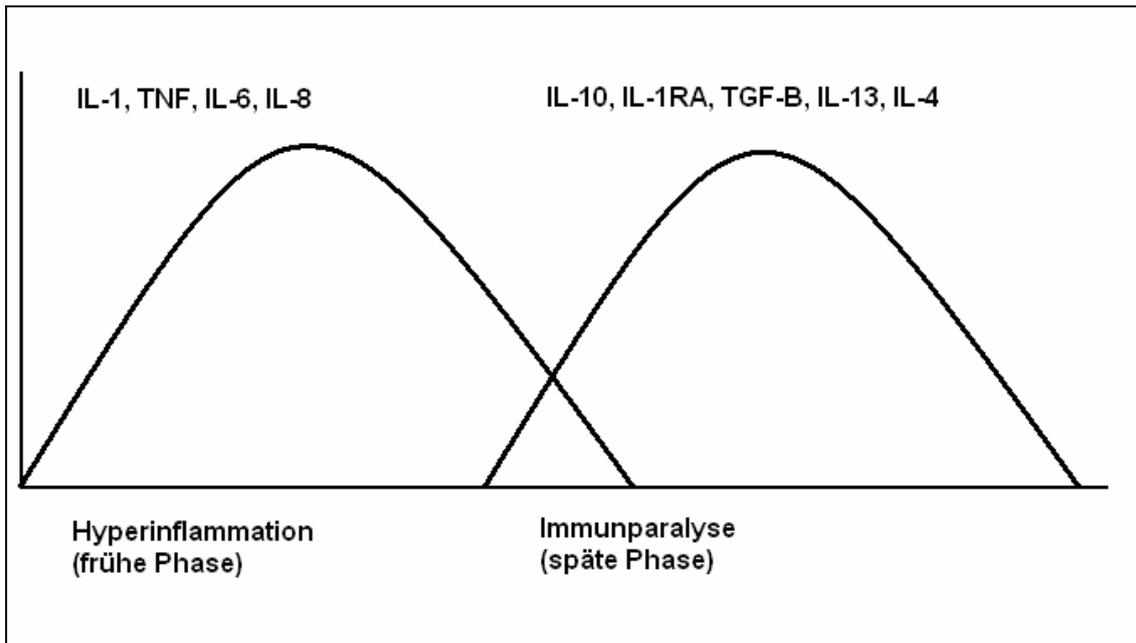


Abb.7:Zweiphasenmodell der Sepsis (30)

### 1.9 Klinik der neonatalen bakteriellen Infektion

Die klinische Manifestation einer neonatalen bakteriellen Infektion ist uncharakteristisch, variabel und im Frühstadium meist nur gering ausgeprägt. Zu Beginn zeigt sich eine unspezifische Symptomatik entsprechend einer systemischen Entzündungsreaktion. Bleiben diskrete klinische Zeichen unerkannt, kann sich innerhalb kurzer Zeit eine neonatale bakterielle Infektion bis hin zum Vollbild eines septischen Schocks entwickeln. Einer der ersten Hinweise auf eine neonatale Infektion ist das „schlechte Aussehen“ oder eine Trinkschwäche des Neugeborenen. Neben Störungen der Temperaturregulierung wie Hypothermie ( $\leq 36,5^{\circ}\text{C}$ ), selten Hyperthermie bzw. Fieber ( $\geq 37,8^{\circ}\text{C}$ ) und Temperaturinstabilität ( $\geq 1,5^{\circ}\text{C}$ ) treten Störungen der Atmungsfunktion wie Tachypnoe ( $> 60/\text{min}$ ), Dyspnoe, „Nasenflügeln“, „stöhnende Atmung“, Einziehungen, Apnoe und eine respiratorische Verschlechterung auf. Es kann auch zu Tachykardien ( $> 160/\text{min}$ ) kommen. Neben Veränderungen des Hautkolorits durch Mikrozirkulationsstörungen im Rahmen der Bakteriämie wie eine schlechte Rekapillarisierungszeit (kapilläres Refill  $> 2$  Sekunden.), blass-graue Haut, Marmorierung und kalte Extremitäten

sind Trinkschwäche, Nahrungsrückstau, Gewichtsstillstand, Erbrechen, aufgetriebenes Abdomen bis hin zur Diarrhöe zu beobachten. Dazu können Hyperexzitabilität, Hypotonie, Apathie, Hepatosplenomegalie und zerebrale Krampfanfälle kommen. Letztendlich kommt es zu verstärkter Blutungsneigung, Petechien, Hypotension und zum septischen Schock mit Multiorganversagen.

Temperaturinstabilität:	Hyper-, Hypothermie
Atemstörungen:	Tachypnoe, Dyspnoe, Apnoe
Gastrointestinale Symptome:	Trinkschwäche, Erbrechen, abdominelle Distension
Zirkulatorische Insuffizienz:	Periphere Mikrozirkulationsstörungen, Blässe, grau-marmoriertes Hautkolorit, septischer Schock, Multiorganversagen
Neurologische Störungen:	Hyperexzitabilität, Lethargie, Krampfanfälle

*Abb.8: Wesentliche Symptome der neonatalen Infektion*

### **1.10 Diagnostik und ihre Probleme**

Der Verlauf der neonatalen Infektion wird entscheidend von der frühen Diagnostik und Behandlungsbeginn beeinflusst. Neugeboreneninfektionen sind oft schwer zu erkennen, da selbst im Frühstadium der Sepsis bei vielen Patienten typische klinische Erscheinungsbilder fehlen (17). Wegen dieser Diagnoseproblematik erfolgt eine Therapie häufig erst sehr spät (38). Bei klinischen Warnzeichen muss solange der Verdacht auf eine Sepsis aufrechterhalten werden, bis eine Infektion ausgeschlossen ist oder eine andere Ursache für den schlechten Zustand des Kindes gefunden wurde. Neben den geburtshilflichen Risikofaktoren spielt das klinische Bild des Neugeborenen eine wichtige Rolle. Es gibt bislang keine pränatal verfügbaren mütterlichen Parameter, die hinsichtlich Spezifität und Sensitivität befriedigende Ergebnisse für die Vorhersage einer neonatalen bakteriellen Infektion liefern (17/75/82). Postnatal gelingt bei Neugeborenen nur selten in Blutkulturen, Liquorkulturen

oder im Urin ein direkter Erregernachweis. Es wird versucht in Abstrichen von Haut, Schleimhaut, Gehörgang und Nasenrachenraum pathogene Keime nachzuweisen. Oft gelingt trotz dringenden Verdachts der Erregernachweis nicht (negative Blutkultur). Letztendlich jedoch beweisend für eine Sepsis ist nur der Erregernachweis in Blut oder Liquor. Bedingt durch die lange Dauer von bis zu 72 Stunden des bakteriellen Nachweises durch positive Blutkulturen kommt dieses Verfahren zur Frühdiagnose nicht in Frage (113/153), es muss also auf indirekte Nachweisverfahren zurückgegriffen werden:

Zur Früherkennung einer neonatalen Infektion werden verschiedene Entzündungsparameter eingesetzt. Dazu gehören **zelluläre Parameter**, wie die Gesamtzahl der Thrombozyten, Leukozyten, neutrophilen Granulozyten und unreifen Granulozyten. Daraus lässt sich der I/T-Quotient berechnen (Immature/Total neutrophils = Gesamtzahl aller unreifen Granulozyten/Gesamtzahl aller Granulozyten).

Zu den **humoralen Parametern** gehört das C-reaktive Protein (CRP). Erhöhte Konzentrationen des CRP können auf eine Entzündung hinweisen. Es steigt jedoch erst 12-48 Stunden nach dem Auftreten klinischer Zeichen an und eignet sich daher eher zur Verlaufs- und Therapiekontrolle von Infektionen als zur Frühdiagnose (8/10/92). In den letzten Jahren wurden verschiedene neue Infektionsparameter untersucht wie TNF- $\alpha$  (7/8), IL-6 (7/9/14/16), IL-1 $\beta$  (106), IL-8 (8/82), Procalcitonin (PCT) (1/46) und die Leukozytenelastase (162). Bis auf in Plasma bestimmtes IL-8 (42/43) wurde keiner dieser Parameter in die klinische Routinediagnostik übernommen. Das PCT als sensitiver Marker einer systemischen bakteriellen Infektion beim Erwachsenen ist in der Infektionsdiagnostik beim Neugeborenen nur bedingt aussagekräftig, da physiologischerweise auch beim gesunden Neugeborenen innerhalb der ersten 24 Stunden nach Geburt ein transients Anstieg von PCT beobachtet wird. IL-6 in Plasma zeigte in allen Studien eine ähnliche Kinetik (89/104), Sensitivität und Spezifität wie IL-8 in Plasma und wurde als sensitiver Marker zur frühen Aufdeckung einer Neugeboreneninfektion in den ersten Lebensstunden beschrieben (12/42/43/44).

Zytokine setzen sich zunehmend in der Sepsisdiagnostik durch. So wird in neonatalen Zentren IL-8 in Plasma bestimmt und zeigt sich als zuverlässiger Parameter (10/42).

Die Wertigkeit der einzelnen Entzündungsparameter ist jedoch nicht überzubewerten.

Ein anderes Problem ist, dass der Probenmaterialgewinnung bei Neugeborenen ethische Grenzen gesetzt sind und der rasche Krankheitsverlauf im Allgemeinen keine langwierigen diagnostischen Schritte zulässt.

- mütterliche/geburtshilfliche Risikofaktoren
- klinische Zeichen
- Entzündungsparameter
- Erregernachweis

Abb.9: Früherkennung und Warnzeichen der neonatalen Infektion

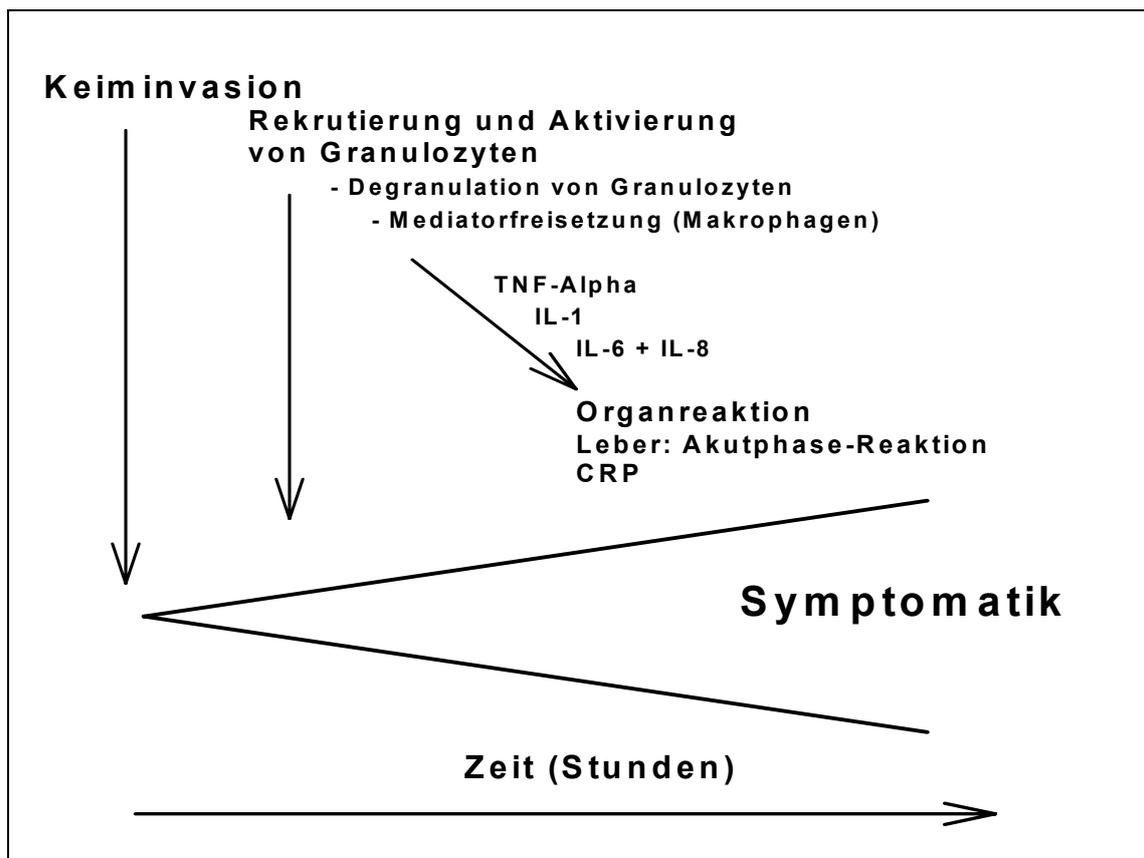


Abb.10: Auftreten verschiedener Entzündungsparameter im Verlauf einer neonatalen Infektion

## 1.11 Therapie

Nach Durchführung einer Infektions-/Sepsis-Diagnostik wird unverzüglich eine intravenöse antibiotische Therapie durchgeführt, in Fällen mit schwerwiegenden klinischen Symptomen auch bevor laborchemische Parameter vorliegen. Eine frühe Therapie mit Antibiotika ist die einzig aussichtsreiche Möglichkeit, erfolgreich Morbidität und Mortalität zu reduzieren (10/71). Diese oftmals prophylaktische Antibiotikatherapie führt nicht nur zur Überbehandlung gesunder Neugeborener, sondern begünstigt die Entwicklung von Erregerresistenzen gegen Antibiotika und das Auftreten allergischer, oto- und nephrotoxischer Nebenwirkungen der Medikamente.

Von der „American Academy of Pediatrics“ (1988) werden zwei Therapiekonzepte empfohlen: Die Kombinationsbehandlung mit Ampicillin und einem Aminoglycosid oder eine empirische Therapie mit Ampicillin und einem Cephalosporin der dritten Generation, das auch gegen sonst resistente *Escherichia coli*-Stämme wirksam ist. Der Hauptgrund für die Gabe des Ampicillins ist die unzulängliche Wirksamkeit der Cephalosporine gegen *Listeria monocytogenes* und Enterokokken. Bei Verdacht auf Staphylokokken-Infektion ist die Kombination um ein gegen Staphylokokken wirksames Mittel zu erweitern. Nach Vorliegen der bakteriologischen Resistenzbestimmung wird meist mit einer Zweierkombination weiterbehandelt. Das Therapiekonzept sollte sich immer an dem derzeitigen örtlichen Erregerspektrum orientieren. In der Universitätskinderklinik Tübingen werden Neugeborene mit Verdacht auf eine neonatale bakterielle Infektion entweder mit einer Kombination aus Cefuroxim und Ampicillin oder einer Kombination aus Ampicillin, Gentamicin und wahlweise Cefotaxim behandelt. Neben der antibiotischen Therapie werden die Kinder genauestens überwacht, und es werden regelmäßig Blutdruck, Blutbild, Blutgase, Blutzucker und Elektrolyte kontrolliert. Kriterien für die Beendigung der Behandlung sind der Zustand des Kindes, die Normalisierung des Blutbildes und negative CRP-Werte.

## 1.12 Interleukin-8

Interleukin-8 (IL-8) ist ein nicht glykosiliertes Protein mit einem Molekulargewicht von 8,3 kDa und wird den proinflammatorischen Zytokinen zugeordnet (85). In seiner wichtigsten biochemischen Eigenschaft fungiert es als Aktivierungsfaktor und Chemoattractant für neutrophile Granulozyten. Auf Grund dieser Eigenschaft wurde das Interleukin-8 anfangs als Neutrophile aktivierendes Protein (NAP-1), Neutrophile aktivierender Faktor (NAF) und als Monozyten-produzierter neutrophiler chemotaktischer Faktor (MDNCF) bezeichnet.

Ursprünglich wurde das IL-8 aus Monozyten aufgereinigt. Es wurde deshalb angenommen, dass Monozyten die Hauptquelle für dieses Protein darstellen. Diese Monozyten werden durch bakterielle Produkte, wie Lipopolysaccharide, aktiviert, eine Vielzahl von Zytokinen, wie beispielsweise Interleukin IL-1, IL-6, IL-8, sowie Tumornekrosefaktor (TNF) zu sezernieren. Im weiteren zeigte sich, dass viele andere Zelltypen wie z.B.: Endothelzellen, Epithelzellen, Hepatozyten, Fibroblasten und Chondrozyten ebenfalls IL-8 produzieren können. Die Freisetzung des Proteins durch die oben genannten Zellen kann durch ein breites Spektrum von Stimuli wie z.B.: LPS, IL-1, TNF, Viren und Harnstoffkristalle ausgelöst werden. Neben ihrer biologischen Funktion als Chemoattractant zeigen die Mitglieder dieser Proteingruppe eine 20-50%ige Homologie in ihrer Aminosäuresequenz, sowie eine hochkonservierte Struktureinheit aus 4 Cysteinen. Andere Proteine, die zu dieser Gruppe gehören sind GRO-alpha, RANTES, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , IP-10, ENA-78, etc. Das Interleukin-8 besteht aus 72 Aminosäuren und kommt in 3 Isoformen vor. Lokalisiert ist es auf Chromosom 4q 12-21.

Interleukin-8 wird hauptsächlich von Monozyten, welche durch Bakterienfragmente (vor allem durch Lipopolysaccharide) oder TNF- $\alpha$  aktiviert wurden (5/139) und von Endothelzellen, in einer geringeren Menge auch von T-Lymphozyten sezerniert. (55). Bei genügend starker Stimulation sind nicht nur neutrophile Granulozyten sondern viele andere immunkompetente und immuninkompetente Zellen fähig, IL-8 zu sezernieren (154). Die wichtigste

Funktion des IL-8 dürfte die selektive Aktivierung der Neutrophilen zu sein. Daneben scheint es auch bei der Rekrutierung von Lymphozyten, der Regulierung der IgE-Synthese, dem Wachstum epidermaler Zellen und der Angiogenese eine Rolle zu spielen. Bei gesunden Erwachsenen wurde gezeigt, dass die Serumspiegel von IL-8 bereits 1-2 Stunden nach Lipopolysaccharid-Injektionen ansteigen und nach 12 Stunden wieder Normalwerte erreichen (89). IL-8 wird mit hoher Affinität an zwei unterschiedliche Interleukin-8-Rezeptoren gebunden (61/103), welche reichlich auf neutrophilen Granulozyten vorhanden sind. Neben den spezifischen IL-8 Rezeptoren existiert auf Erythrozyten und Endothelzellen ein anderer unspezifischer Rezeptor (DARC) mit hoher Affinität und Bindungskapazität, welcher mit dem Duffy-Blutgruppenrezeptor (Fy a+b) verwandt ist (24/114). Plasmodium vivax bindet ebenfalls an diesem Rezeptor. Die Bindung an diesen Erythrozytenrezeptor ist langanhaltend und wahrscheinlich auf die Überlebenszeit des Erythrozyten beschränkt. DARC-gebundenes IL-8 ist biologisch inaktiv gegenüber Neutrophilen, kann aber wieder ins Plasma freigesetzt werden (125). Da die meisten Zellen im Blut IL-8 binden können, und ein hoher Prozentsatz des IL-8 im Blut zellgebunden ist, zeigt der Gehalt des in Plasma gemessenen IL-8 nur einen Bruchteil des Gesamtgehaltes im Blut an IL-8 (vgl. Abb. 11) (24/27).

Experimente zeigten im Menschen nach einmaliger Gabe eines Endotoxin-Bolus einen gleichartigen Verlauf von IL-8- und IL-6-Anstieg. Der Abbau von IL-8 geschieht in weniger als 4 Stunden. Es kann von einer biologischen Halbwertszeit für IL-8 von ca. 1 Stunde ausgegangen werden (vgl. Abb. 5) (123/124). Deshalb ist dieser Parameter als früher Indikator einer systemischen Entzündung, Gewebeschädigung, Hypoxie und Infektion einsetzbar. Durch seinen schnellen Anstieg und schnellen Abfall bei Entzündungsreaktionen (innerhalb von ca. 3 h) stellt er einen dynamischen Marker zum Monitoring oben genannter Zustände diverser Ursachen dar.

Experimente haben gezeigt, dass Zytokine eine entscheidende Rolle bei vor- und frühzeitiger Wehentätigkeit und Frühgeburt spielen, welche Hauptursachen für die perinatale Morbidität und Mortalität sind. Eine Vielzahl an Fakten legt nahe, dass Infektionen an der frühzeitigen Wehentätigkeit und Frühgeburt

ursächlich beteiligt sind. Die Chorioamnionitis, eine zu den intrauterinen Infektionen zählende Erkrankung, liegt bei 20-33% der Frauen mit Frühgeburt vor. Die Zytokine IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 und IL-8 sind im Fruchtwasser von Frauen mit intrauterinen Infektionen deutlich erhöht. Der genaue Mechanismus der durch Zytokine vermittelten, durch eine Chorioamnionitis bedingten Frühgeburtlichkeit ist bisher noch nicht geklärt. Sowohl IL-1, als auch TNF- $\alpha$  erhöhen gemeinsam mit IL-6 die Prostaglandinproduktion von humanen Amnionzellen, Chorionzellen und Deziduazellen. Eine Analyse der Steuersequenzen des Rezeptorgens für Oxytocin, eines stark uterotonisch wirkenden Hormons, weist auf einen engen Zusammenhang zwischen Frühgeburtlichkeit und den inflammatorischen Zytokinen durch Induktion des Oxytocin-Rezeptors hin (51/149/157/158/171).

Aufgrund seiner biologischen Eigenschaften spielt IL-8 eine entscheidende Rolle bei vielen entzündlichen Prozessen (27/59/66). Dies führt bei einer Reihe verschiedenster Erkrankungen wie z.B.: Psoriasis, zystischer Fibrose, idiopathischer Lungenfibrose, Pleuraerkrankungen, rheumatoider Arthritis, septischen Prozessen und Tumoren zu erhöhten IL-8 Konzentrationen. Man fand bis vierzigfach erhöhte IL-8 Werte in Vollblut-Lysat bei erwachsenen Patienten mit einer Sepsis (88) und erhöhte zellgebundene IL-8 Werte bei onkologischen Patienten (161) und bei Myokardinfarkten (27). Andere Einsatzmöglichkeiten sind postoperatives Monitoring (159) und die Überwachung nach Organtransplantationen (118).

Bei Krankheitsverläufen stieg IL-8 24 Stunden vor dem CRP und dem Lipopolysaccharid-bindenden-Protein (LBP) an (148). Im Gegensatz zu CRP und LBP konnten mittels IL-8 septische Komplikationen eindeutig von einem operativen Trauma/Stress abgegrenzt werden (148).

Aus Plasma gemessenes IL-8 wird mit hoher Sensitivität zur Diagnostik der neonatalen bakteriellen Infektion eingesetzt (42/43/44)

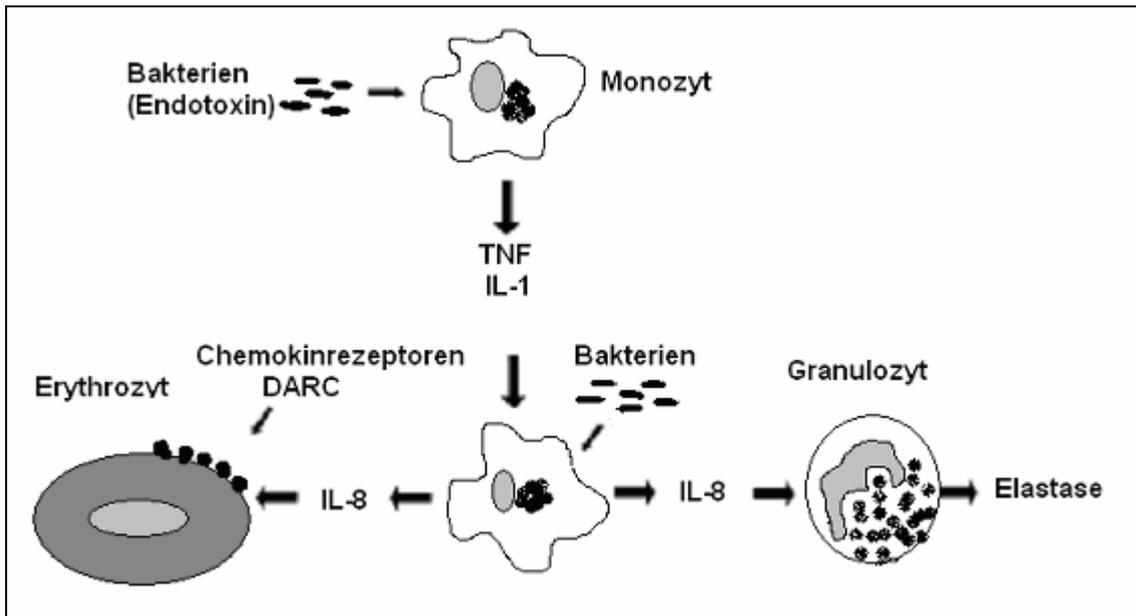


Abb. 11: Sezernierung und Bindung von IL-8 an DARC Chemokinrezeptoren auf Erythrozyten

### 1.13 Fragestellung

Wie die meisten Zytokine auch hat das freie IL-8 im Plasma eine nur sehr kurze Halbwertszeit ( $< 4$  Stunden) (vgl. Abb. 5) und ist deshalb bei der neonatalen bakteriellen Infektion nur in einem kleinen Zeitfenster messbar (89/123/124).

Da Granulozyten und Erythrozyten IL-8 binden, stellt der Gehalt des in Plasma gemessenen IL-8 nur einen Bruchteil des Gesamtgehaltes im Blut dar (24/27/88). Es wurde gezeigt, dass ein hoher Prozentsatz von IL-8 an Zellen im Blut gebunden ist (24/27/88) (vgl. Abb.11). Eine einfache Methode zur Bestimmung von zellgebundenem IL-8 in Vollblut nach Zelllyse mittels Immunoassay wurde beschrieben (88/125). Eine lytische Vorbehandlung des vom Patienten gewonnenen Blutes ermöglicht die Messung des gesamten verfügbaren (freien und zellgebundenen) IL-8. Daten erwachsener Patienten mit Sepsis zeigen, dass IL-8 aus lysiertem Vollblut gemessen, zusätzlichen Informationsgehalt für die Diagnostik einer Sepsis aufweisen kann (88). Die IL-8-Gesamtkonzentration im Vollblut hat möglicherweise auch eine hohe Sensitivität in der Diagnose und Verlaufskontrolle neonataler Infektionen. Über

die Konzentrationsverhältnisse und Referenzwerte bei gesunden Neugeborenen ist wenig bekannt.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es einerseits, Referenzwerte bei gesunden Neugeborenen für IL-8 in Plasma und in Lysat zu erstellen, andererseits wurden Kinetik, Sensitivität, Spezifität sowie prädiktive Werte von Interleukin-8 (IL-8) in Plasma und in Lysat für die Diagnostik der neonatalen Infektionen in Zusammenhang mit den bereits etablierten Infektionsparametern bestimmt und die zeitlichen pathogenetischen Zusammenhänge zwischen IL-8-Serumkonzentrationen und Gesamtinterleukin-8-Gehalt in lysiertem Vollblut untersucht.

Die Untersuchung soll klären, ob durch die Bestimmung der Konzentrationen von IL-8 in lysiertem Vollblut bzw. der Plasmakonzentration eine Infektion mit ausreichender Sensitivität und Spezifität frühzeitiger bestätigt bzw. ausgeschlossen werden kann, als durch die bisher routinemäßig verwendeten Parameter wie CRP, Leukozytenzahl und I/T-Quotient, und die Hypothese belegen, dass IL-8 aus Lysat das diagnostische Fenster zur Erkennung einer neonatalen Infektion deutlich vergrößert. So könnten Neugeborene mit einer subklinischen oder auch klinisch inapparenten bakteriellen Infektion schneller erkannt und einer adäquaten Therapie zugeführt werden. Bei nicht erkrankten Neugeborenen könnte auf die mit Nebenwirkungen behaftete Antibiotikatherapie verzichtet werden.

## **2. Patienten, Material und Methode**

### **2.1 Patientenkollektiv**

Für die Studie wurden die Datensätze von 273 Neugeborenen untersucht, davon konnten 249 in die Studie eingeschlossen und ausgewertet werden. Die Kinder kamen in dem Zeitraum zwischen März 2000 und November 2000 in der Universitätsfrauenklinik Tübingen zur Welt und wurden im Kinderzimmer der Frauenklinik oder auf den Neugeborenenstationen der Abteilung für Neonatologie der Universitätskinderklinik Tübingen betreut.

### **2.2 Gruppeneinteilung**

In die Untersuchung wurden Neugeborene eingeschlossen, bei denen aufgrund mütterlicher Risikofaktoren für eine neonatale bakterielle Infektion (Geburt aus dick-grünem Fruchtwasser, vorzeitiger Blasensprung ( $\geq 12$  Stunden), mütterlicher Infektionsverdacht, mütterliches Fieber (rektal  $> 38,0^{\circ}\text{C}$ ), Amnioninfektionssyndrom, positiver vaginaler Abstrich (B-Streptokokken), mütterliche Leukozytose ( $> 15000$  Granulozyten/ $\text{mm}^3$ ) oder mütterlicher CRP-Erhöhung ( $> 1,0\text{mg/dl}$ ), einer fetalen Tachykardie ( $> 160$  Schläge/min) oder aufgrund klinischer Auffälligkeiten Blut zur Infektionsdiagnostik abgenommen wurde. Dazu wurden Neugeborene, bei denen aufgrund von klar definierten prä- und postnatalen Risikofaktoren eine Blutentnahme zum Ausschluss einer neonatalen bakteriellen Infektion mit Bestimmung der Infektionsparameter anstand, oder die aus anderen medizinischen Gründen (Hyperbilirubinämie, Polyglobulie, Hypoglykämie) zwingend eine Blutabnahme benötigten, in die Studie aufgenommen. Alle Neugeborenen wurden retrospektiv auf das Vorliegen einer neonatalen bakteriellen Infektion untersucht und dementsprechend in die neonatale bakterielle Infektionsgruppe (NBI) bei

Erfüllung der Kriterien für eine neonatale bakterielle Infektion oder in die Kontrollgruppe (Ctrl) eingeteilt.

Die Blutentnahmen erfolgten ausschließlich bei klinisch notwendigen Blutentnahmen. Es wurden keine zusätzlichen Blutabnahmen durchgeführt.

### **2.3 Ausschlusskriterien**

Patienten, deren stationärer Aufenthalt weniger als zwei Tage betrug, wurden von der Studie ausgeschlossen, da nicht verfolgt werden konnte, ob die Kinder eine Infektion entwickelten. Andere Ausschlusskriterien waren ein Nabelarterien  $\text{pH} \leq 7,00$ , chromosomale Aberrationen, ein Gestationsalter unter der 33. Schwangerschaftswoche, Fehlbildungen und andere Diagnosen wie nekrotisierende Enterokolitis, Gastroschisis oder Malrotationen. Ebenso wurden Neugeborene ausgeschlossen, die erst nach mehr als 72 Stunden Symptome einer Infektion zeigten, da bei diesen von einer late-onset Infektion ausgegangen werden musste, die in dieser Studie nicht berücksichtigt wurde.

### **2.4 Definition der neonatalen bakteriellen Infektion**

Ein positiver Blutkultur-Befund in Verbindung mit klinischen Zeichen für eine Infektion gilt allgemein als „Goldstandard“ für die Diagnose einer neonatalen bakteriellen Infektion. Viele klinisch kranke Neugeborene mit positiven Infektionsparametern, wie einem erhöhten CRP oder erhöhtem I/T-Quotient, sprechen auf eine Antibiotikatherapie an, haben aber sterile Blutkulturen (7/9/10/16/21/46/92).

Die Diagnose einer neonatalen bakteriellen Infektion in dieser Studie basiert auf folgenden Kriterien:

ein oder mehrere klinische Zeichen innerhalb der ersten 48 Stunden in Verbindung mit einer CRP-Erhöhung  $\geq 1,0\text{mg/dl}$  über mindestens 24 Stunden,

anderen erhöhten Entzündungsparametern (z.B. I/T-Quotient  $\geq 0,20$ ) oder einer positiven Blutkultur (42/92).

Klinische Zeichen waren: blasses, zyanotisches oder graues Hautkolorit, eine verlängerte Rekapillarierungszeit (kapilläres Refill  $> 2\text{sec}$ ), Tachypnoe ( $> 60/\text{min}$ ), Dyspnoe (Nasenflügeln, Einziehungen, stöhnende Atmung), Apnoe, erhöhter Sauerstoffbedarf bei zuvor stabilen Neugeborenen, verminderter Muskeltonus, Hyperexzitabilität, Trinkschwäche, Fieber ( $\geq 38,0^\circ\text{C}$ ), Temperaturinstabilität ( $> 1,5^\circ\text{C}$ ) und Tachykardie ( $> 160$  Schläge/min).

## **2.5 Versuchsdurchführung**

Bei 273 Neugeborenen wurde innerhalb der ersten 60 Lebensstunden mehrmals in regelmäßigen Abständen im Rahmen der routinemäßigen Blutentnahmen zusätzlich zur CRP-Bestimmung, zum großen Blutbild und dem I/T-Quotienten IL-8 in Plasma und in lysiertem Vollblut bestimmt. 24 Neugeborene mussten aufgrund der Ausschlusskriterien ausgeschlossen werden.

Das Blut wurde nach der venösen Abnahme ohne Verzögerung in das Hauptlabor der Universitätsfrauenklinik Tübingen gebracht und dort innerhalb von einer Stunde verarbeitet. Es wurden keine Blutproben eingefroren.

Hämolytische Blutproben wurden verworfen. Die Messungen des IL-8 aus lysiertem Vollblut erfolgten aus überschüssigen Restbeständen des Differentialblutbildes.

## **2.6 Der klinische Befund**

Die Beobachtung der Kinder und die Dokumentation der klinischen Befunde wurden von Neonatologen und erfahrenen Kinderkrankenschwestern

mindestens dreimal pro Tag mittels eines standardisierten Datenerhebungsbogens vorgenommen (siehe Anhang).

