

Diplomarbeit

**Korrelation des neonatalen C-reaktiven Proteins mit  
perinatalen Infektionen**

eingereicht von

**Nora Hofer**

Matrikelnummer: 0312709

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktorin der gesamten Heilkunde**

**(Dr. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der

**Univ.-Klinik für Kinder-und Jugendheilkunde**

**Klinische Abteilung für Neonatologie**

unter der Anleitung von

**Univ.-Prof. Dr. Bernhard Resch**

## Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwende habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 02.05.2009

## Danksagung

---

An dieser Stelle möchte ich mich all jenen bedanken, die mich während des gesamten Studiums und bei der Erstellung dieser Diplomarbeit unterstützt haben.

Allen voran gilt mein Dank meiner Familie, besonders meinen Eltern, die mich in allen Lebenslagen unterstützt und mir das Studium erst ermöglicht haben.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei Univ.-Prof. Dr. Bernhard Resch für die großartige und stets freundliche Betreuung während der Erstellung dieser Diplomarbeit, dafür, dass er mir mit viel Zeitaufwand und Engagement immer zur Seite stand und dafür, dass er mich mit seiner Freude und Motivation für das wissenschaftliche Arbeiten angesteckt hat und ich viel von ihm lernen durfte.

Zum Schluss möchte ich mich bei meinen Freunden bedanken, mit denen ich eine unvergessliche Studienzeit erleben konnte und bei Rudi, der immer an mich geglaubt und mich stets unterstützt hat.

## Zusammenfassung

Hintergrund: Die Diagnostik der Early Onset Sepsis (EOS) bereitet oft Schwierigkeiten, denn klinische Zeichen sind unspezifisch, Blutkulturen häufig falsch negativ und von der Vielzahl an untersuchten Laborparametern erlaubt kein einzelner eine frühe und sichere Diagnosestellung. Ziel dieser Arbeit war es, das C-reaktive Protein (CRP) bei infektiologischen und nicht infektiologischen Krankheitsbildern bei Früh- und Reifgeborenen genauer zu untersuchen.

Methoden: In dieser retrospektiven Studie wurden die Daten aller Neugeborenen, die von 2004 bis 2007 an der neonatologischen Intensivstation der Universitätsklinik Graz hospitalisiert wurden und für die mindestens ein CRP-Wert der ersten 72 Lebensstunden vorlag, erfasst. Es wurden die Eigenschaften des CRP in der Sepsisdiagnostik, die Korrelation mit nicht infektiologischen Diagnosen und die Unterschiede der CRP-Werte zwischen Früh- und Reifgeborenen untersucht.

Ergebnisse: Von 690 Neugeborenen hatten 168 eine Kultur oder klinisch positive EOS (24%). Die Sensitivität und Spezifität des CRP bei einem Cut-off Wert von 8 mg/L lagen bei 67% und 88% in der Diagnostik der Kultur positiven und bei 54% und 88% in der Diagnostik der Kultur und klinisch positiven EOS. Die Sensitivität war bei Reifgeborenen und nach den ersten 24 Lebensstunden höher. Frühgeborene reagierten auf eine Infektion häufig mit einem milden Anstieg der CRP-Werte, sodass ein niedrigerer Cut-off Wert von 5,75 mg/L die Sensitivität steigern konnte. Nicht infektiologisch erhöhte CRP-Werte korrelierten mit Mekoniumaspirationssyndrom bei Reifgeborenen ( $p < 0,001$ ) und mit schwerem idiopathic respiratory distress syndrome und assistierter Ventilation bei Frühgeborenen ( $p < 0,05$ ). Unter EOS positiven und negativen Kindern zeigten Frühgeborene signifikant niedrigere Werte als Reifgeborene ( $p < 0,001$ ). Der physiologische Anstieg des CRP war bei beiden Altersgruppen zu beobachten, bei Frühgeborenen waren die Werte wiederum niedriger.

Zusammenfassung: Das CRP ist als vor allem später, spezifischer Marker hilfreich in der Diagnostik der EOS, Erhöhungen im Rahmen anderer Krankheitsbilder im selben Lebensalter sind aber möglich. Frühgeborene reagieren auf die Infektion mit einem milderen Anstieg, im unkomplizierten Verlauf sind ihre Werte niedriger.

## Abstract

### Correlation of neonatal c-reactive protein (CRP) with perinatal infections.

Background: Diagnosing early onset sepsis (EOS) in the newborn can be difficult, as clinical signs are not specific, blood culture results are often false negative and currently no single diagnostic test permits early and secure diagnosis. Aim of this study was to analyze c-reactive protein (CRP) as a marker of sepsis in the newborn, its correlation with non-infectious conditions and differences between term and preterm newborns.

Methods: In this retrospective study we included all newborns hospitalized at the Neonatal Intensive Care Unit, Department of Pediatrics of the Medical University of Graz between 2004 and 2007 with at least one CRP value done within the first 72 hours of life. Diagnostic accuracy of CRP in diagnosis of EOS was analyzed, as well as correlation with non-infectious diagnoses and differences between values of term and preterm newborns.

Results: Of 690 newborns included, 168 had culture or clinical positive EOS (24%). Sensitivity and specificity of CRP at the cut-off 8 mg/L in predicting culture proven EOS were 67% and 88%, for culture and clinical positive EOS 54% and 88%. Sensitivity was higher in term newborns and after the first 24 hours of life. Preterm newborns were more likely to show a milder CRP response to infection and using a lower cut-off of 5,75 mg/L sensitivity raised in this age group. Non-infectious elevated levels of CRP correlated significantly with meconium aspiration syndrome in term ( $p < 0,001$ ) and with severe idiopathic respiratory distress syndrome and ventilatory support in preterm newborns ( $p < 0,05$ ). Preterm newborns had lower CRP levels compared to term newborns both in EOS positive and negative infants ( $p < 0,001$ ). Term as well as preterm infants showed a physiologic increase of CRP values during the first days of life, and values were again lower in the group of preterm newborns.

Conclusion: CRP proved to be helpful in the diagnosis of EOS as a late and specific marker, though elevations were also associated with other non-infectious conditions. Preterm newborns showed a milder CRP response to infection and they had lower levels in uncomplicated clinical courses.

# Inhaltsverzeichnis

---

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG.....	II
DANKSAGUNG.....	III
INHALTSVERZEICHNIS .....	VI
GLOSSAR UND ABKÜRZUNGEN.....	VIII
ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....	IX
TABELLENVERZEICHNIS.....	X
<b>1 EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
1.1 C- REAKTIVES PROTEIN .....	2
1.1.1 <i>Geschichtliches</i> .....	2
1.1.2 <i>Aufbau</i> .....	2
1.1.3 <i>Genetik und Synthese</i> .....	4
1.1.4 <i>Funktion</i> .....	4
1.1.5 <i>CRP als Bestandteil der Akut-Phase-Antwort</i> .....	6
1.2 INFektionen BEI NEUGEBORENEN: EARLY ONSET SEPSIS .....	10
1.2.1 <i>Epidemiologie</i> .....	11
1.2.2 <i>Pathogenese</i> .....	11
1.2.3 <i>Risikofaktoren</i> .....	13
1.2.4 <i>Klinische Manifestationen</i> .....	16
1.2.5 <i>Differentialdiagnosen</i> .....	19
1.2.6 <i>Erregernachweis</i> .....	20
1.2.7 <i>Labordiagnostik</i> .....	22
1.2.8 <i>Therapie</i> .....	33
<b>2 MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>36</b>
2.1 STUDIENDESIGN .....	36
2.2 DEFINITION EARLY ONSET SEPSIS.....	36
2.3 CRP BESTIMMUNG.....	38
2.4 STATISTISCHE AUSWERTUNG .....	38

<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>40</b>
3.1	CRP UND EOS .....	41
3.1.1	ROC-Kurven und AUC .....	41
3.1.2	Diagnostische Genauigkeit des CRP in der EOS-Diagnostik .....	46
3.1.3	Mittlere CRP-Werte bei EOS positiven und negativen Neugeborenen .....	49
3.2	CRP BEI NICHT INFEKTIOLOGISCHEN NEONATALEN KRANKHEITSBILDERN .....	51
3.2.1	Verteilung erhöhter CRP-Werte .....	51
3.2.2	Korrelation mit nicht infektiologischen Krankheitsbildern .....	52
3.3	UNTERSCHIEDE ZWISCHEN FRÜH- UND REIFGEBORENEN .....	58
3.3.1	CRP-Werte EOS positiver und negativer Neugeborener .....	59
3.3.2	Verlauf der CRP-Werte in den ersten 72 Lebensstunden .....	61
3.3.3	Geschlechterspezifische Unterschiede .....	64
<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>66</b>
4.1	CRP UND EOS .....	66
4.1.1	Zeitpunkt und Anzahl der CRP Bestimmungen .....	66
4.1.2	Falsch negative CRP-Werte .....	67
4.1.3	Vergleich der Cut-off Werte .....	68
4.2	CRP BEI NICHT INFEKTIOLOGISCHEN NEONATALEN KRANKHEITSBILDERN .....	70
4.2.1	Korrelationen erhöhter CRP-Werte bei Reifgeborenen .....	70
4.2.2	Korrelationen erhöhter CRP-Werte bei Frühgeborenen .....	71
4.3	UNTERSCHIEDE ZWISCHEN FRÜH- UND REIFGEBORENEN .....	73
4.4	LIMITATIONEN .....	75
4.5	ZUR PROBLEMATIK DER SEPSISDEFINITION BEIM NEUGEBORENEN .....	76
4.6	ZUSAMMENFASSUNG .....	80
<b>5</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>81</b>

## Glossar und Abkürzungen

---

AUC – Area under the curve  
CRP – C- reaktives Protein  
EOS – Early Onset Sepsis  
ESR – erythrocyte sedimentation rate  
FG – Frühgeborene  
IRDS – Idiopathic respiratory distress syndrome  
IL – Interleukin  
IT-Ratio – Immature to total neutrophil-ratio  
KI – Konfidenzintervall  
LBP – Lipoprotein-bindendes Protein  
LR – Likelihood Ratio  
MW – Mittelwert  
n – Anzahl  
NPW – negativ prädiktiver Wert  
OR – Odds Ratio  
RG – Reifgeborene  
ROC – Receiver operating characteristics  
P – Perzentile  
PCT – Procalcitonin  
PPW – positiv prädiktiver Wert  
Sens – Sensitivität  
SIRS – Systemic inflammatory response syndrome  
Spez – Spezifität  
SSW – Schwangerschaftswoche  
SD – Standardabweichung  
TNF – Tumor Nekrose Faktor  
Y – Youden Index

# Abbildungsverzeichnis

---

Abbildung 1: Molekulare Struktur des CRP .....	3
Abbildung 2: Verlauf der Serumkonzentration verschiedener Akut-Phase-Proteine .....	9
Abbildung 3: Inzidenz der Kultur und klinisch positiven EOS bei Neugeborenen verschiedener Altersgruppen .....	41
Abbildung 4: ROC-Kurven für CRP in der Diagnostik der Blutkultur positiven EOS.....	42
Abbildung 5: ROC Kurven für CRP in der Diagnostik einer Blutkultur positiven EOS in den ersten drei Lebenstagen.....	43
Abbildung 6: ROC-Kurven für CRP in der Diagnostik einer Kultur und klinisch positiven EOS .....	44
Abbildung 7: ROC Kurven für CRP in der Diagnostik der Kultur und klinisch positiven EOS in den ersten drei Lebenstagen.....	45
Abbildung 8: CRP-Werte bei EOS positiven und negativen Neugeborenen .....	50
Abbildung 9: Verteilung erhöhter CRP-Werte nach EOS-Gruppen.....	51
Abbildung 10: CRP-Werte EOS positiver und negativer Neugeborener mit erhöhten CRP-Werten .....	52
Abbildung 11: CRP-Werte Neugeborener verschiedenen Gestationsalters.....	58
Abbildung 12: CRP-Werte EOS positiver und negativer Früh- und Reifgeborener.....	60
Abbildung 13: Höhe der maximal erreichten CRP-Werte bei Früh- und Reifgeborenen .....	61
Abbildung 14: Verlauf der CRP-Werte Früh- und Reifgeborener in den ersten 72 Lebensstunden .....	63
Abbildung 15: Verlauf der CRP-Werte EOS negativer Früh- und Reifgeborener in den ersten 72 Lebensstunden .....	63
Abbildung 16: Verlauf der CRP-Werte EOS negativer, nicht kritisch kranker Früh- und Reifgeborener in den ersten 72 Lebensstunden.....	64
Abbildung 17: CRP-Werte männlicher und weiblicher Neugeborener .....	65
Abbildung 18: Inzidenz der EOS und der Definitionen von SIRS und Sepsis.....	78

## Tabellenverzeichnis

---

Tabelle 1: Funktionen der Zytokine IL-1, IL-6 und TNF $\alpha$ im Überblick.....	7
Tabelle 2: Akut-Phase-Proteine.....	8
Tabelle 3: Differentialdiagnosen der Early Onset Sepsis .....	19
Tabelle 4: Auswahl untersuchter Infektionsparameter in der Diagnostik der EOS .....	23
Tabelle 5: Perinatale Daten der Studienpopulation .....	40
Tabelle 6: AUC Werte der ROC Analyse in der Diagnostik der Blutkultur positiven EOS .....	43
Tabelle 7: AUC Werte der ROC Analyse in der Diagnostik der Kultur und klinisch positiven EOS.....	44
Tabelle 8: Ergebnisse der ROC-Analyse mit Youden Index .....	46
Tabelle 9: Aus dem Blut isolierte Keime und Korrelation mit erhöhten CRP-Werten ...	46
Tabelle 10: Sensitivität, Spezifität, positiv und negativ prädiktiver Wert und Likelihood Ratio (95% Konfidenzintervall) für verschiedene Cut-off Werte in der Diagnostik der Blutkultur positiven EOS bei Früh-und Reifgeborenen.....	47
Tabelle 11: Sensitivität, Spezifität, positiv und negativ prädiktiver Wert und Likelihood Ratio (95% Konfidenzintervall) für verschiedene Cut-off Werte in der Diagnostik der Kultur und klinisch positiven EOS bei Früh-und Reifgeborenen. ....	48
Tabelle 12: Sensitivität, Spezifität, positiv und negativ prädiktiver Wert (95% Konfidenzintervall) des CRP in den ersten drei Lebenstagen. ....	49
Tabelle 13: Korrelation verschiedener neonataler Diagnosen mit erhöhten CRP-Werten bei EOS negativen Neugeborenen.....	54
Tabelle 14: Korrelation verschiedener neonataler Diagnosen mit erhöhten CRP-Werten bei EOS negativen Frühgeborenen <28 SSW .....	55
Tabelle 15: Korrelation verschiedener neonataler Diagnosen mit erhöhten CRP-Werten bei EOS negativen Frühgeborenen von 28 bis 37 SSW.....	56
Tabelle 16: Korrelation verschiedener neonataler Diagnosen mit erhöhten CRP-Werten bei EOS negativen Reifgeborenen .....	57
Tabelle 17: Mittlere CRP-Werte (mg/L) EOS positiver und negativer Früh- und Reifgeborener und obere Referenzwerte in den ersten drei Lebenstagen.....	59

Tabelle 18: Maximaler CRP Anstieg (mg/L) bei EOS positiven und negativen Früh- und Reifgeborenen .....	60
Tabelle 19: Verlauf der mittleren CRP-Werte (mg/L) während der ersten 72 Lebensstunden .....	62

# 1 Einleitung

---

Die Early Onset Sepsis (EOS) des Neugeborenen ist eine bedrohliche Erkrankung der Neonatalperiode, die deutlich zur Morbidität und Mortalität in dieser Altersgruppe beiträgt.<sup>1,2,3</sup> Der Erfolg der Therapie hängt von der zeitigen Diagnosestellung ab. Die frühen Symptome sind jedoch unspezifisch und klinisch allein nicht zu unterscheiden von anderen nicht infektiologischen Krankheitsbildern.<sup>1,4,5,6</sup> Der weitere Krankheitsverlauf kann aber fulminant sein, so dass es innerhalb von Stunden nach Auftreten der ersten Symptome zum Vollbild des septischen Schocks und zum Tod kommen kann.<sup>7,8</sup> Die Blutkultur, der Goldstandard in der Diagnostik der EOS, ist in einem großen Teil der Fälle falsch negativ und das Ergebnis ist erst nach bis zu 48 Stunden erhältlich.<sup>6,9,10,11</sup> Bereits 1981 schlug Philip<sup>12</sup> vor, laborchemische Tests zu verwenden, um die Diagnostik zu erleichtern und um eine überflüssige antibiotische Therapie zu vermeiden. Heute existiert eine Vielzahl an untersuchten Parametern, doch auch wenn das Interesse groß ist und viel Forschungsarbeit betrieben wird, existiert noch kein einzelner Test, der eine frühe und sichere Diagnosestellung erlaubt.<sup>13</sup> Zu den wichtigsten laborchemischen Parametern, die ein fester Bestandteil klinischer Routine sind, zählt neben hämatologischen Parametern, wie dem weißen Blutbild das C-reaktive Protein (CRP).

Ziel dieser Arbeit war es, die CRP-Werte von Neugeborenen zu untersuchen mit genauem Augenmerk nicht nur auf die Eigenschaften des CRP in der Diagnostik der EOS, sondern auch auf Krankheiten und Zustände, die beim EOS negativen Neugeborenen erhöhte Werte verursachen können und auf Unterschiede der Werte zwischen Früh- und Reifgeborenen. Als theoretische Grundlage dazu wird in der Einleitung auf Allgemeines zur EOS und zum CRP eingegangen.

## 1.1 C- reaktives Protein

### 1.1.1 Geschichtliches

Das C-reaktive Protein (CRP) wurde im Jahr 1930 von Tillet und Francis<sup>14</sup> an der Rockefeller Universität in deren Studie über serologische Reaktionen bei Patienten mit Pneumonie entdeckt. Sie extrahierten die Polysaccharid-Fraktion C aus der Kapsel von Pneumokokken und konnten beobachten, dass es bei Zugabe von Serum an Pneumonie erkrankter Patienten zum Ausfällen derselben kam. Diese Beobachtung konnte aber nicht bei Zugabe von Serum gesunder Individuen gemacht werden und sie blieb auch aus sobald sich die Patienten erholt hatten.<sup>14</sup> Als sich herausstellte, dass es sich bei der dafür verantwortlichen Serumkomponente um ein Protein handelt, wurde der Name C-reaktives Protein geboren. Im gleichen Zeitraum wurde der Begriff der „Akuten Phase“ eingeführt, in Anlehnung an akut an einer Infektion erkrankte Patienten, in deren Serum sich die C-reaktive Komponente fand.<sup>15</sup>

Bereits in den 1950ern war der Zusammenhang erhöhter CRP-Serumwerte mit über 70 Krankheitsbildern bekannt.<sup>16</sup> Dazu zählten nicht nur bakterielle, virale und andere Infektionen, sondern auch nicht infektiöse Krankheitsbilder, wie der akute Myokardinfarkt, Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises und Malignome. Alle diese Erkrankungen unterschiedlicher Ätiologie hatten die Entzündung und die Schädigung von Gewebe als verbindende Komponente.<sup>17</sup> Anfänglich wurde deshalb angenommen, das CRP sei ein pathologisch sezerniertes Protein. Erst mit der Entdeckung der hepatischen Produktion und Sezernierung konnte diese Debatte beendet werden.

### 1.1.2 Aufbau

Das CRP ist ein fünfeckiges Protein, ein sogenanntes Pentamer und frei von Kohlehydraten. Es besteht aus fünf identischen, nicht kovalent gebundenen Einheiten, Protomeren, die kreisförmig angeordnet sind. Das Pentamer hat einen Durchmesser von

102 Å (1 Ångström =  $10^{-10}$  m), die Pore im Mittelpunkt misst 30 Å, ein Protomer misst 36 Å. Jedes Protomer besteht aus 206 Aminosäuren und besitzt Bindungsstellen für Komponenten des Komplementsystems und den Fc-Rezeptor auf der einen und für Phosphocholin auf der anderen Seite.<sup>18,19</sup> Da alle Protomere gleich ausgerichtet sind, hat das Protein zwei Seiten, eine „Erkennungsseite“ für Phosphocholin und eine „Effektorseite“ für Komplement und Fc-Rezeptor.<sup>18</sup> Die Bindung von Phosphocholin erfolgt Kalzium-abhängig in einer flachen, taschenartigen Vertiefung jedes Protomers.<sup>16</sup> Dieses ist Bestandteil bakterieller Polysaccharide und körpereigener Zellmembranen, von wo aus es im Rahmen von Gewebsuntergängen unterschiedlicher Genese freigesetzt wird. Durch die Bindung dieser antigenen Strukturen wirkt CRP als Opsonin und wird von der Komponente C1q des Komplementsystems erkannt. Diese bindet Kalzium-unabhängig an das Pentamer und kann so das Komplementsystem über den klassischen Weg aktivieren. Über Bindung an den Fc-Rezeptor kann Liganden-gebundenes CRP zusätzlich zur Phagozytose anregen.<sup>18</sup>

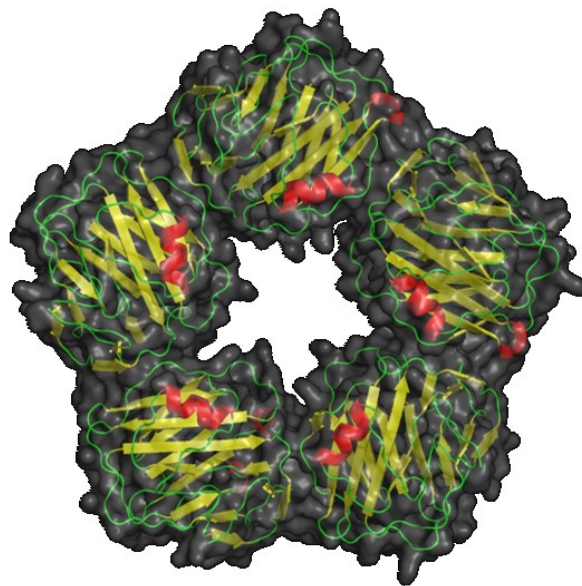


Abbildung 1: Molekulare Struktur des CRP

### 1.1.3 Genetik und Synthese

Das Gen, welches für das CRP kodiert, liegt auf Chromosom 1 (1q21-q23) und besteht aus 2263 Nukleotiden.<sup>18</sup> Interleukin (IL)-6 ist der wichtigste Aktivator des CRP Gens. IL-1, Glukokortikoide und andere Faktoren verstärken dessen Wirkung.<sup>20,21</sup> In Studien an IL-6 defizienten Mäusen konnte gezeigt werden, dass IL-6 zwar notwendig, aber allein nicht ausreichend ist für die Expression des CRP Gens.<sup>18</sup> Die Syntheserate des Proteins ist gekoppelt an den Bedarf. Unter physiologischen Bedingungen wird das CRP intranukleär synthetisiert und im endoplasmatischen Retikulum angesammelt, wo es von zwei Carboxylesterasen zurückgehalten wird.<sup>22</sup> Während der Akut-Phase-Reaktion steigt die Transkriptionsrate im Zellkern und die Affinität des CRP zu einer der Esterasen sinkt. Dadurch verringert sich die Halbwertszeit im endoplasmatischen Retikulum von 18 Stunden auf 75 Minuten<sup>23</sup> und es kommt innerhalb von 10 bis 12 Stunden nach einem inflammatorischen Stimulus zum messbaren Anstieg der Serumkonzentration.

Auch in primitiven Spezies ist das CRP in einer sehr ähnlichen Form wie beim Menschen nachweisbar und es hat sich in Aufbau und Funktion im Laufe der Evolution nur geringgradig verändert.<sup>24</sup> Dies zeigt, dass das CRP bereits früh einen wichtigen und effektiven Teil der angeborenen Immunität darstellt.

### 1.1.4 Funktion

Die wichtigste Funktion des CRP liegt darin, Pathogene und beschädigte Zellen zu erkennen und ihre Eliminierung einzuleiten, indem das Komplementsystem aktiviert und Phagozyten rekrutiert werden.<sup>18</sup>

Der wichtigste Ligand mit der höchsten Bindungsaffinität des CRP ist dabei Phosphocholin. Dieses findet sich in Lipopolysacchariden verschiedener Bakterien und anderer Mikroorganismen, aber auch an der Außenseite der meisten biologischen Membranen als polare Gruppe von Lecithin und Sphingomyelin.<sup>18</sup> Zur Bindung des CRP an Zellmembranen bedarf es jedoch zusätzlicher Faktoren. Bereits früh konnte gezeigt werden, dass das CRP im entzündlichen oder nekrotischen Gewebe nur an geschädigte und nekrotische Zellen, nicht aber an normale Zellen bindet.<sup>25</sup> An der Innenseite der

Zellmembran findet sich nämlich das Enzym Phospholipase A2. Dieses erzeugt aus Phospholipide Lysophospholipide, wie Lysolezithin. Dieses wiederum ermöglicht die Bindung des CRP an die polaren Gruppen der Zellmembran. Phospholipide kommen aber im normalen Zustand nicht an der Innenseite der Membran, wo auch die Phospholipase A2 sitzt, vor.<sup>26</sup> Erst durch einen Austausch der Phospholipide zwischen innerer und äußerer Zellmembran kann das Enzym zum Einsatz kommen und durch die Produktion von Lysolezithin die Bindung des CRP an Strukturen der Zellmembran ermöglichen. Dieses sogenannte Flip-Flop der Phospholipide passiert unter Anderem in apoptotischen Zellen.<sup>27</sup> Andere intrinsische Liganden des CRP sind native und modifizierte Lipoproteine, Zellmembranbestandteile geschädigter Zellen<sup>28</sup>, verschiedene Phospholipide und nukleäre Zellkomponenten wie Histone, DNA und Chromatin.<sup>18,19</sup> Zu den extrinsischen Liganden zählen verschiedene Glykane und Phospholipide und andere Bestandteile von Mikroorganismen, Bakterien, Pilzen und Parasiten, sowie pflanzliche Produkte.<sup>19</sup>

Nach der Bindung an einen makromolekularen Liganden kann das CRP von der Komponente C1q des Komplementsystems erkannt werden und dieses auf dem klassischen Weg aktivieren. Das CRP aktiviert das Komplementsystem aber nicht vollständig. So kommt es zwar zur Opsonisierung von (Bakterien-)Zellen, nicht aber zur zusätzlichen Steigerung der immunologischen Antwort durch autologe Aktivierung des Komplementsystems über den alternativen Weg und Bildung des lytischen Komplexes. Dieser würde durch die Formation einer Pore durch die Zellmembran zur Lyse der attackierten Zelle führen.<sup>29</sup> Das CRP bindet direkt an den Faktor H, einen natürlichen Inhibitor des Komplementsystems.<sup>30</sup> Auf diesem Weg bewirkt es eine effiziente Opsonisierung durch das Protein selbst und durch die aktive Komponente C3b, ohne jedoch die proinflammatorischen und Membran schädigenden Effekte des Komplementsystems zuzulassen.<sup>18</sup> Diese Funktion des CRP unterstreicht seine herausragende Bedeutung für die Akut-Phase-Reaktion, in der es primär um Gewebeerhaltung und -rekonstitutionierung und weniger um Gewebeerstörung geht.<sup>31</sup>

CRP wirkt proinflammatorisch auf Monozyten und Makrophagen. Es aktiviert diese und fördert die Produktion von IL-1 und Tumor Nekrose Faktor (TNF). Im Gegensatz dazu hat das CRP einen hemmenden Einfluss auf neutrophile Granulozyten. Es inhibiert die

Produktion von Superoxid und die Sekretion der Granula, es mindert die Antwort der neutrophilen Granulozyten auf Chemotaxine, es vermindert deren Adhäsionsfähigkeit an das Endothel und die Dichte der membrangebundenen IL-6 Rezeptoren.<sup>18</sup> Diese hemmenden Effekte auf die neutrophilen Granulozyten wirken insgesamt gewebeprotectiv, indem die akute Immunantwort und damit auch die Schädigung von vitalem Gewebe reduziert werden.<sup>18</sup>

### 1.1.5 CRP als Bestandteil der Akut-Phase-Antwort

Die Akut-Phase-Reaktion ist eine physiologische und metabolische Reaktion, die unmittelbar nach dem Auftreten einer Gewebeschädigung verschiedenster Art (Trauma, Operation, Infektion, akute Entzündung) auftritt. Es kommt zu Fieber, Lethargie, Leukozytose, veränderter vaskulärer Permeabilität, Muskelkatabolismus und Veränderungen der hepatischen Biosynthese, mit dem Ziel, das inflammatorische Agens zu neutralisieren oder die Heilung von geschädigtem Gewebe zu fördern. Im Unterschied zu spezifischen zellulären und humoralen Abwehrmechanismen sind die Veränderungen in der akuten Phase unspezifisch und kommen bei verschiedenen Zuständen vor.<sup>17</sup>

Nach einem Trauma oder der Invasion von Mikroorganismen kommt es lokal zu einer akuten Entzündungsreaktion. Diese wird vermittelt durch lokal residente Zellen, hauptsächlich Makrophagen (Kupferzellen in der Leber, Alveolarmakrophagen in der Lunge, Langerhans-Zellen in der Haut, usw.). Durch den Kontakt mit Bakterienbestandteilen, Endo- und Exotoxinen, Immunkomplexen, Komponenten des Komplementsystems und verschiedenen Mediatoren werden diese aktiviert und setzen Oxidantien, aber auch Leukotriene, Prostaglandine und Histamin frei. Durch diese Mediatoren kommt es zur lokalen Reaktion mit Vasodilatation, Permeabilitätssteigerung der Gefäße und Sensibilisierung von Nozizeptoren. Durch die Ausschüttung von Chemotaxinen werden weitere Zellen des Immunsystems angezogen und lokale Zellen aktiviert.<sup>32</sup>

Aktiviert Fibroblasten, Endothelzellen und Makrophagen produzieren zusammen mit eingewanderten und aktivierten Leukozyten und Lymphozyten proinflammatorische

Zytokine, unter Anderem IL-1 und TNF- $\alpha$ . Diese wiederum induzieren in den Entzündungszellen die Produktion von IL-6. Lokale und systemische Wirkungen dieser Zytokine sind in Tabelle 1 aufgezeigt.

**Tabelle 1: Funktionen der Zytokine IL-1, IL-6 und TNF- $\alpha$  im Überblick**

IL-1	Verbesserung des Zugangs von Granulozyten durch Aktivierung des Gefäßendothels mit Expression von Adhäsionsmolekülen, Produktion von Interleukin 6 und Auslösen von Fieber, Müdigkeit, Arthralgie, Kopfschmerzen, Stimulation der hypophysären ACTH Ausschüttung
TNF- $\alpha$	Aktivierung von Endothelzellen mit gesteigerter Produktion von Adhäsionsmolekülen, Regulation und Proliferation von T- und B-Lymphozyten, Aktivierung von Makrophagen und Granulozyten, koagulatorische Wirkung auf Endothelzellen, Auslösen von Fieber
IL-6	Induktion der Produktion der Akut-Phase-Proteine, Auslösen von Fieber, Aktivierung von T- und B- Lymphozyten

Nach <sup>29,32,33</sup>

Auf dem Blutweg gelangen die Zytokine zu den Hepatozyten und induzieren dort die Produktion von Akut-Phase-Proteinen.<sup>34</sup> Per definitionem sind dies Proteine, deren Konzentration im Plasma bei einer inflammatorischen Reaktion um mindestens 25% zu- oder abnimmt.<sup>35</sup> Es handelt sich um eine komplexe, multifunktionale Gruppe, die sich aus Komponenten des Komplementsystems, Gerinnungsfaktoren, Proteaseinhibitoren, Metallbindungsproteinen, CRP und anderen Proteinen zusammensetzt (siehe Tabelle 2).<sup>17</sup>

Die Produktion von CRP in den Hepatozyten wird hauptsächlich von IL-6 induziert und kann durch Synergie mit IL-1 auf ein Maximum gesteigert werden.<sup>36,37</sup> In der Literatur werden zwar zusätzliche Zellen angegeben, die zur CRP Produktion fähig sind, doch sind diese eher im experimentellen Feld von Bedeutung. Die normale Serum CRP Konzentration gesunder Erwachsener liegt bei 0,8 mg/L, die 90. Perzentile liegt bei 3,0 mg/L.<sup>38</sup> Während der Akut-Phase-Antwort steigt die hepatische Syntheserate bereits vier bis sechs Stunden nach dem inflammatorischen Stimulus und die Konzentration kann innerhalb von 24 bis 48 Stunden bis auf ein 1000-faches steigen.<sup>18,19</sup> So lange die Inflammation und Gewebszerstörung anhält, bleiben die CRP-Werte hoch und fallen erst bei Rückgang der Entzündung schnell ab. Die Halbwertszeit des CRP liegt unter

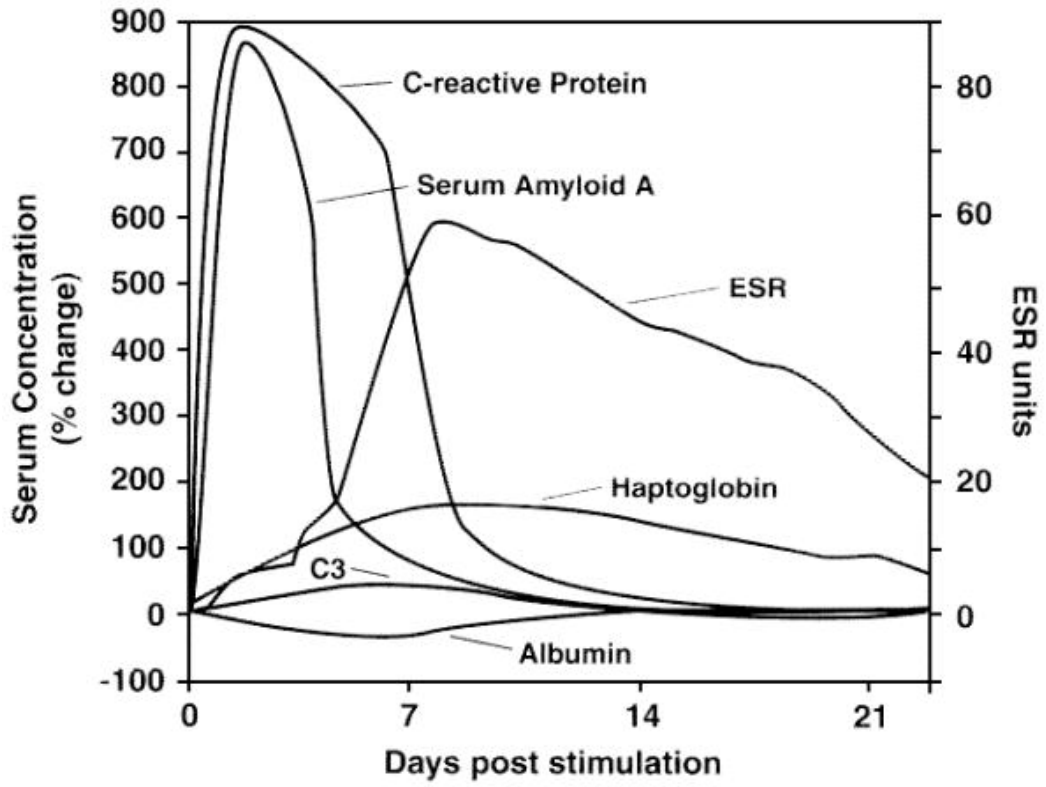
allen Umständen bei 19 Stunden.<sup>39</sup> Das zeigt, dass allein die Syntheserate für die aktuelle Konzentration verantwortlich ist.

