

# Diplomarbeit

## **Zusammenhang zwischen Procalcitonin- und Interleukin 6 -Werten und Blutkulturergebnissen aus dem Nabelschnurblut mit der Early-Onset Sepsis des Neugeborenen (Früh- und Reifgeborene)**

eingereicht von

**Eva Zacharias**

Geb.Dat.: 28.09.1984

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor(in) der gesamten Heilkunde  
(Dr. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der

**Univ.-Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz /  
Klinische Abteilung für Neonatologie**

unter der Anleitung von Betreuer/in

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

**Ao.Univ.-Prof.Dipl.-Ing.Dr.techn. Josef Haas**

## **Eidesstattliche Erklärung**

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

Graz, 29. Juni 2012

(Unterschrift)

# Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich auf meinem Weg begleitet und unterstützt haben!

Mein größter Dank gilt Markus, der Licht in mein Leben bringt, hinter mir steht und in allen schweren Zeiten meines Studiums an mich geglaubt und mich unterstützt hat. Ich möchte mich für die Liebe und Freude bedanken, die er in mein Leben bringt, seine Ruhe, die mich in Zeiten des Stresses auf den Boden holt, sowie für seine Überlegenheit, wenn ich keine Lösung weiß. Und natürlich gilt auch mein Dank seiner Hilfe in allen „computertechnischen“ Fragen.

Weiters gilt mein besonderer Dank Helga, die mir das Licht gezeigt und das Handwerk zur Befreiung gegeben hat. Ich möchte mich für ihre Liebe und Klarheit und die perfekte Unterstützung, vor allem bei allen Prüfungen bedanken.

Ein weiterer Dank gilt meinen Eltern für ihre Begleitung auf meinem Weg und ihre Unterstützung. Ich möchte mich vor allem bedanken, dass sie mir mein Studium ermöglicht haben.

Und natürlich möchte ich mich bei all meinen Freunden bedanken, die mich auf meinem Weg begleitet und sich immer geduldig gezeigt haben, wenn mich mein Studium so sehr in Anspruch genommen hat. Ich möchte mich hier vor allem bei Georg bedanken, der es immer wieder geschafft hat, Klarheit in meine statistische Verwirrung zu bringen, und auch bei Sigrid, die dem Deutsch meiner Arbeit den letzten Feinschliff gegeben hat.

Ein besonderer Dank gilt Univ.-Prof.Dr.med.univ. Resch, der mir die Arbeit an diesem Thema ermöglicht und meine Freude am wissenschaftlichen Arbeiten erweckt hat. Ich möchte mich für die Unterstützung beim Erstellen dieser Arbeit, alle Geduld und vor allem den sofortigen Rat bei anstehenden Fragen bedanken.

Weiters möchte ich mich noch bei Nora bedanken, die mir hilfreiche Tipps zum Erstellen dieser Arbeit gegeben und mich in ihr wissenschaftliches Arbeiten eingebunden hat.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Early-Onset Sepsis des Neugeborenen . . . . .	1
1.1.1	Epidemiologie der Early-Onset Sepsis . . . . .	2
1.1.2	Pathogenese der neonatalen Infektion . . . . .	3
1.1.3	Risikofaktoren der Entstehung einer Early-Onset Sepsis . . . . .	5
1.1.3.1	Mütterliche Risikofaktoren . . . . .	6
1.1.3.2	Kindliche Risikofaktoren . . . . .	7
1.1.4	Klinische Zeichen der Early-Onset Sepsis . . . . .	8
1.1.4.1	Hypo- oder Hyperthermie . . . . .	9
1.1.4.2	Respiratorische Veränderungen . . . . .	9
1.1.4.3	Kardiovaskuläre Veränderungen . . . . .	10
1.1.4.4	Gastrointestinale Veränderungen . . . . .	10
1.1.4.5	Neurologische Veränderungen . . . . .	11
1.1.4.6	Hautveränderungen . . . . .	11
1.1.4.7	Ikterus . . . . .	11
1.1.4.8	Septischer Schock . . . . .	12
1.1.4.9	Differenzialdiagnosen der klinischen Zeichen einer neonatalen Sepsis . . . . .	12
1.1.5	Mikrobiologische Untersuchungen der neonatalen Infektion . . . . .	13
1.1.5.1	Blutkulturen . . . . .	13
1.1.5.2	Abstriche . . . . .	14
1.1.5.3	Magen-Aspirat . . . . .	14
1.1.5.4	Lumbalpunktion . . . . .	15
1.1.5.5	Polymerase-Kettenreaktion (PCR, polymerase chain reaction)	16
1.1.6	Laborchemische Infektionsparameter . . . . .	16
1.1.6.1	Hämatologie . . . . .	16
1.1.6.2	Akute-Phase-Proteine . . . . .	18
1.1.6.3	Zytokine . . . . .	19
1.1.6.4	Oberflächenmarker . . . . .	19
1.1.7	Methoden zum Ausschluss anderer Erkrankungen . . . . .	20
1.1.7.1	Thorax-Röntgen . . . . .	20
1.1.7.2	Echokardiographie . . . . .	20
1.1.7.3	Oberbauchsonographie . . . . .	20
1.1.8	Therapie . . . . .	20
1.1.8.1	Antimikrobielle Substanzen . . . . .	21
1.1.8.2	Hämodynamische Stabilisierung . . . . .	26
1.1.8.3	Adjuvante Therapien . . . . .	26

1.1.9	Prophylaxe . . . . .	26
1.2	Entzündungsmarker . . . . .	27
1.2.1	Procalcitonin (PCT) . . . . .	27
1.2.1.1	Genetik . . . . .	27
1.2.1.2	Pathophysiologie . . . . .	28
1.2.1.3	Laborchemie . . . . .	29
1.2.1.4	Indikationen und Bewertung . . . . .	30
1.2.2	Interleukin 6 (IL-6) . . . . .	31
1.2.2.1	Genetik . . . . .	31
1.2.2.2	Pathophysiologie . . . . .	32
1.2.2.3	Laborchemie . . . . .	32
1.2.2.4	Indikationen und Bewertung . . . . .	33
1.2.3	Entzündungsmarker bei Kindern und Neugeborenen . . . . .	33
<b>2</b>	<b>Methoden</b>	<b>35</b>
2.1	Definition der Early-Onset Sepsis (EOS) . . . . .	35
2.2	Procalcitonin- und Interleukin-6 -Bestimmung . . . . .	37
2.3	Statistische Auswertung . . . . .	37
2.3.1	Sensitivität und Spezifität . . . . .	37
2.3.2	ROC und AUC . . . . .	37
2.3.3	Prädiktive Werte . . . . .	38
2.3.4	Likelihood-Ratio . . . . .	38
2.4	Regressionsanalyse . . . . .	39
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>40</b>
3.1	Early-Onset Sepsis in der Studienpopulation . . . . .	44
3.2	Early-Onset Sepsis und die Risikofaktoren . . . . .	47
3.3	Early-Onset Sepsis und die Entzündungsmarker . . . . .	47
3.3.1	Procalcitonin und Early-Onset Sepsis . . . . .	50
3.3.1.1	Procalcitonin und ROC . . . . .	51
3.3.1.2	Procalcitonin, Sensitivität und Spezifität . . . . .	51
3.3.1.3	Procalcitonin und prädiktive Werte . . . . .	52
3.3.1.4	Procalcitonin und Likelihood-Ratio . . . . .	52
3.3.2	Interleukin 6 und Early-Onset Sepsis . . . . .	52
3.3.2.1	Interleukin 6 und ROC . . . . .	52
3.3.2.2	Interleukin 6, Sensitivität und Spezifität . . . . .	53
3.3.2.3	Interleukin 6 und prädiktive Werte . . . . .	53
3.3.2.4	Interleukin 6 und Likelihood-Ratio . . . . .	54
3.3.3	CRP und Early-Onset Sepsis . . . . .	54
3.3.3.1	CRP (am ersten Lebenstag) und ROC . . . . .	55

3.3.3.2	Maximales CRP (in den ersten vier Lebenstagen) und ROC . . . . .	55
3.3.3.3	CRP (am ersten Lebenstag), Sensitivität und Spezifität . . . . .	55
3.3.3.4	Maximales CRP (in den ersten vier Lebenstagen), Sensitivität und Spezifität . . . . .	56
3.3.3.5	CRP (am ersten Lebenstag) und prädiktive Werte . . . . .	56
3.3.3.6	Maximales CRP (in den ersten vier Lebenstagen) und prädik- tive Werte . . . . .	57
3.3.3.7	CRP (am ersten Lebenstag) und Likelihood-Ratio . . . . .	57
3.3.3.8	Maximales CRP (in den ersten vier Lebenstagen) und Likelihood- Ratio . . . . .	57
3.3.4	Kombination von Procalcitonin und Interleukin 6 . . . . .	63
3.3.4.1	Logistische Regression mit allgemein verwendetem Cut-off Wert . . . . .	63
3.3.4.2	Logistische Regression mit optimalem Cut-off Wert . . . . .	63
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>65</b>
4.1	Optimaler Cut-off Wert, Sensitivität und Spezifität . . . . .	65
4.2	PPV und NPV . . . . .	67
4.3	Procalcitonin, Interleukin 6 und CRP im Vergleich . . . . .	67
4.4	Procalcitonin und Interleukin 6 im Vergleich zur Literatur . . . . .	68
4.5	Kombination von Procalcitonin und Interleukin 6 . . . . .	70
4.6	Conclusio . . . . .	71

## Abkürzungsverzeichnis

<b>AFD</b>	Neugeborenes mit normalen Geburtsgewicht (Appropriate For Date)
<b>AIs</b>	Amnioninfektionssyndrom
<b>AMY-1</b>	Adrenomedullin-1
<b>APGAR</b>	Appearance, Pulse, Grimace, Activity, Respiration
<b>ARDS</b>	Acute Respiratory Distress Syndrome
<b>AUC</b>	Area Under The Curve
<b>CGRP</b>	Calcitonin-Gen-related Peptide
<b>CoNS</b>	Koagulase-negative Staphylococcaceae
<b>CRP</b>	C-reaktives Protein
<b>CTG</b>	Cardiotokographie
<b>DIC</b>	Disseminierte intravasale Gerinnung
<b>E.coli</b>	Escherichia coli
<b>EOS</b>	Early-Onset Sepsis
<b>GBS</b>	Gruppe-B-Streptokokken
<b>G-CSF</b>	Granulozyten-Kolonie stimulierender Faktor
<b>GM-CSF</b>	Granulozyten/Makrophagen-Kolonie stimulierender Faktor
<b>H.influenzae</b>	Haemophilus influenzae
<b>HSV</b>	Herpes-Simplex-Virus
<b>Ig A/G/M</b>	Immunglobulinklasse A/G/M
<b>IL</b>	Interleukin
<b>IL-6</b>	Interleukin 6
<b>INF <math>\gamma</math></b>	Interferon $\gamma$
<b>iNOS</b>	Induktion der NO-Synthase
<b>IT-Ratio</b>	Verhältnis der unreifen („immature“) Neutrophilen Granulozyten zu allen („total“) Neutrophilen Granulozyten
<b>IVIG</b>	Intravenöses Immunglobulin

<b>LBW</b>	Niedriges Geburtsgewicht (Low Birth Weight)
<b>LOS</b>	Late-Onset Sepsis
<b>LPS</b>	Lipopolysaccharid
<b>LR</b>	Likelihood-Ratio
<b>MODS</b>	Multiples Organversagen (Multiple Organ Dysfunction Syndrome)
<b>NEC</b>	Nekrotisierende Enterokolitis
<b>NK</b>	Natürliche Killerzellen
<b>NO</b>	Stickstoffmonoxid
<b>NPV</b>	Negativ Prädiktiver Wert
<b>PAI-1</b>	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor 1
<b>PCR</b>	Polymerase-Kettenreaktion
<b>PCT</b>	Procalcitonin
<b>PPV</b>	Positiv Prädiktiver Wert
<b>RDS</b>	Atemnotsyndrom (Respiratory Distress Syndrome)
<b>RKZ</b>	Rekapillarierungszeit
<b>ROC</b>	Receiver Operator Characteristic
<b>SFD</b>	Untergewichtiges Neugeborenes (Small For Date)
<b>SIRS</b>	Systemic Inflammatory Response Syndrome
<b>STD</b>	Geschlechtskrankheit (Sexually Transmitted Disease)
<b>TAT</b>	Thrombin-Antithrombin III Komplex
<b>TNF <math>\alpha</math></b>	Tumornekrosefaktor $\alpha$
<b>tPA</b>	Gewebe-Plasminogen-Aktivator
<b>VLBW</b>	Sehr niedriges Geburtsgewicht (Very Low Birth Weight)
<b>WBC</b>	Leukozyten (White Blood Cell)

# Definitionen

basierend auf Sitzmann et al. [1]:

**Gestationsalter**

(GA, gestational age)

Dauer der Schwangerschaft berechnet vom ersten Tag der letzten Menstruation

**Reifgeborenes**

(RG, term neonate)

Gestationsalter 259 – 294 Tage (37 – 42 Wochen)

**Frühgeborenes**

(FG, preterm neonate)

Gestationsalter < 259 Tage (< 37 Wochen)

**AGA**

(appropriate for gestational age)

Neugeborenes mit in der Norm liegendem Geburtsgewicht zwischen 10. und 90. Perzentile

**SGA**

(small for gestational age)

untergewichtiges Neugeborenes, Mangelgeburt mit einem Gewicht < 10. Perzentile

**LBW**

(low-birth-weight)

Neugeborenes mit niedrigem Geburtsgewicht < 2500g

**VLBW**

(very-low-birth-weight)

Neugeborenes mit sehr niedrigem Geburtsgewicht < 1500g

## Abbildungsverzeichnis

1	Altersgruppen in der gesamten Studienpopulation . . . . .	41
2	Gruppenaufteilung . . . . .	44
3	Gruppenaufteilung in den verschiedenen Altersgruppen . . . . .	45
4	PCT und IL-6 aus dem Nabelschnurblut in den verschiedenen Gruppen . . . . .	48
5	CRP in den verschiedenen Gruppen . . . . .	48
6	ROC-Kurven von Procalcitonin für die verschiedenen Gruppen . . . . .	51
7	ROC-Kurven von Interleukin 6 für die verschiedenen Gruppen . . . . .	53
8	ROC-Kurven von CRP (am ersten Lebenstag) für die verschiedenen Gruppen . . . . .	55
9	ROC-Kurven von max CRP (in den ersten vier Lebenstagen) . . . . .	56

## Tabellenverzeichnis

1	Vergleich zwischen Early-Onset Sepsis und Late-Onset Sepsis . . . . .	2
2	Neonatale Infektionsmarker . . . . .	17
3	Antibiotika, die gewöhnlich bei Neugeborenen verwendet werden . . . . .	22
3	Antibiotika, die gewöhnlich bei Neugeborenen verwendet werden . . . . .	23
3	Antibiotika, die gewöhnlich bei Neugeborenen verwendet werden . . . . .	24
3	Antibiotika, die gewöhnlich bei Neugeborenen verwendet werden . . . . .	25
4	Perinatale Daten der verschiedenen Altersgruppen . . . . .	41
5	Perinatale Daten der Studienpopulation . . . . .	42
6	Perinatale Risikofaktoren der Studienpopulation . . . . .	42
7	Perinatale Risikofaktoren der verschiedenen Altersgruppen . . . . .	43
8	Perinatale Daten der verschiedenen Gruppen . . . . .	45
9	Perinatale Risikofaktoren der verschiedenen Gruppen . . . . .	46
10	Procalcitonin und Interleukin 6 in den verschiedenen Gruppen . . . . .	49
11	CRP in den verschiedenen Gruppen . . . . .	49
12	Keime der Blutkulturen mit PCT, IL-6 und CRP Werten . . . . .	50
13	Vorhersagewerte für PCT mit optimalem Cut-off . . . . .	58
14	Vorhersagewerte für PCT mit allgemeinem Cut-off (0,5 ng/ml) . . . . .	58
15	Vorhersagewerte für IL-6 mit optimalem Cut-off . . . . .	59
16	Vorhersagewerte für IL-6 mit allgemeinem Cut-off (10 pg/ml) . . . . .	59
17	Vorhersagewerte für IL-6 mit alternativem Cut-off (100 pg/ml) . . . . .	60
18	Vorhersagewerte für IL-6 mit alternativem Cut-off (150 pg/ml) . . . . .	60
19	Vorhersagewerte am 1. Lebenstag für CRP mit optimalem Cut-off . . . . .	61
20	Vorhersagewerte am 1.-4. Lebenstag für CRP mit optimalem Cut-off . . . . .	61
21	Vorhersagewerte am 1. Lebenstag für CRP mit allgemeinem Cut-off (8 mg/l) . . . . .	62
22	Vorhersagewerte am 1.-4. Lebenstag für CRP mit allgemeinem Cut-off (8 mg/l) . . . . .	62
23	Vorhersageergebnis der logistischen Regression mit allgemeinen Cut-offs . . . . .	63
24	Vorhersageergebnis der logistischen Regression mit optimalen Cut-offs . . . . .	64

## Zusammenfassung

*Hintergrund:* Infektionen der Neugeborenen bedingen nach wie vor den Großteil der neonatalen Morbidität und Mortalität. Die Schwierigkeit der Diagnosefindung wird vor allem durch die unspezifischen klinischen Zeichen, mit der die Neugeborenen auf eine Infektion, aber auch auf zahlreiche andere schädliche Stimuli reagieren, sowie durch die begrenzte Sensitivität und Spezifität der durchgeführten Laboruntersuchungen verursacht. Darüber hinaus ist die Blutkultur, der „Goldstandard“ in der Sepsisdiagnostik, erst spät verfügbar und somit nicht ausschlaggebend für die Entscheidung der Therapieeinleitung und auch nur in etwa der Hälfte der Fälle positiv. Aufgrund dessen wird nach Entzündungsmarkern – darunter auch Procalcitonin und Interleukin 6 – gesucht, die in der klinischen Praxis das Management bei Infektionsverdacht verbessern können.

*Methoden:* Die Studie untersucht retrospektiv die Korrelation der Entzündungsparameter Procalcitonin (PCT) und Interleukin 6 (IL-6) mit der Early-Onset Sepsis (EOS) des Neugeborenen. Im Zeitraum Februar 2008 bis März 2011 wurden an der Abteilung für Neonatologie der Univ.-Klinik Graz bei allen Neugeborenen mit Verdacht auf eine Infektion PCT und IL-6 im Nabelschnurblut gemessen und Blutkulturen angelegt.

*Ergebnisse:* Insgesamt konnten 229 Neugeborene in die Studie aufgenommen werden. Darunter waren 16 (7,0%) Neugeborene in der Gruppe der Blutkultur positiven EOS sowie 17 (7,4%) Neugeborene in der Gruppe der klinischen EOS. Mit dem allgemein verwendeten Cut-off Wert von PCT ( $0,500\text{ng/ml}$ ) wurde eine Sensitivität von 46,7% für die zusammengesetzte Gruppe (57,1% für die Blutkultur positive EOS Gruppe, 37,5% für die klinische EOS Gruppe) und eine Spezifität von 97,4% (für alle Gruppen) erreicht. Mit Hilfe des Youden Index konnte ein Cut-off Wert von  $0,235\text{ng/ml}$  ( $0,225\text{ng/ml}$ ,  $0,240\text{ng/ml}$ ) bestimmt werden, womit eine Sensitivität von 80,0% (92,9%, 75,0%) und eine Spezifität von 85,3% (81,7%, 85,3%) erreicht werden konnte. Mit dem allgemein verwendeten Cut-off Wert von IL-6 ( $10,000\text{pg/ml}$ ) wurde eine Sensitivität von 76,2% (91,7%, 55,6%) und eine Spezifität von 69,5% erreicht. Mit Hilfe des Youden Index konnte ein Cut-off Wert von  $18,850\text{pg/ml}$  ( $32,650\text{pg/ml}$ ,  $15,850\text{pg/ml}$ ) bestimmt werden, mit dem eine Sensitivität von 71,4% (83,3%, 55,6%) und eine Spezifität von 82,9% (87,6%, 82,9%) erreicht werden konnte. PCT erreichte eine AUC („area under the curve“) von 0,841 (0,916, 0,775), während IL-6 eine AUC von 0,781 (0,889, 0,638) erreichte. In weiterer Folge konnte in der logistischen Regression die Kombination der Marker PCT und IL-6 das Vorhersageergebnis mit einer Sensitivität von 83,3% und einer Spezifität von 90,0% weiter verbessern.

*Zusammenfassung:* In unserer Studie konnten wir den Nutzen von Procalcitonin und Interleukin 6 aus dem Nabelschnurblut in der Diagnostik der Early-Onset Sepsis bestätigen. PCT erwies sich hierbei besser als die vergleichbaren Marker (IL-6 und CRP). Die Kombination der beiden Marker PCT und IL-6 konnte die Sensitivität und Spezifität noch zusätzlich verbessert, was auf den Nutzen in der klinischen Praxis schließen lässt.

## Abstract

*Background:* Infections of the newborns still form the major cause for neonatal morbidity and mortality. Newborns react to infections and other harmful stimuli with unspecific clinical signs and the laboratory tests used in clinical practice only show a limited sensitivity and specificity. The gold standard for the diagnoses of a sepsis are blood cultures, which are positive in only half of the cases and show a late availability. Thus, they cannot be used for the initiation of a therapy. The combination of these facts strongly hampers the diagnosis of newborn infections. As a consequence, there is a need for inflammatory markers, like Procalcitonin and Interleukin 6, which can improve the management of children with a possible infection.

*Methods:* We carried out a retrospective study, investigating the correlation between the inflammatory markers Procalcitonin (PCT) and Interleukin 6 (IL-6) with the early-onset sepsis (EOS) of newborns. Between February 2008 and March 2011 blood was drawn from all newborns with a suspicion of infection at the ward for Neonatology at the Univ.-Klinik Graz. The blood sample was obtained from the umbilical cord, PCT and IL-6 were measured and blood cultures were created.

*Results:* Overall, 229 newborns could be included in the study. 16 (7.0%) of the newborns were assigned to the blood culture positive EOS group and 17 (7.4%) matched the requirements of the clinical EOS group. Applying the widely used cut-off value for PCT (0.500ng/ml) we obtained a sensitivity of 46.7% for the combined EOS group (57.1% for the blood culture positive EOS group, 37.5% for the clinical EOS group) and a specificity of 97.4% for all groups. By means of the Youden index we adjusted the cut-off value for PCT to 0.235ng/ml (0.225ng/ml, 0.240ng/ml), resulting in a sensitivity of 80.0% (92.9%, 75.0%) and a specificity of 85.3% (81.7%, 85.3%). Applying the widely used cut-off value for IL-6 (10.000pg/ml) we obtained a sensitivity of 76.2% (91.7%, 55.6%) and a specificity of 69.5% for all groups. By means of the Youden index we adjusted the cut-off value for IL-6 to 18.850pg/ml (32.650pg/ml, 15.850pg/ml), resulting in a sensitivity of 71.4% (83.3%, 55.6%) and a specificity of 82.9% (87.6%, 82.9%). PCT achieved an area under the curve (AUC) of 0.841 (0.916, 0.775), while IL-6 achieved an AUC of 0.781 (0.889, 0.638). In an additional step we combined PCT and IL-6 in a logistic regression which further improved the prediction results yielding a sensitivity of 83.3% and a specificity of 90.0%.

*Conclusion:* Our study confirmed that the diagnosis of early-onset sepsis can benefit from the use of Procalcitonin and Interleukin 6 from the umbilical cord blood. PCT achieved better results than the comparable markers IL-6 and CRP. The prediction results can be further improved if IL-6 and PCT are combined, which indicates their usefulness in clinical practice.

# 1 Einleitung

Infektionen der Neugeborenen, primär oder als Komplikation einer anderen Erkrankung, sind weltweit Hauptursache für die neonatale Morbidität und Mortalität. Dafür verantwortlich ist das Zusammenwirken einiger Faktoren, wie die generelle Empfindlichkeit und Anfälligkeit der Neugeborenen, ihre klinisch unspezifische Reaktion auf eine Infektion und die sich immer wieder ändernde Population der Erreger. Dies macht die Sepsis des Neugeborenen zu einer großen Herausforderung und hat, trotz der vor allem in den (technisch) entwickelten Ländern vorliegenden Möglichkeit die Auswirkung der Entzündung zu reduzieren, immer noch eine zu hohe Morbidität und Mortalität. [2] Vor der Möglichkeit der antibiotischen Therapie war die neonatale Sepsis üblicherweise fatal [3].