## **2.7 Interleukin-8 Immunoassaysystem IMMULITE®**

Die IL-8-Bestimmung erfolgte mittels des IMMULITE®-Systems (I8 DPC Biermann®), einem vollautomatischen Festphasen-Chemilumineszenz-Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von IL-8. Die Methode beruht auf der Chemilumineszenztechnik. Mit murinen monoklonalen Antikörpern besetzte Polystyren-Kugeln dienen als feste Phase. Enzymbehaftete polyklonale Antiseren (von Hasen) werden als Erkennungs-Antikörper verwendet. Alle Assays wurden gegen den internationalen Standard geeicht (IL-8: NIBSC 89/520). Diese Standards werden von dem National Institute for Biological Standards and Controls (NIBSC), Potters Bar, UK vorgehalten. Es wurden bei jeder Messung Präzisionskontrollen mitgeführt (DPC Zytokine-Kontrollen, Art.-Nr. LILCM).

Die Proben werden in dem Gerät für 30 Minuten inkubiert. Ungebundene Bestandteile werden mittels einer patentierten zentrifugalen Waschtechnik entfernt. Die Menge des gebundenen Enzymkonjugats wird mit Hilfe eines nun automatisch zugefügten extrem sensitiven Chemilumineszenzsubstrates, dem Adamantyldioexetanphenylphosphat (ADPP<sup>2-</sup>) bestimmt. Durch enzymkatalysierte Dephosphorylierung wird in der 10 Minuten dauernden Inkubationsphase ein instabiles Adamantyldioexetanphenyl-Anion (ADP<sup>-</sup>) gebildet. Dessen Zerfall führt zu einer Lichtemission. Die resultierende Lichtemission ist direkt proportional zu der Konzentration des IL-8 in der Probe. Die dauernde Bildung des instabilen Zwischenproduktes, und die somit anhaltende Aussendung von Licht, ermöglicht es, mehrere Messungen durchzuführen. Dies verbessert die Messgenauigkeit. Die erforderliche Probenmenge beträgt 50 µl, die Ergebnisse sind 50 Minuten nach der Blutabnahme verfügbar. Der Messbereich reicht bis 7500 pg/ml, die analytische

Sensitivität beträgt 2 pg/ml. Die Inter- und Intra-Assay-Abweichung beträgt < 5% bei 100 pg/ml.

Der Interleukin-8-Assay ist hochspezifisch für IL-8 mit vernachlässigbar niedriger Kreuzreaktion mit anderen im Serum vorkommenden Substanzen. Bilirubin hat keinen signifikanten Effekt auf die Messung.

In einer Studie des Herstellers, in der 50 Seren gesunder Blutspender gemessen wurden, ergaben sich Normalwerte bis zu 62 pg/ml für gesunde Erwachsene.

### **2.7.1 Aufbereitung von Proben für die Bestimmung des Interleukin-8 in lysiertem Vollblut (Lysat)**

Für die Bestimmung des Gesamt-IL-8-Gehalts in Vollblut wurden 50 µl Vollblut aus EDTA-Cups mit 50 µl MILENIA® Zell-Lyse-Lösung (DPC Biermann®) für 5 Minuten bei Raumtemperatur in verschlossenen Polypropylen-Cups inkubiert (125). Eine weitere Zentrifugation war nicht nötig. Der Gesamtgehalt an IL-8 in Vollblut wurde nach der Zelllyse in dem Lysat mit Hilfe des IMMULITE® IL-8 Immunoassay bestimmt (siehe unter 2.3.2).

Die MILENIA® Zell-Lyse-Lösung besteht aus einem herkömmlichen Kulturmedium, das mit einem geeigneten Detergens in einer solchen Konzentration versetzt ist, dass alle Zellen lysiert werden und die Bindung an Antikörper während des Testes nicht beeinträchtigt wird (125).

### **2.7.2 Aufbereitung von Proben für die Bestimmung des Interleukin-8 in Plasma**

Für die IL-8-Bestimmung in Plasma wurde das in Lithium-Heparin-Cups gesammelte Blut 10 min bei 8000 Umdrehungen/min zentrifugiert. Anschließend wurden 25 µl des abpipettierten Plasmas mit 100 µl IL-8-Verdünnungspuffer (1:5) (L8PZ; DPC Biermann®) verdünnt. Der Gehalt an IL-8

im Plasma wurde mittels des IMMULITE® IL-8 Immunoassays bestimmt (siehe unter 2.3.2).

## **2.8 Bestimmung des C-reaktiven Proteins**

Das C-reaktive Protein (CRP) wurde mittels eines immunologischen kinetischen Tests der Firma Ortho (Clinical Diagnostics, Neckargmünd) bestimmt. Bei dem verwendeten Gerät handelte es sich um den Vitros 250 der Firma Ortho (Clinical Diagnostics, Neckargmünd).

## **2.9 Bestimmung der Leukozyten**

Die Leukozytenzahl aus EDTA-Blut wurde mittels eines Zellcounters erfaßt (Coulter Counter T660, Krefeld, Germany). Parallel dazu wurden die Leukozyten im Differentialblutbild von erfahrenen medizinisch-technischen Assistentinnen ausgezählt.

## **2.10 Bestimmung des I/T-Quotienten**

Für das Differentialblutbild wurden in nach Pappenheim gefärbten Blutaussstrichen von erfahrenen medizinisch-technischen Assistentinnen 100 Zellen ausgezählt.

Der I/T-Quotient wurde auf folgende Weise berechnet: Gesamtzahl aller nicht-segmentierter Granulozyten geteilt durch die Gesamtzahl aller Granulozyten (immature/total neutrophils = I/T-Ratio).

## 2.11 Mikrobiologische Untersuchung

Bei anamnestischem Infektionsrisiko bzw. klinischem Infektionsverdacht wurde nach Geburt ein Rachen- und Ohrabstrich durchgeführt, zur Sepsisdiagnostik bei Verdacht auf Sepsis eine venöse Blutkultur abgenommen. Die Blutmenge betrug < 5ml. Die bakteriologischen Untersuchungen erfolgten im Institut für medizinische Mikrobiologie der Universität Tübingen.

## 2.12 Statistische Auswertung

Für IL-8 in Lysat und Plasma, CRP und den I/T-Quotienten wurden Spezifität, Sensitivität, positiver und negativer prädiktiver Wert mit den entsprechenden 95%-Konfidenzintervallen bestimmt.

	Test negativ	Test positiv
Infektion: nein	richtig negativ A	falsch positiv B
Infektion: ja	falsch negativ C	richtig positiv D

Abb. 12: Vierfeldertafel zur Berechnung der Sensitivität und Spezifität

Unter der **Sensitivität** versteht man die Wahrscheinlichkeit, mit der ein Kranker als krank erkannt wird, also die Anzahl aller korrekt als krank identifizierten geteilt durch die Anzahl aller Kranken.

Sensitivität:

$$D/(C+D)$$

Unter der **Spezifität** versteht man die Wahrscheinlichkeit, mit der ein Gesunder als gesund erkannt wird, also die Anzahl aller korrekt als gesund identifizierten geteilt durch die Anzahl aller Gesunden.

Spezifität:

$$A/(A+B)$$

Die prädiktiven Werte wurden in Abhängigkeit der Prävalenz berechnet.

Der **positive prädiktive Wert** drückt die Wahrscheinlichkeit aus, in wie weit ein Patient mit positivem Ergebnis wirklich erkrankt ist.

positiver prädiktiver Wert:

Prävalenz x Sensitivität

---

Prävalenz x Sensitivität + (1-Spezifität) x (1-Prävalenz)

Der **negative prädiktive Wert** drückt die Wahrscheinlichkeit aus, in wie weit ein Patient mit negativem Ergebnis wirklich nicht erkrankt ist.

negativer prädiktiver Wert:

Spezifität x (1-Prävalenz)

---

Spezifität x (1-Prävalenz) + (1-Sensitivität) x Prävalenz

Unter der Prävalenz einer Erkrankung versteht man ihre relative Häufigkeit.

Die Ergebnisse wurden als Boxplots aufgetragen: Die durch den Kasten vorgegebenen Grenzen entsprechen der 25. und 75. Perzentile, der Strich im Kasten, der als Box bezeichnet wird, dem Median. Demnach beinhaltet der Kasten 50% aller Werte. Zwischen dem Median und der oberen bzw. unteren Kastengrenze liegen genau 25% aller Werte. Durch die "Whiskers" (deutsch: Katzenhaare) werden Minimum und Maximum der Werte und somit auch der Bereich, in dem die Werte liegen, gezeigt. Zwischen oberem bzw. unterem "Whisker" und oberer bzw. unterer Kastengrenze liegen wiederum genau 25% aller Werte.

Ausreißer außerhalb der "Whiskers" wurden als Punkte dargestellt.

Bei den im Ergebnisteil aufgeführten Werten handelt es sich um Mittelwert mit Standardabweichung. Die Daten wurden in Gruppen zusammengefasst: Daten 0-6 Stunden nach Geburt wurden als 6 Stunden, Daten zwischen 6 und 12 Stunden nach Geburt wurden als 12 Stunden zusammengefasst etc.

Zur Auswertung der Daten wurde der t-Test angewendet. Eine Wahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  wurde als statistisch signifikant bezeichnet.

Um den optimalen Referenzbereich der untersuchten Parameter zu bestimmen, wurde eine ROC-Analyse durchgeführt. ROC-Kurven helfen bei der Wahl des Cut-off Punktes, treffen aber keine Entscheidung. ROC-Kurven berücksichtigen die Prävalenz einer Erkrankung in einem Kollektiv nicht. Es gibt keinen

universell gültigen Cutt-off. In dieser Studie wurde der Cutt-off so festgelegt, dass die Summe aus Sensitivität und Spezifität maximiert wurde.

Alle Schaubilder wurden mit Hilfe des Programms SigmaPlot scientific software (SPSS, Chicago, IL, USA) erstellt.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Merkmale der Patienten

Unter Berücksichtigung der Ausschlusskriterien konnten 249 Patienten in die Studie aufgenommen werden. Die Verteilung der Neugeborenen in die Gruppen erfolgte nach den in Kapitel 2.1 dargelegten Kriterien ohne Berücksichtigung der IL-8-Werte.

Gruppe 1: Die Gruppe von Neugeborenen mit neonataler bakterieller Infektion (NBI) umfasste 61 Patienten, wobei nur in 2 Fällen eine positive Blutkultur gefunden wurde (ein Patient mit  $\beta$ -hämolisierenden Streptokokken der Gruppe B und ein Patient mit *Staphylokokkus aureus*). Im Mittel bestand 7,53 Stunden (SD: 6,21) nach Geburt der erste Verdacht auf eine neonatale bakterielle Infektion (vgl. Tab. 1).

Gruppe 2: Die Kontrollgruppe (Ctrl) ohne neonatale bakterielle Infektion umfasste 188 Patienten.

24 Kinder wurden aufgrund eines unvollständigen Datensatzes (14) oder gleichzeitigem Vorliegen von anderen Krankheiten (12), die einen IL-8-Anstieg erwarten ließen (siehe Kapitel 1.9), von der Studie ausgeschlossen.

	<b>NBI (n)</b>	<b>NBI (%)</b>	<b>Ctrl (n)</b>	<b>Ctrl (%)</b>
<b>Patienten</b>	<b>61</b>		<b>188</b>	
<b>Zeitpunkt des ersten Verdachts auf NBI in Stunden nach Geburt</b>	<b>7,53 (SD:6,21)</b>			
<b>männlich</b>	<b>41</b>	<b>67</b>	<b>92</b>	<b>49</b>
<b>weiblich</b>	<b>20</b>	<b>33</b>	<b>96</b>	<b>51</b>
<b>Gestationsalter in d Median (range)</b>	<b>282 (231-288)</b>		<b>275 (231-294)</b>	
<b>Geburtsgewicht in g Median (range)</b>	<b>3567 (2290-4460)</b>		<b>3921 (2376-4850)</b>	

Tab.1: Zeitpunkt des ersten Verdachts auf NBI, Patientenzahl, Geschlecht, Gestationsalter und Gewicht

### **3.1.1 Geschlecht**

In der NBI-Gruppe fand sich ein Knabenanteil von 67% (n=41) in der Kontrollgruppe von 49% (n=92) ( $p < 0,05$ ).

### **3.1.2 Gestationsalter**

Eine normale Schwangerschaft dauert im Schnitt 280 Tage, entsprechend 40 Wochen post menstruationem. Alle Kinder, die vor der vollendeten 37. Schwangerschaftswoche geboren werden, werden als Frühgeborene bezeichnet. Der Anteil an Frühgeborenen liegt in Europa bei 4-8% (4).

Die mittlere Schwangerschaftsdauer betrug in der NBI-Gruppe 40+2 Wochen, entsprechend 282 Tage (SD: 14). In der Kontrollgruppe betrug die mittlere Schwangerschaftsdauer 39+2 Wochen, entsprechend 275 Tagen (SD: 7). (Median und Range siehe Tab.1) Die kürzere Schwangerschaftsdauer in der Kontrollgruppe ergab sich aus der Anzahl an Frühgeburten und der Anzahl der übertragenen Kinder in der NBI-Gruppe.

Der Unterschied des Gestationsalters zwischen beiden Gruppen ist nicht signifikant ( $p \geq 0,05$ ).

### **3.1.3 Geburtsgewicht**

Der Median des Geburtsgewichts betrug in der NBI-Gruppe 3567g (2290-4460), in der Kontrollgruppe 3921g (2376-4850) (siehe Tab.1). Die Tatsache, dass in der NBI-Gruppe trotz der längeren Schwangerschaftsdauer das Geburtsgewicht niedriger lag, muss man der Neugeboreneninfektion und den mütterlichen Risikofaktoren zuschreiben. Ein signifikanter Unterschied ließ sich nicht nachweisen ( $p > 0,05$ ).

### 3.1.4 Geburtsmodus

Kinder aus der NBI-Gruppe kamen zu 55% (n=33) spontan, zu 7% (n=4) mittels Vakuumentraktion und zu 36% (n=22) durch einen Kaiserschnitt zur Welt. Bei 3% (n=2) der Entbindungen war aufgrund eines pathologischen CTG's eine notfallmäßig durchgeführte Sectio caesarea nötig.

In der Kontrollgruppe wurden 66% (n=124) der Kinder spontan geboren, in 5% (n=9) der Fälle war eine Vakuumentraktion nötig, bei 28% (n=53) musste ein Kaiserschnitt durchgeführt werden. Bei zwei Kindern kam es aufgrund von vaginaler Blutung und pathologischem CTG zu einer notfallmäßig durchgeführten Sectio caesarea (siehe Tab.2).

	<b>NBI (n)</b>	<b>NBI (%)</b>	<b>Ctrl. (n)</b>	<b>Ctrl. (%)</b>
<b>Spontangeburt</b>	<b>33</b>	<b>54</b>	<b>124</b>	<b>66</b>
<b>Vacuumentraktion</b>	<b>4</b>	<b>7</b>	<b>9</b>	<b>5</b>
<b>Sectio Caesarea</b>	<b>22</b>	<b>36</b>	<b>53</b>	<b>28</b>
<b>davon Notsectio</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>

Tab.2: Geburtsmodus

### 3.1.5 APGAR-Score

Der APGAR-Score ist ein allgemein übliches Schema zur Vitalitätsbeurteilung des neugeborenen Kindes unmittelbar nach der Geburt und erlaubt eine Beurteilung der Überlebenschancen innerhalb der ersten 28 Lebenstage (19). Der APGAR-Wert nach fünf Minuten wurde bewertet, da dieser für das Outcome des Kindes am aussagekräftigsten ist (19). In der NBI-Gruppe betrug der APGAR-Score 9,0 (SD: 0,8), in der Kontrollgruppe 9,45 (SD: 0,63)(Tab. 3). Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ( $p \geq 0,05$ ).

	<b>NBI (n)</b>	<b>Ctrl (n)</b>
<b>APGAR `5</b>	<b>9,0 (SD: 0,8)</b>	<b>9,45 (SD: 0,63)</b>

Tab.3: APGAR-Score

### 3.1.6 Klinische Auffälligkeiten

Kinder mit einer neonatalen bakteriellen Infektion zeigten im Verlauf zu 62,3% (n=38) keine rosige Haut, waren blass, zyanotisch oder marmoriert. 27,9% (n=17) hatten eine schlechte Durchblutung mit einer schlechten Rekapillarisierungszeit (kapilläres Refill > 2 Sekunden). Bei 50,8% (n=31) war die Atmung tachypnoeisch, bei 18,0% (n=11) dyspnoeisch. Der Muskeltonus zeigte sich in 47,5% (n=29) der Fälle vermindert, bei 31,1% (n=19) beobachtete man eine Temperaturinstabilität. Tachykard waren 45,9% (n=28) der Kinder. Gesunde Kinder aus der Kontrollgruppe zeigten nur zu 15,5% klinische Auffälligkeiten (Tab. 4).

	<b>NBI (n)</b>	<b>NBI (%)</b>
<b>Blasse, zyanotische Hautfarbe</b>	<b>38</b>	<b>62,3</b>
<b>Kapilläres Refill &gt; 2sec.</b>	<b>17</b>	<b>27,9</b>
<b>Tachypnoe</b>	<b>31</b>	<b>50,8</b>
<b>Dyspnoe</b>	<b>11</b>	<b>18,0</b>
<b>Verminderter Muskeltonus</b>	<b>29</b>	<b>47,5</b>
<b>Temperaturinstabilität</b>	<b>19</b>	<b>31,1</b>
<b>Tachykardie</b>	<b>28</b>	<b>45,9</b>

Tab.4: Klinische Auffälligkeiten bei Neugeborenen mit NBI

### 3.2 Bakteriologische Ergebnisse bei Neugeborenen mit neonataler bakterieller Infektion

Bei Neugeborenen mit neonataler bakterieller Infektion konnte in 2 Fällen (3,3%) eine positive Blutkultur nachgewiesen werden. In einem Fall konnten  $\beta$ -hämolyisierenden Streptokokken der Gruppe B und in dem anderen Fall Staphylokokkus aureus nachgewiesen werden. In 4 Blutkulturen fand sich

massenhaft Staphylokokkus epidermidis. Diese Kulturen wurden als verunreinigt angesehen.

Bei 35 Neugeborenen (57,4%) aus der NBI-Gruppe konnten pathogene Keime aus Ohr- und/oder Rachenabstrich isoliert werden, davon bei 15 (24,6%)  $\beta$ -hämolisierende Streptokokken der Gruppe B (siehe Tab. 5).

	Rachenabstriche n (%)	Ohrabstriche n (%)
<b><math>\beta</math>-hämolisierenden Streptokokken der Gruppe B</b>	<b>6 (9,8%)</b>	<b>9 (14,8%)</b>
<b>Enterococcus faecalis</b>	<b>1 (1,6%)</b>	<b>2 (3,3%)</b>
<b>Escherichia coli</b>	<b>3 (4,9%)</b>	<b>5 (8,2%)</b>
<b>Koagulase-negative Staphylokokken</b>	<b>6 (9,8%)</b>	<b>4 (6,6%)</b>
<b>Staphylococcus aureus</b>	<b>2 (3,3%)</b>	<b>0 (0%)</b>
<b>Gramnegative Stäbchen</b>	<b>0 (0%)</b>	<b>3 (4,9%)</b>

Tab.5: Abstrichergebnisse bei Neugeborenen mit NBI

### 3.3 Antibiotikabehandlung

In der NBI-Gruppe mussten alle Kinder (n=61) antibiotisch behandelt werden, die mittlere Behandlungsdauer betrug 8 Tage (SD: 2,8). In der Kontrollgruppe wurden 9,6% (n=18) der Kinder mit Antibiotika behandelt. Die mittlere Behandlungsdauer betrug 1,6 Tage (SD: 0,5)(Tab. 6). Meist wurde die Behandlung aufgrund des klinischen Bildes des Kindes und mütterlicher Risikofaktoren ohne Vorlage von Laborparametern oder nach Vorlage falsch positiver Laborparameter begonnen, um ohne Zeitverlust das Kind antibiotisch anzubehandeln. Diese Neugeborenen wurden als nicht infiziert betrachtet.

82% (n=50) der Neugeborenen aus der NBI-Gruppe wurden mit Cefuroxim und Ampicillin und 18% (n=11) wurden mit einer Kombination aus Ampicillin, Gentamicin und wahlweise Cefotaxim behandelt

	NBI (n)	NBI (%)	Ctrl (n)	Ctrl (%)
<b>Antibiotikabehandlung</b>	<b>61</b>	<b>100</b>	<b>18</b>	<b>9,6</b>
<b>Behandlungsdauer in d</b>	<b>8 (SD: 2,8)</b>		<b>1,6 (SD: 0,5)</b>	

Tab.6: Antibiotikabehandlung

### 3.4 Pränatale Risikofaktoren

Insgesamt fanden sich in der NBI-Gruppe bei 58% (n=35) der Kinder pränatale Risikofaktoren, in der Kontrollgruppe dagegen nur bei 39% (n=73). Es kam in 42% (n=26) der Fälle zu einem vorzeitigen Blasensprung (VBS), im Mittel 21 Stunden vor Geburt, in der Kontrollgruppe in 38% (n=71), im Mittel 18 Stunden vor Geburt. Hier wurde der Mittelwert durch drei vorzeitige Blasensprünge von mehr als 35 Stunden vor Geburt deutlich angehoben. Im Gegensatz zur gynäkologischen Definition eines VBS, wird aus neonatologischer Sicht der Blasensprung nicht in Zusammenhang mit der Eröffnungsperiode gebracht, sondern im Verhältnis zur Geburt gesehen, d.h. wie viele Stunden vor Geburt des Kindes die Fruchtblase gesprungen ist. Als VBS wurde ein Blasensprung von mehr als 12 Stunden vor Geburt definiert.

Bei 33% (n=20) in der NBI-Gruppe war das Fruchtwasser grün, in der Kontrollgruppe nur bei 17% (n=32). 14% (n=9) der Mütter aus der NBI-Gruppe zeigten die Symptome eines AIS, während in der Kontrollgruppe 1,5% (n=3) diese Symptome zeigten. In der NBI-Gruppe hatten 3,5% (n=2) der Mütter Fieber, in der Kontroll-Gruppe fand sich keine Mutter mit Fieber. Keinen signifikanten Unterschied zeigte die Häufigkeit einer mütterlichen Leukozytose in beiden Gruppen, 28% (n=17) in NBI-Gruppe und 24% (n=45) in der Kontrollgruppe.

Deutlich erhöht war die Anzahl der Mütter mit CRP-Erhöhung in der NBI-Gruppe mit 39% (n=24), wobei das CRP im Mittel bei 3,4 mg/dl lag, in der Kontrollgruppe hingegen zeigten 9% (n=17) der Mütter eine CRP-Erhöhung mit einem Mittel von 2,2 mg/dl. Antibiotika wurden in der NBI-Gruppe bei 33% (n=20) der Mütter präpartal, in 25% (n=15) perinatal verabreicht. In der Kontrollgruppe bekamen 18% (n=34) präpartal und 3% (n=6) peripartal Antibiotika.

Das CTG zeigte sich in der NBI-Gruppe bei 21% (n=13) vor Geburt pathologisch, in der Kontrollgruppe bei 9% (n=17). Tachykard war das CTG in der NBI-Gruppe in 12% (n=7) der Fälle, in der Kontrollgruppe in 4% (n=8) der Fälle (vgl. Tab. 7).

Im Vaginalabstrich von Müttern erkrankter Neugeborener konnten bei 24,6% (16 von 67)  $\beta$ -hämolisierende Streptokokken der Gruppe B und bei 6,6% (5 von 67) Escherichia coli nachgewiesen werden.

	<b>NBI (n)</b>	<b>NBI (%)</b>	<b>Ctrl (n)</b>	<b>Ctrl (%)</b>	<b>p</b>
<b>Pränatale Risikofaktoren</b>	<b>35</b>	<b>58</b>	<b>73</b>	<b>39</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>VBS</b>	<b>26</b>	<b>42</b>	<b>71</b>	<b>38</b>	<b>0,457</b>
<b>Grünes Fruchtwasser</b>	<b>20</b>	<b>33</b>	<b>32</b>	<b>17</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>AIS</b>	<b>9</b>	<b>14</b>	<b>3</b>	<b>1,5</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>Fieber der Mutter</b>	<b>2</b>	<b>3,5</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>&lt; 0,05</b>
<b>Leukozytose der Mutter</b>	<b>17</b>	<b>28</b>	<b>45</b>	<b>24</b>	<b>0,579</b>
<b>CRP-Erhöhung der Mutter</b>	<b>24</b>	<b>39</b>	<b>17</b>	<b>9</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>Antibiotikatherapie</b>	<b>35</b>	<b>58</b>	<b>40</b>	<b>21</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>-davon präpartal</b>	<b>20</b>	<b>33</b>	<b>34</b>	<b>18</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>-davon peripartal</b>	<b>15</b>	<b>25</b>	<b>6</b>	<b>3</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>Auffälliges CTG</b>	<b>20</b>	<b>33</b>	<b>24</b>	<b>13</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>-davon pathologisch</b>	<b>13</b>	<b>21</b>	<b>17</b>	<b>9</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>-davon tachykard</b>	<b>7</b>	<b>12</b>	<b>8</b>	<b>4</b>	<b>&lt;0,05</b>

*Tab.7: Pränatale Risikofaktoren*

### **3.5 Kinetik der Infektionsparameter**

#### **3.5.1 Vergleich der Kinetik von Interleukin-8 in Lysat und Plasma in der Kontrollgruppe**

In der Kontrollgruppe zeigten die Werte von IL-8 in Lysat eine deutliche zeitliche Kinetik: 6 Stunden nach Geburt lag der Mittelwert von IL-8 in Lysat bei 9 599,9 pg/ml (SD: 4 433,6 pg/ml) und stieg innerhalb der ersten 18 Stunden bis auf 12 179 pg/ml (SD: 4 241,0 pg/ml) an. Danach fielen die Werte ab und lagen 60 Stunden nach Geburt bei 5 181,6 pg/ml (SD: 2 761,5 pg/ml). In der Kontrollgruppe fanden sich 200-300-fach höhere IL-8-Konzentrationen in Lysat als in Plasma.

Im Plasma zeigten die Werte keine zeitliche Kinetik: innerhalb der ersten 6 Lebensstunden betrug der Mittelwert von IL-8 in Plasma bei gesunden Neugeborenen 34,2 pg/ml (SD: 18,1 pg/ml). Nach 60 Stunden betrug der Mittelwert 30,5 pg/ml (SD: 13,9 pg/ml)(vgl. Abb. 13).

Die Korrelation zwischen IL-8 in Lysat und Plasma war schlecht ( $r < 0,35$ ).

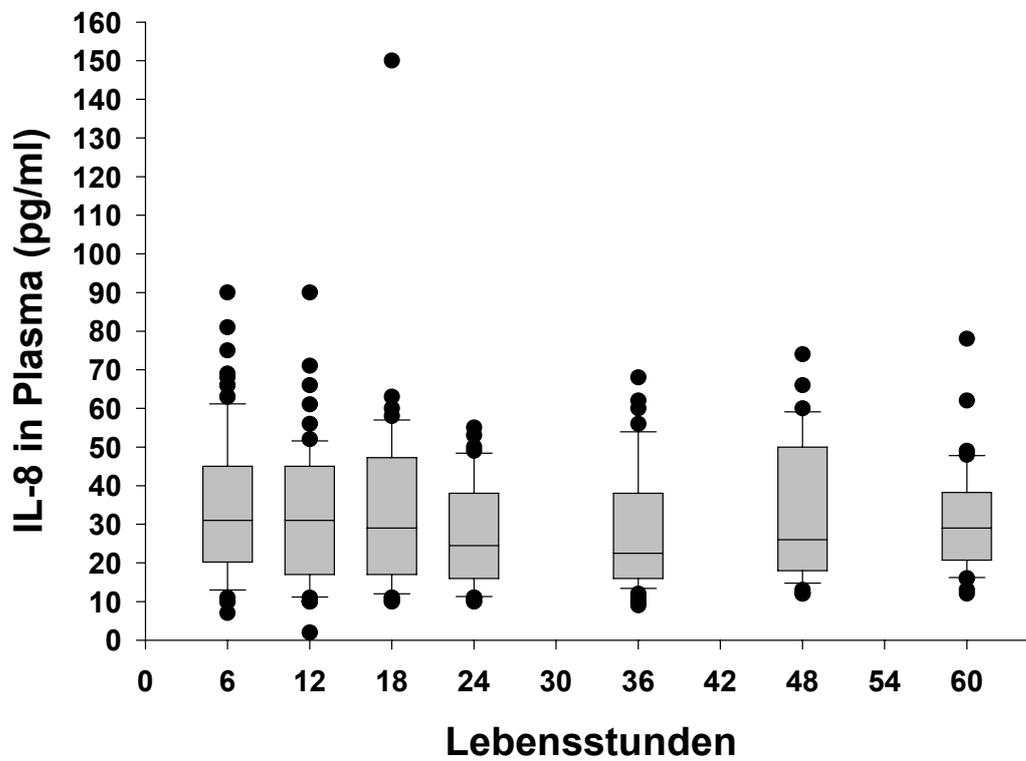
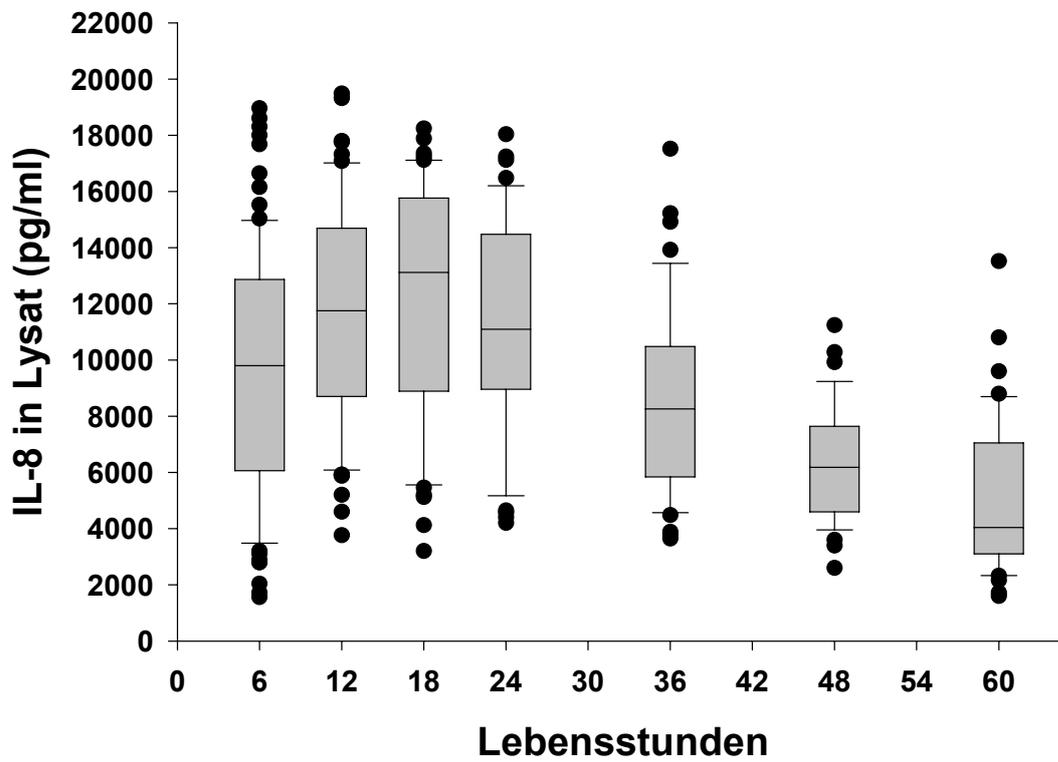


Abb.13: Kinetik von IL-8 in Lysat und Plasma in der Kontrollgruppe

### **3.5.2 Vergleich der Kinetik von Interleukin-8 in Lysat und Plasma in der NBI-Gruppe**

Die NBI-Gruppe zeigte 6 Stunden nach Geburt im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich erhöhte IL-8-Werte in Lysat von 36 699,4 pg/ml (SD: 26 197,2 pg/ml). Diese stiegen im Verlauf der Infektion in den ersten 12 Lebensstunden leicht an und fielen danach bis 60 Stunden nach Geburt auf 6 707,1 pg/ml (SD: 5 535,0 pg/ml) ab. In Lysat zeigte sich bis zu 36 Stunden nach Geburt ein hochsignifikanter Unterschied zwischen den IL-8 Werten der Kontrollgruppe und denen der NBI-Gruppe ( $p < 0,05$ ).

Die IL-8-Werte in Plasma lagen 6 Stunden nach Geburt ebenfalls deutlich höher als in der Kontrollgruppe, nämlich bei 142,4 pg/ml (SD: 11,7 pg/ml) und fielen rasch ab. Nur bei extrem schwer erkrankten Kindern stiegen die Plasma-Werte innerhalb der ersten 12 Lebensstunden noch an. Deshalb der Anstieg des Mittelwertes nach 12 Stunden auf 145,6 pg/ml (SD: 147,1 pg/ml).

Nach 60 Lebensstunden lagen die Plasma-Werte bei 52,4 pg/ml (SD: 87,1 pg/ml). In Plasma ließ sich bis 18 Stunden nach Geburt ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und der NBI-Gruppe nachweisen ( $p < 0,05$ )(vgl. Abb: 14).

Die Korrelation zwischen IL-8 in Lysat und Plasma war schlecht ( $r < 35$ ).