**Tabelle 2: Akut-Phase-Proteine**

<b>Proteine, deren Plasmakonzentration steigt</b>	
<i>Komplementsystem</i>	<i>Antiproteasen</i>
C3, C4, C9, Faktor B, C1-Inhibitor, C4b-bindendes Protein, Mannose-bindendes Lectin	$\alpha$ 1-Protease Inhibitor, $\alpha$ 1-Antichymotrypsin, Pankreatisch sekretorischer Trypsin Inhibitor, Intera-trypsin inhibitor
<i>Gerinnungs- und fibrinolytisches System</i>	<i>Inflammatorisch wirksame Proteine</i>
Fibrinogen, Plasminogen, Gewebsplasminogenaktivator, Urokinase, Protein S, Vitronectin, Plasminogen-Aktivator-Inhibitor	Sekretorische Phospholipase A2, Lipopolysaccharid-bindendes Protein, Interleukin-1-Rezeptor Antagonist, Granulozyten-Kolonie stimulierender Faktor
<i>Andere</i>	<i>Transportproteine</i>
CRP, Serum Amyloid A, $\alpha$ 1-saures Glykoprotein, Fibronectin, Ferritin, Angiotensinogen	Coeruloplasmin, Haptoglobin, Hemopexin
<b>Proteine, deren Plasmakonzentration sinkt</b>	
Albumin, Transferrin, Transthyretin, $\alpha$ 2-HS Glykoprotein, Alpha-fetoprotein, Thyroxin-bindendes Globulin, Insulin-like growth factor I, Factor XII	

Nach <sup>40</sup>

Die Hämodynamik der einzelnen Akut-Phase-Proteine und der Zeitpunkt des Erreichens der Maximalkonzentration und des Absinkens sind sehr unterschiedlich. Die Komponenten des Komplementsystems steigen in der Akut-Phase-Reaktion um etwa 50%, Haptoglobin, Fibrinogen und  $\alpha$ 1-Antitrypsin um etwa 100%.<sup>41</sup> CRP und Serum Amyloid A zeigen die größte Steigerung mit dem bis zu 1000fachen des Ausgangswertes.<sup>40,41</sup> Die Konzentration von Albumin, Präalbumin und Transferrin hingegen sinkt in der akuten Phase.<sup>17</sup> Abbildung 2 zeigt den Konzentrationsverlauf verschiedener Akut-Phase-Proteine nach einem inflammatorischen Stimulus.



Abkürzungen: ESR, erythrocyte sedimentation rate (Blutsenkungsgeschwindigkeit in mm/h)

Abbildung 2: Verlauf der Serumkonzentration verschiedener Akut-Phase-Proteine<sup>17</sup>

## 1.2 Infektionen bei Neugeborenen: Early Onset Sepsis

Als neonatale Sepsis wird eine invasive bakterielle Infektion bezeichnet, die im Zeitraum zwischen Geburt und dem 90. Lebenstag auftritt. Kommt es innerhalb der ersten Lebenstage zur Infektion, spricht man von der Early Onset Sepsis (EOS), danach von der Late Onset Sepsis. Die Grenze zwischen Early und Late Onset Sepsis ist dabei nicht klar definierbar, sie wird von verschiedenen Autoren zu unterschiedlichen Zeitpunkten, zwischen dem vollendeten zweiten und dem siebten Lebenstag, gesetzt.<sup>2,42,43</sup> Die Unterscheidung ist deshalb von Bedeutung, da die Infektionswege und das Erregerspektrum grundverschieden sind und da das Neugeborene in den ersten Lebenstagen physiologische Veränderungen durchmacht, die die Infektionsdiagnostik erschweren können. Die Erreger der EOS stammen aus dem Urogenitaltrakt der Mutter und verursachen von dort eine ascendierende Infektion auf das ungeborene Kind oder kolonisieren es während des Geburtsvorganges.<sup>44,45</sup> Die Late Onset Sepsis hingegen ist in erster Linie eine nosokomiale Infektion, die Neugeborene betrifft, die postpartal für längere Zeit im Krankenhaus bleiben, wie Frühgeborene mit niedrigem Geburtsgewicht und Reifgeborene mit unterschiedlichen, schwereren Krankheitsbildern.<sup>45</sup> Die Keime stammen aus dem Umfeld des Krankenhauses und sind zu einem höheren Prozentsatz resistent gegenüber herkömmlichen Antibiotika. Die Infektion erfolgt über die Pflege oder das ärztliche Personal, zu den Infektionswegen kommen invasive Maßnahmen, wie Katheterisierungen und Blutabnahmen hinzu.

Vor der Einführung der antibiotischen Prophylaxe gegen Streptokokken der Gruppe B betrug das Verhältnis Early-Onset zu Late-Onset Sepsis 80:20.<sup>46</sup> Seit Einführung der Prophylaxe hat sich dieses Verhältnis durch Rückgang der frühen Infektionen durch Streptokokken auf 50:50 in den USA und 60:40 in Deutschland verschoben.<sup>47,48</sup>

### 1.2.1 Epidemiologie

In westlichen Ländern variiert die Inzidenz der EOS von 1 bis 8 Fällen pro 1000 Lebendgeburten<sup>49,50,51,52</sup>, bei Kindern mit einem Geburtsgewicht von unter 1500 g liegt die Inzidenz bei 17 pro 1000 Lebendgeburten.<sup>42</sup> Die überwiegende Mehrheit der betroffenen Kinder, nämlich 85%, werden bereits am ersten Lebenstag symptomatisch, 5% am zweiten Lebenstag.<sup>42</sup> Die häufigsten Erreger der EOS sind Streptokokken der Gruppe B und gram negative Keime wie *E. coli*<sup>45,1</sup>. Durch den Einsatz von intrapartal verabreichten Antibiotika an Frauen mit positivem Streptokokken-B Abstrich sank die Inzidenz der EOS durch Streptokokken der Gruppe B deutlich.<sup>2,53,54</sup> Dieser Erfolg hatte jedoch keine Auswirkung auf die Gesamtinzidenz der EOS, denn im Gegenzug nahmen Infektionen durch andere Erreger, allen voran *E. coli*, deutlich zu.<sup>42</sup> Zusammen mit Streptokokken der Gruppe B sind diese heute für 70% der Fälle von EOS verantwortlich. Zu den weiteren, häufig isolierten Erregern zählen *Hämophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, Klebsiellen, Enterokokken, Staphylokokken und Streptokokken der Gruppe D.<sup>42</sup>

In Entwicklungsländern liegt die Inzidenz der EOS je nach Gebiet bei 50 bis 170 pro 1000 Lebendgeburten. In diesen Gebieten ist das Gesundheitssystem schlecht entwickelt und der Zugang zu sanitären Einrichtungen und einer adäquaten Therapie erschwert.<sup>55,56</sup> Auch nach verschiedenen, erfolgreichen Interventionsprogrammen, mit denen die postnatale Mortalität gesenkt werden konnte, sind Todesfälle in der Neonatalperiode, von denen zwischen 8 und 80% auf Infektionen zurückzuführen sind, für 40% aller Todesfälle bei Kindern unter fünf Jahren verantwortlich.<sup>56,57,58</sup>

### 1.2.2 Pathogenese

Der Fetus ist in seiner Entwicklung im Uterus durch die Eihäute gut gegen äußere Einflüsse und die mikrobielle Flora der Mutter abgeschirmt. In einer unkomplizierten Schwangerschaft kann er in steriler Umgebung heranreifen und wird postpartal schnell mit ungefährlichen Keimen des Geburtskanals und der Umgebung kolonisiert. Die Integrität der mütterlichen Barrieren, die niedrige Pathogenität der kolonisierenden

Bakterien und die Angepasstheit der Abwehrmechanismen des Kindes sind für den unkomplizierten postpartalen Verlauf entscheidend. Ist einer dieser Faktoren fehlerhaft kann es zu einer Infektion kommen.<sup>59</sup>

Am typischen Beispiel einer ascendierenden Infektion soll die Pathogenese der EOS erklärt werden:

Eine Reihe von invasiven Untersuchungstechniken wie Amniozentese, Chorionzottenbiopsie und perkutane Nabelschnurpunktion können die Invasion von Keimen in die Fruchthöhle begünstigen.<sup>2</sup> Ebenso kann es durch die Keime der mütterlichen Vaginalflora zu einer ascendierenden Entzündung kommen. Manipulationen im Zervixbereich, z. B. vaginale Untersuchungen, Amnioskopien oder eine zervikale Cerclage begünstigen eine Aszension. Durch bakterielle Enzyme, wie Kollagenase und Elastase überwinden die Keime die Schutzbarrieren des Neugeborenen und es kommt zur Entzündung der Eihäute, des Fruchtwassers und eventuell des Feten. Durch den enzymatischen Angriff auf die Fruchtblase kann es in einem Teil der Fälle zum vorzeitigen Blasensprung kommen. Umgekehrt, kann ein vorzeitiger Blasensprung anderer Genese durch Wegfallen einer wichtigen Barriere eine Aszension von Keimen und eine nachfolgende Infektion begünstigen. Der bakteriellen Invasion folgt eine Rekrutierung von mütterlichen polymorphonukleären Leukozyten, die die Fruchthüllen infiltrieren. Durch die Freisetzung von Prostaglandinen, Endothelin und verschiedenen Zytokinen aus den Entzündungszellen kann es zum Einsetzen vorzeitiger Wehentätigkeit und zum klinischen Bild der Chorioamnionitis kommen, mit mütterlichem Fieber, mütterlicher und fetaler Tachykardie, druckschmerzhaftem Uterus, übel riechendem Fruchtwasser und dem Anstieg laborchemischer Entzündungsparameter der Mutter.<sup>60,61</sup> Die Symptome können auch subtil oder fehlend sein. Sind die Eihäute überwunden, besiedeln die Keime das Fruchtwasser. Wird dieses vom Feten aspiriert, gelangen die Erreger in die Lunge und können von dort aus eine systemische Infektion auslösen.<sup>62,63</sup> Aber nicht zwangsläufig entwickelt sich aus einer Chorioamnionitis eine Infektion des Feten. Der Verlauf ist abhängig von verschiedenen Faktoren wie Virulenz, Dauer und Intensität der Keimbesiedlung und Effizienz der Abwehrreaktionen des Neugeborenen.

## 1.2.3 Risikofaktoren

### Mütterliche Risikofaktoren

Zu den Risikofaktoren für die Early Onset Sepsis zählen eine bakterielle Vaginose der Mutter, vorzeitiger Blasensprung, Chorioamnionitis und alle Ereignisse, die zu einer Diskontinuität der fetalen Schutzhüllen führen wie Amniozentese, Chorionzottenbiopsie, perkutane Nabelschnurpunktion und zervikale Cerclage.<sup>64,65</sup> Weitere mütterliche Risikofaktoren sind ein schlechter Ernährungszustand, ein niedriger sozioökonomischer Status, Abort in der Anamnese, Medikamenten- oder Drogenmissbrauch und Komplikationen bei der Entbindung.<sup>42</sup>

Streptokokken der Gruppe B kolonisieren den Gastrointestinal- und Urogenitaltrakt von bis zu 40% der gesunden Erwachsenen.<sup>66</sup> Eine aktuelle Untersuchung aus Deutschland ergab eine vaginale Besiedelungsrate gesunder, schwangerer Frauen von durchschnittlich 16%.<sup>67</sup> Bereits in den frühen 1970ern erkannte man den Zusammenhang zwischen einer mütterlichen Kolonisierung mit Gruppe B Streptokokken und der Sepsis des Neugeborenen und zugleich das Potential die Infektion durch diese Erkenntnis verhindern oder einschränken zu können.<sup>68,69</sup> Heute werden alle Schwangeren intrapartal antibiotisch behandelt, die im Vaginalabstrich der aktuellen oder einer früheren Schwangerschaft Wachstum von Streptokokken zeigen, die während der Schwangerschaft eine symptomatische oder asymptomatische Bakteriurie mit Streptokokken der Gruppe B zeigen und die ohne Vorhandensein eines Abstriches Risikofaktoren für eine Infektion zeigen.<sup>70</sup> Obwohl durch diese Maßnahmen die Inzidenz der EOS durch Streptokokken der Gruppe B deutlich gesenkt werden konnte, zählen diese Keime immer noch zu den häufigsten Erregern von Infektionen Neugeborener<sup>42,44</sup>

Beim vorzeitigen Blasensprung rupturiert das Amnion vor Beginn der Wehentätigkeit, beim frühen vorzeitigen Blasensprung vor Vollendung der 37. SSW. In 20% aller Schwangerschaften kommt es zum vorzeitigen Blasensprung, in 2-5% zum frühen vorzeitigen Blasensprung.<sup>71</sup> Als wichtigste Ursachen gelten Infektionen des weiblichen Genitaltraktes, Verhaltensgewohnheiten (Rauchen, Drogenmissbrauch, Ernährungsstatus, Sexualverhalten), Schwangerschaftskomplikationen (Multipara, Polyhydramnion, Zervixinsuffizienz, zervikale Manipulationen, Blutungen) und

Veränderung der Umgebung (Luftdruckänderung).<sup>72</sup> Ist das Amnion rupturiert, fehlt eine wichtige Schutzhülle des Feten und die Gefahr der bakteriellen Invasion steigt proportional mit der Dauer des Blasensprungs.

Die klinische Chorioamnionitis ist einer der wichtigsten Risikofaktoren für die EOS. Als klinischer Ausdruck der bakteriellen Invasion kommt es zu mütterlichem Fieber, mütterlicher und fetaler Tachykardie, druckschmerzhaftem Uterus, übel riechendem Fruchtwasser und dem Anstieg laborchemischer Entzündungszeichen der Mutter<sup>60,61,73,74</sup>. Doch nicht bei jeder Chorioamnionitis kommt es auch zur klinischen Infektion des Feten und nicht jeder EOS geht eine klinische Chorioamnionitis voraus. In 12% der Fälle einer klinischen Chorioamnionitis kommt es zur Infektion des Neugeborenen.<sup>74</sup> Umgekehrt liegt in 2 bis 20% der Fälle einer EOS eine klinische Chorioamnionitis vor.<sup>75</sup>

### Neonatale Risikofaktoren

Die beiden wichtigsten neonatalen Risikofaktoren für die EOS sind Frühgeburtlichkeit und ein niedriges Geburtsgewicht. Die Inzidenz der Sepsis steigt umgekehrt proportional zum Gestationsalter und zum Geburtsgewicht.<sup>76</sup> So haben Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht von 1000 bis 2000 g eine Inzidenz von 8 bis 9 pro 1000 Lebendgeburten, bei Kindern unter 1000 g liegt die Inzidenz bei 26 pro 1000 Lebendgeburten.<sup>43</sup> Auch ist die Mortalität höher, je unreifer das Neugeborene ist.<sup>2</sup> Genaue Zahlen sind aber gerade bei kleinen Frühgeborenen schwierig zu ermitteln, da Komorbiditäten häufig sind und eine genaue Todesursache oft schwierig zu diagnostizieren ist.<sup>1</sup>

Durch die Unreife des gesamten Organismus, im Besonderen auch des Immunsystems, ist das Frühgeborene nicht ausreichend gegen die Invasion von Mikroorganismen geschützt.

### Immunologie

Beim Neugeborenen, vor allem beim Frühgeborenen sind die zellulären und die humoralen Abwehrmechanismen noch unreif und funktionell unterentwickelt:

*Humoral:* Ein Frühgeborenes hat, vor allem bei höhergradiger Unreife, ein Defizit an Immunglobulinen aller Klassen. Immunglobuline der Klasse IgG werden zwar bereits in utero von der Mutter auf den Feten übertragen, im größeren Ausmaß findet der Transfer aber erst nach der 30. SSW statt. Die endogene Produktion steigt, wie bei IgM, erst postpartal langsam an. IgA kann vom Neugeborenen bis zum Alter von zwei bis fünf Wochen nicht endogen produziert werden, durch Muttermilch können diese Immunglobuline aber auf das Kind übertragen werden.<sup>2</sup>

Proteine des Komplementsystems werden zwar bereits ab einem Gestationsalter von sechs Wochen gebildet, einzelne Komponenten, wie jene des lytischen Komplexes, sind aber, besonders bei Frühgeborenen, defizient. Erreger, wie Streptokokken der Gruppe B, E. coli und Streptokokkus pneumoniae können beim Neugeborenen nur in vermindertem Maß opsonisiert werden.<sup>77</sup>

*Zellulär:* Neutrophile Granulozyten und polymorphonukleäre Leukozyten sind beim Neugeborenen noch nicht in der Lage effektiv einem chemotaktischen Stimulus zu folgen, zu degranulieren und Bakterien zu eliminieren. Ihre Fähigkeit zur Phagozytose wird durch einen schlechten Allgemeinzustand des Kindes noch mehr herabgesetzt. Der Pool an neutrophilen Granulozyten kann außerdem schnell verbraucht sein, da vor allem bei Frühgeborenen das Knochenmark nicht in einem adäquaten Maß auf eine gesteigerte Anforderung reagieren kann. Die Anzahl der Monozyten und Makrophagen ist beim Neugeborenen zwar auf dem Level von Erwachsenen, doch auch deren bakteriozide Aktivität und Fähigkeit zur Chemotaxis, Antigenpräsentation und Zytokinproduktion sind verringert. Neonatale T-Zellen proliferieren bei Aktivierung nicht so schnell wie bei Erwachsenen, die Zytokinproduktion und die zytotoxische Funktion sind herabgesetzt. T-Gedächtniszellen können erst mit zunehmendem Antigenkontakt produziert werden.<sup>77</sup>

### Barrieren

Die physikalischen und chemischen Barrieren, die bei der Abwehr von Infektionen eine wichtige Rolle spielen, die Haut und Schleimhäute, sind beim Neugeborenen zwar vorhanden, aber funktional defizient. Davon sind vor allem Frühgeborene betroffen, deren Haut noch sehr dünn ist. Die Zahl der Zelllagen in der Hornschicht steigt mit dem Gestationsalter und mit ihr auch die Fähigkeit Keime über die Haut abzuwehren.<sup>2</sup> Durch

invasive Maßnahmen können die Barrieren von Mikroorganismen noch leichter überwunden werden, dies spielt vor allem in der Pathogenese der Late Onset Sepsis eine wichtige Rolle.<sup>42</sup>

Andere neonatale Risikofaktoren für die Entwicklung einer EOS sind ein niedriger Apgar Wert, missfärbiges Fruchtwasser, kongenitale Anomalien und männliches Geschlecht.<sup>42</sup>

### 1.2.4 Klinische Manifestationen

Im Allgemeinen sind die klinischen Zeichen einer bakteriellen Infektion bei Neugeborenen unspezifisch und auch häufig bei anderen, nicht infektiologischen Krankheitsbildern, wie dem idiopathic respiratory distress syndrome (IRDS), metabolischen Störungen, intrakraniellen Hämorrhagien und nach einer traumatischen Entbindung zu beobachten.<sup>2,4,5,42</sup>

Bereits unter der Geburt kann das Neugeborene klinische Infektionszeichen zeigen. Fetale Tachykardie im zweiten Abschnitt des Geburtsvorganges und ein niedriger Apgar Score können darauf hinweisen. Bei frühgeborenen Kindern ist der Score jedoch nicht so aussagekräftig, da Frühgeburtlichkeit und niedriges Geburtsgewicht allein schon mit einem niedrigen Apgar Wert assoziiert sind.<sup>2</sup>

#### Fieber und Hypothermie

Die Körperkerntemperatur des Neugeborenen mit Sepsis kann erhöht, erniedrigt oder normal sein. Obwohl es Hinweise gibt, dass axilläre, tympanische und dermale Temperaturbestimmungen vergleichbare Ergebnisse liefern, bleibt die rektale Messung Mittel der ersten Wahl.<sup>2,78,79</sup> Als obere und untere Grenzwerte können dabei Körperkerntemperaturen von über 38,5 °C bzw. unter 36,0 °C angesehen werden. Im Rahmen einer Infektion reagieren reifgeborene Kinder eher mit einer Erhöhung der Körpertemperatur, frühgeborene eher mit einer Erniedrigung. Bei einer Erhöhung der Körpertemperatur ohne andere Symptome einer Infektion und für weniger als eine Stunde ist eine Sepsis unwahrscheinlich.<sup>2,42</sup>

### **Respiratorische Symptome**

Durch die systemische Infektion kommt es zur sekundären Inaktivierung von Surfactant und somit zu den respiratorischen Zeichen der EOS. Dazu gehören Nasenflügeln, Einziehungen, Tachypnoe (Atemfrequenz über 60 pro Minute), Dyspnoe, Apnoen und Zyanose. Diese Symptome kommen im Rahmen einer EOS in einem hohen Prozentsatz vor, sie sind aber unspezifisch und finden sich gerade bei Frühgeborenen aufgrund eines primären Surfactantmangels häufig ohne Vorliegen einer Infektion.<sup>2,42,4</sup>

### **Kardiozirkulatorische Symptome**

Klinische Zeichen der kardiozirkulatorischen Dysfunktion beinhalten Tachykardie oder Bradykardie (über 180 /min bzw. unter 100 /min), Arrhythmien und pulmonalen Hypertonus. Bei klinisch manifester verminderter peripherer Perfusion mit arterieller Hypotonie, verminderter Harnproduktion und verlängerter Rekapillarierungszeit ist das Sepsisgeschehen bereits weit fortgeschritten und die Mortalität hoch. Bei Ausschluss einer kongenitalen Fehlbildung am Herzen sind die kardiozirkulatorischen Symptome sensitiv und spezifisch für die Diagnostik einer Early Onset Sepsis.<sup>2,4,42</sup>

### **Metabolische und gastrointestinale Symptome**

Häufig sind Symptome wie schlechtes Trinkverhalten, Regurgitation oder Erbrechen und intestinale Motilitätsstörungen erste Zeichen einer Infektion.<sup>2</sup> Metabolische Auffälligkeiten, die häufig im Rahmen einer EOS gefunden werden sind Hypoglykämie, Hyperglykämie, metabolische Azidose und Ikterus. Das Kind hat durch die Infektion im Allgemeinen einen erhöhten Glukosebedarf, zusätzlich können eine inadäquate Antwort der Nebennieren und ein niedriger Kortisolspiegel das Risiko einer Hypoglykämie erhöhen. Durch die Umstellung auf anaeroben Stoffwechsel kommt es zur Anhäufung von Laktat und zur metabolischen Azidose.<sup>42</sup> Ikterus ist ein häufiges, aber sehr unspezifisches Zeichen einer Early Onset Sepsis.<sup>4</sup>

## Neurologische Symptome

Neurologische Symptome können auch ohne Vorhandensein einer Meningitis auftreten. Zu ihnen zählen Lethargie, Irritabilität, muskuläre Hypotonie und Krampfanfälle. Für eine Meningitis sprechen fokale Zeichen wie Hemiparese und Hirnnervenausfälle, Zeichen eines Syndroms der inadäquaten ADH Sekretion (Hyponatriämie, verminderte Harnproduktion und Gewichtszunahme) und eine gespannte Fontanelle. Nackensteifigkeit, ein häufiges Zeichen einer Meningitis bei älteren Kindern findet sich bei Neugeborenen nur selten. Als Komplikation der Meningitis kann es zum Hirnabszess kommen, mit Zeichen erhöhten Hirndrucks (Erbrechen, gespannte Fontanelle, Zunahme des Kopfumfanges, auseinanderweichende Schädelnähte) und fokalen neurologischen Ausfällen.<sup>2,4</sup>

## Haut

Zu den Hautveränderungen bei Sepsis zählen Petechien und Purpura, die durch disseminierte intravasale Gerinnung entstehen, Veränderungen des Hautkolorits (blass, aschfahl, grau, marmoriert) durch verminderte periphere Perfusion, Erythema multiforme und Erysipel.<sup>2</sup>

Zeigt das Kind nur eines der genannten Symptome ist die Wahrscheinlichkeit einer Infektion gering. Das Vorliegen von drei oder mehr klinischen Zeichen jedoch, ist laut einer aktuellen Studie von Modi et al.<sup>4</sup> ein guter Prädiktor einer Blutkultur positiven EOS.

## 1.2.5 Differentialdiagnosen

Das Neugeborene antwortet auf eine Reihe von schädigenden Stimuli (infektiös, metabolisch, traumatisch, respiratorisch) mit einem limitierten Repertoire an stereotypischen Reaktionen.<sup>80</sup> Somit kommen viele der Symptome auch bei nicht-infektiologischen Krankheitsbildern vor und sind klinisch allein nicht spezifisch für eine bakterielle Infektion.<sup>2,4,81</sup> In der folgenden Tabelle werden deshalb wichtige Differentialdiagnosen der Sepsis aufgezeigt.

**Tabelle 3: Differentialdiagnosen der Early Onset Sepsis**

Klinisches Zeichen	Differentialdiagnosen
Fieber und Hypothermie	Erhöhte oder erniedrigte Umgebungstemperatur, Dehydratation, große Hämatome, Schaden des zentralen Temperaturzentrums z.B. durch Anoxie, Hämorrhagie, Kernikterus, Drogenentzugssyndrom, Hypo- oder Hyperthyreose, kongenitale Nebennierenrindenhyperplasie
Respiratorische Symptome	IRDS, transiente Tachypnoe des Neugeborenen, Atelektasen, Aspirationspneumonie, Mekoniumaspirationssyndrom, Pneumothorax, Pneumomediastinum, zentrale Regulationsstörung durch Hypoxie oder Hämorrhagien, kongenitale Fehlbildungen wie tracheoösophageale Fisteln, Choanalatresie, Lungenhypoplasie und Zwerchfellhernien, angeborene Herzfehler, Arrhythmien, Hypothermie, Hypoglykämie, Drogenentzugssyndrom
Kardiozirkulatorische Symptome	Kongenitale Herzfehler, Arrhythmien, zentrale Regulationsstörung durch intrakranielle Hämorrhagien oder Hypoxie, Spannungspneumothorax, Drogenentzugssyndrom
Ikterus	Muttermilchikterus, Blutgruppeninkompatibilität, Hämolyse, Resorption von Hämatomen, gastrointestinale Obstruktion, extra-oder intrahepatische Gallengangsobstruktion, angeborene metabolische Störungen wie Galaktosämie, Glykogenose Typ IV, Tyrosinämie, Störungen des Fettstoffwechsels, gestörte Gallensäureproduktion, hereditäre Krankheitsbilder wie cystische Fibrose, $\alpha$ 1-Antitrypsinmangel, Störungen der Galleausscheidung, Hypothyreose, lang dauernde parenterale Hyperalimentation

Gastrointestinale Symptome	Überfütterung, Aerophagie, intestinale Obstruktion, nekrotisierende Enterokolitis, Hypokaliämie, Hypo-oder Hyperkalziämie, Hypoglykämie, angeborene metabolische Störungen wie Galaktosämie, Störungen im Harnstoffzyklus, kongenitale Nebennierenhyperplasie, Drogenentzugssyndrom
Lethargie	Störungen im Zentralnervensystem wie intrakranielle Hämorrhagien, Hypoxie und subdurale Effusionen, angeborene Herzfehler, Drogenentzugssyndrom, Hypoglykämie, Hyperkalziämie
Krämpfe	Hypoxie, intrakranielle Hämorrhagien oder Kernikterus, angeborene Anomalien im Zentralnervensystem, Drogenentzugssyndrom, Hypoglykämie, Hypokalziämie, Hypo-oder Hybernatriämie, Hypomagnesiämie, angeborene metabolische Störungen,
Haut	Geburtstraumata, Blutgruppeninkompatibilität, Thrombozytopenische Purpura, maternaler systemischer Lupus erythematodes, disseminierte intravasale Gerinnung, Mangel an Gerinnungsfaktoren, kongenitale Leukämie, Kindesmissbrauch, Medikamentennebenwirkungen

## 1.2.6 Erregernachweis

### Blutkultur

Der Standard in der Diagnosesicherung einer Sepsis ist beim Erwachsenen der kulturelle Erregernachweis in der Blutkultur.<sup>82</sup> Auch beim Neugeborenen gilt dies als Goldstandard, in der klinischen Praxis gestaltet sich dieser jedoch oft schwierig. Ob aus einer Blutkultur ein Erregernachweis erfolgen kann, hängt von zwei Faktoren ab: Der Konzentration der Erreger im Blut und dem Blutvolumen das kultiviert wird.<sup>83</sup> Um auch bei niedriger Keimzahl ein verlässliches Ergebnis zu erhalten, sollten für die Blutkultur ein bis zwei ml Blut abgenommen werden<sup>83</sup>, was bei kleinen Frühgeborenen 4% bis 5% des Gesamtblutvolumens entsprechen kann.<sup>84</sup> Hinzu kommt die Problematik der schwierigen Blutabnahme, sodass die in der Praxis tatsächlich abgenommene Menge auch bei größeren Neugeborenen geringer ist.<sup>85</sup> Ein niedriges Probenvolumen schwächt die Sensitivität der Blutkultur, falsch negative Ergebnisse können außerdem durch eine

zu geringe Bakterienzahl oder die Abwesenheit von Bakterien in der Probe verursacht sein. Diese Möglichkeit besteht bei Abnahme der Probe nach Verabreichung eines Antibiotikums an das Kind oder bei intrapartaler antibiotischer Behandlung der Mutter.<sup>86</sup> Die mikrobiologischen Ergebnisse stehen außerdem erst nach 24 bis 48 Stunden zur Verfügung und haben somit keinen Einfluss auf die primäre Indikationsstellung zur Antibiotikatherapie.