Das Problem in der Diagnosefindung wird durch die unspezifischen klinischen Zeichen und Symptome – Neugeborene reagieren auf die verschiedenen schädlichen Stimuli (infektiös, metabolisch, respiratorisch, traumatisch) mit einem limitierten Repertoire an stereotypischen Reaktionen [4] – und die geringe Sensitivität und Spezifität der gewöhnlich durchgeführten Laboruntersuchungen bedingt. Die meist verwendeten Labortests für die Diagnose der Sepsis (C-reaktives Protein (CRP), Zahl der Leukozyten, Zahl der neutrophilen Granulozyten, IT-Ratio) liefern nützliche Informationen, jedoch zeigt sich keiner dieser Tests zuverlässig, alle erkrankten Kinder zu erkennen. Zudem sind die Ergebnisse der Blutkultur – Goldstandard in der Diagnose der neonatalen Sepsis – erst spät verfügbar und in nur ungefähr der Hälfte der Fälle positiv. [5] Angesichts dessen werden verschiedene biochemische Marker – darunter Procalcitonin (PCT) und Interleukin 6 (IL-6) – untersucht, um ein besseres klinisches Management bei vermuteter Infektion zu erlangen [6–9].

Ziel dieser Studie war es, auf die spezielle Problematik der Early-Onset Sepsis einzugehen und in weiterer Folge die Entzündungsmarker Procalcitonin und Interleukin 6 und im Speziellen deren Nutzen aus dem Nabelschnurblut auszuarbeiten und darzustellen.

## 1.1 Early-Onset Sepsis des Neugeborenen

Die Early-Onset Sepsis ist normalerweise eine fulminante septikämische Erkrankung, die oft durch eine Meningitis oder eine Pneumonie kompliziert wird [2]. Die Grenze zwischen Early-Onset Sepsis (EOS) und Late-Onset Sepsis (LOS) wird zwischen 72 Stunden [10] und 7 Tagen angegeben [11]. Early-Onset Sepsis und Late-Onset Sepsis lassen sich durch die Merkmale in Tabelle 1 charakterisieren [3, 12].

Tabelle 1: Vergleich zwischen Early-Onset Sepsis und Late-Onset Sepsis

Charakteristik	Early-Onset-Sepsis	Late-Onset-Sepsis
Komplikationen während der Schwangerschaft oder Geburt	meist präsent	meist absent
Herkunft der Erreger	oft vom mütterlichen Genitaltrakt	vom mütterlichen Genitaltrakt oder postnatal von der Umgebung
Klinische Manifestation	fulminanter Beginn der systemischen Infektion, oft mit Pneumonie	schleichender Beginn der fokalen Infektion, oft mit Meningitis
Mortalitätsrate (%)	5 – 20%	5%

### 1.1.1 Epidemiologie der Early-Onset Sepsis

Die Inzidenz der Early-Onset Sepsis wird mit 2 – 4 Fällen pro 1000 Lebensgeburten angegeben [13, 14], wobei sie in den entwickelten Ländern vor allem unter den Neugeborenen mit geringem Geburtsgewicht (LBW, low-birth-weight) vermutlich abnimmt [15]. Durch die intrapartale Antibiotika-Prophylaxe bei vermuteter Besiedelung mit Gruppe-B-Streptokokken konnte die Inzidenz der Early-Onset Sepsis, aber nicht die der Late-Onset Sepsis, reduziert werden [3]. Die meisten Fälle der Early-Onset Sepsis werden wohl durch *Streptococcus agalactiae* (bekannt als Gruppe-B-Streptokokken) ausgelöst [14]. Weitere wichtige Erreger sind andere Streptococcaceae, *Escherichia coli* und andere gramnegative Enterobacteriaceae, Enterococcaceae, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes* und selten Fungi wie *Candida albicans* [2, 16–18]. Dennoch variiert die bakterielle Ätiologie der neonatalen Sepsis zwischen den verschiedenen Krankenhäusern und Bevölkerungen, was vermutlich die Charakteristika der betroffenen Population und deren spezifische kulturelle Merkmale und sexuelle Praktiken, geburtshilfliche und stationäre Methoden und auch das Schema der verwendeten antimikrobiellen Substanzen widerspiegelt [3].

Die drei häufigsten Erreger sind:

- *Gruppe-B-Streptokokken (GBS)*

Diese Erreger besiedeln als Kommensale den Gastrointestinaltrakt und die Vagina der Frauen. Es sind zahlreiche Serotypen, basierend auf den kapsulären Polysaccharid-Antigenen, bekannt: Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII. All diese spielen, mit nationalen Unterschieden in der Prävalenz, eine Rolle in der Early-Onset Sepsis. Die häufigsten sind jedoch I, II und III. [19, 20] Die vaginale Besiedelung wurde in verschiedenen Studien mit 18,5% [21], 12,0% [22], 16,3% [23], 23,0% [24], 7,1% [25] und 17,8% [26] angegeben. Die Prävalenz der Early-Onset Sepsis durch Gruppe-B-Streptokokken zeigt sich in verschiedenen Ländern unterschiedlich: 1,8 von 1000 Lebendgeburten in der USA [27], 1,8 von 1000 in

Canada [28], 1,3 von 1000 in Australien [14], 1,2 von 1000 in Spanien [25], 1,2 von 1000 im Vereinigten Königreich [29] und 0,8 von 1000 in Finnland [30]. Die Mortalitätsraten lagen in den 1970er Jahren um 50,0%, für Kinder < 1500g sogar bei 100,0% [31, 32]. Die Zahlen haben sich seither gebessert und liegen bei 8,0% [30], 11,0% [33] und 19,5% [34].

- *Escherichia coli (E.coli)*

Coliforme Organismen befinden sich im weiblichen Geburtskanal und die meisten Kinder werden im Zuge der Geburt von ihnen besiedelt [3]. Die Prävalenz der Early-Onset Sepsis zeigt sich mit ungefähr 1 von 1000 Lebendgeburten [35]. Eines der kapsulären Antigene (K1) ist eng assoziiert mit neonatalen Infektionen, vor allem der Meningitis [36]. Von 1000 Lebendgeburten werden 200 – 300 besiedelt und davon erleidet ein Neugeborenes eine Infektion [37]. Im Gegensatz dazu erkrankt ein Neugeborenes von 100 – 200 mit Gruppe-B-Streptokokken besiedelten Lebendgeburten an einer Infektion [36].

- *Haemophilus influenzae (H.influenzae)*

Dieser Erreger hat eine Affinität zum weiblichen Genitaltrakt und ist mit einem Anteil von fast 10,0% der dritt-wichtigste Erreger für die Early-Onset Sepsis [2, 38].

### 1.1.2 Pathogenese der neonatalen Infektion

Normalerweise ist der Fetus während der Schwangerschaft von Mikroorganismen geschützt, und wird erst während und nach der Geburt von harmlosen Bakterien aus dem Geburtskanal und der Umgebung besiedelt. Infolgedessen sind die vorherrschenden Organismen im Gastrointestinaltrakt gesunder Neugeborenen vor allem Enterobacteriaceae (einschließlich E.coli, Klebsiella-Arten, Citrobacter-Arten), Bacteroides-Arten, Enterococcaceae, Staphylococcaceae, Lactobacillaceae und Bifidobacteriaceae. Der obere Respirationstrakt wird schnell vor allem von Koagulase-negativen Staphylococcaceae (CoNS), gefolgt von Streptococcus viridans und Staphylococcus aureus besiedelt. Schon nach dem dritten Lebenstag haben 90,0% der Neugeborenen positive pharyngeale Kulturen. Die Besiedelung der Haut erfolgt sehr schnell und am stärksten an Nabel, Perineum und Axillae. Am häufigsten finden sich hier Koagulase-negativen Staphylococcaceae (CoNS) und auch Staphylococcus aureus. Weiters können auch Hefen und saprophytische Bakterien gefunden werden. [2, 39]

Wenn einer oder mehrere Faktoren aus dem Zusammenwirken von dem Schutz durch die Plazenta und der Membranen, der relativ geringen Pathogenität der Erreger und der relativen Kompetenz der Abwehrmechanismen des Neugeborenen gestört ist, kann es zur Infektion kommen. [2]

Eigenschaften der Neugeborenen:

- *Eintrittspforten*

Normalerweise stellen Haut und Mukosa einen Schutz gegen das Eindringen von Erregern dar. Durch Abschürfungen, Schnitte, Schleimhautverletzungen, Kanülen, Katheter

und Endotrachealtuben können diese Barrieren unterbrochen und somit die Pforten für Erreger geöffnet werden. Das Risiko einer neonatalen Infektion auf Intensivstationen sinkt beträchtlich, sobald diese Kinder keine invasiven Zugänge und Endotrachealtuben mehr benötigen. [40]

- *Immunabwehr*

Da die Abwehr der Neugeborenen noch nicht ausgereift und besonders die lokale Entzündungsantwort schwach ist, können die Erreger einfacher in den Blutkreislauf eintreten. [2]

- *Exposition auf Antibiotika*

Durch die ständige Verwendung von Antibiotika im geburtshilflichen und neonatologischen Bereich kommt es immer mehr zur Entwicklung von Resistenzen. Ferner kann dadurch die Besiedelung der normalen Hautflora gestört sein und es infolgedessen zur Superinfektion mit Pathogenen (wie beispielsweise Hefen) kommen. [41, 41–44]

- *Frühgeburtlichkeit*

Frühgeborene haben eine schwächere Immunität, weniger effektive Haut- und Schleimhautbarrieren, mehr Eintrittspforten für die Erreger (infolge der invasiven Maßnahmen), und eine höhere Gefahr durch ihre Exposition in der krankenhäuslichen Umgebung. Je geringer das Geburtsgewicht ist, desto höher ist das Risiko einer Sepsis. [45, 46]

Eigenschaften der Mikroorganismen:

- *Pathogenität*

Folgende Erreger sind gewöhnlich pathogen für Neugeborene: Streptococcus agalactiae (Gruppe-B-Streptokokken, GBS), Staphylococcus aureus, Koagulase-negative Staphylococcaceae (CoNS), Listeria monocytogenes, Haemophilus influenzae, E.coli, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella-Arten, Serratia marcescens, Candida albicans und Herpes-Simplex-Virus (HSV).

- *Dosis*

Umso ausgedehnter die Kolonisation ist, desto höher ist das Risiko des Eindringens der Erreger und der darauf folgenden Sepsis. [47]

- *Konkurrenz*

Die Konkurrenz zwischen den besiedelnden Bakterien hat einen wichtigen Einfluss auf das Maß der Kolonisation und damit das Risiko einer Infektion. Beispielsweise hemmen Bakterien der gesunden Hautflora das Eindringen von Hefen, weiters hemmt Lactobacillus bifidus im Darm von gestillten Kindern gramnegative Organismen. [2]

Die Exposition des Kindes auf Mikroorganismen kann über folgende Wege erfolgen:

- *Transplazental*

Einige virale Erreger können die Barriere der Plazenta penetrieren, somit Effekte auf den

Fetus ausüben und folglich kongenitale Infektionen auslösen. Dies gilt nicht für bakterielle Erreger mit Ausnahme von *Treponema pallidum* und *Listeria monocytogenes*. [2, 12]

- *Aszendierend*

Das Aufsteigen von vaginalen Keimen in die Uterushöhle ist selten [48]. Normalerweise beginnt die Besiedelung des Fetus nach dem Blasensprung [49, 50]. Wenn sich die Geburt aber verzögert, kann es zur Infektion der fetalen Membranen, der Nabelschnur und der Plazenta durch die aufsteigenden Keime kommen [51, 52]. Die Aspiration des infizierten Fruchtwassers kann in weiterer Folge zur Fehlgeburt, Frühgeburt oder neonatalen Sepsis führen [51, 53, 54]. Sobald die Fruchtblase einmal eröffnet ist, steigt das Infektionsrisiko zunehmend mit der Zeit [2].

- *Iatrogen*

Durch diagnostische oder therapeutische Eingriffe, die die Integrität der Mutter und des im Fruchtwasser geschützten Fetus stören (wie beispielsweise Amniozentese [53], zervikale Cerclage [55], Chorionzottenbiopsie [56] oder perkutane Nabelschnurpunktion [53, 57]), können Erreger eine Amnionitis verursachen und in weiterer Folge den Fetus infizieren [3].

- *Intrapartal*

Während der natürlichen Geburt kommt es zur Besiedelung der Haut und des Darmes der Neugeborenen durch die mütterlichen vaginalen Mikroorganismen. Im Gegensatz dazu ist die Haut der Neugeborenen nach Sectio caesarea steril. [58] Viele Fälle der neonatalen Sepsis werden durch opportunistische Erreger des mütterlichen Anogenitalbereiches (Gruppe-B-Streptokokken (GBS), E.coli und andere gramnegative Enterobakterien, Enterokokken und sehr selten Candida) verursacht [2, 16]. Eine wichtige Rolle spielt hier eine bestehende (vor allem vaginale) Infektion der Mutter zum Zeitpunkt der Geburt [3]. Weiters kann es zur Kontamination durch wiederholte vaginale Untersuchungen oder durch die Erreger des bei Wassergeburten verwendeten Wassers kommen [2, 59].

- *Postnatal*

Nach der Geburt erfolgt die Keimbesiedelung über die Umgebung, vor allem durch den Menschen. Neugeborene auf neonatologischen Stationen haben ein größeres Risiko von Erregern besiedelt zu sein, die resistent gegen Antibiotika sind. [2]

### **1.1.3 Risikofaktoren der Entstehung einer Early-Onset Sepsis**

Zur Entstehung der neonatalen Sepsis tragen verschiedene Faktoren, wie die Anfälligkeit des Kindes, sozioökonomische Faktoren, die Kondition der Mutter sowie geburtshilfliche und stationäre Faktoren eine Rolle. Neugeborene, die eine Sepsis entwickeln, haben in der Anamnese meist zumindest einen Risikofaktor, der mit der Schwangerschaft oder der Geburt assoziiert ist. [3] Im Gegensatz dazu wird die Late-Onset Sepsis selten mit schwangerschaftlichen oder geburtshilflichen Komplikationen assoziiert [12].

### 1.1.3.1 Mütterliche Risikofaktoren

Der Early-Onset Sepsis des Neugeborenen liegt meistens ein Amnioninfektionssyndrom (AIS) zugrunde, bei dem es sich um eine ascendierende Infektion des Fruchtwassers handelt. In Abhängigkeit vom Schweregrad kann dies zu einer Temperaturerhöhung und Erhöhung der Infektionsparameter (Leukozytose, Linksverschiebung, CRP-Erhöhung) der Mutter führen und eine vorzeitige Wehentätigkeit auslösen. Wenn die Infektion bei scheinbar intakter Fruchtblase erfolgt, führt dies unumgänglich zum Blasensprung, und umgekehrt kommt es beim vorzeitigen Blasensprung zur Aszension der vaginalen Keime, da die Barriere zwischen Scheide und Fruchtwasser unterbrochen ist. Die klinischen Zeichen eines Amnioninfektionssyndrom sind:

- Wehen vor der 37 Schwangerschaftswoche
- mütterliche Temperaturerhöhung  $\geq 38^{\circ}\text{C}$
- vorzeitiger Blasensprung (vor Einsetzen der Wehen) oder Blasensprung vor  $\geq 18$  Stunden

Diese Zeichen beschreiben jedoch nur die mütterliche Entzündungsreaktion und können keine klare Aussage über den Infektionsstatus des Kindes machen. [16]

Auch unzureichend behandelte fokale Infektionen (vor allem vaginale und zervikale Infektionen, sowie Harnwegsinfekte) oder kurz zuvor erworbene Geschlechtskrankheiten (STD, sexually transmitted disease) stellen ein Risiko zur Entwicklung der neonatalen Sepsis dar [12]. Weiters haben Neugeborene, deren Mütter keine relevanten Antikörper aufweisen (wie es bei der Infektion mit Gruppe-B-Streptokokken der Fall sein kann), ein erhöhtes Infektionsrisiko [2].

Ein weiterer Risikofaktor ist die Besiedelung der Mutter mit Gruppe-B-Streptokokken. Ohne weitere Risikofaktoren liegt das Infektionsrisiko der Neugeborenen bei dieser Besiedelung der mütterlichen Genitale im dritten Trimester bei 1,0%. [12]

Neugeborene, deren Mütter an schwerer Präeklampsie litten, haben im Vergleich zu Kindern gesunder Mütter häufiger eine Neutropenie und sind anfälliger für eine Early-Onset Sepsis [60, 61].

Ausschlaggebend scheint auch der sozioökonomische Status der Mutter zu sein, der sich umgekehrt proportional zur Rate der Frühgeburtlichkeit und dem geringen Geburtsgewicht (LBW) verhält, welche wiederum zur neonatalen Infektion prädispositionieren [12]. Die mütterliche Gesundheit und ihr Ernährungszustand sind also auch an der Entstehung kindlicher Infektionen beteiligt. Weiters scheint die schwarze Bevölkerung stärker vom Infektionsrisiko betroffen zu sein. [3]

Der Missbrauch von Substanzen während der Schwangerschaft scheint die Immunfunktion des Kindes zu beeinträchtigen. Unter Kindern von alkohol- und heroinabhängigen Frauen konnten signifikante Abnormalitäten der T-Zell-Funktion festgestellt werden, welche sich in einer erhöhten Infektanfälligkeit im ersten Lebensjahr äußerten. Zu einem erhöhten Risiko für neonatale Infektionen prädispositionieren die schädlichen Wirkungen von Kokain und Opiaten auf die Plazentafunktion, das fetale Wachstum, die fetale Entwicklung und die Frühgeburtlichkeit. Jedoch zeigt sich Drogenmissbrauch als multifaktorielles Problem, bei dem es nicht nur um

die ungünstigen pharmakologischen Wirkungen, sondern auch um die Lebensweise der Mutter, ihren inadäquaten Ernährungszustand und die unzulängliche pränatale Versorgung geht. [62–65]

### 1.1.3.2 Kindliche Risikofaktoren

Mit der bakteriellen Sepsis des Neugeborenen meist signifikant assoziiert ist deren Geburtsgewicht und die Frühgeburtlichkeit [3, 66–70]. Einige Studien konnten zeigen, dass das Sepsis-Risiko umso größer ist, je kleiner die Neugeborenen sind [68, 70, 71]. Während unter den Kindern mit sehr geringem Geburtsgewicht (VLBW, very-low-birth-weight) Infektionen als häufigste Ursache zum Tod führen [72], ist es im Gegensatz dazu für ein Neugeborenes bei unkomplizierter Schwangerschaft mit normaler Dauer und keinen Komplikationen bei der Geburt ungewöhnlich, eine Early-Onset Sepsis zu entwickeln [3].

Die erhöhte Infektionsanfälligkeit insbesondere bei Frühgeborenen lässt sich durch die „Leere“ des immunologischen Gedächtnisses aufgrund der Unreife des angeborenen und adaptiven Immunsystems erklären [12, 16]:

- *Maternale Leihimmunität*

Der Fetus bekommt über die Plazenta von der Mutter neben Sauerstoff und Nährstoffen auch Antikörper, Zytokine, Hormone und Fremdantigene, welche zu einer passiven Immunität führen, und auch eine lang anhaltende aktive Immunreaktion hervorrufen. Für den sogenannten „Nestschutz“ bekommt der Fetus von der Mutter ab der 18. Schwangerschaftswoche Antikörper der Immunglobulinklasse G (IgG), deren Serum-Konzentration bei der 25. Schwangerschaftswoche ca. 20,0% der Mutter erreicht, ab der 35. Schwangerschaftswoche steil ansteigt und am errechneten Geburtstermin um ca. 10,0% höher als bei der Mutter ist. Die Subklasse IgG2, die zur Bekämpfung von verkapselten Bakterien wichtig ist, wird in geringerem Ausmaß übertragen als die Subklassen IgG1 und IgG3, was zur erhöhten Infektionsanfälligkeit der Neugeborenen für Gruppe-B-Streptokokken beitragen könnte. [16, 73, 74]

- *Angeborene Immunabwehr*

Für die erste Verteidigungsreaktion beim Kontakt mit invasiven Pathogenen sind unter anderem die Haut- und Schleimhautbarrieren, die antimikrobiellen Peptide, das Komplementsystem, Granulozyten, Monozyten, Makrophagen, dendritische Zellen und Natürliche Killerzellen (NK) verantwortlich. Bei Neugeborenen sind diese noch nicht vollständig entwickelt und es kommt zur mangelnden Markierung von Pathogenen mit Antikörpern. Die Anzahl der mobilisierbaren Phagozyten ist wesentlich geringer als die der Erwachsenen und die Fähigkeit zur Chemotaxis, Adhärenz an das Gefäßendothel und die Prozessierung des Phagozytosematerials sind verringert. Zur erhöhten Anfälligkeit gegenüber intrazellulären Erregern könnte die reduzierte Funktion der Natürlichen Killerzellen beitragen, die an der Abwehr von intrazellulären Erregern (wie Viren oder Listeria

monocytogenes) beteiligt sind, indem sie über die Sekretion von Interferon- $\gamma$  und anderen Faktoren Makrophagen stimulieren. Weiters ist die Antigenpräsentation aufgrund verminderter MHC2-Expression und damit unzureichender Funktion der dendritischen Zellen vermindert, da diese Mikroorganismen oder deren Bestandteile phagozytieren und im Zusammenhang mit MHC2 präsentieren. [16, 75–78]

- *Adaptive Immunabwehr*

Beim Neugeborenen ist die Primärantwort weniger effizient als die Sekundärantwort. Der Verbrauch der mütterlichen IgG-Antikörper übersteigt die Eigenproduktion des Kindes, sodass mit drei Monaten die Serum-Konzentration nur noch 40,0% des Erwachsenen beträgt. Die kindliche Eigenproduktion des primären Antikörper-Repertoires (IgM) nimmt schon ab der zweiten Schwangerschaftshälfte exponentiell zu, während das sekundäre Antikörper-Repertoire (IgG, IgA) erst unmittelbar nach der Geburt aufgrund des Antikörperkontaktes gebildet wird. Dementsprechend erreichen die vom Kind produzierten Serumkonzentrationen von IgM, IgG und IgA erst im Alter von 1,7 beziehungsweise 14 Jahren das Niveau des Erwachsenen. Beim Frühgeborenen ist der „Nestschutz“ unvollständig, und der Klassenwechsel zu IgG beginnt schon vorzeitig, was in einem kleineren Repertoire an naiven IgM-produzierenden B-Zellen resultiert. [16, 79]

Als weitere Risikofaktoren zur Entstehung der neonatalen Sepsis werden die fetale Hypoxie, die perinatale Asphyxie (definiert als 5-Minuten Apgar-Score  $< 6$  im Zusammenhang mit vorzeitigem Blasensprung und traumatischen Geburten) beschrieben [3, 12]. Ferner könnten Stoffwechselstörungen zur Infektion prädispositionieren [80].

Im Erkrankten an einer neonatalen Sepsis (mit Ausnahme der konnatalen Infektionen) überwiegt das männliche Geschlecht. In diesem Zusammenhang wurde ein Gen am X-Chromosom beschrieben, welches an der Funktion des Thymus oder der Synthese von Immunglobulinen involviert sein soll. Die bessere Infektionsabwehr der weiblichen Neugeborenen resultiert somit aus der doppelten Anzahl dieser Gene, die sie zur Verfügung haben. [3, 12, 81, 82]

#### **1.1.4 Klinische Zeichen der Early-Onset Sepsis**

Als frühester Hinweis auf eine Sepsis beginnend bei oder kurz nach der Geburt können Zeichen des fetalen Stresses sein. So können eine fetale Tachykardie während der Austreibungsphase der Geburt oder ein 5-Minuten Apgar-Score  $< 7$  auf eine Infektion hinweisen [83, 84]. Da ein niedrigerer Apgar-Score mit geringem Geburtsgewicht und Gestationsalter assoziiert ist, kann er aber bei Frühgeborenen, die das größte Sepsis-Risiko haben, nicht nützlich eingesetzt werden [85].