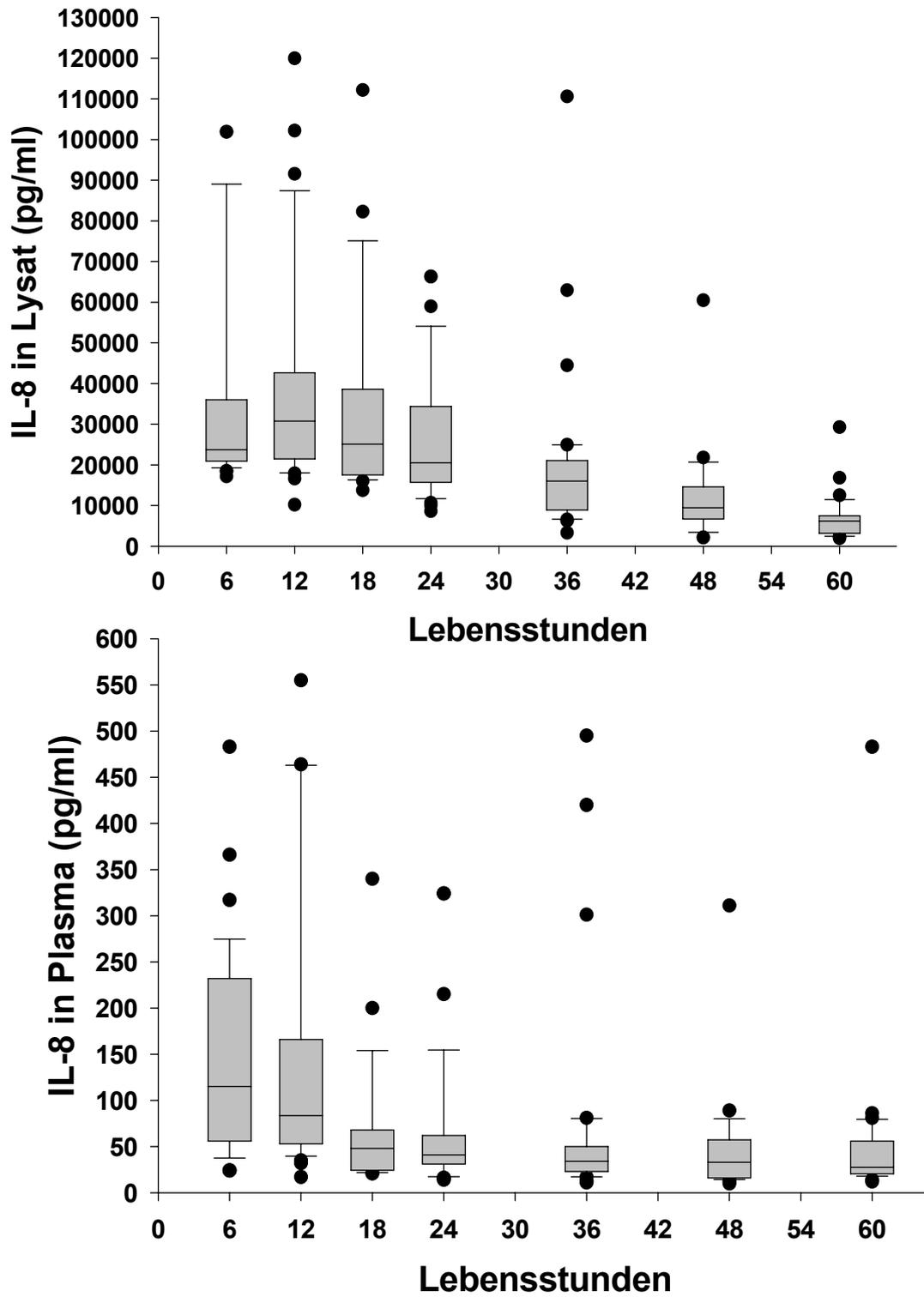


Abb. 14: Kinetik von IL-8 in Lysat und Plasma bei NBI

### **3.5.3 Einfluss des Geschlechts auf Interleukin-8-Konzentrationen in Lysat und Plasma**

Beim Vergleich der Interleukin-8-Werte in Lysat in Abhängigkeit vom Geschlecht 0 - 6 Stunden nach Geburt konnte weder in der NBI-Gruppe noch in der Kontrollgruppe ein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden.

Der Mittelwert lag bei männlichen kranken Neugeborenen bei 39 657,3 pg/ml (SD: 25 809,0 pg/ml) und bei weiblichen kranken Neugeborenen bei 32 726,6 pg/ml (SD: 27 388,8 pg/ml). Bei männlichen Neugeborenen aus der Kontrollgruppe lag der Wert bei 10 672,9 pg/ml (SD: 4 259,3 pg/ml) und bei weiblichen Neugeborenen aus der Kontrollgruppe bei 10 236,4 pg/ml (SD: 4 535,6 pg/ml).

Beim Vergleich der Interleukin-8-Werte im Plasma in Abhängigkeit vom Geschlecht 0-6 Stunden nach Geburt konnte ebenfalls weder in der NBI-Gruppe noch in der Kontrollgruppe ein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden.

Der Mittelwert bei männlichen kranken Neugeborenen lag bei 132,8 pg/ml (SD: 112,9 pg/ml) und bei weiblichen kranken Neugeborenen bei 170,3 pg/ml (SD: 159,8 pg/ml). Bei männlichen Neugeborenen aus der Kontrollgruppe lag der Wert bei 31,7 pg/ml (SD: 17,4 pg/ml) und bei weiblichen Neugeborenen aus der Kontrollgruppe bei 35,3 pg/ml (SD: 18,5 pg/ml)(vgl. Abb. 15).

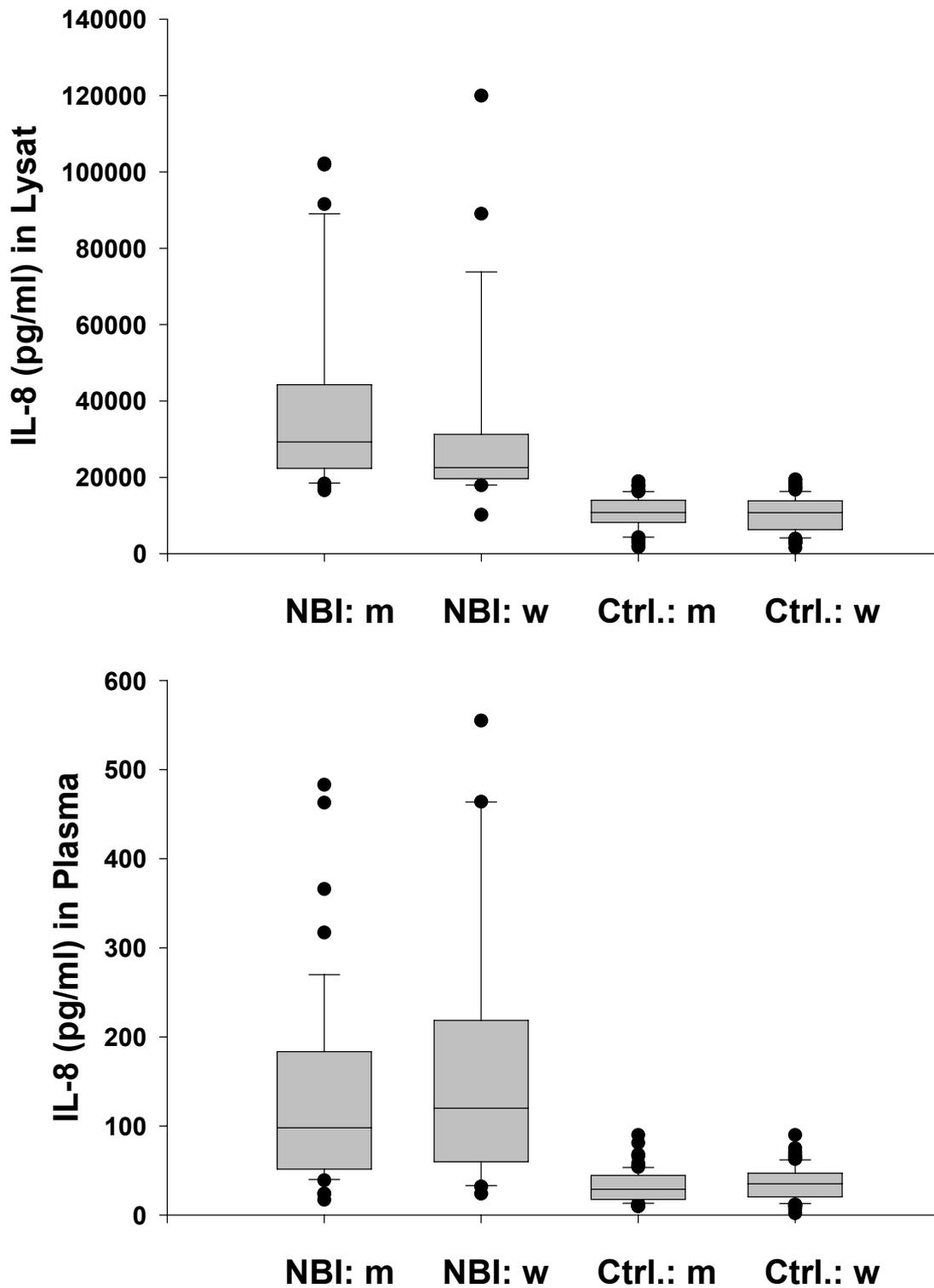


Abb.15: IL-8-Konzentrationen in Lysat und Plasma innerhalb der ersten 6 Lebensstunden in Abhängigkeit vom Geschlecht

### **3.5.4 Einfluss von Geburtsgewicht und Geburtsmodus auf Interleukin-8-Werte in Lysat und Plasma in der Kontrollgruppe**

Um die große Streubreite der IL-8-Werte in der Kontrollgruppe näher zu untersuchen, betrachteten wir die IL-8-Konzentrationen in Abhängigkeit von Geburtsgewicht und Geburtsmodus:

Innerhalb der ersten 6 Lebensstunden ließ sich bei gesunden Neugeborenen weder in Lysat noch in Plasma eine signifikante Abhängigkeit zwischen IL-8 und Geburtsgewicht erkennen.

Der Vergleich der IL-8-Werte von gesunden Neugeborenen 0-6 Stunden nach Geburt zeigte, dass sich in Plasma die IL-8-Werte spontangeborener Kinder signifikant von Werten der Kinder, die durch Vakuumextraktion oder per Kaiserschnitt aus wehenlosem Uterus geboren wurden, unterschieden ( $p < 0,05$ ).

Die Mittelwerte im Plasma lagen bei spontangeborenen Kindern bei 34,7 pg/ml (SD: 14,3 pg/ml), bei Neugeborenen, die mittels Vakuumextraktion zur Welt kamen am höchsten bei 54,0 pg/ml (SD: 30,4 pg/ml) und bei per Kaiserschnitt geborenen Kindern am niedrigsten bei 22,4 pg/ml (SD: 13,6 pg/ml).

In Lysat zeigten sich signifikante Unterschiede der IL-8-Werte zwischen spontangeborenen Kindern und Kindern, die mittels Vakuumextraktion zur Welt kamen oder per Sectio caesarea bei wehenlosem Uterus geborenen wurden ( $p < 0,05$ ).

Die Mittelwerte in Lysat lagen bei spontan geborenen Kindern bei 10 169,0 pg/ml (SD: 3 786,0 pg/ml), bei Neugeborenen, die mittels Vakuumextraktion zur Welt kamen wiederum am höchsten bei 17 645,0 pg/ml (SD: 7 576,9 pg/ml) und bei per Kaiserschnitt geborenen Kindern bei 7 797,6 pg/ml (SD: 3 921,6 pg/ml). 18 Stunden nach Geburt zeigten im Plasma die IL-8-Werte gesunder Neugeborener in Abhängigkeit vom Geburtsmodus keine signifikanten Unterschiede mehr ( $p > 0,05$ ).

Die Mittelwerte im Plasma waren bei spontangeborenen Kindern auf 27,7 pg/ml (SD: 12,0 pg/ml) abgefallen, bei Neugeborenen, die mittels Vakuumextraktion zur Welt gekommen waren, am stärksten auf 20,4 pg/ml (SD: 8,4 pg/ml). Bei

per Sectio caesarea geborenen Kindern waren die IL-8-Werte nur sehr gering auf 21,1 pg/ml (SD: 10,0 pg/ml) abgefallen.

In Lysat ließ sich 18 Stunden nach Geburt noch zwischen per Sectio cesarea geborenen Neugeborenen und Kindern, die mittels Vakuumextraktion geboren wurden, ein signifikanter Unterschied nachweisen ( $p < 0,05$ ). Zwischen allen anderen Gruppen gab es keinen signifikanten Unterschied ( $p > 0,05$ ). Die IL-8-Werte bei Neugeborenen, die mittels Vakuumextraktion zur Welt kamen, lagen noch immer am höchsten bei 12 272,0 pg/ml (SD: 3 635,5 pg/ml), am niedrigsten die Werte von per Sectio cesarea geborenen Kindern bei 7 244,4 pg/ml (SD: 3 288,9 pg/ml). Die IL-8-Werte bei spontan geborenen Neugeborenen lagen bei 9 181,3 pg/ml (SD: 4 531,6 pg/ml)(vgl. Abb. 16).

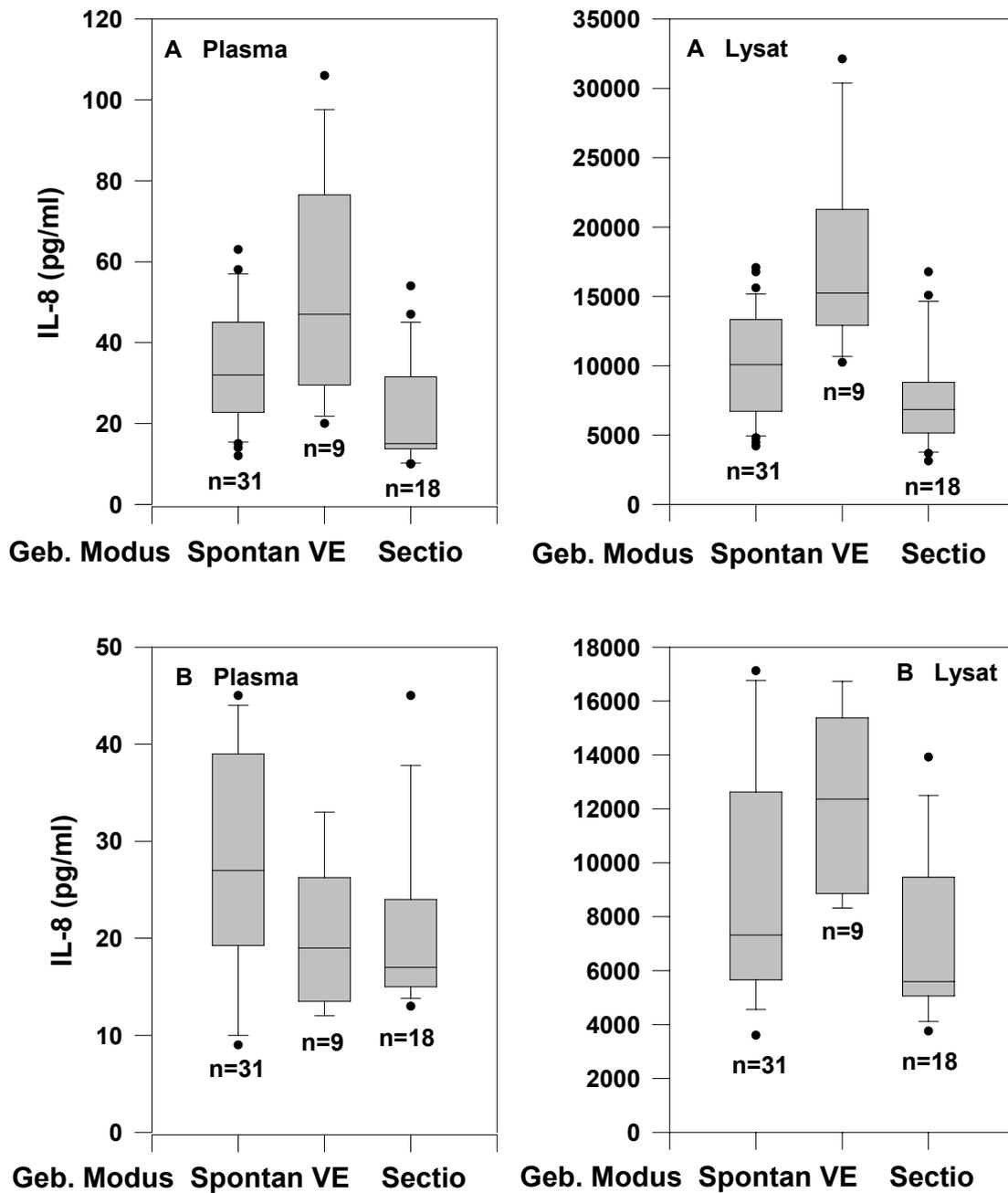


Abb. 16: IL-8-Konzentration gesunder Neugeborener direkt nach Geburt (A) und 18 Stunden nach Geburt (B) in Abhängigkeit vom Geburtsmodus

### **3.5.5 Zusammenhang zwischen APGAR-Score und Interleukin-8-Werten in Lysat und Plasma bei Geburt**

Es wurden alle Interleukin-8-Werte 0-6 Stunden nach Geburt unabhängig, ob das Neugeborene an einer NBI erkrankt war oder nicht, in Abhängigkeit von dem APGAR-Wert nach 5 Minuten untersucht.

Die Mediane der Interleukin-8-Werte in Lysat in Abhängigkeit vom APGAR-Wert zeigten kaum eine Schwankung. Hingegen sanken die Mittelwerte mit steigendem APGAR-Wert. Dies lässt sich dadurch erklären, dass der Mittelwert empfindlicher gegen Ausreißer ist, als der Median.

Mittelwerte:

APGAR von 7: 30 553,3 pg/ml (SD: 39 117,7 pg/ml)

APGAR von 8: 19 470,7 pg/ml (SD: 21 471,5 pg/ml)

APGAR von 9: 13 901,4 pg/ml (SD: 10 844,4 pg/ml)

APGAR von 10: 17 138,9 pg/ml (SD: 19 897,7 pg/ml)

Es fanden sich keine signifikanten Zusammenhänge zwischen APGAR-Score und IL-8-Werten.

Die Mediane der IL-8-Werte in Plasma in Abhängigkeit vom APGAR-Wert zeigten kaum eine Schwankung. Die Mittelwerte sanken leicht mit steigendem APGAR-Wert (vgl. Abb 17):

Mittelwerte:

APGAR von 7: 95,3 pg/ml (SD: 88,9 pg/ml)

APGAR von 8: 81,7 pg/ml (SD: 77,8 pg/ml)

APGAR von 9: 52,7 pg/ml (SD: 73,2 pg/ml)

APGAR von 10: 59,9 pg/ml (SD: 80,2 pg/ml)

Es fanden sich keine signifikanten Zusammenhänge zwischen APGAR-Score und IL-8-Werten.

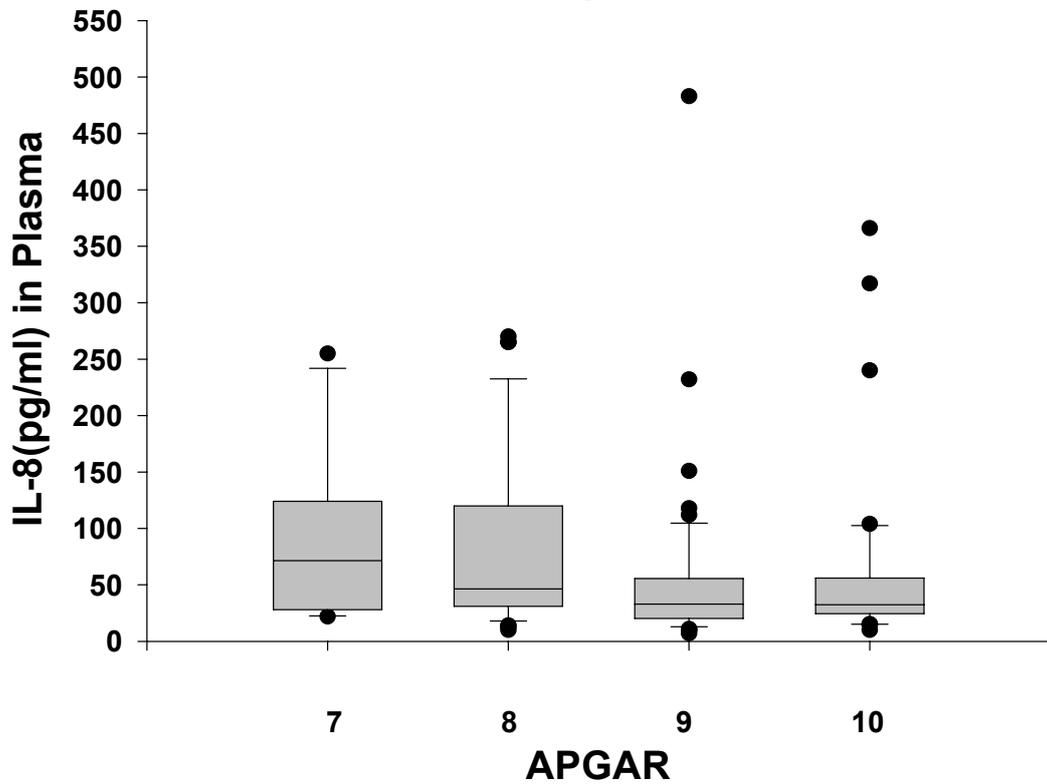
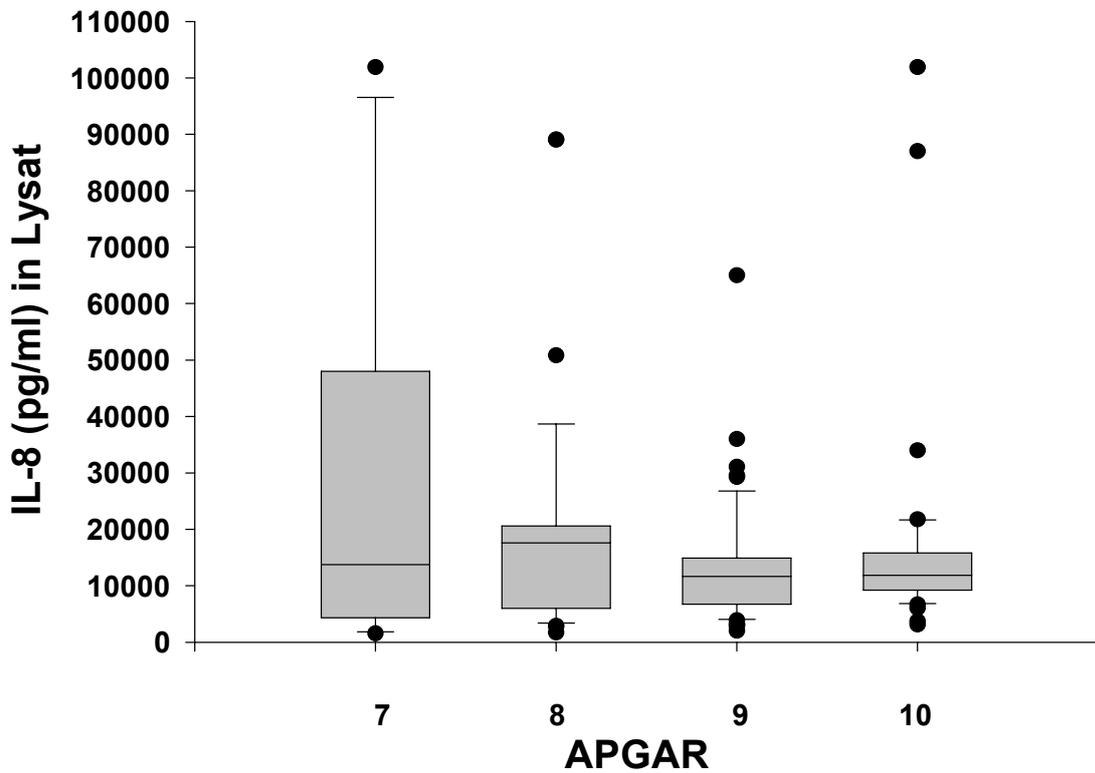


Abb. 17: Abhängigkeit der Interleukin-8 Wertei Lysat und Plasma vom APGAR nach 5 min

### **3.5.6 Einfluss mütterlicher Risikofaktoren auf Interleukin-8-Werte in LySAT und Plasma**

Zur Untersuchung mütterlicher Risikofaktoren auf IL-8 Werte wurden aus dem Patientenkollektiv 3 Gruppen gebildet:

- Neugeborene, bei denen aufgrund mütterlicher Risikofaktoren Blut zur Infektionsdiagnostik abgenommen worden war, die aber keine NBI entwickelten.
- Neugeborene, die an einer NBI erkrankt waren, aber bei denen keine mütterlichen Risikofaktoren vorlagen.
- Neugeborene, die an einer NBI erkrankt waren und bei denen mütterlichen Risikofaktoren vorlagen.

Zu den mütterlichen Risikofaktoren zählten:

vorzeitiger Blasensprung, grünes Fruchtwasser, Fieber, Leukozytose, CRP-Erhöhung, prä-/peripartale Antibiotikatherapie, pathologisches CTG und tachykardes CTG.

Anhand eines Scores wurde die Klinik des Neugeborenen in den ersten 6 Lebensstunden quantifiziert: Jeder der folgenden klinischen Auffälligkeiten bekam die Wertigkeit von einem Punkt in dem Score-System:

Zyanose, „gräuliches Munddreieck“, blasses Hautkolorit, kapilläres Refill > 2 sec., Tachypnoe, Dyspnoe, verminderter Muskeltonus, Temperaturinstabilität, und Tachykardie.

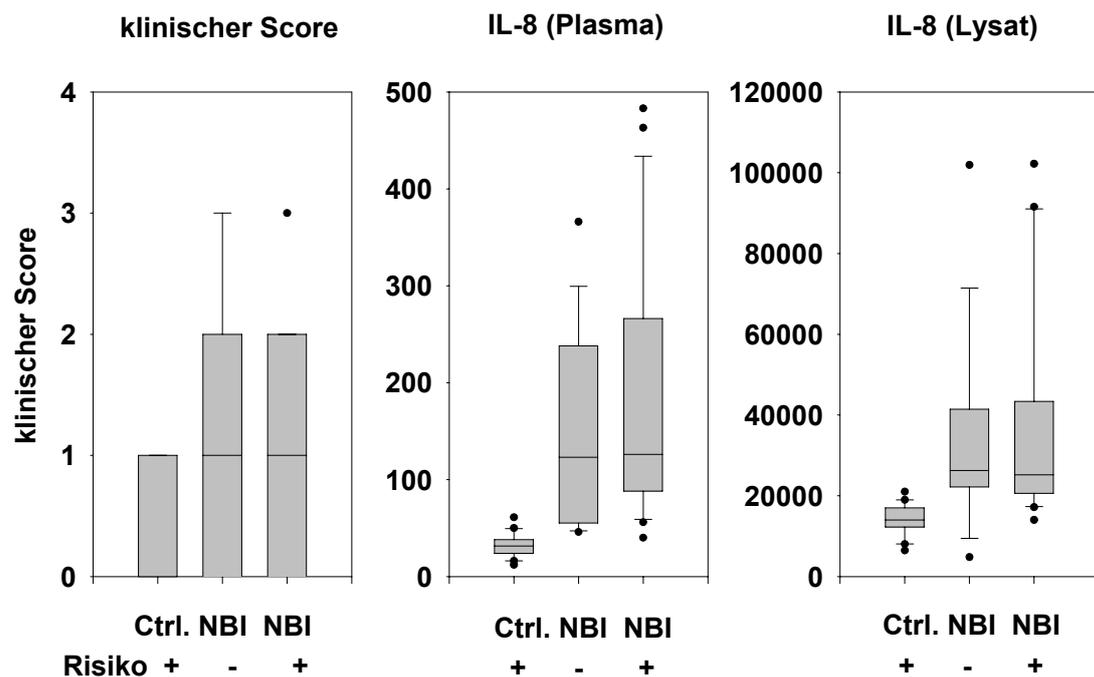


Abb. 18: Einfluss mütterlicher Risikofaktoren und klinischer Auffälligkeiten des Neugeborenen auf kindliche Interleukin-8-Werte in Lysat und Plasma

Gesunde Neugeborene mit mütterlichen Risikofaktoren zeigten nie mehr als eine klinische Auffälligkeit. Der Mittelwert von IL-8 in Lysat lag bei 14 054,8 pg/ml (SD: 4 016,9 pg/ml), in Plasma bei 32,0 pg/ml (SD: 12,7 pg/ml).

Neugeborene, die an einer NBI erkrankt waren, bei denen aber keine mütterlichen Risikofaktoren vorlagen, zeigten die meisten klinischen Auffälligkeiten bis zu einem Score-Wert von 3. Der Mittelwert von IL-8 in Lysat lag bei 34 196,4 pg/ml (SD: 25 938,5 pg/ml) und in Plasma bei 156,8 pg/ml (SD:107,9 pg/ml).

Neugeborene, die an einer NBI erkrankt waren, bei denen mütterliche Risikofaktoren vorlagen, zeigten, bis auf einen Ausreißer mit einem Score-Wert von 3, Werte von 0 bis 2. Der Mittelwert von IL-8 in Lysat lag bei 37 916,5 pg/ml (SD: 28 323,2 pg/ml) und in Plasma bei 189,0 pg/ml (SD: 135,5 pg/ml)(vgl. Abb. 18).

Mittels des t - Tests konnte zwischen den beiden Gruppen der Neugeborenen, die an einer NBI erkrankt waren, bei denen aber keine mütterlichen Risikofaktoren vorlagen und Neugeborenen, die an einer NBI erkrankt waren und bei denen mütterlichen Risikofaktoren vorlagen, weder bei klinischen

Auffälligkeiten, noch bei IL-8-Werten signifikante Unterschiede nachgewiesen werden ( $p > 0,05$ ). Die IL-8-Konzentrationen zwischen den beiden NBI-Gruppen mit und ohne mütterlichen Risikofaktoren und der Kontrollgruppe unterschieden sich jeweils hochsignifikant ( $p < 0,05$ ).

### **3.5.7 Vergleich der Kinetik des CRP in der Kontroll- und NBI-Gruppe**

In der Kontrollgruppe stiegen die CRP-Werte von initial 0,17 mg/dl (SD: 0,95 mg/dl) bis 48 Stunden nach Geburt auf 0,83 mg/dl (SD: 1,84) an. Nach 60 Stunden waren die CRP-Werte wieder auf 0,28 mg/dl (SD: 0,31 mg/dl) abgefallen.

In der NBI-Gruppe lagen die CRP-Werte initial bei 0,37 mg/dl (SD: 0,58 mg/dl) und stieg bis 24 Stunden nach Geburt auf 3,30 mg/dl (SD: 1,58 mg/dl) an. Im weiteren Verlauf fielen die Werte wieder ab und lagen nach weiteren 36 Stunden bei 0,83 mg/dl (SD: 0,82 mg/dl)(vgl. Abb. 19).

18 bis 36 Stunden nach Geburt ließ sich zwischen Kontrollgruppe und NBI-Gruppe ein signifikanter Unterschied nachweisen ( $p < 0,05$ ).

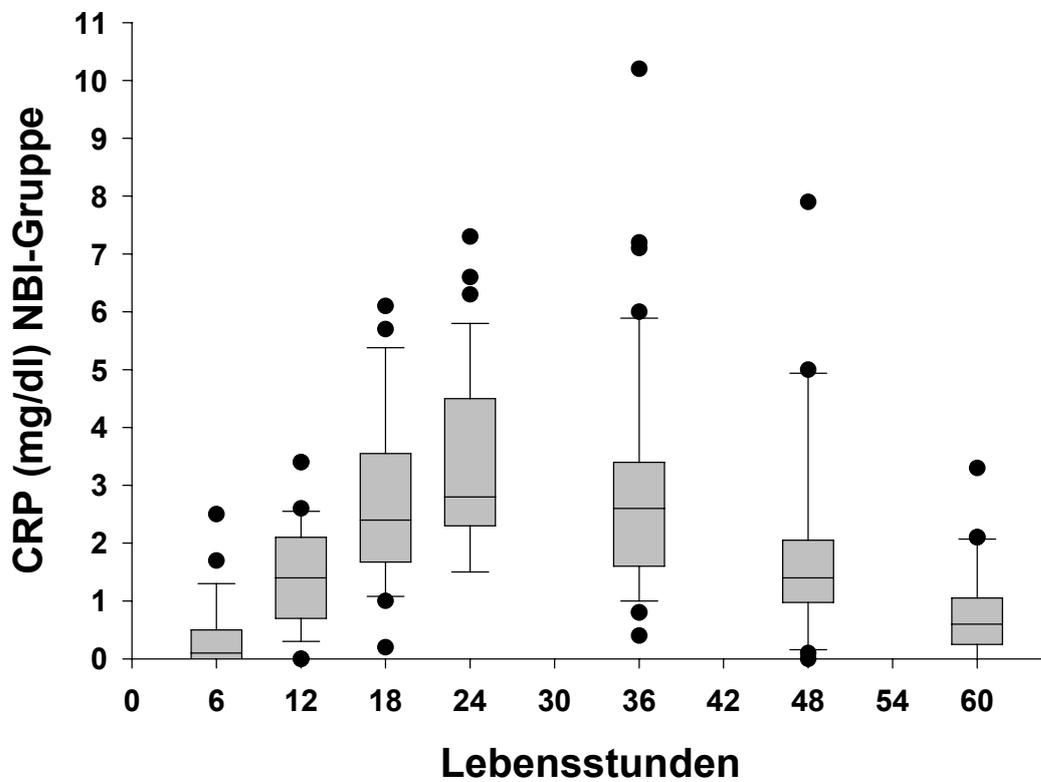
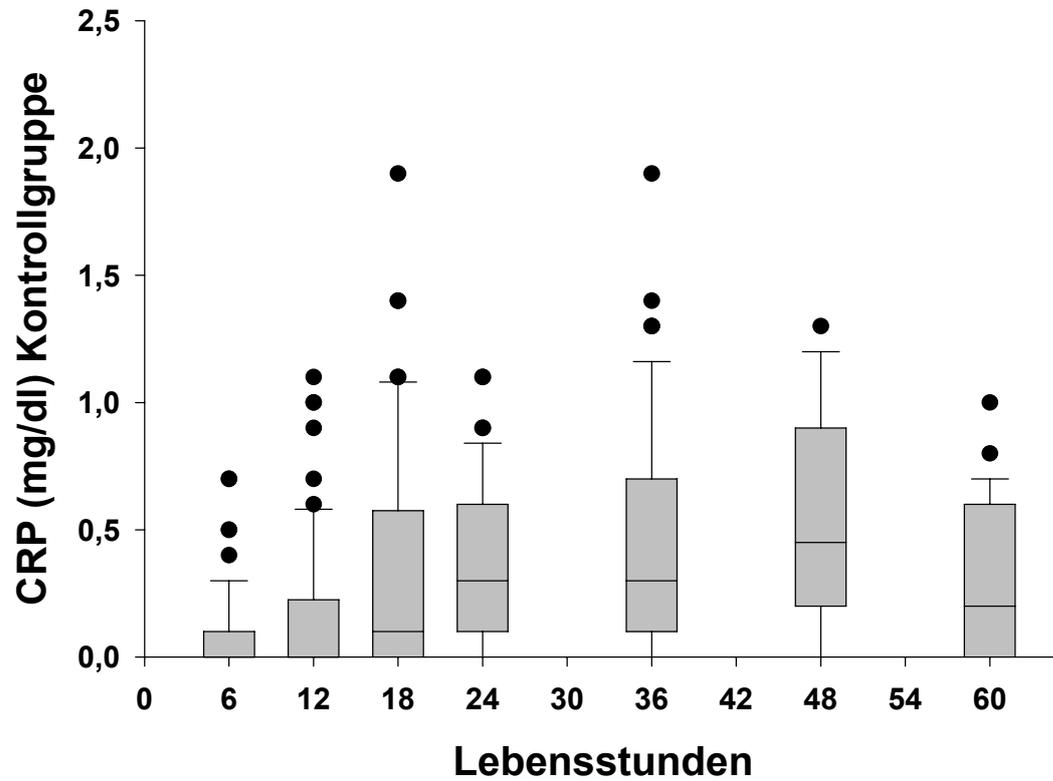


Abb. 19: Kinetik des CRP bei NBI und in der Kontrollgruppe

### **3.5.8 Vergleich der Kinetik der Leukozytenzahl in der Kontroll- und NBI-Gruppe**

In der Kontrollgruppe betrug die Leukozytenzahl 6 Stunden nach Geburt  $20\,320/\text{mm}^3$  (SD:  $7\,549/\text{mm}^3$ ). Sie fiel bis 60 Stunden nach Geburt auf  $11\,392/\text{mm}^3$  (SD:  $3\,471/\text{mm}^3$ ) ab.