Als allgemeine Richtlinie gilt, dass bei jedem Kind mit Verdacht auf EOS eine Blutkultur abgenommen werden sollte. Ist das Ergebnis nach 48 Stunden negativ und zeigt das Kind keine klinischen Zeichen einer Infektion, kann die Therapie abgebrochen werden.<sup>87</sup>

### **Molekulargenetik: Polymerase-Kettenreaktion**

In der letzten Dekade etablierte sich die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) als Nukleinsäureamplifikationstechnik zum Nachweis bakterieller DNA in der Infektionsdiagnostik. Nachgewiesen wird dabei das Bakterien-spezifische 16S rRNA Gen, das im Genom aller Bakterien enthalten ist.<sup>88</sup> Das Verfahren ist hochsensitiv und der Nachweis gelingt auch bei niedrigen Nukleinsäuremengen. Durch die hohe Sensitivität kann es jedoch bereits bei minimaler Beimengung von Fremd-DNA zum Reagens, meist von Bakterien der Haut oder des oberen Respirationstraktes eines Labormitarbeiters, zur Kontamination und dadurch zu falsch positiven Ergebnissen kommen.<sup>91,88</sup> Es gibt zwar eine Reihe von Methoden, um die Kontaminationsgefahr zu minimieren, doch durch viele davon verliert die PCR an Sensitivität. Ein Lösungsvorschlag ist die kurzzeitige kulturelle Bebrütung der Probe vor Beginn der PCR, um die Menge der vorhandenen bakteriellen DNA zu erhöhen, und anschließender Messung mit einer weniger sensitiven PCR Methode.<sup>91</sup> So kann es gelingen, in einer Zeit von acht Stunden eine DNA Menge von 5 bis 50 Kopien/ml zu detektieren. Da ein einzelnes Genom bis zu zehn Kopien enthält, kann bereits eine sehr geringe Bakterienzahl in der Probe erkannt werden. Nach dem Nachweis von bakterieller DNA sollte diese auch weiter klassifiziert werden, nach Möglichkeit mit einer Sequenz-basierten Methode.<sup>88</sup> Das 16s rRNAGen besitzt nämlich zusätzlich eine Reihe von

Bakterienspezies-spezifischen Regionen, sodass mit Hilfe der PCR auch der Bakterienstamm identifiziert werden kann. Golden et al.<sup>89</sup> konnten so bei bakteriämischen Episoden Neugeborener mit 100%iger Sensitivität und Spezifität das Gruppe B Streptokokken spezifische Gen detektieren. Moderne Geräte können eine Probe von mindestens 1,5 ml automatisch auf die 25 häufigsten Erreger untersuchen. Im Moment fehlen aber noch groß angelegte Studien, bevor Aussagen über die diagnostische Genauigkeit im klinischen Einsatz getroffen werden können.<sup>88</sup>

Im Gegensatz zur Blutkultur kann mit Hilfe der PCR nicht die Sensibilität der isolierten oder identifizierten Bakterien auf unterschiedliche Antibiotika getestet werden. Es gibt aber die Möglichkeit bekannte Resistenzgene zu amplifizieren und dadurch Resistenzen gegen bestimmte Medikamente herauszufinden.<sup>91</sup>

### 1.2.7 Labordiagnostik

Laborparameter stellen neben der Evaluierung des klinischen Bildes und der Risikofaktoren eine gute zusätzliche diagnostische Komponente dar. In erster Linie hängt die Brauchbarkeit eines Labortests vom klinischen Zustandsbild des Kindes ab, denn beim kritisch kranken Neugeborenen wird man auch bei einem negativen Testergebnis nicht auf die antibiotische Therapie verzichten. Den höchsten Nutzen erreichen Labortests beim Kind, dessen klinischer Status Zweifel an einer Infektion hinterlässt.<sup>7</sup> Eine frühe Diagnosestellung ist dabei wichtig, da der Verlauf bei verspätet begonnener antibiotischer Therapie fulminant sein kann und es innerhalb von Stunden nach Auftreten der ersten Zeichen zum Vollbild des septischen Schocks und zum Tod kommen kann.<sup>90</sup> In der Ära multiresistenter Mikroorganismen ist es auch wichtig, den überflüssigen Einsatz antibiotischer Therapien bei Sepsis-negativen Kindern zu vermeiden. Aus diesem Grund besteht großes Interesse an schnellen diagnostischen Tests, die vor allem in der frühen Krankheitsphase infizierte von nicht infizierten Neugeborenen unterscheiden können.<sup>91</sup> Die Zahl der untersuchten Marker ist groß, Tabelle 4 fasst die Infektionsmarker, die an früh- und reifgeborenen Neugeborenen untersucht wurden, zusammen.

**Tabelle 4: Auswahl untersuchter Infektionsparameter in der Diagnostik der EOS**

<b>Hämatologische Parameter</b>		
Leukozytenzahl		Thrombozyten
Zahl der neutrophilen Granulozyten		Granulozyten-Kolonie stimulierender Faktor
Zahl der unreifen Neutrophilen		D-Dimer
IT-Ratio		Fibrinogen
Morphologie der Neutrophilen: Vakuolisierung, toxische Granulationen, Döhle-Körperchen, intrazelluläre Bakterien		Thrombin-Antithrombin III Komplex Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1 Plasminogen-Gewebsaktivator
<b>Akut-Phase-Proteine und andere Proteine</b>		
$\alpha$ 1 Antitrypsin		Lactoferrin
C-reaktives Protein		Neopterin
Fibronektin		Orosomuroid
Haptoglobin		Procalcitonin
<b>Komponenten des Komplementsystems</b>		
C3a-desArg		sC5b-9
C3bBbP		
<b>Chemokine, Zytokine und Adhäsionsmoleküle</b>		
IL-1b, IL-1ra, IL-2, sIL-2R, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10		L-Selektin Soluble intracellular adhesion molecule-1 (sICAM-1)
TNF- $\alpha$ , 11sTNFR-p55, 12sTNFR-p75		(sICAM-1)
Interferon- $\gamma$		Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)
E-Selektin		
<b>Oberflächenmarker</b>		
<b>Neutrophile</b>	<b>Lymphozytäre</b>	<b>Monozytäre</b>
CD11b	CD3	HLA-DR
CD11c	CD19	
CD13	CD25	
CD15	CD26	
CD33	CD45RO	
CD64	CD69	
CD66b	CD71	
<b>Andere</b>		
Laktat		Mikro-Blutsenkungsgeschwindigkeit
Superoxid-Anionen		

Nach <sup>5</sup>

Gerade in der frühen Neonatalperiode ist das Wissen um physiologische Veränderungen im Körper des Neugeborenen wichtig, um die Ergebnisse der Labortests richtig interpretieren zu können. Durch die Geburt kommt das Kind in eine grundlegend andere Umgebung und muss extreme physiologische Veränderungen durchmachen, um diesen Wechsel erst zu überleben.<sup>7</sup> Deshalb ist es nicht verwunderlich, dass viele physiologische und metabolische Prozesse während der ersten Lebensstage im Wandel sind. Die Veränderungen beeinflussen auch etliche Laborparameter und so unterscheiden sich die Normalwerte vieler Parameter von denen in späteren Lebensabschnitten. Für Kliniker und Forscher bedeutet dies, dass das postpartale Alter einen entscheidenden Einfluss darauf hat, welches Messergebnis als normal angesehen werden kann und welches nicht.<sup>7,92</sup>

Trotz der Fülle an Studien über Sepsismarker bei Neugeborenen (siehe Tabelle 4), ist es schwierig die einzelnen Untersuchungen zu vergleichen. Die Unterschiede in Studiendesign, Patientenkollektiv (Gestationsalter, postnatales Alter, Krankheitsbilder, Allgemeinzustand), Beschaffenheit der Kontrollgruppe (kritisch krank bis gesund), Sepsisdefinition und verschiedener Cut-off Werte machen Vergleiche schwierig und eine Meta-Analyse derzeit nicht möglich.<sup>7,8,94,101,105</sup>

### **Anforderungen an den idealen Parameter in der Infektionsdiagnostik**

Weltweit besteht ein reges Interesse daran *den* Infektionsparameter in der Diagnostik der EOS zu finden.<sup>93</sup> Da die Sepsis beim Neugeborenen mit einer hohen Mortalität und Morbidität assoziiert ist, ist es wichtig, alle infizierten Kinder zu erkennen und zu therapieren. Deshalb sollten Sensitivität und negativ prädiktiver Wert des Markers möglichst hoch sein und sich den 100% nähern. Um den Gebrauch von Antibiotika bei nicht infizierten Kindern zu reduzieren, sollte der Test auch eine relativ hohe Spezifität und einen hohen positiv prädiktiven Wert besitzen. Da die Folgen eines falsch positiven Testergebnisses aber nicht so gravierend sind, wie jene eines falsch negativen, liegen die anzustrebenden Werte nicht bei 100%, sondern bei über 85%.<sup>5,91</sup> Der ideale Marker sollte die Infektion bereits im Frühstadium erkennen, verschiedene Pathogene unterscheiden können (Bakterien, Viren), den Therapieerfolg veranschaulichen und eine

Prognosestellung zulassen. Zusätzlich sollte er auch bei kleinen Probenvolumina schnell und einfach zu messen sein, die Ergebnisse sollten zwischen den unterschiedlichen Labors vergleichbar und die Kosten der Messung gering sein.<sup>5</sup>

### Hämatologische Tests

In den frühen und mittleren 1980ern waren hämatologische Indizes die wichtigsten und gebräuchlichsten laborchemischen Infektionsparameter in der Diagnostik der EOS.<sup>5</sup> Die Zahl der Leukozyten, der neutrophilen Granulozyten, der unreifen neutrophilen Granulozyten und der Thrombozyten, sowie die immature to total neutrophil (IT) –Ratio und morphologische und degenerative Veränderungen in den Neutrophilen wie Vakuolisationen, Döhle-Körperchen, intrazelluläre Bakterien und toxische Granulationen wurden allein oder in Kombination untersucht. Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigten große Unterschiede, die Sensitivität schwankte von 1% bis 89%, die Spezifität von 44% bis 98%.<sup>94</sup>

#### Leukozyten

Die Zahl der Leukozyten ist der am wenigsten hilfreiche Parameter in der Infektionsdiagnostik beim Neugeborenen.<sup>2</sup> Die Werte zeigen physiologisch eine große Bandbreite und hängen von verschiedenen Faktoren ab, wie dem Alter des Kindes und der Art der Probe (arteriell oder venös). Auch lebhaftes Schreien des Neugeborenen kann die Werte verfälschen.<sup>95</sup> Außerdem kann es im Rahmen einer periventriculären Hämorrhagie, eines Krampfanfalls oder Asphyxie zu erhöhten Werten kommen.<sup>95</sup> Die Sensitivität schwankte in verschiedenen Studien zwischen 18% und 78%, die Spezifität zwischen 61% und 98%.<sup>94</sup>

#### Neutrophile Granulozyten und IT-Ratio

Im Allgemeinen sind die Zahl der neutrophilen Granulozyten und die IT-Ratio in der Sepsisdiagnostik von größerer Bedeutung als die Gesamtzahl der Leukozyten.<sup>2</sup> Wie bei vielen anderen Parametern ist aber der physiologische Anstieg der Werte in den ersten Lebenstagen zu beachten. Als Referenzwerte werden am häufigsten jene einer Studie von Manroe et al.<sup>96</sup> angewandt, deren Methodik und Zuverlässigkeit jedoch auch kritisiert wurde.<sup>7</sup> In der Studie lagen die 5. und 95. Perzentile der Serumwerte der

neutrophilen Granulozyten unmittelbar postpartal bei ca. 1800 und 7000 / $\mu$ l, nach 12 bis 14 Stunden erreichten die Werte den höchsten Anstieg mit ca. 8000 und 14400 / $\mu$ l. In einer großen Untersuchung von Mouzinho et al.<sup>97</sup> wurden die Referenzwerte für Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht von unter 1500 g überarbeitet. Postpartal lagen die 5. und 95. Perzentile bei ca. 500 und 6500 /  $\mu$ l, der höchste Anstieg wurde 18 bis 20 Stunden postpartal erreicht, zu diesem Zeitpunkt lagen die Werte zwischen ca. 2200 und 14400 / $\mu$ l. In einer aktuellen Übersichtsarbeit zu vergangenen Studien über Infektionsmarker bei Neugeborenen wurde für die Zahl der neutrophilen Granulozyten eine Sensitivität von 1% bis 89% und eine Spezifität von 44% bis 93% angegeben. Für die IT-Ratio lag die Sensitivität zwischen 13% und 90%, die Spezifität bei 51% bis 96%.<sup>94</sup> Durch die unterschiedlichen Cut-off Werte, sowie Verschiedenheiten in Patienten- und Kontrollgruppen und Sepsisdefinitionen sind die Unterschiede zwischen den einzelnen Studien groß. Im Allgemeinen zeigt die IT-Ratio aber eine hohe Sensitivität, erhöhte oder erniedrigte Zellzahlen eine hohe Spezifität.<sup>5,94</sup>

#### Thrombozyten

Bei 50% der Neugeborenen mit einer bakteriellen Infektion sinkt die Zahl der Thrombozyten unter 100 000/dl. Allerdings sind diese Werte meist erst zu einem Zeitpunkt messbar, an dem sich das Kind bereits deutlich klinisch septisch präsentiert.<sup>2</sup> Sensitivität und Spezifität lagen in einer aktuellen Studie bei 65% und 47%.<sup>2</sup>

Rodwell et al.<sup>98</sup> erarbeiteten ein Scoring-System, das sieben der oben beschriebenen Variablen beinhaltet. Bei einem Cut-off Wert von über 3 abnormalen Variablen erreichte der Score eine Sensitivität von 96%, aber mit 31% einen niedrigen positiv prädiktiven Wert. Die Bestimmung einiger Variablen ist allerdings nicht einfach und labortechnisch aufwendig. Aus diesem Grund, sowie wegen der schlechten diagnostischen Genauigkeit und der hohen Komplexität, konnte sich dieses System nicht etablieren.<sup>5</sup>

#### Weitere hämatologische Parameter

Als neuerer Infektionsmarker wird der Granulozyten-Kolonie stimulierende Faktor diskutiert.<sup>5</sup> Dabei handelt es sich um einen Mediator aus dem Knochenmark, der die Proliferation und Differenzierung von neutrophilen Granulozyten fördert. Bisher wurden eine hohe Sensitivität und ein hoher negativ prädiktiver Wert beschrieben (95% bzw.

99%).<sup>99</sup> Andere Parameter, deren Konzentration bei Neugeborenen mit einer Infektion als erhöht beschrieben wurden, sind Fibrinogen, zirkulierender Thrombin-Antithrombin III Komplex, Plasminogen Aktivator Inhibitor-1, Plasminogen Gewebsaktivator und D-Dimer.<sup>5,109</sup>

Hämatologische Parameter, vor allem die Zahl der Leukozyten und der neutrophilen Granulozyten, sowie die IT-Ratio werden zwar sehr häufig als unpassende Infektionsparameter kritisiert<sup>2,13,49,91,94,122</sup>, trotzdem gehören sie rund um die Welt zur klinischen Routine. Ob die neueren Parameter, Granulozyten-Kolonie stimulierender Faktor und Koagulationsprodukte in Zukunft als diagnostische Marker genutzt werden können, ist anhand der bisherigen Studien schwer einzuschätzen.<sup>5</sup>

## CRP

Das CRP gehört zu den Akut-Phase-Proteinen und wird nach Stimulation durch IL-6 in der Leber synthetisiert. Die Synthese startet etwa sechs bis acht Stunden nach Beginn einer Infektion oder von Gewebeschäden, erhöhte Werte sind nach 10 bis 12 Stunden messbar. Die Serumkonzentration kann bis auf das 1000fache des Ausgangswertes steigen und die Halbwertszeit liegt bei 19 Stunden. In den ersten Lebenstagen steigt das CRP auch beim gesunden Neugeborenen auf sonst pathologische Werte an, was in der Interpretation von Laborergebnissen berücksichtigt werden muss.

Die Sensitivität des CRP in der Diagnostik der EOS des Neugeborenen liegt bei 29% bis 90%, die Spezifität bei 41% bis 100%.<sup>94</sup> Der negativ prädiktive Wert ist im Allgemeinen höher als der positiv prädiktive Wert.<sup>94</sup> Da die Sensitivität gerade in der frühen Phase der Infektion niedrig ist, sind serielle Bestimmungen zu empfehlen.<sup>2,100,101,102,103</sup> Ein einzelner normaler CRP-Wert zum Zeitpunkt des initialen Sepsis Work-ups kann eine Infektion nicht ausschließen.<sup>17</sup> Durch zusätzliche Messungen der Serumwerte am nächsten und am übernächsten Morgen konnte die Sensitivität in der Diagnostik der Blutkultur positiven EOS in einer Studie von Benitz et al.<sup>101</sup> von ursprünglich 35% auf 79% und 89% gesteigert werden. Das CRP ist insgesamt ein spezifischer und später Infektionsmarker<sup>2,51</sup>, weshalb es gut geeignet ist, um das Ansprechen auf die antibiotische Therapie zu monitieren, um den Verdacht auf eine kontaminierte Blutkultur

zu bestätigen oder zu widerlegen und um Komplikationen der Infektion zu erkennen.<sup>2,51,102,103,104,105,</sup>

Damit hat das CRP als diagnostischer Marker eine höhere Sensitivität und Spezifität als die Zahl der neutrophilen Granulozyten und die IT-Ratio.<sup>50</sup> Es gab Hinweise von einigen Autoren<sup>50,51,103</sup>, dass eine begonnene antibiotische Therapie gefahrlos abgebrochen werden kann, wenn sowohl die CRP-Werte, als auch die Werte des weißen Blutbildes 24 Stunden nach dem initialen Sepsisverdacht in der Norm sind und das Kind klinisch in guter Kondition ist. Es gibt allerdings noch keine prospektive, klinische Studie, die normale CRP-Werte als Grundlage für das frühe Absetzen der antibiotischen Therapie vor Erhalt der Ergebnisse der Blutkulturen untersucht.<sup>17</sup>

### Procalcitonin

Procalcitonin (PCT) gehört zu den Akut-Phase-Proteinen. Unter physiologischen Bedingungen wird es in den C-Zellen der Schilddrüse als Vorläufermolekül von Calcitonin produziert und ist im Serum Erwachsener nicht messbar, da das gesamte PCT zu Calcitonin gespalten wird.<sup>93</sup> Aus heutiger Sicht kommt es bei einem inflammatorischen Stimulus zur extrathyroidalen Synthese, als wahrscheinliche Produktionsorte werden Monozyten und Hepatozyten diskutiert.<sup>5</sup> Im Rahmen einer Sepsis oder nach einem proinflammatorischen Stimulus steigt das PCT innerhalb von etwa vier Stunden an, erreicht nach sechs bis acht Stunden ein Plateau und bleibt für mindestens 24 Stunden erhöht.<sup>106</sup> Beim Neugeborenen zeigt PCT wie das CRP im unkomplizierten postpartalen Verlauf einen zeitweiligen physiologischen Anstieg.<sup>107,108,109</sup> In einer Studie von Chiesa et al.<sup>107</sup> lagen die oberen Referenzwerte, die von 97,5% der gesunden Reifgeborenen nicht überschritten wurden bei 0,7 ng/ml bald nach Geburt, bei etwa 21 ng/ml nach 21 bis 24 Stunden und bei 2,0 ng/ml nach 48 Stunden. Da die Sensitivität, wie beim CRP, in den ersten Lebenstagen ansteigt, sind serielle Bestimmungen auch beim PCT sinnvoll.<sup>7</sup> Da der Anstieg schneller erfolgt, als der des CRP, ist es auch als früher Marker gut einsetzbar.<sup>109,110</sup> Erhöhte Serumwerte wurden auch bei nicht infektiologischen Erkrankungen beobachtet, wie dem respiratory distress syndrome, Kreislaufversagen, Asphyxie, Präeklampsie, vorzeitigem Blasensprung und

Chorioamnionitis.<sup>111,112,113</sup> Außerdem kann die Verabreichung von Antibiotika - sowohl präpartal an die Mutter, als auch postpartal an das Neugeborene - die PCT Werte verfälschen.<sup>108,114</sup>

In der Diagnostik der EOS hat das PCT eine Sensitivität von 30 bis 99% und eine Spezifität von 50 bis 100%.<sup>108</sup> Unterschiede in Studiendesign, Sepsisdefinition, Cut-off Werten und Studienpopulation machen eine Bewertung der Ergebnisse jedoch schwierig. Werden der physiologische Anstieg, eventuell vorhandene antibiotische Vorbehandlung und der klinische Zustand mit beachtet, ist das PCT aber sicher ein wertvoller diagnostischer Parameter, der auch Rückschlüsse auf die Schwere der Krankheit, die Wirksamkeit der Therapie und die Prognose zulässt.<sup>107,108,115</sup>

### **Lipopolysaccharid-bindendes Protein**

Das Lipopolysaccharid-bindendes Protein (LBP) ist ein Serumprotein und wird in der Leber synthetisiert. Kommt es zur Invasion von Bakterien in die Blutbahn, bindet LBP an das Lipopolysaccharid der bakteriellen Membran und transportiert es an den CD14 Rezeptor phagozytosefähiger Zellen. Dadurch wird die Produktion und Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen induziert.<sup>116</sup> Beim Erwachsenen steigt das LBP bei einer Infektion mit gram-negativen und gram-positiven Keimen, sowie bei einer Pilzinfektion, nicht aber bei viralen Infektionen.<sup>116</sup> Bei Neugeborenen ist die Zahl der Studien zu LBP als Marker der EOS noch sehr gering und Vergleiche sind angesichts der Unterschiede zwischen den einzelnen Studien schwierig. In den bisherigen Studien waren die LBP-Serumwerte sepsis-positiver Neugeborener höher als jene sepsis-negativer Neugeborener.<sup>117,118,119,120,121</sup> In bisherigen Studien erreichte das LBP eine Sensitivität zwischen 45% und 100% und eine Spezifität zwischen 85% und 94%.<sup>117,118,119</sup>

### **Chemokine und Zytokine**

Sowohl Chemokine als auch Zytokine spielen eine bedeutende Rolle in der immunmodulierenden Antwort auf eine Infektion. Frühere Studien zeigten, dass die

Serumwerte zirkulierender Chemokine und pro- und anti-inflammatorischer Zytokine, wie IL-6, IL-8, IL-10, Interferon- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  im Rahmen einer EOS deutlich erhöht sind.<sup>122</sup> IL-1 und TNF- $\alpha$  werden nach Kontakt zu Bakterienbestandteilen, Komplementfaktoren und anderen Mediatoren von Gewebsmakrophagen freigesetzt und aktivieren so weitere Entzündungszellen und Endothelzellen, die daraufhin ebenfalls mit der Synthese beginnen. Das Interesse an Zytokinen in der EOS Diagnostik ist hoch, denn im Gegensatz zu CRP und hämatologischen Parametern steigen die Zytokine im Krankheitsverlauf bereits früh an und lassen so eine zeitige Diagnose zu.<sup>5</sup> Von den vielen untersuchten Zytokinen liegt das größte Interesse bei IL-6, IL-8 und TNF- $\alpha$ .

### Interleukin-6

IL-6 ist ein wichtiges Zytokin in der frühen Phase der Immunantwort auf eine Infektion. Bei der Interpretation der Serumwerte beim Neugeborenen muss jedoch der physiologische Anstieg während der ersten Lebensstage und das Gestationsalter berücksichtigt werden. Die Normwerte von Reifgeborenen unterscheiden sich dabei von denen Frühgeborener.<sup>100</sup> Nach dem Kontakt zu Bakterienbestandteilen steigt die Konzentration schnell an und eine messbare Erhöhung erfolgt früher als beim CRP.<sup>5,8</sup> Besonders die Konzentration von IL-6 im Nabelschnurblut ist ein geeigneter früher Infektionsmarker mit einer Sensitivität von 87% bis 100% und einem negativ prädiktiven Wert von 93% bis 100%.<sup>123,124,125</sup> Einige Studien liefern auch schlechtere Ergebnisse, es wird jedoch behauptet, dass diese auf weniger sensitive Detektionsmethoden zurückzuführen sind.<sup>126</sup> Bei der Interpretation der Nabelschnurwerte muss die Vorgeschichte des Kindes mitberücksichtigt werden, da Chorioamnionitis und Funisitis, wie auch bei anderen Zytokinen, erhöhte Werte verursachen können.<sup>127</sup> IL-6 hat eine sehr kurze Halbwertszeit und die Konzentration sinkt mit Beginn einer antibiotischen Therapie drastisch, so dass es nach 24 Stunden oft nicht mehr messbar ist.<sup>6</sup> IL-6 ist besonders in der frühen Phase der Krankheit ein hochempfindlicher Marker, die Sensitivität sinkt aber bereits nach 24 Stunden auf 67% und nach 48 Stunden auf 58%.<sup>8</sup> Die Kombination von IL-6 (früh und sensitiv) mit CRP (spät und spezifisch) in den ersten 48 Lebensstunden erreicht eine höhere Sensitivität als jeder der beiden Marker allein.<sup>8,128</sup>

### Interleukin-8

IL-8 gehört zu den proinflammatorischen Zytokinen und wird, induziert durch verschiedene Stimuli wie TNF- $\alpha$  oder Polysaccharide, vor allem von Makrophagen, Monozyten und Endothelzellen gebildet.<sup>129</sup> Die Sensitivität und Spezifität in der Diagnostik der EOS liegen bei 80% bis 91% bzw. 76% bis 100%.<sup>104,105,130</sup> Diese Werte werden noch erhöht, wenn IL-8 zusammen mit CRP oder mit CD11b bestimmt wird.<sup>130</sup>

### Tumor Nekrose Faktor- $\alpha$

TNF- $\alpha$  ist ein proinflammatorisches Zytokin mit einem breiten Spektrum biologischer Funktionen an Immunzellen und anderen Zellen, unter Anderem stimuliert es die Produktion von IL-6.<sup>91</sup> In der Diagnostik der EOS ist TNF- $\alpha$  den Zytokinen IL-6 und IL-8 unterlegen.<sup>124,123,132</sup>

### Weitere Zytokine

Eine weitere Gruppe der proinflammatorischen Zytokine, die oft mit Sepsis in Verbindung gebracht werden, ist die IL-1 Familie, zu der IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und IL-1-Rezeptor Antagonist (IL-1ra) gehören. Die Rolle von IL-1 $\beta$  als diagnostischer Sepsismarker wird kontrovers diskutiert, denn es wurden sowohl erhöhte als auch erniedrigte Konzentrationen mit Sepsis assoziiert.<sup>123,131</sup> Die Konzentration von IL-1ra hingegen ist bei sepsis-positiven Neugeborenen um ein Vielfaches höher als bei sepsis-negativen Neugeborenen.<sup>126,132</sup> Weitere Zytokine (sIL-2R, Interferon- $\gamma$ ), Adhäsionsmoleküle (ICAM-1, VCAM-1, E-Selektin, L-Selektin) und Komplementprodukte (C3a-desArg, C3bBbP, sC5b-9) wurden im Rahmen einer Sepsis in erhöhter Konzentration gemessen, doch keiner der Parameter erfüllt die Kriterien, um als Marker in der klinischen Praxis angewandt zu werden.<sup>5</sup>

Bislang ist die laborchemische Bestimmung von Zytokinen und Chemokinen sehr teuer, weshalb diese Infektionsmarker noch keinen generellen Platz im klinischen Alltag gefunden haben.<sup>5</sup>

## Oberflächenmarker

Die Expression von leukozytären Oberflächenmarkern steigt nach der Stimulation der Immunzelle durch Bakterien oder bakterielle Produkte.<sup>133</sup> Mit Fortschritten in der Flowzytometrie wurde es möglich, diese zellulären Oberflächenmarker spezifischen Zelltypen zuzuordnen und sie auch in einem sehr kleinen Blutvolumen (0,05 ml pro Marker) zu quantifizieren.<sup>5</sup> Muster der Expression der Oberflächenmarker sollen Rückschlüsse über den funktionellen Status der Immunantwort geben und so die frühe Immunreaktion auf die bakterielle Invasion widerspiegeln.<sup>5</sup>

### CD 11b und CD 64

Zwei vielversprechende Oberflächenmarker sind die Antigene CD11b und CD64 an neutrophilen Granulozyten. Beide werden von nicht aktivierten Zellen nur in geringem Maß exprimiert, die Dichte steigt jedoch bei einer bakteriellen Infektion schnell an, im Fall von CD11b bereits Minuten nach dem Kontakt zu mikrobiellen Produkten.<sup>5,134</sup> Die Sensitivität und Spezifität von CD11b in der Diagnostik der EOS wird mit 96% bis 100% bzw. 100% angegeben<sup>130,135</sup>, Sensitivität und Spezifität von CD64 mit 96% und 81%.<sup>136</sup>

Die Gruppe der Oberflächenmarker ist insgesamt eine junge Gruppe von Infektionsmarkern. Die geringen Patientenzahlen pro Studie und das ungenügende Wissen über Einflussfaktoren und Referenzwerte machen es bislang schwierig, Schlüsse für die Praxis zu ziehen.<sup>122</sup> Einige sehen in den Oberflächenmarkern jedoch großes Potential für die Zukunft und sagen voraus, dass sie bald einen Platz in der klinischen Routine finden werden.<sup>5</sup> Dagegen spricht allerdings, dass die Messung bislang sehr teuer und der technische Aufwand hoch ist. Die abgenommenen Proben müssen umgehend im Labor weiterverarbeitet werden, die Messung folgt strikt definierten Bedingungen. Im besten Fall müssten speziell geschulte Mitarbeiter rund um die Uhr zur Stelle sein. Dieser Aufwand ist sowohl finanziell als auch personalbedingt in den meisten klinischen Einrichtungen nicht möglich.

### Weitere potentielle Infektionsparameter

In einigen aktuellen Studien, die jedoch hauptsächlich bei Erwachsenen durchgeführt wurden, konnten neue Infektionsmarker mit Potential für die Zukunft gefunden werden. Dazu zählen Thrombopoietin, Urokinase-Typ Plasminogen Aktivator, C5a und der zweite C5a Rezeptor.<sup>122</sup>

Bis jetzt gibt es noch keinen einzelnen Infektionsparameter mit ausreichend hoher Sensitivität und Spezifität, um in der klinischen Praxis das Absetzen der antibiotischen Therapie bei einem Neugeborenen mit Verdacht auf eine schwere Infektion zu rechtfertigen.<sup>5,122</sup> Es ist unwahrscheinlich, dass ein einzelner Marker alle Eigenschaften des idealen Infektionsparameters besitzt. Die Kombination von verschiedenen Markern, besonders jene von frühen sensitiven und späten spezifischen, kann in der Diagnostik von Infektionen bei Neugeborenen aber sicher von Vorteil sein.<sup>5</sup>

## 1.2.8 Therapie

### Prinzipien der Antibiotikatherapie

Mit der antibiotischen Therapie sollte bei klinischem Verdacht auf EOS nach Abnahme der Blutkulturen und Laborparameter umgehend begonnen werden, da die ersten Zeichen zwar unspezifisch und unspektakulär sind, der Verlauf aber fulminant sein kann. Im klinischen Alltag hat dies jedoch zur Folge, dass auch eine große Zahl an Sepsis negativen Neugeborenen antibiotisch therapiert wird.

Eine empirische antibiotische Therapie sollte wirksam sein gegen Streptokokken der Gruppe B, E. coli, aber auch gegen Listerien, andere gram negative enteritische Keime und klinikspezifische Erreger.

Bakteriologische Befunde sollte immer in Abhängigkeit von der klinischen Situation bewertet werden. So sollten beispielsweise Gruppe B Streptokokken im Hautabstrich beim asymptomatischen, reifen Neugeborenen nicht zu einer antibiotischen Therapie verleiten, sondern zu einer engmaschigen Überwachung.<sup>137</sup> Der Keimnachweis von Koagulase-negativen Staphylokokken sollte stets kritisch betrachtet werden, da dieser

häufig durch Kontamination zustande kommt. Keime im Trachealsekret ohne andere Zeichen einer Infektion sind nicht therapiebedürftig.<sup>138</sup>

### **Auswahl und Dauer der antibiotischen Therapie**

Die Wahl des Antibiotikums folgt keinem internationalen Standard. Sie sollte sich stets den lokal dominanten Bakterienspezies anpassen. Weit verbreitet ist die Kombination aus Ampicillin und einem Aminoglykosid, meist Gentamycin oder Ampicillin und einem Cephalosporin der dritten Generation, meist Cefotaxim.<sup>2,42,139</sup> In Graz wird die antibiotische Therapie mit Ampicillin und Cefuroxim durchgeführt. Ampicillin ist ein  $\beta$ -Laktam-Antibiotikum und hat eine gute Wirkung gegen Streptokokken, Enterokokken, Haemophilus-Arten, Meningokokken, Gonokokken, Listeria monocytogenes, E. coli (bei etwa 50% der Stämme) und andere. Eine Lücke im Wirkungsspektrum besteht gegenüber Bakterien, welche zur Bildung von Betalaktamase befähigt sind, also unter anderem den meisten Staphylokokken.<sup>140</sup> Cefuroxim ist ein Cephalosporin der zweiten Generation und zeigt eine gute Wirkung gegen Enterobakterien wie E. coli, Klebsiellen, Haemophilus influenzae, aber auch auf einige grampositive Bakterien, z.B. Staphylokokken, Streptokokken der Gruppe A und B. Cefuroxim ist weitgehend betalaktamaseresistent.<sup>140</sup>

Die Dauer der antibiotischen Therapie sollte bei positiver Blutkultur sieben bis zehn Tage betragen. Bei klinischer EOS mit negativer Blutkultur sollte die Therapie fünf bis zehn Tage dauern.<sup>2,42,87</sup> Bestätigt sich der klinische Verdacht durch Verlauf, Labor und Blutkultur nicht, soll die antibiotische Therapie nach zwei Tagen abgesetzt werden.

### **Gefahren der antibiotischen Therapie**

Antibiotika sind die am häufigsten verschriebenen Medikamente an Neugeborenen-Intensivstationen.<sup>141</sup> Eine empirische antibiotische Therapie hat zur Folge dass 30 nicht infizierte Neugeborene antibiotisch behandelt werden für ein Neugeborenes, das tatsächlich infiziert ist.<sup>142,143,153</sup> Siebzig Prozent der Kinder an einer Neugeborenen-Intensivstation werden initial antibiotisch therapiert<sup>141</sup>, unter den Frühgeborenen sind es

noch mehr. In einer aktuellen Studie zeigten Cotten et al.<sup>144</sup>, dass von ca. 4000 Neugeborenen mit extrem niedrigem Geburtsgewicht, die die ersten fünf Lebenstage ohne EOS und größere angeborene Anomalien überlebten, 97% initial mit Antibiotika therapiert wurden, 53% davon für fünf Tage oder länger. In der Studie konnte gezeigt werden, dass eine verlängerte antibiotische Therapie mit einem erhöhten Sterberisiko und/oder Risiko einer nekrotisierenden Enterokolitis verbunden ist. Demnach kam es zum Tod eines Kindes pro 21 Neugeborene, die ohne Vorliegen einer Infektion für fünf Tage oder länger antibiotisch therapiert wurden.<sup>144</sup> Neben der Toxizität der Antibiotika ist jedoch auch die Selektion resistenter Keime ein gegenwärtiges Problem. Neugeborene, die für mehr als drei Tage Antibiotika erhalten, haben ein erhöhtes Risiko einer abnormalen bakteriellen Kolonisierung und der Entwicklung resistenter Mikroorganismen durch Selektion resistenter Subpopulationen und Eliminierung sensibler Stämme.<sup>145,146</sup> Die Society for Healthcare Epidemiology of America erklärte deshalb, dass optimale Selektion, Dosierung und Dauer der antibiotischen Therapie notwendig sind, um der Selektion resistenter Keime vorzubeugen.<sup>147</sup>

## 2 Material und Methoden

---

### 2.1 Studiendesign

In dieser retrospektiven Kohortenstudie wurden die Daten von allen Neugeborenen, die in den Jahren 2004 bis 2007 an der neonatologischen Intensivstation aufgenommen wurden, untersucht. Es wurde eine Datenbank mit genauen perinatologischen, klinischen und laborchemischen Daten erstellt. Dazu wurden Arztbriefe und Dekurse, Laborbefunde und Krankenakten der Intensivstation untersucht. Die Krankenakten enthalten neben genauen Informationen zu Vitalparametern und verabreichten Medikamenten die detaillierten Ergebnisse aller auf der Station durchgeführten klinischen Untersuchungen. Diese wurden alle zwei bis vier Stunden durchgeführt, Blutdruck, Sauerstoffsättigung, Herz- und Atemfrequenz wurden halbstündig oder wenn nötig öfter dokumentiert. Unmittelbar nach der Fertigstellung der Datenbank für diese Studie wurde sie auf Fehler überprüft. Im Rahmen einer Erweiterung wurden bei jedem Patienten die klinischen Daten und weitere, unterschiedliche Teile der gesammelten Informationen auf ihre Richtigkeit hin kontrolliert.