Die frühen Zeichen der Sepsis sind oft subtil und unspezifisch. So können schlechtes Trinkverhalten, verminderte Reagibilität, leichte Erregbarkeit oder einfach „schlechtes Aussehen“ schon auf eine Infektion hinweisen. „Going off“ ist oft das erste und wichtigste Zeichen, bei dem der Mutter oder den erfahrenen Krankenschwestern auffällt, dass mit dem Kind „einfach

etwas nicht stimmt“. Diese frühen und unspezifischen Zeichen zeigen sich bei Kindern mit sehr geringem Geburtsgewicht (VLBW) oft noch undeutlicher und erschweren die Diagnose ungemein. Deutlicher zeigen sich respiratorische, kardiovaskuläre, gastrointestinale oder neurologische Veränderungen, Temperatur- und Hautveränderungen. Die Zeichen der neonatalen Meningitis sind oft nicht von denen der Sepsis zu unterscheiden, und auch nicht-infektiöse Erkrankungen der Neugeborenen weisen oft die gleichen Merkmale auf. Differentialdiagnosen der klinischen Zeichen der neonatalen Sepsis sind unter Kapitel 1.1.4.9 aufgelistet. Ferner rufen die meisten Pathogene in der neonatalen Phase gleichartige klinische Symptome hervor. [2, 3, 36, 66]

Bei Neugeborenen, die keine klinischen Zeichen einer Infektion aufweisen, sind schwere bakterielle Infektionen sehr unwahrscheinlich, auch wenn ein gewisser Risikofaktor besteht [86, 87]. Gelegentlich kann es jedoch zu einer Bakteriämie ohne klinische Symptome kommen [35, 88].

#### **1.1.4.1 Hypo- oder Hyperthermie**

Nach dem Ausschließen des Einflusses der Umgebungstemperatur und mütterlichen Fiebers auf das Neugeborene in den ersten 1 – 2 Lebensstunden, müssen Temperaturen, die länger als eine Stunde  $< 36^{\circ}\text{C}$  und  $> 38^{\circ}\text{C}$  sind, immer hinweisend auf eine Infektion gesehen werden, bis diese wiederum ausgeschlossen werden kann [89, 90]. Jedoch kann sich die Temperatur bei Neugeborenen mit Sepsis neben einer Erhöhung auch erniedrigt oder sogar normal zeigen [3, 91–97]. Beim Vergleich der Temperaturen zwischen den verschiedenen Altersgruppen konnte herausgefunden werden, dass Kinder mit normalem Gestationsalter im Vergleich zu Frühgeborenen eher zu Hyperthermie (12,0% versus 1,0%) neigen, während Frühgeborene im Vergleich zu Reifgeborenen eher mit einer Hypothermie (13,0% versus 3,0%) reagieren [3, 91]. Zur Temperaturmessung können verschiedene Methoden, wie die umbilikale oder axilläre Messung und die Messung mittels Infrarot-Ohrthermometer, angewendet werden [98–100]. Zur Messung der Kernkörpertemperatur empfiehlt sich aber die rektale Messung [3]. Bei Kindern mit Verdacht auf eine Sepsis, die keine Temperaturveränderungen zeigen, kann eine Temperaturdifferenz von  $> 3,5^{\circ}\text{C}$  zwischen der rektalen (Kernkörper-) Temperatur und der Hauttemperatur an der Fußsole ein besserer Indikator für eine Infektion sein, als die alleinige Messung der Kernkörpertemperatur [94].

#### **1.1.4.2 Respiratorische Veränderungen**

Bei praktisch jeder Infektion im Neugeborenenalter kommt es zur respiratorischen Beeinträchtigung. Apnoe ist eines der spezifischsten Zeichen für die Sepsis, tritt aber erst spät auf. [3] Jedoch kann es bei den Frühgeborenen schon ein frühes Zeichen für alle Arten von Infektionen sein [2]. Unspezifische respiratorische Zeichen können sich folgendermaßen äußern [2, 3, 16]:

- Atemnotsyndrom (RDS, respiratory distress syndrome)

- Tachypnoe (Atemfrequenz  $> 60/min$ )
- Apnoe
- Verminderte Atemgeräusche
- Rasselgeräusche
- „Grunting“ (Grunzen)
- Nasenflügeln
- Costale und sternale Einziehungen
- Zyanose
- Steigender Sauerstoffbedarf
- Steigender Beatmungsaufwand

#### 1.1.4.3 Kardiovaskuläre Veränderungen

Bei fortschreitendem Infektionsgeschehen kommt es zur Zentralisierung durch die Ausschüttung der vasokonstriktiven Katecholamine Noradrenalin und Adrenalin des Nebennierenmarks. Außerdem entwickelt sich die Zentralisierung infolge des Kapillarlecks, das zu einem verringertem intravasalen Volumen führt. Weiters kommt es auch zur myokardialen Dysfunktion aufgrund der negativ-inotropen Wirkung von Entzündungsmediatoren (wie beispielsweise Interleukin 6). Der arterielle Mitteldruck zeigt sich bei den Neugeborenen auch bei schweren Sepsisfällen noch lange Zeit normal. Klinisch äußern sich die kardiovaskulären Veränderungen folgendermaßen [2, 3, 16]:

- Tachykardie (Herzfrequenz  $> 180/min$ ), Bradykardie (Herzfrequenz  $< 80/min$  beim Reifgeborenen,  $< 100/min$  beim Frühgeborenen [101]) oder Arrhythmien
- Verlängerte Rekapillarierungszeit (RKZ  $> 2sek$ )
- Marmorierter Haut
- Periphere Zyanose
- Arterielle Hypotonie

#### 1.1.4.4 Gastrointestinale Veränderungen

Die relativ früh auftretenden abdominellen Zeichen werden oft durch die Mutter oder die Krankenschwester bemerkt, die anfängliche Veränderung oder schnelle Ermüdbarkeit im Trinkverhalten wahrnehmen. Weitere Zeichen sind folgende [2, 3, 16]:

- Regurgitation
- Erbrechen

- Geblähtes Abdomen
- Diarrhöe
- Ileus
- Hepatomegalie
- Anorexie

#### **1.1.4.5 Neurologische Veränderungen**

Neugeborene können neurologische Zeichen auch ohne Vorhandensein einer Meningitis aufweisen [12]. Zu diesen zählen[2, 3]:

- Lethargie
- Irritabilität
- Krampfanfälle
- Gespannte oder vorgewölbte Fontanellen
- Zittern oder Zucken

#### **1.1.4.6 Hautveränderungen**

Mit einer Bakteriämie können folgende Hautveränderungen einhergehen [2, 3]:

- Zellulitis
- Abszesse
- Sclerema neonatorum
- Petechien
- Purpura
- Erythema multiforme

#### **1.1.4.7 Ikterus**

Der Neugeborenen-Ikterus ist so häufig, dass er nicht als Vorhersagewert dienen kann. Selten kann er aber auch als alleiniges Zeichen auf eine Sepsis hinweisen, welches durch die Effekte der Endotoxine der Bakterien auf die Leber und eine gesteigerte Hämolyse entsteht. [102, 103]

#### 1.1.4.8 Septischer Schock

Als Reaktion auf eine Entzündung kommt es zu einer erhöhten Kapillarpermeabilität, damit die im Plasma enthaltenen antibakteriellen Proteine (Opsonine, Komplementfaktoren, Immunglobuline) ins Interstitium vordringen können. Ferner ermöglicht die lokale Vasodilatation und die damit verminderte Blutflussgeschwindigkeit die Extravasation der Leukozyten. Bei einer Sepsis kommt es zu einer generalisierten Reaktion, welche im hypovolämischen Schock mündet. Der Körper reagiert darauf mit der Ausschüttung von antidiuretischem Hormon (und somit einer Reduktion der Urinproduktion) und der Ausschüttung der Katecholamine Noradrenalin und Adrenalin (und damit einer Vasokonstriktion). In der Lunge führt das generalisierte Kapillarleck durch die verlängerte Diffusionsstrecke für Sauerstoff zum ARDS (acute respiratory distress syndrome). In den Nieren werden die aufgequollenen Nierenglomeruli durch die feste Bowmansche Kapsel eingengt und können keinen Primärharn produzieren, was zum akuten Nierenversagen (ANV) führt. [104] Außerdem wirken Entzündungsmediatoren wie Interleukin 6 negativ inotrop [105]. Trotzdem kann der mittlere arterielle Druck bei niedriger Blutdruckamplitude oft noch lange normal bleiben [104].

#### 1.1.4.9 Differenzialdiagnosen der klinischen Zeichen einer neonatalen Sepsis

Die klinischen Zeichen der neonatalen Sepsis sind oft nicht von denen anderer Erkrankungen zu unterscheiden. Diese sind im Folgenden aufgelistet.

- *Respiratorische Symptome*  
transiente Tachypnoe des Neugeborenen, Atemnotsyndrom (RDS, respiratory distress syndrome), Atelektasen, Aspirationspneumonie (einschließend Mekoniumaspirationssyndrom), Pneumothorax, Erkrankungen des zentralen Nervensystems (Hypoxie, Hämorrhagie), kongenitale Anomalien (einschließend Tracheoösophageal-Fistel, Choanalatresie, Zwerchfellhernie, hypoplastische Lungen), kongenitale Herzerkrankungen, Herzrhythmusstörungen, Hypothermie (Sclerema neonatorum), Hypoglykämie, Drogenentzugssyndrom des Neugeborenen
- *Hypo- und Hyperthermie*  
veränderte Umgebungstemperatur, Störungen des Temperaturregelungsmechanismus des zentralen Nervensystems (einschließend Anoxie, Hämorrhagie und Kernikterus), Dehydratation, kongenitale Nebennierenhyperplasie, Hypo- und Hyperthyreose, Impfreaktionen, Drogenentzugssyndrom des Neugeborenen
- *Ikterus*  
Still-Ikterus, Blutgruppeninkompatibilität, Hämolyse, Resorption von Hämorrhagien, gastrointestinale Obstruktion (einschließend Pylorusstenose), intra- und extrahepatische Gallengangsobstruktion, angeborene Stoffwechselstörungen (einschließend Galaktosämie, Glykogenose Typ IV, Tyrosinämie, Lipidstoffwechselstörungen, peroxisomale Erkrankungen)

gen, gestörte Gallensäureproduktion), hereditäre Erkrankungen (einschließlich Zystische Fibrose,  $\alpha$ 1-Antitrypsinmangel, Galleausscheidungsdefekte (Dubin-Johnson-Syndrom, Rotor-Syndrom, Byler-Syndrom, Aagenaes-Syndrom)), Hypothyreose, prolongierte parenterale Hyperalimentation

- *Gastrointestinale Symptome*

gastrointestinal vermittelte Allergien, Überfütterung, Aerophagie, intestinale Obstruktion, nekrotisierende Enterokolitis (NEC), angeborene Stoffwechselstörungen (einschließlich Galaktosämie, Harnstoffzyklusdefekte, organische Azidämien), Ileus (sekundär zur Pneumonie), kongenitale Nebennierenhyperplasie, Magenperforation, Hypokaliämie, Hypo- und Hyperkalzämie, Hypoglykämie, Drogenentzugssyndrom des Neugeborenen

- *Lethargie*

Erkrankungen des zentralen Nervensystems (einschließlich Hämorrhagie, Hypoxie und subdurale Effusionen), kongenitale Herzerkrankungen, familiäre Dysautonmien, Hypoglykämie, Hyperkalzämie, Drogenentzugssyndrom des Neugeborenen

- *Krampfanfälle*

Hypoxie, intrakranielle Hämorrhagien, Kernikterus, kongenitale Fehlbildungen des zentralen Nervensystems, angeborene Stoffwechselstörungen (einschließlich Harnstoffzyklusdefekte, organische Azidämien, Galaktosämie, Glykogenspeichererkrankungen, peroxisomale Erkrankungen), Pyridoxinmangel, Hypoglykämie, Hypokalzämie, Hypo- und Hypernatriämie, Hypomagnesiämie, Drogenentzugssyndrom des Neugeborenen

- *Petechien und Purpura*

Geburtstrauma, Blutgruppeninkompatibilität, thrombozytopenische Purpura, mütterlicher Lupus erythematodes, mütterliche Medikamente, Riesenhämangiom (Kasabach-Merritt-Syndrom), disseminierte intravasale Gerinnung (DIC), Mangel an Gerinnungsfaktoren, kongenitale Leukämie, Kindesmissbrauch [3]

## 1.1.5 Mikrobiologische Untersuchungen der neonatalen Infektion

Neben der klinischen – und oft unspezifischen – Präsentation des Neugeborenen finden die im Folgenden besprochenen Untersuchungen Anwendung in der Diagnosefindung der neonatalen Sepsis.

### 1.1.5.1 Blutkulturen

Die positive Blutkultur wird als „Goldstandard“ zur Diagnose der neonatalen Sepsis angegeben. Dennoch bleibt sie trotz eindeutiger klinischer und laborchemischer Zeichen einer Sepsis häufig negativ [16]. Bei einer Untersuchung von Autopsieergebnissen von reifgeborenen Kindern, die an einer schweren Infektion verstorben waren, konnte die Blutkultur eine Sensitivität

von 82,0% und eine Spezifität von 96,0% aufweisen [106]. Normalerweise zeigen sich die Blutkulturen nach 12 – 24 Stunden positiv, und nahezu alle Kulturen wachsen innerhalb der ersten 48 Stunden [107, 108]. Ausnahmen, die möglicherweise etwas länger brauchen, sind *Listeria monocytogenes*, *Haemophilus influenzae* und Hefen [2]. Idealerweise sollte, nach ausreichender Desinfektion und Trocknungszeit der Haut, das Blut aus einer peripheren Vene entnommen werden [2]. Weiters kann die Blutentnahme aus frisch gelegten venösen Zugängen oder Nabelarterien-Kathetern erfolgen. In Fällen, wo all diese Methoden nicht möglich sind, kann auch noch eine kapillare Blutentnahme erfolgen, deren Risiko der Kontamination jedoch weit höher ist. [2]

Zum kulturellen Erregernachweis können schon 0,5ml Blut reichen, trotzdem steigt die Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses mit 1 – 2ml entnommenem Blut [109–111]. Kulturen, die nach 24 – 48 Stunden ein reines Wachstum zeigen, können praktisch als positiv gewertet werden. Das Ergebnis falsch-positiver Blutkulturen durch Kontamination kann durch sorgfältige Blutentnahmetechnik und auch der Entnahme von zwei Proben an unterschiedlichen Stellen verringert werden. [2] Potenzielle Ursachen für falsch-negative Blutkulturen sind geringe Blutvolumina, intermittierende Bakteriämien und eine Unterdrückung der Bakterien durch eine prä- oder intrapartale Antibiotika-Gabe der Mutter [16]. Ferner sollte bei negativen Kulturen und klinisch oder laborchemisch auffälligem Kind auch an die Möglichkeit einer viralen oder fungalen Infektion gedacht werden [2].

### **1.1.5.2 Abstriche**

Abstriche der entzündeten Region sind hilfreich, im Gegensatz zu Routineabstrichen (von Nabel, Leiste, Ohr, Nase, Pharynx und Rektum), die lediglich Aussagen über die Besiedelung des Kindes machen, welche wiederum natürlicherweise geschieht [2]. Mehrere Studien konnten zeigen, dass die Resultate der Kulturen von oberflächlichen Abstrichen von begrenztem Wert sind [112, 113]. Ferner beschreiben Vaginal-Abstriche der Mutter nur eine potentielle Exposition und können lediglich bei der Entscheidung der antibiotischen Substanz unterstützend einwirken [2].

### **1.1.5.3 Magen-Aspirat**

Ein Aspirat aus dem Magen kann nur unmittelbar nach der Geburt (noch bevor das Neugeborene gefüttert wird) erfolgen, und repräsentiert vor allem das Fruchtwasser und etwaige geschluckte Sekrete aus dem Geburtskanal. Ungefähr ein Drittel der Aspirate zeigt in der Gram-Färbung Bakterien, die potentiell pathogen wirken können, wie beispielsweise Enterobacteriaceae, Enterococcaceae und *Streptococcus agalactiae* (Gruppe-B-Streptokokken, GBS). Die Resultate haben bei gesunden Neugeborenen keine Auswirkung auf eine Therapieentscheidung, unterstützen bei erkrankten Kindern aber die Auswahl der antibiotischen Therapie, die folglich das Bakterien-Spektrum des Aspirats abdecken muss. [2]

#### 1.1.5.4 Lumbalpunktion

Da die neonatale Sepsis bei ungefähr einem Viertel der Kinder mit einer Meningitis einhergeht und dies eine höhere Morbidität und Mortalität bedingt, wird die Durchführung einer Lumbalpunktion und Liquoruntersuchung vorgeschlagen, noch bevor mit der antibiotischen Therapie begonnen wird. Die Inzidenz der bakteriellen Meningitis beträgt  $< 1$  von 1000 Kindern. Neugeborene mit geringem Geburtsgewicht (LBW) sind etwa 10 mal häufiger betroffen als größere Kinder. Zur Durchführung der Lumbalpunktion sollten strikt sterile Schutzmaßnahmen gewählt und der Eingriff idealerweise am aufrecht sitzend positioniertem Kind durchgeführt werden. [2, 3] Positive Ergebnisse der Lumbalpunktion sind bei der Late-Onset Sepsis wahrscheinlicher als bei der Early-Onset Sepsis [114]. Generell zeigt die Lumbalpunktion nur bei Kindern mit klinisches Zeichen einer Sepsis einen Nutzen und sollte bei Kindern, bei denen lediglich mütterliche Risikofaktoren bestehen, nicht angewendet werden [3]. Grundsätzlich wird in den meisten Kliniken eine Lumbalpunktion bei der Early-Onset Sepsis nur als sinnvoll erachtet, wenn das Neugeborene neurologische Symptome aufweist [16].

Zur Analyse des Liquors werden folgende Parameter herangezogen [2]:

- Leukozyten (WBC, white blood cell): Obwohl eine Leukozytose gelegentlich auch bei Neugeborenen ohne Meningitis beschrieben wurde, sollten Werte  $> 20/mm^3$  als verdächtig [115] und Werte  $> 300/mm^3$  stark hinweisend auf eine Meningitis angesehen werden. Im Falle der Entnahme von blutigem Liquor sollte das Verhältnis zwischen roten (Erythrozyten) und weißen (Leukozyten) Blutkörperchen berechnet werden und im nicht-infizierten Liquor  $> 500 : 1$  betragen.
- Proteine: Die Menge der Proteine im Liquor liegt bei Meningitis meist über den normalen Werten von  $1,5 - 2g/l$  im Reifgeborenen und bei etwas höheren Werten im Frühgeborenen, die jedoch meist bei  $< 3g/l$  liegen.
- Glukose: Das Glucose-Level sollte zwischen Liquor und Blut verglichen werden und beim gesunden Kind im Liquor mindestens 50,0% des Blut-Levels ausmachen. Hinweisend auf eine Meningitis sind niedrige Liquor-Level ( $< 1mmol/l$  oder  $< 30,0\%$  des Blut-Levels).
- Zytokine: Zur Diagnose der Meningitis können auch verschiedene Zytokine, darunter Interleukin 6 (IL-6) und Tumornekrosefaktor  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) gemessen werden.
- Mikroskopie: Obwohl die Therapie umgehend mit Breitspektrum-Antibiotika erfolgen sollte, können die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung des Liquors helfen, diese an die entsprechenden Erreger anzupassen.
- Weiters sollte der Liquor auf Gruppe-B-Streptokokken und E.coli K1 Antigen getestet werden. Zur Diagnose von Herpesviren kann die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) eingesetzt werden.

### 1.1.5.5 Polymerase-Kettenreaktion (PCR, polymerase chain reaction)

Bei dieser Nukleinsäure-Amplifikationstechnik wird das bakterienspezifische 16S RNA Gen, welches im Genom aller Bakterien vorkommt, nachgewiesen [116]. Mit dem Ziel eines früheren Keimnachweises als mit konventioneller Mikrobiologie wurden in der Diagnostik der neonatalen Sepsis Sensitivitäten von 67,0% – 96,0% und Spezifitäten von 88,0% – 99,0% berichtet [117, 118].

### 1.1.6 Laborchemische Infektionsparameter

Die Suche nach einem idealen Infektionsmarker gestaltet sich als anspruchsvoll, da dieser biochemisch stabil, das benötigte Blutvolumen möglichst gering, und die Analyse schnell und einfach durchführbar sein sollte [119]. Idealerweise sollte er eine hohe Sensitivität und Spezifität aufweisen, was wesentlich von der Wahl des Cut-off Wertes abhängig ist. Zur Diagnose der neonatalen Sepsis und damit der rechtzeitigen antibiotischen Therapie ist vor allem eine hohe Sensitivität wichtig, während vor allem bei Frühgeborenen bei mehrmaligem Infektionsverdacht im Laufe des stationären Aufenthaltes eine höhere Spezifität gefragt ist, um unnötige antibiotische Therapien vermeiden zu können [16]. Während die Sensitivität durch serielle Messungen verbessert werden kann, wird durch die Verwendung von mehreren Markern eine höhere Genauigkeit erzielt [7]. Die zur Diagnostik der neonatalen Infektion bekannten Marker für Früh- und Reifgeborene sind in Tabelle 2 aufgelistet.

#### 1.1.6.1 Hämatologie

##### *Blutbild*

Die Normwerte für die Gesamtleukozytenzahl bei gesunden Reifgeborenen befinden sich im weiten Bereich von 10000 – 35000/ $\mu\text{l}$  und haben wie die Gesamtzahl der Neutrophilen Granulozyten für die Diagnostik der neonatalen Sepsis nur einen eingeschränkten Nutzen [106, 120–123]. Einerseits sind viele nicht-infektiöse Vorgänge, wie z.B. mütterliche Hypertension, mütterliches Fieber während der Geburt, längere intrapartale Oxytocin-Gabe, traumatische Geburt, Asphyxie, Mekoniumaspirationssyndrom, Pneumothorax mit unkompliziertem Atemnotsyndrom, Periventrikuläre Hämorrhagien, Krampfanfälle, länger andauerndes Weinen, asymptomatische Hypoglykämie, oder Operationen, mit einer Neutropenie oder Neutrophilie assoziiert [124], andererseits haben viele Kinder mit Infektionsverdacht noch eine normale Gesamtzahl der Neutrophilen Granulozyten [12]. Jedoch ist eine kurz nach der Geburt gemessene Neutropenie  $< 5000/\mu\text{l}$  in Kombination mit Atemnotsymptomatik signifikant mit der neonatalen Sepsis assoziiert [123, 125–128]. In diesem Fall lässt sich die Neutropenie auf eine Knochenmarksdepletion zurückzuführen und weist somit in der Regel auf eine schlechte Prognose hin [127].

##### *Differentialblutbild*

Die absolute Zahl an unreifen Granulozyten ist nicht aussagekräftig, da in den ersten 72 Lebens-

Tabelle 2: Zur Diagnostik der neonatalen Infektion der Früh- und Reifgeborenen verwendete Marker [7].

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

stunden relativ große Mengen davon im peripheren Blut gefunden werden [120, 122]. Bezüglich des IT-Ratio (Verhältnis der unreifen („immature“) Neutrophilen Granulozyten zu allen („total“) Neutrophilen Granulozyten) in der Diagnostik der konnatalen oder nosokomialen Infektion gibt es verschiedene Studienergebnisse mit unterschiedlichen Sensitivitäten von  $< 20\%$  [129] bis hin zu  $60,0\% - 90,0\%$  [125, 130, 131]. Ferner haben  $25,0\% - 50,0\%$  der nicht infektiösen Neugeborenen veränderte Werte in der Perinatalperiode [126, 128, 131]. Die Normalwerte betragen in den ersten 24 Stunden  $< 0,16$ , fallen bis 60 Stunden auf  $< 0,13$  ab und betragen ab dem sechsten Lebenstag bis zum Ende des ersten Lebensmonats  $< 0,12$ . Für Neugeborene unter der 32. Gestationswoche wird die Grenze der Normalwerte  $< 0,2$  gezogen. Wenn zu einem erhöhten IT-Ratio zusätzlich ein erniedrigter Wert der absoluten Neutrophilen Granulozyten hinzukommt, deutet das stark auf eine Infektion hin. Trotzdem ist der diagnostische Wert des IT-Ratio limitiert, da dieses auch bei vielen nicht-infektiösen Vorgängen (einschließend längere intrapartale Oxytocin-Gabe, traumatische Geburt und länger andauerndes Weinen) erhöht ist. Da die meisten Neugeborenen im Laufe der Infektion ein erhöhtes IT-Ratio zeigen, sprechen aber wiederholt normale Werte für ein gesundes Kind. [2, 12]

#### *Thrombozytenzahl*

Die Normalwerte der Thrombozytenzahlen beim Neugeborenen liegen in den ersten zehn Lebenstagen selten  $< 100000/\mu l$  und danach selten  $< 150000/\mu l$  [132]. Eine unerklärte Thrombozytopenie ist ein insensitives, unspezifisches und eher spätes Zeichen einer neonatalen bakteriellen Infektion [131]. Bei Neugeborenen mit nachgewiesener Infektion konnte in  $10\% - 60\%$  eine Thrombozytopenie nachgewiesen werden [126].