In der NBI-Gruppe lag die Leukozytenzahl 6 Stunden nach Geburt bei  $21\,321/\text{mm}^3$  (SD:  $8\,378/\text{mm}^3$ ). Bis 60 Stunden nach Geburt fiel die Anzahl auf  $12\,421/\text{mm}^3$  (SD:  $4\,929/\text{mm}^3$ ) ab (vgl. Abb. 20). Die Leukozytenzahlen in der Kontrollgruppe und der NBI-Gruppe unterschieden sich nicht signifikant ( $p > 0,05$ ).

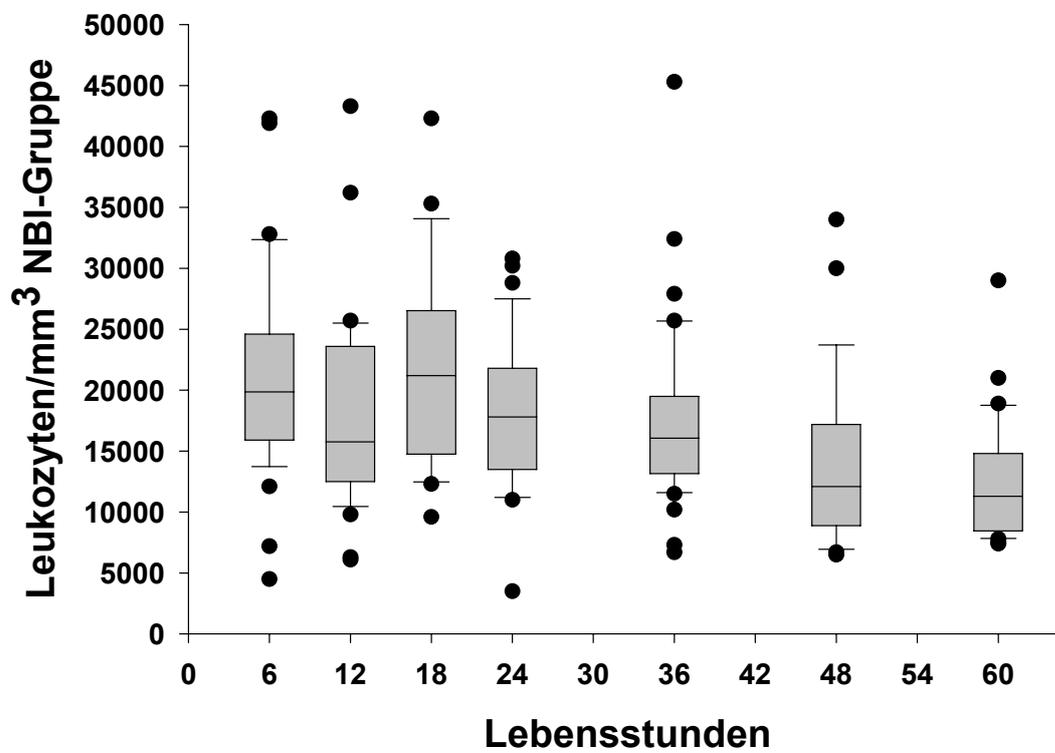
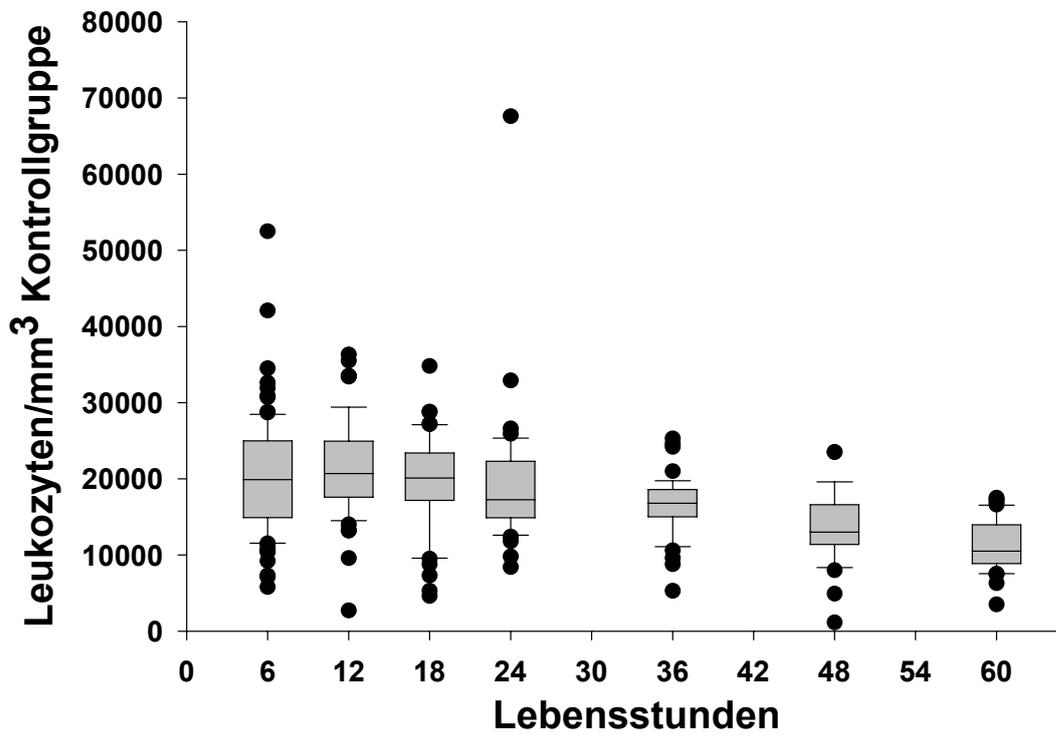


Abb. 20: Kinetik der Leukozyten bei NBI und in der Kontrollgruppe

### **3.5.9 Vergleich der Kinetik des I/T-Quotienten in der Kontroll- und NBI-Gruppe**

Der I/T-Quotient betrug in der Kontrollgruppe 6 Stunden nach Geburt 0,040 (SD: 0,040) und fiel bis 60 Stunden nach Geburt auf 0,014 (SD: 0,019) ab.

In der NBI-Gruppe lag der I/T-Quotient anfangs bei 0,085 (SD: 0,172) und stieg innerhalb der ersten 18 Lebensstunden auf 0,120 (SD: 0,136) an. Bis 60 Stunden nach Geburt fiel der I/T-Quotient auf 0,020 (SD: 0,030) ab (vgl. Abb. 21).

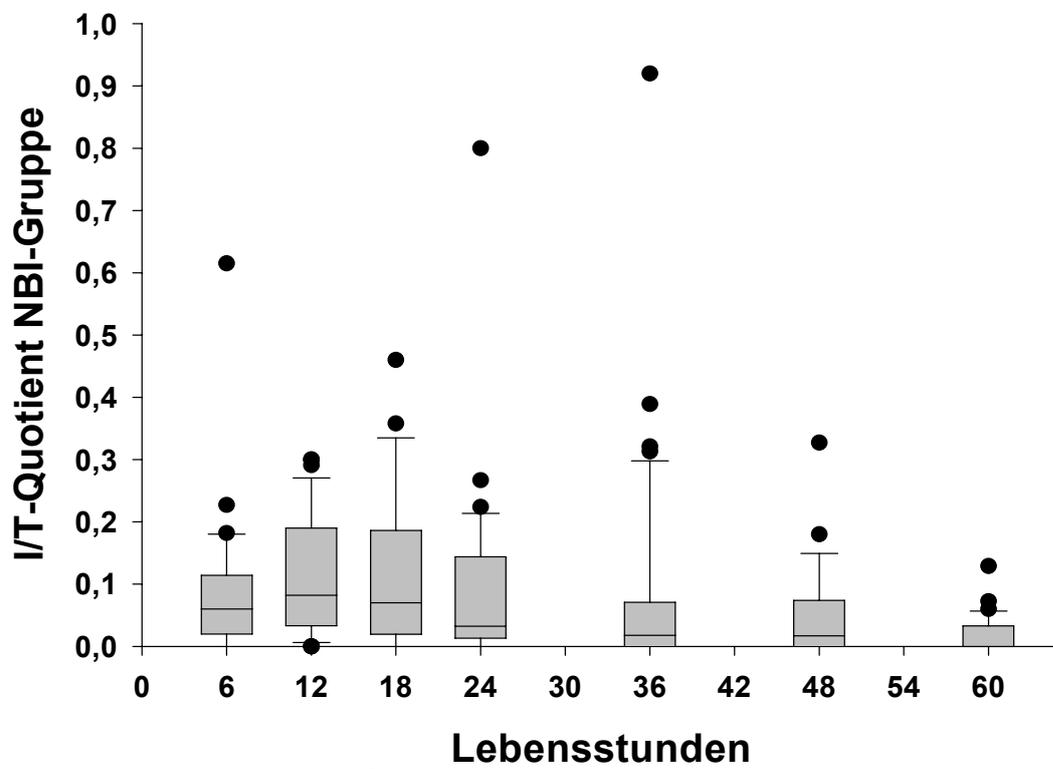
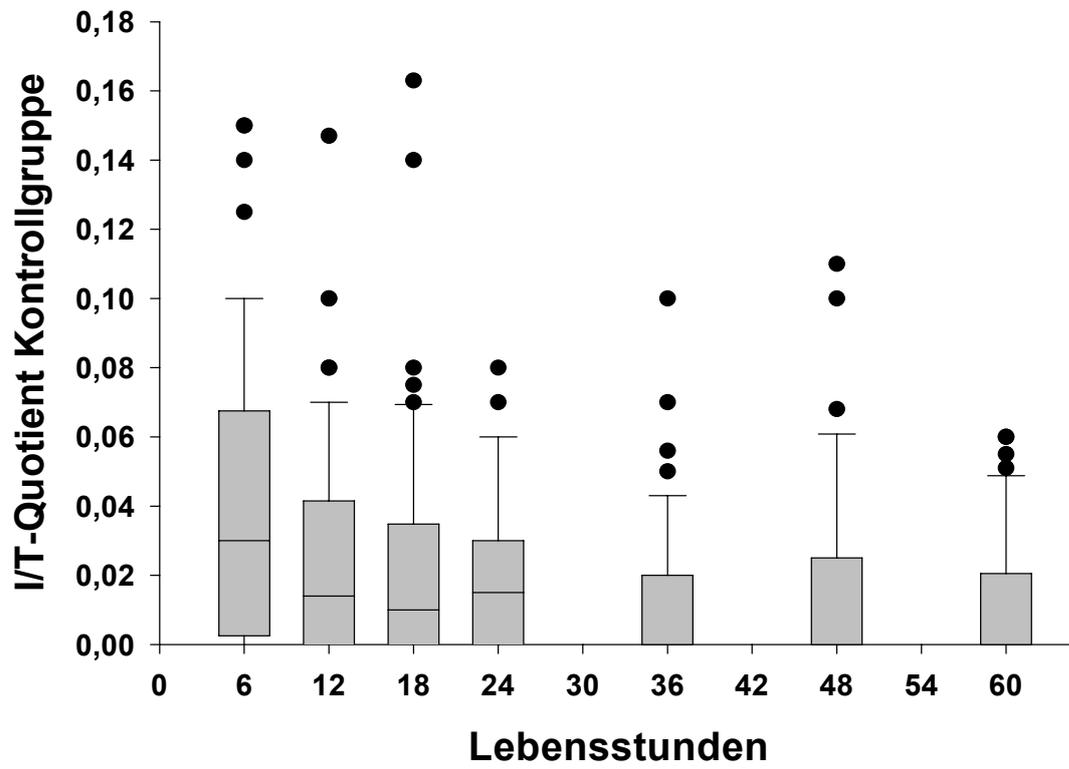


Abb. 21: Kinetik des I/T-Quotienten bei NBI und in der Kontrollgruppe

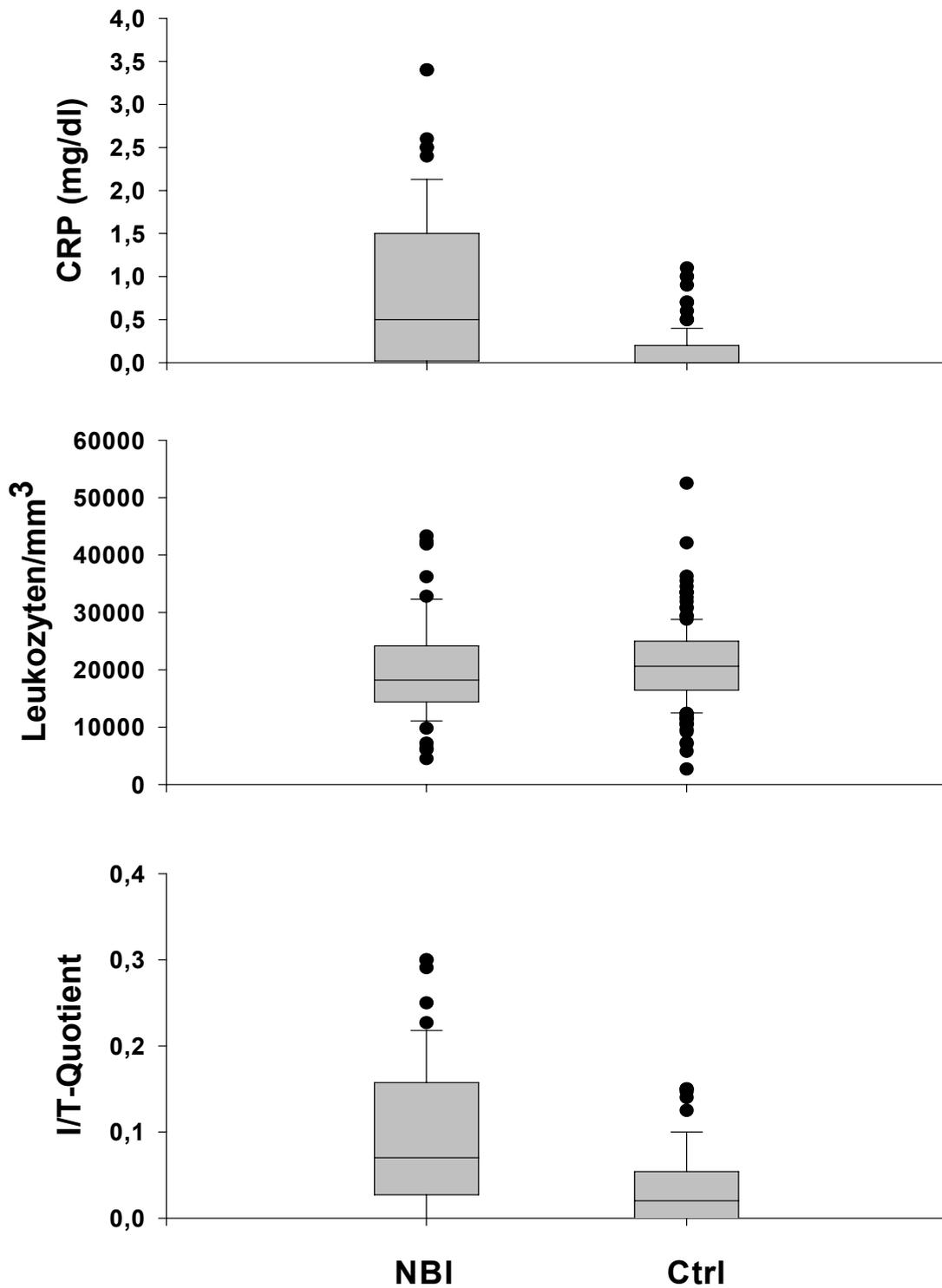


Abb.22: Vergleich von CRP, Leukozyten und I/T-Quotient zwischen der NBI-Gruppe und der Kontrollgruppe 0-12 Stunden nach Geburt

### **3.6 Sensitivität, Spezifität und prädiktive Werte**

Für IL-8 in Lysat und Plasma, CRP und den I/T-Quotienten wurden zu allen Zeitpunkten Spezifität, Sensitivität, sowie die entsprechenden 95%-Konfidenzintervalle bestimmt. Die prädiktiven Werte wurden innerhalb der ersten 6 Lebensstunden in Abhängigkeit von der Prävalenz berechnet. Die Prävalenz der NBI betrug in unserem Patientenkollektiv 0,245.

Im Falle der Leukozytenzahl wurde auf die Berechnung von Sensitivität, Spezifität und prädiktiver Werte verzichtet, da die NBI-Gruppe und die Kontrollgruppe sich nur geringfügig unterschieden und keine vernünftigen Ergebnisse zu erwarten gewesen wären.

#### **3.6.1 ROC-Kurven zum Zeitpunkt des ersten Verdachts auf eine NBI**

Zur Ermittlung der Entscheidungsgrenzen für IL-8-Werte in Lysat und Plasma, ob das Neugeborene an einer NBI erkrankt war oder nicht, wurden ROC-Kurven 6, 12, 18 und 24 Stunden nach Geburt erstellt.

Anhand der ROC-Kurven konnte für IL-8-Werte in Lysat eine Entscheidungsgrenze bei 18 000 pg/ml ermittelt werden und für IL-8-Werte in Plasma eine Entscheidungsgrenze bei 60 pg/ml (vgl. Abb. 23/Tab. 8).

Als Faustregel für Referenzbereiche gilt: Mittelwert  $\pm$  zwei Standardabweichungen. Dieser liegt für IL-8-Werte in Lysat bei  $10\ 000 \pm 4\ 000$  pg/ml, also bei  $\leq 18\ 000$  pg/ml. Für IL-8-Werte in Plasma liegt der Referenzbereich bei  $34 \pm 18$  pg/ml, also bei  $\leq 70$  pg/ml.

Die Spezifität, Sensitivität, positiv prädiktiver Wert und negativ prädiktiver Wert für IL-8-Werte in Plasma wurden aufgrund der Ergebnisse der ROC-Kurve für eine Entscheidungsgrenze von  $\leq 60$  pg/ml berechnet, da eine höhere Sensitivität erreicht wurde.

Die Spezifität, Sensitivität und die prädiktiven Werte für das CRP wurden für eine Entscheidungsgrenze von  $\leq 1$  mg/dl, für den I/T-Quotienten für eine Entscheidungsgrenze von  $\leq 0,20$  berechnet.

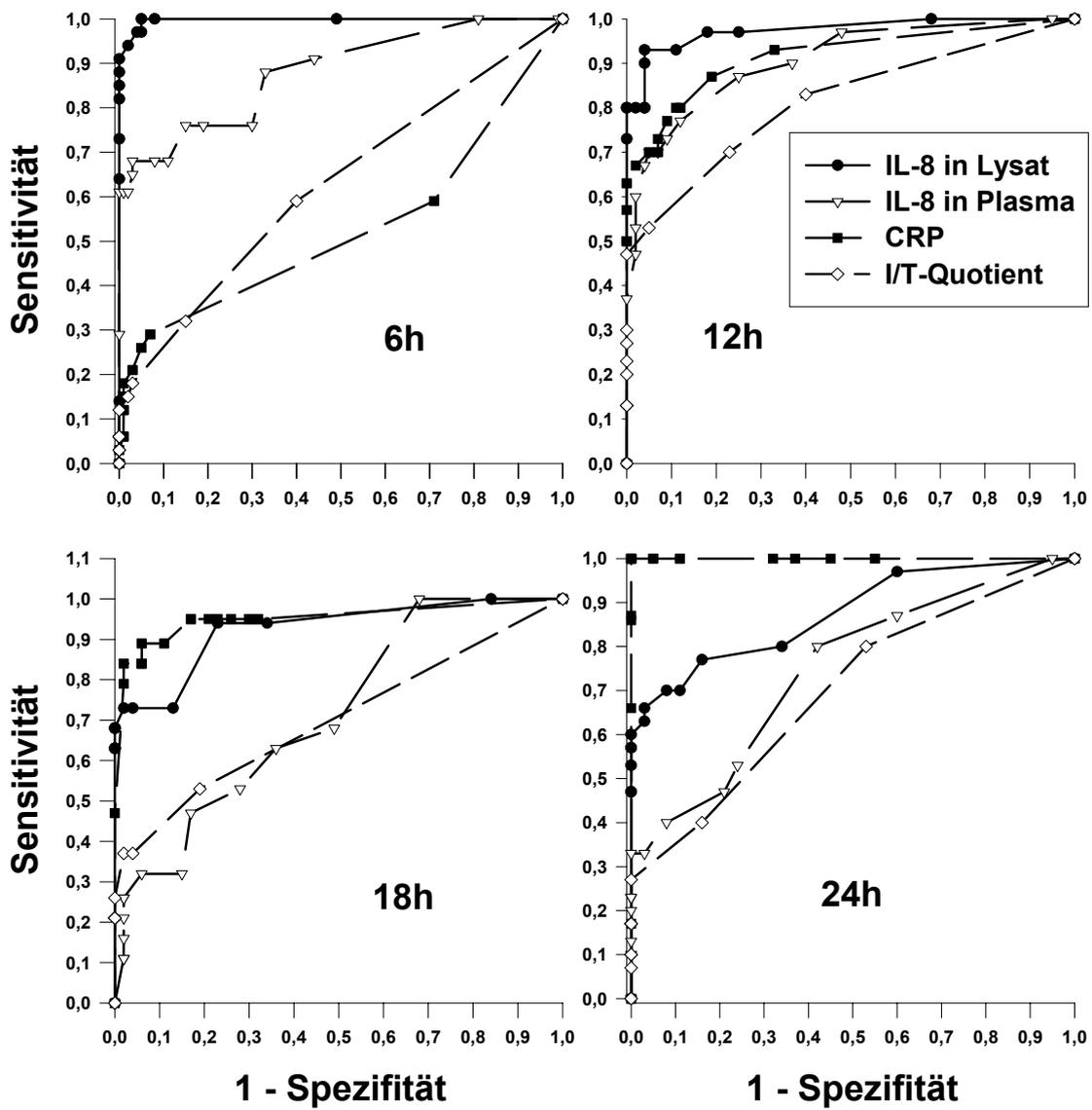


Abb.23: ROC-Kurven 6, 12, 18 und 24 Stunden nach Geburt

Interleukin-8 in Lysat			Interleukin-8 in Plasma		
Cut-off (pg/ml)	Sensitivität	1-Spezifität	Cut-off (pg/ml)	Sensitivität	1-Spezifität
15000	1,00	0,70	20	1,00	0,99
16000	1,00	0,34	30	1,00	0,75
17000	0,99	0,10	40	0,91	0,55
17500	0,98	0,08	50	0,76	0,32
18000	0,97	0,05	55	0,71	0,19
18500	0,95	0,04	60	0,71	0,1
19000	0,94	0,02	65	0,68	0,09
19500	0,91	0,01	70	0,68	0,08
20000	0,88	0,00	75	0,65	0,03
20500	0,85	0,00	80	0,62	0,02
21000	0,82	0,00	90	0,62	0,01
22000	0,74	0,00	100	0,59	0,00
23000	0,65	0,00	120	0,44	0,00
25000	0,47	0,00			

Tab.8: Daten zu ROC-Kurven für IL-8 in Lysat und Plasma innerhalb der ersten 6 Lebensstunden.

### 3.6.2 Sensitivität der Entzündungsparameter

IL-8 in Lysat zeigte direkt nach der Geburt eine Sensitivität von 97% [94;100]. Diese fiel im Verlauf ab, lag 12 Stunden nach Geburt bei 93% [87;99] und 24 Stunden nach Geburt immer noch bei 70% [59;81].

Die Sensitivität von IL-8 in Plasma lag bei Geburt bei 71% [63;79] und fiel 12-18 Stunden nach Geburt rasch ab. 18 Stunden nach Geburt lag die Sensitivität nur noch bei 32% [21;43].

Das CRP hatte zu Beginn eine nur sehr geringe Sensitivität von 14% [8,20], stieg dann nach 12-18 Stunden nach Geburt steil an und erreichte 24 Stunden nach Geburt eine Sensitivität von 100% [97;100]. Nach 48 Lebensstunden begann die Sensitivität des CRP wieder zu sinken.

Der I/T-Quotient erreichte 12 Stunden nach Geburt eine maximale Sensitivität von 40% [30;50](vgl. Abb.24/Tab. 9).

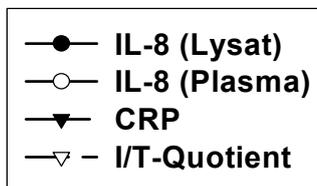
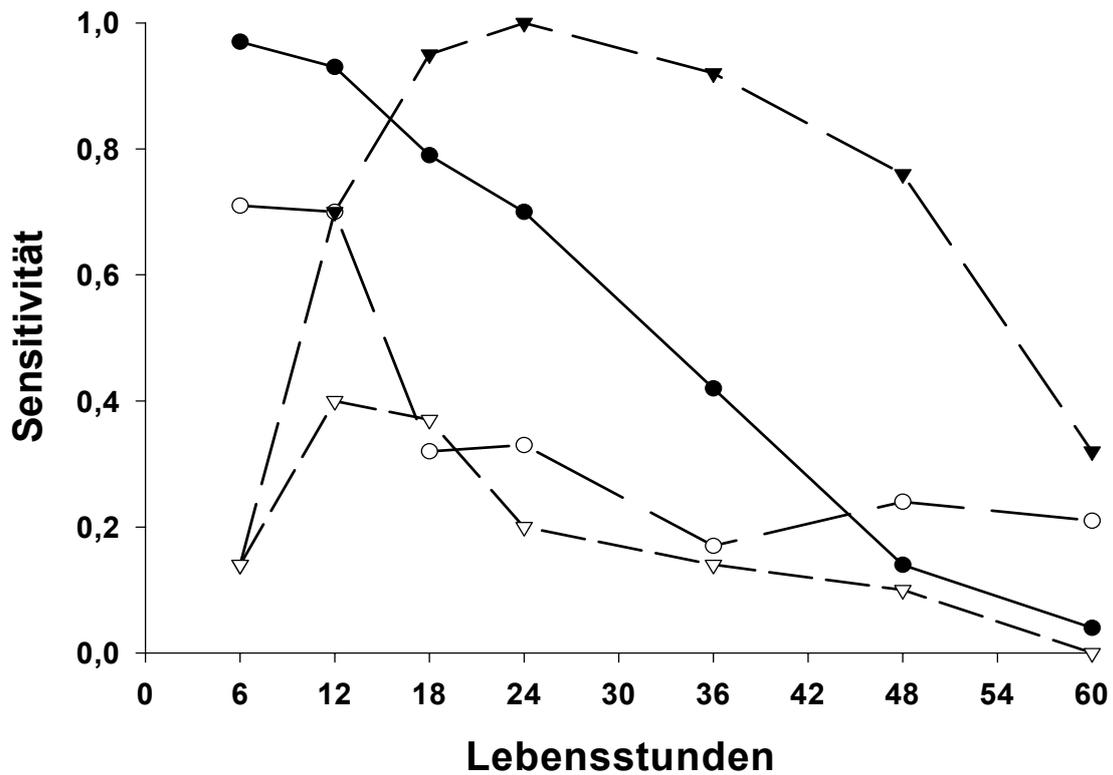


Abb.24: Sensitivität der Entzündungsparameter im zeitlichen Verlauf

Zeit nach Geburt in h	IL-8 EDTA ≥ 18000 pg/ml	IL-8 Plasma ≥ 60 pg/ml	CRP ≥ 1 mg/dl	I/T-Quotient ≥ 0,20
0-6	97% [94;100]	71% [63;79]	14% [8;20]	14% [8;20]
12	93% [87;99]	70% [60;80]	70% [60;80]	40% [30;50]
18	79% [67;87]	32% [21;43]	95% [90;100]	37% [25;49]
24	70% [59;81]	33% [22;44]	100% [97;100]	20% [10;30]
36	42% [31;53]	17% [9;25]	92% [86;98]	14% [6;22]
48	14% [5;23]	24% [13;35]	76% [65;87]	10% [2;18]
60	4% [0;9]	21% [11;31]	32% [20;44]	0% [0;0]

Tab.9: Sensitivität in Abhängigkeit der Lebensstunden mit 95% Konfidenzintervall [ ]

### 3.6.3 Spezifität der Entzündungsparameter

Die Spezifität für IL-8 in Lysat lag direkt nach der Geburt bei 95% [91;99], fiel danach leicht ab und lag 36 Stunden nach Geburt bei 100% [97;100].

Für IL-8 in Plasma lag die Spezifität direkt nach Geburt bei 90% [85;95], stieg im Verlauf leicht an und bewegte sich immer knapp über 90%.

Die Spezifität des CRP lag innerhalb der ersten 6 Lebensstunden bei 100% [97;100] und bewegte sich in der Folge zwischen 83% [74;92] und 97% [93;100].

Der I/T-Quotient erreichte eine sehr hohe Spezifität, die zwischen 98% [96;100] und 100% [97;100] schwankte (vgl. Abb. 25/Tab. 10).