*Einschlusskriterien* waren zumindest ein dokumentierter CRP-Wert der ersten 72 Lebensstunden und Dokumentation der klinischen und laborchemischen Parameter die für die Klassifikation bezüglich EOS notwendig sind.

*Ausschlusskriterien* waren ungenügende Informationen über den klinischen Zustand des Neugeborenen und fehlende CRP-Werte der ersten 72 Lebensstunden.

### 2.2 Definition der Early Onset Sepsis

Die Diagnose Early Onset Sepsis wurde retrospektiv gestellt. Bei allen Kindern mit Verdacht auf EOS wurden Blutkulturen aus einer peripheren Vene oder, wenn verfügbar, aus einem zentralen Venenkatheter abgenommen, als dieser gelegt wurde und bevor die antibiotische Therapie begonnen wurde. Blutkulturen mit Wachstum

pathogener Keime, das heißt Keime, die nicht zur physiologischen Hautflora oder Flora des oberen Respirationstrakts zählen, wurden als positiv beurteilt. Für die klinische EOS mussten in den ersten 72 Lebensstunden mindestens drei von fünf klinischen Zeichen und entweder maternale Risikofaktoren oder ein positiver laborchemischer Sepsis Screen vorhanden sein bei gleichzeitiger antibiotischer Therapie über mindestens sieben Tage. Klinische Zeichen einer Infektion waren:

- a) Respiratorische Symptome: Tachypnoe  $>60/\text{min}$ , Apnoe, Einziehungen, Nasenflügeln, Zyanose, Atemnot
- b) Kardiozirkulatorische Symptome: arterielle Hypotonie, Tachy- oder Bradykardie  $>180/\text{min}$  bzw.  $<100/\text{min}$
- c) Neurologische Symptome: Lethargie, Irritabilität, Krämpfe
- d) Verlängerte Rekapillarierungszeit  $>2$  Sekunden oder schlechtes Hautkolorit
- e) Körperkerntemperatur  $>38,5^{\circ}\text{C}$  oder  $<36,0^{\circ}\text{C}$ .

Maternale Risikofaktoren waren: vorzeitiger Blasensprung (bei Reifgeborenen  $>18$  Stunden), Amnioninfektionssyndrom der Mutter und Fieber während der Wehen. Für einen positiven Sepsis Screen mussten mindestens zwei von vier laborchemischen Parametern positiv sein: CRP  $>8\text{mg/L}$ , Leukozyten  $<9000/\mu\text{l}$  oder  $>34000/\mu\text{l}$ , Neutrophile Granulozyten  $<7000/\mu\text{l}$  ( $<2000/\mu\text{l}$  für die ersten 24 Stunden) oder  $>14400/\mu\text{l}$ , IT-Ratio  $>0,2$ .

Die Neugeborenen wurden in vier Gruppen eingeteilt:

Gruppe 1 – Blutkultur positive EOS

Gruppe 2 – klinisch positive EOS (negative Blutkultur, drei von fünf klinischen Zeichen mit maternalen Risikofaktoren und/oder positivem Sepsis Screen, Antibiotikatherapie  $\geq 7$  Tage)

Gruppe 3: unklarer Infektionsstatus (negative Blutkultur, weniger als drei klinische Zeichen, inklusive sederter Neugeborene, deren neurologischer Status nicht verwertbar war, weniger als zwei pathologische Parameter im Sepsis Screen)

Gruppe 4: EOS negativ (negative Blutkultur, weniger als drei klinische Zeichen einer Infektion, und/oder keine maternalen Risikofaktoren mit negativem laborchemischen Sepsis Screen, Antibiotikatherapie  $<3$  Tage).

## 2.3 CRP-Bestimmung

Das CRP wurde bestimmt anhand der immunoturbidometrischen Methode mit dem Tina quant CRP kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland). Das Detektionslimit lag bei 1 mg/L.

## 2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit SPSS 17 (SPSS Inc., 2008, Chicago, USA) und Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, 2007, Redmond, USA) durchgeführt. Es wurden die Inzidenz erhöhter CRP-Werte und unterschiedlicher EOS Gruppen berechnet. Alle Berechnungen wurden mit dem Cut-off Wert von 8 mg/L durchgeführt und mit den Cut-off Werten von 5 mg/L für den ersten, 14 mg/L für den zweiten und 10 mg/L für den dritten Lebenstag. Diese entsprechen den 95. Perzentilen der CRP-Werte gesunder Neugeborener in den ersten drei Lebenstagen.

Um die Korrelation des CRP mit der EOS zu beschreiben, wurden Receiver operating characteristics (ROC) Kurven für die gesamten ersten 72 Lebensstunden und für jeden einzelnen der ersten drei Lebenstage jeweils in der Diagnostik der Blutkultur positiven und der Kultur und klinisch positiven EOS berechnet. Die Fläche unter der (Area under the) ROC Kurve (AUC) wurde zusätzlich für Früh- und Reifgeborene getrennt berechnet. Mit Hilfe des Youden Index (höchster Wert aus Sensitivität + Spezifität -1 aus allen möglichen Cut-off Werten) wurde der rechnerisch beste Cut-off Wert in der Diagnostik der EOS berechnet. Anschließend wurden Sensitivität, Spezifität, positiv und negativ prädiktiver Wert und Likelihood Ratio für die drei unterschiedlichen Cut-off Werte in der Diagnostik der Blutkultur positiven und der Kultur und klinisch positiven EOS in der gesamten Studienpopulation und für Früh- und Reifgeborene getrennt, sowie für die gesamten ersten 72 Lebensstunden und für jeden einzelnen der ersten drei Lebenstage berechnet. Für diese Berechnungen wurden die Neugeborenen mit unklarem Infektionsstatus ausgeschlossen. Zusätzlich wurden signifikante Unterschiede der CRP-Werte zwischen den vier EOS Gruppen untersucht.

Die Korrelation erhöhter CRP-Werte mit verschiedenen nicht infektiologischen Erkrankungen und Diagnosen wurde durch Angabe der Odds Ratio und Likelihood Ratio mit p-Wert beschrieben. Für diese Berechnungen wurden EOS positive Neugeborene und Kinder mit unklarem Infektionsstatus ausgeschlossen. Die Korrelationen wurden für die gesamte Studienpopulation berechnet und für Gruppen unterschiedlichen Gestationsalters (28, 28-37, >37 SSW). Die untersuchten Diagnosen waren männliches Geschlecht, positive mütterliche Risikofaktoren (vorzeitiger Blasensprung, Amnioninfektionssyndrom der Mutter, Fieber während der Wehen), missfärbiges Fruchtwasser ohne klinische Symptome eines Mekoniumaspirationssyndroms, verzögerte postpartale Adaptation, transient respiratory distress syndrome (TRDN)/Fruchtwasseraspiration, idiopathic respiratory distress syndrome (IRDS) Grad I-II und III-IV, Syndrom der persistierenden fetalen Zirkulation, Mekoniumaspirationssyndrom, assistierte Ventilation (O<sub>2</sub>-Bedarf, continuous positive airway pressure – CPAP - Ventilation und mechanische Ventilation).

Unterschiede zwischen den CRP-Werten Früh- und Reifgeborener wurden in der gesamten Studienpopulation, in der Gruppe EOS positiver und in der Gruppe EOS negativer Neugeborener berechnet. Der Verlauf der CRP-Serumwerte bei Früh- und Reifgeborenen in den ersten drei Lebenstagen wurde für die gesamte Studienpopulation beschrieben, sowie für EOS negative Neugeborene und für EOS negative, nicht kritisch kranke Neugeborene (durch Ausschluss aller Kinder mit Mekoniumaspirationssyndrom, schwerem IRDS Grad III und IV, schwerer Asphyxie, PFC-Syndrom Kinder mit schlechtem klinischen Zustandsbild im Sinne von drei oder mehr klinischen Symptomen der Organdysfunktion – siehe Seite 37). Dafür wurden die Mediane, Quartile und Mittelwerte, sowie die 5., 90. und 95. Perzentilen der CRP-Werte für Früh- und Reifgeborene ermittelt und die Werte verglichen. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen wurden mit dem p-Wert beschrieben. Zusätzlich wurden Unterschiede zwischen Neugeborenen unterschiedlichen Geschlechts untersucht.

P-Werte wurden je nach untersuchten Variablen mit dem Chi-Quadrat Test oder mit dem Mann-Whitney Test berechnet. Statistische Signifikanz wurde erreicht ab  $p < 0,05$ .

### 3 Ergebnisse

---

Zwischen 2004 und 2007 wurden 1310 Neugeborene an der neonatologischen Intensivstation des Universitätsklinikums Graz aufgenommen. Bei 711 Neugeborenen waren CRP-Werte der ersten 72 Lebensstunden dokumentiert, wegen inkompletter klinischer Daten mussten weitere 21 ausgeschlossen werden.

Zur Studienpopulation zählten 690 Neugeborene mit einem medianen Gestationsalter von 34 Wochen und einem medianen Geburtsgewicht von 2188 g. Davon waren 222 reif und 468 früh geboren. Weitere perinatale Daten sind in Tabelle 1 aufgelistet.

**Tabelle 5: Perinatale Daten der Studienpopulation**

Gesamte Studienpopulation	690
Geburtsgewicht in Gramm	2188 (400-5215)
Gestationsalter in Wochen	34 (23-43)
Gestationsalter <28 Wochen	63 (9)
Gestationsalter 28-32 Wochen	199 (29)
Gestationsalter 33-37 Wochen	206 (30)
Gestationsalter >37 Wochen	222 (32)
Geschlecht (männlich:weiblich)	380:310 (55:45)
Small for gestational age	63 (9)
Einlinge:Gemini:Trigemi	552:122:15 (80:18:2)
Positive maternale Risikofaktoren	192 (28)
Vorzeitiger Blasensprung	147 (21)
Amnioninfektionssyndrom	59 (9)
Fieber während der Wehen	21 (3)
Apgar 1	8 (0-10)
Apgar 5	9 (1-10)

Die Daten sind angegeben als Median (Minimum-Maximum) oder als Anzahl (%).

Pro Patient wurden ein bis sechs CRP-Werte bestimmt (Mittelwert 1,58), insgesamt waren 1090 Werte dokumentiert.

### 3.1 CRP und EOS

Die Diagnose EOS konnte bei 168 Neugeborenen (24%) gestellt werden, davon hatten 33 Neugeborene eine Blutkultur positive EOS (20%) und 135 eine klinisch positive EOS (80%). Ein unklarer Infektionsstatus fand sich bei 23 Neugeborenen (3%), 499 Neugeborene (72%) waren EOS negativ. Die Inzidenzraten von EOS bezogen auf das Gestationsalter sind in Abbildung 3 dargestellt.

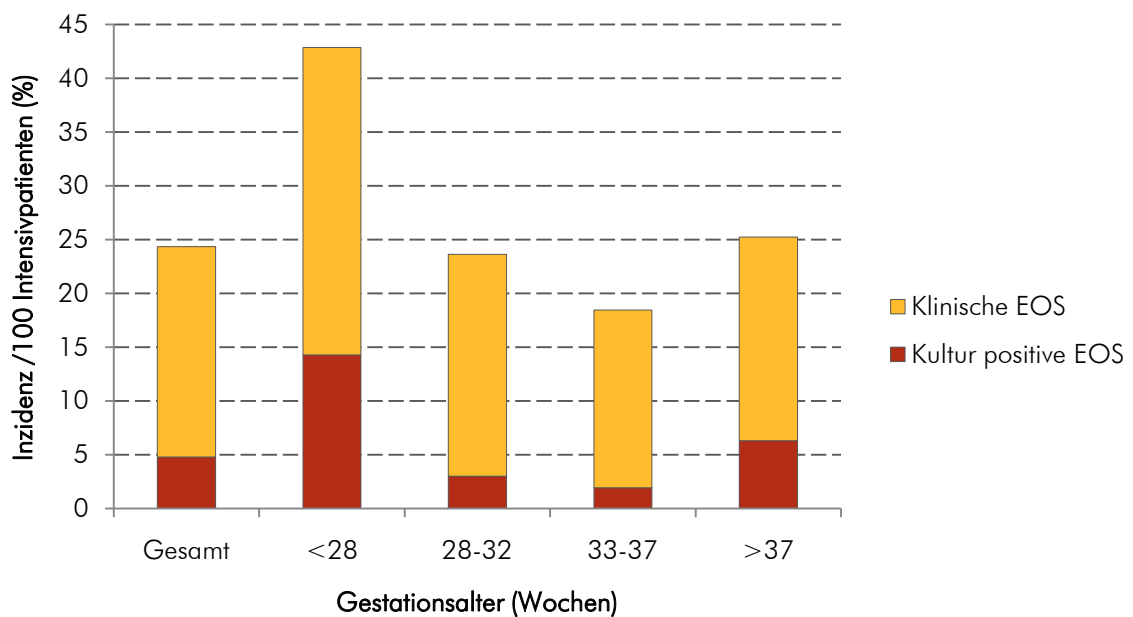


Abbildung 3: Inzidenz der Kultur und klinisch positiven EOS bei Neugeborenen verschiedener Altersgruppen

#### 3.1.1 ROC-Kurven und AUC

In der Analyse mit Hilfe der ROC Kurven wird jeder gemessene Wert eines Laborparameters als Cut-off Wert verwendet und Sensitivität und Spezifität werden für jeden der gemessenen Werte errechnet. In einem Diagramm werden Sensitivität (Y-Achse) gegen 1-Spezifität (X-Achse) aufgetragen. Die Fläche unter der Kurve (AUC) beschreibt dabei die Güte des Parameters. Es können Werte von 0 bis 1 angenommen

werden, wobei ein guter diagnostischer Parameter möglichst hohe Werte erzielen sollte. Im Allgemeinen werden Werte über 0,7 als gut und über 0,9 als exzellent angesehen. Eine AUC von 0,5 ist das schlechteste mögliche Ergebnis und entspricht der Vorhersagekraft durch Werfen einer Münze. Werte unter 0,5 müssen interpretiert werden wie deren an der Diagonale gespiegelter Wert, das heißt eine AUC von 0,3 kann interpretiert werden als 0,7. Der p-Wert gibt die Wahrscheinlichkeit wieder, dass sich der wahre Wert der AUC von 0,5 unterscheidet.

### CRP in der Diagnostik der Blutkultur positiven EOS

Die AUC für CRP in der Diagnostik der Blutkultur positiven EOS war 0,842. Bei Frühgeborenen war die AUC geringer als bei Reifgeborenen (siehe Tabelle 6 und Abbildungen 4 und 5).

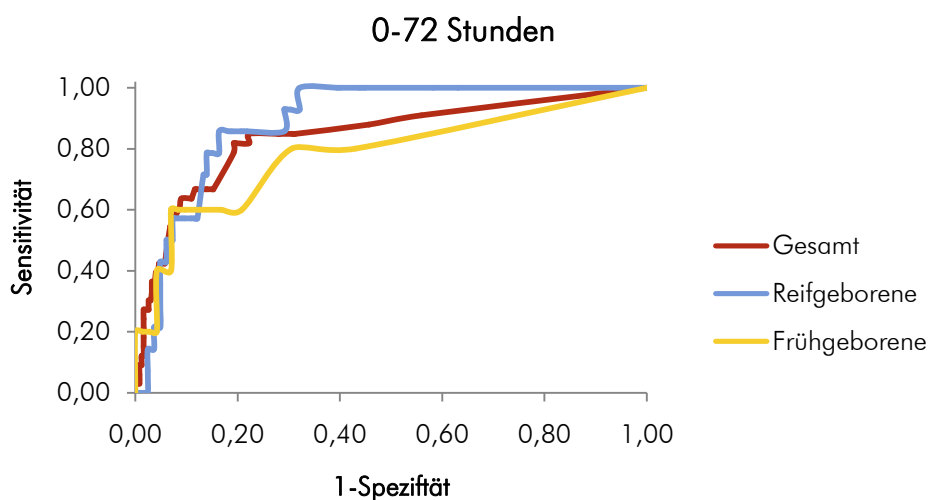


Abbildung 4: ROC-Kurven für CRP in der Diagnostik der Blutkultur positiven EOS

Tabelle 6: AUC Werte der ROC Analyse in der Diagnostik der Blutkultur positiven EOS

	Gesamt	0-24 Stunden	25-48 Stunden	49-72 Stunden
<b>Gesamt</b>	,842 (,762-,921)	,755 (,633-,878)	,766 (,643-,889)	,848 (,723-,974)
	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>FG gesamt</b>	,783 (,481-1)	,680 (,479-,881)	,799 (,674-,923)	,707 (,549-,865)
	0,035	0,059	<0,001	0,004
<b>RG gesamt</b>	,890 (,831-,950)	,893 (,829-,958)	,853 (,753-,952)	,885 (,786-,984)
	<0,001	<0,001	<0,001	0,001

Die Ergebnisse sind dargestellt als AUC (95% Konfidenzintervall) mit p-Wert.

Abkürzungen: FG, Frühgeborene; RG, Reifgeborene

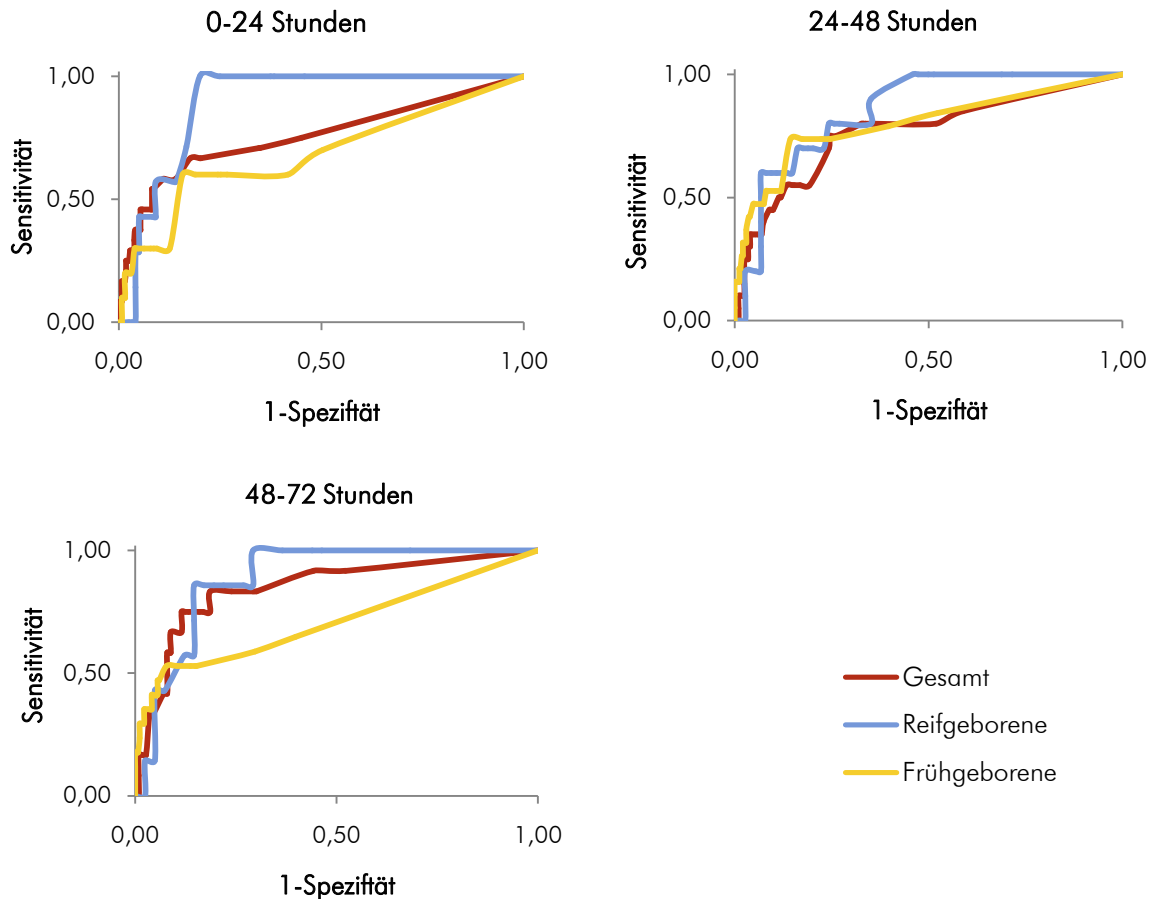


Abbildung 5: ROC Kurven für CRP in der Diagnostik einer Blutkultur positiven EOS in den ersten drei Lebenstagen

## CRP in der Diagnostik der Kultur und klinisch positiven EOS

Die AUC für CRP in der Diagnostik der Kultur und klinisch positiven EOS lag bei 0,741. Bei Frühgeborenen war die AUC insgesamt und an jedem einzelnen der ersten drei Lebenstage geringer als bei Reifgeborenen (siehe Tabelle 7 und Abbildungen 6 und 7).

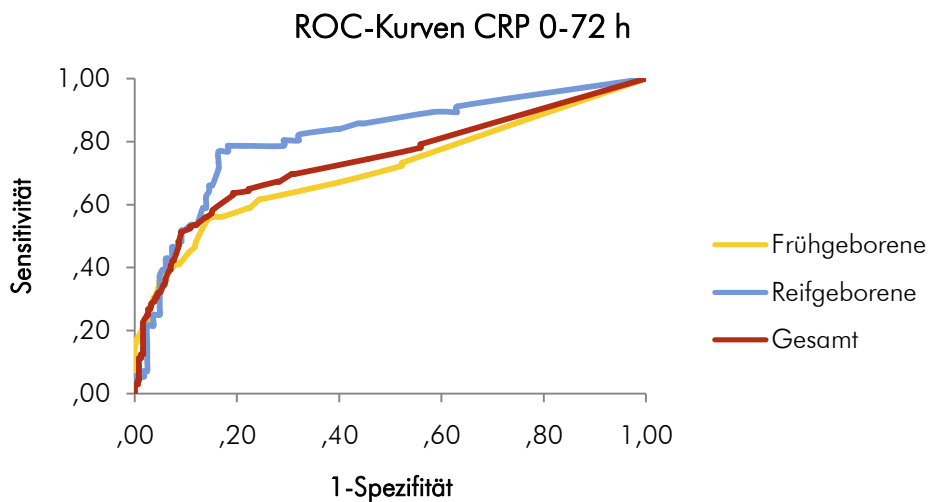


Abbildung 6: ROC-Kurven für CRP in der Diagnostik einer Kultur und klinisch positiven EOS

Tabelle 7: AUC Werte der ROC Analyse in der Diagnostik der Kultur und klinisch positiven EOS

	Gesamt	0-24 Stunden	25-48 Stunden	49-72 Stunden
<b>Gesamt</b>	,741 (.693-,790)	,665 (.606-,724)	,689 (.620-,758)	,758 (.668-,849)
	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>FG gesamt</b>	,711 (.648-,773)	,641 (.569-,714)	,658 (.571-,745)	,676 (.541-,810)
	<0,001	<0,001	<0,001	0,01
<b>RG gesamt</b>	,812 (.742-,882)	,719 (.618-,820)	,784 (.687-,881)	,866 (.770-,963)
	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Die Ergebnisse sind dargestellt als AUC (95% Konfidenzintervall) mit p-Wert.

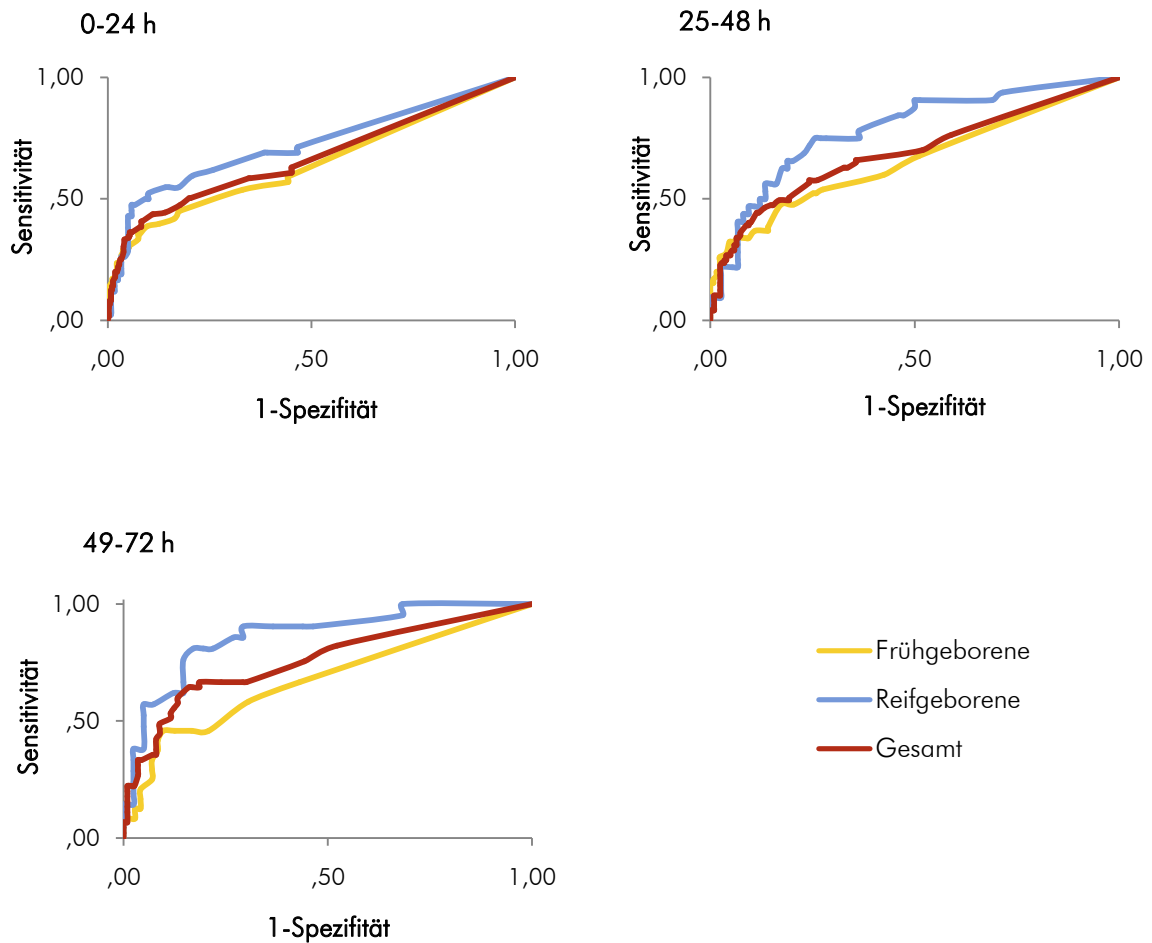


Abbildung 7: ROC Kurven für CRP in der Diagnostik der Kultur und klinisch positiven EOS in den ersten drei Lebenstagen

Die AUC war bei Frühgeborenen unabhängig vom Lebensalter niedriger als bei Reifgeborenen. In allen Altersklassen war sie am ersten Lebenstag am geringsten und am dritten Lebenstag am größten.

Der Youden Index beschreibt den rechnerisch besten Cut-off Wert. Er errechnet sich aus der Summe von Sensitivität und Spezifität eines jeden untersuchten Cut-off Wertes minus eins. Der höchste errechnete Wert, im besten Fall 1, stellt den optimalen Cut-off Wert dar. Der optimale Cut-off Wert wurde nur für die Diagnostik der Kultur und klinisch positiven EOS berechnet. Der rechnerisch optimale Cut-off Wert war 5,75 mg/L. Bei Frühgeborenen war der rechnerisch optimale Cut-off Wert niedriger als bei Reifgeborenen (siehe Tabelle 8).

Tabelle 8: Ergebnisse der ROC-Analyse mit Youden Index

	0-72 Stunden		0-24 Stunden		25-48 Stunden		49-72 Stunden	
	Cut-off	Y (Sens-Spez)	Cut-off	Y (Sens-Spez)	Cut-off	Y (Sens-Spez)	Cut-off	Y (Sens-Spez)
Gesamt	5,75	.45 (64-81)	5,6	.33 (44-89)	5,4	.34 (58-76)	5,85	.49 (64-84)
FG ges	5,5	.41 (55-86)	5,5	.29 (39-90,3)	5,5	.30 (48-83)	5,5	.36 (46-90)
<28	5,0	.43 (63-80)	8,6	.43 (48-95)	4,5	.32 (40-92)	8,0	.40 (40-100)
28-32	5,5	.32 (45-87)	6,6	.20 (27-93)	2,5	.29 (52-77)	1,5	.32 (50-82)
33-36	2,5	.49 (73-75)	2,5	.38 (52-86)	7,5	.42 (50-91)	6,1	.56 (71-85)
>37	10,5	.60 (77-84)	6,5	.42 (52-90)	8,5	.49 (75-74)	11,5	.64 (81-83)

Abkürzungen: Y, Youden Index; Sens, Sensitivität; Spez, Spezifität

### 3.1.2 Diagnostische Genauigkeit des CRP in der EOS-Diagnostik

#### Erregerspektrum und Korrelation mit den CRP-Serumwerten

Bei 33 von 690 Neugeborenen (4,8%) konnten pathologische Erreger aus den Blutkulturen isoliert werden. Je nach angewandtem Cut-off Wert lagen bei 67% bzw. 82% von ihnen erhöhte CRP-Werte vor.

Tabelle 9: Aus dem Blut isolierte Keime und Korrelation mit erhöhten CRP-Werten

Keim	n	%	> 8 mg/L	>5/14/10 mg/L	>5,75 mg/L
			n (%)	n (%)	n (%)
Streptokokken der Gruppe B	19	58	14 (74)	17 (89)	17 (89)
Ureaplasmen	7	21	3 (43)	5 (71)	5 (71)
E. coli	3	9	2 (67)	2 (67)	2 (67)
Staphylokokkus aureus	2	6	1 (50)	1 (50)	1 (50)
Chlamydien	1	3	1 (100)	1 (100)	1 (100)
Enterokokkus faecalis	1	3	1 (100)	1 (100)	1 (100)
Gesamt	33	100	22 (67)	27 (82)	27 (82)

Die Ergebnisse sind dargestellt als Anzahl (n) und Prozent (%).

### CRP in der Diagnostik der Blutkultur positiven EOS

Für die Diagnostik der Kultur positiven EOS waren Sensitivität, Spezifität, positiv und negativ prädiktiver Wert für CRP >8 mg/L 67%, 88%, 27% und 98% und für CRP >5/14/10 mg/L 67%, 84%, 22% und 97%. Die Werte für den mit dem Youden Index berechneten Cut-off Wert 5,75 mg/L waren 82%, 81%, 22% und 99%. Die Sensitivität war bei allen untersuchten Cut-off Werten bei Reifgeborenen höher, die Spezifität und die Likelihood Ratio waren bei Frühgeborenen höher. Der Cut-off Wert von 8 mg/L zeigte in allen Altersklassen die höchste Likelihood Ratio (siehe Tabelle 10).

Tabelle 10: Sensitivität, Spezifität, positiv und negativ prädiktiver Wert und Likelihood Ratio (95% Konfidenzintervall) für verschiedene Cut-off Werte in der Diagnostik der Blutkultur positiven EOS bei Früh- und Reifgeborenen

	CRP Cut-off Wert (mg/L)	Sensitivität	Spezifität	PPW	NPW	Likelihood Ratio
Blutkultur positive EOS						
	8	67 (48-82)	88 (85-91)	27 (18-38)	98 (96-99)	5,54 (4,14 - 7,43)
<b>Gesamt</b>	5/14/10	67 (48-82)	84 (81-87)	22 (14-31)	97 (95-99)	4,26 (3,29 - 5,53)
	5,75	82 (65-93)	81 (77-84)	22 (15-30)	99 (97-99)	4,25 (3,43 - 5,27)
	8	86 (57-98)	81 (74-87)	28 (15-44)	99 (95-100)	4,56 (3,15 - 6,61)
<b>RG</b>	5/14/10	86 (57-98)	77 (70-83)	24 (13-38)	98 (95-100)	3,72 (2,66 - 5,2)
	5,75	93 (66-100)	71 (63-78)	21 (12-34)	99 (95-100)	3,19 (2,39 - 4,27)
	8	53 (29-76)	91 (88-94)	26 (13-42)	97 (95-99)	6,06 (3,8 - 9,66)
<b>FG</b>	5/14/10	53 (29-76)	88 (84-91)	20 (10-34)	97 (94-99)	4,39 (2,94 - 6,58)
	5,75	74 (49-91)	86 (81-89)	23 (13-35)	98 (96-99)	5,13 (3,73 - 7,04)

Abkürzungen: PPW, positiv prädiktiver Wert; NPW negativ prädiktiver Wert

### CRP in der Diagnostik der Kultur und klinisch positiven EOS

In der Diagnostik der Kultur und klinisch positiven EOS waren Sensitivität, Spezifität, positiv und negativ prädiktiver Wert für CRP >8 mg/L 54%, 88%, 60% und 85% und für CRP >5/14/10 mg/L 54%, 84%, 54% und 86%. Die Werte für den mit dem Youden Index berechneten Cut-off Wert 5,75 mg/L waren 64%, 81%, 53% und 87%. Die Sensitivität war bei allen untersuchten Cut-off Werten bei Reifgeborenen höher, die Spezifität und die Likelihood Ratio waren bei Frühgeborenen höher. Der Cut-off Wert von 8 mg/L zeigte in allen Altersklassen die höchste Likelihood Ratio (siehe Tabelle 11).