### **1.1.6.2 Akute-Phase-Proteine**

Die Akute-Phase-Antwort beschreibt die systemischen und metabolischen Reaktionen des Körpers (Fieber, Somnolenz, Anorexie, Freisetzung von Adrenocorticotropin, Cortisol, Katecholaminen, Schilddrüsenhormonen, Wachstumshormon, Glukagon, Vasopressin) auf eine Gewebeschädigung (durch Mikroorganismen, ein unspezifisches Trauma, zytotoxische Antikörper oder Immunkomplexe), die innerhalb von Stunden auftritt [133]. Als Reaktion auf diese Inflammation werden Akute-Phase-Proteine in den Leberzellen synthetisiert, welche aber nicht zwischen infektiöser und nicht-infektiöser Entzündung unterscheiden können [12].

#### *C-reaktives Protein (CRP)*

Das Akute-Phase-Protein CRP wurde so benannt, weil es in Anwesenheit des C-Polysaccharids von *Streptococcus pneumoniae* präzipitiert [12]. Infolge der Freisetzung von inflammatorischer Zytokine (unter anderem Interleukin 6), kommt es zur Bildung von CRP, welches exogene und endogene Substanzen (Liganden) bindet und somit deren Entfernung aus dem Blut durch Opsonierung begünstigt [133]. Eine CRP-Erhöhung kann innerhalb von 8 – 12 Stunden gemessen werden, was seine Wertigkeit als frühen Infektionsmarker deutlich einschränkt. Die Sensitivität von  $40,0\% - 60,0\%$  und Spezifität von  $60,0\% - 90,0\%$  zum Zeitpunkt des Infektionsverdachts [128] kann durch serielle Messungen auf  $> 95,0\%$  bzw.  $90,0\%$  verbessert wer-

den [16]. Die aufeinanderfolgenden CRP-Messungen sind nützlich in der Verlaufsbeurteilung der Therapie und können in der Entscheidung über die Dauer einer antibiotischen Therapie hilfreich einwirken [2]. Mehrere negative CRP-Werte können als Indikator zur Beendigung einer Antibiotika-Therapie herangezogen werden [125], während kontinuierlich erhöhte Werte unter antibiotischer Therapie den Verdacht auf resistente Erreger, eine mögliche Pilzinfektion oder die Entwicklung von Komplikationen (wie bakterielle Endokarditis oder Abszessbildung) lenken sollten [2]. Ferner kann CRP nicht als Einzelwert zur Diagnose der neonatalen Sepsis eingesetzt werden, da auch andere neonatologische Krankheitsbilder (wie Asphyxie, Mekoniumaspirationssyndrom, Atemnotsyndrom und Hirnblutungen) zu seiner Erhöhung führen können [16].

#### *Andere Akute-Phase-Proteine*

Viele dieser Proteine (einschließend  $\alpha$ 1-Antitrypsin [134], Fibronektin [135], Haptoglobin [134], Laktoferrin [136], Neopterin [137] und Orosomucoid [7]) wurden im Rahmen der neonatalen Sepsis untersucht, aber keiner davon wird in der klinischen Routine verwendet, weil sie entweder nur eine begrenzte diagnostischen Genauigkeit aufweisen konnten oder durch bessere und fortgeschrittenere Tests ersetzt wurden.

*Procalcitonin (PCT)* Auf Procalcitonin wird in Kapitel 1.2.1 eingegangen.

### **1.1.6.3 Zytokine**

Tumornekrosefaktor  $\alpha$  ( $\text{TNF}\alpha$ ) ist ein wesentlicher Initiator der systemischen Entzündungsreaktion und induziert zusammen mit Interleukin 6 das CRP. Interleukin 8 ist involviert in der Freisetzung von Neutrophilen Granulozyten aus dem Knochenmark und deren Aktivierung. Infolgedessen ist eine Erhöhung dieser Werte ein früher Hinweis auf eine Sepsis. [2] Diese proinflammatorischen Zytokine werden vor allem von aktivierten Phagozyten als Reaktion auf eine systemische Infektion und Entzündung gebildet. Wobei die Reaktion scheinbar nicht vom Gestationsalter oder dem postnatalen Alter der Neugeborenen beeinflusst wird. [7] Interleukin 8 zeigt sich in der Diagnose der neonatalen Sepsis mit einer Sensitivität von 70,0% – 80,0% und einer Spezifität von 76,0% – 100,0% als guter Marker [138–141].  $\text{TNF}\alpha$  hingegen konnte sich im Vergleich zu Interleukin 6 und 8 als diagnostischer Marker nicht gleichermaßen günstig erweisen, obwohl er ein wichtiger Mediator in der Pathophysiologie des septischen Schocks und SIRSs (systemic inflammatory response syndrome) ist [142–148]. Auf Interleukin 6 wird in Kapitel 1.2.2 eingegangen.

### **1.1.6.4 Oberflächenmarker**

Durch die Aktivierung von Entzündungszellen als Reaktion auf Bakterien werden spezifische Leukozyten-Oberflächenantigene in beträchtlichen Mengen exprimiert [149, 150]. Gemessen werden diese mit der Durchflusszytometrie, welche leicht und augenblicklich durchgeführt werden kann und nur geringe Blutvolumina (0,05ml) benötigt [151]. Da die zirkulierende Konzen-

tration der Zytokine nicht notwendigerweise deren biologische Aktivität widerspiegeln muss, kann das Messen der zellulären Antwort auf die Zytokine eine bessere Möglichkeit darstellen, die frühe immunologische Antwort auf das Eindringen von Bakterien zu erkennen [7]. CD11b wurde als vielversprechender Marker für die Diagnose der Early-Onset Sepsis beschrieben [7], während CD64 als nützlicher Marker für die Late-Onset Sepsis gilt [151, 152]. CD11 steigt schon innerhalb weniger Minuten nach Kontakt mit Bakterien und Endotoxinen beträchtlich an [149, 150] und weist für die Diagnose der Early-Onset Sepsis eine Sensitivität von 96,0% – 100,0% und eine Spezifität von 100,0% auf [139, 153].

### **1.1.7 Methoden zum Ausschluss anderer Erkrankungen**

Neben der klinischen und mikrobiologischen Untersuchung können die im Folgenden aufgelisteten Methoden angewandt werden, um differentialdiagnostische Erkrankungen auszuschließen.

#### **1.1.7.1 Thorax-Röntgen**

Die Röntgenaufnahme des Thorax wird im Wesentlichen zum Ausschluss anderer Ursachen der respiratorischen Symptomatik (wie beispielsweise ein Pneumothorax, Pleuraerguss oder eine Zwerchfellhernie) angefertigt [16].

#### **1.1.7.2 Echokardiographie**

Die Echokardiographie dient dem Ausschluss von Herzfehlern mit duktusabhängiger Lungen- und Systemperfusion, deren Symptomatik einer Sepsis ähneln kann. Weiters kann sie zur Beurteilung der hämodynamischen Beeinträchtigung und Steuerung der Volumensubstitution oder der Therapie mit Inotropika eingesetzt werden. [16]

#### **1.1.7.3 Oberbauchsonographie**

Da es bei der Sepsis zur Zentralisierung und folglich zur intestinalen Minderperfusion kommt, sind die Symptome oft sehr ähnlich zu der nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) [104]. In der Oberbauchsonographie von Leber und Portalvenenästen können sich Bläschen als Hinweis auf eine NEC zeigen [154].

### **1.1.8 Therapie**

Aufgrund der subtilen und unspezifischen frühen Zeichen einer neonatalen Sepsis und dem rapid fortschreitenden Verlauf der Erkrankung, welcher infolge der mangelhaften Abwehrmechanismen der Neugeborenen mit einer hohen Morbidität und Mortalität einhergeht, sollte bei Verdacht auf eine Infektion sofort Blut für die Blutkulturen entnommen und mit einer empirischen antibiotischen Therapie begonnen werden [2, 3]. Bei Fortschreiten der Sepsis bis zum

Schock muss schnellstmöglich für die hämodynamische Stabilisierung des Neugeborenen gesorgt werden [104].

### 1.1.8.1 Antimikrobielle Substanzen

Für die Wahl des Antibiotikums sollten verschiedene Faktoren, wie die Zeit und Situation der Erkrankung (Early-Onset Sepsis, Late-Onset Sepsis oder nosokomiale Sepsis), die Häufigkeit der zugegen beobachteten Mikroorganismen, die Anfälligkeitsprofile für die jeweiligen Organismen, der Ursprungsort der vermuteten Infektion und die Gängigkeit der spezifischen Antibiotika zu diesem Ort berücksichtigt werden. Ferner müssen nicht-bakterielle Ursachen der Infektion erwogen, und bei relevantem Verdacht zusätzlich eine antivirale oder antifungale Therapie begonnen werden. [12]

Als Kombination sollten vor allem Antibiotika gewählt werden, die sowohl grampositive Kokken (Gruppe-B-Streptokokken, Enterokokken) als auch gramnegative Enterobakterien (E.coli, Klebsiella und andere) abdecken. Vor allem bei der Early-Onset Sepsis ist es wichtig, auch Listerien zu berücksichtigen. Als geeignet zeigen sich Kombinationen aus Aminopenicillinen (Ampicillin, Amoxicillin, Mezlocillin oder Piperacillin) und Aminoglykosiden (Gentamycin, Tobramycin oder Amikacin). [16]

Mit Resistenzen gegen  $\beta$ -Laktam-Antibiotika vor allem bei gramnegativen Keimen muss bei vorheriger (auch pränataler) Antibiotika-Exposition gerechnet werden [16]. Eine Ampicillin-Behandlung der Mutter während der Geburt ist mit dem Anstieg ampicillin-resistenter E.coli-Isolate beim Kind assoziiert [10]. Weiters ist die routinemäßige Verwendung von Cephalosporinen der dritten Generation (wie Cefotaxim oder Ceftazidim) mit einer raschen Entwicklung von Resistenzen auf Neugeborenenstationen vergesellschaftet [155]. Allerdings sind diese Antibiotika vor allem für schwere Fälle, besonders mit Meningitiden (wegen ihrer guten Liquorgängigkeit) und mit unbekanntem Erregern wichtig. Reserveantibiotika bei gramnegativen Problemkeimen sind Carbapeneme (Imipenem, Meropenem) und bei Staphylokokken Glykolipide (Vancomycin, Teicoplanin) und Linezolid. [16]

Antibiotika, die gewöhnlich bei Neugeborenen verwendet werden, sind in Tabelle 3 aufgelistet.

Tabelle 3: Antibiotika, die gewöhnlich bei Neugeborenen verwendet werden [12, 156] (Teil 1/4)

Substanz	Indikation	Pharmakologie	Toxizität	Kommentare
<i>Penicilline</i>				
Penicillin G	wirkt gegen die meisten $\alpha$ - und $\beta$ -hämolisierenden Streptokokken, Pneumokokken (zunehmende Resistenzen!), manche Staphylokokken, Meningokokken, Gonokokken (Ausnahme $\beta$ -Laktamase-Bildner), Corynebakterien, Bacillus anthracis, Clostridien, Actinomyces-Arten, Fusobacterium-Arten, Bacteroides-Arten (außer Bacteroides fragilis), Spirochäten (Treponema pallidum), Borrelien, Leptospiren	renale Elimination		parenterale Applikation
Ampicillin	initiale Therapie von Sepsis und Meningitis; über das Wirkspektrum des Penicillin G außerdem auf grampositive Organismen (außer Staphylokokken), gramnegative Organismen: Enterokokken (Escherichia coli, Salmonella, Shigella) und Haemophilus influenzae	geringe gastrointestinale Resorption, renale Elimination	Krampfanfälligkeit bei zu hoher Dosisierung	keine orale Gabe
Amoxicillin	wie Ampicillin	renale Elimination		orale Gabe möglich
Mezlocillin	wie Ampicillin, aber erweitertes Spektrum der Enterokokken, teilweise auch Bacteroides fragilis und Pseudomonas aeruginosa	renale Elimination		Applikation nur parenteral (i.v oder i.m.)
Nafcillin, Oxacillin	bei Staphylokokken-Infekten, wirksam gegen (penicillin-resistenten) Staphylococcus aureus	renale Elimination, stark proteingebunden, schlechte Gewebepenetration		nicht Substanz der ersten Wahl
Piperacillin	wie Ampicillin, wirkt bei Pseudomonas aeruginosa, erweitertes Spektrum der Enterokokken, (teilweise auch Bacteroides fragilis)	renale Elimination		Applikation nur parenteral (i.v oder i.m.)

Tabelle 3: Antibiotika, die gewöhnlich bei Neugeborenen verwendet werden [12, 156] (Teil 2/4)

Substanz	Indikation	Pharmakologie	Toxizität	Kommentare
<i>Cephalosporine</i>				
Cefotaxime	bei Sepsis und Meningitis; Streptokokken, Pneumokokken, Haemophilus influenzae, Escherichia coli, Proteus, teilweise auch Staphylococcus aureus	renale Elimination, liquorgängig		parenterale Applikation
Ceftazidim	Streptokokken, Pneumokokken, Haemophilus influenzae, Escherichia coli, Proteus, Pseudomonas aeruginosa, teilweise auch Staphylococcus aureus	renale Elimination, liquorgängig		parenterale Applikation
Ceftriaxon	Streptokokken, Pneumokokken, Haemophilus influenzae, Escherichia coli, Proteus, teilweise auch Staphylococcus aureus	renale Elimination		parenterale Applikation
<i>Carbapeneme</i>				
Imipenem und Meropenem	wirken bei fast allen grampositiven Bakterien (einschließend Penicillinase-bildende Staphylokokken), gramnegative Bakterien (einschließend Pseudomonas), therapeutisch relevante Anaerobier	renale Elimination		nur parenterale Applikation
<i>Glycopeptid-Antibiotika</i>				
Teicoplanin und Vancomycin	bei Infektionen durch multiresistente grampositive Erreger; Staphylokokken (auch Staphylococcus aureus), Enterokokken und Clostridium difficile (pseudomembranöse Enterokolitis)	renale Elimination	Nephrotoxizität, Ototoxizität, Überempfindlichkeitsreaktionen (Blutdruckabfall und Hauterythem)	

Tabelle 3: Antibiotika, die gewöhnlich bei Neugeborenen verwendet werden [12, 156] (Teil 3/4)

Substanz	Indikation	Pharmakologie	Toxizität	Kommentare
<i>Aminoglycosid-Antibiotika</i>				
Amikacin	Reserveantibiotikum gegen Erreger, die gegen andere Aminoglycoside resistent sind	renale Elimination	Nephrotoxizität, Oto- toxizität, neuromuskuläre Blockaden	Applikation nur parenteral (i.v oder i.m.)
Gentamicin und Tobramycin	bei schweren Infektionen durch Enterokokken, Listerien, Staphylokokken, Enterobakterien und Pseudomonas aeruginosa; bei Sepsis in Kombination mit $\beta$ -Laktam-Antibiotika	renale Elimination	Toxizität wie Amikacin	Applikation nur parenteral (i.v oder i.m.)
Neomycin	bakterielle Diarrhöe durch Escherichia coli	renale Elimination	Toxizität wie Amikacin	keine parenterale Applikation
Streptomycin	nur noch bei Mycobacterium tuberculosis	renale Elimination	Toxizität wie Amikacin	Applikation nur parenteral (i.v oder i.m.)
<i>Makrolid-Antibiotika</i>				
Erythromycin	Pneumonien durch Mykoplasmen, Chlamydien, Rickettsien; Infektionen mit hämolysierenden A-Streptokokken; weiters bei Listeria monocytogenes Corynebacterium diphtheriae, Bordetella pertussis	hepatische Metabolisierung und biliäre Elimination		orale Gabe möglich

Tabelle 3: Antibiotika, die gewöhnlich bei Neugeborenen verwendet werden [12, 156] (Teil 4/4)

Substanz	Indikation	Pharmakologie	Toxizität	Kommentare
<i>Weitere Antibiotika</i>				
(Lincosamide) Clindamycin	wirkt bei grampositiven Bakterien (vor allem Staphylokokken) und nur anaerob wachsenden gramnegativen Stäbchen	hepatische Metabolisierung und renale Elimination	Hämatotoxizität, „Grey-Syndrom“ (physiologische Glucuronidierungsschwäche, kann bis zum kardiovaskulären Kollaps und Atemstörung führen, oft letaler Ausgang)	bei systemischer Anwendung sind regelmäßige Blutdruck- (und eventuell Blutzucker-) Kontrollen obligat
Chloramphenicol	Verwendung bei Bakterien, die resistent auf andere Antibiotika sind; wirkt auf grampositive (hämolysierende Streptokokken, Pneumokokken) und gramnegative (beispielsweise Salmonella typhi) Bakterien (allerdings zunehmende Resistenzen!)	Elimination im Urin	gastrointestinale Störungen, Myelosuppression, optische Neuropathie	orale Gabe möglich
(Oxazolidinone) Linezolid	wirkt bei den meisten Streptokokken, Staphylokokken und Enterokokken			
Sulfonamide Tetracycline	kontraindiziert beim Neugeborenen! kontraindiziert beim Neugeborenen!			

### 1.1.8.2 Hämodynamische Stabilisierung

Beim septischen Schock muss so rasch wie möglich für eine Wiederherstellung der Perfusion gesorgt werden. Nach langsamer Gabe von aufgewärmter physiologischer Kochsalzlösung ( $20\text{ml/kg}$ ) und darauf folgender Gabe der rasch anwendbaren  $\beta$ -Laktam-Antibiotika, wird nochmalig physiologische Kochsalzlösung ( $10\text{ml/kg}$ ) gegeben. Die weitere Volumengabe (jeweils  $10\text{ml/kg}$ ) während der orientierenden Echokardiographie kann zur myokardialen Dysfunktion führen und wird mit Dobutamin (Start mit  $10\mu\text{g/kg/min}$ , dann bis zu  $20\mu\text{g/kg/min}$ ) therapiert. Eine notwendige Intubation sollte nie vor genügender Volumensubstitution durchgeführt werden, da das Neugeborene im Volumenmangelschock seinen Kreislauf mit endogenen Katecholaminen aufrecht erhält und es bei der Prämedikation für die Intubation zu einem massiven Blutdruckabfall kommen kann. Da bei septisch bedingtem Kapillarleck nur Erythrozyten intravasal bleiben, kann die Gabe von Erythrozytenkonserven notwendig werden. Bei Hinweisen auf eine pulmonale Hypertension mit suprasystemischen Drücken im rechten Ventrikel wird inhalatives NO (Stickstoffmonoxid,  $20\text{ppm}$ ) gegeben. Wenn nach diesem Therapieschema (Dobutamin und dann Adrenalin in steigenden Dosen) die arteriellen Blutdruckwerte immer noch sehr niedrig sind, wird Hydrokortison ( $1 - 2\text{mg/kg}$ , wiederholt nach 4 – 6 Stunden) gegeben. [104]

### 1.1.8.3 Adjuvante Therapien

In Metaanalysen konnte bei Neugeborenen mit schwerer Sepsis eine verringerte Mortalität durch die Therapie mit intravenöses Immunglobulin (IVIG) ( $0,5\text{g/kg/d}$  an 2 – 4 aufeinanderfolgenden Tagen) [157–159] und Pentoxifyllin ( $5\text{mg/kg/h}$  über 6 Stunden an 6 aufeinanderfolgenden Tagen) [160, 161] im Vergleich zur Standardtherapie beobachtet werden. Insgesamt erwiesen sich aber die meisten der Adjuvantien (insbesondere Antithrombin III, aktiviertes Protein C, Granulozyten-Kolonie stimulierender Faktor (G-CSF), Granulozyten/Makrophagen-Kolonie stimulierender Faktor (GM-CSF)) in Studien mit Erwachsenen sowie mit Kindern als unwirksam [16].

### 1.1.9 Prophylaxe

Jegliche Verbesserung in der Gesundheitsvorsorge der Mutter und der pränatalen Vorsorge sowie auch das verbesserte Management des vorzeitigen Blasensprunges, mütterlicher Infektionen und kindlichem Stress während der Geburt vermindern die Rate der Frühgeburtlichkeit und kindlichen Infektionen. Ferner sollten Frauen, bei denen Komplikationen vermutet werden, vor der Geburt in ein Krankenhaus mit adäquater neonataler Versorgung gebracht werden, da ein Transport nach der Geburt mit mehr kindlichen Risiken belastet ist. [3]

Eine intravenöse Antibiotika-Prophylaxe mit Substanzen die gegen Gruppe-B-Streptokokken als den häufigsten Erreger wirksam sind, wird bei Frauen mit einem oder mehreren Anzeichen

auf ein Amnioninfektionssyndrom (AIS) empfohlen. Diese kann somit mit Penicillin und allen anderen  $\beta$ -Laktam-Antibiotika und bei mütterlicher Allergie mit Vancomycin durchgeführt werden. Da eine intrapartale Antibiotika-Prophylaxe zur Vermeidung einer Early-Onset Sepsis mit Gruppe-B-Streptokokken sehr wirksam ist (im Gegensatz zur Late-Onset Sepsis) [162], wird diese empfohlen, sobald diese Keime in der mütterlichen Scheide oder im Urin nachweisbar sind. In vielen Ländern werden Schwangere einen Monat vor dem errechneten Geburtstermin auf Gruppe-B-Streptokokken gescreent und bei bei vorliegender Besiedelung eine intrapartale Antibiotika-Prophylaxe durchgeführt. [16]

Indikationen zur intrapartalen Antibiotika-Prophylaxe zur Vermeidung einer Early-Onset Sepsis mit Gruppe-B-Streptokokken sind folgende [163]:

- Früheres Kind mit GBS-Infektion
- GBS-Bakteriurie in der Schwangerschaft
- GBS-Nachweis in jetziger Schwangerschaft
- Vorzeitiger Blasensprung ( $> 18$  Stunden)
- Frühgeburt ( $< 37$  Wochen)
- Fieber während der Geburt ( $\geq 38^{\circ}C$ )

## 1.2 Entzündungsmarker

Durch die unspezifischen klinischen Zeichen der Neugeborenen und die begrenzte Sensitivität und Spezifität praktisch aller verwendeten laborchemischen Marker, ist die Diagnosefindung der neonatalen Sepsis eine Herausforderung im klinischen Alltag. Ferner liefern Blutkulturen keine Ergebnisse, die zur Entscheidung des Therapieeinleitung beitragen können. [5] Aufgrund dessen wird nach Entzündungsmarkern – darunter auch Procalcitonin und Interleukin 6 – gesucht, die in der klinischen Praxis das Management bei Infektionsverdacht verbessern können [6–9].

### 1.2.1 Procalcitonin (PCT)

Procalcitonin ist ein Protein, welches erstmals 1993 mit der Sepsis assoziiert wurde [164]. Es kann zwischen bakteriellen und anderen Ursachen einer systemischen Entzündung unterscheiden, sowie zum Monitoring und der Prognose der Infektion verwendet werden [165, 166]. Als Sepsismarker findet PCT Anwendung nicht nur unter Erwachsenen, sondern auch in der Pädiatrie und Neonatologie [167].