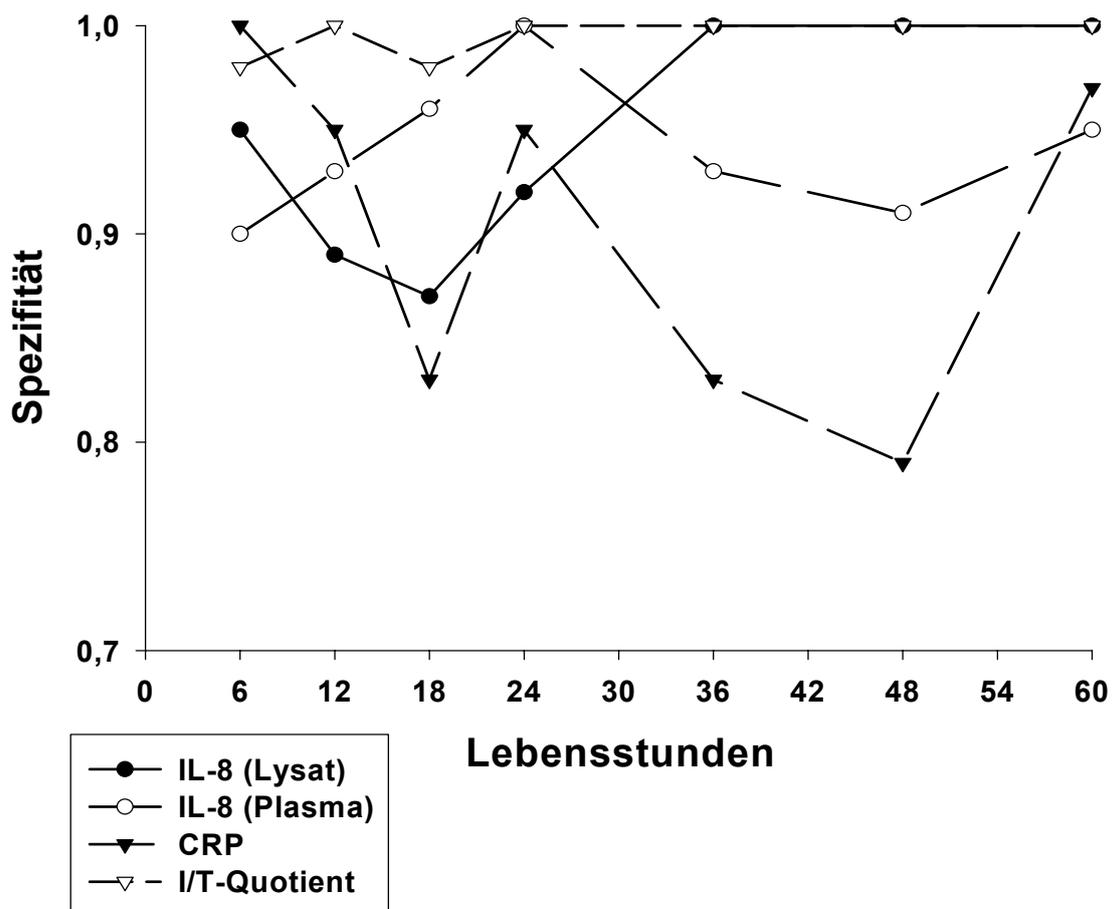


Abb.25: Spezifität der Entzündungsparameter im zeitlichen Verlauf

Zeit nach Geburt in h	IL-8 EDTA ≥ 18000 pg/ml	IL-8 Plasma ≥ 60 pg/ml	CRP ≥ 1 mg/dl	I/T-Quotient ≥ 0,20
0-6	95% [91;99]	90% [85;95]	100% [97;100]	98% [96;100]
12	89% [82;96]	93% [87;99]	95% [91;99]	100% [97;100]
18	87% [79;95]	96% [91;100]	83% [74;92]	98% [95;100]
24	92% [85;99]	100% [97;100]	95% [90;100]	100% [97;100]
36	100% [97;100]	93% [87;99]	83% [74;92]	100% [97;100]
48	100% [97;100]	91% [83;99]	79% [68;90]	100% [97;100]
60	100% [97;100]	95% [90;100]	97% [93;100]	100% [97;100]

Tab.10: Spezifität in Abhängigkeit der Lebensstunden mit 95% Konfidenzintervall [ ]

### 3.6.4 Positiv prädiktiver Wert der Entzündungsparameter

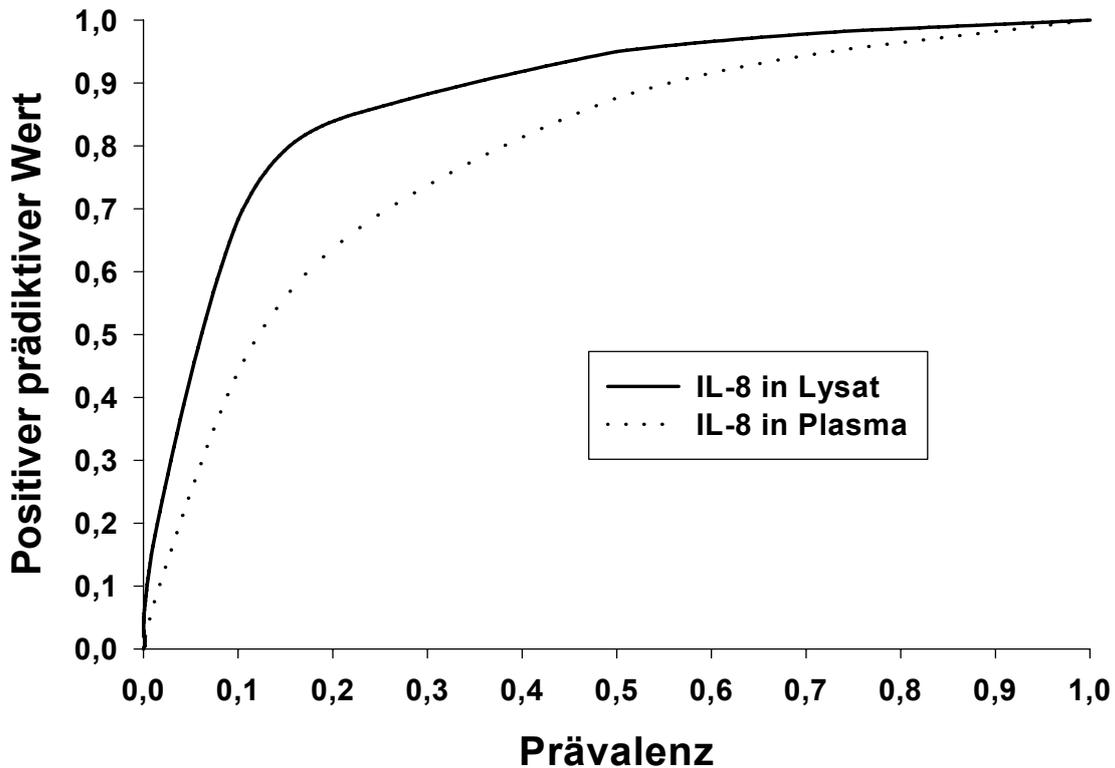


Abb.31: Der positiv prädiktive Wert für Interleukin-8 in Abhängigkeit von der Prävalenz innerhalb der ersten 6 Lebensstunden

<b>Zeit nach Geburt in h</b>	<b>IL-8 EDTA ≥ 18000 pg/ml</b>	<b>IL-8 Plasma ≥ 60 pg/ml</b>	<b>CRP ≥ 1 mg/dl</b>	<b>I/T-Quotient ≥ 0,20</b>
<b>0-6</b>	<b>87%</b> [81;93]	<b>74%</b> [66;82]	<b>100%</b> [97;100]	<b>71%</b> [63;79]
<b>12</b>	<b>82%</b> [74;90]	<b>84%</b> [76;92]	<b>88%</b> [81;95]	<b>100%</b> [97;100]
<b>18</b>	<b>71%</b> [60;82]	<b>75%</b> [65;85]	<b>69%</b> [58;80]	<b>88%</b> [80;96]
<b>24</b>	<b>88%</b> [80;96]	<b>100%</b> [97;100]	<b>94%</b> [88;100]	<b>100%</b> [97;100]
<b>36</b>	<b>100%</b> [97;100]	<b>67%</b> [57;77]	<b>83%</b> [75;91]	<b>100%</b> [97;100]
<b>48</b>	<b>100%</b> [97;100]	<b>63%</b> [50;76]	<b>70%</b> [58;92]	<b>100%</b> [97;100]
<b>60</b>	<b>100%</b> [97;100]	<b>75%</b> [65;85]	<b>90%</b> [83;97]	<b>100%</b> [97;100]

*Tab. 11: Positiv prädiktiver Wert in Abhängigkeit der Lebensstunden bei einer Prävalenz von 0,245 mit 95% Konfidenzintervall [ ]*

Der positiv prädiktive Wert für Interleukin-8 aus Lysat lag ab einer Prävalenz  $\geq 0,15$  über 80%. Bei Interleukin-8 aus Plasma lag der positiv prädiktive Wert ab einer Prävalenz  $\geq 0,4$  über 80%. Bei unserem Patientenkollektiv mit einer Prävalenz von 0,245 lag der positiv prädiktive Wert für Interleukin-8 aus Lysat bei 87% [81;93] und für Interleukin-8 aus Plasma bei 74% [66;82].

Der positiv prädiktive Wert für des CRP lag innerhalb der ersten 6 Lebensstunden bei 100% [97;100], sank aber in den folgenden Stunden ab. Der positiv prädiktive Wert des I/T-Quotienten lag anfangs bei 71% [63;79] und stieg innerhalb der ersten 24 Lebensstunden auf 100% (vgl. Abb. 31/Tab. 11).

### **3.6.5 Negativ prädiktiver Wert der Entzündungsparameter**

Bei unserem Patientenkollektiv mit einer Prävalenz von 0,245 lag der negativ prädiktive Wert für Interleukin-8 aus Lysat bei 99% [97;100] und für Interleukin-8 aus Plasma bei 89% [86;92]. Der negativ prädiktive Wert für des CRP lag innerhalb der ersten 6 Lebensstunden bei 75% [67;83] und stieg in der Folge auf bis zu 100% an. Der negativ prädiktive Wert des I/T-Quotienten lag anfangs bei 75% [67;83] und sank im Verlauf auf bis zu 57% ab(vgl. Abb. 32/Tab. 12).

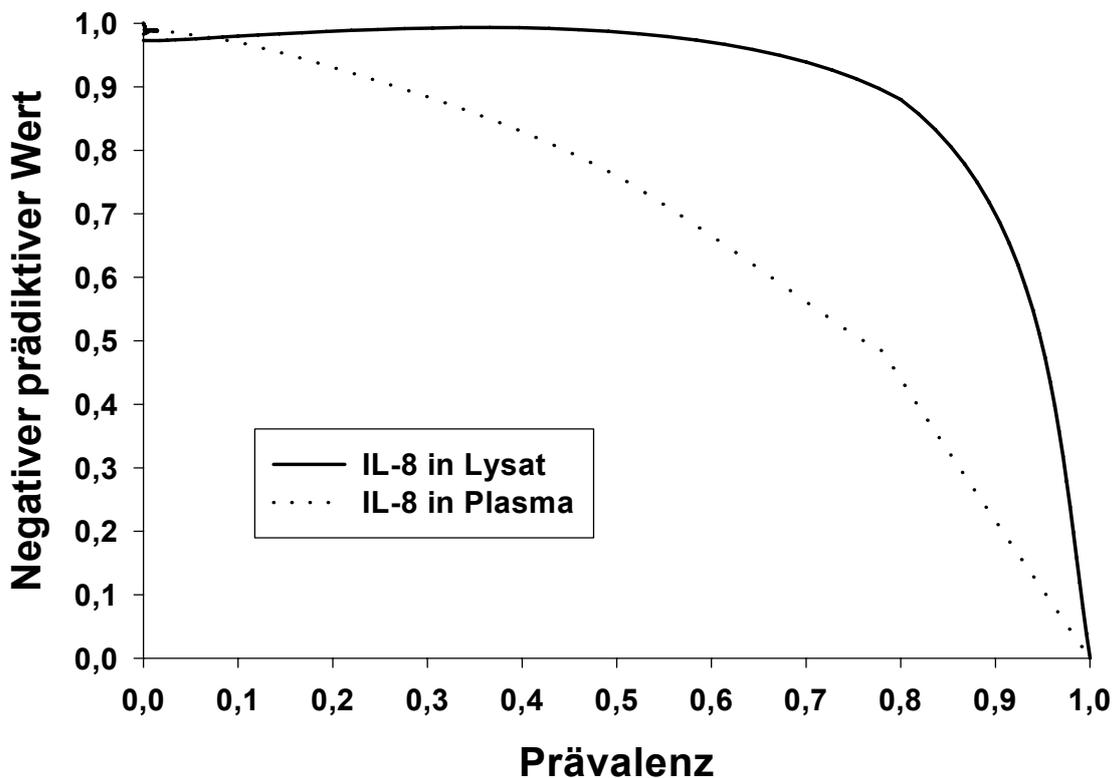


Abb.32: Der negativ prädiktive Wert für Interleukin-8 in Abhängigkeit von der Prävalenz innerhalb der ersten 6 Lebensstunden

Zeit nach Geburt in h	IL-8 EDTA ≥ 18000 pg/ml	IL-8 Plasma ≥ 60 pg/ml	CRP ≥ 1 mg/dl	I/T-Quotient ≥ 0,20
0-6	99% [97;100]	89% [86;92]	75% [67;83]	75% [67;83]
12	96% [92;100]	85% [77;93]	86% [79;93]	76% [67;85]
18	91% [84;98]	78% [68;88]	98% [95;100]	79% [69;89]
24	80% [70;90]	66% [55;77]	100% [97;100]	61% [49;73]
36	67% [57;77]	57% [46;68]	92% [86;98]	57% [46;68]
48	65% [53;77]	66% [54;78]	84% [74;94]	64% [52;76]
60	58% [46;70]	61% [49;73]	65% [53;77]	57% [45;69]

Tab.12: Negativ prädiktiver Wert in Abhängigkeit der Lebensstunden bei einer Prävalenz von 0,245 mit 95% Konfidenzintervall [ ]

## 4 Diskussion

### 4.1 Ziel der Studie

Bakterielle Infektionen tragen trotz wirksamer Antibiotikatherapie erheblich zur Morbidität und Mortalität des Neugeborenen bei. In der Neonatologie ist eine frühzeitige Erkennung von bedrohlichen Infektionen bei Neugeborenen und eine frühzeitige Therapie entscheidend für das Überleben und für eine weitere gesunde Entwicklung der Kinder (10/71). In teils fulminanten Verläufen können Neugeborene klinisch bereits Infektionszeichen aufweisen, während die bisher bestimmten laborchemischen Infektionsparameter wie Blutbild oder CRP-Wert aufgrund der Latenzzeit ihres Ansprechens noch unauffällig sind. Zudem fehlen oft charakteristische klinische Frühsymptome. Ziel ist ein möglichst früher Therapiebeginn, um eine folgenschwere Sepsis zu verhindern.

Ziel der Untersuchung war es die Sensitivität und Spezifität und die prädiktiven Werte des Akutphase-Zytokins Interleukin-8 (IL-8) bei der early-onset Sepsis in Zusammenhang mit den bereits etablierten Infektionsparametern zu bestimmen.

Wie auch in anderen Studien bestand das Problem, die neonatale bakterielle Infektion zu definieren. Bei Neugeborenen mit klinischen und laborchemischen Zeichen einer Infektion fanden wir nur in 2 Fällen eine positive Blutkultur. Deshalb wurden in dieser Studie Neugeborene, die klinische Zeichen einer Infektion zeigten und über mehr als 24 Stunden CRP-Konzentrationen  $\geq 1$  mg/dl oder andere erhöhte Entzündungsparameter (z.B. I/T-Quotient  $\geq 0,20$ ) vorwiesen, bzw eine positive Blutkultur hatten, als krank definiert. Die Untersuchung sollte die Fragestellung klären, ob durch eine Bestimmung der IL-8-Konzentrationen in Plasma und/oder lysiertem Vollblut eine Infektion sicherer und frühzeitiger bestätigt bzw. ausgeschlossen werden kann, als durch die bisher verwendeten Parameter. Alle Kinder wurden retrospektiv ohne Beachtung der Interleukin-8-Konzentrationen auf das Vorliegen einer neonatalen bakteriellen Infektion untersucht. Für IL-8, CRP und den I/T-

Quotient wurden Spezifität, Sensitivität sowie die prädiktiven Werte in Abhängigkeit der Prävalenz mit den entsprechenden 95%-Konfidenzintervallen bestimmt. Um die optimalen Entscheidungsgrenzen der untersuchten Parameter zu bestimmen, wurden ROC-Analysen durchgeführt.

Die Bestimmung der Interleukin-8-Konzentrationen erfolgte mittels eines automatisierten Chemilumineszenzassays der Firma IMMULITE®.

#### **4.2 Anforderungen an Infektionsparameter**

Infektionsparameter, welche zur Frühdiagnostik der neonatalen bakteriellen Infektion eingesetzt werden sollten folgende Kriterien erfüllen:

- Nach Eintreten eines pathologischen Ereignisses sollte ein schneller Anstieg des Parameters gegeben sein.
- Es sollten eindeutige Unterschiede in der Konzentration des Parameters vor und nach Eintreten eines pathologischen Ereignisses gegeben sein.
- Nach Ausbleiben des pathogenen Stimulus, z.B. nach Entzündungsrückgang bzw. unter suffizienter Therapie, sollte es zu einem schnellen Abfall des Parameters kommen.
- Der Parameter sollte möglichst durch exogene Einflüsse wie z.B. Alter, Stress etc. nicht beeinflusst werden.
- Ergebnisse sollten innerhalb kürzester Zeit zur Verfügung stehen.
- Der Kostenfaktor sollte im Verhältnis zum Krankheitsgeschehen stehen.
- Eine Korrelation zwischen der Höhe des Parameters und dem klinischen Schweregrad der Erkrankung sollte gegeben sein.

#### **4.3 Patientenkollektiv**

Von den 271 untersuchten Neugeborenen konnten 249 in die Studie eingeschlossen werden, wovon 61 klinische und laborchemische Zeichen einer Infektion zeigten. Dies entspricht einer Infektionsrate von 25%. Normalerweise

liegt die Inzidenz einer early-onset sepsis bei Reifgeborenen bei 0,1-1% (47/70). Die hohe Zahl an Infektionen lässt sich einmal durch das nicht repräsentative Patientenkollektiv an einem Perinatalzentrum eines Universitätsklinikums erklären, zum anderen wurden nur Kinder in die Studie aufgenommen, die entweder mütterliche Risikofaktoren für NBI und/oder klinische Auffälligkeiten zeigten und zur Bestätigung bzw. Ausschluss einer NBI oder aufgrund anderer Erkrankungen (z.B. Hyperbilirubinämie) Blutentnahmen benötigten.

Auffällig war, dass sich in der NBI-Gruppe doppelt so viele männliche wie weibliche Neugeborene fanden, während in der Kontrollgruppe die Geschlechterverteilung ausgeglichen war. Das männliche Geschlecht des Neugeborenen wird als determinierende Variable für die neonatale Infektion angesehen (150).

Es ließ sich weder bei dem Gestationsalter noch bei dem Geburtsgewicht ein signifikanter Unterschied zwischen der NBI-Gruppe und der Kontrollgruppe feststellen.

Die mittlere Schwangerschaftsdauer betrug in der NBI-Gruppe 282 Tage (SD: 14). In der Kontrollgruppe betrug die mittlere Schwangerschaftsdauer 275 Tagen (SD: 7). Die kürzere Schwangerschaftsdauer in der Kontrollgruppe ergab sich aus der Anzahl an Frühgeburten und der Anzahl der übertragenen Kinder in der NBI-Gruppe.

Ein niedriges Gestationsalter gilt als Risikofaktor für eine neonatale Infektion (8). Je geringer das Gestationsalter, desto größer fällt das Defizit des Immunsystems des Frühgeborenen ins Gewicht (70). Da sich im Patientenkollektiv keine Kinder mit einem Gestationsalter vor der 33. Schwangerschaftswoche befanden, konnte über Unterschiede zwischen reifgeborenen Kindern und extrem Frühgeborenen keine Aussage getroffen werden.

In der NBI-Gruppe betrug das mittlere Geburtsgewicht 3859 g, in der Kontrollgruppe zeigt sich ein mittleres Geburtsgewicht von 4219 g. Die Tatsache, dass in der NBI-Gruppe trotz der im Mittel längeren Schwangerschaftsdauer das Geburtsgewicht niedriger lag als in der Kontrollgruppe, muss man der Neugeboreneninfektion und den mütterlichen Risikofaktoren zuschreiben.

Betrachtete man die Unterschiede bei den Geburtsmodi beider Gruppen, fiel auf, dass in der Kontrollgruppe 66% der Kinder spontan geboren wurden, in der NBI-Gruppe 55%. In der Kontrollgruppe war bei 5% eine Vakuumextraktion und bei 28% ein Kaiserschnitt nötig, in der NBI-Gruppe bei 7% eine Vakuumextraktion und bei 36% ein Kaiserschnitt. In der NBI-Gruppe musste bei 3% (n=2) eine Notsectio aufgrund pathologischem CTG durchgeführt werden. In der Kontrollgruppe kam es in 1% (n=2) zu einer Notsectio aufgrund von vaginaler Blutung und pathologischem CTG.

Beim APGAR-Wert ließ sich kein signifikanter Unterschied zwischen der NBI-Gruppe und der Kontrollgruppe nachweisen. Es wurde jeweils der APGAR-Wert nach fünf Minuten bewertet, da dieser für das Outcome des Kindes am aussagekräftigsten ist (19). In der NBI-Gruppe betrug der APGAR-Score 9,0 (SD: 0,8), in der Kontrollgruppe lag er geringfügig höher bei 9,45 (SD: 0,63).

In dieser Studie zeigten alle Neugeborenen mit NBI mindestens ein klinisches Zeichen einer Infektion, während nur 15,5% der Neugeborenen aus der Kontrollgruppe klinische Auffälligkeiten zeigten. Am häufigsten fielen die kranken Neugeborenen durch Blässe und Zyanose (62,3%), Tachypnoe (50,8%), verminderten Muskeltonus (47,5%), Tachykardie (45,9%), Temperaturinstabilität (31,1%), schlechte Durchblutung (27,9%) (kapilläres Refill > 2 sec.) und Dyspnoe (18,0%) auf. Neugeborene, die eine NBI entwickelten, zeigten meist schon kurz nach Geburt oder innerhalb der ersten 12 Lebensstunden klinische Zeichen einer NBI. Die klinische Manifestation der neonatalen bakteriellen Infektion war aber stets uncharakteristisch, variabel und

im Frühstadium, in dem mit der Therapie begonnen werden sollte, meist nur gering ausgeprägt. In keinem Fall konnte sicher von einem klinischen Symptom auf eine NBI geschlossen werden. Auch in einer Studie, in der bei 455 Neugeborenen die Symptome einer schweren bakteriellen Infektion untersucht wurden, fand sich ein uneinheitliches Bild an Symptomen. Die häufigsten Symptome waren Fieber (51%), verstärkter Ikterus (35%), ein Atemnotsyndrom (33%), Hepatomegalie (33%), Trinkschwäche (28%) und Erbrechen (25%) (71).

In der NBI-Gruppe wurden alle Neugeborenen über mindestens 5 Tage mit Antibiotika behandelt, die mittlere Behandlungsdauer betrug 8 Tage (SD: 2,8). In der Kontrollgruppe wurden 9,6% (n=18) der Neugeborenen aufgrund klinischer Auffälligkeiten mit Antibiotika anbehandelt. Die mittlere Behandlungsdauer betrug 1,6 Tage (SD: 0,5). 82% (n=50) der Neugeborenen aus der NBI-Gruppe wurden mit Cefuroxim und Ampicillin und 18% (n=11) mit einer Kombination aus Ampicillin, Gentamicin und wahlweise Cefotaxim behandelt

Insgesamt fanden sich in der NBI-Gruppe bei 58% (n=35) der Kindern pränatale Risikofaktoren, in der Kontrollgruppe dagegen nur in 39% (n=73). Die Ergebnisse zeigten, dass mütterliche Risikofaktoren das Entstehen einer NBI begünstigten. In der NBI-Gruppe kam es in 42% (n=26) der Fälle zu einem vorzeitigen Blasensprung, im Mittel 21 Stunden vor Geburt. In der Kontrollgruppe fand sich bei 38% (n=71) ein vorzeitiger Blasensprung, im Mittel 18 Stunden vor Geburt. Es fand sich hierbei kein signifikanter Unterschied zwischen NBI-Gruppe und Kontrollgruppe. Auch in anderen Studien konnte kein signifikanter Unterschied in der Häufigkeit eines vorzeitigen Blasensprungs mit einer Latenz über 12 Stunden bei Neugeborenen mit NBI und Neugeborenen ohne septische Komplikationen festgestellt werden (10/141). Bei 33% (n=20) der NBI-Gruppe war das Fruchtwasser grün, in der Kontrollgruppe nur bei 17% (n=32). Zwar wurden in der NBI-Gruppe doppelt so oft Kinder aus grünem Fruchtwasser geboren wie in der Kontrollgruppe, dennoch war in der NBI-Gruppe bei 66% das Fruchtwasser klar. Grünes Fruchtwasser stellt keinen unabhängigen Risikofaktor für eine NBI dar. Andere Studien zeigten ebenfalls,

dass bei Neugeborenen mit NBI das Fruchtwasser signifikant häufiger grün verfärbt war, aber dennoch war bei infizierten Kindern in der Mehrzahl das Fruchtwasser klar (10/164). 14% (n=9) der Mütter aus der NBI-Gruppe zeigten die Symptome eines AIS, während in der Kontrollgruppe 1,5% (n=3) diese Symptome zeigten. Damit wurde ein AIS in der NBI-Gruppe signifikant häufiger diagnostiziert, als in der Kontrollgruppe. Normalerweise kommt es in 1-10% aller Schwangerschaften zu einem AIS (7/68). Somit besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen mütterlichem AIS und kindlicher early-onset Infektion. In der NBI-Gruppe hatten 3,5 % (n=2) der Mütter Fieber, in der Kontroll-Gruppe fand sich keine Mutter mit Fieber. Obwohl in der Literatur von einem signifikant häufigeren Auftreten von mütterlichem Fieber bei einer Sepsis des Neugeborenen berichtet wird (8/10/68), gilt intrapartales Fieber als sehr unsensibler Parameter (6). Auch körperliche Anstrengung kann eine Temperaturerhöhung verursachen (68). Keinen signifikanten Unterschied zeigte die Häufigkeit einer Leukozytose der Mutter in beiden Gruppen, 28% (n=17) in der NBI-Gruppe und 24% (n=45) in der Kontrollgruppe. In der Literatur gibt es sehr unterschiedliche Angaben. Einmal wird von einer Korrelation zwischen mütterlicher Leukozytose und kindlicher Erkrankung berichtet (116); in einer anderen Studie konnte kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden (82).

Deutlich erhöht war die Anzahl der Mütter mit CRP-Erhöhung in der NBI-Gruppe mit 39% (n=24), wobei das CRP im Mittel bei 3,4 mg/dl lag. In der Kontrollgruppe hingegen hatten nur 9% (n=17) der Mütter eine CRP-Erhöhung mit einem Mittel von 2,2 mg/dl. Dies korreliert mit den Ergebnissen anderer Studien, in denen die CRP-Werte im Plasma von Müttern signifikant erhöht waren, wenn die Neugeborenen eine NBI entwickelten (10). Eine mütterliche CRP-Erhöhung wird als zuverlässiger Parameter mit guter Korrelation zum kindlichen Outcome beschrieben (116). Antibiotika wurden in der NBI-Gruppe bei 33% (n=20) der Mütter präpartal, in 25% (n=15) perinatal verabreicht. In der Kontrollgruppe bekamen 18% (n=34) präpartal und 3% (n=6) peripartal Antibiotika. Das CTG zeigte sich in der NBI-Gruppe bei 21% (n=13) vor Geburt pathologisch, in der Kontrollgruppe bei 9% (n=17). Tachykard war das CTG in

der NBI-Gruppe in 12% (n=7) der Fälle, in der Kontrollgruppe in 4% (n=8) der Fälle.

Häufig werden bei Neugeborenen mit in utero erworbener Infektion im peripartal aufgezeichneten CTG fetale Tachykardien beobachtet (164).

#### **4.4 Die Infektionsparameter im Vergleich bei einer neonatalen bakteriellen Infektion**

##### **4.4.1 Bakteriologische Ergebnisse aus Blutkultur und Abstrichen**

In dieser Studie wurde in nur zwei Fällen ein positives Blutkulturergebnis gefunden (ein Patient mit  $\beta$ -hämolisierenden Streptokokken der Gruppe B und ein Patient mit *Staphylokokkus aureus*). In 4 Blutkulturen fand sich massenhaft *Staphylokokkus epidermidis*. Diese Kulturen wurden als verunreinigt angesehen. Eine positive Blutkultur gilt in der Sepsisdiagnostik als „Goldstandard“. Viele Neugeborene mit neonataler bakterieller Infektion bzw. Sepsis mit klinischen Zeichen einer Infektion und positiven Infektionsparametern, wie einem erhöhten CRP-Wert oder I/T-Quotienten sprechen auf eine Antibiotikatherapie an, haben aber sterile Blutkulturen (21/37/46/92). Die Sensitivität der Blutkultur bei einer neonatalen Sepsis ist niedrig (112). Die Blutkulturen sind trotz Vorliegen einer Pneumonie, einer Meningitis oder sogar bei generalisierten bakteriellen Infektionen häufig negativ (147). Oft ist nach antibiotischer Vorbehandlung der Mutter mittels Blutkultur kein Keimnachweis beim Neugeborenen mehr möglich (14/47). Ein anderes Problem der Blutkultur ist die Gefahr der Verschmutzung durch Hautkeime und die Tatsache, dass meist nur eine Blutkultur genommen wird und diese mit weniger als 0,5 ml Blut inkubiert wird. Zudem liegen die ersten Ergebnisse einer Blutkultur erst 48-72 Stunden nach Abnahme vor, was diese als Frühparameter völlig ausschließt (153/113). Eine lange Inkubationszeit und die geringe Sensitivität sprechen gegen die Blutkultur als Frühparameter.

Der einzige Nutzen einer Blutkultur ist im Erregernachweis zu sehen.

Dagegen konnten bei 35 Neugeborenen (57,4%) aus der NBI-Gruppe pathogene Keime aus Ohr- und/oder Rachenabstrich isoliert werden, davon bei 15 (24,6%)  $\beta$ -hämolisierende Streptokokken der Gruppe B.

#### **4.4.2 Leukozytenzahl**

Die Leukozytenzahl betrug 6 Stunden nach Geburt in der Kontrollgruppe  $20\ 320/\text{mm}^3$  (SD:  $7\ 549/\text{mm}^3$ ) und fiel bis 60 Stunden nach Geburt auf  $11\ 392/\text{mm}^3$  (SD:  $3471/\text{mm}^3$ ) ab. In der NBI-Gruppe betrug die Leukozytenzahl 6 Stunden nach Geburt  $21\ 321/\text{mm}^3$  (SD:  $8\ 378/\text{mm}^3$ ) und 60 Stunden nach Geburt  $12\ 421/\text{mm}^3$  (SD:  $4\ 929/\text{mm}^3$ ). Die Leukozytenzahlen in der Kontrollgruppe und der NBI-Gruppe unterschieden sich demnach nur sehr gering und ließen eine sichere Zuordnung einer NBI nicht zu. Dies lässt sich aufgrund des gegensinnigen Reaktionsverhaltens der Leukozyten auf eine Infektion erklären. Es konnte sowohl ein massiver Anstieg der Leukozyten, wie auch die Entwicklung einer extremen Leukopenie beobachtet werden. In diesem Fall wurde auf die Berechnung von Spezifität, Sensitivität und prädiktiver Werte verzichtet.

In der Literatur wurde die höchste Sensitivität der Leukozytenzahl bei einer neonatalen Infektion mit 57% angegeben (112/147).

#### **4.4.3 I/T-Quotient**

Der I/T-Quotient in der Kontrollgruppe betrug 6 Stunden nach Geburt 0,040 (SD: 0,040) und fiel bis 60 Stunden nach Geburt auf 0,014 (SD: 0,019) ab. In der NBI-Gruppe lag er anfangs bei 0,085 (SD: 0,172), stieg innerhalb der ersten 18 Lebensstunden auf 0,120 (SD: 0,136) an, fiel in der nächsten Zeit ab und lag 60 Stunden nach Geburt bei 0,020 (SD: 0,030). Der I/T-Quotient zeigte in dieser Studie eine sehr geringe Anzahl an pathologischen Messergebnissen. Daraus resultiert eine niedrige Sensitivität bei sehr hoher Spezifität. Die Sensitivität des

I/T-Quotienten lag in den ersten 12 Lebensstunden zwischen 14% [8;20] und 40% [30;50] bei einer Spezifität von 98% [96;100], der positive prädiktive Wert lag zwischen 71% [63;79] und 100% [97;100] und der negative prädiktive Wert bei 75% [67;83]. Der I/T-Quotient ist demnach ein sehr spezifischer Infektionsparameter, der jedoch aufgrund seiner niedrigen Sensitivität nicht als alleiniger Screeningparameter für die neonatale Infektion dienen kann.

Anhand der sehr geringen Anzahl an pathologischen Messergebnissen und dem damit verbundenen sehr hohen positiv prädiktiven Wert, muss bei einem Kind mit einem I/T-Quotienten  $> 0,20$  davon ausgegangen werden, dass dieses erkrankt ist.

Im Gegensatz dazu wurde in anderen Studien für den Zeitpunkt des ersten Verdacht auf eine neonatale Infektion für den I/T-Quotient eine Sensitivität von 84% und eine Spezifität von 42% bei einem positiv prädiktiven Wert von 30% und einem negativ prädiktiven Wert von 90% angegeben (43). Bei Neugeborenen mit klinischen Zeichen einer Infektion betrug der positiv prädiktive Wert in einer anderen Studie 35-45% und der negativ prädiktive Wert 90-98% (75). Insgesamt aber gilt der I/T-Quotient bei Neugeborenen als unspezifischer Marker (131).

#### **4.4.4 CRP**

Die CRP-Werte in der Kontrollgruppe lagen 6 Stunden nach Geburt im Mittel bei 0,17 mg/dl (SD: 0,95 mg/dl), stiegen innerhalb der ersten 2 Lebenstage stetig an und lagen 48 Stunden nach Geburt bei 0,83 mg/dl (SD: 1,84). Nach 60 Stunden waren die CRP-Werte wieder auf 0,28 mg/dl (SD: 0,31 mg/dl) abgefallen. In der NBI-Gruppe lag das CRP anfangs bei 0,37 mg/dl (SD: 0,58 mg/dl) und stieg bis 24 Stunden nach Geburt auf 3,30 mg/dl (SD: 1,58 mg/dl) an. Im weiteren Verlauf fielen die Werte wieder ab und lagen nach weiteren 36 Stunden bei 0,83 mg/dl (SD: 0,82 mg/dl). Im Zeitraum zwischen 18 und 60 Stunden nach Geburt zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und der NBI-Gruppe.

In dieser Studie zeigte sich, dass das CRP bei Neugeborenen aufgrund der noch eingeschränkten Leberfunktion mit seiner Kinetik sehr langsam auf das Infektionsgeschehen reagiert. Die CRP-Werte stiegen erst 12-24 Stunden nach Infektionsbeginn an. Innerhalb der ersten 6 Lebensstunden zeigten nur 5 Neugeborene aus der NBI-Gruppe CRP-Werte  $\geq 1$  mg/dl. In den ersten Stunden nach Geburt lag die Sensitivität des CRP bei 14% [8;20] bei einer hohen Spezifität von 100% [97;100]. Der positiv prädiktive Wert lag bei 100% [97;100], der negativ prädiktive Wert bei 75% [67;83]. 24 Stunden nach Geburt betrug die Sensitivität 100% [97;100] und die Spezifität 95% [90;100], der positive bzw. negative Wert 94% [88;100] bzw. 100% [97;100]. Die Bestimmung des CRP allein bietet bei Beginn einer NBI bei hoher Spezifität eine nur mäßige Sensitivität. Das CRP eignet sich aber aufgrund seiner sehr guten Sensitivität und Spezifität 24 Stunden nach Infektionsbeginn als Verlaufsparemeter und als Kontrolle einer suffizienten Therapie. Aufgrund des hohen positiv prädiktiven Wertes von 100% in den ersten Lebensstunden ist mit ziemlicher Sicherheit jedes Neugeborene mit einem CRP  $\geq 1$  mg/dl kurz nach Geburt an einer NBI erkrankt. Auch in einer anderen Studie konnte gezeigt werden, dass ein CRP  $\geq 1$  mg/dl bei der Erstuntersuchung eine NBI mit hoher Sicherheit voraussagen kann (92).

Die Ergebnisse von anderen Autoren konnten bestätigt werden: Die Sensitivität der CRP-Bestimmung bei Aufnahme schwankte zwischen 16% und 29%. Damit ist seine Aussagekraft für die Frühdiagnostik einer Infektion des Neugeborenen gering. Als Schwellenwert für das CRP wurde eine Konzentration von 1,0 mg/dl festgelegt. Man fand für den Aufnahmebefund eine hohe Spezifität von 97%, bei einer geringen Sensitivität von 22%. Bei einer Kontrolle 24 Stunden nach Geburt wurde eine Spezifität von 94% bei einer Sensitivität von 53% angegeben (92). In wiederum einer anderen Studie lag der negativ prädiktive Wert für Reifgeborene zur Entdeckung einer Infektion im Verlauf eines stationären Aufenthalts bei 99% bzw. bei 97,8% für Frühgeborene, die Sensitivität lag bei 61,5% bzw. bei 75% (67).