Tabelle 11: Sensitivität, Spezifität, positiv und negativ prädiktiver Wert und Likelihood Ratio (95% Konfidenzintervall) für verschiedene Cut-off Werte in der Diagnostik der Kultur und klinisch positiven EOS bei Früh- und Reifgeborenen.

	CRP cut-off Wert (mg/L)	Sensitivität	Spezifität	PPW	NPW	Likelihood Ratio
Blutkultur positive und klinisch positive EOS						
<b>Gesamt</b>	8	54 (46-61)	88 (85-91)	60 (52-68)	85 (82-88)	4,46 (3,38 - 5,88)
	5/14/10	54 (46-62)	84 (81-87)	54 (46-62)	85 (81-88)	3,47 (2,71 - 4,43)
	5,75	64 (56-71)	81 (77-84)	53 (46-60)	87 (83-90)	3,31 (2,67 - 4,1)
<b>RG</b>	8	79 (66-88)	81 (74-87)	59 (47-70)	92 (86-96)	4,18 (2,93 - 5,98)
	5/14/10	77 (64-87)	77 (70-83)	53 (42-64)	91 (85-95)	3,33 (2,41 - 4,62)
	5,75	80 (68-90)	71 (63-78)	48 (38-59)	91 (85-96)	2,76 (2,07 - 3,69)
<b>FG</b>	8	41 (32-51)	91 (88-94)	61 (49-72)	82 (78-86)	4,73 (3,09 - 7,25)
	5/14/10	43 (34-53)	88 (84-91)	55 (44-65)	82 (78-86)	3,58 (2,47 - 5,18)
	5,75	55 (46-65)	86 (81-89)	56 (47-66)	85 (81-89)	3,85 (2,82 - 5,25)

### Diagnostische Genauigkeit im Verlauf der ersten drei Lebenstage

Die Sensitivität des CRP in der Diagnostik der Blutkultur und klinisch positiven EOS war am ersten Lebenstag am geringsten und stieg im weiteren Verlauf. Durch Kombination der Werte der ersten drei Lebenstage konnte eine höhere Sensitivität und Spezifität erreicht werden (siehe Tabelle 12).

**Tabelle 12: Sensitivität, Spezifität, positiv und negativ prädiktiver Wert (95% Konfidenzintervall) des CRP in den ersten drei Lebenstagen.**

Lebensstunden	Blutkultur positive EOS			Kultur und klinisch positive EOS		
	0-24	24-72	0-72	0-24	24-72	0-72
CRP > 8 mg/L						
Sensitivität	61 (42-77)	73 (54-87)	67 (48-82)	49 (41-57)	64 (57-72)	54 (46-61)
Spezifität	74 (69-77)	47 (43-52)	88 (85-91)	74 (69-77)	47 (43-52)	88 (85-91)
PPW	13 (8-20)	8 (5-12)	27 (18-38)	38 (32-45)	29 (25-34)	60 (52-68)
NPW	97 (94-98)	96 (93-98)	98 (96-99)	81 (77-85)	80 (75-84)	85 (82-88)
CRP > 5/14/10 mg/L						
Sensitivität	58 (37-78)	73 (52-88)	67 (48-82)	44 (36-53)	53 (44-62)	54 (46-62)
Spezifität	86 (82-89)	81 (75-85)	84 (81-87)	86 (82-89)	81 (75-85)	84 (81-87)
PPW	20 (12-32)	26 (16-38)	22 (14-31)	52 (43-62)	54 (44-63)	54 (46-62)
NPW	97 (95-99)	97 (94-99)	97 (95-99)	82 (78-85)	80 (75-85)	85 (81-88)
CRP > 5,75 mg/L						
Sensitivität	70 (51-84)	85 (68-95)	82 (65-93)	55 (47-62)	71 (64-78)	64 (56-71)
Spezifität	70 (65-74)	43 (39-48)	81 (77-84)	70 (65-74)	43 (39-48)	81 (77-84)
PPW	13 (9-19)	9 (6-13)	22 (15-30)	38 (32-44)	30 (25-34)	53 (46-60)
NPW	97 (95-99)	98 (95-99)	99 (97-99)	82 (78-86)	82 (77-86)	87 (83-90)

### 3.1.3 Mittlere CRP-Werte bei EOS positiven und negativen Neugeborenen

Im Vergleich der mittleren CRP-Werte der einzelnen EOS Gruppen waren die Werte in der Gruppe der Blutkultur und klinisch positiven EOS signifikant höher als die Werte der EOS negativen Neugeborenen (Mittelwert (MW)  $\pm$  Standardabweichung (SD) 15,35  $\pm$  26,38 mg/L bzw. 3,26  $\pm$  8,42 mg/L,  $p < 0,001$ ). Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen den CRP-Werten der Blutkultur positiven und klinisch positiven

EOS (MW  $\pm$  SD 16,11  $\pm$  19,12 mg/L bzw. 15,18  $\pm$  27,82 mg/L) – siehe Abbildung 8.

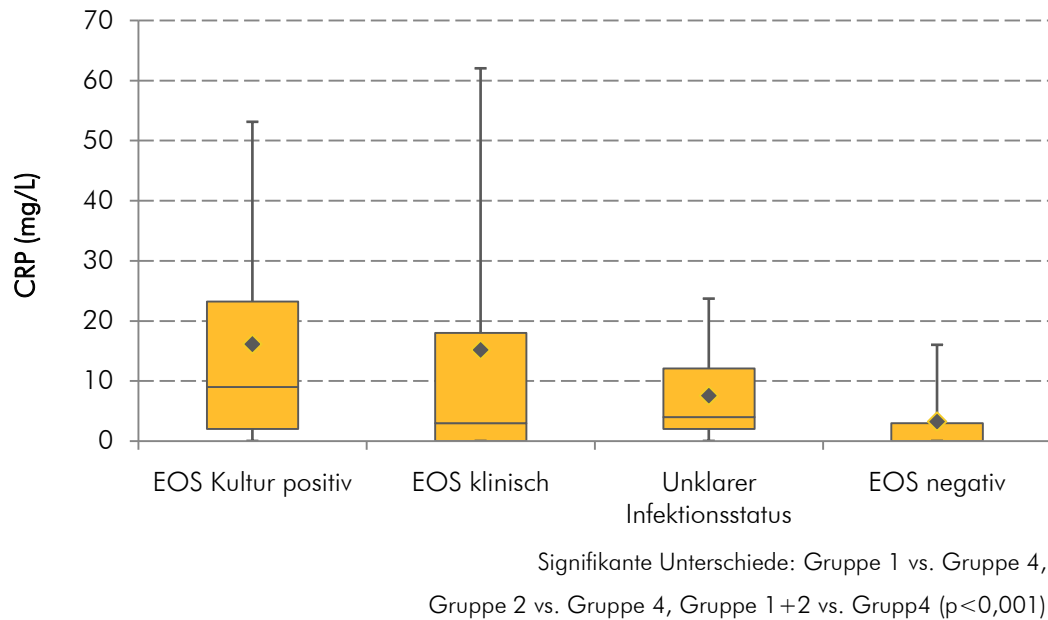


Abbildung 8: CRP-Werte bei EOS positiven und negativen Neugeborenen

### Geschlechterspezifische Unterschiede

Eine Blutkultur oder klinische positive EOS wurde bei 91 von 380 männlichen und 77 von 310 weiblichen Neugeborenen diagnostiziert (Verhältnis 54:46). Die mittleren CRP-Werte männlicher und weiblicher EOS positiver Neugeborener waren 13,5 und 17,5 mg/L, der Unterschied war nicht statistisch signifikant (siehe Abbildung 17, Seite 65). Auch in den Subgruppen der Früh- und Reifgeborenen gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den CRP-Werten männlicher und weiblicher Neugeborener.

## 3.2 CRP bei nicht infektiologischen neonatalen Krankheitsbildern

### 3.2.1 Verteilung erhöhter CRP-Werte

Von 690 Neugeborenen hatten 162 Kinder (23%) erhöhte CRP-Werte  $>8\text{mg/L}$ , bei 181 Kindern (26%) waren die Werte höher als 5/14/10 mg/L.

Je nach untersuchtem Cut-off Wert wurden 37% bzw. 43% der erhöhten CRP-Werte bei EOS negativen Neugeborenen beobachtet. Die Verteilungen der erhöhten CRP-Werte bezogen auf die EOS Gruppen werden in Abbildung 9 gezeigt.

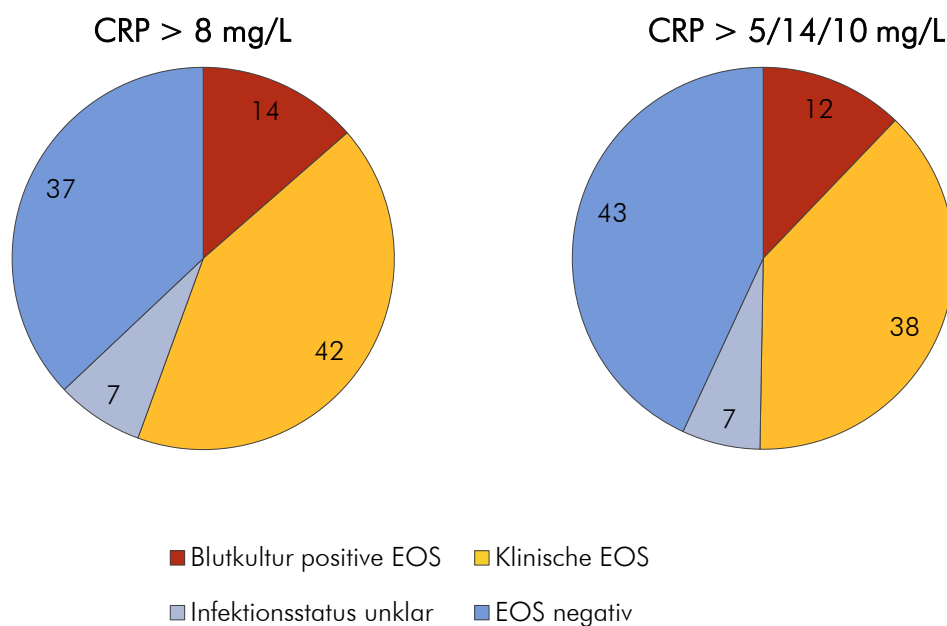


Abbildung 9: Verteilung erhöhter CRP-Werte nach EOS-Gruppen

Die mittleren CRP-Werte in der Gruppe der EOS negativen Neugeborenen waren signifikant niedriger als in der Gruppe der EOS positiven Neugeborenen (siehe auch Abbildung 8, Seite 50).

Unter den Neugeborenen mit erhöhten CRP-Werten waren die Mittelwerte in der Gruppe der EOS negativen Neugeborenen niedriger als in der Gruppe der EOS positiven Neugeborenen (bei Cut-off 8 mg/L:  $15,51 \pm 17,71$  mg/L vs.  $26,7 \pm 31,27$  mg/L, bei Cut-off 5/14/10 mg/L  $13,09 \pm 16,46$  mg/L vs.  $25,88 \pm 31,16$  mg/L).

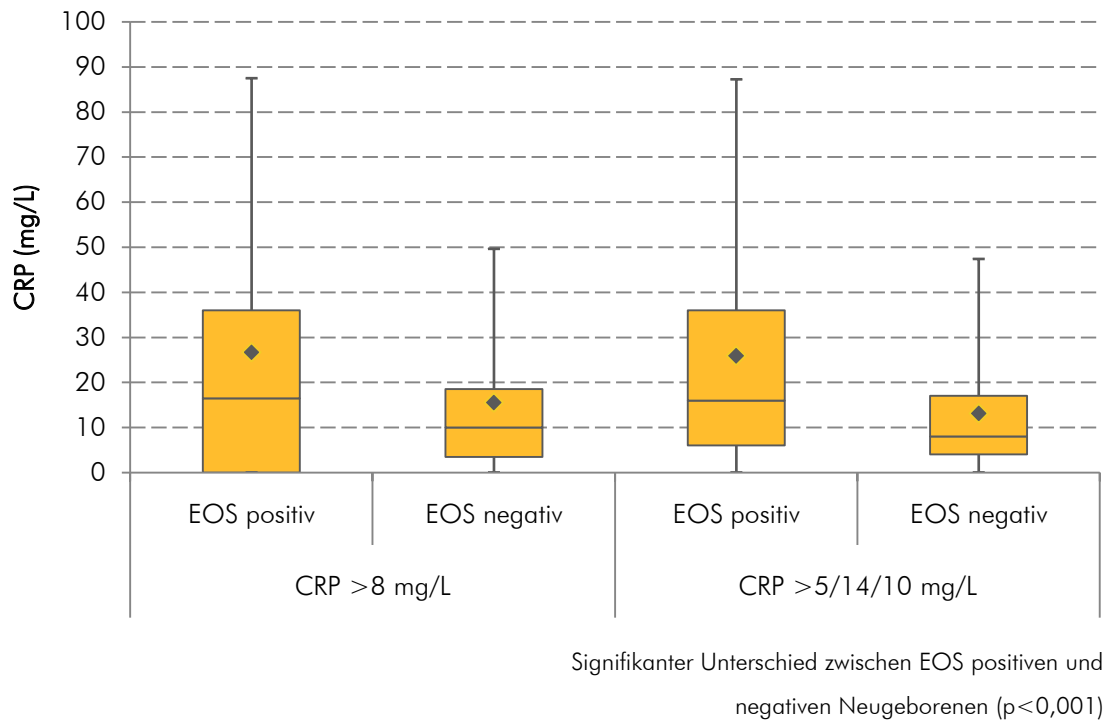


Abbildung 10: CRP-Werte EOS positiver und negativer Neugeborener mit erhöhten CRP-Werten

### 3.2.2 Korrelation mit nicht infektiologischen Krankheitsbildern

In der Gruppe der EOS negativen Neugeborenen korrelierten erhöhte CRP-Werte bei beiden Cut-off Werten signifikant mit dem Mekoniumaspirationssyndrom. Erhöhte Werte über 5/14/10 mg/L korrelierten zusätzlich mit assistierter Ventilation, Werte über 8 mg/L mit schwerem IRDS Grad III und IV und mit männlichem Geschlecht. Transient respiratory distress syndrome und verzögerte Adaptation korrelierten mit Werten unter 8 mg/L, positive präpartale Risikofaktoren mit Werten unter 5/14/10 mg/L. In der Analyse der Gruppen unterschiedlichen Gestationsalters wurde ersichtlich, dass die Korrelationen je nach Gestationsalter variierten.

Bei Reifgeborenen korrelierten erhöhte Werte des CRP mit Mekoniumaspirationssyndrom und mit männlichem Geschlecht, erhöhte Werte über 5/14/10 mg/L zusätzlich mit assistierter Ventilation. In der Gruppe der Frühgeborenen der 28. bis 37. SSW korrelierten erhöhte CRP-Werte mit schwerem IRDS Grad III und IV und mit assistierter Ventilation. In der Gruppe der Frühgeborenen unter der 28. SSW konnte keine signifikante Korrelation beobachtet werden.

CRP-Werte bis 16 mg/L konnten bei zwei Neugeborenen gemessen werden, die wegen Drogenentzug hospitalisiert waren, Werte bis 18 mg/L konnten bei Neugeborenen mit Hyperbilirubinämie, Lungenhypoplasie und spontanem Pneumothorax gemessen werden.

Tabelle 13: Korrelation verschiedener neonataler Diagnosen mit erhöhten CRP-Werten bei EOS negativen Neugeborenen

	CRP > 8 mg/L			CRP > 5/14/10 mg/L <sup>a</sup>		
	OR (95% KI)	LR (95% KI)	p-Wert	OR (95% KI)	LR (95% KI)	p-Wert
Präpartale Risikofaktoren	0,43 (0,18-1,03)	0,49 (0,22 - 1,06)	0,05	0,44 (0,2-0,95)	0,5 (0,25 - 0,98)	0,03
Missfärbiges Fruchtwasser	2,01 (0,79-5,15)	1,9 (0,82 - 4,43)	0,14	1,46 (0,58-3,69)	1,42 (0,6 - 3,34)	0,42
Asphyxie mäßig: Apgar 1: 4-6	0,98 (0,46-2,08)	0,98 (0,52 - 1,86)	0,95	1,01 (0,52-1,98)	1,01 (0,57 - 1,78)	0,97
Asphyxie schwer: Apgar 1:0-3	1,72 (0,63-4,74)	1,66 (0,65 - 4,23)	0,29	0,94 (0,31-2,78)	0,94 (0,33 - 2,64)	0,9
Verzögerte Adaptation	0,42 (0,22-0,79)	0,54 (0,33 - 0,89)	<0,01	0,7 (0,41-1,17)	0,79 (0,55 - 1,13)	0,17
TRDN, Fruchtwasseraspiration	0,25 (0,06-1,05)	0,27 (0,07 - 1,1)	0,04	0,63 (0,26-1,52)	0,66 (0,29 - 1,48)	0,3
IRDS I-II	1,22 (0,68-2,21)	1,16 (0,76 - 1,75)	0,51	1,38 (0,82-2,34)	1,26 (0,88 - 1,81)	0,22
IRDS III-IV	2,67 (1,27-5,61)	2,37 (1,27 - 4,42)	<0,01	1,39 (0,64-3,03)	1,35 (0,68 - 2,69)	0,4
PFC- Syndrom	3,7 (0,33-41,48)	3,66 (0,34 - 39,74)	0,26	2,72 (0,24-30,38)	2,7 (0,25 - 29,4)	0,4
Mekoniumaspirationssyndrom	19,86 (3,76-104,85)	18,29 (3,63 - 92,2)	<0,001	35 (4,15-295,04)	32,38 (3,95 - 265,3)	<0,001
Assistierte Ventilation <sup>b</sup>	1,86 (0,97-3,54)	1,19 (1,02 - 1,38)	0,06	2,48 (1,34-4,57)	1,27 (1,12 - 1,43)	<0,01
Männliches Geschlecht	2,32 (1,28-4,19)	1,37 (1,14 - 1,65)	<0,01	1,6 (0,97-2,64)	1,22 (1,01 - 1,47)	0,06

<sup>a</sup>für <24/24-48/48-72 Lebensstunden

<sup>b</sup>O<sub>2</sub>-Bedarf, continuous positive airway pressure Ventilation, mechanische Ventilation

Abkürzungen: OR, Odds Ratio; LR, Likelihood Ratio; KI, Konfidenzintervall.

Tabelle 14: Korrelation verschiedener neonataler Diagnosen mit erhöhten CRP-Werten bei EOS negativen Frühgeborenen &lt;28 SSW

	CRP > 8 mg/L			CRP > 5/14/10 mg/L <sup>a</sup>		
	OR (95% KI)	LR (95% KI)	p-Wert	OR (95% KI)	LR (95% KI)	p-Wert
Präpartale Risikofaktoren	n.b.	n.b.	0,14	1 (0,14-7,1)	1 (0,31 - 3,24)	1
Missfärbiges Fruchtwasser	n.b.	n.b.	0,73	n.b.	n.b.	0,65
Asphyxie mäßig: Apgar 1: 4-6	1,19 (0,09-15,04)	1,13 (0,2 - 6,17)	0,89	0,53 (0,05-5,55)	0,63 (0,1 - 3,95)	0,59
Asphyxie schwer: Apgar 1:0-3	2,88 (0,21-39,68)	2,25 (0,36 - 14,14)	0,41	1,31 (0,11-15,03)	1,25 (0,17 - 8,96)	0,83
Verzögerte Adaptation	n.b.	n.b.	0,36	1 (0,09-11,03)	1 (0,15 - 6,82)	1
TRDN, Fruchtwasseraspiration	n.b.	n.b.	0,73	n.b.	n.b.	0,65
IRDS I-II	1,19 (0,09-15,04)	1,13 (0,2 - 6,17)	0,89	4,75 (0,64-35,48)	2,5 (0,92 - 6,79)	0,11
IRDS III-IV	4 (0,32-50,23)	2 (0,76 - 5,23)	0,26	0,38 (0,04-3,87)	0,5 (0,08 - 3,08)	0,4
PFC- Syndrom	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Mekoniumaspirationssyndrom	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Assistierte Ventilation <sup>b</sup>	n.b.	1,04 (0,96 - 1,12)	0,73	n.b.	1,04 (0,96 - 1,13)	0,65
Männliches Geschlecht	n.b.	1,35 (1,08 - 1,69)	0,31	1,26 (0,12-13,59)	1,05 (0,64 - 1,72)	0,85

<sup>a</sup>für <24/24-48/48-72 Lebensstunden

<sup>b</sup>O<sub>2</sub>-Bedarf, continuous positive airway pressure Ventilation, mechanische Ventilation

Abkürzungen: n.b., nicht berechenbar.

Tabelle 15: Korrelation verschiedener neonataler Diagnosen mit erhöhten CRP-Werten bei EOS negativen Frühgeborenen von 28 bis 37 SSW

	CRP > 8 mg/L			CRP > 5/14/10 mg/L <sup>a</sup>		
	OR (95% KI)	LR (95% KI)	p-Wert	OR (95% KI)	LR (95% KI)	p-Wert
Präpartale Risikofaktoren	0,56 (0,19-1,68)	0,63 (0,25 - 1,58)	0,29	0,39 (0,13-1,16)	0,47 (0,18 - 1,2)	0,08
Missfärbiges Fruchtwasser	1,35 (0,16-11,19)	1,33 (0,17 - 10,24)	0,78	0,99 (0,12-8,16)	0,99 (0,13 - 7,67)	0,99
Asphyxie mäßig: Apgar 1: 4-6	0,69 (0,2-2,41)	0,73 (0,24 - 2,19)	0,56	0,9 (0,33-2,45)	0,91 (0,39 - 2,16)	0,84
Asphyxie schwer: Apgar 1:0-3	2,89 (0,76-10,99)	2,67 (0,81 - 8,87)	0,1	0,54 (0,07-4,2)	0,55 (0,07 - 4,05)	0,55
Verzögerte Adaptation	0,35 (0,13-0,96)	0,48 (0,21 - 1,06)	0,03	0,61 (0,28-1,31)	0,72 (0,42 - 1,24)	0,2
TRDN, Fruchtwasseraspiration	0,36 (0,05-2,73)	0,38 (0,05 - 2,68)	0,3	0,54 (0,12-2,38)	0,57 (0,14 - 2,28)	0,41
IRDS I-II	1,6 (0,71-3,59)	1,32 (0,85 - 2,06)	0,25	1,82 (0,89-3,69)	1,42 (0,97 - 2,07)	0,1
IRDS III-IV	5,36 (2,16-13,26)	3,85 (2,02 - 7,35)	<0,001	2,77 (1,14-6,72)	2,36 (1,16 - 4,81)	0,02
PFC- Syndrom	n.b.	n.b.	0,76	n.b.	n.b.	0,72
Mekoniumaspirationssyndrom	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Assistierte Ventilation <sup>b</sup>	5,28 (1,22-22,87)	1,33 (1,16 - 1,52)	0,01	2,63 (0,99-7,02)	1,23 (1,05 - 1,44)	0,05
Männliches Geschlecht	2,06 (0,87-4,9)	1,33 (1 - 1,76)	0,1	0,91 (0,45-1,83)	0,95 (0,68 - 1,34)	0,78

<sup>a</sup>für <24/24-48/48-72 Lebensstunden<sup>b</sup>O<sub>2</sub>-Bedarf, continuous positive airway pressure Ventilation, mechanische Ventilation

Tabelle 16: Korrelation verschiedener neonataler Diagnosen mit erhöhten CRP-Werten bei EOS negativen Reifgeborenen

	CRP > 8 mg/L			CRP > 5/14/10 mg/L <sup>a</sup>		
	OR (95% KI)	LR (95% KI)	p-Wert	OR (95% KI)	LR (95% KI)	p-Wert
Präpartale Risikofaktoren	0,86 (0,18-4,12)	0,86 (0,2 - 3,75)	0,85	0,65 (0,14-3,1)	0,67 (0,15 - 2,92)	0,59
Missfärbiges Fruchtwasser	1,73 (0,57-5,22)	1,59 (0,64 - 3,95)	0,33	1,27 (0,43-3,78)	1,23 (0,49 - 3,11)	0,66
Asphyxie mäßig: Apgar 1: 4-6	1,51 (0,5-4,53)	1,43 (0,56 - 3,64)	0,46	1,5 (0,53-4,22)	1,42 (0,59 - 3,44)	0,44
Asphyxie schwer: Apgar 1:0-3	0,71 (0,08-6,13)	0,72 (0,09 - 5,77)	0,76	1,36 (0,25-7,28)	1,34 (0,27 - 6,62)	0,72
Verzögerte Adaptation	0,47 (0,2-1,13)	0,61 (0,32 - 1,14)	0,09	0,75 (0,35-1,6)	0,84 (0,51 - 1,36)	0,46
TRDN, Fruchtwasseraspiration	0,15 (0,02-1,17)	0,18 (0,03 - 1,27)	0,04	0,59 (0,19-1,83)	0,63 (0,23 - 1,73)	0,36
IRDS I-II	2,67 (0,83-8,62)	2,4 (0,87 - 6,67)	0,09	1,99 (0,62-6,33)	1,86 (0,66 - 5,21)	0,24
IRDS III-IV	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
PFC- Syndrom	4,43 (0,27-72,91)	4,32 (0,28 - 67,22)	0,26	3,41 (0,21-55,78)	3,34 (0,21 - 52,18)	0,36
Mekoniumaspirationssyndrom	12,69 (2,34-68,99)	10,81 (2,2 - 53,13)	<0,001	23,63 (2,75-203,28)	20,05 (2,49 - 161,44)	<0,001
Assistierte Ventilation <sup>b</sup>	1,61 (0,72-3,63)	1,22 (0,9 - 1,65)	0,24	3,38 (1,48-7,71)	1,56 (1,22 - 2,01)	<0,01
Männliches Geschlecht	2,67 (1,15-6,23)	1,49 (1,12 - 1,98)	0,02	3,33 (1,49-7,43)	1,61 (1,23 - 2,11)	<0,01

<sup>a</sup>für <24/24-48/48-72 Lebensstunden<sup>b</sup>O<sub>2</sub>-Bedarf, continuous positive airway pressure Ventilation, mechanische Ventilation

### 3.3 Unterschiede zwischen Früh- und Reifgeborenen

Zur Studienpopulation zählten 222 (32%) Reifgeborene und 468 (68%) Frühgeborene. Die Höhe der CRP-Serumwerte korrelierte signifikant mit dem Gestationsalter ( $p < 0,001$ ). Die Verteilung der CRP-Werte bezogen auf das Gestationsalter ist in Abbildung 11 dargestellt.

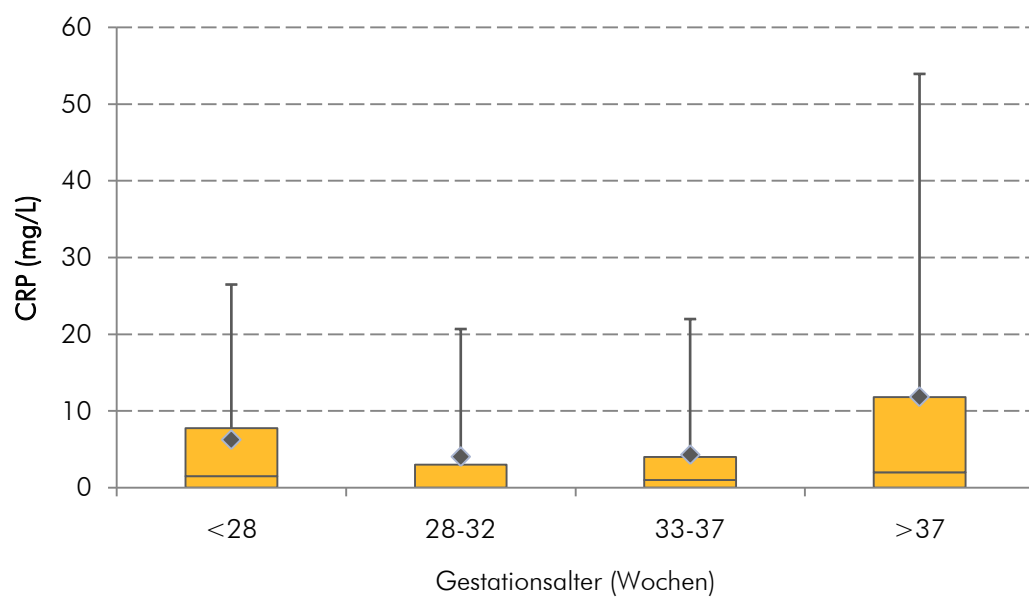


Abbildung 11: CRP-Werte Neugeborener verschiedenen Gestationsalters

### 3.3.1 CRP-Werte EOS positiver und negativer Neugeborener

Der Mittelwert der CRP-Werte unter allen Neugeborenen war  $6,89 \pm 16,71$  mg/L. Die Werte bei Frühgeborenen waren signifikant niedriger als jene bei Reifgeborenen ( $4,42 \pm 10,55$  mg/L vs.  $11,84 \pm 24,11$  mg/L,  $p < 0,001$ ). Auch in den Subgruppen der EOS positiven und negativen Neugeborenen hatten Frühgeborene niedrigere Werte (siehe Tabelle 17 und Abbildung 12).

**Tabelle 17: Mittlere CRP-Werte (mg/L) EOS positiver und negativer Früh- und Reifgeborener und obere Referenzwerte in den ersten drei Lebenstagen**

			0-72 h	0-24 h	25-48 h	49-72 h
<b>Gesamt</b>	<b>EOS negativ</b>	MW	3,2	2,2	4,9	3,9
		90. P.	8,0	5,5	12,0	10,0
		95. P.	14,2	8,3	22,7	19,2
	<b>EOS positiv</b>	MW	14,6	10,4	19,0	22,2
		90. P.	40,1	36,0	42,2	51,4
		95. P.	55,9	53,4	78,8	125,0
<b>Frühgeborene</b>	<b>EOS negativ</b>	MW	1,9	1,8	2,6	2,3
		90. P.	5,8	5,0	8,1	5,7
		95. P.	9,0	8,0	11,0	12,8
	<b>EOS positiv</b>	MW	10,0	8,6	12,1	8,1
		90. P.	34,3	26,8	36,0	31,0
		95. P.	40,4	41,3	48,4	50,0
<b>Reifgeborene</b>	<b>EOS negativ</b>	MW	5,7	3,2	9,0	6,8
		90. P.	14,9	7,3	23,6	18,0
		95. P.	26,2	13,8	49,6	26,7
	<b>EOS positiv</b>	MW	23,7	14,2	33,0	38,4
		90. P.	54,6	50,5	106,4	128,0
		95. P.	98,6	62,0	150,4	154,7

Unmessbaren Werten  $< 1$  mg/L wurde der Wert 0 mg/L zugeordnet.

Abkürzungen: P, Perzentile

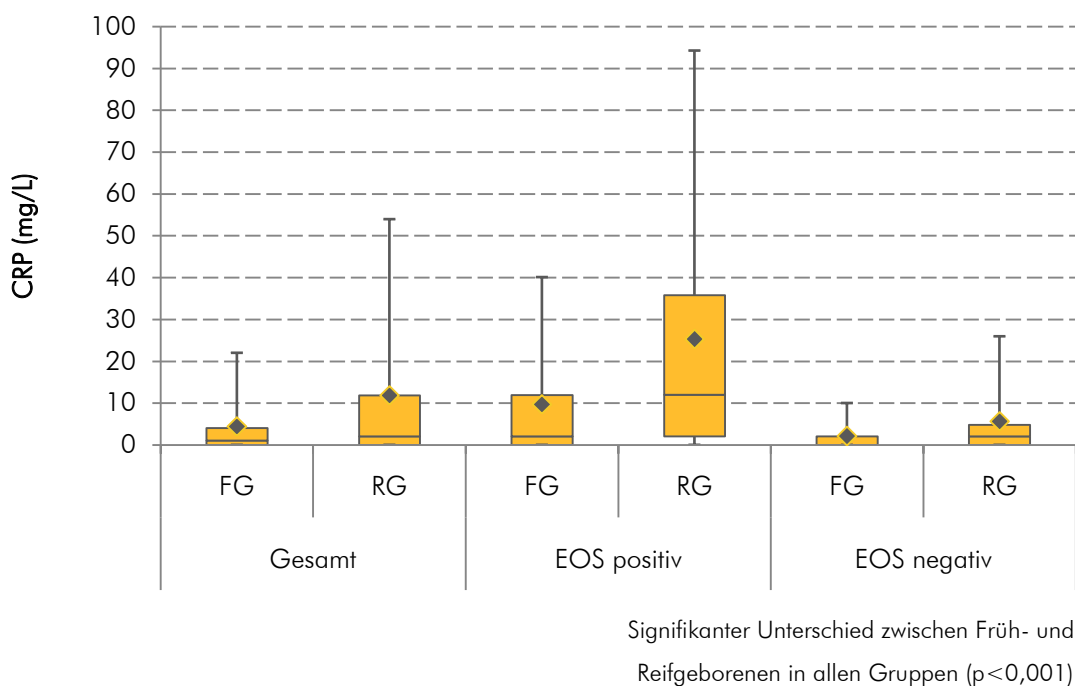


Abbildung 12: CRP-Werte EOS positiver und negativer Früh- und Reifgeborener

Die höchsten gemessenen CRP-Werte waren 139 mg/L bei Frühgeborenen und 164 mg/L bei Reifgeborenen, beide Werte wurden bei EOS positiven Kindern gemessen. In der Gruppe der EOS negativen Neugeborenen war der maximale CRP-Wert bei Frühgeborenen 32 mg/L, bei Reifgeborenen 86 mg/L. Tabelle 18 zeigt die maximal erreichten CRP-Werte bei Früh- und Reifgeborenen.