#### 1.2.1.1 Genetik

Das Gen CALC-1 auf Chromosom 11 (11p, 15.4) ist verantwortlich für die Produktion von Calcitonin und Procalcitonin. Die Bildung dieser verschiedenen Proteine aus dem selben Gen wird einerseits durch differentielles Splicing (Genprodukte Calcitonin-Gene-related Peptide

(CGRP), PCT Typ I oder II), andererseits durch unterschiedliche Prozessierung des fertigen Proteins (Genprodukte Calcitonin, PCT mit 116 und 114 Aminosäuren und dessen Fragmente) veranlasst. Die so entstehenden Proteine üben unterschiedliche Funktionen in verschiedenen Geweben aus. Die Substanz CGRP wirkt beispielsweise stark vasodilatativ, während Calcitonin als Hormon Einfluss auf den Calcium-Metabolismus und der Schmerzverarbeitung im zentralen Nervensystem hat, und das Propeptid Procalcitonin Immunfunktionen moduliert. Die Funktion der Spaltprodukte des Procalcitonins wurde bisher noch nicht untersucht. [168]

Procalcitonin hat ein Molekulargewicht von fast  $13kD$  und seine Aminosäuresequenz besteht aus 114 – 116 Aminosäuren. In seinem Kernbereich an Position 60 – 91 enthält es die Aminosäuresequenz von humanem Calcitonin. [169] Am Beginn der Synthese steht die Translation des Vorläuferpeptids Präprocalcitonin, welches aus 141 Aminosäuren besteht. Durch die Abspaltung des Signalpeptids  $AS1-25$  entsteht Procalcitonin. Daraus wird im weiteren Verlauf intrazellulär durch spezifische Proteolyse das Hormon Calcitonin gebildet. [170–172]

### 1.2.1.2 Pathophysiologie

Während hormonell aktives Calcitonin von den C-Zellen der Schilddrüse und teilweise auch von neuroendokrinen Zellen der Lunge synthetisiert wird, entsteht das bei Sepsis induzierte Procalcitonin in anderen Zellenarten und Geweben, wie adhärennten monozytären Zellen, Lebergewebe und Adipozyten (wenn das Gewebe entzündlich verändert ist) [168].

Bei bakteriellen Entzündungen finden sich im Plasma hohe Konzentrationen von Procalcitonin und seinen Bruchstücken. Dies kann experimentell bei Probanden durch Injektion von bakteriellen Endotoxinen (LPS) induziert werden, wobei Procalcitonin nach einer Latenzzeit von ca. zwei Stunden im Plasma auftritt und die Procalcitoninwerte nach einem Maximum bei 6 – 8 Stunden insgesamt bis zu 72 Stunden im pathologischen Bereich verweilen. Damit ist die Induktionszeit von Procalcitonin länger als die der Zytokine, aber deutlich kürzer als die des C-reaktiven Proteins (CRP). [133, 173]

Die streng geregelte Induktion von Procalcitonin setzt sich aus Adhäsionsvorgängen, interzellulären Kontakten (Zell-Zell-Interaktionen) und fix geregelter zeitlicher Ablauf der zellulären Aktivierung zusammen und ist dadurch vermutlich Ursache für die hohe Spezifität dieses Markers, dessen Plasmakonzentration gut mit dem Ausmaß der entzündlichen Aktivierung korreliert [168].

Aufgrund der Tatsache, dass es erst durch interzellulären Kontakt zur Bildung von Procalcitonin kommt, lassen sich hohe Konzentrationen bei Sepsis sowie niedrige Konzentrationen bei lokalen Infektionen und auch die kurzzeitige Bildung von Procalcitonin nach großen Operationen oder schweren Gewebetraumen erklären [174].

Die biologische Wirkung des Procalcitonins lässt sich folgendermaßen beschreiben: Durch einen primären Stimulus (lokale bakterielle Infektion, Gewebetrauma, Sepsis) kommt es zur Expression von Adhäsionsmolekülen, die zur Adhärenz von Monozyten führen, die so in Interaktion mit dem Gewebe treten und mit der ca. 3 – 5 Stunden dauernden lokalen Produktion von

Procalcitonin beginnen [174–176]. Dieses wirkt als Chemokin und zieht weitere Monozyten an, die ins Gewebe penetrieren. Diese migratorische Reaktion wird aber nach wenigen Stunden von Procalcitonin selbst wieder deaktiviert, sodass die Zellen am Ort der Entzündung bleiben [177]. In weiteren Schritten beginnen nach direktem Kontakt mit aktivierten Monozyten auch Adipozyten (und eventuell andere parenchymatöse Zellen) mit der Produktion von Procalcitonin und CGRP [174, 178]. Die folgenden biochemischen Wirkungen von Procalcitonin sind zeitabhängig vom Aktivierungszustand der Zielzellen. In glatten Muskelzellen des Endothels, die schon in Kontakt mit proinflammatorischen Mediatoren waren, stimuliert es als entzündungsnah Wirkung die Induktion der NO-Synthase (iNOS), welche die NO-vermittelte Vasodilatation bei Entzündungen veranlasst, sodass es zu einer Gefäßerweiterung kommt. [179] Als entzündungsferne Wirkung hemmt es in nativen Muskelzellen die Induktion der iNOS und damit die Vasodilatation [180]. Als weitere systemische Effekte von Procalcitonin werden eine Modulation der Zytokinantwort und der Expression von CD11b auf Monozyten und Neutrophilen, sowie ein Einfluss auf den mittleren arteriellen Druck, Herz-Index, pH-Wert, die Kreatinin-Clearance und die Letalität im tierexperimentellen Endotoxin-Schock beschrieben [181–185]. Weiters hemmt Procalcitonin die Stimulation des CGRP-Rezeptors durch CGRP und ist zugleich partieller Agonist dieses Rezeptors und des Adrenomedullin-1(AMY-1)-Rezeptors [186].

Die Induktion von Procalcitonin erfolgt sehr rasch, sodass es schon 2 – 6 Stunden nach einem adäquaten Stimulus in der Zirkulation nachgewiesen werden kann. Experimentelle Daten beschreiben nennenswerte Plasmakonzentrationen ab 6 Stunden, die nach 12 – 48 Stunden Spitzenwerte erreichen und mit einer Halbwertszeit von 20 – 35 Stunden wieder abfallen. Klinisch wurde nach akuter, einmaliger Induktion eine Halbwertszeit von 25 – 30 Stunden beschrieben, die sich nur im Einzelfall etwas darüber zeigte. [187–191] Bei eingeschränkter Nierenfunktion kann die Abklingrate um 30,0% verlängert sein, während von Hämodilutionsverfahren und Hämodialyse wesentliche Mengen eliminiert werden können [168].

### 1.2.1.3 Laborchemie

Procalcitonin ist in Blutproben sehr stabil und kann dementsprechend im Rahmen der Routine-Blutentnahmen abgenommen werden, ohne eine spezielle Lagerung zu benötigen. Seine Plasmakonzentration nimmt bei Raumtemperatur innerhalb von 24 Stunden nur um ca. 12,0% und bei Lagerung um 4°C nur um ca. 6,0% ab. Für längere Lagerungs- oder Transportzeiten empfiehlt es sich, die Probe sofort zu kühlen oder tiefzukühlen. Weiters haben die Auswahl der verwendeten Antikoagulantien und die Auswertung von Plasma oder Serum und arteriellen oder venösen Proben keine wesentliche Auswirkung. [192]

Der Normalwert von Procalcitonin liegt im Plasmaspiegel im Bereich  $\leq 0,05\text{ng/ml}$ , jedoch wurden bei älteren Patienten oder Patienten mit unterschiedlichen Vorerkrankungen in weniger als 10,0% der Fälle Werte bis  $> 0,1\text{ng/ml}$  gemessen [193]. Für die Diagnose einer Sepsis liegt der Schwellenwert  $> 0,5\text{ng/ml}$ , wobei sich die Werte bei schwerer Sepsis oder septischem Schock großteils im Bereich von 5 – 500 $\text{ng/ml}$  befinden [168].

Für die Bestimmung von Procalcitonin stehen semi-quantitative Verfahren mittels festphasengekoppelter Immundiffusion (z.B. PCT-Q-Test) und diverse quantitative Verfahren (manuelle, semi- und vollautomatisierte Verfahren für diverse Laborsysteme) zur Verfügung. Dafür werden entweder Serum oder Plasma in Mengen von 20 – 200 $\mu$ l verwendet. Die Auswertungszeit beträgt zwischen 19 Minuten und 2,5 Stunden. Zu beachten ist, dass nicht alle Verfahren den unteren Referenzbereich ( $\leq 0,1\text{ng/ml}$ ) ausreichend genau aufzeichnen. Automatisierte PCT-Bestimmungsmethoden weisen aber mit analytischen Assay-Sensitivitäten von  $\leq 0,02\text{ng/ml}$  ein niedriges Detektionslimit und hohe Präzision auf. [168, 192]

#### 1.2.1.4 Indikationen und Bewertung

Procalcitonin ist ein Marker der „Host Response“, also der „Wirts-Antwort“ des Organismus, der indirekt die Reaktion des Körpers auf eine bakterielle Infektion nachweist, im Gegensatz zu direktem Nachweis der Erreger beispielsweise über mikrobiologisches Wachstum. Zur Induktion von Procalcitonin bedarf es eines auslösenden (lokalen oder systemischen) Reizes, der Aktivierung der Immunantwort, und einer bestimmten Stärke dieser Entzündungsreaktion. Als nicht-bakterielle Ursachen einer Procalcitonin-Erhöhung zählen schwere traumatische Ereignisse, bei denen es zu einer Endotoxinbelastung (unabhängig von einem speziellen bakteriellen Fokus) des Körpers kommt, wie beispielsweise nach größeren abdominellen Operationen oder Traumen, bei schweren Mikrozirkulationsstörungen mit hohem Katecholaminbedarf, bei einem schweren Multiorganversagen (MODS, multiple organ dysfunction syndrome), bei schwerer Pankreatitis oder schweren Leberschädigungen. Weiters können schwere Pilzkrankungen zu einer Procalcitonin-Erhöhung führen, die sich dann aber meist im niedrigeren Bereich (selten  $> 5\text{ng/ml}$ ) befinden. [168, 194, 195]

Die Indikationen zur Bestimmung von Procalcitonin sind [168]:

- *Diagnose schwerer bakterieller Infektionen, der Sepsis, der schweren Sepsis und des septischen Schocks*

Bei einer Erhöhung oder einem Anstieg von Procalcitonin muss in jedem Fall an eine bakterielle Infektion gedacht werden, die einen sofortigen Handlungsbedarf benötigt, da sie zu einer möglichen Gefährdung des Patienten führen kann. Selbstverständlich muss immer das klinische Bild des Patienten in die Diagnostik einbezogen werden. Bei akut symptomatischen Patienten, die noch keine Erhöhung des Procalcitonins aufweisen, ist eine Kontrolle nach 6 – 12 Stunden ratsam. Weiters muss auch immer die Möglichkeit falsch-positiver oder falsch-negativer Werte in Erwägung gezogen werden.

- *Differentialdiagnose klinisch relevanter bakterieller Infektionen und der Sepsis*

Normalerweise sind die Procalcitonin-Werte bei viralen Infektionen, allergischen Erkrankungen, Autoimmunerkrankungen und anderen nicht-bakteriellen Erkrankungen (wie beispielsweise Diabetes mellitus oder koronare Herzkrankheit (KHK)) nicht bis nur gering erhöht.

- *Beurteilung des Schweregrades der bakteriellen Infektion und systemischen Entzündungsreaktion*

Die Erhöhung der Procalcitonin-Werte korreliert meist mit dem Schweregrad der Erkrankung. So findet man bei schwerer Sepsis oder septischem Schock (Sepsis mit Organ-dysfunktion) meist deutlich erhöhte Werte  $> 2\text{ng/ml}$ , während geringe Werte eher für nicht bakterielle Ursachen oder eine lokale Entzündungsreaktion mit geringer systemischer Komponente sprechen. Da ein hoher Schweregrad der systemisch-entzündlichen Reaktion ein hohes Risiko für das Auftreten von Organfunktionsstörungen und damit ein höheres Letalitätsrisiko beinhaltet, besteht hier ein großer diagnostischer und therapeutischer Handlungsdruck. Bei Patienten, deren Immunlage geschwächt ist, können die Procalcitonin-Werte dementsprechend ohne klinisch sichtbare Reaktion erhöht sein. Im Zweifelsfall empfiehlt sich eine Antibiotikatherapie.

- *Prognostische Bedeutung und Verlaufsbeurteilung von Patienten mit Sepsis*

Procalcitonin beeinflusst die weiteren diagnostischen und therapeutischen Entscheidungen in dem Sinne, dass bei niedrigen Werten ein geringes Risiko für eine letale Gefährdung des Patienten durch eine Sepsis und somit kein sofortiger Handlungsbedarf besteht, während hohe Werte ein hohes Risiko anzeigen und eine sofortige Therapie fordern. In der Verlaufsbestimmung von Procalcitonin zeigt sich bei über Tage rückläufigen oder sich normalisierenden Werten eine gute prognostische Aussagekraft, während Werte die sich nicht durchgehend rückläufig oder ansteigend zeigen, Zeichen einer erfolglosen Behandlung und schlechten Prognose sind.

- *Indikation, Verlaufsbeurteilung und Kontrolle einer Antibiotikatherapie*

Durch Messung und Interpretation der Procalcitonin-Werte kann die antibiotische Therapie besser an den individuellen Bedarf des Patienten angepasst werden.

## 1.2.2 Interleukin 6 (IL-6)

Interleukin 6 reguliert als Zytokin die Immunantwort, die Hämatopoese und die Akute-Phase-Reaktion. Dies weist auf seine zentrale Rolle in den Abwehrmechanismen hin. [196] Vor allem in der Neonatologie ist es das häufigst verwendete Zytokin in der Diagnostik der bakteriellen Infektion [197].

### 1.2.2.1 Genetik

Das Gen für die Kodierung des Interleukin 6 befindet sich auf Chromosom 7 und besteht aus fünf Exons [198]. Die Transkription und Translation dieses Genes führt zur Synthese eines Propeptids (bestehend aus 212 Aminosäuren), welches in weiterer Folge zum Peptid Interleukin 6 (bestehend aus 184 Aminosäuren) aufgespalten wird [199].

### 1.2.2.2 Pathophysiologie

Interleukin 6 gehört zu den proinflammatorischen Zytokinen [168]. Zytokine sind Proteine mit einem Molekulargewicht von 6 – 70 kD und als Botenstoffe wichtiges Kommunikationsmittel zwischen den menschlichen Zellen. Jede menschliche kernhaltige Zelle produziert Zytokine, wobei die Art und Quantität der Zytokinproduktion von der Zellart, der Differenzierungsphase und dem Aktivierungszustand der Zelle abhängt. Sie wirken über spezifische Rezeptoren auf der Zellmembran in der Zelle und aktivieren dadurch eine intrazelluläre Signalkaskade, die zu einer Aktivierung von Transkriptionsfaktoren führt, die, nachdem sie in den Kern diffundiert sind, durch Bindung an entsprechende regulatorische DNA-Elemente (Promoterregionen) die Aktivierung verschiedener Gene beeinflussen. Dabei können sie autokrin (auf die Zelle selbst), parakrin (auf benachbarte Zellen) oder endokrin (auf den gesamten Organismus) wirksam sein. [133]

Interleukin 6 wird von unterschiedlichen Zellen, vor allem aber von monozytären Zellen des Blutes (bei einer akuten Stimulation) und von Endothelzellen (bei längerer Erkrankungsdauer) synthetisiert. Auf eine Stimulation kommt es innerhalb einer bis weniger Stunden zur Induktion von Interleukin 6. Dafür sind keine interzellulären Kontakte notwendig. Seine Produktion wird direkt von Endotoxin, verschiedenen Zytokinen, bakteriellen oder viralen Infektionen, Autoimmunprozesse und Gewebetraumen ausgelöst. Somit ist Interleukin 6 kein spezifischer Marker. Weiters kann Interleukin 6 bei lokalen Entzündungen auch in Ergüssen und anderen Gewebeflüssigkeiten (beispielsweise Gelenkerguss, Pleuraerguss, Liquor) im Gegensatz zu Procalcitonin nachgewiesen werden. Da Interleukin 6 relativ rasch wieder abgebaut wird, kann es zu stark schwankenden Plasmaspiegeln kommen, die die Interpretation erschweren können. Außerdem wird seine Synthese durch Immunsuppressiva teilweise unterdrückt, was in der Beurteilung berücksichtigt werden muss. [168]

Interleukin 6 ist an der Aktivierung der Akuten-Phase-Reaktion und Stimulation der Lymphozyten beteiligt [196, 200]. Es löst mit einer Verzögerung von ca. 24 Stunden in der Leber die Sekretion von CRP aus, welches im weiteren Verlauf das Komplementsystem aktiviert. Aufgrund dieser Kinetik kann CRP als Verlaufsparemeter bei bakteriellen Infektionen eingesetzt werden. [16]

### 1.2.2.3 Laborchemie

Interleukin 6 kann aus dem Plasma oder Serum in einer Menge von 50 – 200  $\mu\text{l}$  gemessen werden [133]. Die verwendeten Gefäße müssen dafür endotoxinfrei sein und das entnommene Vollblut muss nach raschem Abzentrifugieren sofort gekühlt werden, da Interleukin 6 sonst abgebaut oder durch die Leukozyten in der Blutprobe nachgebildet wird [168].

Die Werte von Interleukin 6 befinden sich in einem Bereich von wenigen  $\text{pg/ml}$  als Normalwert bis zu  $> 1000\text{pg/ml}$  bei schwerer Sepsis oder Multiorganversagen [168].

Interleukin 6 wird über ELISA, mit unterschiedlich möglichen Kits bestimmt [133].

#### 1.2.2.4 Indikationen und Bewertung

Interleukin 6 wird zur Diagnostik und als Prognoseparameter von Sepsis, Trauma und Herzinsuffizienz und zur Frühdiagnostik der neonatalen Sepsis eingesetzt. Weiters konnten einige Studien anklingen lassen, dass es sich zur Rejektionsfrühdiagnostik nach Nierentransplantation eignet. Werte  $> 10\text{pg/ml}$  befinden sich nicht mehr im physiologischen Referenzbereich. [133]

Als Marker für einen stattfindenden Entzündungsprozess unterschiedlichen Ursprungs kann Interleukin 6 keine differentialdiagnostischen Aussagen machen [201]. Es wird zur Diagnostik und als Prognoseparameter für folgende Erkrankungen eingesetzt:

- *Frühdiagnostik einer neonatalen Sepsis*

Da Interleukin 6 sehr schnell reagiert und sich bei Neugeborenen und Kleinkindern rasch hohe Werte entwickeln, wird es als Sepsismarker in der Pädiatrie oft verwendet. Aufgrund der schnellen Interleukin 6 -Produktion von Monozyten / Makrophagen auf einen bakteriellen Stimulus  $< 6$  Stunden, und im weiteren Verlauf über 24 – 48 Stunden, kann eine frühzeitige Antibiotikatherapie begonnen werden. [133, 168, 202] Ferner zeigt sich Interleukin 6 aus dem Nabelschnurblut als sensitiver Marker für die Diagnose einer neonatalen Infektion in den ersten 72 Stunden [7]. Mit der Analyse der mRNA Expression in Zellen des Nabelschnurbluts ex vivo konnte gezeigt werden, dass die Level von IL-6 (und IL-8) fetalen Ursprungs sind und nicht die maternale oder plazentale Zytokinproduktion reflektieren [140, 145].

- *Verlaufsbestimmung und Prognose der Sepsis*

Generell sind kontinuierlich erhöhte Werte  $> 1000\text{pg/ml}$  oft Zeichen eines schlechten Verlaufes oder letalen Ausgangs [133].

- *Gewebehypoxie oder Trauma*

Bei schwerem Trauma oder nach großen Operationen kommt es zu einer massiven Ausschüttung von Interleukin 6, das gut für die Beurteilung des Ausmaßes der Organschädigung, beziehungsweise der peripheren Hypoxie geeignet ist. Es wird deshalb auch gerne in der Intensivmedizin und Kardiologie eingesetzt. [133]

#### 1.2.3 Entzündungsmarker bei Kindern und Neugeborenen

Bei Neugeborenen kommt es infolge der Geburt zu einer unspezifischen Aktivierung des Immunsystems [203] und damit zur physiologischen Induktion inflammatorischer Marker und Mediatoren, unter anderem Procalcitonin, Interleukin 6 und CRP. Dies erschwert die Diagnostik der neonatalen Sepsis erheblich, deren Risiko gerade in den ersten Lebenstagen am höchsten ist. Zur Diagnose werden deshalb neben klinischen Zeichen entsprechend veränderte Referenzbereiche dieser Marker verwendet. Um die Sicherheit der Diagnose zu erhöhen, sollten verschiedene Marker mit unterschiedlicher Empfindlichkeit kombiniert und vor allem eine Ver-

laufsbestimmung angestrebt werden. Damit lässt sich auch die Antibiotikatherapie besser an die individuellen Bedürfnisse der Neugeborenen anpassen. [204]

Am häufigsten werden CRP und Interleukin 6 verwendet. CRP weist manchmal eine höhere Sensitivität als PCT auf, ist aber eher unspezifisch, reagiert verhältnismäßig langsam und korreliert nicht mit dem Schweregrad der Erkrankung [205–208]. Interleukin 6 reagiert im Vergleich dazu relativ rasch und zeigt den Schweregrad der Entzündung an, ist aber auch nicht spezifisch für eine Sepsis. Procalcitonin weist zumindest theoretisch eine längere Induktionszeit auf, ist aber spezifisch für die Sepsis, korreliert mit dem Schweregrad der Erkrankung und zeigt in einigen Studien eine ähnliche und teilweise auch höhere Sensitivität und Spezifität als Interleukin 6 [4, 209–213]. Weiters nimmt seine diagnostische Sicherheit und Spezifität im Vergleich zu CRP und Interleukin 6 bereits innerhalb der ersten 48 Stunden zu [214]. Bei Verdacht auf eine Infektion kann Procalcitonin auch aus dem Nabelschnurblut bestimmt werden, wo es in klinischen Studien eine höhere diagnostische Sensitivität und vor allem Spezifität als die untersuchten Vergleichsgrößen aufweisen konnte [208]. Die Werte aus dem Nabelschnurblut entsprechen jedoch nur der Situation zum Zeitpunkt der Messung und sind keinesfalls in der Lage, eine sich noch entwickelnde Sepsis auszuschließen [208, 214, 215]. Bei einer Infektion des Neugeborenen zeigt sich häufig eine Erhöhung im Nabelschnurblut, ohne dass die Bildung von Procalcitonin im Blut der Mutter schon nachweisbar ist [216].

## 2 Methoden

Die Studie untersucht retrospektiv die Korrelation der Entzündungsparameter Procalcitonin (PCT) und Interleukin 6 (IL-6) mit der Early-Onset Sepsis (EOS) des Neugeborenen. Im Zeitraum Februar 2008 bis März 2011 wurden an der Abteilung für Neonatologie der Univ.-Klinik Graz bei allen Neugeborenen mit Verdacht auf eine Infektion PCT und IL-6 im Nabelschnurblut gemessen und Blutkulturen angelegt.

Die Datensuche erfolgte über die Krankengeschichten und die lokale elektronische Datenbank (Medocs) der Univ.-Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz. Im Rahmen der Erweiterung der Datenbank wurden bisher gesammelte Daten auf ihre Richtigkeit und Vollständigkeit überprüft. Alle Patienten wurden mit einer fortlaufenden Nummer codiert (pseudonymisiert). Die auszuwertenden Daten wurden, nur mit diesem Code versehen, in einer Excel-Tabelle auf einem Computer mit Zugriffsbeschränkung an der Univ.-Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz / Abteilung für Neonatologie gespeichert und anschließend ausgewertet. Nur autorisierte Personen haben Zugriff auf die Originaldaten.

*Einschlusskriterien* waren Neugeborene mit Verdacht auf eine Infektion und stationärer Behandlung auf den zwei neonatologischen Stationen der Univ.-Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz.

*Ausschlusskriterien* waren der Tod innerhalb von 3 Tagen, schwere Malformation, fehlende Werte von PCT, IL-6 oder CRP und fehlende Informationen zur Diagnose der Early-Onset Sepsis.

### 2.1 Definition der Early-Onset Sepsis (EOS)

Die Diagnose der EOS wurde retrospektiv erstellt. Innerhalb der 38 Monate Studiendauer wurden bei allen Kindern mit Verdacht auf eine Infektion PCT und IL-6 aus dem Nabelschnurblut gemessen und Blutkulturen angelegt.