In einer finnischen Studie erreichte das CRP, ausgehend von der höchsten CRP-Konzentration im Verlauf der Infektion, eine Sensitivität von 82% und eine

Spezifität von 100% (109). Eine andere Arbeitsgruppe berichtete für das CRP bei einer early-onset Infektion von einem positiv prädiktiven Wert von 20-30% und ein negativ prädiktiven Wert 90-98% (75).

Das CRP ist in der Infektionsdiagnostik im Serum fraglich erkrankter Neugeborener etabliert. Es gilt als nicht-spezifischer Parameter für Entzündungsprozesse unterschiedlicher Genese.

In unserer Studie erwies sich das CRP als ungeeigneter Frühparameter: Das CRP reagiert mit einer sehr langsamen Kinetik erst 12-24 Stunden nach Beginn einer Infektion. Die CRP-Bestimmung ist jedoch für die Verlaufsbeobachtung von neonatalen Infektionen unerlässlich, da es eine Halbwertszeit von 19 Stunden aufweist. Betont werden muss, dass die alleinige Bestimmung des CRP bei Aufnahme bzw. nach Geburt von fraglich erkrankten Neugeborenen keine große Aussagekraft besitzt. Erhöhte Konzentrationen des CRP können auf eine Entzündung hinweisen, eignen sich aber wegen des verspäteten Anstiegs eher zur Verlaufs- und Therapiekontrolle von Infektionen (8/92). Für eine frühe Diagnose einer NBI ist das CRP kein zuverlässiger Parameter.

#### **4.4.5 Interleukin-8 in Plasma**

Im Plasma betrug der Mittelwert von Interleukin-8 (IL-8) in der Kontrollgruppe innerhalb der ersten 6 Lebensstunden 34,2 pg/ml (SD: 18,1 pg/ml) und zeigte bis 60 Stunden nach Geburt keine großen Schwankungen. Der Mittelwert betrug 30,5 pg/ml (SD: 13,9 pg/ml). In der NBI-Gruppe lagen die IL-8-Werte in Plasma 6 Stunden nach Geburt bei 142,4 pg/ml (SD: 11,7 pg/ml) und fielen innerhalb der nächsten Stunden rasch ab. Nach 60 Lebensstunden lagen die Plasma-Werte bei 52,4 pg/ml (SD: 87,1 pg/ml).

Die Interleukin-8-Konzentrationen in Plasma bei Neugeborenen mit NBI waren bis 18 Stunden nach Geburt signifikant höher, als bei gesunden Neugeborenen ( $p < 0,05$ ).

Das Interleukin-8 in Plasma zeigte in dieser Studie bei gesunden Neugeborenen keine großen Schwankungen. Die Interleukin-8-Konzentrationen lagen bei  $30 \text{ pg/ml} \pm 20 \text{ pg/ml}$ .

Die Interleukin-8-Konzentrationen in Plasma bei Neugeborenen mit NBI unterlagen einer ausgeprägten zeitlichen Kinetik. Das Interleukin-8 stieg bei Infektion innerhalb sehr kurzer Ansprechzeit an, zeigte einen kurzen hohen „peak“ von  $145 \text{ pg/ml} \pm 150 \text{ pg/ml}$ , fiel 12 Stunden nach Geburt wieder ab und näherte sich dem Referenzbereich an.

Experimente am Menschen zeigten nach einmaliger Gabe eines Endotoxin-Bolus einen Anstieg von IL-6 und IL-8, der Abbau des IL-8 geschieht nach weniger als 4 Stunden (123/124). Es kann von einer biologischen Halbwertszeit für IL-8 von ca. 1 Stunde ausgegangen werden (89).

Um den Referenzbereich und eine Entscheidungsgrenze für IL-8 in Plasma festzulegen, wurden ROC-Kurven erstellt. Anhand derer wurden die Cut-off Werte so festgelegt, dass bei einer bestmöglichen Sensitivität eine gute Spezifität erreicht wurde. Die Entscheidungsgrenze für Interleukin-8 in Plasma wurde in unserer Studie bei  $\geq 60 \text{ pg/ml}$  festgelegt.

In ähnlich konzipierten Studien lagen die Entscheidungsgrenzen zwischen  $\geq 53 \text{ pg/ml}$  und  $\geq 70 \text{ pg/ml}$  (10/12/42/43). Die Cut-off Werte unterscheiden sich bei am Termin geborenen Kindern und Neugeborenen die vor der vollendeten 30. Schwangerschaftswoche geboren wurden nicht (43).

Innerhalb der ersten 6 Lebensstunden lag die Sensitivität in unserer Studie bei 71% [63;79], die Spezifität bei 90% [85;95]. Die Sensitivität des IL-8 in Plasma fiel 12 Stunden nach Geburt stark ab und bewegte sich im weiteren Verlauf bei nur 30%. Die Spezifität lag weiterhin über 90%. Der positiv prädiktive Wert lag zu Beginn der Messungen bei 74% [66;82], der negativ prädiktive Wert bei 89% [86;92].

Damit zeigte sich das IL-8 in Plasma als Frühparameter mit hoher Sensitivität und Spezifität innerhalb der ersten 12 Lebensstunden. Ein Problem der IL-8 Messung war die kurze Halbwertszeit in Plasma. Ähnliche Ergebnisse zeigte eine Studie von Buck, in der IL-6 Konzentrationen in der Mehrheit der Fälle

innerhalb von 24 Stunden in einen nicht mehr nachweisbaren Bereich abfielen (16). IL-6 und IL-8 zeigen bei Neugeborenen eine ähnliche Kinetik (89).

Durch die schnelle Kinetik des IL-8 in Plasma war es schwierig, in diesem kurzen „peak“ erhöhte Konzentrationen an IL-8 zu messen. Lagen die Zeitpunkte der Blutentnahmen zu weit auseinander, so konnte es sein, dass das IL-8 in Plasma bei der ersten Entnahme noch negativ war und bei der zweiten Blutentnahme schon wieder negativ war. Durch diesen Sachverhalt lässt sich auch die niedrigere Sensitivität der Messung im Plasma gegenüber der Messung in Lysat erklären. Daher schlossen einzelne negative IL-8-Werte eine Infektion nicht aus. Ein zweites Problem war die „diagnostische Lücke“ der Messung in Plasma. Das IL-8 in Plasma war 12 Stunden nach Geburt wieder negativ, während das CRP frühestens 12-24 Stunden nach Geburt anstieg. Es gab also einen Zeitraum von 12-18 Stunden, in der das IL-8 in Plasma schon wieder negativ und das CRP noch negativ war. Im Gegensatz zum CRP fallen selbst bei bestehender Infektion die Konzentrationen an IL-8 kontinuierlich ab (57).

Bei 5 Neugeborenen mit NBI, die schon während der ersten 6 Stunden nach Geburt einen CRP-Wert  $\geq 1$  mg/dl zeigten, war das IL-8 in Plasma in zwei Fällen negativ.

Es konnten bei einigen Neugeborenen hohe IL-8-Konzentrationen beobachtet werden, bei denen im Verlauf das CRP immer im Referenzbereich lag. Jedes dieser Neugeborenen hatte Risikofaktoren für NBI und/oder zeigte klinische Auffälligkeiten. Da das CRP hoch sensitiv für NBI ist (8), muss man davon ausgehen, dass bei diesen Kindern keine NBI vorlag, sondern eine andere nicht infektiöse Störung, die eine IL-8-Sekretion förderte.

Einige Neugeborene aus der Kontrollgruppe zeigten auch isoliert hohe IL-8-Plasmawerte bei normalen IL-8-Werten in Lysat. Vermutlich stand dieses Blut zu lange bei Raumtemperatur oder hämolysierte aus anderen Gründen, was wiederum gebundenes IL-8 freigesetzt hat.

In unserer Studie waren IL-8-Konzentrationen in Plasma bei Neugeborenen mit NBI signifikant höher als bei gesunden Neugeborenen, im Unterschied zu einer Studie, in der kein signifikanter Unterschied zwischen infizierten Neugeborenen

mit klinischen Zeichen einer NBI und gesunden Neugeborenen gefunden wurde (36). Dieser Sachverhalt ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass jene Arbeitsgruppe im Gegensatz zu unserer Studie Neugeborene mit negativer Blutkultur und normaler Leukozytenzahl als gesund definiert hat. Da diese beiden Laborparameter keine befriedigenden diagnostischen Marker einer NBI sind, ist es möglich, dass einige der als gesund definierten Neugeborenen dennoch krank waren. Dies wäre auch eine Erklärung für den hohen IL-8-Median in der Gruppe der nicht infizierten Neugeborenen. Für IL-8 wurde eine Sensitivität von 70% und eine Spezifität von 77% angegeben (36).

In einer finnischen Studie erreichte das IL-8 in Plasma bei Neugeborenen mit NBI und positiver Blutkultur eine Sensitivität von 91% bei einer Spezifität von 100% (109). Für IL-8 in Plasma bei NBI wurde eine Sensitivität von 82% bei einer Spezifität von 81% angegeben. Die Sensitivität ließ sich noch auf 100% erhöhen und eine Spezifität von > 50% bewahren (96).

Eine Arbeitsgruppe aus Ulm, die IL-8 Konzentrationen bei Neugeborenen im Plasma mit Hilfe des IMMULITE IL-8 Immunoassay bestimmte, fand zum Zeitpunkt des Infektionsverdachts signifikant höhere IL-8-Werte bei noch negativem CRP. In manchen Fällen zeigten sich trotz erhöhter CRP-Werte negative IL-8-Konzentrationen; vermutlich wiederum eine zu spät entdeckte Infektion, in deren Verlauf das IL-8 in Plasma schon wieder abgefallen war. Bei einem angegebenen Referenzbereich von  $\leq 70$  ng/l erreichte das IL-8 bei erstem Verdacht auf eine NBI eine Sensitivität von 83%, eine Spezifität von 76% (42). In einer zweiten Studie dieser Arbeitsgruppe gelang beim ersten Verdacht auf eine nosokomiale bakterielle Infektion der Nachweis einer „Kulturpositiven NBI“ mit einer Sensitivität von 96% im ersten Teil dieser Studie und im zweiten Teil erreichte IL-8 (cut-off > 53 pg/ml) in Kombination mit dem CRP (cut-off > 10 mg/l) eine Sensitivität von 100%. Der positiv prädiktive Wert betrug 57%, der negativ prädiktive Wert 98%. Der kombinierte Nachweis von „Kulturpositiver NBI“ und „Kultur negativer NBI“ gelang mit einer Sensitivität von 93% bei einer Spezifität von 80%, im zweiten Teil der Studie mit einer Sensitivität von 100% bei einer Spezifität von 83% (43).

Es ist schwierig die verschiedenen Studien zu vergleichen. Schon alleine die Definition der neonatalen bakteriellen Infektion variiert stark: es wird unterschieden zwischen der klassischen Sepsis mit positiver Blutkultur und einer Gruppe, als klinisch infizierte Neugeborene bezeichnet, die klinische Zeichen einer Sepsis vorweist, laborchemisch positive Entzündungsparameter hat, aber eine negative Blutkultur vorweist. Auch die in die Diagnostik einbezogenen klinischen Symptome der zuletzt genannten Gruppe variieren stark: in einigen Studien wird für die Diagnose mindestens ein klinisches Symptom, in anderen Studien eine Kombination aus mehreren Symptomen verlangt, wobei alle Symptome unspezifisch sind und von anderen Erkrankungen herrühren können.

Aufgrund der kurzen Halbwertszeit der Zytokine in Plasma wird von den meisten Arbeitsgruppen eine Kombination der Zytokin-Messung mit dem CRP empfohlen.

Das IL-8 in Plasma erreichte in unserer Studie eine gute Sensitivität und Spezifität. Aufgrund der kurzen Halbwertszeit und der schnellen Kinetik ist IL-8 in Plasma als alleiniger Infektionsparameter jedoch nicht einsetzbar, da der Zeitpunkt der Abnahme die Konzentration stark beeinflusst.

Autor(en) :	Definition der NBI	NBI (n)	Kontr. (n)	Unters. Material	Cut-off (pg/ml)	Sens	Spez	PPV	NPV
Edgar 1994	Klin. Zeichen und pos. BK oder auffälliger WBC	43	17	Plasma	> 150	70	77	88	50
Lehrnbecher 1996	3 oder mehr klin. Zeichen und pos. BK oder auffälliger WBC oder pos. CRP	13	33	Nabelschnurblut	> 150	69	91	75	88
Berner 1998	Klin. Zeichen und pos. BK oder mind. 3 folgender: Pos. CRP; erhöht. I/T-Quotient ; Pneumonie ; Mütterl. Risikofaktoren	16	nicht bek.	Nabelschnurblut	> 300	91	93	91	97
Franz 1999	a.: $\geq 1$ klin. Zeichen und pos. BK oder CSF b.: $\geq 1$ klin. Zeichen und CRP > 10 mg/l	9	116 37	Plasma	$\geq 70$	83	76	58	92
Franz 1999	a.: $\geq 1$ klin. Zeichen und pos. BK oder CSF b.: $\geq 1$ klin. Zeichen und CRP > 10 mg/l	26 33 58 66	202 149	Plasma	> 53	88 97 84 91	85 83	61 70	95
Neunhoeffler Orlikowsky 2004	$\geq 1$ klin. Zeichen und pos. BK oder CRP $\geq 1,0$ mg/dl oder I/T-Quotient $\geq 0,20$	61	188	Plasma Lysiertes Vollblut	$\geq 60$ $\geq 18000$	71 97	90 95	74 87	89 99

Tab. 13: Übersicht von Studien zu Interleukin-8 bei neonataler bakterieller Infektion

#### 4.4.6 Interleukin-8 in lysiertem Vollblut

Über die Konzentrationsverhältnisse von Interleukin-8 (IL-8) in Lysat bei Neugeborenen ist nur wenig bekannt. Die IL-8 Konzentrationen in hämolysiertem Vollblut waren signifikant höher als in den korrespondierenden Plasmaproben.

Auch bei gesunden Neugeborenen zeigten die IL-8-Werte in Lysat eine leichte zeitliche Kinetik. In der Kontrollgruppe lag der Mittelwert von IL-8 in Lysat 6 Stunden nach Geburt bei 9 599,9 pg/ml (SD: 4 433,6 pg/ml) und stieg innerhalb der ersten 18 Stunden bis auf 12 179 pg/ml (SD: 4 241,0 pg/ml) an. Danach fielen die Werte wieder ab und nach 60 Stunden betrug der Mittelwert von IL-8 in Lysat 5 181,6 pg/ml (SD: 2 761,5 pg/ml).

Die NBI-Gruppe zeigte initial, wie auch in Plasma, erhöhte IL-8-Werte in Lysat von 36 699,4 pg/ml (SD: 26 197,2 pg/ml). Diese stiegen im Verlauf der Infektion in den ersten 12 Lebensstunden noch leicht an und fielen danach bis 60 Stunden nach Geburt auf 6 707,1 pg/ml (SD: 5 535,0 pg/ml) ab. In unserer Studie waren IL-8-Konzentrationen in Lysat bei Neugeborenen mit NBI im Vergleich zu gesunden Neugeborenen bis 36 Stunden nach Geburt signifikant höher, also 18 Stunden länger als in Plasma ( $p < 0,05$ ). Der Referenzbereich und die Entscheidungsgrenze für das Vorliegen einer NBI wurden ebenfalls über eine ROC-Analyse ermittelt. Die Entscheidungsgrenze für IL-8 in Lysat wurde in unserer Studie bei  $\geq 18\ 000$  pg/ml festgesetzt.

Kurz nach Geburt erreichte das IL-8 in Lysat eine Sensitivität von 97% [94;100] bei einer Spezifität von 95% [91;99]. Innerhalb der ersten 24 Stunden nach Geburt lag die Sensitivität immer über 70% und fiel danach langsam ab. Der positiv prädiktive Wert lag anfangs bei 87% [81;93], der negativ prädiktive Wert bei 99% [97;100].

Im Gegensatz zu den Messungen aus Plasma, die nur eine kurze Erhöhung der Werte in Form eines „peak“ bei einer NBI zeigten, zeichneten sich die IL-8 Messungen aus lysiertem Vollblut bei NBI durch eine 4-fache Erhöhung gegenüber den Werten gesunder Neugeborener mit einem Plateau von bis zu 24 Stunden aus.

Die „diagnostische Lücke“ zwischen den schon wieder normalisierten IL-8-Plasma-Werten und dem noch immer negativen CRP von 18-24 Stunden kann mit den Messungen aus lysiertem Vollblut geschlossen oder zumindest beträchtlich verkürzt werden.

Kohse et al. fanden bei Neugeborenen signifikant höhere IL-8 Konzentrationen in hämolysiertem Vollblut als in den korrespondierenden Plasmaproben. Bei 70% von 135 nachweislich gesunden Neugeborenen lagen die IL-8 Konzentrationen im Plasma unterhalb der Nachweisgrenze des Assays (5 ng/l), während im Vollblut-Lysat dieser Probanden IL-8 Spiegel von 69 - 3 150 ng/l (Median 266 ng/l) gemessen wurden. Als vorläufiger Referenzbereich (5. - 95. Perzentile) für IL-8 im Vollblut-Lysat wurden 132 - 820 ng/l ermittelt. Bei 78 Routineproben von Neugeborenen lagen die IL-8 Spiegel im Vollblut-Lysat zwischen 120 - 2 000 ng/l (Median 416 ng/l) (74).

In einer Studie von Reinsberg et al. betrug bei gesunden Erwachsenen der Median von IL-8 aus Lysat 83 pg/ml (49-202 pg/ml). Bei schwangeren Frauen mit AIS konnte Interleukin-8 in Plasma nicht nachgewiesen werden, jedoch war das gesamte IL-8 im lysierten mütterlichen Blut signifikant erhöht (Median: 141 pg/ml (39-242 pg/ml)). Das Gesamt-IL-8 in mütterlichem Blut wurde als diagnostischer Marker für ein AIS postuliert (125).

Im Gegensatz zu Erwachsenen, bei denen 94-96% des IL-8 zellassoziiert ist (89), fanden wir bei Neugeborenen 99% des nachweisbaren IL-8 zellassoziiert und weniger als 1% als freies zirkulierendes IL-8 in Plasma.

Eine andere Arbeitsgruppe untersuchte bei 255 Patienten einer chirurgischen Intensivstation IL-8 in lysiertem Vollblut als Frühmarker einer Sepsis. Die Bestimmungen von IL-8 erfolgten ebenfalls auf dem IMMULITE System der Firma DPC. Die Sensitivität betrug 85,3%, die Spezifität 88,6% (148).

Der Konzentrationsanstieg des gesamten verfügbaren IL-8 in seiner Reaktion auf ein septisches Geschehen ist größer als der Konzentrationsanstieg von IL-8 in Plasma und kann somit dem Kliniker eine präzisere und schnellere Meldung über eine beginnende Sepsis geben.

Die Messung aus Lysat zeichnet sich durch einen größeren und längeren Konzentrationsanstieg von bis zu 24 Stunden bei NBI aus, was sich wiederum in einer höheren Sensitivität bei sehr guter Spezifität widerspiegelt. Aufgrund der hohen prädiktiven Werte innerhalb der ersten Lebensstunden eignet sich die IL-8-Messung aus Lysat zur Frühdiagnose einer early-onset Infektion.

#### **4.5 Einfluss des Geschlechts auf Interleukin-8 Werte**

Die Interleukin-8-Konzentrationen bei weiblichen und männlichen Neugeborenen unterschieden sich nicht. Es bestand jedoch für männliche Neugeborene ein erheblich erhöhtes Erkrankungsrisiko. 76% aller Neugeborenen mit NBI waren männlichen Geschlechts, während die Geschlechterverteilung in der Kontrollgruppe ausgeglichen war. Auch in der Literatur wird für männliche Neugeborene ein erhöhtes Sepsisrisiko beschrieben (47).

#### **4.6 Einfluss des Geburtsgewichts auf Interleukin-8 Werte**

In dieser Studie war weder in Lysat noch in Plasma ein Einfluss des Geburtsgewichts auf IL-8-Konzentrationen bei gesunden Neugeborenen nachweisbar. Unabhängig vom Geburtsgewicht bestehen deutliche interindividuelle Unterschiede der IL-8 Gesamtkonzentrationen (25).

#### **4.7 Einfluss des APGAR-Scores auf Interleukin-8 Werte**

Es fanden sich weder in lysiertem Vollblut noch in Plasma signifikante Zusammenhänge zwischen APGAR-Score und IL-8 Werten.

Da bei der early-onset Infektion/Sepsis von einer bereits intrauterin erworbenen Infektion ausgegangen wird, ist eine Deutung der erniedrigten APGAR-Werte im Sinne eines frühen Hinweises auf die bereits vorhandene Infektion denkbar. Über Zusammenhänge zwischen niedrigen APGAR-Werten und dem Auftreten infektiöser Komplikationen beim Neugeborenen wurde von verschiedenen Autoren berichtet. Es wurde ein signifikanter Anstieg des Risikos einer NBI unter Neugeborenen mit einem 5-Minuten-APGAR unter 6 beobachtet (150). Ein hochsignifikanter Zusammenhang wurde zwischen einem 5-Minuten-APGAR-Wert kleiner 6 und dem Auftreten einer kindlichen Sepsis beschrieben (144).

#### **4.8 Einfluss mütterlicher Risikofaktoren auf Interleukin-8 Werte**

Die early-onset Infektion des Neugeborenen ist oft intrauterin erworben. Bislang existieren keine zufrieden stellenden, pränatal erfassbaren mütterlichen Parameter zur Vorhersage einer NBI. Außer bei gesichertem mütterlichen AIS gibt es keinen eindeutigen Zusammenhang zwischen Risikofaktoren und kindlichem Outcome. Zytokine spielen eine entscheidende Rolle bei vor- und frühzeitiger Wehentätigkeit und Frühgeburtlichkeit. Die Chorioamnionitis, eine zu den intrauterinen Infektionen zählende Erkrankung, liegt bei 20-33% der Frauen mit Frühgeburt vor. Die Zytokine IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 und IL-8 sind im Fruchtwasser von Frauen mit intrauterinen Infektionen deutlich erhöht (116/121/149). Der genaue Mechanismus der durch Zytokine vermittelten, durch eine Chorioamnionitis bedingten Frühgeburtlichkeit ist bisher noch nicht geklärt. Sowohl IL-1, als auch TNF- $\alpha$  erhöhen gemeinsam mit IL-6 die Prostaglandinproduktion von humanen Amnionzellen, Chorionzellen und Deziduazellen. Die ausgeschütteten Zytokine setzen synergetisch durch Aktivierung der Phospholipase A<sub>2</sub> die Prostaglandinsynthese in Dezidua, Amnion und Endometrium in Gang. Lipopolysaccharide können direkt oder indirekt im Rahmen der Immunreaktion die intrauterine Prostaglandinsynthese stimulieren. Die Prostaglandine bewirken eine verstärkte myometriale Aktivität mit den Folgen einsetzender Wehentätigkeit, vorzeitigem Blasensprung und schließlich der Frühgeburtlichkeit.

In dieser Studie zeigten sich bei Müttern ohne anamnestisches Risiko oft überraschend schwere Krankheitsverläufe. 42% der Mütter erkrankter Kinder zeigten keine pränatalen Risikofaktoren für eine NBI des Kindes. Zudem konnte kein signifikanter Unterschied zwischen IL-8-Konzentrationen erkrankter Neugeborener ohne mütterliche Risikofaktoren und erkrankter Neugeborener mit mütterlichen Risikofaktoren festgestellt werden.

#### **4.9 Einfluss des Geburtsmodus auf Interleukin-8 Werte - „Gedächtnis“ bei Messungen aus Lysat und aus Plasma**

Betrachtete man die IL-8-Werte in lysiertem Vollblut und Plasma in Abhängigkeit von dem Geburtsmodus, erklärte sich auch die relativ große Standardabweichung:

Neugeborene, die mittels Vakuumentzug geboren wurden, zeigten höhere IL-8-Konzentrationen als spontangeborene Neugeborene, während Kinder, die mittels Kaiserschnitt aus dem wehenlosen Uterus geboren wurden, wiederum niedrigere IL-8-Konzentrationen als spontangeborene Kinder zeigten. Beide Abweichungen waren signifikant.

Im Vergleich zu den Plasma-Werten, die sich nach 18 Stunden angeglichen hatten, zeigten die IL-8-Konzentrationen in Lysat bis 24 Stunden nach Geburt signifikante Unterschiede.

Die Belastungen des Kindes während der Geburt scheinen die initialen IL-8-Werte zu beeinflussen (59/64). Neben Infektionen und anderen entzündungsbedingten Auslösern, konnten auch Stress und Angstsituationen, bei denen es unter anderem zu Adrenalinausschüttung kommt, als Ursache erhöhter IL-8-Konzentrationen beobachtet werden (53). Die IL-8 Werte in Plasma und Lysat waren bei gesunden Neugeborenen vom Geburtsmodus abhängig. Die IL-8-Ausschüttung kann außer durch bakterielle Stimuli auch Prostaglandin-assoziiert geschehen (53).

In lysiertem Vollblut zeigte IL-8 bis zu 24 Stunden parallel verlaufende Kinetiken bei unterschiedlichem Geburtsmodus, bei Neugeborenen mit NBI waren die IL-8-Konzentrationen bis zu 24 Stunden nach Geburt signifikant erhöht. Wir beschrieben diesen Pool an IL-8, der nach Lyse von Vollblut bis zu 24 Stunden nach Geburt wieder messbar war, als „IL-8-Gedächtnis“.

#### **4.10 Interleukin-8 in Kombination mit anderen Infektionsparametern**

In dieser Studie hätte die Kombination von IL-8 in Lysat und/oder CRP innerhalb der ersten 6 Lebensstunden eine nur geringe Verbesserung der Sensitivität erbracht, da die CRP-Werte bei Neugeborenen mit NBI zu diesem Zeitpunkt noch negativ sind. Zu einem späteren Zeitpunkt wäre die Kombination von IL-8 und CRP in dieser Studie unzulässig gewesen, da die NBI über ein erhöhtes CRP  $\geq 1,0$  mg/dl über mehr als 24 Stunden definiert wurde. Jene Neugeborenen, die eine Infektion entwickelten und anfangs negative IL-8-Konzentrationen in Lysat zeigten, wiesen auch innerhalb der ersten 12 Lebensstunden negative CRP-Werte auf. 5 Neugeborene, die von Geburt an positive CRP-Werte zeigten, wiesen alle positive IL-8-Konzentrationen in Lysat vor. Das IL-8 in Plasma war in zwei Fällen noch, oder schon wieder negativ, nur in

diesen 2 Fällen hätte die Kombination aus IL-8 in Plasma und CRP die Sensitivität leicht erhöht.

Die kombinierte Bestimmung von IL-8 in Plasma und CRP erhöhte die Sensitivität für die Erfassung einer systemischen Infektion in anderen Studien erheblich. Die IL-8 Spiegel waren oft schon vor der klinisch manifesten Infektion erhöht und erreichten nach 2 bis 4 Stunden ihre Maximalwerte, während die höchsten CRP Spiegel erst nach 24 Stunden gemessen wurden (43/44).

In einer anderen Studie verbesserte sich die Sensitivität durch die Bestimmung beider Parameter bei erstem Verdacht auf eine Infektion ebenso wie in unserer Studie nicht, da das CRP in der Regel noch negativ war (96).

Aufgrund der kurzen Halbwertszeit des IL-8 in Plasma wurde von den meisten Arbeitsgruppen eine Kombination von Zytokin und CRP empfohlen. Ebenso wie in unserer Studie wurde bei wiederholter Bestimmung von IL-8 und CRP keine Infektion übersehen (42/43). IL-8 in lysiertem Vollblut zeigte eine längere Halbwertszeit, dennoch empfiehlt es sich, die IL-8-Konzentrationen immer im Kontext mit den anderen Infektionsparametern zu sehen, da ein negativer Wert niemals eine Infektion ausschließen kann und negative Laborergebnisse aufgrund mangelnder Sensitivität oder auch aufgrund vertauschter Laborproben immer vorkommen können.

#### **4.11 Reduzierung unnötiger Antibiotikatherapie**

In unserer Studie wurden 18 Neugeborene aus der Kontrollgruppe aufgrund klinischer Zeichen und/oder mütterlicher Risikofaktoren mit Antibiotika anbehandelt, entwickelten aber keine Infektion. 7 dieser Kinder zeigten neben der klinischen Symptomatik auch eine grenzwertige IL-8-Erhöhung in Plasma und eine kurzzeitige CRP-Erhöhung. Diese Kinder wären auch unter Einbeziehung der IL-8-Konzentrationen bei der Entscheidung, ob eine neonatale bakterielle Infektion vorliegt, antibiotisch behandelt worden. 11 Neugeborene zeigten zwar klinische Auffälligkeiten, wiesen aber keine positiven IL-8-Konzentrationen auf. Wie sich später herausstellte, wurden diese Neugeborenen wohl unnötigerweise behandelt. Es besteht die Möglichkeit, dass diese Kinder aufgrund nicht-infektiöser Störungen klinische Symptome einer Infektion zeigten, oder dass diese Kinder eine leichte Infektion hatten, die sich dank der frühen Antibiotikagabe nicht weiter ausbreiten

konnte. Geht man davon aus, dass bei diesen 11 Neugeborenen keine Infektion vorlag und diese „unnötig“ behandelt wurden, so hätte man die Antibiotikatherapie in 11 der 18 unklaren Fälle verringern können. Dies würde einer Verringerung der „unnötigen“ Antibiotikatherapie um 61% entsprechen.

Der Einsatz der IL-8-Bestimmung in Kombination mit dem CRP in einer Studie der Ulmer Arbeitsgruppe um Franz et al. reduzierte „unnötige“ Antibiotikatherapien bei Verdacht auf eine nosokomiale bakterielle Infektion um 73%, gegenüber einer Kombination aus I/T-Quotient und CRP. Die durch Bestimmung von IL-8 und/oder CRP bedingte reduzierte "unnötige" Antibiotikatherapie führte nicht zu einer Verschlechterung des Patienten-Outcome bei NBI. Es konnte gezeigt werden, dass durch den Einsatz von IL-8 und CRP statt einer Kombination aus I/T-Quotient und CRP weniger Kinder unnötig mit Antibiotika behandelt werden mussten, und dass trotz einer erheblichen Steigerung der Laborkosten die Gesamtausgaben zur Behandlung der Kinder nicht stiegen. Es konnte das Nebenwirkungsrisiko der Antibiotikatherapie bei Neugeborenen und die Resistenzenbildung verringert werden (43).

Die serienmäßige Mehrfachbestimmung von Infektparametern kann die Diagnoseempfindlichkeit verbessern und die Diagnosegenauigkeit erhöhen. Aber es scheint fragwürdig, die Entscheidung über das Zurückhalten einer antibiotischen Behandlung einer vermuteten Infektion bei einem klinisch auffälligen Neugeborenen nur mit Hilfe der zellulären Entzündungsparameter und des IL-8-Wertes zu fällen. Das CRP steigt bei der NBI in der Regel erst 24 Stunden nach Geburt an. Somit stehen zu diesem frühen Zeitpunkt für die Entscheidung, ob man ein Neugeborenes mit Verdacht auf eine Infektion behandelt, nur zelluläre Entzündungsparameter und IL-8-Werte bereit. Sinnvoll ist es, die IL-8-Werte in Zusammenhang mit anderen Infektionsparametern und dem klinischen Bild des Neugeborenen zu sehen.

#### **4.12 Einschränkungen bei der Interleukin-8 Bestimmung**

Es muss bei allen Laborparametern mit falsch negativen Ergebnissen gerechnet werden. Bei akuter vitaler Bedrohung oder sehr schlechter Klinik des Neugeborenen muss auch weiterhin die Antibiotikatherapie schnellstmöglich begonnen werden,

ohne Abwarten der Laborergebnisse. Auf der anderen Seite kann es durch hämolytische Proben zu falsch positiven Ergebnissen kommen.

Neben Infektionen und anderen entzündungsbedingten Auslösern konnten auch Stress, Angstsituationen und schwierige Geburtsverläufe, bei denen es unter anderem zu einer Adrenalinausschüttung kommt, als Ursache erhöhter IL-8-Konzentrationen beobachtet werden (53)(siehe 3.5 und 4.8). In einer Studie konnte bei Erwachsenen im Gegensatz zu CRP und LBP mittels IL-8 septische Komplikationen eindeutig von einem operativen Trauma/Stress abgegrenzt werden (148).

IL-8 ist jedoch nicht infektionsspezifisch, da es auch bei Traumata und Verbrennungen gebildet wird. Die IL-8-Konzentrationen werden ebenso wie IL-6-Konzentrationen durch Antibiotika beeinflusst. So kommt es ca. 2 Tage nach Antibiotikagabe zum Abfall der IL-6-Konzentration (7/12). Bis die Effekte der Antibiotikatherapie auf Zytokinkonzentrationen eindeutig geklärt sind, sollten die Blutproben vor Beginn einer antibiotischen Therapie entnommen werden.

Unterschiede in Synthese und Bindungsverhalten müssen bei der Interpretation der IL-8-Gesamtkonzentrationen im Rahmen der neonatalen bakteriellen Infektion berücksichtigt werden.

#### **4.13 Bestimmung von Interleukin-8 mittels des Immunoassaysystems IMMULITE® und präanalytisches Handling**

Für die IL-8-Messungen aus Plasma wurden in dieser Studie 25 µl Probenvolumen benötigt. Für die Bestimmung des IL-8 aus lysiertem Vollblut waren 50 µl Vollblut erforderlich, hierfür wurde immer Restblut aus der Differentialblutbild-Bestimmung verwendet. Für die CRP-Bestimmung genügten 70 µl Plasma und für das Differentialblutbild 150 µl.

Die IL-8-Messung mittels des IMMULITE IL-8 Immunoassays dauert 50 Minuten. Die Kosten für eine IL-8-Bestimmung beliefen sich auf ca. 4 Euro.