Tabelle 18: Maximaler CRP Anstieg (mg/L) bei EOS positiven und negativen Früh- und Reifgeborenen

Gestationsalter (Wochen)	EOS positiv	EOS negativ
<28	62	18
28-32	139	30
33-37	88	32
>37	164	86

Im Vergleich der Neugeborenen mit erhöhten CRP-Werten zeigten Reifgeborene häufiger einen deutlichen Anstieg als Frühgeborene. Von allen Kindern, deren CRP-

Serumwerte 5 mg/L überschritten, hatten 27% der Frühgeborenen und 47% der Reifgeborenen eine deutliche Erhöhung über 20 mg/L. Abbildung 13 zeigt die Höhe der maximal erreichten CRP-Werten im unter allen Neugeborenen mit CRP-Werten über 5 mg/L (100%).

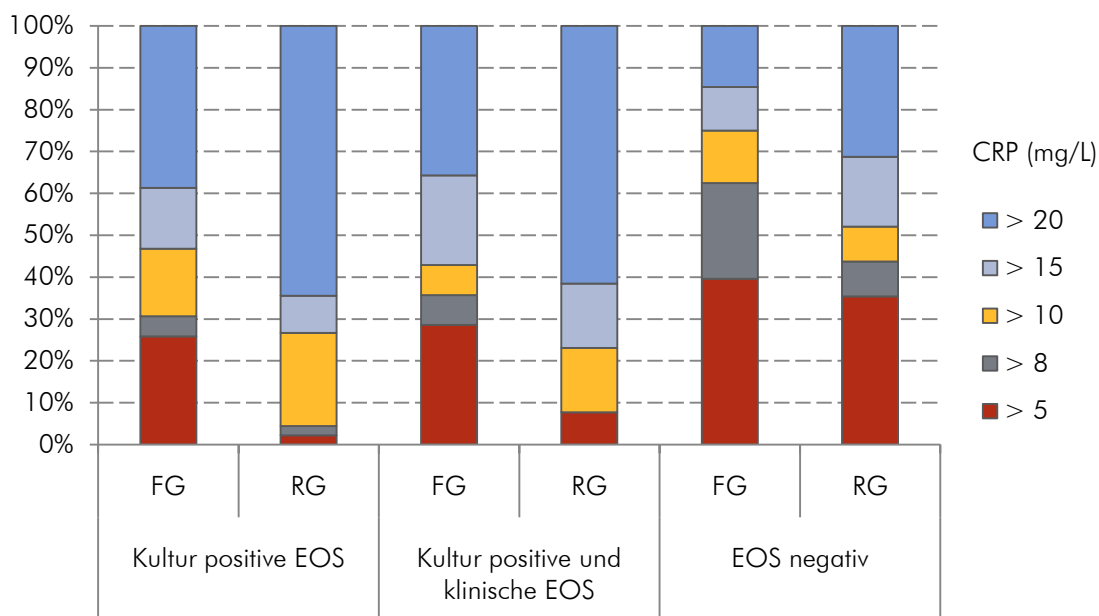


Abbildung 13: Höhe der maximal erreichten CRP-Werte bei Früh- und Reifgeborenen

### 3.3.2 Verlauf der CRP-Werte in den ersten 72 Lebensstunden

Der Verlauf der CRP-Werte wurde in drei Gruppen untersucht: In der gesamten Studienpopulation, in der Gruppe der EOS negativen Neugeborenen und in der Gruppe der EOS negativen, nicht kritisch kranken Neugeborenen. Diese wurde durch Ausschluss aller Kinder mit schwerer Asphyxie, schwerem IRDS, Mekoniumaspirationssyndrom, Syndrom der persistierenden fetalen Zirkulation und aller Kinder mit schlechtem klinischen Zustandsbild im Sinne von drei oder mehr klinischen Symptomen der Organdysfunktion (siehe Kapitel 2) gebildet.

In allen drei Gruppen waren die mittleren CRP-Werte am ersten Lebenstag am geringsten, stiegen am zweiten Lebenstag auf einen Maximalwert an und fielen am dritten Lebenstag wieder leicht ab (siehe Tabelle 19).

**Tabelle 19: Verlauf der mittleren CRP-Werte (mg/L) während der ersten 72 Lebensstunden**

	0-24 Stunden	24-48 Stunden	48-72 Stunden
EOS positive und negative Neugeborene			
Mittelwert	4,5	9,9	9,4
Median	0,0	2,0	2,0
90. Perzentile	11,8	27,4	26,0
95. Perzentile	24,0	40,0	43,5
EOS negative Neugeborene			
Mittelwert	2,2	5,0	3,9
Median	0,0	2,0	1,0
90. Perzentile	6,0	12,1	10,0
95. Perzentile	8,7	20,6	18,0
EOS negative, nicht kritisch kranke Neugeborene			
Mittelwert	1,2	2,3	1,6
Median	0,0	0,0	0,0
90. Perzentile	4,0	6,0	4,1
95. Perzentile	6,0	11,4	6,0

In allen drei Gruppen waren die CRP-Werte der Frühgeborenen insgesamt und an jedem einzelnen der ersten drei Lebenstage niedriger als bei Reifgeborenen. In den ersten 24 Stunden war dieser Unterschied in keiner der drei Gruppen statistisch signifikant.

Die Abbildungen 14 bis 16 zeigen den Verlauf der CRP-Werte bezogen auf Früh- und Reifgeborene in der gesamten Studienpopulation, in der Gruppe der EOS negativen und in der Gruppe der EOS negativen, nicht kritisch kranken Neugeborenen.

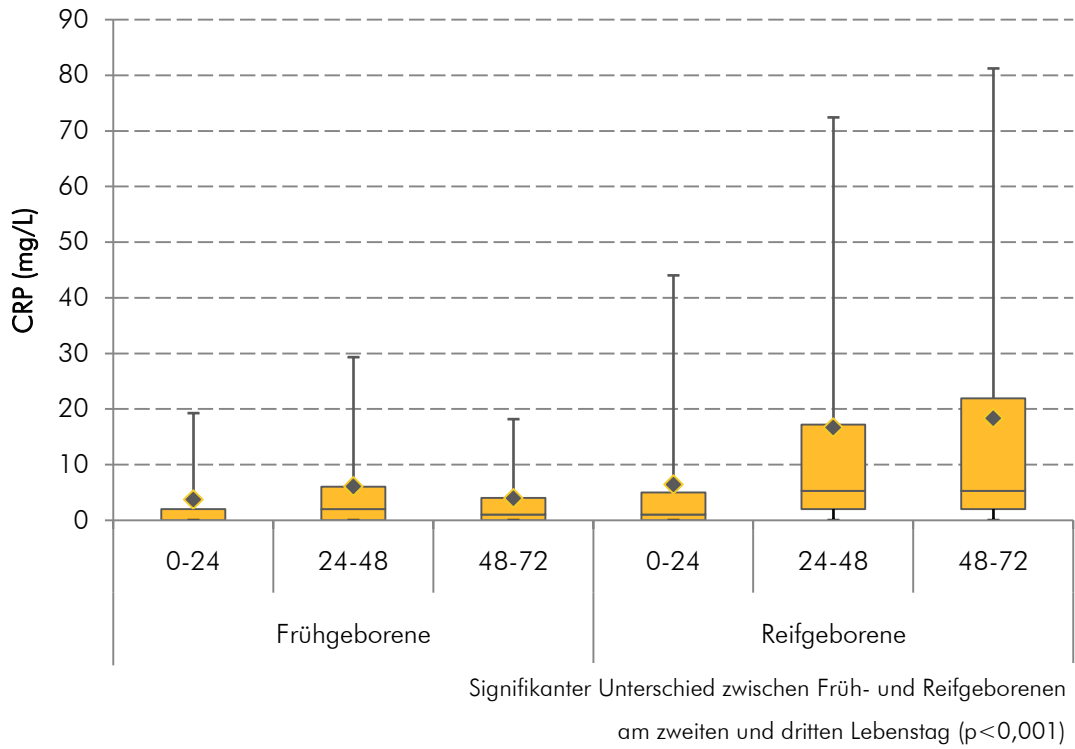


Abbildung 14: Verlauf der CRP-Werte Früh- und Reifgeborener in den ersten 72 Lebensstunden

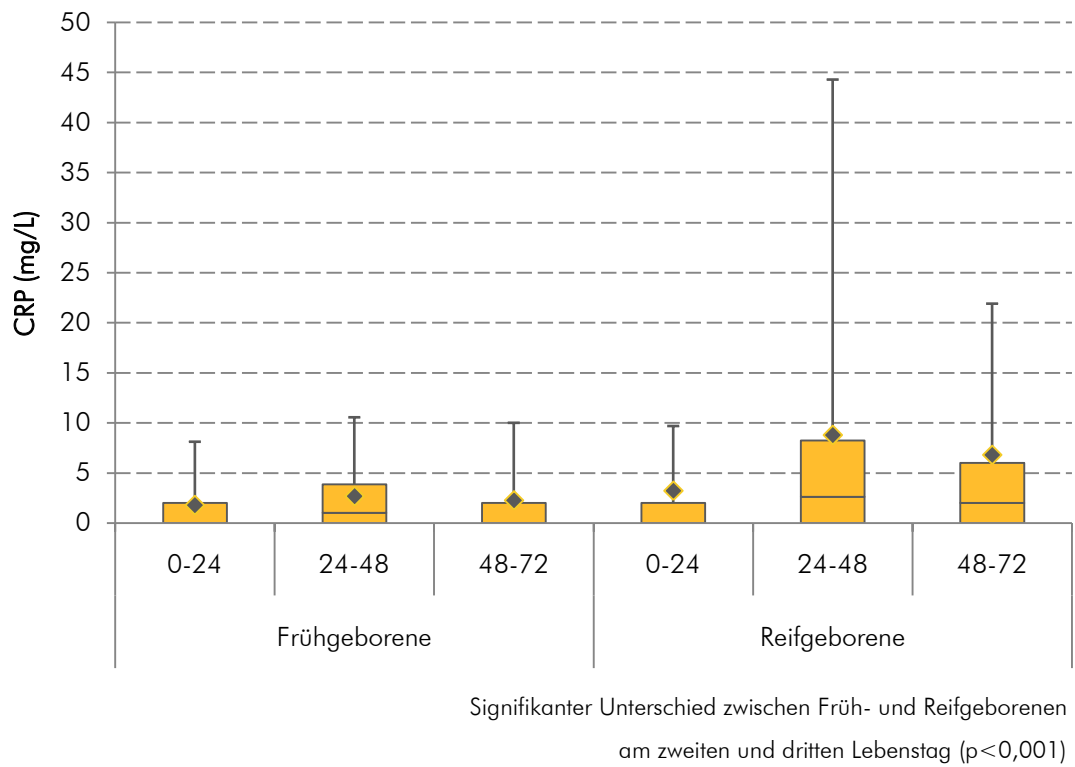


Abbildung 15: Verlauf der CRP-Werte EOS negativer Früh- und Reifgeborener in den ersten 72 Lebensstunden

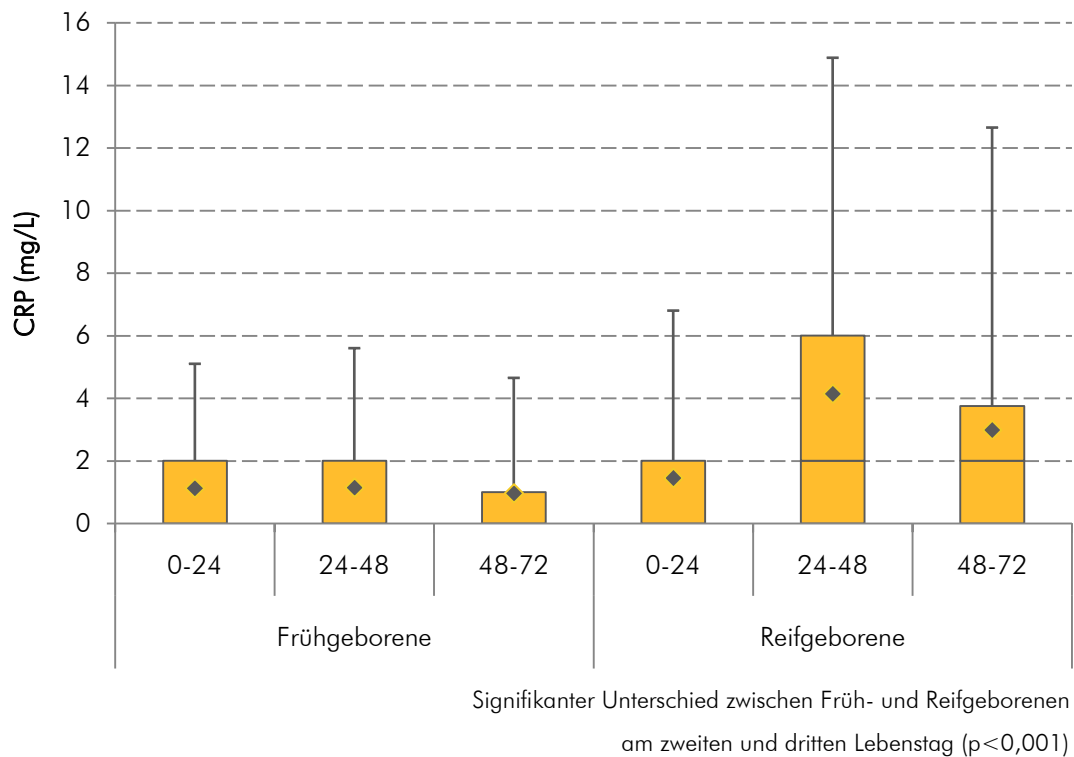


Abbildung 16: Verlauf der CRP-Werte EOS negativer, nicht kritisch kranker Früh- und Reifgeborener in den ersten 72 Lebensstunden

### 3.3.3 Geschlechterspezifische Unterschiede

Unterschiede zwischen den CRP-Werten männlicher und weiblicher Neugeborener wurden in der gesamten Studienpopulation untersucht, sowie in den Subgruppen früh- und reifgeborener EOS positiver und EOS negativer Neugeborener. Signifikant höhere Werte bei männlichen Neugeborenen konnten allein in der Gruppe der EOS negativen Reifgeborenen beobachtet werden (7,7 bzw. 3,2 mg/L,  $p=0,04$ ).

Abbildung 17 zeigt die CRP-Werte männlicher und weiblicher EOS positiver und negativer Neugeborener.

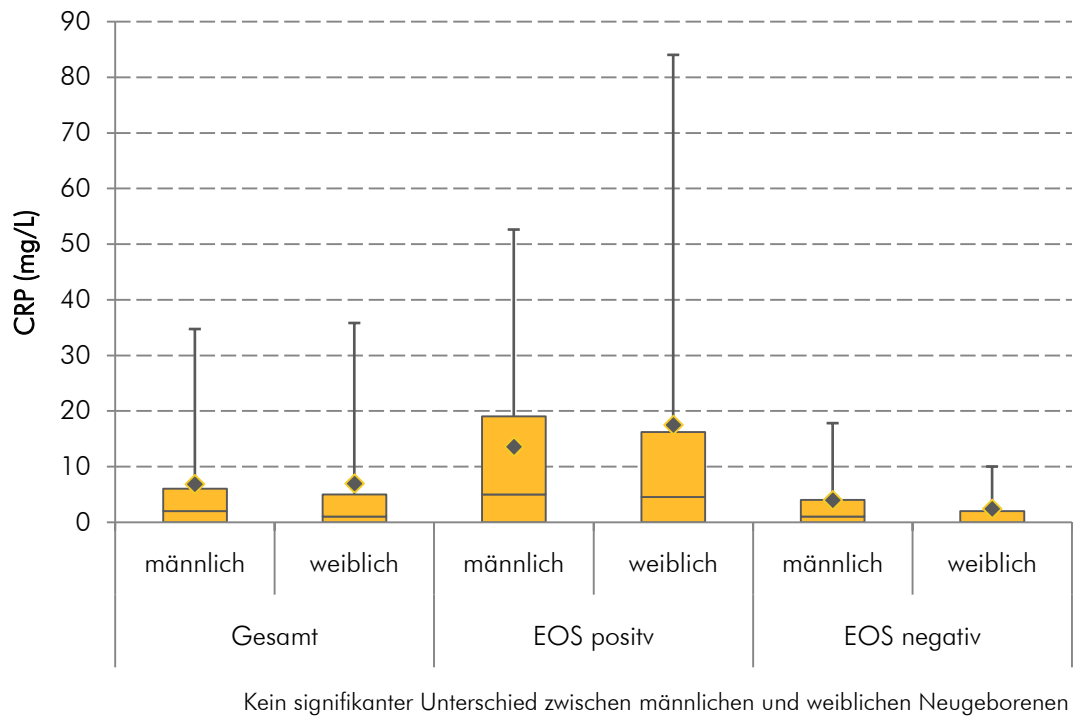


Abbildung 17: CRP-Werte männlicher und weiblicher Neugeborener

## 4 Diskussion

---

### 4.1 CRP und EOS

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass das CRP ein hilfreicher Parameter in der Diagnostik der EOS ist, dass der Parameter aber auch bei anderen Krankheitsbildern im selben Lebensalter erhöht sein kann. Als Infektionsparameter war das CRP bei Reifgeborenen und nach den ersten 24 Lebensstunden besser geeignet.

#### 4.1.1 Zeitpunkt und Anzahl der CRP Bestimmungen

Die Sensitivität des CRP war in den ersten 24 Lebensstunden am niedrigsten (in der Diagnostik der Kultur positiven EOS 58% bis 70%, je nach Cut-off Wert) und stieg bei Zunahme der Werte des zweiten und dritten Lebenstages auf 67% bis 82%. Durch die verzögerte Steigerung der hepatischen Synthese ist eine Erhöhung der Serumwerte nämlich erst einige Stunden nach Beginn der Infektion messbar. Die niedrige Sensitivität zu Beginn der Infektion führte bereits früher zur Kritik am CRP, da dadurch eine Infektion in der frühen Krankheitsphase nicht sicher diagnostiziert oder ausgeschlossen werden kann.<sup>101</sup> Da die CRP-Werte aber 24 bis 48 Stunden nach Beginn einer Infektion regelmäßig erhöht sind, schlugen Philip<sup>148</sup> und später andere<sup>149,150,151,152</sup> vor, dass serielle Bestimmungen genutzt werden können, um vor allem jene Kinder zu identifizieren, die nicht an einer bakteriellen Infektion erkrankt sind. Verschiedene andere Autoren beschrieben eine Verbesserung der Sensitivität bei serieller CRP Bestimmung 12 bis 48 Stunden nach der initialen Bestimmung.<sup>101,103,153</sup> Pourcyrus et al.<sup>103</sup> berichteten, dass die Sensitivität von anfänglichen 54% durch zwei weitere CRP Bestimmungen im Abstand von 12 Stunden auf 74% gesteigert werden konnte. Benitz et al.<sup>101</sup> berichteten von einer Steigerung der Sensitivität von anfänglichen 35% im Rahmen des initialen Sepsis Work-ups auf 97,8% durch die zusätzliche CRP Bestimmung an den beiden darauffolgenden Tagen. Auch in der vorliegenden Studie

waren die gesammelten CRP-Werte der ersten drei Lebenstage der einzelnen Bestimmung am ersten Lebenstag überlegen. In der Diagnostik der Kultur positiven EOS stieg die Sensitivität beim Cut-off Wert von 8 mg/L von 61% auf 67%, die Spezifität von 74% auf 88%. Die AUC lag am ersten Lebenstag bei 0,755, an den gesamten ersten drei Lebenstagen bei 0,842. Somit konnten wir in dieser Studie die Meinung bestätigen, dass eine serielle Bestimmung der CRP-Serumwerte Vorteile bringt gegenüber einer einzelnen, frühen Bestimmung bringt.

#### 4.1.2 Falsch negative CRP-Werte

Die Rate der falsch negativen CRP-Werte lag in der Gruppe der Kultur positiven EOS nach drei Tagen je nach Cut-off Wert bei 18% bis 33%, in der Gruppe der Kultur und klinisch positiven EOS bei 36% bis 46%. Ein Teil der falsch negativen Werte stammt von Kindern, bei denen eine Bestimmung der CRP-Serumwerte nur am ersten Lebenstag bzw. beim initialen Sepsis Work-up stattfand. In diesen Fällen waren entweder die Resultate der Blutkulturen positiv, bevor ein zweiter CRP-Wert bestimmt wurde, die Infektion wurde durch andere Laborparameter bestätigt oder der klinische Verlauf war eindeutig genug, um auf eine weitere CRP Bestimmung verzichten zu können. In einigen Fällen wurde die Sepsisevaluierung erst am dritten Lebenstag durchgeführt und die folgenden Laborergebnisse waren nicht in der Datenbank verfügbar. Die in dieser Studie berechneten Sensitivitäten sind also nicht als absolute Werte zu betrachten, denn es ist möglich, dass die CRP-Werte bei einigen Kindern innerhalb der ersten 72 Lebensstunden zwar erhöht waren, aber nicht gemessen wurden. Buck et al. erklärten bereits früher, dass der Zeitpunkt der Blutabnahme für die Bestimmung der Sensitivität des CRP wichtig ist.<sup>154</sup> Manche Autoren beschrieben auch eine Infektion durch nur mild pathogene Erreger als Ursache für höhere Raten an falsch negativen CRP-Werten.<sup>154,155</sup> Außerdem wurde beschrieben, dass bei Neugeborenen mit fulminanter bakterieller Sepsis nur eine geringgradige Erhöhung des CRP möglich ist, wenn die Infektion mit schwerer Granulozytopenie assoziiert ist.<sup>156</sup> Durch eine höhere Zahl serieller Bestimmungen und ein besseres Timing der Abnahme hätte die Sensitivität in dieser

Studie vielleicht noch gesteigert werden können, eine optimale Sensitivität kann mit dem CRP allein aber nicht erreicht werden.<sup>101</sup>

### 4.1.3 Vergleich der Cut-off Werte

Der Youden Index berechnet, bei welchem Cut-off Wert die Summe aus Sensitivität und Spezifität am höchsten ist. Das bedeutet, dass der dadurch errechnete Cut-off Wert nicht in jedem Fall der beste ist, denn dieser hängt von den jeweiligen Anforderungen ab. In der Diagnostik der Early Onset Sepsis wird einer hohen Sensitivität mehr Bedeutung beigemessen, als einer hohen Spezifität, da es eher akzeptiert ist, ein nicht infiziertes Kind als falsch positiv zu klassifizieren und zu behandeln, als ein infiziertes Kind zu übersehen. Der in dieser Studie berechnete Cut-off Wert von 5,75 mg/L lag deutlich unterhalb der üblichen Werte zwischen 8 mg/L und 10 mg/L. In der Diagnostik der Blutkultur positiven EOS konnte damit die Sensitivität gesteigert werden (67% -> 82%), im Gegenzug sanken Spezifität und positiv prädiktiver Wert (88% -> 81% bzw. 27% -> 22%), der negativ prädiktive Wert blieb praktisch identisch (98% -> 99%). Besonders bei Frühgeborenen verbesserte ein niedrigerer Cut-off die Sensitivität (53% -> 74%) ohne viel an Spezifität zu verlieren (91% -> 86%).

Als, nach unserem Wissen, erste Studie untersuchten wir die Anwendung der Referenzwerte von Chiesa et al.<sup>100</sup> als Cut-off Werte in der EOS Diagnostik. Wir erwarteten, dass diese, da sie den physiologischen Verlauf des CRP in den ersten Lebenstagen widerspiegeln, einem stabilen Cut-off Wert überlegen sind. Überraschenderweise waren Sensitivität und Spezifität praktisch gleich dem Cut-off Wert von 8 mg/L, die Likelihood Ratio war sogar leicht niedriger (4,26 vs. 5,54 in der Diagnostik der Blutkultur positiven EOS). Im Vergleich zum Cut-off Wert von 5,75 mg/L war die Sensitivität niedriger (67% vs. 82%) und die Spezifität nur geringgradig höher (84% vs. 81%). Da Chiesa et al. die Referenzwerte an einer Gruppe von Reifgeborenen und späten Frühgeborenen nach der 35. SSW bestimmt hatten<sup>100</sup>, nahmen wir an, die Anwendung an Frühgeborenen könnte das Ergebnis verschlechtern. Doch auch in der Gruppe der Reifgeborenen waren Sensitivität und Spezifität beinahe identisch mit dem Cut-off Wert 8 mg/L bzw. die Sensitivität deutlich geringer und die Spezifität nur

geringgradig höher verglichen mit dem Cut-off Wert 5,75 mg/L. In der Annahme, die Referenzwerte von Chiesa et al. würden sich aufgrund von Unterschieden im Patientenkollektiv oder anderen, unbekanntem Umständen zu sehr von jenen in dieser Patientengruppe unterscheiden, führten wir zusätzlich eine Berechnung von Sensitivität und Spezifität mit den oberen Referenzwerten aus dieser Studie als Cut-off durch (90. und 95. Perzentilen der CRP-Werte der EOS negativen Neugeborenen und der nicht kritisch kranken EOS negativen Neugeborenen, siehe Tabelle 19, Seite 62). Eine Überlegenheit gegenüber den Werten von Chiesa et al. zeigte sich nur bei den Cut-off Werten 4/6/4 mg/L (90. Perzentile der nicht kritisch kranken EOS negativen Kinder), die eine Sensitivität von 76% und eine Spezifität von 77% erreichten.

Der Vergleich der Cut-off Werte in der Diagnostik der Kultur und klinisch positiven EOS ist nur eingeschränkt bewertbar, da ein erhöhtes CRP über 8 mg/L Teil der Definition der klinischen Sepsis war.

Im Allgemeinen gab es bei Reifgeborenen keine deutlichen Unterschiede zwischen den drei angewandten Cut-off Werten, bei Frühgeborenen war der niedrige Cut-off Wert von 5,75 mg/L den beiden anderen überlegen mit einer deutlich höheren Sensitivität und nur geringgradig niedrigerer Spezifität. Insgesamt deuten die Ergebnisse dieser Studie darauf hin, dass bei Reifgeborenen feine Unterschiede im Cut-off Wert keine deutlichen Auswirkungen auf dessen Eigenschaften in der Infektionsdiagnostik haben, da die Kinder dieser Altersklasse, die auf einen infektiologischen Stimulus mit einem Anstieg reagieren, in einem hohen Prozentsatz einen deutlichen Anstieg zeigen (96% über 10 mg/L, 64% über 20 mg/L). Bei Frühgeborenen hingegen ist der Teil der Patienten, der eine deutliche Erhöhung zeigt, geringer (69% über 10 mg/L, 39% über 20 mg/L), weshalb ein niedrigerer Cut-off Wert Vorteile in der Diagnostik bringen kann.

Auf weitere Unterschiede zwischen Früh- und Reifgeborenen wird im Kapitel 4.3 im Detail eingegangen.

## 4.2 CRP bei nicht infektiologischen neonatalen Krankheitsbildern

In dieser Studie konnten wir zeigen, dass bestimmte nicht infektiologische Diagnosen die CRP-Serumwerte Neugeborener erhöhen können. Mekoniumaspirationssyndrom und männliches Geschlecht korrelierten bei Reifgeborenen mit erhöhten CRP-Werten, schweres IRDS Grad III und IV und assistierte Ventilation bei Frühgeborenen.

Bereits in früheren Studien wurde die Korrelation des CRP mit verschiedenen Krankheitsbildern bei Sepsis negativen Neugeborenen untersucht.<sup>103,152,157,158,159,160,161,162,163,164,165</sup> Die Mehrzahl dieser Untersuchungen wurden in den 1980ern und 1990ern durchgeführt, die Patientenzahlen lagen in den meisten Fällen bei unter 200. In dieser Studie untersuchten wir eine vergleichsweise große Zahl an Patienten. Da viele Krankheitsbilder der Neonatalperiode eng mit dem Gestationsalter verknüpft sind, führten wir die Berechnungen zusätzlich getrennt für Gruppen unterschiedlichen Gestationsalters durch.

### 4.2.1 Korrelationen erhöhter CRP-Werte bei Reifgeborenen

Mekoniumaspirationssyndrom wurde nur bei reifen Neugeborenen diagnostiziert und korrelierte signifikant mit einer Erhöhung der CRP-Werte bis 86 mg/L. Mekonium besteht hauptsächlich aus Wasser und beinhaltet auch intestinale, epitheliale Zellen, Lanugo, Schleim und intestinale Sekretionen wie Gallensaft.<sup>166</sup> Im Fruchtwasser ist es selten vor der 34. SSW zu sehen.<sup>167</sup> Die Umstände, durch die es zum Absetzen von Mekonium in utero kommt, sind nicht restlos geklärt. Als Ursachen diskutiert werden Hypoxie, Kompression des Kopfes oder der Nabelschnur und mütterliche Risikofaktoren die zu einer uteroplazentaren Insuffizienz führen (Hypertonie, Präeklampsie/ Eklampsie, chronische Lungen- und Herzerkrankungen, Diabetes mellitus, intrauterine Wachstumsretardierung, starker Nikotinabusus und Übertragenheit).<sup>167,168,169</sup> Durch den verminderten Sauerstoffpartialdruck in der Nabelvene und die fetale Asphyxie kommt es zur verstärkten Durchblutung akut lebensnotwendiger Organe wie Herz und Hirn und zur Minderdurchblutung anderer Organe wie dem Darm. Dadurch kommt es zur

intestinalen Hyperperistaltik und zum Erschlaffen des rektalen Sphinkters. Durch die Hypoxie setzen beim Feten Atembewegungen ein und es kommt zur Aspiration.<sup>170</sup> Nach der Aspiration von Mekonium werden die Symptome durch die Surfactant-Dysfunktion und durch eine Obstruktion der Atemwege verursacht. Daraus resultieren einerseits Atelektasen und andererseits fokale Überblähungen der Alveolen.<sup>167,171</sup> Enzyme, Gallensalze und Fette im Mekonium irritieren außerdem die Atemwege und das Lungenparenchym und verursachen eine chemische Pneumonie, die bereits bald nach der Geburt beginnen kann.<sup>152,167</sup> In früheren Studien wurden Erhöhungen des CRP nach klinisch stummer Aspiration von Mekonium<sup>160</sup> und nach Mekoniumaspirationssyndrom beschrieben.<sup>152,157,158,159</sup> In dieser Studie konnten wir keine Korrelation des CRP mit klinisch stummer Aspiration beobachten, die Korrelation mit einem Mekoniumaspirationssyndrom war jedoch hochsignifikant ( $p < 0,001$ ). Erhöhte Werte des CRP korrelierten bei Reifgeborenen zusätzlich mit männlichem Geschlecht. Auch nach Ausschluss der Neugeborenen mit Mekoniumaspirationssyndrom, das bei männlichen Patienten häufiger beobachtet wurde als bei weiblichen (in 5 bzw. 2 Fällen), war die Korrelation statistisch signifikant ( $p = 0,04$  für  $\text{CRP} > 8 \text{ mg/L}$  bzw.  $p < 0,01$  für  $\text{CRP} > 5/14/10 \text{ mg/L}$ ). Dieser Zusammenhang konnte jedoch nur in der Gruppe der Reifgeborenen beobachtet werden. Auch in der Analyse mit dem Mann-Whitney Test fand sich in keiner anderen EOS-Gruppe oder Altersklasse ein signifikanter Unterschied zwischen den Geschlechtern. Aus diesem Grund und weil keine Erklärung für die unterschiedlichen CRP-Werte in dieser einen Gruppe gegeben werden konnten, kann eine zufällige Anordnung der erhöhten Werte oder eine Verfälschung durch eine andere Erkrankung oder Diagnose, die nicht untersucht wurde, als Grund für den Zusammenhang nicht ausgeschlossen werden.