Die Faktoren, die zu einem Verdacht auf eine Infektion führten, waren:

- Vorzeitige Wehentätigkeit
- Vorzeitiger Blasensprung
- Mütterliches Fieber während der Geburt und/oder erhöhte / steigende Entzündungsparameter
- Chorioamnionitis
- Amnioninfektionssyndrom (AIS)
- Frühgeburtlichkeit
- Pathologisches CTG (Cardiotokographie)
- Missfärbiges Fruchtwasser

- Verzögerte Adaptation

Die Diagnose der EOS erfolgte einerseits über positive Blutkulturen, andererseits über die klinische Sepsis. Als positiv wurden diejenigen Blutkulturergebnisse gewertet, deren Keime nicht der normalen physiologischen Hautflora entsprechen. Die Keime der physiologischen Hautflora wurden als positiv gewertet, wenn klinisch und/oder laborchemisch eine Sepsis vorlag. Die klinische Sepsis wurde anhand von Laborwerten und/oder klinischen Hinweisen auf eine Infektion erstellt.

Für einen positiven Sepsis Screen mussten  $\geq 2$  der folgenden Laborwerte pathologisch verändert sein:

- CRP  $> 8\text{mg/l}$
- Leukozyten (WBC, white blood cell)  $> 34000/\mu\text{l}$  oder  $< 9000/\mu\text{l}$
- Absolute Neutrophile Granulozyten  $> 14400/\mu\text{l}$  oder  $< 7000/\mu\text{l}$  ( $< 2000/\mu\text{l}$  in den ersten 24 Stunden)
- IT-Ratio (Verhältnis der unreifen („immature“) Neutrophilen zu allen („total“) Neutrophilen)  $> 0,2$

Für eine positive Klinik mussten  $\geq 3$  der folgenden Symptome auftreten:

- Respiratorische Symptome (Apnoe / Dyspnoe / Tachypnoe (Atemfrequenz  $> 60/\text{min}$ ) / Nasenflügeln / Einziehungen / Zyanose / Respiratory Distress Syndrome (RDS))
- Kardiozirkulatorische Symptome: Bradykardie ( $< 100/\text{min}$ ) / Tachykardie ( $> 180/\text{min}$ )
- Kreislaufhypotonie = arterielle Hypotonie (therapiebedürftig)
- Neurologische Symptome: Irritabilität / Lethargie / Krampfanfälle
- Hypothermie ( $< 36^\circ\text{C}$ ) / Hyperthermie ( $> 38,5^\circ\text{C}$ )
- Verlängerte Rekapillarierungszeit ( $> 2\text{sek}$ ) / schlechte Hautfarbe

Die Gruppeneinteilung erfolgte unter Berücksichtigung der oben genannten Faktoren.

- Gruppe 0: Neugeborene, die sicher keine EOS hatten (negative / keine Blutkultur, negative Klinik, negativer Sepsis Screen und keine oder Antibiotika-Therapie  $\leq 3$  Tage)
- Gruppe 1: Neugeborene mit Sepsis durch positiven Erregernachweis (= positive Blutkultur)
- Gruppe 2: Neugeborene mit klinischer Sepsis (negative / keine Blutkultur, positive Klinik, CRP-Erhöhung  $> 8\text{mg/l}$  und Antibiotika-Therapie  $\geq 7$  Tage und/oder positiver Sepsis Screen,  $\geq 1$  klinisches Zeichen, CRP-Erhöhung  $> 8\text{mg/l}$  und Antibiotika-Therapie  $\geq 7$  Tage)
- Gruppe 3: Neugeborene, deren Infektionsstatus unklar bzw. nicht belegbar war

## 2.2 Procalcitonin- und Interleukin-6 -Bestimmung

PCT wurde mittels LUMItest procalcitonin kit (Brahms Diagnostica GmbH, Berlin, Germany) mit einem Detektionslimit von  $0,1ng/ml$  bestimmt.

IL-6 wurde mittels Endogen Interleukin-6 ELISA (Endogen Inc., Cambridge, MA, USA) mit einem Detektionslimit von  $1,0pg/ml$  und maximalen Werten von  $> 5000pg/ml$  bestimmt.

## 2.3 Statistische Auswertung

Die Datenbank wurde in Microsoft Office Excel 2007 erstellt und in IBM SPSS Statistics Version 19 ausgewertet. Für Procalcitonin und Interleukin 6 wurden die im Folgenden besprochenen Berechnungen durchgeführt.

### 2.3.1 Sensitivität und Spezifität

Die Sensitivität beschreibt die bedingte Wahrscheinlichkeit, dass der Test eine kranke Person richtig erkennt, also das Testergebnis richtigerweise positiv bewertet. Die Spezifität beschreibt die bedingte Wahrscheinlichkeit, dass der Test eine gesunde Person richtig erkennt, also das Testergebnis richtigerweise negativ bewertet. [217]

Zur Berechnung des idealen Cut-off Werts wurde der Youden Index verwendet. Dieser wird mit  $Y = \text{Sensitivität} + \text{Spezifität} - 1$  berechnet und nimmt Werte zwischen 0 und 1 an. Der Index ergibt 1, wenn eine vollständige Trennung der Verteilungen zwischen gesunden und kranken Personen vorliegt, während sich bei einer kompletten Überlappung ein Index von 0 ergibt. Damit ermöglicht dieser Index, den optimalen Cut-off Wert zu berechnen. [218]

### 2.3.2 ROC und AUC

Der Begriff ROC steht für „Receiver Operating Characteristic“, stammt aus der Nachrichtentechnik und ist eine Methode zur Optimierung von Signalerkennungsstrategien. Für jeden Cut-off Wert, der den pathologischen vom physiologischen Bereich trennt, werden die Werte für die Sensitivität und die Spezifität berechnet und damit eine Kurve erstellt. Für die ROC-Kurve werden in ein Koordinatensystem für jeden Cut-off Wert der Anteil der falsch Positiven ( $1 - \text{Spezifität}$ ) auf der x-Achse gegen den Anteil der richtig Positiven (Sensitivität) auf der y-Achse aufgetragen und diese Punkte miteinander verbunden. Somit befinden sich an der oberen linken Ecke des Koordinatensystems Cut-off Werte, die gut zwischen kranken und gesunden Personen unterscheiden können. [217]

Die Güte eines diagnostischen Tests wird mit der AUC („area under the curve“) beschrieben. Bei einem Test, der keine falsch positiven Ergebnisse aufweist, beträgt die Fläche 1. Wird im Gegensatz dazu willkürlich / zufällig entschieden, verläuft die ROC-Kurve diagonal von der linken unteren bis zur rechten oberen Ecke und hat somit eine Fläche von 0,5. Hier wer-

den, unabhängig vom Cut-off Wert, gleich viele Diagnosen richtig positiv und falsch positiv gestellt. [217]

### 2.3.3 Prädiktive Werte

Die Vorhersagewerte (prädiktive Werte) beschreiben die Wahrscheinlichkeit, dass das Testergebnis den richtigen Krankheitsstatus anzeigt. Der positiv prädiktive Wert (PPV) gibt die Wahrscheinlichkeit eines korrekt positiv erkannten Ergebnisses an, also die Wahrscheinlichkeit, dass eine als krank diagnostizierte Person wirklich krank ist. Im Gegensatz dazu gibt der negativ prädiktive Wert (NPV) die Wahrscheinlichkeit eines korrekt negativen Ergebnisses an, also die Wahrscheinlichkeit, dass eine als gesund diagnostizierte Person wirklich gesund ist. [217]

Während die Prävalenz die Wahrscheinlichkeit für eine beliebige Person aus der Population beschreibt, zu einem bestimmten Zeitpunkt erkrankt zu sein, noch bevor das Testergebnis bekannt ist, gibt der positive Vorhersagewert die Wahrscheinlichkeit erkrankt zu sein an, nachdem das positive Testergebnis vorliegt. [217]

Zur Bestimmung der prädiktiven Werte wurde eine Klassifikation der Daten anhand der zuvor bestimmten Cut-off Werte durchgeführt und die prädiktiven Werte wie folgt berechnet:

$$PPV = P(\text{richtig positiv erkannt}|\text{positiv erkannt}) = \frac{\text{Anzahl richtig positiv erkannt}}{\text{Anzahl positiv erkannt}}$$

$$NPV = P(\text{richtig negativ erkannt}|\text{negativ erkannt}) = \frac{\text{Anzahl richtig negativ erkannt}}{\text{Anzahl negativ erkannt}}$$

### 2.3.4 Likelihood-Ratio

Um die Güte eines diagnostischen Tests zu beschreiben, kann die Likelihood-Ratio verwendet werden. Die positive Likelihood-Ratio (LR+) wird berechnet, indem man die Wahrscheinlichkeit, dass eine kranke Person einen positiven Befund erhält, durch die Wahrscheinlichkeit, dass eine gesunde Person dieses (falsch) positive Ergebnis erhält, dividiert. Die negative Likelihood-Ratio (LR-) wird berechnet, indem man die Wahrscheinlichkeit, dass eine kranke Person einen (falsch) negativen Befund erhält, durch die Wahrscheinlichkeit, dass eine gesunde Person dieses negativen Ergebnis erhält, dividiert. Bei leistungsfähigen diagnostischen Tests sollte die positive Likelihood-Ratio  $> 3$  und die negative Likelihood-Ratio  $< 1/3$  sein. Werte um 1 sprechen für einen ungeeigneten Test. [217]

Zur Bestimmung der Likelihood-Ratios wurde eine Klassifikation der Daten anhand der zuvor bestimmten Cut-off Werte durchgeführt und die Likelihood-Ratios wie folgt berechnet:

$$LR+ = \frac{P(\text{positiv erkannt}|\text{krank})}{P(\text{positiv erkannt}|\text{gesund})} = \frac{\frac{\text{Anzahl richtig positiv erkannt}}{\text{Anzahl der Kranken}}}{\frac{\text{Anzahl falsch positiv erkannt}}{\text{Anzahl der Gesunden}}}$$

$$\text{LR-} = \frac{P(\text{negativ erkannt}|\text{krank})}{P(\text{negativ erkannt}|\text{gesund})} = \frac{\frac{\text{Anzahl falsch negativ erkannt}}{\text{Anzahl der Kranken}}}{\frac{\text{Anzahl richtig negativ erkannt}}{\text{Anzahl der Gesunden}}}$$

## 2.4 Regressionsanalyse

Die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines bestimmten Ereignisses, basierend auf mehreren Einflussgrößen, kann mit Hilfe des Verfahrens der logistischen Regression modelliert werden. Die Einflussgrößen ( $x$ ) können dabei diskret oder kontinuierlich sein. Die Zielgröße ist im einfachsten Fall binär (z.B. gesund oder krank). Bei der logistischen Regression wird eine mathematische Gleichung aufgestellt, die die Wahrscheinlichkeit ( $p$ ) für das Auftreten eines dieser Ereignisse liefert. Diese Gleichung basiert auf der logistischen Funktion:

$$p(\text{Ereignis}) = \frac{\exp(a_0 + a_1x_1 + \dots + a_nx_n)}{1 + \exp(a_0 + a_1x_1 + \dots + a_nx_n)}$$

Die in das Modell aufgenommenen Einflussgrößen bestimmen die Güte des Modells wesentlich. Daher muss die Auswahl der Einflussgrößen sowohl unter medizinisch-fachlichen als auch unter statistischen Aspekten erfolgen. Weiters lässt sich mit Hilfe der logistischen Regression feststellen, ob die Einflussgrößen auf das Endergebnis einwirken, bzw. wie groß deren Wirkung ( $a$ ) darauf ist. Zur Bestimmung der binären Zielgröße wird normalerweise ein Cut-off von 0,5 (50%) gewählt. [217]

### 3 Ergebnisse

Im Zeitraum Februar 2008 bis März 2011 lag bei 446 Neugeborenen der Verdacht auf eine Infektion vor. Von diesen mussten insgesamt 217 Neugeborene von der Studie ausgeschlossen werden:

- 122 Neugeborene konnten wegen fehlender PCT- und IL-6-Werte und fehlender Daten zum klinischen Verlauf nicht ausgewertet werden.
- 11 Neugeborene mussten wegen folgenden Erkrankungen ausgeschlossen werden:
  - 2 Neugeborene mit (unklarem) Dysmorphiesyndrom
  - 2 Neugeborene mit Trisomie 21
  - 2 Neugeborene mit Fallot'scher Tetralogie
  - 1 Neugeborenes mit Cri-du-chat-Syndrom
  - 1 Neugeborenes wegen Exitus letalis am 1. Lebenstag
  - 3 Neugeborene wegen Exitus letalis am 2. Lebenstag
- Bei 40 Neugeborenen konnte der Infektionsstatus nicht klar belegt, und diese somit nicht in die Studie aufgenommen werden.
- Weitere 44 Neugeborene mussten ausgeschlossen werden, weil sie nur eines oder zwei der Kriterien (Antibiotika-Therapie  $\geq 7$  Tage, klinische Zeichen, positiven Sepsis Screen) zeigten und somit kein eindeutiger Infektionsstatus erhoben werden konnte.

229 Neugeborene wurden in die Studie aufgenommen und ausgewertet. 17 (7,4%) Neugeborene wurden in der 24 – 28 Woche, 97 (42,4%) in der 29 – 32 Woche, 104 (45,4%) in der 33 – 36 Woche, und 11 (4,8%) in der 37 – 42 Woche geboren. Abbildung 1 zeigt diese Anteile der verschiedenen Altersgruppen an der gesamten Studienpopulation.

Allgemeine perinatale Daten sind in Tabelle 5 aufgelistet, während Tabelle 4 diese Daten in den verschiedenen Altersgruppen zeigt. Die perinatalen Risikofaktoren werden in Tabelle 6 aufgelistet, während Tabelle 7 diese Daten in den verschiedenen Altersgruppen zeigt.

Die gesamte Studienpopulation wurde auch auf vorzeitige Wehentätigkeit untersucht, welche aber bei keiner der Geburten beschrieben wurde. Ferner muss beachtet werden, dass nur bei Kindern mit Risikofaktoren die untersuchten Entzündungsparameter (PCT und IL-6) abgenommen wurden, und folglich auch die nicht erkrankten Neugeborenen mehr Risikofaktoren aufweisen als Neugeborenen mit komplikationsloser Schwangerschaft und Geburt.

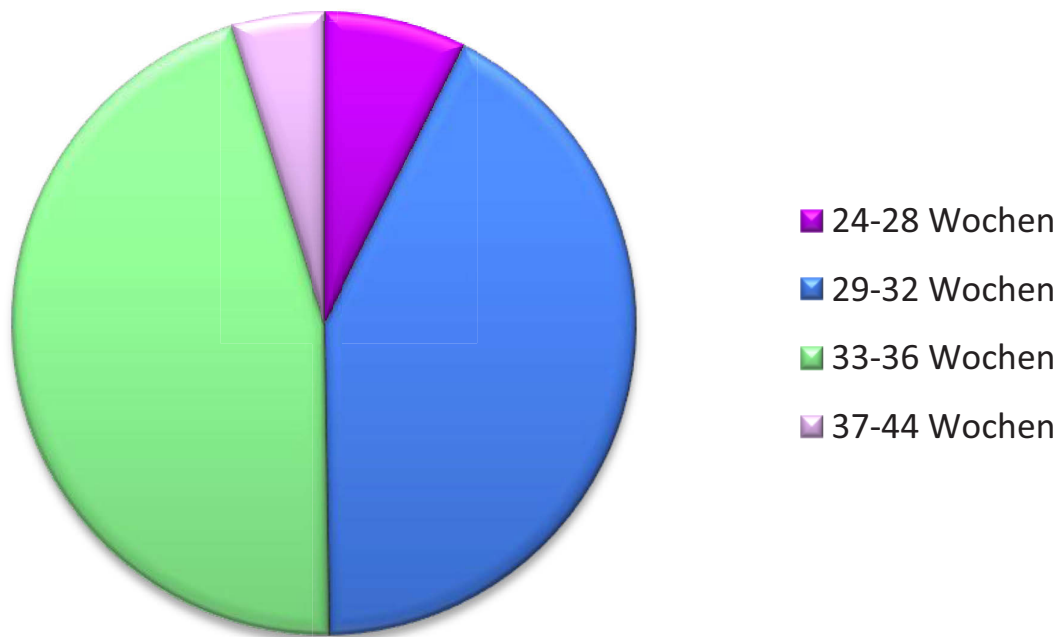


Abbildung 1: Altersgruppen in der gesamten Studienpopulation

Tabelle 4: Perinatale Daten der verschiedenen Altersgruppen

	24-28 Woche	29-32 Woche	33-36 Woche	37-44 Woche
<b>Geschlecht</b>				
männlich	11 (64,7%)	45 (46,4%)	61 (58,7%)	6 (54,5%)
weiblich	6 (35,3%)	52 (53,6%)	43 (41,3%)	5 (45,5%)
<b>Mehrfachgeburt</b>				
Einzelkind	11 (64,7%)	61 (62,9%)	69 (66,3%)	11 (100,0%)
Zwilling	6 (35,3%)	26 (26,8%)	32 (30,8%)	0 (%)
Drilling	0 (%)	10 (10,3%)	3 (2,9%)	0 (%)
<b>Geburtsgewicht (g)</b>				
Mittelwert (Standardabweichung)	859 (273)	1596 (317)	2145 (423)	3286 (599)
Minimum	410	800	1010	2080
Maximum	1390	2400	3570	4300
<b>Größe in Bezug zum Gestationsalter</b>				
AFD (appropriate for date)	12 (70,6%)	39 (40,2%)	71 (68,3%)	7 (63,6%)
SFD (small for date)	5 (29,4%)	58 (59,8%)	33 (31,7%)	4 (36,4%)
<b>Partus</b>				
Vaginale Geburt	2 (11,8%)	25 (25,8%)	41 (39,4%)	6 (54,5%)
Sectio caesarea	15 (88,2%)	72 (74,2%)	63 (60,6%)	5 (45,5%)

Tabelle 6: Perinatale Risikofaktoren der Studienpopulation

Mütterliche Risikofaktoren	
Bakterielle Vaginose	36 (15,7%)
davon Gruppe-B-Streptokokken	20 (8,7%)
Vorzeitiger Blasensprung	102 (44,5%)
Mütterliches Fieber während der Geburt und/oder erhöhte / steigende Entzündungsparameter	52 (22,7%)
Amnioninfektionssyndrom	15 (6,6%)
Kindliche Risikofaktoren	
Pathologisches CTG	38 (19,4%)
Missfarbiges Fruchtwasser	6 (3,1%)
Nabelschnur pH-Wert	
Mittelwert (Standardabweichung)	7,29 (0,08)
Minimum	6,93
Maximum	7,45
Apgar 1	
Median ( $Q_{25} - Q_{75}$ )	8 (7 - 8)
Apgar 5	
Median ( $Q_{25} - Q_{75}$ )	9 (8 - 9)
Apgar 10	
Median ( $Q_{25} - Q_{75}$ )	9 (9 - 10)
Asphyxie mäßig (Apgar 1 = 4-6)	33 (18,6%)
Asphyxie schwer (Apgar 1 = 0-3)	5 (2,6%)
Verzögerte Adaptation	103 (52,6%)
Frühgeburtlichkeit	188 (95,9%)

Tabelle 5: Perinatale Daten der Studienpopulation

Gesamtpopulation	229 (100,0%)
Geschlecht	
männlich	123 (53,7%)
weiblich	106 (46,3%)
Mehrfachgeburt	
Einzelkind	152 (66,4%)
Zwilling	64 (27,9%)
Drilling	13 (5,7%)
Geburtsgewicht (g)	
Mittelwert (Standardabweichung)	1872 (619)
Minimum	410
Maximum	4300
Größe in Bezug zum Gestationsalter	
AFD (appropriate for date)	129 (56,3%)
SFD (small for date)	100 (43,7%)
Partus	
Vaginale Geburt	74 (32,3%)
Sectio caesarea	155 (67,7%)

Tabelle 7: Perinatale Risikofaktoren der verschiedenen Altersgruppen

	24-28 Woche	29-32 Woche	33-36 Woche	37-44 Woche
<b>Mütterliche Risikofaktoren</b>				
Bakterielle Vaginose	3 (17,6%)	10 (10,3%)	21 (20,2%)	2 (18,2%)
davon Gruppe-B-Streptokokken	2 (11,8%)	4 (4,1%)	12 (11,5%)	2 (18,2%)
Vorzeitiger Blasensprung	4 (23,5%)	52 (53,6%)	45 (43,3%)	1 (9,1%)
Mütterliches Fieber während der Geburt und/oder erhöhte / steigende Entzündungsparameter	4 (23,5%)	22 (22,7%)	21 (20,2%)	5 (45,5%)
Amnioninfektionssyndrom	2 (11,8%)	7 (7,2%)	3 (2,9%)	3 (27,3%)
<b>Kindliche Risikofaktoren</b>				
Pathologisches CTG	5 (29,4%)	22 (22,7%)	18 (17,3%)	7 (63,6%)
Missfärbiges Fruchtwasser	3 (17,6%)	2 (2,1%)	2 (1,9%)	4 (36,4%)
Nabelschnur pH-Wert				
Mittelwert (Standardabweichung)	7,29 (0,09)	7,3 (0,07)	7,29 (0,08)	7,23 (0,08)
Minimum	7,09	6,93	6,93	7,09
Maximum	7,45	7,43	7,45	7,35
Apgar 1 Median ( $Q_{25} - Q_{75}$ )	7 (5 - 8)	8 (7 - 8)	8 (7 - 9)	7 (6 - 9)
Apgar 5 Median ( $Q_{25} - Q_{75}$ )	8 (8 - 9)	9 (8 - 9)	9 (8 - 10)	9 (8 - 10)
Apgar 10 Median ( $Q_{25} - Q_{75}$ )	9 (8 - 9)	9 (9 - 10)	9 (9 - 10)	9 (8 - 10)
Asphyxie mäßig (Apgar 1 = 4-6)	6 (35,3%)	19 (19,6%)	13 (12,5%)	2 (18,2%)
Asphyxie schwer (Apgar 1 = 0-3)	2 (11,8%)	3 (3,1%)	3 (2,9%)	1 (9,1%)
Verzögerte Adaptation	3 (17,6%)	42 (43,3%)	60 (57,7%)	8 (72,7%)

### 3.1 Early-Onset Sepsis in der Studienpopulation

Nach Ausschluss der nicht auswertbaren Neugeborenen wurde die gesamte Studienpopulation von 229 Neugeborenen in drei Gruppen aufgeteilt. Gruppe 1 umschließt 16 (7,0%) Neugeborene, bei denen die EOS über Blutkulturen bestätigt werden konnte. Gruppe 2 umschließt 17 (7,4%) Neugeborene mit klinischer EOS. In Gruppe 0 befinden sich die restlichen 196 (85,6%) Neugeborenen, bei denen keine Infektion festgestellt werden konnte. Abbildung 2 zeigt den Anteil der einzelnen Gruppen an der gesamten Studienpopulation, während Abbildung 3 die Anteile der Gruppen in den verschiedenen Altersgruppen beschreibt. Unter den 17 (7,0%) Neugeborenen der 24. - 28. Woche waren 5 (29,4%) in der Blutkultur positiven EOS Gruppe, 4 (23,5%) in der klinischen EOS Gruppe, 8 (47,1%) in der keine EOS Gruppe, unter den 97 (42,0%) Neugeborenen der 29. - 32. Woche waren 8 (8,2%) in der Blutkultur positiven EOS Gruppe, 6 (6,2%) in der klinischen EOS Gruppe, 83 (85,6%) in der keine EOS Gruppe, unter den 104 (45,0%) Neugeborenen der 33. - 36. Woche waren 1 (1,0%) in der Blutkultur positiven EOS Gruppe, 6 (5,8%) in der klinischen EOS Gruppe, 97 (93,3%) in der keine EOS Gruppe, und unter den 11 (5,0%) Neugeborenen der 37. - 44. Woche waren 2 (18,2%) in der Blutkultur positiven EOS Gruppe, 1 (9,1%) in der klinischen EOS Gruppe, 8 (72,7%) in der keine EOS Gruppe.