Die Konzentration des Gesamt-IL-8 im Vollblut wurde nach Zelllyse der Blutzellen mit Milenia-Zelllysis-Lösung bestimmt. Der IL-8 Gehalt des Blutlysats wurde ebenfalls unter Verwendung des IMMULITE IL-8 Immunoassays ermittelt.

Die Qualität der IL-8-Messung nach Zelllyse ist, mehr noch als die IL-8-Messung aus Plasma, stark von der präanalytischen Probenverarbeitung abhängig (88/125).

Eine Verdünnungslinearität sowohl der Serum-, als auch der lysierten Vollblutproben konnte für ein Vollblut/Lysereagenz-Verhältnis von 1:20 bis 1:1 bestätigt werden (74). Die Variationskoeffizienten für die IL-8-Bestimmung im Plasma und im Vollblutlysat waren vergleichbar. Bei hämolysierten Vollblutproben betrug der intra-assay-VK 3,4% (234 ng/l) und 7,4% (1 080 ng/l). Der inter-assay-VK von Kontrollmaterial betrug 13,3% (108 ng/l) und 11,7% (506 ng/l) (74). Es wurden keine signifikanten Veränderungen des IL-8 in dem nachfolgend bereiteten Lysat festgestellt, wenn frisch abgenommenes Blut auf Eis gelagert wurde. Wurde Lysat bei 4°C aufbewahrt, konnten nur geringfügige Veränderungen festgestellt werden, bei Raumtemperatur hingegen konnte nur ein kleinerer Anteil des ursprünglich vorhandenen IL-8 wieder entdeckt werden. Das IL-8 war im Vollblut-Hämolysat bei 4 °C für mindestens 3 Tage stabil. Nach diesem Zeitraum fallen die IL-8-Werte stark ab und betragen nach 8 Tagen nur noch 32% der Ausgangskonzentration. Eine Lagerung von nicht hämolysiertem Vollblut bei Raumtemperatur führt zu einem Anstieg des IL-8 um bis zu 400% des Ausgangswertes. Das Vollblut muss sofort hämolysiert werden (74). Wurde lysiertes Vollblut bei Raumtemperatur gelagert, konnte man einen Anstieg des IL-8-Gehalt feststellen: 20% nach 3 Stunden und bis zu 45% nach 12 Stunden, wohingegen ein Anstieg in Plasma nicht nachweisbar war (125).

Die evaluierte Methode erlaubt eine Feststellung von gesamtem IL-8 in lysiertem Vollblut mit guten Ergebnissen, wenn bestimmte Bedingungen bei der Vorbereitung der Proben beachtet werden (125/24).

Als hauptsächlich Fehlerquelle in dieser Studie bei der IL-8-Bestimmung aus Plasma wurde die Hämolysse vor dem Zentrifugieren ermittelt. Waren die Blutabnahmen durch zu langes Stauen oder zu langes Stehen bei Raumtemperatur hämolysiert, wurden extrem hohe IL-8-Plasma-Werte gemessen. Die Ergebnisse dieser Proben wurden verworfen.

Mit der IL-8-Messung aus lysiertem Vollblut steht dem Pädiater innerhalb von 50 Minuten ein hoch sensitiver Infektionsparameter zu Verfügung, der ein sehr geringes Probenvolumen benötigt.

#### 4.14 Schlussfolgerung

Die IL-8-Erhöhung hat sich als zuverlässiger Infektionsparameter bei NBI erwiesen. Das System arbeitet mit hoher Präzision (125/132) und eignet sich aufgrund hoher Sensitivität und Spezifität sowie guter prädiktiver Werte für die Früherkennung einer neonatalen bakteriellen Infektion (43/44). Die IL-8-Spiegel waren oft schon vor der klinisch manifesten Infektion erhöht und erreichten nach 2 bis 4 Stunden ihre Maximalwerte, während die höchsten CRP Spiegel erst nach 24 Stunden gemessen wurden. Die IL-8-Bestimmung bringt somit einen entscheidenden Vorteil im kritischen Zeitfenster einer zu diagnostizierenden NBI. Die Kinetik des IL-8-Verlaufes in Plasma ist, im Hinblick auf eine frühe und rationale Infektionsbehandlung beim Neugeborenen, in den vorliegenden international publizierten Studien den konventionell bestimmten Infektionsparametern überlegen. In einigen Zentren wird IL-8 in Plasma bestimmt und zeigt sich als zuverlässiger Parameter (10/42). Da das IL-8 in Plasma nur eine kurze Halbwertszeit vorweist, eignet es sich als Screeningparameter nur begrenzt. Der Anstieg erfolgt im Frühstadium einer Entzündung und kann zum Zeitpunkt der Blutabnahme wieder abgefallen oder niedrig sein. Der Vorteil der IL-8-Bestimmung aus Lysat gegenüber der Bestimmung aus Plasma besteht darin, dass sich durch die längere Halbwertszeit die Sensitivität erhöht. Die IL-8-Bestimmung aus Lysat eignet sich nicht nur als Frühparameter, sondern auch als Verlaufparameter.

Dies bedeutet mehr diagnostische Sicherheit für den Pädiater. Bei nicht eindeutig interpretierbaren oder nicht infektionsbedingten Blutbild- oder CRP-Veränderungen bietet die IL-8-Messung ein zusätzliches Kriterium zum weiteren ärztlichen Handeln. Die zusätzliche Bestimmung der Zytokine IL-6 und/oder IL-8 erhöhte die Sensitivität für die Erfassung einer systemischen Infektion in einigen Studien erheblich. Als nichtspezifische Parameter dürfen weder IL-8 noch die anderen Parameter isoliert betrachtet werden, vielmehr muss man diese Laborwerte in Verbindung mit dem klinischen Bild der Infektion sehen.

In der Kombination bringt die Bestimmung von Zytokinen (IL-6, IL-8), PCT und CRP wertvolle Hinweise auf den Schweregrad einer Infektion des Neugeborenen, wobei insbesondere PCT und CRP als Verlaufskontrolle geeignet sind.

Die Interleukin-8-Messung erlaubt einen gezielteren, früheren und effizienteren Einsatz von Antibiotika. Prophylaktische Antibiotikatherapie kann vermieden und

somit die Vermeidung von Antibiotikaresistenzen und das Nebenwirkungsrisiko der Antibiotikatherapie bei Neugeborenen verringert werden. Ebenso ist die stationäre Aufnahme von Neugeborenen in die Kinderklinik und somit auch die Trennung von Mutter und Kind zu umgehen. Dies erlaubt eine bessere Patientenversorgung bei gleichzeitiger Kostenreduktion.

Ein weiterer Vorteil der IL-8-Messung mittels des IMMULITE IL-8 Immunoassays ist das geringe Probenvolumen. Bei der Messung des gesamten IL-8 aus Lysat benötigt man nur 50 µl Frischblut und bei der Messung von freiem IL-8 benötigt man 25 µl Plasma, was vor allem bei hypotrophen und frühgeborenen Kinder einen deutlichen Vorteil darstellt.

Einschränkend gilt es, die Schwierigkeit der Definition einer neonatalen Sepsis zu erwähnen. In unserer Studie ist die neonatale bakterielle Infektion/Sepsis sehr weitläufig definiert und nur in zwei Fällen wurde eine Sepsis mit positiver Blutkultur beobachtet. Es handelt sich also größtenteils um „klinisch infizierte“ Neugeborene, wie auch viele andere Studien zeigen (42/43/96/109). In den beiden Studien von Franz et al. war die klinische Sepsis annähernd gleich definiert. Bei kultur-positiver Sepsis waren die IL-8 und CRP-Werte höher als bei der klinischen Sepsis, wobei sich die Werte für IL-8 und CRP beider Gruppen stark überlappten. Es fanden sich im Vergleich zur klinischen Sepsis weniger Fälle mit kultur-positiver Sepsis (42/43).

Weiter zu untersuchen ist, inwieweit die Kinetik und der maximale IL-8-Anstieg mit dem Schweregrad der Infektion korrelieren. Man fand, dass bei einer sicheren Diagnose einer Sepsis erhöhte IL-6-Konzentrationen mit einer schlechteren Prognose des Krankheitsverlaufes assoziiert sind (17). Ein besseres Verständnis dieser Interaktionen ist eine wesentliche Voraussetzung zu einer gezielten Antibiotikatherapie der Kinder.

Die Unterschiede zwischen den einzelnen Studien und die kleinen Fallzahlen erlauben keine sinnvolle gesammelte Metaanalyse.

Darum wäre es für die Zukunft interessant, die Daten in einer größeren Studie zu bestätigen, die nicht nur die early-onset Sepsis, sondern auch die late-onset Sepsis berücksichtigt, sowohl bei reifen Neugeborenen als auch bei Frühgeborenen.

## 5 Zusammenfassung

Nach wie vor zählt die neonatale bakterielle Infektion (NBI) aufgrund der hohen Morbidität und Mortalität zu den Hauptgefahren für das neugeborene Kind.

IL-8 in Plasma ist ein bedeutender Parameter für die Diagnostik einer neonatalen bakteriellen Infektion, besitzt aber nur eine kurze Halbwertszeit. IL-8, in Vollblut-Lysat bestimmt, setzt sich sowohl aus freiem extrazellulären als auch aus zellgebundenen IL-8 zusammen.

Ziel dieser Arbeit war, die Kinetik von IL-8 in Plasma und in Lysat bei gesunden Neugeborenen und bei Neugeborenen mit Verdacht auf NBI zu untersuchen und zu testen, ob die Bestimmung von IL-8 in Lysat eine höhere Sensitivität für die Diagnostik der NBI ermöglicht.

61 Neugeborene mit NBI konnten untersucht werden; die Kontrollgruppe bestand aus 188 Neugeborenen, die Risikofaktoren für NBI zeigten, aber nicht erkrankten.

In der Kontrollgruppe fanden sich bis zu 24 Stunden nach Geburt 280-fach höhere IL-8 Konzentrationen in Lysat (9599 pg/ml; SD 4433) als in Plasma (34,2 pg/ml; 18,1). Die Sensitivität von IL-8 in Lysat *versus* IL-8 in Plasma für NBI betrug innerhalb der ersten 6 Lebensstunden 97% *versus* 71% und nach 24 Stunden 70% *versus* 32%. Die zugehörige Spezifität lag innerhalb der ersten 6 Lebensstunden bei 95% *versus* 90% und nach 24 Stunden bei 92% *versus* 99%. Der negativ prädiktive Wert für IL-8 in Lysat *versus* IL-8 in Plasma war 80% *versus* 66%. IL-8 in Lysat zeigte im Vergleich zu IL-8 in Plasma zum Zeitpunkt des Verdachts auf NBI eine höhere Sensitivität und blieb länger erhöht.

Bei gesunden Reifgeborenen waren die IL-8 Werte in Plasma und Lysat vom Geburtsmodus abhängig. Anhand der Kinetik bei unterschiedlichen Geburtsmodi und bei Neugeborenen mit NBI schien das „IL-8-Gedächtnis“ des Pools zirka 24 Stunden zu reichen. Die IL-8-Bestimmung in Lysat bedeutet somit einen entscheidenden Vorteil im kritischen Zeitfenster einer beginnenden NBI.

## 6 Anhang

Mittelwert, Standardabweichung, Standardfehler, 95%-Konfidenzintervall, Anzahl (n) und Min/Max der Daten zu den Zeitpunkten 0-6, 6-12, 12-18, 18-24, 24-36, 36-48 und 48-60 Stunden nach Geburt in der Kontrollgruppe:

<b>Ctrl.: 0-6h</b>	<b>IL-8 (Lysat)</b>	<b>IL-8 (Plasma)</b>	<b>CRP</b>	<b>Leukozyten</b>	<b>I/T-Quotient</b>
Mittelwert	9599,89011	34,21978022	0,172527473	20319,78022	0,039796703
Standardabweichung	4433,615153	18,11678301	0,947401819	7549,263684	0,040086779
Standardfehler	464,7691536	1,899154892	0,099314696	791,3778649	0,004202236
95% Konfidenzintervall	923,3623782	3,773073501	0,197309682	1572,23977	0,008348633
95% Konfidenzintervall	1223,154404	4,998093468	0,261371064	2082,705604	0,011059219
n	91	91	91	91	91
Min	1560	7	0	5800	0
Max	18960	90	9	52500	0,15
<b>Ctrl.: &lt;12h</b>	<b>IL-8 (Lysat)</b>	<b>IL-8 (Plasma)</b>	<b>CRP</b>	<b>Leukozyten</b>	<b>I/T-Quotient</b>
Mittelwert	11863,15789	32,63157895	0,174248246	21466,66667	0,026817544
Standardabweichung	3989,084731	18,02243798	0,285102109	6260,942801	0,032007438
Standardfehler	528,3671802	2,387130226	0,037762697	829,2821326	0,004239489
95% Konfidenzintervall	1058,466779	4,782087412	0,075649211	1661,283329	0,008492878
95% Konfidenzintervall	1408,996685	6,365759836	0,100701778	2211,446546	0,011305444
n	57	57	57	57	57
Min	3760	2	0	2700	0
Max	19480	90	1,1	36300	0,147
<b>Ctrl.: &lt;18h</b>	<b>IL-8 (Lysat)</b>	<b>IL-8 (Plasma)</b>	<b>CRP</b>	<b>Leukozyten</b>	<b>I/T-Quotient</b>
Mittelwert	12179,14894	33,80851064	0,342978723	19678,7234	0,024265957
Standardabweichung	4240,990363	23,67868083	0,479165556	6336,160412	0,036198572
Standardfehler	618,6120233	3,453890578	0,06989348	924,2239847	0,005280104
95% Konfidenzintervall	1245,225278	6,952454355	0,140690973	1860,402037	0,010628503
95% Konfidenzintervall	1662,337215	9,281311436	0,187818096	2483,579153	0,014188722
n	47	47	47	47	47
Min	3200	10	0	4600	0
Max	18240	150	1,9	34800	0,163
<b>Ctrl.: &lt;24h</b>	<b>IL-8 (Lysat)</b>	<b>IL-8 (Plasma)</b>	<b>CRP</b>	<b>Leukozyten</b>	<b>I/T-Quotient</b>
Mittelwert	11332,36842	27,65789474	0,360526316	19463,15789	0,018473684
Standardabweichung	3849,469907	14,06793616	0,329241121	9431,328503	0,023058957
Standardfehler	624,4664789	2,282120597	0,053409962	1529,963513	0,003740657
95% Konfidenzintervall	1265,313765	4,624105059	0,108220958	3100,060545	0,007579437
95% Konfidenzintervall	1695,804587	6,197339179	0,145040386	4154,777287	0,010158148
n	38	38	38	38	38
Min	4200	10	0	8400	0
Max	18040	55	1,1	67600	0,08
<b>Ctrl.: &lt;36h</b>	<b>IL-8 (Lysat)</b>	<b>IL-8 (Plasma)</b>	<b>CRP</b>	<b>Leukozyten</b>	<b>I/T-Quotient</b>
Mittelwert	8597,619048	28,5	0,45547619	16426,19048	0,013690476
Standardabweichung	3272,949598	16,27544912	0,47209033	3888,761764	0,021758293
Standardfehler	505,0270872	2,511356321	0,072845119	600,0489675	0,003357378
95% Konfidenzintervall	1019,942536	5,071884657	0,147116536	1211,846812	0,006780492
95% Konfidenzintervall	1364,267716	6,784116018	0,196782009	1620,95748	0,009069537
n	42	42	42	42	42
Min	3640	9	0	5300	0
Max	17520	68	1,9	25300	0,1
<b>Ctrl.: &lt;48h</b>	<b>IL-8 (Lysat)</b>	<b>IL-8 (Plasma)</b>	<b>CRP</b>	<b>Leukozyten</b>	<b>I/T-Quotient</b>
Mittelwert	6289,705882	33,55882353	0,832352941	13433,52941	0,016117647
Standardabweichung	2104,385731	18,25939555	1,839420295	4700,384821	0,028898741
Standardfehler	360,8991755	3,131460502	0,315457978	806,1093465	0,004956093
95% Konfidenzintervall	734,2691962	6,371128399	0,641816584	1640,073744	0,010083444
95% Konfidenzintervall	986,5095332	8,55977472	0,862297073	2203,481219	0,013547366
n	34	34	34	34	34
Min	2600	12	0	1140	0

<b>Max</b>	<b>11240</b>	<b>74</b>	<b>11</b>	<b>23500</b>	<b>0,11</b>
<b>Ctrl.: &lt;60h</b>	<b>IL-8 (Lysat)</b>	<b>IL-8 (Plasma)</b>	<b>CRP</b>	<b>Leukozyten</b>	<b>I/T-Quotient</b>
<b>Mittelwert</b>	5181,621622	30,51351351	0,278918919	11391,89189	0,013918919
<b>Standardabweichung</b>	2761,522842	13,861661	0,309657371	3470,701048	0,019352546
<b>Standardfehler</b>	453,9915587	2,278843031	0,050907358	570,5797376	0,003181539
<b>95% Konfidenzintervall</b>	920,7554051	4,621797471	0,103246909	1157,211775	0,006452585
<b>95% Konfidenzintervall</b>	1234,712744	6,197728741	0,138451834	1551,795534	0,008652775
<b>n</b>	37	37	37	37	37
<b>Min</b>	1600	12	0	3500	0
<b>Max</b>	13520	78	1	17500	0,06

Tab.14:

**Mittelwert, Standardabweichung, Standardfehler, 95%-Konfidenzintervall, Anzahl (n) und Min/Max der Daten zu den Zeitpunkten 0-6, 6-12, 12-18, 18-24, 24-36, 36-48 und 48-60 Stunden nach Geburt in der NBI-Gruppe:**

<b>BI: 0-6h</b>	<b>IL-8 (Lysat)</b>	<b>IL-8 (Plasma)</b>	<b>CRP</b>	<b>Leukozyten</b>	<b>I/T-Quotient</b>
<b>Mittelwert</b>	36699,41176	142,4411765	0,365882353	21320,58824	0,084832353
<b>Standardabweichung</b>	26197,20387	111,6689347	0,581274033	8377,631813	0,110635598
<b>Standardfehler</b>	4492,783398	19,15106431	0,099687674	1436,752003	0,018973849
<b>95% Konfidenzintervall</b>	9140,814607	38,96389228	0,202820049	2923,150869	0,038603337
<b>95% Konfidenzintervall</b>	12280,91931	52,34899051	0,272493947	3927,328307	0,0518664575
<b>n</b>	34	34	34	34	34
<b>Min</b>	17160	24	0	4500	0
<b>Max</b>	101920	483	2,5	42300	0,615
<b>NBI: &lt;12h</b>	<b>IL-8 (Lysat)</b>	<b>IL-8 (Plasma)</b>	<b>CRP</b>	<b>Leukozyten</b>	<b>I/T-Quotient</b>
<b>Mittelwert</b>	38620	145,6	1,436666667	18273,33333	0,118316667
<b>Standardabweichung</b>	26748,10364	147,0860879	0,912171843	8168,059464	0,095734522
<b>Standardfehler</b>	4883,513244	26,85412274	0,166539032	1491,276806	0,017478652
<b>95% Konfidenzintervall</b>	9988,102178	54,92392636	0,340617253	3050,063422	0,03574856
<b>95% Konfidenzintervall</b>	13461,84652	74,02582131	0,459079923	4110,839571	0,048181488
<b>n</b>	30	30	30	30	30
<b>Min</b>	10200	17	0	6100	0
<b>Max</b>	119960	555	3,4	43300	0,3
<b>NBI: &lt;18h</b>	<b>IL-8 (Lysat)</b>	<b>IL-8 (Plasma)</b>	<b>CRP</b>	<b>Leukozyten</b>	<b>I/T-Quotient</b>
<b>Mittelwert</b>	35818,94737	68,36842105	2,726315789	21852,63158	0,119752632
<b>Standardabweichung</b>	26475,22739	77,21629831	1,609638367	8716,291797	0,136011198
<b>Standardfehler</b>	6073,833722	17,71463374	0,369276367	1999,654479	0,031203109
<b>95% Konfidenzintervall</b>	12760,91202	37,21782536	0,77583672	4201,204059	0,065556639
<b>95% Konfidenzintervall</b>	17484,55819	50,99457093	1,063024513	5756,343803	0,089823429
<b>n</b>	19	19	19	19	19
<b>Min</b>	13760	21	0,2	9600	0
<b>Max</b>	112160	340	6,1	42300	0,46
<b>NBI: &lt;24h</b>	<b>IL-8 (Lysat)</b>	<b>IL-8 (Plasma)</b>	<b>CRP</b>	<b>Leukozyten</b>	<b>I/T-Quotient</b>
<b>Mittelwert</b>	26502,33333	68,43333333	3,3	18196,66667	0,090172
<b>Standardabweichung</b>	15971,9443	78,85415754	1,583971438	6241,600333	0,154229873
<b>Standardfehler</b>	2916,064727	14,39673361	0,289192296	1139,555099	0,028158393
<b>95% Konfidenzintervall</b>	5964,139133	29,44520454	0,59147627	2330,697634	0,057591512
<b>95% Konfidenzintervall</b>	8038,396506	39,68590001	0,797184753	3141,286832	0,077621162
<b>n</b>	30	30	30	30	30
<b>Min</b>	8600	14	1,5	3500	0
<b>Max</b>	66280	324	7,3	30800	0,8
<b>NBI: &lt;36h</b>	<b>IL-8 (Lysat)</b>	<b>IL-8 (Plasma)</b>	<b>CRP</b>	<b>Leukozyten</b>	<b>I/T-Quotient</b>
<b>Mittelwert</b>	19458,88889	66,08333333	2,897222222	17594,44444	0,083852778
<b>Standardabweichung</b>	19197,42956	107,6357283	2,038414806	7197,656144	0,172484503
<b>Standardfehler</b>	3199,571593	17,93928804	0,339735801	1199,609357	0,028747417
<b>95% Konfidenzintervall</b>	6495,601764	36,41939794	0,689713733	2435,383748	0,058361492
<b>95% Konfidenzintervall</b>	8715,64566	48,86669151	0,925441664	3267,740629	0,078308078
<b>n</b>	36	36	36	36	36

<b>Min</b>	<b>3280</b>	<b>11</b>	<b>0,4</b>	<b>6700</b>	<b>0</b>
<b>Max</b>	<b>110600</b>	<b>495</b>	<b>10,2</b>	<b>45300</b>	<b>0,92</b>
<b>NBI: &lt;48h</b>	<b>IL-8 (Lysat)</b>	<b>IL-8 (Plasma)</b>	<b>CRP</b>	<b>Leukozyten</b>	<b>I/T-Quotient</b>
<b>Mittelwert</b>	<b>12373,33333</b>	<b>48,95238095</b>	<b>1,957142857</b>	<b>13714,28571</b>	<b>0,049833333</b>
<b>Standardabweichung</b>	<b>12219,2984</b>	<b>64,15954815</b>	<b>1,918481542</b>	<b>7204,324098</b>	<b>0,082129047</b>
<b>Standardfehler</b>	<b>2666,469517</b>	<b>14,00076124</b>	<b>0,418646995</b>	<b>1572,112405</b>	<b>0,017922027</b>
<b>95% Konfidenzintervall</b>	<b>5562,270469</b>	<b>29,205667</b>	<b>0,873299995</b>	<b>3279,435355</b>	<b>0,03738545</b>
<b>95% Konfidenzintervall</b>	<b>7587,603976</b>	<b>39,84003228</b>	<b>1,191285924</b>	<b>4473,543111</b>	<b>0,050998238</b>
<b>n</b>	<b>21</b>	<b>21</b>	<b>21</b>	<b>21</b>	<b>21</b>
<b>Min</b>	<b>2120</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>6500</b>	<b>0</b>
<b>Max</b>	<b>60480</b>	<b>311</b>	<b>7,9</b>	<b>34000</b>	<b>0,327</b>
<b>NBI: &lt;60h</b>	<b>IL-8 (Lysat)</b>	<b>IL-8 (Plasma)</b>	<b>CRP</b>	<b>Leukozyten</b>	<b>I/T-Quotient</b>
<b>Mittelwert</b>	<b>6707,142857</b>	<b>52,42857143</b>	<b>0,832142857</b>	<b>12421,42857</b>	<b>0,019707143</b>
<b>Standardabweichung</b>	<b>5535,020397</b>	<b>87,04763641</b>	<b>0,822846717</b>	<b>4929,22931</b>	<b>0,03020911</b>
<b>Standardfehler</b>	<b>1046,020534</b>	<b>16,45045701</b>	<b>0,155503413</b>	<b>931,5367792</b>	<b>0,005708985</b>
<b>95% Konfidenzintervall</b>	<b>2146,299206</b>	<b>33,75421579</b>	<b>0,319072944</b>	<b>1911,393309</b>	<b>0,011714101</b>
<b>95% Konfidenzintervall</b>	<b>2898,408256</b>	<b>45,58241342</b>	<b>0,430882914</b>	<b>2581,186319</b>	<b>0,015818972</b>
<b>n</b>	<b>28</b>	<b>28</b>	<b>28</b>	<b>28</b>	<b>28</b>
<b>Min</b>	<b>1920</b>	<b>12</b>	<b>0</b>	<b>7400</b>	<b>0</b>
<b>Max</b>	<b>29280</b>	<b>483</b>	<b>3,3</b>	<b>29000</b>	<b>0,129</b>

Tab. 15:

**IL-8-Studie zur neonatalen Infektion**

**Kind:** \_\_\_\_\_ **Int.-Nr.:** \_\_\_\_\_

**Pat. Nr.:** \_\_\_\_\_

**Aufnahmenr.:** \_\_\_\_\_

**Aufnahmedatum:** \_\_\_\_\_

**Einverständnis vorliegend: Datum:** \_\_\_\_\_

**Geb.-Datum** \_\_\_\_\_

**Geschlecht** m w

**Gewicht** \_\_\_\_\_g

**Perzentile** \_\_\_\_\_

**Gestationsalter** \_\_\_\_\_SSW

**VBS** ja (1) nein (0) **Zeit vor Geb.:** \_\_\_\_\_h

**Geburtsmodus** spontan VE **Wassergeb. Sectio** **Notsectio**

**APGAR** / /

**Antibiotika** ja (1) nein (0)

**Medikamente**

**Therapiebeginn** **Datum:** \_\_\_\_\_ **Uhrzeit:** \_\_\_\_\_

**Therapieende** **Datum:** \_\_\_\_\_ **Dauer:** \_\_\_\_\_

**Mutter**

**V.a. Infektion** ja (1) nein (0)

**Antibiotika präpart.** ja (1) nein (0)

**Antibiotika peripartal** ja (1) nein (2)

**Medikament**

**CRP** \_\_\_\_\_mg/dl

**Leukos** \_\_\_\_\_/ul

**Abstriche**

**CTG** o.B. (0) susp. (1) tachycard (2)

*Abb.35 :*

Parameter der IL-8-Studie

Kind:

Int.-Nr.:

	1. Abnahme	2. Abnahme	3. Abnahme	4. Abnahme	5. Abnahme
<b>Proben-Nr.:</b>					
<b>Datum</b>					
<b>Uhrzeit</b>					
<b>Zeit n. V.a. Inf.</b>					
<b>IL-8 EDTA (pg/ml)</b>					
<b>IL-8 Plasma (pg/ml)</b>					
<b>CRP (mg/dl)</b>					
<b>Leukos (abs.)</b>					
<b>Granulos %</b>					
<b>Stabk. %</b>					
<b>Juvenile %</b>					
<b>I/T-Quotient</b>					
<b>Thrombos /ul</b>					
<b>Blutkultur</b>					
<b>- Erreger</b>					
<b>LP</b>					
<b>Urinkultur</b>					
<b>- Erreger</b>					
<b>Vitalparameter</b>					
<b>Rekapill.Z.(sec)</b>					
<b>- RR</b>					
<b>- Puls</b>					
<b>- Temp.</b>					
<b>- Hautkolorit</b>					
<b>- Atemfreq.</b>					
<b>- Tonus</b>					
<b>- Reflexe</b>					
<b>- Sättigung</b>					
<b>Sono</b>					
<b>Rö. Th.</b>					
<b>Sonstiges</b>					
<b>Focus</b>					

Abb.36:

## Literaturverzeichnis :

**1. Adamik B et al.:**

**Immunological status of septic and trauma Patients. II. Proliferative Response and Production of Interleukin-6 and Tumor Necrosis factor-alpha by Peripheral Blood Mononuclear Cells from Septic Survivor, Nonsurvivor and Trauma Patients. A correlation with the survival rate.**

**Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis, 45: 277-284, 1997**

**2. Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C:**

**High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection.**

**Lancet 1993; 341: 515-18**

**3. Athhan F, Akagunduz B, Genel F, Bak M, Can D:**

**Procalcitonin: a marker of neonatal sepsis.**

**J Trop Pediatr 2002 Feb; 48(1): 10-4**

**4. Baggiolini M, Dewald M, Moser B:**

**Interleukin-8 and related chemotactic cytokines: CXC and CC chemokines.**

**Adv Immunol 1994; 55: 97-179**

**5. Baggiolini M, Walz A, Kunkel SL:**

**Neutrophil-activating-peptide 1 / Interleukin-8, a novel cytokine that activates neutrophils.**

**J Clin Invest. 1989; 84: 1045-49**

**6. Beck T, Bahlmann F, Weikel W:**

**Histology of chorioamnionitis: relation to maternal and fetal infection parameters.**

**Z Geburtsh u Perinat 1993; 197: 129-34**

**7. Belady-PH, Farkouh-LJ, Gibbs-RS:**

**Intra-amniotic infection and premature rupture of the membranes.**

**Clin Perinatol 1997; 24: 43-57**

**8. Benitz WE, Han MY, Madan A, Ramachandra P:**

**Serial serum C-reactive protein levels in the diagnosis of neonatal infection.**

**Pediatrics 1998; 102: 41**

**9. Benitz WE, Gould JB, Druzin ML:**

**Risk factors for early-onset group B streptococcal sepsis: estimation of odds ratios by critical literature review.**

**Clin Perinatol 1997; 103: 77**

**10. Berner R, Niemeyer CM, Leititis JU, Funke A, Schwab C, Rau U, Richter K, Tawfeek MS, Clad A, Brandis M:**

**Plasma levels and gene expression of granulocyte colony-stimulating factor, tumor necrosis factor-alpha, interleukin (IL)-1beta, IL-6, IL-8, and soluble intercellular adhesion molecule-1 in neonatal early onset sepsis.**

**Pediatr-Res. 1998 Oct; 44(4): 469-77**

- 11. Berner R, Tuxen B, Clad A, Forster J, Brandis M:  
Elevated gene expression of interleukin-8 in cord blood is a sensitive marker for neonatal infection.  
Eur-J-Pediatr. 2000 Mar; 159(3): 205-10**
- 12. de Bont ES, Martens A, van Raan J, Samson G, Fetter WP, Okken A, de Leij LH:  
Tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-1 $\beta$ , interleukin-6 plasma levels in neonatal sepsis. *Pediatr. Res.* 1993; 33: 380-83**
- 13. de Bont ES JM, Martens A, van Raan J, et al.:  
Diagnostic value of plasma levels of tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) and interleukin-6 (IL-6) in newborn sepsis.  
*Acta Pediatr* 1994; 83: 696-99**
- 14. Boyer KM, Gotoff SP:  
Antimicrobial prophylaxis of neonatal group B streptococcal sepsis.  
*Clin Perinatol* 1988; 15: 831-850**
- 15. Bramer S, van Wijk FH, Mol BWJ, Adriaanse AH:  
Risk indicators for neonatal early-onset GBS related diseases. A case control study.  
*J Perinat Med* 1997; 25: 469-75**
- 16. Buck C, Bundschu J, Galatti H, Matis J, Simeoni U:  
Interleukin-6: a sensitive parameter for the early diagnosis of neonatal bacterial infection.  
*Pediatrics* 1994, 93: 54-58**
- 17. Buscher U, Chen F, Dudenhausen JW:  
The use of acute phase proteins and cytokines from umbilical cord blood for the diagnosis of neonatal infection.  
*Gynäkologe* 2001; 34: 525-30**
- 18. Buscher U, Chen F, Pitzen A, Menon R, Vogel M, Obladen M, Dudenhausen JW:  
IL-1 beta, IL-6, IL-8 and G-CSF in the diagnosis of early-onset neonatal infections.  
*J Perinat Med* 2000; 28: 383-88**
- 19. Casey BM et al.:  
The continuing value of the apgar score for the assessment of newborn infants.  
*N Engl J Med* 2001; 344: 467-71**
- 20. Centers for Disease Control and Prevention:  
Prevention of perinatal group B streptococcal disease: a public health perspective. *MMWR* 1996; 445:1-24**

21. Chiesa C, Scheen AJ, Rossi N, Stegagno M, De Giusti M, Osborn JF, et al.:  
Reliability of procalcitonin concentrations for the diagnosis of sepsis in  
critically ill neonates.  
Clin Infect Dis 1998; 26: 664-72
22. Dahler R, Decker K, Hirsch HA:  
Bakterielle Besiedelung des Fruchtwassers unter der Geburt.  
Perinatale Medizin 1975; Thiemeverlag Stuttgart
23. Daniel V:  
Diagnostic value of cytokine determination in serum and plasma.  
Dtsch Med Wochenschr 1995; 120: 1171-71
24. Darbonne WC, Rice GC, Mohler MA, Apple T, Hebert CA, Valente AJ, Baker  
JB:  
Red blood cells are a sink for interleukin 8, a leukocyte chemotaxin.  
J-Clin-Invest. 1991 Oct; 88(4): 1362-9
25. Dembinski J, Behrendt D, Reinsberg J, Bartmann P:  
Zell-assoziiertes Interleukin-8 (IL-8) im Nabelvenenblut gesunder Früh- und  
Neugeborener  
Kongress Poster-Abstract
26. Deutsche Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie e. V.:  
Handbuch, Infektionen bei Kindern und Jugendlichen. Neonatale bakterielle  
Infektionen S 598-607 Futuramed Verlag, München 1995
27. DeWinter RJ, Manten A, de-Jong YP, Adams R, van-Deventer SJ, Lie KI:  
Interleukin 8 released after acute myocardial infarction is mainly bound to  
erythrocytes. Heart. 1997 Dec; 78(6): 598-602
28. Diekmann L, Kotzur J:  
Sepsis im Neugeborenen und Säuglingsalter.  
Klin. Pädiatrie; 188: 135-45
29. Dinauer M:  
The phagocyte system and disorder of granulopoiesis and granulocyte  
function. Hematology of infancy and childhood, 5<sup>th</sup> edn. Saunders,  
Philadelphia: 889-976
30. Döcke WD, Reineke P, Syrbe U, Platzer C, Asadullah K, Krausch D,  
Zuckermann H, Volk HD:  
Immunoparalysis in Sepsis – from Phenomenon to Treatment Strategies.  
Transplantationsmedizin 1997; 9: 55-65
31. Doellner H, Arntzen KJ, Haereid PE, Aag S, Austgulen R:  
Interleukin-6 concentrations in neonates evaluated for sepsis.  
J Pediatr. 1998; 132: 295-99