#### 4.2.2 Korrelationen erhöhter CRP-Werte bei Frühgeborenen

Bei Frühgeborenen der 28. bis 37. SSW ohne Hinweis auf eine bakterielle Infektion korrelierten erhöhte Werte des CRP bis  $32 \text{ mg/L}$  mit IRDS Grad III und IV und mit assistierter Ventilation. Assistierte Ventilation korrelierte jedoch nicht mit erhöhten CRP-Werten, wenn die Fälle von schwerem IRDS ausgeschlossen wurden. Klinisch sind die

Symptome des IRDS nicht von den respiratorischen Symptomen, zu denen es im Rahmen einer systemischen Infektion kommen kann, zu unterscheiden. Beiden Fällen liegt ein Mangel an Surfactant zugrunde. Während es im Rahmen der EOS in erster Linie zu einer Inaktivierung des bereits produzierten Surfactants kommt, ist der Ursprung des IRDS ein primärer Mangel.<sup>172</sup> Dadurch sinkt die Compliance der Lunge, es kommt zum endexpiratorischen Kollaps der Alveolen und dadurch zu vermehrter Atemarbeit. Durch Atelektasen kommt es zu einem Ventilations-Perfusions-Missverhältnis und zum Rechts-Links-Shunt. Das IRDS ist eine Erkrankung des Frühgeborenen und die Inzidenz sinkt mit steigendem Gestationsalter.<sup>172,173,174</sup> Als kausale Therapie steht die endotracheale Verabreichung von synthetischem oder natürlichem Surfactant zur Verfügung. Durch die Surfactant-Therapie konnte die Pneumothoraxrate, die Inzidenz der bronchopulmonalen Dysplasie und die Mortalitätsrate deutlich gesenkt werden, wobei natürliches Surfactant dem synthetischen überlegen ist.<sup>175,176,177</sup> Vorhergehende Studien bestätigen, dass ein unkompliziertes IRDS keinen Einfluss auf die CRP-Werte Neugeborener hat.<sup>158,161,162</sup> Es wurden jedoch Erhöhungen des CRP nach Gabe von exogenem Surfactant beschrieben, besonders nach natürlichem porcinen Surfactant.<sup>178,179</sup> An der Neugeborenen-Intensivstation der Kinderklinik Graz wird ausschließlich dieses verwendet. Ein Zusammenhang der erhöhten CRP-Werte mit der Verabreichung von Surfactant ist sehr wahrscheinlich. In der Gruppe der Frühgeborenen <28 SSW konnte keine Korrelation der untersuchten Diagnosen mit erhöhten CRP-Werten beobachtet werden. Drei Kinder zeigten erhöhte Werte bis 18 mg/L, zwei davon zeigten zugleich ein schweres IRDS. Die verminderte Möglichkeit einer adäquaten CRP Antwort in dieser Altersgruppe könnte vielleicht eine mögliche Korrelation mit IRDS und Surfactantgabe maskieren.

Auch wenn die Serum CRP-Werte in einzelnen Fällen von Asphyxie bis auf 50 mg/L erhöht waren, konnte keine signifikante Korrelation beobachtet werden. In vorhergehenden Studien wurden dieselben Ergebnisse beschrieben.<sup>160,161,163,164</sup> Ebenso konnten wir nur einzelne Fälle von milder CRP Erhöhung bei Hyperbilirubinämie beobachten. Frühere Studien beschrieben keine signifikante Korrelation.<sup>161,162</sup>

### 4.3 Unterschiede zwischen Früh- und Reifgeborenen

Ziel dieser Studie war es unter anderem, Unterschiede der Serum CRP-Werte zwischen Früh- und Reifgeborenen zu untersuchen. Die Ergebnisse zeigten, dass Frühgeborene niedrigere CRP-Werte haben als Reifgeborene, dass der physiologischen Anstieg des CRP in den ersten Lebenstagen milder ausfällt und dass sie auf eine Infektion mit einem mäßig starken CRP Anstieg reagieren.

Auch wenn das CRP schon lange als Infektionsparameter bekannt ist, ist das Wissen über die Korrelation mit dem Gestationsalter gering. In einer Pilotstudie von Turner et al.<sup>180</sup> konnte bei Frühgeborenen nach einem proinflammatorischen Stimulus ein geringerer Anstieg der Serum CRP-Werte beobachtet werden als bei Reifgeborenen. In dieser Studie konnten wir dieses Ergebnis mit einer niedrigeren mittleren und maximalen CRP Antwort auf eine Infektion bei Frühgeborenen gegenüber Reifgeborenen bestätigen. Interessanterweise ist die Zahl der Untersuchungen zu dieser Thematik sehr begrenzt. In einigen Studien wurde zwar die CRP Antwort bei Früh- und Reifgeborenen untersucht<sup>10,149,181,182</sup>, das Verhältnis zwischen den CRP-Werten und dem Gestationsalter wurde aber nie detaillierter analysiert. Somit ist diese Studie, nach unserem aktuellen Wissensstand, die umfangreichste dieser Art. Wir konnten zeigen, dass das CRP als Infektionsparameter im Allgemeinen bei Frühgeborenen die schlechteren Eigenschaften zeigt, als bei Reifgeborenen. Die AUC in der ROC Analyse war niedriger und die Sensitivität unabhängig vom Cut-off Wert geringer. Die Frühgeborenen reagierten auf eine Infektion mit einem niedrigeren Anstieg der Serumwerte ( $p < 0,001$ ). Insgesamt wurden erhöhte Werte im Rahmen einer Infektion nicht nur weniger häufig gemessen als bei Reifgeborenen, auch die maximal erreichten Werte waren geringer. Auffallend war dabei, dass Reifgeborene, die auf die Infektion mit einem Anstieg reagierten, in den meisten Fällen deutlich erhöhte Serumwerte zeigten (in 4% unter 10 mg/L, in 64% über 20 mg/L). Frühgeborene hingegen reagierten häufiger mit einem geringgradigen Anstieg (in 31% unter 10 mg/L, in 39% über 20 mg/L). Aus diesem Grund scheint ein niedrigerer Cut-off Wert des CRP in der Infektionsdiagnostik bei Frühgeborenen von Vorteil zu sein. Auch die Erhöhung der CRP-Serumwerte durch nicht infektiologische Stimuli war bei Frühgeborenen geringer

gegenüber Reifgeborenen. Als Ursachen für diese Unterschiede zwischen Früh- und Reifgeborenen kommen Unterschiede im Erregerspektrum bei Kindern unterschiedlichen Gestationsalters oder im klinischen Management - Frühgeborene werden z.B. in den ersten postpartalen Stunden häufiger antibiotisch therapiert - in Frage. Die wahrscheinlichste Ursache liegt aber in den Veränderungen des Immunsystems während der weiteren Entwicklung des ungeborenen Kindes.<sup>180</sup>

In unserer Studie konnten wir, früheren Analysen folgend<sup>100</sup>, bestätigen, dass das CRP bei Sepsis negativen Neugeborenen in den ersten Lebenstagen auf ein Vielfaches des Ausgangswertes ansteigen kann. Es zeigte am zweiten Lebenstag den Maximalwert und fiel in der Folge am dritten Lebenstag wieder langsam ab. Wir konnten auch nachweisen, dass der physiologische Anstieg der CRP-Werte in den ersten Lebenstagen bei Frühgeborenen milder ausfällt als bei Reifgeborenen. Diese Ergebnisse werden von einer kürzlich als Abstract veröffentlichten Studie bestätigt, in der gezeigt wurde, dass der physiologische Anstieg bei Neugeborenen mit extrem niedrigen Geburtsgewicht milder verläuft mit niedrigeren Serumwerten und einem späteren Anstieg.<sup>183</sup> Der Zeitpunkt von Anstieg und Abfall der Serumwerte unterschied sich in unserer Studie nicht zwischen Neugeborenen unterschiedlicher Altersgruppen. Die Ergebnisse können, auf die Interpretation von Laborergebnissen angewandt, hilfreich sein in der frühen Diagnostik einer EOS.

In dieser Studie konnten wir keine signifikanten geschlechterspezifischen Unterschiede der CRP-Werten beobachten. Dieses Ergebnis traf auch in allen Subgruppen EOS positiver und negativer früh- und reifgeborener Neugeborener zu, außer in der Gruppe der EOS negativen Reifgeborenen. Da die statistische Signifikanz relativ schwach war ( $p=0,04$ ) und sie nur in dieser Subgruppe beobachtet werden konnte, ist eine zufällige Verteilung der Ergebnisse denkbar. Insgesamt war die Zahl der männlichen Patienten an der Intensivstation höher als die der weiblichen (380:310). Auch die Zahl der Neugeborenen mit EOS, Mekoniumaspirationssyndrom, leichtem und schwerem IRDS, präpartalen Risikofaktoren, schwerer und mäßiger Asphyxie und die Zahl der Frühgeborenen waren bei männlichen Neugeborenen höher als bei weiblichen. Diese Beobachtungen stimmen mit Ergebnissen früherer Studien überein, in denen sowohl beim Feten, als auch beim Neugeborenen männliches Geschlecht mit erhöhter

Morbidität und Mortalität assoziiert war.<sup>184,185</sup> Trotz dieser Unterschiede ist uns keine andere Studie bekannt, die Unterschiede zwischen CRP-Werten Neugeborener unterschiedlichen Geschlechts zeigen konnte.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse dieser Studie, dass das Gestationsalter in der Interpretation von Laborergebnissen berücksichtigt werden sollte, da Frühgeborene niedrigere Normwerte zeigten und auf eine Infektion häufiger mit einem milden oder keinem Anstieg der CRP-Serumwerte reagierten.

#### 4.4 Limitationen

Als retrospektive Studie ist das Evidence Based Medicine Level unbestritten niedriger als bei prospektiven Analysen. Die Sammlung und Auswertung der Daten wurde jedoch mit großer Sorgfalt durchgeführt: Nach Fertigstellung der Datenbank wurden die Informationen zu jedem einzelnen Kind auf ihre Richtigkeit hin überprüft, trotzdem können einzelne Fehler in der Dokumentation, Sammlung und Auswertung nie ausgeschlossen werden. Insgesamt spricht eine Einschlussquote von 97% aller Kinder mit dokumentierten CRP-Werten aber für eine sehr gute klinische Dokumentation.

Im Moment existiert keine Standard-Sepsis-Definition für Neugeborene. Aus diesem Grund testeten wir das CRP als diagnostischen Marker gegen den momentanen Goldstandard, die Blutkultur. Diese hat aber bekanntermaßen eine niedrige Sensitivität<sup>81,82,83,186</sup>, die Abnahme beim Neugeborenen kann schwierig sein und ein beachtlicher Teil der Kulturen ist kontaminiert oder negativ.<sup>4,82,86</sup> Aus diesem Grund testeten wir das CRP zusätzlich gegen eine klinische Definition der EOS, eine Kombination aus klinischen Zeichen mit prädefinierten Risikofaktoren und Laborparametern, die zu den am meisten gebrauchten und akzeptierten in der Neonatologie gehört.

Ein Nachteil dieser Definition in dieser Studie ist sicherlich, dass das CRP selbst ein Teil davon ist. Dieses gehört an der Neugeborenen-Intensivstation in Graz zusammen mit hämatologischen Parametern zu den Standardparametern, die bei Sepsisverdacht bestimmt werden. Interleukine oder PCT wurden nur in einzelnen Fällen untersucht. Weil die Aussagekraft hämatologischer Indizes in der Sepsisdiagnostik eingeschränkt

ist,<sup>2,13,91,94</sup> haben wir uns dazu entschlossen, das CRP als zusätzlichen Parameter in die Definition einzubeziehen, um die Zahl der falsch klassifizierten Neugeborenen auf einem Minimum zu halten. Die diagnostische Genauigkeit des CRP wurde dann getrennt für die Blutkultur positive EOS und für die Kultur und klinisch positive EOS untersucht.

Die Bestimmung der Normwerte des CRP würde im besten Fall durch die tägliche Bestimmung der Serumwerte einer großen Population gesunder Früh- und Reifgeborener erfolgen. Die tägliche Blutabnahme war in dieser Studie nicht immer möglich, da es sich um eine retrospektive Untersuchung handelt und alle Blutabnahmen allein diagnostischen Zwecken dienen. Auch in einer prospektiven Analyse wäre es ethisch undenkbar eine Blutabnahme bei einem sehr kleinen Frühgeborenen zu fordern und durchzuführen. Das Patientenkollektiv, mit dem in dieser Studie die Referenzwerte berechnet wurden, spiegelt definitiv nicht das ideale, gesunde Neugeborene wieder. Die hier ausgearbeiteten Referenzwerte sind für den klinischen Alltag gedacht, in dem man als Kliniker keinem idealen, gesunden Neugeborenen zum Sepsis Work-up begegnet. Deshalb untersuchten wir die Werte von EOS negativen Neugeborenen mit Risikofaktoren oder leichteren Krankheitsbildern, aber insgesamt unkompliziertem klinischen Verlauf und von EOS negativen Neugeborenen mit teilweise schweren Krankheitsbildern. Beide Gruppen stellen Kinder dar, wie sie auf jeder Neugeborenen-Intensivstation vorkommen.

#### **4.5 Zur Problematik der Sepsisdefinition beim Neugeborenen**

Dass sich die Diagnostik der EOS im klinischen Alltag oft schwierig gestaltet, ist sicher unbestritten. Die klinischen Zeichen sind unspezifisch<sup>2,4,5</sup>, Blutkulturen sind häufig falsch negativ<sup>86</sup> und im Moment existiert noch kein einzelner Laborparameter, der eine sichere Diagnosestellung zulässt.<sup>13</sup> Die Problematik setzt sich auch in den Bereich der Forschung fort, wo häufig Schwierigkeiten beklagt werden, geeignete Sepsiskriterien für die Klassifizierung Neugeborener für klinische Studien zu finden.<sup>187,188</sup> Der diagnostische Standard ist und bleibt die positive Blutkultur. Gerade bei Neugeborenen sind diese

aber aufgrund kleiner Probenvolumina und intrapartal antibiotisch vorbehandelten Müttern häufig falsch negativ.<sup>9,83</sup> Wie in dieser Studie stellt sich also immer wieder die Frage: Wie sollen Neugeborene eingeteilt werden, die zwar eine negative Blutkultur haben, klinisch aber Zeichen einer Sepsis zeigen? In der Vergangenheit gab es eine Reihe von Versuchen, klinische Kriterien für die Definition der Blutkultur negativen Sepsis zu finden. Die Vielfalt der angewandten Definitionen ist groß und es scheint so, als hätte die Abwesenheit einer allgemein anerkannten, standardisierten Definition manche Autoren dazu verleitet, ihre eigenen Definitionen je nach Ziel ihrer Studie zu verfassen.<sup>7</sup> Das am häufigsten beklagte Problem durch die daraus entstandene Heterogenität unter den Definitionen ist die Schwierigkeit Studien zu vergleichen. Dies ist mit einer der Gründe, warum Meta-Analysen im Gebiet der Sepsisdiagnostik beim Neugeborenen praktisch nicht durchführbar sind.<sup>128</sup>

Im Jahr 2002 wurde die International Pediatric Sepsis Consensus Conference abgehalten, in der Definitionen für das systemic inflammatory response syndrome (SIRS) und verschiedene Stadien der Sepsis (Sepsis, schwere Sepsis, septischer Schock, Multiorganversagen) für Kinder, von reifen Neugeborenen bis in die Adoleszenz, ausgearbeitet wurden.<sup>189</sup> Ziel der Konferenz war es, einheitliche Kriterien zu schaffen, ganz nach dem Vorbild der 1992 publizierten Definitionen für Erwachsene.<sup>190</sup> Diese wurden innerhalb kurzer Zeit in die Praxis umgesetzt und international anerkannt und sie konnten so maßgeblich dazu beitragen, Sepsisstudien zu standardisieren und vergleichbar zu machen.<sup>191</sup> Die pädiatrischen Kriterien werden jedoch, zumindest bei Neugeborenen, nur spärlich angewandt. Eine einheitliche Definition für Kinder und Neugeborene kann nachteilig sein, denn auch unter dem pädiatrischen Patientengut sind Neugeborene immer eine außergewöhnliche Gruppe. Insbesondere ist die Anwendung eines Sepsis-Staging-Systems für sie wahrscheinlich nicht passend.<sup>7</sup> Frühe Organdysfunktionen, die oft nur mit subtilen Symptomen einhergehen, werden unter Umständen nicht erfasst und Sepsis positive Kinder somit nicht als solche identifiziert. Im weiteren, vielfach fulminanten Verlauf sind die oben aufgelisteten Stadien der Sepsis außerdem häufig nur als „Schnappschüsse“ sichtbar.<sup>7</sup> Da es keine objektiven Untersuchungen dazu gibt, prüfen wir die Anwendbarkeit der Definitionen von SIRS und Sepsis in der Diagnostik einer EOS bei Früh- und Reifgeborenen in einer Analyse der Daten der bestehenden Datenbank.

Für die Konsensus Definition des SIRS müssen zwei von vier prädefinierten klinischen Zeichen positiv sein (a oder b obligatorisch): a) Körperkerntemperatur  $>38,5$  oder  $<36,0$  °C; b) Leukozyten  $<9000$  / $\mu$ l oder  $>34000$  / $\mu$ l; c) Tachykardie oder Bradykardie; d) Tachypnoe. Die Definition der Sepsis lautet: Vorhandensein von SIRS bei suspekter oder verifizierter Infektion.<sup>189</sup>

Unsere Untersuchung ergab, dass nur die Hälfte der Neugeborenen mit Blutkultur positiver EOS die Definitionen von SIRS und Sepsis erfüllten. In der Diagnostik einer EOS zeigten die Definitionen von SIRS und Sepsis eine Sensitivität von 50% und eine Spezifität von 80 bzw. 88%. Durch die Anwendung der Definition von SIRS wären zwei Drittel der Reifgeborenen und ein Drittel der Frühgeborenen mit Kultur positiver EOS falsch negativ diagnostiziert worden. Im Allgemeinen war bei Reifgeborenen war die Rate der falsch negativ diagnostizierten Fälle hoch, bei Frühgeborenen die Rate der falsch positiven. Abbildung 18 zeigt die Übereinstimmung der Definitionen von SIRS und Sepsis mit der Kultur und klinisch positiven EOS. Die Definition der Sepsis traf in beinahe gleich vielen Fällen zu, wie die der schweren Sepsis (25,3% bzw. 24,6%). Auch in den Untergruppen unterschiedlichen Gestationsalters waren die Unterschiede minimal (0 bis 1,5%).

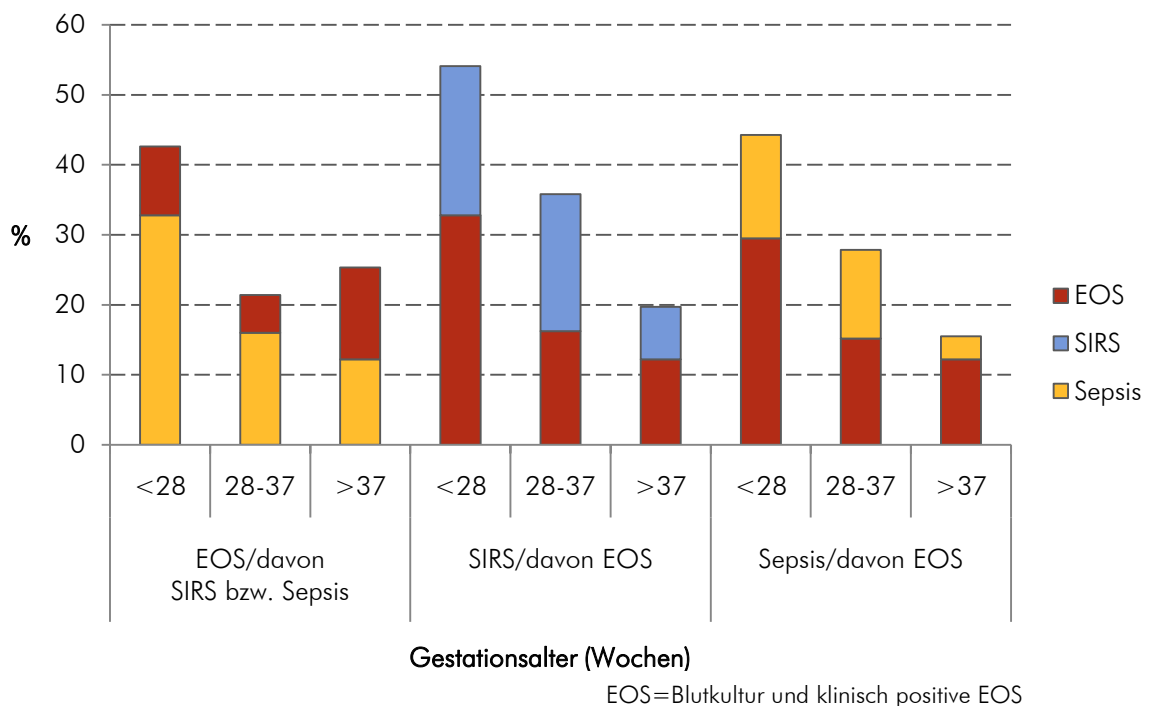


Abbildung 18: Inzidenz der EOS und der Definitionen von SIRS und Sepsis

Im Unterschied zur Definition für Erwachsene, darf SIRS in der Definition für Kinder nicht bei rein abnormaler Herz- und Atemfrequenz diagnostiziert werden, sondern entweder die Zahl der Leukozyten oder die Temperatur muss zusätzlich außerhalb der Norm sein.<sup>189</sup> In der Diagnostik der EOS sind abnormale Temperatur und Leukozytenzahlen jedoch beide bekannt als spezifische, aber nicht sensitive Parameter.<sup>4,5,17,91</sup> Dies kann erklären, warum die Definition von SIRS in dieser Studie eine hohe Spezifität, aber eine niedrige Sensitivität in der Infektionsdiagnostik zeigte und in vielen Fällen einer EOS falsch negativ war. Da die Definition der Sepsis direkt an das Vorhandensein von SIRS gekoppelt ist, traf auch sie bei einem großen Teil der EOS Patienten nicht zu.

Im Moment gibt es keine allgemein anerkannten und angewandten Kriterien für die Blutkultur negative Sepsis für Neugeborene. Dabei wäre eine Standardisierung von Einschlusskriterien für klinische Studien sicher willkommen. In einer aktuellen Analyse fanden Modi et al.<sup>4</sup> heraus, dass drei klinische Zeichen der beste Prädiktor für eine positive Blutkultur wären und erklärten, dass der Gebrauch klar definierter klinischer Kriterien zusätzliche Möglichkeiten darstellt um Infektionen ohne Blutkultur zu quantifizieren. Sepsiskriterien für klinische Studien sollten in ähnlicher Weise erarbeitet werden. In Beobachtungsstudien können mit Hilfe multivariater Datenanalysen und der Berechnung von Likelihood Ratios die geeigneten Kombinationen von klinischen Zeichen, Risikofaktoren und/oder Laborparameter gefunden werden.<sup>86</sup> Eine evidenzbasierte Definition der EOS kann die Standardisierung von zukünftigen klinischen Studien verbessern und so Vergleiche erleichtern.

## 4.6 Zusammenfassung

In dieser Studie konnten wir zeigen, dass das CRP ein hilfreicher Parameter in der Infektionsdiagnostik beim Neugeborenen ist und vor allem als später und spezifischer Marker eingesetzt werden kann. Serielle Bestimmungen konnten die Sensitivität zusätzlich steigern. Da Frühgeborene auf eine Infektion häufiger mit einem moderaten Anstieg reagierten, konnte der Einsatz eines niedrigeren Cut-off Wertes Vorteile in der Diagnostik bringen.

Zu den nicht infektiologischen Krankheitsbildern, die mit einer Erhöhung der CRP-Serumwerte assoziiert waren, zählen das Mekoniumaspirationssyndrom bei Reifgeborenen ( $p < 0,001$ ) und schweres IRDS Grad III und IV und assistierte Ventilation ( $p < 0,05$ ) bei Frühgeborenen von 28 bis 37 SSW. Bei Neugeborenen vor der 28. SSW konnte keine Korrelation mit den in dieser Studie untersuchten Diagnosen beobachtet werden.

Frühgeborene zeigten sowohl in der Gruppe der EOS positiven, als auch der EOS negativen Kinder signifikant niedrigere CRP Werte gegenüber Reifgeborenen ( $p < 0,001$ ). Der mittlere und maximale Anstieg der Serumwerte im Rahmen einer Infektion oder nach einem nicht infektiologischen Stimulus war geringer. Ein Anstieg der Serumwerte im unkomplizierten postpartalen Verlauf war bei Früh- und Reifgeborenen zu beobachten, wobei die Werte der Frühgeborenen signifikant niedriger waren ( $p < 0,001$  am zweiten und am dritten Lebenstag).

## 5 Literaturverzeichnis

---

- <sup>1</sup> Stoll BJ, Gordon T, Korones SB, Shankaran S, Tyson JE, Bauer CR, u. a. 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 Juli ;129(1):72-80.
- <sup>2</sup> Remington JS, Klein JO (eds.). *Infectious diseases of the fetus and newborn infant.* 4th ed. Philadelphia: Saunders; 1995.
- <sup>3</sup> Gerdes JS. Clinicopathologic approach to the diagnosis of neonatal sepsis. *Clin Perinatol.* 1991 Juni ;18(2):361-381.
- <sup>4</sup> Modi N, Doré CJ, Saraswatula A, Richards M, Bamford KB, Coello R, u. a. A case definition for national and international neonatal bloodstream infection surveillance. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2009 Jan ;94(1):F8-12.
- <sup>5</sup> Ng PC. Diagnostic markers of infection in neonates. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2004 Mai ;89(3):F229-35.
- <sup>6</sup> Buck C, Bundschu J, Gallati H, Bartmann P, Pohlandt F. Interleukin-6: a sensitive parameter for the early diagnosis of neonatal bacterial infection. *Pediatrics.* 1994 Jan ;93(1):54-58.
- <sup>7</sup> Chiesa C, Panero A, Osborn JF, Simonetti AF, Pacifico L. Diagnosis of neonatal sepsis: a clinical and laboratory challenge. *Clin Chem.* 2004 Feb ;50(2):279-87.
- <sup>8</sup> Ng PC, Cheng SH, Chui KM, Fok TF, Wong MY, Wong W, u. a. Diagnosis of late onset neonatal sepsis with cytokines, adhesion molecule, and C-reactive protein in preterm very low birthweight infants. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* 1997 Nov ;77(3):F221-227.
- <sup>9</sup> Decamp LR, Dempsey AF, Tarini BA. Neonatal sepsis: looking beyond the blood culture: evaluation of a study of universal primer polymerase chain reaction for identification of neonatal sepsis. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2009 Jan ;163(1):12-4.
- <sup>10</sup> Doellner H, Arntzen KJ, Haereid PE, Aag S, Austgulen R. Interleukin-6 concentrations in neonates evaluated for sepsis. *J Pediatr.* 1998 Feb ;132(2):295-9.
- <sup>11</sup> Franz AR, Bauer K, Schalk A, Garland SM, Bowman ED, Rex K, u. a. Measurement of interleukin 8 in combination with C-reactive protein reduced unnecessary antibiotic therapy in newborn infants: a multicenter, randomized, controlled trial. *Pediatrics.* 2004 Juli ;114(1):1-8.
- <sup>12</sup> Philip AG. Decreased use of antibiotics using a neonatal sepsis screening technique. *J. Pediatr.* 1981 Mai ;98(5):795-799.
- <sup>13</sup> Malik A, Hui CPS, Pennie RA, Kirpalani H. Beyond the complete blood cell count and C-reactive protein: a systematic review of modern diagnostic tests for neonatal sepsis. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2003 Juni ;157(6):511-6.
- <sup>14</sup> Tillet WS, Francis T. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. *J Exp Med.* 1930;52:561-71.
- <sup>15</sup> Macleod CM, Avery OT. The occurrence of a protein not normally present in blood: III. Immunological properties of the C-reactive protein and its differentiation from normal blood proteins. *J Exp Med.* 1941;73:191-203.
- <sup>16</sup> Pepys MB. C-reactive protein fifty years on. *Lancet.* 1981 März 21;1(8221):653-7.
- <sup>17</sup> Jaye DL, Waites KB. Clinical applications of C-reactive protein in pediatrics. *Pediatr Infect Dis J.* 1997 Aug ;16(8):735-46; quiz 746-7.

- <sup>18</sup> Volanakis JE. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Mol Immunol*. 2001 Aug ;38(2-3):189-97.
- <sup>19</sup> Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest*. 2003 Juni ;111(12):1805-12.
- <sup>20</sup> Ganapathi MK, Rzewnicki D, Samols D, Jiang SL, Kushner I. Effect of combinations of cytokines and hormones on synthesis of serum amyloid A and C-reactive protein in Hep 3B cells. *J Immunol*. 1991 Aug 15;147(4):1261-5.
- <sup>21</sup> Szalai AJ, van Ginkel FW, Wang Y, McGhee JR, Volanakis JE. Complement-dependent acute-phase expression of C-reactive protein and serum amyloid P-component. *J Immunol*. 2000 Juli 15;165(2):1030-5.
- <sup>22</sup> Macintyre S, Samols D, Dailey P. Two carboxylesterases bind C-reactive protein within the endoplasmic reticulum and regulate its secretion during the acute phase response. *J Biol Chem*. 1994 Sep 30;269(39):24496-503.
- <sup>23</sup> Yue CC, Muller-Greven J, Dailey P, Lozanski G, Anderson V, Macintyre S. Identification of a C-reactive protein binding site in two hepatic carboxylesterases capable of retaining C-reactive protein within the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem*. 1996 Sep 6;271(36):22245-50.
- <sup>24</sup> Maier JE. Differentielles Shedding des löslichen Interleukin 6-Rezeptors durch akut Phase Proteine der Pentraxin- und Apolipoprotein-Familie [Dissertation]. Regensburg: Medizinische Fakultät der Universität Regensburg; 2008.
- <sup>25</sup> Kushner I, Kaplan MH. Studies of acute phase protein. I. An immunohistochemical method for the localization of C-reactive protein in rabbits. Association with necrosis in local inflammatory lesions. *J Exp Med*. 1961 Dez 1;114:961-74.
- <sup>26</sup> Martin SJ, Reutelingsperger CP, McGahon AJ, Rader JA, van Schie RC, LaFace DM, u. a. Early redistribution of plasma membrane phosphatidylserine is a general feature of apoptosis regardless of the initiating stimulus: inhibition by overexpression of Bcl-2 and Abl. *J Exp Med*. 1995 Nov 1;182(5):1545-56.
- <sup>27</sup> Hack CE, Wolbink GJ, Schalkwijk C, Speijer H, Hermens WT, van den Bosch H. A role for secretory phospholipase A2 and C-reactive protein in the removal of injured cells. *Immunol Today*. 1997 März ;18(3):111-5.
- <sup>28</sup> Volanakis JE, Wirtz KW. Interaction of C-reactive protein with artificial phosphatidylcholine bilayers. *Nature*. 1979 Sep 13;281(5727):155-7.
- <sup>29</sup> Löffler G. *Basiswissen Biochemie*. 5th ed. Heidelberg: Springer; 2003.
- <sup>30</sup> Mold C, Gewurz H, Du Clos TW. Regulation of complement activation by C-reactive protein. *Immunopharmacology*. 1999 Mai ;42(1-3):23-30.
- <sup>31</sup> Busse M. Bedeutung des C-reaktiven Proteins im Rahmen maligner Erkrankungen am Beispiel des Nierenzellkarzinoms [Dissertation]. Lübeck: Universität zu Lübeck; 2007
- <sup>32</sup> Silbernagel S, Lang F. *Taschenatlas der Pathophysiologie*. 1st ed. Stuttgart: Thieme; 1998.
- <sup>33</sup> Merz H, Feller AC. Grundlagen der Immunreaktion. In: Böcker W, Denk H, Heitz PU. *Pathologie*. 2nd ed. Jena: Urban & Fischer; 2001. p. 101-140.
- <sup>34</sup> Pichler WJ, Peter HH. Immunsystem. In: Siegenthaler W. *Klinische Pathophysiologie*. 8th ed. Stuttgart: Thieme; 2001. p. 487-562.
- <sup>35</sup> Morley JJ, Kushner I. Serum C-reactive protein levels in disease. *Ann N Y Acad Sci*. 1982 ;389:406-18.