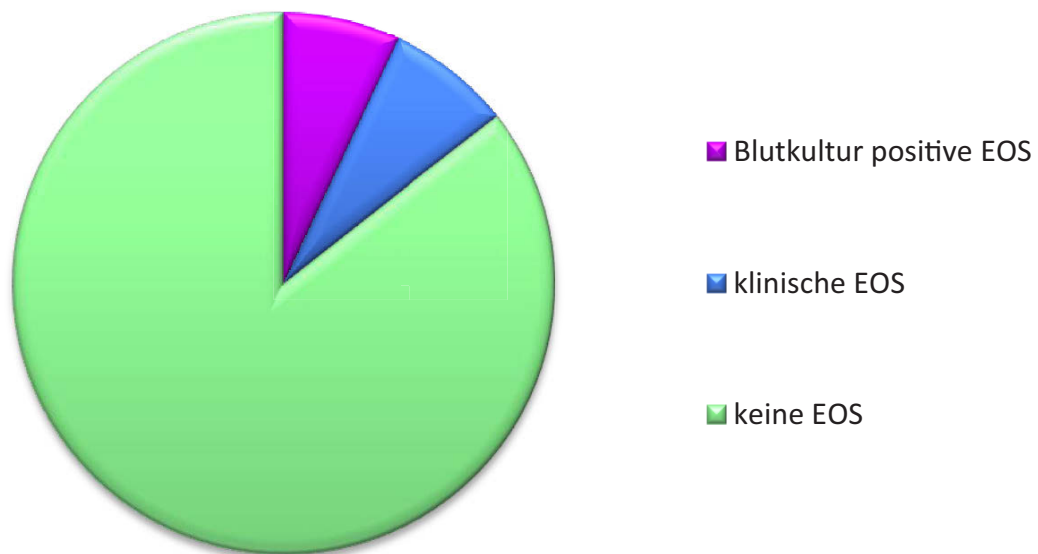


Abbildung 2: Gruppenaufteilung

Die perinatalen Daten in den verschiedenen Gruppen zeigt Tabelle 8, während Tabelle 9 die Risikofaktoren in diesen Gruppen auflistet.

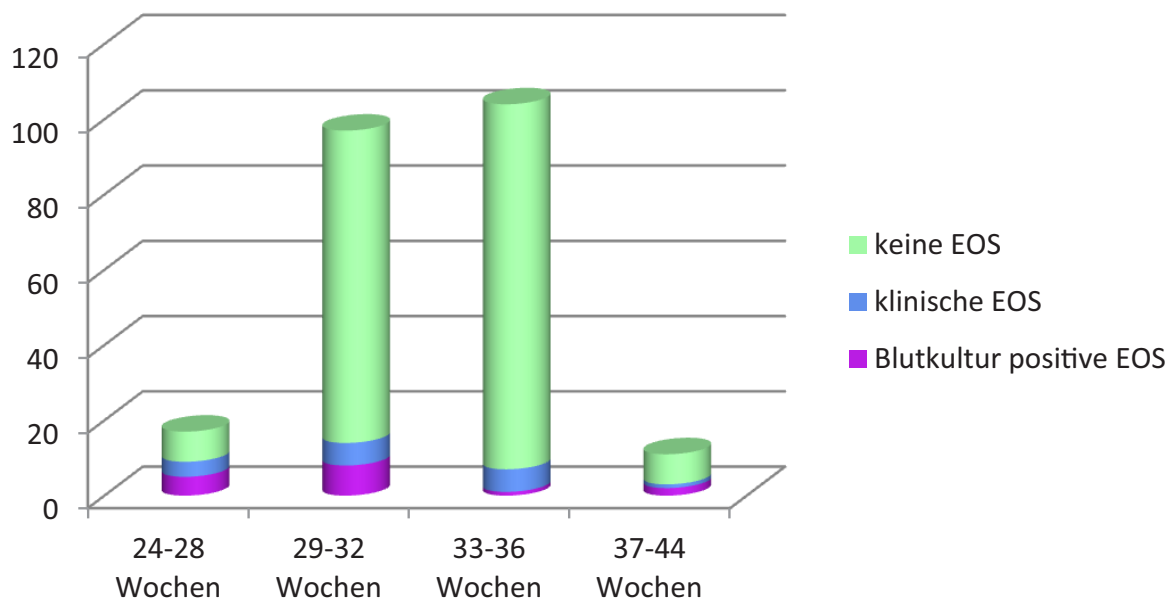


Abbildung 3: Gruppeneinteilung in den verschiedenen Altersgruppen

Tabelle 8: Perinatale Daten der verschiedenen Gruppen

	Blutkultur positive EOS	klinische EOS	keine EOS
<b>Geschlecht</b>			
männlich	8 (50,0%)	11 (64,7%)	104 (53,1%)
weiblich	8 (50,0%)	6 (35,3%)	92 (46,9%)
<b>Mehrfachgeburt</b>			
Einzelkind	16 (100,0%)	13 (76,5%)	123 (62,8%)
Zwilling	0 (%)	4 (23,5%)	60 (30,6%)
Drilling	0 (%)	0 (%)	13 (6,6%)
<b>Geburtsgewicht (g)</b>			
Mittelwert (Standardabweichung)	1523 (898)	1706 (857)	1915 (558)
Minimum	410	498	470
Maximum	3570	3670	4300
<b>Größe in Bezug zum Gestationsalter</b>			
AFD (appropriate for date)	8 (50,0%)	8 (47,1%)	113 (57,7%)
SFD (small for date)	8 (50,0%)	9 (52,9%)	83 (42,3%)
<b>Partus</b>			
Vaginale Geburt	5 (31,3%)	5 (29,4%)	64 (32,7%)
Sectio caesarea	11 (68,7%)	12 (70,6%)	132 (67,3%)

Tabelle 9: Perinatale Risikofaktoren der verschiedenen Gruppen

	Blutkultur positive EOS	klinische EOS	keine EOS
Mütterliche Risikofaktoren			
Bakterielle Vaginose	3 (18,8%)	1 (5,9%)	32 (16,3%)
davon Gruppe-B-Streptokokken	2 (12,5%)	0 (%)	18 (9,2%)
Vorzeitiger Blasensprung	8 (50,0%)	6 (35,3%)	88 (44,9%)
Mütterliches Fieber während der Geburt und/oder erhöhte/steigende Entzündungsparameter	7 (43,8%)	8 (47,1%)	37 (18,9%)
Amnioninfektionssyndrom	1 (6,3%)	4 (23,5%)	10 (5,1%)
Kindliche Risikofaktoren			
Pathologisches CTG	10 (62,5%)	4 (23,5%)	38 (19,4%)
Missfärbiges Fruchtwasser	3 (18,8%)	2 (11,8%)	6 (3,1%)
Nabelschnur pH-Wert			
Mittelwert	7,24 (0,11)	7,27 (0,09)	7,30 (0,07)
(Standardabweichung)			
Minimum	6,93	7,08	6,93
Maximum	7,38	7,37	7,45
Apgar 1			
Median ( $Q_{25} - Q_{75}$ )	6 (4 - 7)	8 (7 - 9)	8 (7 - 8)
Apgar 5			
Median ( $Q_{25} - Q_{75}$ )	8 (7 - 9)	9 (8 - 10)	9 (8 - 9)
Apgar 10			
Median ( $Q_{25} - Q_{75}$ )	9 (8 - 9)	9 (9 - 10)	9 (9 - 10)
Asphyxie mäßig (Apgar 1 = 4-6)	5 (31,3%)	2 (11,8%)	3 (16,8%)
Asphyxie schwer (Apgar 1 = 0-3)	3 (18,8%)	1 (5,9%)	5 (2,6%)
Verzögerte Adaptation	5 (31,3%)	5 (29,4%)	103 (52,6%)
Frühgeburlichkeit	14 (87,5%)	16 (94,1%)	188 (95,9%)

## **3.2 Early-Onset Sepsis und die Risikofaktoren**

Da in der Studie nur Kinder mit Risikofaktoren einbezogen wurden, stellt die Studienpopulation keine repräsentative Stichprobe für alle Kinder dar. Demnach ist es auch nicht überraschend, dass für die Risikofaktoren kein Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden konnte.

## **3.3 Early-Onset Sepsis und die Entzündungsmarker**

Von den 229 Neugeborenen der gesamten Studienpopulation konnten 221 Neugeborene für PCT und 126 Neugeborene für IL-6 ausgewertet werden. Tabelle 10 und Tabelle 11 geben einen Überblick über PCT, IL-6, CRP (am ersten Lebenstag, bzw. in den ersten 24 Lebensstunden) und maximales CRP (in den ersten vier Lebenstagen). Die genauere Verteilung dieser Daten wird in Abbildung 4 und Abbildung 5 dargestellt. In Tabelle 12 werden die nachgewiesenen Keime der Blutkultur positiven EOS Gruppe mit den entsprechenden Entzündungswerten aufgelistet.

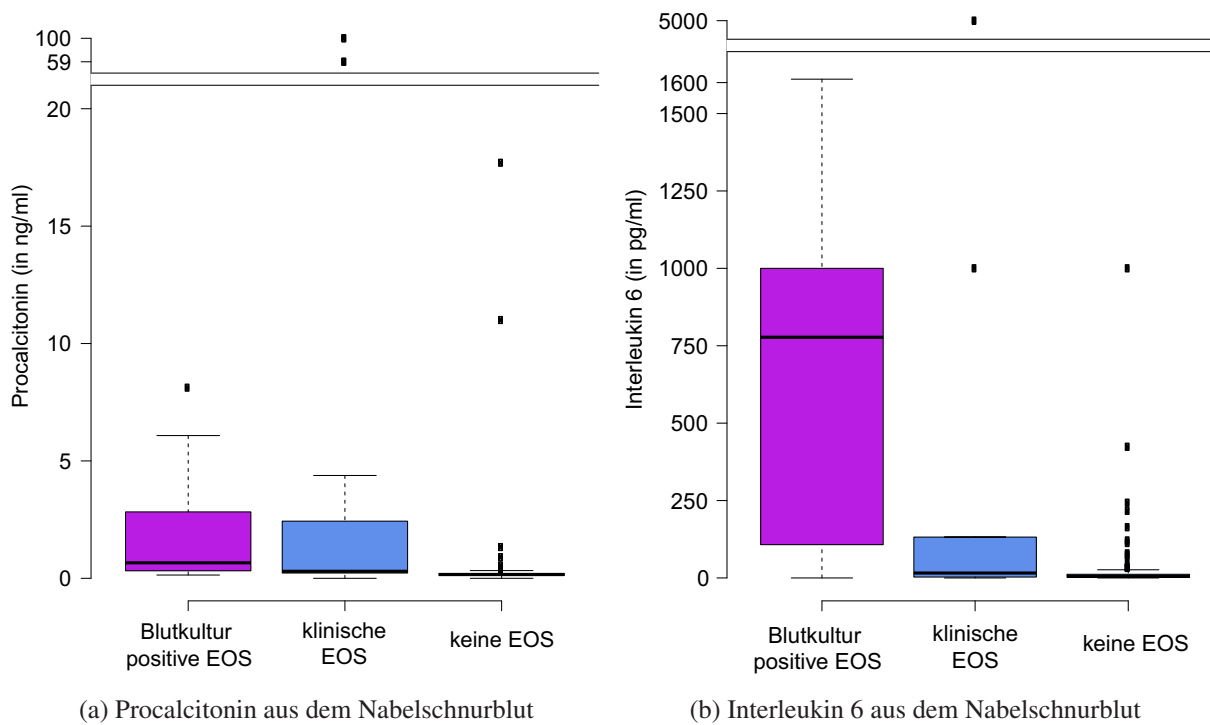


Abbildung 4: Procalcitonin und Interleukin 6 aus dem Nabelschnurblut in den verschiedenen Gruppen

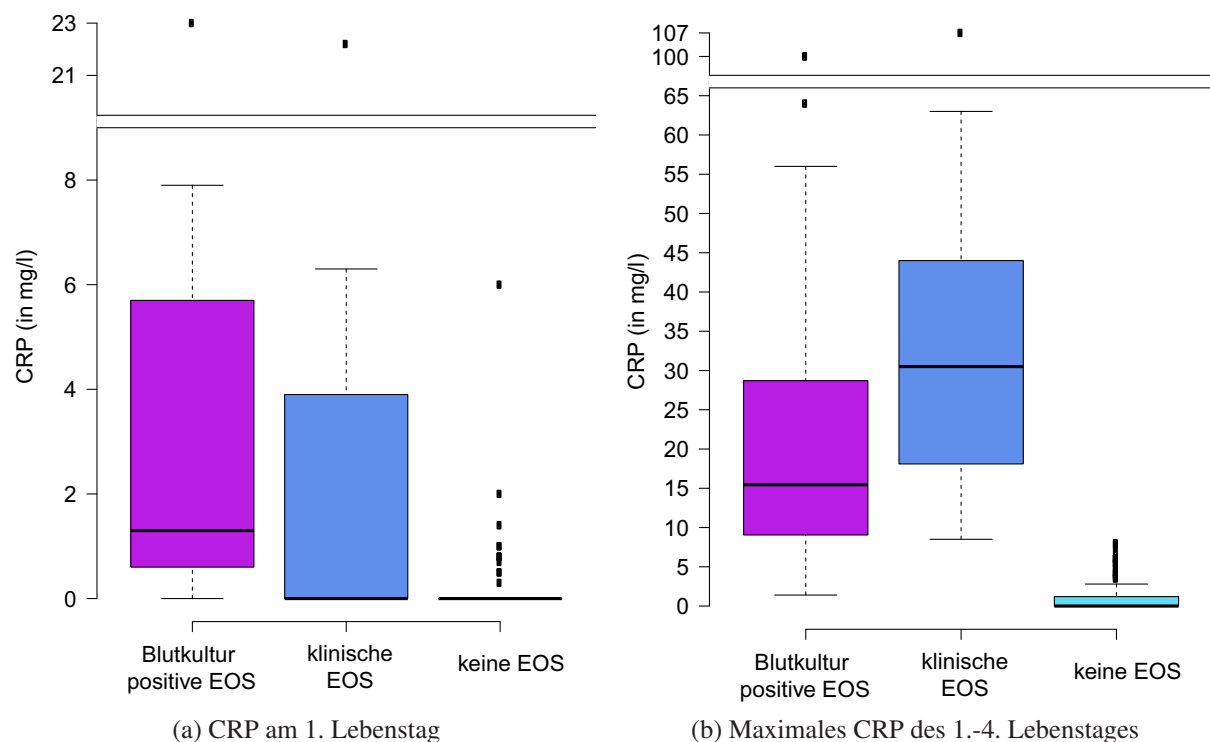


Abbildung 5: CRP (1. Lebenstag) und maximales CRP (1.-4. Lebenstag) in den verschiedenen Gruppen

Tabelle 10: Procalcitonin und Interleukin 6 in den verschiedenen Gruppen

	Procalcitonin (ng/ml)			Interleukin 6 (pg/ml)		
	Blutkultur positive EOS	klinische EOS	keine EOS	Blutkultur positive EOS	klinische EOS	keine EOS
Mittelwert (Standardabweichung)	2,07 (2,61)	10,75 (27,92)	0,33 (1,49)	664,15 (515,63)	687,86 (1649,27)	29,80 (110,58)
Minimum	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Maximum	8,12	100,00	17,70	1611,00	5000,00	1000,00
Median	0,66	0,30	0,16	777,40	15,90	5,00
$Q_{25}$	0,30	0,21	0,12	70,25	1,45	1,00
$Q_{75}$	3,45	2,88	0,21	1000,00	566,00	12,20

Tabelle 11: CRP (1. Lebenstag) und maximales CRP (1.-4- Lebenstag) in den verschiedenen Gruppen

	CRP (mg/l) am 1. Lebenstag			max. CRP (mg/l) des 1.-4. Lebenstages		
	Blutkultur positive EOS	klinische EOS	keine EOS	Blutkultur positive EOS	klinische EOS	keine EOS
Mittelwert (Standardabweichung)	4,83 (7,35)	3,68 (7,56)	0,14 (0,63)	25,01 (26,81)	34,77 (23,65)	0,98 (1,57)
Minimum	0,00	0,00	0,00	1,40	8,50	0,00
Maximum	23,00	21,60	6,00	100,00	107,00	8,00
Median	1,30	0,00	0,00	15,45	30,50	0,00
$Q_{25}$	0,30	0,00	0,00	8,43	17,55	0,00
$Q_{75}$	6,80	5,10	0,00	30,85	44,40	1,20

Tabelle 12: Keime der Blutkulturen mit den entsprechenden Werten von PCT, IL-6 und CRP

Keim	PCT	IL-6	CRP	max. CRP
	in ng/ml Nabelschnur	in pg/ml Nabelschnur	in mg/l 1. Tag	in mg/l 1.-4. Tag
Escherichia coli	0,24			100
	5,31	1000	4	64
		0		1,4
	0,23	577	0,6	19,6
	8,12	182		14,4
	0,92	1000	7,9	24,4
Escherichia coli, Morganella morganii	2,6	929,8	5,7	10,3
Gramnegative Stäbchen	0,14			2
Flavobacterium	0,32		0	56
Streptokokkus anginosus	0,81	1611	1	7,8
Bacillus cereus, Streptokokkus anginosus, Staphylokokkus capitis	6,08	1000		2,9
Staphylokokkus hominis		625	23	33
Staphylokokkus epidermidis	2,83	1000	0	11,6
Staphylokokkus hominis, Staphylokokkus epidermidis	0,42	12		13,7
Staphylokokkus epidermidis, Staphylokokkus mitis	0,51			22,6
Staphylokokkus haemolyticus, Granulicatella adiacens	0,42	33	1,3	16,5

### 3.3.1 Procalcitonin und Early-Onset Sepsis

Alle folgend berechneten Werte (Youden Index, Sensitivität und Spezifität, positiv prädiktiver Wert (PPV) und negativ prädiktiver Wert (NPV), positive Likelihood-Ratio (LR+) und negative Likelihood-Ratio (LR-)) für Procalcitonin sind in Tabelle 13 und Tabelle 14 zusammengefasst. Zur Überprüfung, ob sich die Marker zwischen den Gruppen unterscheiden, wurde ein Kruskal-Wallis-Test durchgeführt und zur post-hoc Analyse wurden Bonferroni angepasste Mann-Whitney-U Tests gerechnet. Mit dem Kruskal-Wallis-Test zeigte sich ein signifikanter Unterschied für PCT innerhalb der Gruppen Blutkultur positive EOS, klinische EOS und keine EOS ( $\chi^2_{2,n=221} = 37,691, p < 0,001$ ). Die post-hoc Analyse mit den Bonferroni angepassten Mann-Whitney-U Tests zeigten einen Unterschied zwischen den Gruppen Blutkultur positive EOS und keine EOS, sowie zwischen den Gruppen klinische EOS und keine EOS. Zwischen den beiden positiven EOS Gruppen wurde kein Unterschied gefunden.

### 3.3.1.1 Procalcitonin und ROC

Abbildung 6 zeigt die ROC-Kurven von PCT für die verschiedenen Gruppen. Für die Blutkultur positive EOS Gruppe ergab sich eine AUC von 0,916 ( $p < 0,01$ , 95% Konfidenzintervall: 0,832 – 1,000). Für die klinische EOS Gruppe ergab sich eine AUC von 0,775 ( $p < 0,01$ , 95% Konfidenzintervall: 0,610 – 0,940). Beim Zusammenfügen der beiden Gruppen ergab sich eine AUC von 0,841 ( $p < 0,01$ , 95% Konfidenzintervall: 0,740 – 0,941).

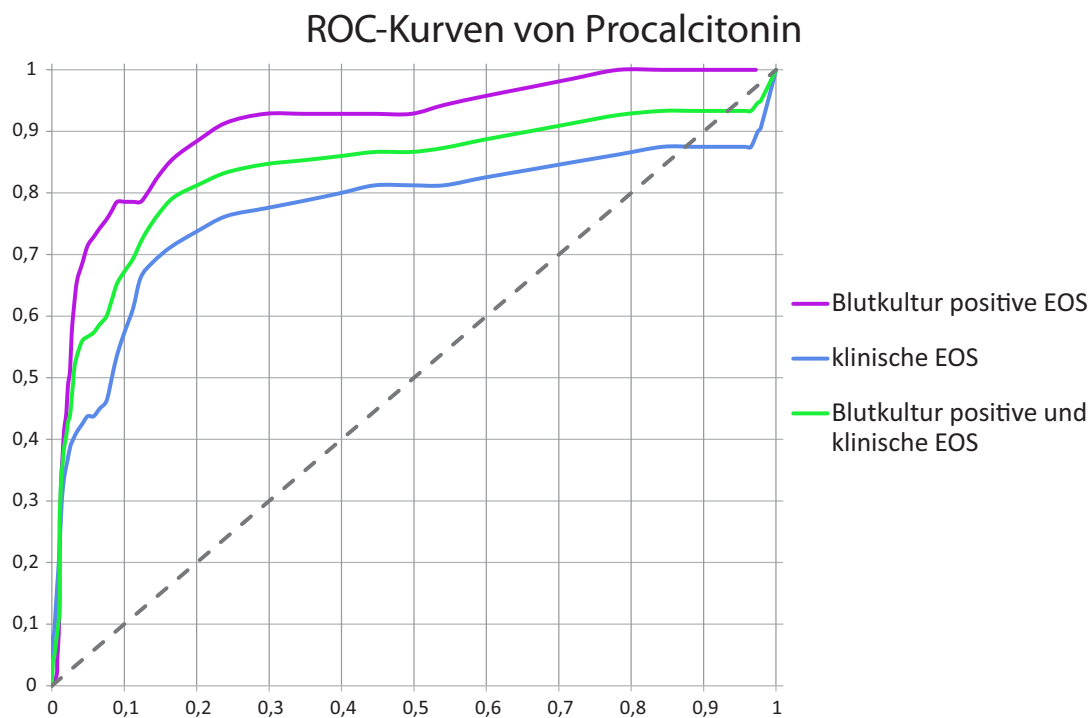


Abbildung 6: ROC-Kurven von Procalcitonin für die verschiedenen Gruppen

### 3.3.1.2 Procalcitonin, Sensitivität und Spezifität

Für die Blutkultur positive EOS Gruppe wurde ein Cut-off von  $0,225\text{ng/ml}$  gewählt. Aus diesem ergaben sich eine Sensitivität von 92,9% und eine Spezifität von 81,7%. Für die klinische EOS Gruppe wurde ein Cut-off von  $0,240\text{ng/ml}$  gewählt. Aus diesem ergaben sich eine Sensitivität von 75,0% und eine Spezifität von 85,3%. Beim Zusammenfügen beider Gruppen wurde ein Cut-off von  $0,235\text{ng/ml}$  gewählt. Aus diesem ergaben sich eine Sensitivität von 80,0% und eine Spezifität von 85,3%. Mit der Berechnung des allgemein verwendeten Cut-offs von  $0,500\text{ng/ml}$  ergaben sich für die Blutkultur positive EOS Gruppe, die klinische EOS Gruppe und die zusammengefügte Gruppe Sensitivitäten von 57,1%, 37,5% und 46,7%, und für alle Gruppen eine Spezifität von 97,4%.

### 3.3.1.3 Procalcitonin und prädiktive Werte

Für die Blutkultur positive EOS Gruppe (0,225ng/ml), die klinische EOS Gruppe (0,240ng/ml) und die zusammengeführte Gruppe (0,235ng/ml) wurden so positiv prädiktive Werte (PPV) von 27,1%, 30,0% und 46,2%, und negativ prädiktive Werte (NPV) von 99,4%, 97,6% und 96,4% bestimmt. Mit der Berechnung des allgemein verwendeten Cut-offs von 0,500ng/ml ergaben sich für die Blutkultur positive EOS Gruppe, die klinische EOS Gruppe und die zusammengeführte Gruppe positiv prädiktive Werte (PPV) von 61,5%, 54,5% und 73,7%, und negativ prädiktive Werte (NPV) von 96,9%, 94,9% und 92,1%.

### 3.3.1.4 Procalcitonin und Likelihood-Ratio

Für die Blutkultur positive EOS Gruppe (0,225ng/ml), die klinische EOS Gruppe (0,240ng/ml) und die zusammengeführte Gruppe (0,235ng/ml) wurden so positive Likelihood-Ratios von 5,067, 5,116 und 5,457, und negative Likelihood-Ratios von 0,087, 0,293 und 0,234 bestimmt. Mit der Berechnung des allgemein verwendeten Cut-offs von 0,500ng/ml ergaben sich für die Blutkultur positive EOS Gruppe, die klinische EOS Gruppe und die zusammengeführte Gruppe positive Likelihood-Ratios von 21,829, 14,325 und 17,827, und negative Likelihood-Ratios von 0,440, 0,642 und 0,548.