- 32. Dommergues MA, Patkai J, Renauld JC, Evrad P, Gressens P:  
Proinflammatory cytokines and interleukin-9 exacerbate exotoxic lesions of the newborn murine neoplallium  
Ann Neurol 2000; 47: 54-63**
- 33. Dudley DJ, Hunter C, Mitchell MD, Varner MW:  
Amniotic fluid interleukin-10 (IL-10) concentrations during pregnancy and with labor. J-Reprod-Immunol. 1997 Jun; 33(2): 147-56**
- 34. Eckmann L, Kagnoff MF, Fierer J:  
Epithelial cells secrete the chemokine IL-8 in response to bacterial entry.  
Trends Microbiol 1995;3:118-20**
- 35. Edelson MB, Bagwell CE, Rozycki HJ:  
Circulating pro- and counterinflammatory cytokine levels and severity in necrotizing enterocolitis.  
Pediatrics 1999; 103: 766-71**
- 36. Edgar JDM, Wilson DC, McMillan SA, et al.:  
Predictive value of soluble immunological mediators in neonatal infection.  
Clin Sci 1994; 87:165-71**
- 37. Ehl S, Gering B, Bartmann P, Högel J, Pohlandt F:  
C-reactive protein is a useful marker for guiding duration of antibiotic therapy in suspected neonatal bacterial infection.  
Pediatrics 1997; 99: 216-21**
- 38. Ericson M:  
Neonatal septicemia.  
Acta Paediat Scand 1983; 72:1**
- 39. Ertel W et al..  
Downregulation of proinflammatory Cytokine release in Whole Blood from Septic Patients.  
Blood 1995; 85: 1341-47,**
- 40. Fischer JE, Benn A, Harbath S, Nadal D, Fanconi S:  
Diagnostic accuracy of G-CSF, IL-8 and IL-1ra in critically ill children with suspected infection.  
Intensive Care Med 2002; 28: 1324-1331**
- 41. Fortunato SJ, Menon RP, Swan KF, Menon R:  
Inflammatory cytokine (interleukins 1, 6 and 8 and tumor necrosis factor- $\alpha$ ) release from cultured human fetal membranes in response to endotoxic lipopolysaccharide mirrors amniotic fluid concentrations.  
Am J Obstet Gynecol 1996; 174: 1855-62**

- 42. Franz AR, Kron M, Pohlandt F, Steinbach G:**  
**Comparison of procalcitonin with interleukin 8, C-reactive protein and differential white blood cell count for the early diagnosis of bacterial infections in newborn infants. *Pediatr-Infect-Dis-J.* 1999 Aug; 18(8): 666-71**
- 43. Franz AR, 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. *Pediatrics.* 1999 Sep; 104(3 Pt 1): 447-53**
- 44. Franz AR, Steinbach G, Pohlandt F:**  
**Interleukin 8 (IL-8) is a sensitive marker for early-onset bacterial infections (EOBI) and nosocomial bacterial infections (NBI) in preterm infants. *Pediatr Res;* 1997; 42: 401**
- 45. Gaessler NC et al. :**  
**Determination of Interleukin-8 in amniotic fluid. *Clin Chem* 2001; 47(6): A109, Poster 360**
- 46. Gendrel D, Assicot M, Raymond J, Moulin F, Francoul C, Badoual J et al.:**  
**Procalcitonin as a marker for the early diagnosis of neonatal infection. *J Pediatrics* 1996; 128: 570-73**
- 47. Gerdes JS:**  
**Clinicopathologic approach to the diagnosis of neonatal sepsis. *Clin Perinatol* 1991; 18: 361-81**
- 48. Ghezzi F, Gomez R, Romero R, Yoon BH, Edwin SS, David D, Janisse J, Mazor M:**  
**Elevated Interleukin-8 concentrations in amniotic fluid of mother whose neonates subsequently developed bronchopulmonary dysplasia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998 ; 78 : 5-10**
- 49. Gibbs RS, Romero R, Hillier SL, Eschenbach DA, Sweet RL:**  
**A review of premature birth and subclinical infection *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166: 1515-28**
- 50. Gibbs RS:**  
**Obstetric factors associated with infections of the fetus and the newborn infant. *Remington&Klein*1995: Infectious diseases of the fetus and the newborn infant.**
- 51. Gomez R, Ghezzi F, Romero R, Munoz H, Tolosa JE, Rojas I:**  
**Premature labor and intra-amniotic infection: clinical aspects and role of the cytokines in diagnosis and pathophysiology. *Clin Perinatol* 1995; 19: 649-59**
- 52. Ghosh S, Mittal M, Jaganathan G:**  
**Early diagnosis of neonatal sepsis using a hematological scoring system. *Indian J Med Sci* 2001 Sep; 55(9): 495-500**

**53. van Gool J, van Vugt H, Helle M, Aarden A:**  
The relation among stress, adrenalin, interleukin-6 and acute phase proteins in the rat.

**Clin. Immunol. Immunopathol. 1990; 57: 200-10**

**54. Gora UB:**

**Risikofaktoren für die early onset Sepsis des Neugeborenen.**

**Med Dissertation 1998, Universität Würzburg**

**55. Gregory H, Young J, Schroder JM, Mrowietz U, Christophers E:**  
Structure determination of a human lymphocyte derived neutrophil activating peptide (LYNAP).

**Biochem-Biophys-Res-Commun. 1988 Mar 15; 151(2): 883-90**

**56. Hack CE, De Groob ER, Felt-Bersuva RJF:**

**Increased plasma levels of interleukin-6 in sepsis.**

**Blood 1989; 74: 1704 – 10**

**57. Hack CE, Hart M, van Schindel RJM, Ehrenberg AJM, Nuijens JH, Thijis LG, Aarden LA:**

**Interleukin-8 in sepsis: Relation to shock and inflammatory mediators.**

**Infection and Immunity 1992; 60: 2835-42**

**58. Hallmann M:**

**Cytokines, pulmonary surfactant and consequences of intrauterine infection.**

**Biol Neonate 1999; 76 (Suppl. 1): 2-9**

**59. Hata T, Kawamura T, Inada K, Fujiwaki R, Ariyuki Y, Hata K, Kitao M:**

**Interleukin-6, interleukin-8, and granulocyte elastase in newborns with fetal distress. Gynecol-Obstet-Invest. 1996; 42(3): 174-7**

**60. Hesselgesser J, Chitnis- CE, Miller LH, Yansura DG, Simmons LC, Fairbrother WJ, Kotts C, Wirth C, Gillece-Castro BL, Horuk R:**

**A mutant of melanoma growth stimulating activity does not activate neutrophils but blocks erythrocyte invasion by malaria.**

**J-Biol-Chem. 1995 May 12; 270(19): 11472-6**

**61. Holmes WE, Lee J, Kuang WJ, Rice GC, Wood WI:**

**Structure and functional expression of a human interleukin-8 receptor.**

**Science. 1991 Sep 13; 253(5025): 1278-80**

**62. IMMULITE®-Bedienungshandbuch**

**DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim, Deutschland**

**63. Jawny J:**

**Der vorzeitige Blasensprung**

**Frauenarzt 1999; 9: 1165-72**

64. Jokic M, Guillois B, Cauquelin B, Giroux JD, Bessis JL, Morello R, Levy G, Ballet JJ:  
Fetal distress increases interleukin-6 and interleukin-8 and decreases tumour necrosis factor-alpha cord blood levels in noninfected full-term neonates.  
BJOG 2000; 107: 420-25
65. Källmann J, Kihlström E, Sjöberg L, Schollin J:  
Increase of staphylococci in neonatal septicaemia: a fourteen-year study.  
Acta Paediatr 1997; 86: 533-38
66. Kalfin RE, Engelman RM, Rousou JA, Flack JE, Deaton DW, Kreutzer DL, Das DK:  
Induction of interleukin-8 expression during cardiopulmonary bypass.  
Circulation. 1993 Nov; 88(5 Pt 2): II401-6
67. Kawamura-M; Nishida-H:  
The usefulness of serial C-reactive protein measurement in managing neonatal infection Acta Paediatr 1995; 84; 10-13#
68. Keski-Nisula L, Suonio S, Makkonen M, Katila ML, Puhakainen E, Kuronen A:  
Infection markers during labor at term.  
Acta Obstet Gynecol Scand 1995 ; 74 33-39
69. Kirschbaum-T:  
Antibiotics in the treatment of preterm labor.  
AM J Obstet Gynecol 1993 Apr; 168: 1239-46
70. Klein J, Marcy M:  
Bacterial sepsis and meningitis  
Klein-JRJ, ed. Infectious diseases of the fetus and newborn infant, 4<sup>th</sup> edn.  
Saunders, Philadelphia 1995: 835-90
71. Klein J:  
Current concepts of infectious diseases in the newborn infant.  
Curr Prob Pediatr 1986; 31: 405
72. Klingler W, Dostatni R, Pfitzner R, Schonharl G, Sahakian N, Sustarsic D et al.:  
An automated chemiluminescent immunometric assay for interleukin-8 (IL-8) on the Immulite System.  
Clin Chem 1995; 41: 80
73. Koch AE; et al.:  
Science 1993 ; 258 : 1798-180
74. Kohse KP et al.:  
Whole blood Interleukin-8 concentrations in capillary and cord blood of neonates for the diagnosis of systemic inflammatory states.  
Clin Lab 2002; 48: 497-503

75. Krediet T, Gerards L, Fleer A, van-Stekelenburg G:  
The predictive value of CRP and I/T-ratio in neonatal infection.  
J-Perinat-Med. 1992; 20(6): 479-85
76. Krueger-M. et al.:  
Cord blood levels of Interleukin-6 and Interleukin-8 for the immediate diagnosis  
of early-onset infection in premature neonates.  
Biol Neonate 2001; 80: 118-123
77. Kuester H, Weiss M, Willeitner AE et al.:  
Interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-6 for early diagnosis of  
neonatal sepsis 2 days before clinical manifestation.  
Lancet 1998; 352: 1271-1277
78. Kwak DJ, Augustine NH, Borges WG, Joyner JL, Green WF, Hill HR:  
Intracellular and extracellular cytokine production by human mixed  
mononuclear cells in response to group B streptococci.  
Infect-Immun. 2000 Jan; 68(1): 320-7
79. Lachgar A, Jaureguiberry G, Le-Buenac H, Bizzini B, Zagury JF, Rappaport  
J, Zagury D:  
Binding of HIV-1 to RBCs involves the Duffy antigen receptors for chemokines  
(DARC).  
Biomed-Pharmacother. 1998; 52(10): 436-9
80. Ladfors L, Tessin I, Mattsson LA, Eriksson M, Seeberg S, Fall O:  
Riskfaktors for neonatal sepsis in offspring of women with prelabor rupture of  
the membranes at 34 - 42 weeks.  
J Perinat Med 1998; 26: 94-101
81. Lehrnbecher T, Schrod L, Rutsch P, Roos T, Martius J, von-Stockhausen  
HB:  
Interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptor in cord blood in the early  
diagnosis of early-onset sepsis in neonates.  
Acta Pediatr. 1995; 84: 806-08
82. Lehrnbecher T, Schrod L, Rutsch P, Roos T, Martius J, von-Stockhausen  
HB:  
Immunologic parameters in cord blood indicating early-onset sepsis.  
Biol-Neonate. 1996; 70(4): 206-12
83. Leviton A, Paneth N, Reuss ML, Susser M, Allred EN, Dammann O, Kuban  
K, Van Marter LJ, Pagano M:  
Maternal infection, fetal inflammatory response, and brain damage in very low  
birth weight infants.  
Pediatr Res 1999; 46: 566-75
84. Lieberman E, Lang J, Richardson DK, Frigoletto FD, Heffner LJ, Cohen A:  
Intrapartum maternal fever and neonatal outcome.  
Pediatrics 2000 Jan; 105(1 Pt 1): 8-13

- 85. Lindley IJ, Westwick D, Kunkel SL:  
Nomenclature announcement- the chemokines.  
J. Immunol. today 1993, 14: 24**
- 86. Maberry MC, Ramin SM, Gilstrap LC, Levend KJ, Dax JS:  
Intrapartum asphyxia in pregnancies complicates by intraamniotic infection.  
Obstet Gynecol 1990 ; 76 : 351-54**
- 87. McIntosh EDG, Jeffrey HE:  
Clinical application of urine antigen detection in early-onset group B streptococcal disease.  
Arch Dis child 1992; 67: 1198-200**
- 88. Marie C, Fitting C, Cheval C, Losser MR, Carlet J, Payen D Foster K, Cavaillon JM:  
Presence of high levels of leukocyte-associated interleukin-8 upon cell activation and in patients with sepsis syndrome.  
Infect-Immun. 1997 Mar; 65(3): 865-71**
- 89. Martich GD, Danner RL, Ceska M, Suffredini AF:  
Detection of interleukin-8 and tumor necrosis factor in normal humans after intravenous endotoxin: the effect of anti-inflammatory agents.  
J Exp Med. 1991; 173: 1021-24**
- 90. Martin-H; Olander-B; Norman-M:  
Reactive hyperemia and interleukin 6, interleukin 8 and tumor necrosis factor-alpha in the diagnosis of early-onset neonatal sepsis.  
Pediatrics 2001 Oct; 108(4): E61**
- 91. Martius-J:  
Die aufsteigende Infektion in der Schwangerschaft als eine Ursache der Frühgeburt.  
Z Geburtsh u Perinat 1989; 193: 1-7**
- 92. Mathers NJ, Pohlandt F:  
Dagnostic audit of C-reactive protein in neonatal infection.  
Eur J Pediatr 1987; 146: 147-51**
- 93. Matsushima K, Oppenheim JJ  
Cytokine 1989;1: 2-13**
- 94. Matsushima K et al.  
J Exp. Med 1988; 167: 1882-93**
- 95. McCracken GH, Eichenwald HF:  
Leukocyte function and the development of opsonic complement activity in the neonate. Am J Dis Child 1971; 121: 120-26**
- 96. Mehr SS, Doyle LW, Rice GE, Vervaart P, Henschke P:  
Interleukin-6 and Interleukin-8 in newborn Bacterial Infection.  
Am J of Perinat. 2001; 18: 313-23**

- 97. Mehr SS, Doyle LW:**  
**Cytokines as markers of bacterial sepsis in newborn infants: a review.**  
**Pediatr Infect Dis J, 2000; 19: 879-887**
- 98. Menon R, Swan KF, Lyden TW, Rote NS, Fortunato SJ:**  
**Expression of inflammatory cytokines (Interleukin-1 $\beta$  and interleukin-6) in amniochorionic membranes.**  
**Am J Obstet Gynecol 1995; 172: 493-500**
- 99. Mitchell MD, Edwin S, Romero RJ:**  
**Prostaglandin biosynthesis by human decidual cells: effects of inflammatory mediators.**  
**Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 1990 ; 41 : 35**
- 100. Mitchell MD, Romero RJ, Edwin SS, Trautmann MS:**  
**Prostaglandins and parturition**  
**Reprod Fertil Dev 1995; 7: 623**
- 101. Müller H, Kubli F:**  
**Das Amnioninfektionssyndrom und die vorzeitige Amnionruptur, die manifesten und die drohenden unspezifischen intrauterinen Infektionen des letzten Schwangerschaftsdrittels.**  
**Z Geburth Perinat 179: 77**
- 102. Munshi UK, Niu JO, Siddiq MM, Parton LA:**  
**Elevation of interleukin-8 and interleukin-6 precedes the influx of neutrophils in tracheal aspirates from preterm infants who develop bronchopulmonary dysplasia.**  
**Pediatr Pulmonol 1997; 24: 331-36**
- 103. Murphy PM, Tiffany HL:**  
**Cloning of complementary DNA encoding a functional human interleukin-8 recepto.** **Science 1991 Sep 13; 253(5025): 1280-3**
- 104. Negussie Y, Remick DG, De Forge LE, Kunkel SL, Eynon A, Griffin GE :**  
**Detection of plasma tumor necrosis factor, interleukin-6 and -8 during the Jarisch-Herxheimer reaction of relapsing fever.**  
**J Exp Med 1992; 175: 1207-12**
- 105. Nelson KB, Dambrosia JM, Grether JK, Phillips TM:**  
**Neonatal cytokines and coagulation factors in children with cerebral palsy.**  
**Ann Neurol 1998; 44: 66-75**
- 106. Ng PC, Cheng SH, Chui KM et al.:**  
**Diagnosis of late onset neonatal sepsis with cytokines, adhesion molecule and C-reactive protein in preterm very low birthweight infants.**  
**Arch Dis Child. 1997; 77: 221-27**
- 107. Niedersächsische Neonatalerhebung:**  
**NP Extra 1997: 73**

- 108. Novac-Antolic Z, Pajntar M, Verdenik I:**  
Rupture of the membranes and postpartum infection  
Eur J Obstet Gynecol 1997 ; 71 : 141-46
- 109. Nupponen I, Andersson S, Järvenpää AL, Kautiainen H, Repo H:**  
Neutrophil CD11b Expression and Circulating Interleukin-8 as Diagnostic  
Marker for Early-Onset Neonatal Sepsis.  
Pediatrics vol. 108 No.1 July 2001
- 110. Oppenheim-JJ; et al.**  
Annu. Rev. Immunol.1991; 9: 617-48
- 111. O'Shea TM, Klinepeter KL, Meis PJ, Dillard RG:**  
Intrauterine infection and the risk of cerebral palsy in very low-birthweight  
infants. Pediatr and Perinatal Epidemiology; 1998; 12:72-83
- 112. Ottolini MC, Lundgren K, Mirkinson LJ, Cason S, Ottolini MG:**  
Utility of complete blood count and blood culture screening to diagnose  
neonatal sepsis in the asymptomatic newborn  
Pediatr Infect Dis J 2003; 22: 430-34
- 113. Pauli I, Shekhawat P, Sagidharan P:**  
Early detection of bacteremia in the neonatal intensive care unit using the new  
BACTEC system.  
J Perinatol 1999; 19: 127-31
- 114. Peiper SC, Wang ZX, Neote K, Martin AW, Showell HJ, Conklyn MJ,  
Ogborne K, Hadley TJ, Lu ZH, Hesselgesser J:**  
The Duffy antigen/receptor for chemokines (DARC) is expressed in endothelial  
cells of Duffy negative individuals who lack the erythrocyte receptor.  
J-Exp-Med. 1995 Apr 1; 181(4): 1311-7
- 115. Petrova A, Demissie K, Rhoads GG, Smulian JC, Marcella S, Ananth CV:**  
Association of maternal fever during labor with neonatal and infant morbidity  
and mortality.  
Obstet Gynecol 2001 Jul; 98(1): 20-7
- 116. Pfeiffer KA, Reinsberg J, Rahmun A, Schmolling J, Krebs D:**  
Clinical application of maternal serum cytokine determination in premature  
rupture of membranes-interleukin-6, an early predictor of neonatal infection?  
Acta-Obstet-Gynecol-Scand. 1999 Oct; 78(9): 774-8
- 117. Philipp AGS:**  
A screening score in the diagnosis of neonatal sepsis. "Diagnostics in  
perinatal infections, Suppl. 1"  
Betke-K; Riegel-K et al 1984 Med. Verlagsgesellschaft
- 118. Pirenne J, Pirenne-Noizat F, De Groote D, Vrindts Y, Lopez M, Gathy R et  
al.: Cytokines and organ transplantation. A review.**  
Nucl Med Biol 1994; 83-88

- 119. Polin RA et al:  
Neonatal sepsis.  
Adv Pediatr Infect Dis. 1992; 7: 25-33**
- 120. Pourcyrous M, Bada HS, Korones SB, Baselsli V, Wong SP:  
Significance of serial C-reactive protein response in neonatal infection and other disorders.  
Pediatrics 1993; 92: 431-35**
- 121. Puchner T, Egarter C, Wimmer C, Lederhilger F, Weichselbraun I:  
Amniotic fluid interleukin-8 as a marker for intraamniotic infection.  
Arch-Gynecol-Obstet. 1993; 253(1): 9-14**
- 122. Rabe T:  
Gynäkologie und Geburtshilfe. 1990 Ed. Medizin VCH, Weinheim**
- 123. Redl H, Schlag G, Bahrami S, Schade U, Ceska M, Stutz P:  
Plasma neutrophil-activating peptide-1/interleukin-8 and neutrophil elastase in a primate bacteremia model.  
J Infect Dis 1991; 164(2): 383-88**
- 124. Redl H, Schlag G, Bahrami S, Dinges HP, Schade U, Ceska M:  
Markers of endotoxin related leukocyte activation and injury mechanisms.  
Prog Clin Biol Res 1991; 367: 83-100**
- 125. Reinsberg J, Dembinski J, Dorn C, Behrendt D, Bartmann P, van-Der-Ven H:  
Determination of total interleukin-8 in whole blood after cell lysis.  
Clin-Chem. 2000 Sep; 46(9): 1387-94**
- 126. Romero R, Mazor M:  
Infection and preterm labor.  
Clin Obstet Gynecol 1988; 31: 553-84**
- 127. Romero R, Mazor M, Marotti R, Avila C, Oyarzun E; Insunza A, Parra M, Behnke E, Montiel F, Cassell GH:  
Microbial invasion of the amniotic cavity in spontaneous rupture of membranes at term.  
Am J Obstet Gynecol 1992; 166: 129-33**
- 128. Roos T, Martius J:  
Pathogenese der Frühgeburt: Immunologische Aspekte.  
Gynäkologie 1996; 29: 114-21**
- 129. Rot A  
Cytokine 1991; 3: 21-27**
- 130. Rowen JL, Smith CW, Edwards MS:  
Group B streptococci elicit leukotriene B4 and interleukin-8 from human monocytes: neonates exhibit a diminished response.  
J-Infect-Dis. 1995 Aug; 172(2): 420-6**

- 131. Russel GA, Smyth A, Cooke RW:**  
Receiver operating characteristics curve for comparison of serial neutrophil band forms and C-reactive protein in neonates at risk of infection.  
Arch Dis Child 1992; 67: 808-12
- 132. Sack U, Lambrecht HG, Kamprad M, Burkhardt U, Borte M, Emmrich F:**  
Detection of Interleukins 6 and 8, Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ , and Soluble Interleukin-2 Receptor in Sera of Healthy Children by an automated System (IMMULITE).  
J Lab Med 1999; 23 (11): 621-25
- 133. Saez-Llorens X, McCracken GH:**  
Sepsis syndrome and septic shock in pediatrics: current concepts of terminology, pathophysiology and management  
J Pediatr 1993; 123: 429-508
- 134. Saji F et al. :**  
Cytokine production in chorioamnionitis.  
J. Reprod. Immunol. 2000; 47(2): 185-96
- 135. Salzer HR, Genger H, Weninger M, Pollack A:**  
Prognostische Bedeutung des Beginns einer Sepsis beim Neugeborenen.  
Wien Klein Wochenschr 1988; 100: 564-67
- 136. Schelonka RL:**  
Infante AJ.  
Neonatal immunology 1998. Semin Perinatol 22: 2-14
- 137. Schibler KR, Trautman MS, Liechty KW, White WL, Rothstein G, Christensen RD:**  
Diminished transcription of interleukin-8 by monocytes from preterm neonates.  
J Leukoc-Biol. 1993 Apr; 53(4): 399-403
- 138. Schollin J:**  
Interleukin-8 in neonatal sepsis.  
Acta Paediatr 2001, 90: 961-964
- 139. Schröder JM, Mrowietz U, Morita E, Christophers E:**  
Purification and partial biochemical characterization of a human monocyte-derived neutrophil-activating factor that lacks IL-1 activity.  
J.Immunol. 1987, 139: 3474 - 3483
- 140. Schultz C, Rott C, Temming P, Schlenke P, Moller JC, Bucsky P:**  
Enhanced interleukin-6 and interleukin-8 synthesis in term and preterm infants.  
Pediatr Res 2002 Mar; 51(3): 317-22

- 141. Seaward PGR, Hannah ME, Myhr TL, Farine D, Ohlsson A, Wang EE, Hodnett E, Haque K, Weston JA, Ohel G:**  
**International multicenter term PROM study: Evaluation of predictors of neonatal infection in infants born to patients with premature rupture of membranes at term**  
**Am J Obstet Gynecol 1998; 179: 635-39**
- 142. Seghaye MC, Heyl W, Grabitz RG, Schumacher K, von-Bernuth G, Rath W, Duchateau J:**  
**The production of pro- and anti-inflammatory cytokines in neonates assessed by stimulated whole cord blood culture and by plasma levels at birth.**  
**Biol-Neonate. 1998; 73(4): 220-7**
- 143. Siegel JD, McCracken GH:**  
**sepsis neonatorum.**  
**N Engl J Med. 1981; 304: 642-47**
- 144. Soman M, Green B, Daling J:**  
**Risk factors for early neonatal sepsis.**  
**Am J Epidemiol 1985; 121: 712-19**
- 145. Sonntag W, Wagner MH, Strauss E, Obladen M:**  
**Complement and contact activation in term neonates after fetal acidosis.**  
**Arch Dis Child 1998; 78:125-8**
- 146. Speer CP, Gahr M, Schröter W:**  
**Early diagnosis of neonatal infection.**  
**Monatsschr. Kinderheilkd. 133 (1985), 665-68**
- 147. Squire E, Favara B; Todd J: Diagnosis of neonatal bacterial infection: hematologic and pathologic findings in fetal and nonfetal cases.**  
**Pediatrics 1979; 64: 60-64**
- 148. Steinbach G et al.:**  
**CRP, LBP and IL-8 in haemolysed whole blood in the monitoring of intensive care patients.**  
**Clin Chem Lab Med 2001; 39(9): A73**
- 149. Steinborn A, Gätje R, Krämer P, Kühnert M, Halberstadt E:**  
**Zytokine in der Diagnostik des Amnion-Infekt-Syndroms**  
**Z Geburtsh u Perinat 1994; 198: 1-5**
- 150. St Geme JW, Murray DL, Carter J:**  
**Perinatal bacterial infection after prolonged rupture of amniotic membranes: an analysis of risk and management**  
**J Pediatr 1984; 104: 608**
- 151. Stoll BJ, Gordon T, Korones SB, Shankaran S, Thyson JE, Bauer CR, Fanaroff AA, Lemons JA, Donovan EF, Oh W, Stevenson DK, Ehrenkranz RA, Papile LA, Verter J, Wright LL:**

**Early-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;72-80**

**152. Stoll BJ, Gordon T, Korones SB et al.:**

**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: 63-71**

**153. Storm W:**

**Beurteilung positiver Blutkulturen bei intensiv pflegebedürftigen Kindern.**

**Pädiatr Praxis 1983; 27: 1-10**

**154. Strieter RM, Phan SH, Showell HJ, Remick DG, Lynch JP, Genord M, Raiford C, Eskandari M, Marks RM, Kunkel SL:**

**Monokine-induced neutrophil chemotactic factor gene expression in human fibroblasts. J-Biol-Chem. 1989 Jun 25; 264(18): 10621-6**

**155. Swaanenburg JCJM et al.:**

**The diagnostic performance of IL-8 as discriminator between fever episodes caused by bacterial infection or of nonbacterial origin in chemotherapy-related neutropenic patients.**

**Clin.Chem. 1999; 45(6): A162**

**156. Takasaki J, Ogawa Y:**

**Anti-interleukin-8 auto-antibodies in cerebrospinal fluid of children with purulent meningitis.**

**Pediatr-Int. 2000 Apr; 42(2): 139-42**

**157. Takasaki J, Ogawa Y:**

**Interleukin 8 and granulocyte elastase alpha 1 proteinase inhibitor complex in the tracheobronchial aspirate of infants with chronic lung disease following inter-uterine infection.**

**Acta-Paediatr-Jpn. 1996 Apr; 38(2): 132-6**

**158. Taniguchi T, Matsuzaki N, Shimoya K, Neki R, Okada T, Kitajima H, Saji F, Tanizawa O:**

**Fetal mononuclear cells show a comparable capacity with maternal mononuclear cells to produce IL-8 in response to lipopolysaccharide in chorioamnionitis.**

**J-Reprod-Immunol. 1993 Jan; 23(1): 1-12**

**159. Tarnok A, Hamsch J, Emmerich F, Sack U, van Son J, Bellinghausen W et al.:**

**Complement activation, cytokines, and adhesion molecules in children undergoing cardiac surgery with or without cardiopulmonary bypass.**

**Pediatr Cardiol 1999; 20: 113-25**

- 160. Teichmann AT, Arendt P, Speer CP:**  
**Premature rupture of the membranes and amniotic infections- the significance of laboratory tests.**  
**Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1990 ; 34 :217-22**
- 161. Tilg H, Pape D, Trehu E, Shapiro L, Atkins MB, Dinarello CA, Mier JW:**  
**A method for the detection of erythrocyte-bound interleukin-8 in humans during interleukin-1 immunotherapy.**  
**J-Immunol-Methods. 1993 Aug 9; 163(2): 253-8**
- 162. Tsaka T, Herkner KR:**  
**Infectious diseases in the neonates: diagnosis and monitoring by quantitative plasma polymorphonuclear leukocyte-elastase determination.**  
**J Pediatr 1990; 117. 968-70**
- 163. Ullrich E:**  
**Die Wertigkeit der Leukozyten-Elastase bei peripartalen und neonatalen Infektionen. Med Dissertation 1994; Universität Tübingen**
- 164. Vogtmann C:**  
**Wertigkeit perinataler Charakteristika für die Diagnostik perinataler Infektionen. Zentr Gynäk 1993; 115: 61-67**
- 165. Watterberg KL, Demers LM, Scott SM, Murphy S:**  
**Chorioamnionitis and early lung inflammation in infants in whom bronchopulmonary dysplasia develops**  
**Pediatrics 1996; 97: 210-15**
- 166. Wenzel TG, Skopnik H:**  
**Serielle Bestimmung des c-reaktiven Proteins (CRP) bei Neugeboreneninfektion.**  
**Päd 1999; 5: 258-60**
- 167. Wijdicks EF, Silbert PL, Jack CR, Parisi JE:**  
**Subcortical hemorrhage in disseminated intravascular coagulation associated in sepsis.**  
**Am J Neuroradiol 1994; 15: 763-65**
- 168. Wilson CB:**  
**Immunologic basis for increased susceptibility of the neonate to infection.**  
**J Pediatr 1986; 14: 1096-1100**
- 169. Yancey MK, Duff P, Kubilis P, Clark P, Horn-Frentzen B:**  
**Risk factors for neonatal sepsis.**  
**Obstet Gynecol 1996; 87: 188-94**
- 170. Yoon BH, Romero CJ, Yang SH, Jun JK, Kim IO; Choi JH, Syn HC:**  
**Interleukin-6 concentrations in umbilical cord plasma are elevated in neonates with white matter lesions associated with periventricular leukomalacia.**  
**Am J Obstet Gynecol 1996; 174: 1433-40**

**171. Yoon BH, Romero CJ, Jun JK, Gomez R, Choi JH, Syn HC: Amniotic fluid interleukin-6: a sensitive test for antenatal diagnosis of acute inflammatory lesions of preterm placenta and prediction of perinatal morbidity. Am J Obstet Gynecol 1995; 172: 960-70**

## **Danksagung:**

Als erstes möchte ich mich bei meinem Betreuer dieser Arbeit Herrn PD. Dr. med. Thorsten Orlikowsky bedanken, der mir während der Entstehung dieser Arbeit in vielen ergiebigen Diskussionen mit konstruktiver Kritik, Anregungen und Rat zur Seite stand.

Mein weiterer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. C. F. Poets, in dessen Abteilung diese Arbeit in einer angenehmen Atmosphäre entstanden ist, für die prompte Korrektur und die konstruktive Kritik.

Bedanken möchte ich mich bei allen Schwestern und Ärzten der Abteilung für Neonatologie für die freundschaftliche und nette Zusammenarbeit.

Für hilfreiche Diskussionen, Verbesserungsvorschläge und sorgfältiges Lesen dieser Arbeit danke ich ferner meiner Schwester Eva und meinen Eltern.

Ich möchte mich bei meinen Eltern bedanken, die mir dies alles ermöglicht haben.

## *Lebenslauf*

**Name** Felix Neunhoeffler  
**Geburtstag** 01.06.1977 in Tübingen

### *Schulbildung und Studium*

1987-1997 **Uhland-Gymnasium Tübingen;**  
Abitur im Oktober 1996.  
1997-2004 Medizinstudium an der **Eberhard-Karls-Universität Tübingen.**  
08/1999 **Physikum**  
08/2001 **1. Staatsexamen**  
03/2003 **2. Staatsexamen**  
05/2004 **3. Staatsexamen**

### *Zivildienst*

1996-1997 Neonatologische Intensivstation; Universitätskinderklinik, Tübingen.

### *Famulaturen*

03-04/2000 Abteilung für **Neonatologie;**  
Universitätskinderklinik Tübingen.  
02-04/2001 **Traumatologie und Orthopädie;**  
**MIOT Hospitals**  
Chennai, Indien.  
04-06/2002 **Studentischer Tutor;**  
Universitätskinderklinik Tübingen.  
09/2002 **Family Medicine und Emergency Room**  
University of Pretoria; Kalafong Hospital  
Pretoria, Südafrika.

## *Praktisches Jahr*

- 05/2003 - 1. Terial: **Chirurgie**, Kantonsspital Winterthur, Schweiz.  
04/2004 2. Terial: **Innere Medizin**, Bürgerhospital Stuttgart.  
3. Terial: **Pädiatrie**, Olgahospital Stuttgart.

## *Berufstätigkeit*

seit 07/2004 **Arzt im Praktikum** in der Abteilung I an der Universitätskinderklinik  
Tübingen