- <sup>36</sup> Weinhold B, R  ther U. Interleukin-6-dependent and -independent regulation of the human C-reactive protein gene. *Biochem J.* 1997 Okt 15;327 ( Pt 2)425-9.
- <sup>37</sup> Zhang D, Jiang SL, Rzewnicki D, Samols D, Kushner I. The effect of interleukin-1 on C-reactive protein expression in Hep3B cells is exerted at the transcriptional level. *Biochem J.* 1995 Aug 15;310 ( Pt 1)143-8.
- <sup>38</sup> Shine B, de Beer FC, Pepys MB. Solid phase radioimmunoassays for human C-reactive protein. *Clin Chim Acta.* 1981 Nov 25;117(1):13-23.
- <sup>39</sup> Vigushin DM, Pepys MB, Hawkins PN. Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human C-reactive protein in health and disease. *J Clin Invest.* 1993 Apr ;91(4):1351-7.
- <sup>40</sup> Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med.* 1999 Feb 11;340(6):448-54.
- <sup>41</sup> Kushner I, Gewurz H, Benson MD. C-reactive protein and the acute-phase response. *J. Lab. Clin. Med.* 1981 Juni ;97(6):739-749.
- <sup>42</sup> Stoll BJ, Hansen NI, Higgins RD, Fanaroff AA, Duara S, Goldberg R, u. a. Very low birth weight preterm infants with early onset neonatal sepsis: the predominance of gram-negative infections continues in the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, 2002-2003. *Pediatr Infect Dis J.* 2005 Juli ;24(7):635-9.
- <sup>43</sup> Anderson-Berry AL, Bellig LL, Ohning BL. Neonatal Sepsis. [Online]. 2008 [cited 2009 march 21]; Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/978352-overview>.
- <sup>44</sup> Schrag SJ, Stoll BJ. Early-onset neonatal sepsis in the era of widespread intrapartum chemoprophylaxis. *Pediatr Infect Dis J.* 2006 Okt ;25(10):939-40.
- <sup>45</sup> Lanari M, Lazzarotto T, Pignatelli S, Guerra B, Serra L. Epidemiology of neonatal infections. *J Chemother.* 2007 Okt ;19 Suppl 220-3.
- <sup>46</sup> Zangwill KM, Schuchat A, Wenger JD. Group B streptococcal disease in the United States, 1990: report from a multistate active surveillance system. *MMWR CDC Surveill Summ.* 1992 Nov 20;41(6):25-32.
- <sup>47</sup> Perinatal group B streptococcal disease after universal screening recommendations--United States, 2003-2005. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2007 Juli 20;56(28):701-5.
- <sup>48</sup> Fluegge K, Siedler A, Heinrich B, Schulte-Moenting J, Moennig M, Bartels DB, u. a. Incidence and clinical presentation of invasive neonatal group B streptococcal infections in Germany. *Pediatrics.* 2006 Juni ;117(6):e1139-45.
- <sup>49</sup> Escobar GJ. The neonatal "sepsis work-up": personal reflections on the development of an evidence-based approach toward newborn infections in a managed care organization. *Pediatrics.* 1999 Jan ;103(1 Suppl E):360-73.
- <sup>50</sup> Da Silva O, Ohlsson A, Kenyon C. Accuracy of leukocyte indices and C-reactive protein for diagnosis of neonatal sepsis: a critical review. *Pediatr Infect Dis J.* 1995 Mai ;14(5):362-6.
- <sup>51</sup> Berger C, Uehlinger J, Ghelfi D, Blau N, Fanconi S. Comparison of C-reactive protein and white blood cell count with differential in neonates at risk for septicaemia. *Eur. J. Pediatr.* 1995 Feb ;154(2):138-144.
- <sup>52</sup> Schuchat A, Zywicki SS, Dinsmoor MJ, Mercer B, Romaguera J, O'Sullivan MJ, u. a. Risk factors and opportunities for prevention of early-onset neonatal sepsis: a multicenter case-control study. *Pediatrics.* 2000 Jan ;105(1 Pt 1):21-26.
- <sup>53</sup> Early-onset and late-onset neonatal group B streptococcal disease--United States, 1996-2004. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2005 Dez 2;54(47):1205-8.

- <sup>54</sup> Polin RA, St Geme JW. Neonatal sepsis. *Adv Pediatr Infect Dis*. 1992 ;725-61.
- <sup>55</sup> Bhutta ZA, Zaidi AKM, Thaver D, Humayun Q, Ali S, Darmstadt GL. Management of newborn infections in primary care settings: a review of the evidence and implications for policy? *Pediatr Infect Dis J*. 2009 Jan ;28(1 Suppl):S22-30.
- <sup>56</sup> Thaver D, Zaidi AKM. Burden of neonatal infections in developing countries: a review of evidence from community-based studies. *Pediatr Infect Dis J*. 2009 Jan ;28(1 Suppl):S3-9.
- <sup>57</sup> Lawn JE, Cousens SN, Darmstadt GL, Bhutta ZA, Martines J, Paul V, u. a. 1 year after The Lancet Neonatal Survival Series--was the call for action heard? *Lancet*. 2006 Mai 6;367(9521):1541-7.
- <sup>58</sup> Lawn JE, Osrin D, Adler A, Cousens S. Four million neonatal deaths: counting and attribution of cause of death. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2008 Sep ;22(5):410-6.
- <sup>59</sup> Rennie JM. *Textbook of neonatology*. 3rd ed. London: Churchill Livingstone; 1999.
- <sup>60</sup> Ragošch V, Dudenhausen W, Grauel L, Schneider K.T.M, Vetter K, Weitzel H. Empfehlungen zum Vorgehen beim vorzeitigen Blasensprung. *Frauenarzt*. 2000; 41:271-272.
- <sup>61</sup> Pfeleiderer A, Breckwoldt M, Martius G. *Gynäkologie und Geburtshilfe*. 4th ed. Thieme: Stuttgart; 2002.
- <sup>62</sup> Blanc WA. Pathways of fetal and early neonatal infection: viral placentitis, bacterial and fungal chorioamnionitis. *J Pediatr* 1961;59:473–96.
- <sup>63</sup> Hillier SL, Krohn MA, Kiviat NB, Watts DH, Eschenback DA. Microbiologic causes and neonatal outcomes associated with chorioamnion infection. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:955–61.
- <sup>64</sup> Benitz WE, Gould JB, Druzin ML. Risk factors for early-onset group B streptococcal sepsis: estimation of odds ratios by critical literature review. *Pediatrics*. 1999 Juni ;103(6):e77.
- <sup>65</sup> Hillier SL, Martius J, Krohn M, Kiviat N, Holmes KK, Eschenbach DA. A case-control study of chorioamnionic infection and histologic chorioamnionitis in prematurity. *N Engl J Med*. 1988 Okt 13;319(15):972-8.
- <sup>66</sup> Berardi A, Tzialla C, Riva M, Cerbo RM, Creti R. Group B streptococcus: early- and late-onset infections. *J Chemother*. 2007 Okt ;19 Suppl 224-7.
- <sup>67</sup> Brimil N, Barthell E, Heindrichs U, Kuhn M, Lütticken R, Spellerberg B. Epidemiology of *Streptococcus agalactiae* colonization in Germany. *Int J Med Microbiol*. 2006 Feb ;296(1):39-44.
- <sup>68</sup> Baker CJ, Barrett FF. Transmission of group B streptococci among parturient women and their neonates. *J Pediatr*. 1973 Dez ;83(6):919-25.
- <sup>69</sup> Franciosi RA, Knostman JD, Zimmerman RA. Group B streptococcal neonatal and infant infections. *J Pediatr*. 1973 Apr ;82(4):707-18.
- <sup>70</sup> Arbeitsgemeinschaft der wissenschaftlichen medizinischen Fachgesellschaften e. V. Prophylaxe der Neugeborenssepsis - frühe Form - durch Streptokokken der Gruppe B. [Online]. 2008 [cited 2009 march 05]. Available from: <http://leitlinien.net/>.
- <sup>71</sup> Doody DR, Patterson MQ, Voigt LF, Mueller BA. Risk factors for the recurrence of premature rupture of the membranes. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 1997 Jan ;11 Suppl 196-106.
- <sup>72</sup> Menon R, Fortunato SJ. Infection and the role of inflammation in preterm premature rupture of the membranes. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2007 Juni ;21(3):467-78.

- <sup>73</sup> Gomez R, Romero R, Ghezzi F, Yoon BH, Mazor M, Berry SM. The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 1998 Juli ;179(1):194-202.
- <sup>74</sup> Yoon BH, Romero R, Park JS, Kim M, Oh SY, Kim CJ, u. a. The relationship among inflammatory lesions of the umbilical cord (funisitis), umbilical cord plasma interleukin 6 concentration, amniotic fluid infection, and neonatal sepsis. *Am J Obstet Gynecol.* 2000 Nov ;183(5):1124-9.
- <sup>75</sup> Smulian JC, Vintzileos AM, Lai YL, Santiago J, Shen-Schwarz S, Campbell WA. Maternal chorioamnionitis and umbilical vein interleukin-6 levels for identifying early neonatal sepsis. *J Matern Fetal Med.* 8(3):88-94.
- <sup>76</sup> Gomez R, Ghezzi F, Romero R, Muñoz 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 Juni ;22(2):281-342.
- <sup>77</sup> Kemp AS, Campbell DE. The neonatal immune system. *Seminar in Neonatology.* 1996 May ;1(2):67-75.
- <sup>78</sup> Messaritakis J, Anagnostakis D, Laskari H, Katerelos C. Rectal-skin temperature difference in septicemic newborn infants. *Arch. Dis. Child.* 1990 Apr ;65(4 Spec No):380-382.
- <sup>79</sup> Mayfield SR, Bhatia J, Nakamura KT, Rios GR, Bell EF. Temperature measurement in term and preterm neonates. *J. Pediatr.* 1984 Feb ;104(2):271-275.
- <sup>80</sup> Saez-Llorens X, McCracken GH Jr. Perinatal bacterial diseases. In: Feigin RD, Cherry JD, eds. *Textbook of pediatric infectious diseases.* Philadelphia: WB Saunders; 1998. p. 892–926.
- <sup>81</sup> Kurlat I, Stoll BJ, McGowan JE. Time to positivity for detection of bacteremia in neonates. *J Clin Microbiol.* 1989 Mai ;27(5):1068-71.
- <sup>82</sup> Paisley JW, Lauer BA. Pediatric blood cultures. *Clin Lab Med.* 1994 März ;14(1):17-30.
- <sup>83</sup> Schelonka RL, Chai MK, Yoder BA, Hensley D, Brockett RM, Ascher DP. Volume of blood required to detect common neonatal pathogens. *J Pediatr.* 1996 Aug ;129(2):275-8.
- <sup>84</sup> Nathan DG, Orikin SH, Look AT, Ginsburg D. *Hematology of infancy and childhood.* 6th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1993.
- <sup>85</sup> Jawaheer G, Neal TJ, Shaw NJ. Blood culture volume and detection of coagulase negative staphylococcal septicaemia in neonates. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1997 Jan ;76(1):F57-8.
- <sup>86</sup> Escobar GJ. What have we learned from observational studies on neonatal sepsis? *Pediatr Crit Care Med.* 2005 Mai ;6(3 Suppl):S138-45.
- <sup>87</sup> Arbeitsgemeinschaft der wissenschaftlichen medizinischen Fachgesellschaften e. V. Bakterielle Infektionen bei Neugeborenen. [Online]. 2006 [cited 2009 march 24]. Available from: <http://leitlinien.net/>.
- <sup>88</sup> Mussap M, Molinari MP, Senno E, Gritti P, Soro B, Mannelli S, u. a. New diagnostic tools for neonatal sepsis: the role of a real-time polymerase chain reaction for the early detection and identification of bacterial and fungal species in blood samples. *J Chemother.* 2007 Okt ;19 Suppl 231-4.
- <sup>89</sup> Golden SM, Stamilio DM, Faux BM, dela Cruz WP, Shoemaker CT, Blackmon CL, u. a. Evaluation of a real-time fluorescent PCR assay for rapid detection of Group B Streptococci in neonatal blood. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2004 Sep ;50(1):7-13.

- <sup>90</sup> Ng PC, Li K, Leung TF, Wong RPO, Li G, Chui KM, u. a. Early prediction of sepsis-induced disseminated intravascular coagulation with interleukin-10, interleukin-6, and RANTES in preterm infants. *Clin. Chem.* 2006 Juni ;52(6):1181-1189.
- <sup>91</sup> Mishra UK, Jacobs SE, Doyle LW, Garland SM. Newer approaches to the diagnosis of early onset neonatal sepsis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2006 Mai ;91(3):F208-12.
- <sup>92</sup> Van Lente F, Pippenger CE. The pediatric acute care laboratory. *Pediatr. Clin. North Am.* 1987 Feb ;34(1):231-246.
- <sup>93</sup> Mussap M, Degrandi R, Cataldi L, Fanos V, Plebani M. Biochemical markers for the early assessment of neonatal sepsis: the role of procalcitonin. *J Chemother.* 2007 Okt ;19 Suppl 235-8.
- <sup>94</sup> Fowlie PW, Schmidt B. Diagnostic tests for bacterial infection from birth to 90 days--a systematic review. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1998 März ;78(2):F92-8.
- <sup>95</sup> Christensen RD, Rothstein G. Pitfalls in the interpretation of leukocyte counts of newborn infants. *Am. J. Clin. Pathol.* 1979 Okt ;72(4):608-611.
- <sup>96</sup> Manroe BL, Weinberg AG, Rosenfeld CR, Browne R. The neonatal blood count in health and disease. I. Reference values for neutrophilic cells. *J Pediatr.* 1979 Juli ;95(1):89-98.
- <sup>97</sup> Mouzinho A, Rosenfeld CR, Sánchez PJ, Risser R. Revised reference ranges for circulating neutrophils in very-low-birth-weight neonates. *Pediatrics.* 1994 Juli ;94(1):76-82.
- <sup>98</sup> Rodwell RL, Leslie AL, Tudehope DI. Early diagnosis of neonatal sepsis using a hematologic scoring system. *J. Pediatr.* 1988 Mai ;112(5):761-767.
- <sup>99</sup> Kennon C, Overturf G, Bessman S, Sierra E, Smith KJ, Brann B. Granulocyte colony-stimulating factor as a marker for bacterial infection in neonates. *J. Pediatr.* 1996 Juni ;128(6):765-769.
- <sup>100</sup> Chiesa C, Signore F, Assumma M, Buffone E, Tramontozzi P, Osborn JF, u. a. Serial measurements of C-reactive protein and interleukin-6 in the immediate postnatal period: reference intervals and analysis of maternal and perinatal confounders. *Clin Chem.* 2001 Juni ;47(6):1016-22.
- <sup>101</sup> Benitz WE, Han MY, Madan A, Ramachandra P. Serial serum C-reactive protein levels in the diagnosis of neonatal infection. *Pediatrics.* 1998 Okt ;102(4):E41.
- <sup>102</sup> Kawamura M, Nishida H. The usefulness of serial C-reactive protein measurement in managing neonatal infection. *Acta Paediatr.* 1995 Jan ;84(1):10-13.
- <sup>103</sup> Pourcyrous M, Bada HS, Korones SB, Baselski V, Wong SP. Significance of serial C-reactive protein responses in neonatal infection and other disorders. *Pediatrics.* 1993 Sep ;92(3):431-5.
- <sup>104</sup> 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):447-453.
- <sup>105</sup> Franz AR, Steinbach G, Kron M, Pohlandt F. Interleukin-8: a valuable tool to restrict antibiotic therapy in newborn infants. *Acta Paediatr.* 2001 Sep ;90(9):1025-1032.
- <sup>106</sup> Dandona P, Nix D, Wilson MF, Aljada A, Love J, Assicot M, u. a. Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994 Dez ;79(6):1605-8.
- <sup>107</sup> Chiesa C, Panero A, Rossi N, Stegagno M, De Giusti M, Osborn JF, u. a. Reliability of procalcitonin concentrations for the diagnosis of sepsis in critically ill neonates. *Clin Infect Dis.* 1998 März ;26(3):664-72.

- <sup>108</sup> van Rossum AMC, Wulkan RW, Oudesluys-Murphy AM. Procalcitonin as an early marker of infection in neonates and children. *Lancet Infect Dis*. 2004 Okt ;4(10):620-30.
- <sup>109</sup> Guibourdenche J, Bedu A, Petzold L, Marchand M, Mariani-Kurdjian P, Hurtaud-Roux M, u. a. Biochemical markers of neonatal sepsis: value of procalcitonin in the emergency setting. *Ann Clin Biochem*. 2002 März ;39(Pt 2):130-5.
- <sup>110</sup> Resch B, Gusenleitner W, Müller WD. Procalcitonin and interleukin-6 in the diagnosis of early-onset sepsis of the neonate. *Acta Paediatr*. 2003 ;92(2):243-245.
- <sup>111</sup> Monneret G, Labaune JM, Isaac C, Bienvenu F, Putet G, Bienvenu J. Procalcitonin and C-reactive protein levels in neonatal infections. *Acta Paediatr*. 1997 Feb ;86(2):209-212.
- <sup>112</sup> Chiesa C, Pellegrini G, Panero A, Osborn JF, Signore F, Assumma M, u. a. C-reactive protein, interleukin-6, and procalcitonin in the immediate postnatal period: influence of illness severity, risk status, antenatal and perinatal complications, and infection. *Clin Chem*. 2003 Jan ;49(1):60-8.
- <sup>113</sup> Assumma M, Signore F, Pacifico L, Rossi N, Osborn JF, Chiesa C. Serum procalcitonin concentrations in term delivering mothers and their healthy offspring: a longitudinal study. *Clin. Chem*. 2000 Okt ;46(10):1583-1587.
- <sup>114</sup> Janota J, Stranák Z, Bělohávková S, Mudra K, Simák J. Postnatal increase of procalcitonin in premature newborns is enhanced by chorioamnionitis and neonatal sepsis. *Eur. J. Clin. Invest*. 2001 Nov ;31(11):978-983.
- <sup>115</sup> Whicher J, Bienvenu J, Monneret G. Procalcitonin as an acute phase marker. *Ann. Clin. Biochem*. 2001 Sep ;38(Pt 5):483-493.
- <sup>116</sup> Zweigner J, Schumann RR, Weber JR. The role of lipopolysaccharide-binding protein in modulating the innate immune response. *Microbes Infect*. 2006 März ;8(3):946-952.
- <sup>117</sup> Pavcnik-Arnol M, Hojker S, Derganc M. Lipopolysaccharide-binding protein, lipopolysaccharide, and soluble CD14 in sepsis of critically ill neonates and children. *Intensive Care Med*. 2007 Juni ;33(6):1025-32.
- <sup>118</sup> Orlikowsky TW, Trüg C, Neunhoeffler F, Deperschmidt M, Eichner M, Poets CF. Lipopolysaccharide-binding protein in noninfected neonates and those with suspected early-onset bacterial infection. *J Perinatol*. 2006 Feb ;26(2):115-9.
- <sup>119</sup> Pavcnik-Arnol M, Hojker S, Derganc M. Lipopolysaccharide-binding protein in critically ill neonates and children with suspected infection: comparison with procalcitonin, interleukin-6, and C-reactive protein. *Intensive Care Med*. 2004 Juli ;30(7):1454-60.
- <sup>120</sup> Behrendt D, Dembinski J, Heep A, Bartmann P. Lipopolysaccharide binding protein in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2004 Nov ;89(6):F551-4.
- <sup>121</sup> Berner R, Füll B, Stelter F, Dröse J, Müller H, Schütt C. Elevated levels of lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14 in plasma in neonatal early-onset sepsis. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2002 März ;9(2):440-5.
- <sup>122</sup> Ng PC, Lam HS. Diagnostic markers for neonatal sepsis. *Curr Opin Pediatr*. 2006 Apr ;18(2):125-31.
- <sup>123</sup> Berner R, Niemeyer CM, Leititis JU, Funke A, Schwab C, Rau U, u. a. 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 Okt ;44(4):469-477.

- <sup>124</sup> Messer J, Eyer D, Donato L, Gallati H, Matis J, Simeoni U. Evaluation of interleukin-6 and soluble receptors of tumor necrosis factor for early diagnosis of neonatal infection. *J. Pediatr.* 1996 Okt ;129(4):574-580.
- <sup>125</sup> Smulian JC, Vintzileos AM, Lai YL, Santiago J, Shen-Schwarz S, Campbell WA. Maternal chorioamnionitis and umbilical vein interleukin-6 levels for identifying early neonatal sepsis. *J Matern Fetal Med.* 1999 Juni ;8(3):88-94.
- <sup>126</sup> Küster H, Weiss M, Willeitner AE, Detlefsen S, Jeremias I, Zbojan J, u. a. Interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-6 for early diagnosis of neonatal sepsis 2 days before clinical manifestation. *Lancet.* 1998 Okt 17;352(9136):1271-1277.
- <sup>127</sup> D'Alquen D, Kramer BW, Seidenspinner S, Marx A, Berg D, Groneck P, u. a. Activation of umbilical cord endothelial cells and fetal inflammatory response in preterm infants with chorioamnionitis and funisitis. *Pediatr. Res.* 2005 Feb ;57(2):263-269.
- <sup>128</sup> Mehr S, Doyle LW. Cytokines as markers of bacterial sepsis in newborn infants: a review. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:879-87.
- <sup>129</sup> Baggiolini M, Walz A, Kunkel SL. Neutrophil-activating peptide-1/interleukin 8, a novel cytokine that activates neutrophils. *J. Clin. Invest.* 1989 Okt ;84(4):1045-1049.
- <sup>130</sup> Nupponen I, Andersson S, Järvenpää AL, Kautiainen H, Repo H. Neutrophil CD11b expression and circulating interleukin-8 as diagnostic markers for early-onset neonatal sepsis. *Pediatrics.* 2001 Juli ;108(1):E12.
- <sup>131</sup> Atici A, Satar M, Alparslan N. Serum interleukin-1 beta in neonatal sepsis. *Acta Paediatr.* 1996 März ;85(3):371-374.
- <sup>132</sup> Døllner H, Vatten L, Linnebo I, Zanussi GF, Laerdal A, Austgulen R. Inflammatory mediators in umbilical plasma from neonates who develop early-onset sepsis. *Biol. Neonate.* 2001 Juli ;80(1):41-47.
- <sup>133</sup> Simms HH, D'Amico R. Lipopolysaccharide induces intracytoplasmic migration of the polymorphonuclear leukocyte CD11b/CD18 receptor. *Shock.* 1995 März ;3(3):196-203.
- <sup>134</sup> Turunen R, Andersson S, Nupponen I, Kautiainen H, Siitonen S, Repo H. Increased CD11b-density on circulating phagocytes as an early sign of late-onset sepsis in extremely low-birth-weight infants. *Pediatr. Res.* 2005 Feb ;57(2):270-275.
- <sup>135</sup> Weirich E, Rabin RL, Maldonado Y, Benitz W, Modler S, Herzenberg LA, u. a. Neutrophil CD11b expression as a diagnostic marker for early-onset neonatal infection. *J. Pediatr.* 1998 März ;132(3 Pt 1):445-451.
- <sup>136</sup> Ng PC, Li G, Chui KM, Chu WCW, Li K, Wong RPO, u. a. Neutrophil CD64 is a sensitive diagnostic marker for early-onset neonatal infection. *Pediatr. Res.* 2004 Nov ;56(5):796-803.
- <sup>137</sup> From the Centers for Disease Control. Revision of guidelines for the prevention of perinatal group B streptococcal disease. *JAMA.* 2002 März 6;287(9):1106-1107.
- <sup>138</sup> Lau YL, Hey E. Sensitivity and specificity of daily tracheal aspirate cultures in predicting organisms causing bacteremia in ventilated neonates. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1991 Apr ;10(4):290-294.
- <sup>139</sup> Wellhöner HH. Allgemeine und systematische Pharmakologie und Toxikologie. 6th ed. Heidelberg: Springer; 1997.
- <sup>140</sup> Koletzko B. Kinderheilkunde und Jugendmedizin. 12th ed. Heidelberg: Springer; 2004.

- <sup>141</sup> Clark RH, Bloom BT, Spitzer AR, Gerstmann DR. Empiric use of ampicillin and cefotaxime, compared with ampicillin and gentamicin, for neonates at risk for sepsis is associated with an increased risk of neonatal death. *Pediatrics*. 2006 Jan ;117(1):67-74.
- <sup>142</sup> Philip AG, Hewitt JR. Early diagnosis of neonatal sepsis. *Pediatrics*. 1980 Mai ;65(5):1036-41.
- <sup>143</sup> Hammerschlag MR, Klein JO, Herschel M, Chen FC, Fermin R. Patterns of use of antibiotics in two newborn nurseries. *N Engl J Med*. 1977 Juni 2;296(22):1268-9.
- <sup>144</sup> Cotten CM, Taylor S, Stoll B, Goldberg RN, Hansen NI, Sánchez PJ, u. a. Prolonged duration of initial empirical antibiotic treatment is associated with increased rates of necrotizing enterocolitis and death for extremely low birth weight infants. *Pediatrics*. 2009 Jan ;123(1):58-66.
- <sup>145</sup> Goldmann DA, Leclair J, Macone A. Bacterial colonization of neonates admitted to an intensive care environment. *J Pediatr*. 1978 Aug ;93(2):288-93.
- <sup>146</sup> Bennet R, Eriksson M, Nord CE, Zetterström R. Fecal bacterial microflora of newborn infants during intensive care management and treatment with five antibiotic regimens. *Pediatr Infect Dis*. 5(5):533-9.
- <sup>147</sup> Shlaes DM, Gerding DN, John JF, Craig WA, Bornstein DL, Duncan RA, u. a. Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on the Prevention of Antimicrobial Resistance: guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1997 Apr ;18(4):275-91.
- <sup>148</sup> Philip AGS. Commentary. In: Oski FA, Stockman JA, eds. *Year Book of Pediatrics*. Chicago: Year Book Medical Publishers; 1981
- <sup>149</sup> Speer C, Bruns A, Gahr M. Sequential determination of CRP, alpha 1-antitrypsin and haptoglobin in neonatal septicaemia. *Acta Paediatr Scand*. 1983 Sep ;72(5):679-683.
- <sup>150</sup> Squire EN, Reich HM, Merenstein GB, Favara BE, Todd JK. Criteria for the discontinuation of antibiotic therapy during presumptive treatment of suspected neonatal infection. *Pediatr Infect Dis*. 1982 Apr ;1(2):85-90.
- <sup>151</sup> Gutteberg TJ, Haneberg B, Jørgensen T. Lactoferrin in relation to acute phase proteins in sera from newborn infants with severe infections. *Eur. J. Pediatr*. 1984 Apr ;142(1):37-39.
- <sup>152</sup> Ainbender E, Cabatu EE, Guzman DM, Sweet AY. Serum C-reactive protein and problems of newborn infants. *J Pediatr*. 1982 Sep ;101(3):438-40.
- <sup>153</sup> Gerdes JS, Polin RA. Sepsis screen in neonates with evaluation of plasma fibronectin. *Pediatr. Infect. Dis. J*. 1987 Mai ;6(5):443-446.
- <sup>154</sup> Buck C, Pohlandt F. Accuracy of leukocyte indices and C-reactive protein for diagnosis of neonatal infection. *Pediatr. Infect. Dis. J*. 1995 Dez ;14(12):1119-1120.
- <sup>155</sup> Schmidt BK, Kirpalani HM, Corey M, Low DE, Philip AG, Ford-Jones EL. Coagulase-negative staphylococci as true pathogens in newborn infants: a cohort study. *Pediatr. Infect. Dis. J*. 1987 Nov ;6(11):1026-1031.
- <sup>156</sup> Sabel KG, Hanson LA. The clinical usefulness of C-reactive protein (CRP) determinations in bacterial meningitis and septicemia in infancy. *Acta Paediatr Scand*. 1974 Mai ;63(3):381-388.
- <sup>157</sup> Pourcyrous M, Bada HS, Korones SB, Barrett FF, Jennings W, Lockey T. Acute phase reactants in neonatal bacterial infection. *J Perinatol*. 1991 Dez ;11(4):319-25.

- <sup>158</sup> Dyck RF, Bingham W, Tan L, Rogers SL. Serum levels of C-reactive protein in neonatal respiratory distress syndrome. *Clin Pediatr (Phila)*. 1984 Juli ;23(7):381-3.
- <sup>159</sup> Forest JC, Larivière F, Dolcé P, Masson M, Nadeau L. C-reactive protein as biochemical indicator of bacterial infection in neonates. *Clin Biochem*. 1986 Juni ;19(3):192-4.
- <sup>160</sup> Mathai E, Christopher U, Mathai M, Jana AK, Rose D, Bergstrom S. Is C-reactive protein level useful in differentiating infected from uninfected neonates among those at risk of infection? *Indian Pediatr*. 2004 Sep ;41(9):895-900.
- <sup>161</sup> Schouten-Van Meeteren NY, Rietveld A, Moolenaar AJ, Van Bel F. Influence of perinatal conditions on C-reactive protein production. *J Pediatr*. 1992 Apr ;120(4 Pt 1):621-4.
- <sup>162</sup> Shine B, Gould J, Campbell C, Hindocha P, Wilmot RP, Wood CB. Serum C-reactive protein in normal and infected neonates. *Clin Chim Acta*. 1985 Mai 30;148(2):97-103.
- <sup>163</sup> Mathers NJ, Pohlandt F. Diagnostic audit of C-reactive protein in neonatal infection. *Eur J Pediatr*. 1987 März ;146(2):147-51.
- <sup>164</sup> Xanthou M, Fotopoulos S, Mouchtouri A, Lipsou N, Zika I, Sarafidou J. Inflammatory mediators in perinatal asphyxia and infection. *Acta Paediatr Suppl*. 2002 ;91(438):92-7.
- <sup>165</sup> Senses DA, Toppare MF, Kaya IS, Dilmen U, Kitapçi F. C-reactive protein and respiratory distress syndrome. *J Pediatr*. 1993 Jan ;122(1):164.
- <sup>166</sup> Zukowsky K. Respiratory distress. In: Verklan MT & Waiden M. Core curriculum for neonatal intensive care nursing. St Louis: Elsevier Saunders; 2004. p. 487-523.
- <sup>167</sup> Clark DA, Clark MB. Meconium aspiration syndrome. [Online]. 2004 [cited 2009 february 20]. Available from: <http://www.emedicine.com/ped/topic768.htm>
- <sup>168</sup> Gelfand SL, Fanaroff JM, Walsh MC. Controversies in the treatment of meconium aspiration syndrome. *Clin Perinatol*. 2004 Sep ;31(3):445-452.
- <sup>169</sup> Lee JS, Stark AR. Meconium aspiration. In: Cloherty JP, Richenwald EC, Stark AR. Manual of neonatal care. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 402-406.
- <sup>170</sup> Whitsett JA, Rice WR, Warner BB, Werr SE, Pryhuber GS. Acute respiratory disorders. In: Avery's neonatology: Pathophysiology and management of the newborn. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p. 553-577.
- <sup>171</sup> Wiedemann JR, Saugstad AM, Barnes-Powell L, Duran K. Meconium aspiration syndrome. *Neonatal Netw*. 27(2):81-7.
- <sup>172</sup> Obladen. Neugeborenen Intensivpflege. 5th ed. Heidelberg: Springer; 2001.
- <sup>173</sup> Harms K, Osmers R, Kron M, Schill M, Kuhn W, Speer CP, u. a. [Mortality of premature infants 1980-1990: analysis of data from the Göttingen perinatal center]. *Z Geburtshilfe Perinatol*. 1994 Aug ;198(4):126-133.
- <sup>174</sup> Stannigel H. [Current therapy of respiratory distress syndrome in the newborn infant]. *Gynakologe*. 1992 Juni ;25(3):164-168.
- <sup>175</sup> Surfactant replacement therapy for respiratory distress syndrome. American Academy of Pediatrics. Committee on Fetus and Newborn. *Pediatrics*. 1999 März ;103(3):684-685.
- <sup>176</sup> Soll RF, Blanco F. Natural surfactant extract versus synthetic surfactant for neonatal respiratory distress syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*. 2001 ;(2):CD000144.
- <sup>177</sup> Soll RF. Prophylactic natural surfactant extract for preventing morbidity and mortality in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2000 ;(2):CD000511

- <sup>178</sup> el Hanache A, Gourrier E, Karoubi P, Merbouche S, Mouchnino G, Leraillez J. [Modification of C-reactive protein after instillation of natural exogenous surfactants]. *Arch Pediatr*. 1997 Jan ;4(1):27-31.
- <sup>179</sup> Kukkonen AK, Virtanen M, Järvenpää AL, Pokela ML, Ikonen S, Fellman V. Randomized trial comparing natural and synthetic surfactant: increased infection rate after natural surfactant? *Acta Paediatr*. 2000 Mai ;89(5):556-61.
- <sup>180</sup> Turner MA, Power S, Emmerson AJB. Gestational age and the C reactive protein response. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2004 Mai ;89(3):F272-3.
- <sup>181</sup> Seibert K, Yu VY, Doery JC, Embury D. The value of C-reactive protein measurement in the diagnosis of neonatal infection. *J Paediatr Child Health*. 1990 Okt ;26(5):267-70. 3.
- Wasunna A, Whitelaw A, Gallimore R, Hawkins PN, Pepys MB. C-reactive protein and bacterial infection in preterm infants. *Eur J Pediatr*. 1990 März ;149(6):424-7.
- <sup>182</sup> Wasunna A, Whitelaw A, Gallimore R, Hawkins PN, Pepys MB. C-reactive protein and bacterial infection in preterm infants. *Eur J Pediatr*. 1990 März ;149(6):424-7.
- <sup>183</sup> Furukawa R, Miwa M, Arimitsu T, Matsuzaki Y, Kurihara N, Hokuto I, et al. C-reactive protein in extremely low birth weight infants employing evanescent wave immunoassay device: normative standards after birth. *Arch Dis Child [Abstract]*. 2008 ;93: pw390.
- <sup>184</sup> Bekedam DJ, Engelsbel S, Mol BWJ, Buitendijk SE, van der Pal-de Bruin KM. Male predominance in fetal distress during labour. *Am J Obstet Gynecol*. 2002 Dez 187(6):1605-7.
- <sup>185</sup> Sheiner E, Levy A, Katz M, Hershkovitz R, Leron E, Mazor M. Gender does matter in perinatal medicine. *Fetal Diagn Ther*. 2004 19:366-9.
- <sup>186</sup> Volante E, Moretti S, Pisani F, Bevilacqua G. Early diagnosis of bacterial infection in the neonate. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med*. 2004 Nov ;16 Suppl 213-16.
- <sup>187</sup> Haque KN. Defining common infections in children and neonates. *J Hosp Infect*. 2007 Juni ;65 Suppl 2110-4
- <sup>188</sup> Arnon S, Litmanovitz I. Diagnostic tests in neonatal sepsis. *Curr Opin Infect Dis*. 2008 Juni ;21(3):223-7.
- <sup>189</sup> Goldstein B, Giroir B, Randolph A. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med*. 2005 Jan ;6(1):2-8.
- <sup>190</sup> American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit. Care Med*. 1992 Juni ;20(6):864-874.
- <sup>191</sup> Trzeciak S, Zanotti-Cavazzoni S, Parrillo JE, Dellinger RP. Inclusion criteria for clinical trials in sepsis: did the American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine consensus conference definitions of sepsis have an impact? *Chest*. 2005 Jan ;127(1):242-5.