## 3.3.2 Interleukin 6 und Early-Onset Sepsis

Alle folgend berechneten Werte (Youden Index, Sensitivität und Spezifität, positiv prädiktiver Wert (PPV) und negativ prädiktiver Wert (NPV), positive Likelihood-Ratio (LR+) und negative Likelihood-Ratio (LR-)) für Interleukin 6 sind in Tabelle 15, Tabelle 16, Tabelle 17 und Tabelle 18 zusammengefasst.

Mit dem Kruskal-Wallis-Test zeigte sich ein signifikanter Unterschied für IL-6 innerhalb der Gruppen Blutkultur positive EOS, klinische EOS und keine EOS ( $\chi^2_{2,n=126} = 20,352, p < 0,001$ ). Die post-hoc Analyse mit den Bonferroni angepassten Mann-Whitney-U Tests zeigte einen Unterschied zwischen den Gruppen Blutkultur positive EOS und keine EOS. Zwischen den Gruppen klinische EOS und keine EOS sowie zwischen den beiden positiven EOS Gruppen wurde kein Unterschied gefunden.

### 3.3.2.1 Interleukin 6 und ROC

Abbildung 7 zeigt die ROC-Kurven von IL-6 für die verschiedenen Gruppen. Für die Blutkultur positive EOS Gruppe ergab sich eine AUC von 0,889 ( $p < 0,01$ , 95% Konfidenzintervall: 0,750 – 1,000). Für die klinische EOS Gruppe ergab sich eine AUC von 0,638 ( $p = 0,172$ , 95% Konfidenzintervall: 0,403 – 0,872). Beim Zusammenfügen der beiden Gruppen ergab sich eine AUC von 0,781 ( $p < 0,01$ , 95% Konfidenzintervall: 0,642 – 0,921).

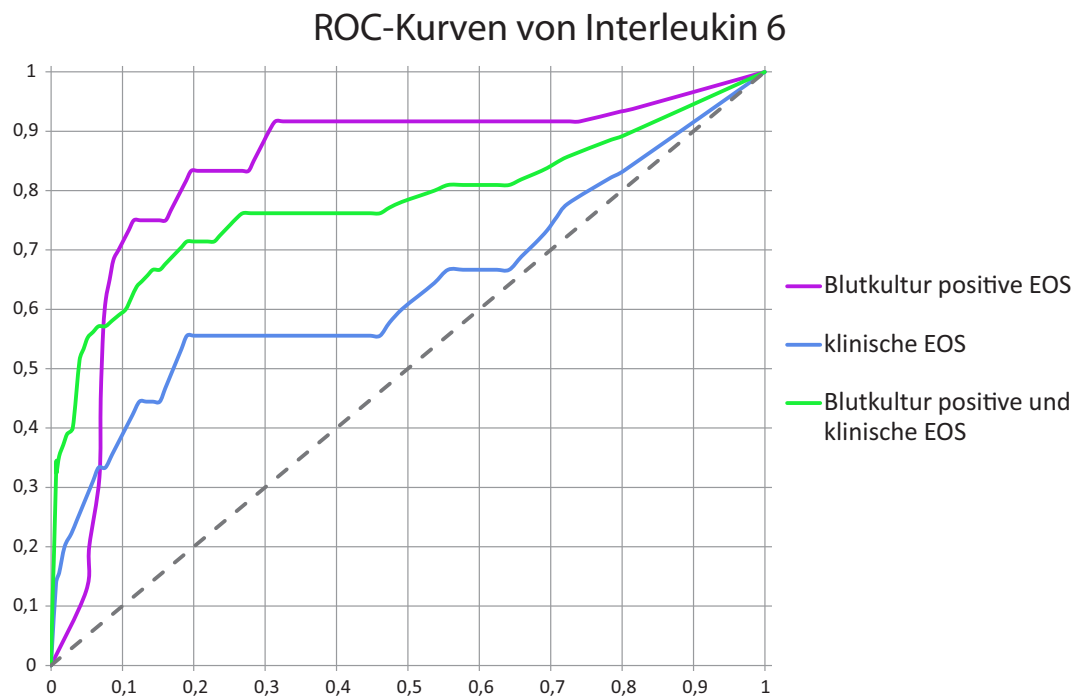


Abbildung 7: ROC-Kurven von Interleukin 6 für die verschiedenen Gruppen

### 3.3.2.2 Interleukin 6, Sensitivität und Spezifität

Für die Blutkultur positive EOS Gruppe wurde ein Cut-off von  $32,650\text{pg/ml}$  oder  $172,850\text{pg/ml}$  gewählt. Aus diesem ergaben sich eine Sensitivität von 83,3% oder 75,0% und eine Spezifität von 87,6% oder 96,2%. Für die klinische EOS Gruppe wurde ein Cut-off von  $15,850\text{pg/ml}$  gewählt. Aus diesem ergaben sich eine Sensitivität von 55,6% und eine Spezifität von 82,9%. Beim Zusammenfügen beider Gruppen wurde ein Cut-off von  $18,850\text{pg/ml}$  oder  $32,650\text{pg/ml}$  gewählt. Aus diesem ergaben sich eine Sensitivität von 71,4% oder 66,7% und eine Spezifität von 82,9% oder 87,6%. Mit der Berechnung des allgemein verwendeten Cut-offs von  $10,000\text{pg/ml}$  ergaben sich für die Blutkultur positive EOS Gruppe, die klinische EOS Gruppe und die zusammengefügte Gruppe Sensitivitäten von 91,7%, 55,6%, und 76,2% und für alle Gruppen eine Spezifität von 69,5%.

Mit einem alternativen Cut-off von  $100,000\text{pg/ml}$  ergaben sich für die Blutkultur positive EOS Gruppe, die klinische EOS Gruppe und die zusammengefügte Gruppe Sensitivitäten von 75,0%, 33,3%, und 57,1% und für alle Gruppen eine Spezifität von 93,3%. Mit einem alternativen Cut-off von  $150,000\text{pg/ml}$  ergaben sich für die Blutkultur positive EOS Gruppe, die klinische EOS Gruppe und die zusammengefügte Gruppe Sensitivitäten von 75,0%, 22,2%, und 52,4% und für alle Gruppen eine Spezifität von 95,2%.

### 3.3.2.3 Interleukin 6 und prädiktive Werte

Mit den zuvor bestimmten Cut-off Werten wurden für die Blutkultur positive EOS Gruppe ( $32,650\text{pg/ml}$  /  $172,850\text{pg/ml}$ ), die klinische EOS Gruppe ( $15,850\text{pg/ml}$ ) und die zusammen-

gefügte Gruppe ( $18,850pg/ml$  /  $32,650pg/ml$ ) positiv prädiktive Werte (PPV) von 43,5% / 69,2%, 21,7% und 45,5% / 51,9%, und negativ prädiktive Werte (NPV) von 97,9% / 97,1%, 95,6% und 93,5% / 92,9% bestimmt. Mit der Berechnung des allgemein verwendeten Cut-offs von  $10,000pg/ml$  ergaben sich für die Blutkultur positive EOS Gruppe, die klinische EOS und die zusammengefügte Gruppe positiv prädiktive Werte (PPV) von 25,6%, 13,5% und 33,3%, und negativ prädiktive Werte (NPV) von 98,6%, 94,8% und 93,6%.

Mit einem alternativen Cut-off von  $100,000pg/ml$  ergaben sich für die Blutkultur positive EOS Gruppe, die klinische EOS und die zusammengefügte Gruppe positiv prädiktive Werte (PPV) von 56,3%, 30,0% und 63,2%, und negativ prädiktive Werte (NPV) von 97,0%, 94,2% und 91,6%. Mit einem alternativen Cut-off von  $150,000pg/ml$  ergaben sich für die Blutkultur positive EOS Gruppe, die klinische EOS und die zusammengefügte Gruppe positiv prädiktive Werte (PPV) von 64,3%, 28,6% und 68,8%, und negativ prädiktive Werte (NPV) von 97,1%, 93,5% und 90,9%.

#### **3.3.2.4 Interleukin 6 und Likelihood-Ratio**

Mit den zuvor bestimmten Werten wurde für die Blutkultur positive EOS Gruppe ( $32,650pg/ml$  /  $172,850pg/ml$ ), die klinische EOS Gruppe ( $15,850pg/ml$ ) und die zusammengefügte Gruppe ( $18,850pg/ml$  /  $32,650pg/ml$ ) positive Likelihood-Ratios von 6,731 / 19,688, 3,241 und 4,167 / 5,385, und negative Likelihood-Ratios von 0,190 / 0,260, 0,536 und 0,345 / 0,380 bestimmt. Mit der Berechnung des allgemein verwendeten Cut-offs von  $10,000ng/ml$  ergaben sich für die Blutkultur positive EOS Gruppe, die klinische EOS Gruppe und die zusammengefügte Gruppe positive Likelihood-Ratios von 3,008, 1,823 und 2,500, und negative Likelihood-Ratios von 0,120, 0,639 und 0,342.

Mit einem alternativen Cut-off von  $100,000pg/ml$  ergaben sich für die Blutkultur positive EOS Gruppe, die klinische EOS Gruppe und die zusammengefügte Gruppe positive Likelihood-Ratios von 11,250, 5,000 und 8,571, und negative Likelihood-Ratios von 0,268, 0,714 und 0,459. Mit einem alternativen Cut-off von  $150,000pg/ml$  ergaben sich für die Blutkultur positive EOS Gruppe, die klinische EOS Gruppe und die zusammengefügte Gruppe positive Likelihood-Ratios von 15,750, 4,667 und 11,000, und negative Likelihood-Ratios von 0,263, 0,817 und 0,500.

#### **3.3.3 CRP und Early-Onset Sepsis**

Alle folgend berechneten Werte (Youden Index, Sensitivität und Spezifität, positiv prädiktiver Wert (PPV) und negativ prädiktiver Wert (NPV), positive Likelihood-Ratio (LR+) und negative Likelihood-Ratio (LR-)) für CRP (am ersten Lebenstag) sind in Tabelle 19 und Tabelle 21 und für das maximale CRP (in den ersten vier Lebenstagen) in Tabelle 20 und Tabelle 22 zusammengefasst.

### 3.3.3.1 CRP (am ersten Lebenstag) und ROC

Abbildung 8 zeigt die ROC-Kurven von CRP (am ersten Lebenstag) für die verschiedenen Gruppen. Für die Blutkultur positive EOS Gruppe ergab sich eine AUC von 0,860 ( $p < 0,01$ , 95% Konfidenzintervall: 0,693 – 1,000). Für die klinische EOS Gruppe ergab sich eine AUC von 0,653 ( $p = 0,15$ , 95% Konfidenzintervall: 0,418 – 0,888). Beim Zusammenfügen der beiden Gruppen ergab sich eine AUC von 0,762 ( $p < 0,01$ , 95% Konfidenzintervall: 0,611 – 0,913).

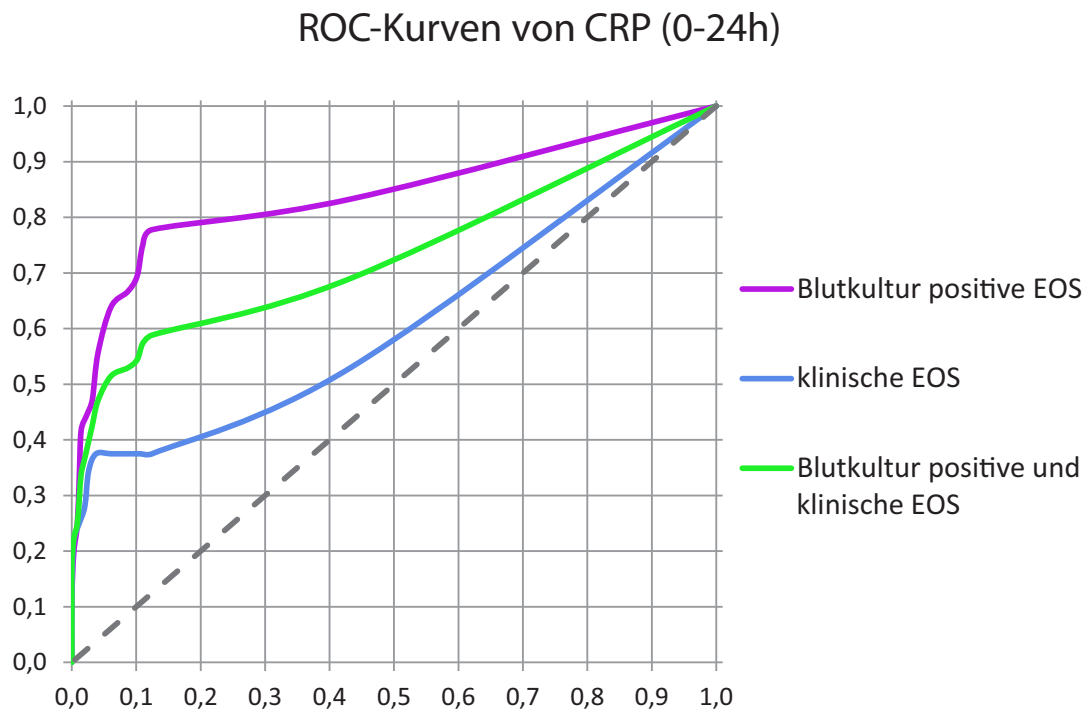


Abbildung 8: ROC-Kurven von CRP (am ersten Lebenstag) für die verschiedenen Gruppen

### 3.3.3.2 Maximales CRP (in den ersten vier Lebenstagen) und ROC

Abbildung 9 zeigt die ROC-Kurven vom maximalen CRP (in den ersten vier Lebenstagen) für die verschiedenen Gruppen. Für die Blutkultur positive EOS Gruppe ergab sich eine AUC von 0,972 ( $p < 0,01$ , 95% Konfidenzintervall: 0,940 – 1,000). Für die klinische EOS Gruppe ergab sich eine AUC von 1,000 ( $p = 0,01$ , 95% Konfidenzintervall: 1,000 – 1,000). Beim Zusammenfügen der beiden Gruppen ergab sich eine AUC von 0,986 ( $p < 0,01$ , 95% Konfidenzintervall: 0,970 – 1,000).

### 3.3.3.3 CRP (am ersten Lebenstag), Sensitivität und Spezifität

Für die Blutkultur positive EOS Gruppe wurde ein Cut-off von  $0,550\text{mg/l}$  gewählt. Aus diesem ergaben sich eine Sensitivität von 77,8% und eine Spezifität von 92,2%. Für die klinische EOS Gruppe wurde ein Cut-off von  $6,150\text{mg/l}$  gewählt. Aus diesem ergaben sich eine Sensitivität von 37,5% und eine Spezifität von 98,3%. Beim Zusammenfügen beider Gruppen wurde ein

### ROC-Kurven von max CRP (1.-4. Lebenstag)

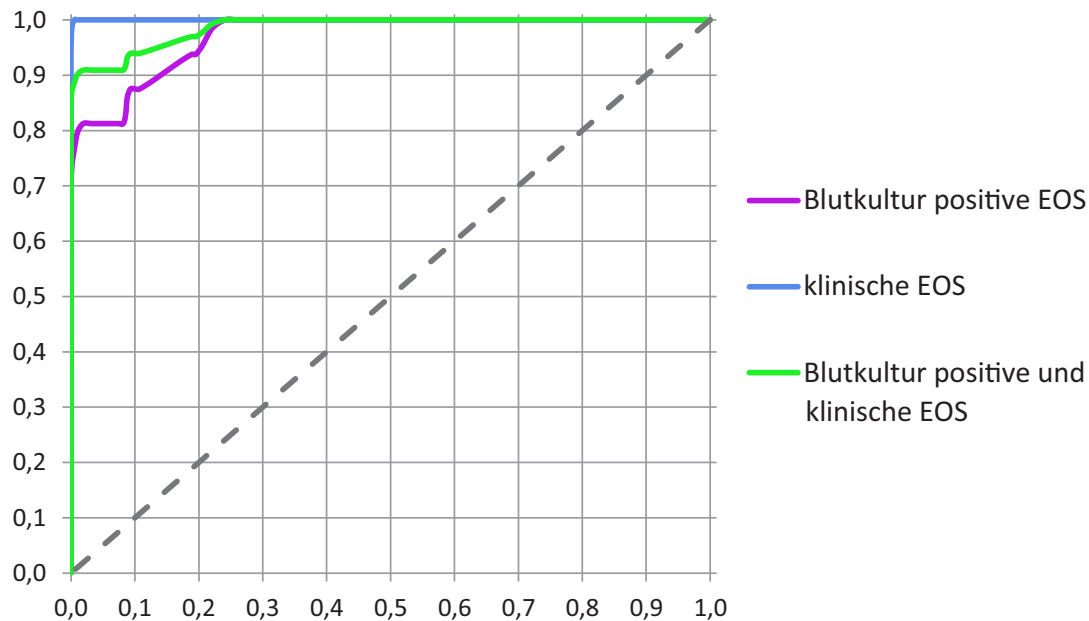


Abbildung 9: ROC-Kurven von max CRP (in den ersten vier Lebenstagen) für die verschiedenen Gruppen

Cut-off von  $0,550\text{mg/l}$  gewählt. Aus diesem ergaben sich eine Sensitivität von 58,8% und eine Spezifität von 92,2%. Mit der Berechnung des allgemein verwendeten Cut-offs von  $8,000\text{mg/l}$  ergaben sich für die Blutkultur positive EOS Gruppe, die klinische EOS Gruppe und die zusammengeführte Gruppe Sensitivitäten von 11,1%, 12,5%, und 11,8% und für alle Gruppen eine Spezifität von 99,9%.

#### 3.3.3.4 Maximales CRP (in den ersten vier Lebenstagen), Sensitivität und Spezifität

Für die Blutkultur positive EOS Gruppe wurde ein Cut-off von  $0,550\text{mg/l}$  gewählt. Aus diesem ergaben sich eine Sensitivität von 81,3% und eine Spezifität von 98,9%. Für die klinische EOS Gruppe wurde ein Cut-off von  $6,150\text{mg/l}$  gewählt. Aus diesem ergaben sich eine Sensitivität von 99,4% und eine Spezifität von 99,9%. Beim Zusammenfügen beider Gruppen wurde ein Cut-off von  $0,550\text{mg/l}$  gewählt. Aus diesem ergaben sich eine Sensitivität von 90,9% und eine Spezifität von 98,9%. Mit der Berechnung des allgemein verwendeten Cut-offs von  $8,000\text{mg/l}$  ergaben sich für die Blutkultur positive EOS Gruppe, die klinische EOS Gruppe und die zusammengeführte Gruppe Sensitivitäten von 75,0%, 99,4%, und 87,9% und für alle Gruppen eine Spezifität von 99,9%.

#### 3.3.3.5 CRP (am ersten Lebenstag) und prädiktive Werte

Mit den zuvor bestimmten Cut-off Werten wurden für die Blutkultur positive EOS Gruppe ( $0,550\text{mg/l}$ ), die klinische EOS Gruppe ( $6,150\text{mg/l}$ ) und die zusammengeführte Gruppe ( $0,550\text{mg/l}$ )

positiv prädiktive Werte (PPV) von 43,8%, 60,0% und 52,6%, und negativ prädiktive Werte (NPV) von 98,1%, 95,8% und 93,8% bestimmt. Mit der Berechnung des allgemein verwendeten Cut-offs von  $8,000\text{mg/l}$  ergaben sich für die Blutkultur positive EOS Gruppe, die klinische EOS und die zusammengefügte Gruppe positiv prädiktive Werte (PPV) von 90,9%, 90,9% und 95,2%, und negativ prädiktive Werte (NPV) von 93,5%, 94,3% und 88,5%.

### **3.3.3.6 Maximales CRP (in den ersten vier Lebenstagen) und prädiktive Werte**

Mit den zuvor bestimmten Cut-off Werten wurden für die Blutkultur positive EOS Gruppe ( $0,550\text{mg/l}$ ), die klinische EOS Gruppe ( $6,150\text{mg/l}$ ) und die zusammengefügte Gruppe ( $0,550\text{mg/l}$ ) positiv prädiktive Werte (PPV) von 86,7%, 99,4% und 93,8%, und negativ prädiktive Werte (NPV) von 98,4%, 99,9% und 98,4% bestimmt. Mit der Berechnung des allgemein verwendeten Cut-offs von  $8,000\text{mg/l}$  ergaben sich für die Blutkultur positive EOS Gruppe, die klinische EOS und die zusammengefügte Gruppe positiv prädiktive Werte (PPV) von 99,2%, 99,4% und 99,7%, und negativ prädiktive Werte (NPV) von 97,9%, 99,9% und 97,9%.

### **3.3.3.7 CRP (am ersten Lebenstag) und Likelihood-Ratio**

Mit den zuvor bestimmten Werten wurden für die Blutkultur positive EOS Gruppe ( $0,550\text{mg/l}$ ), die klinische EOS Gruppe ( $6,150\text{mg/l}$ ) und die zusammengefügte Gruppe ( $0,550\text{mg/l}$ ) positive Likelihood-Ratios von 9,938, 21,563 und 7,516, und negative Likelihood-Ratios von 0,241, 0,636 und 0,447 bestimmt. Mit der Berechnung des allgemein verwendeten Cut-offs von  $8,000\text{mg/l}$  ergaben sich für die Blutkultur positive EOS Gruppe, die klinische EOS Gruppe und die zusammengefügte Gruppe positive Likelihood-Ratios von 127,889, 143,875 und 135,412, und negative Likelihood-Ratios von 0,890, 0,876 und 0,883.

### **3.3.3.8 Maximales CRP (in den ersten vier Lebenstagen) und Likelihood-Ratio**

Mit den zuvor bestimmten Werten wurden für die Blutkultur positive EOS Gruppe ( $0,550\text{mg/l}$ ), die klinische EOS Gruppe ( $6,150\text{mg/l}$ ) und die zusammengefügte Gruppe ( $0,550\text{mg/l}$ ) positive Likelihood-Ratios von 76,375, 1870,000 und 85,455, und negative Likelihood-Ratios von 0,190, 0,006 und 0,092 bestimmt. Mit der Berechnung des allgemein verwendeten Cut-offs von  $8,000\text{mg/l}$  ergaben sich für die Blutkultur positive EOS Gruppe, die klinische EOS Gruppe und die zusammengefügte Gruppe positive Likelihood-Ratios von 1410,750, 1870,000 und 1653,000, und negative Likelihood-Ratios von 0,250, 0,006 und 0,121.

Tabelle 13: Youden Index, Sensitivität und Spezifität, positiv prädiktiver Wert (PPV) und negativ prädiktiver Wert (NPV), positive Likelihood-Ratio (LR+) und negative Likelihood-Ratio (LR-) mit 95% Konfidenzintervallen von Procalcitonin mit den optimalen Cut-off Werten in den verschiedenen Gruppen

	Procalcitonin	
	Blutkultur positive EOS (0,225 ng/ml)	Blutkultur positive und klinische EOS (0,235 ng/ml)
Youden Index	0,745	0,653
Sensitivität	92,9% (0,685-0,987)	80,0% (0,627-0,905)
Spezifität	81,7% (0,756-0,865)	85,3% (0,796-0,897)
PPV	27,1% (0,166-0,410)	46,2% (0,333-0,595)
NPV	99,4% (0,965-0,999)	96,4% (0,925-0,984)
LR+	5,067 (3,633-7,068)	5,457 (3,709-8,029)
LR-	0,087 (0,013-0,579)	0,234 (0,114-0,481)

Tabelle 14: Youden Index, Sensitivität und Spezifität, positiv prädiktiver Wert (PPV) und negativ prädiktiver Wert (NPV), positive Likelihood-Ratio (LR+) und negative Likelihood-Ratio (LR-) mit 95% Konfidenzintervallen von Procalcitonin mit dem allgemein verwendeten Cut-off Wert in den verschiedenen Gruppen

	Procalcitonin	
	Blutkultur positive EOS 0,500 ng/ml	Blutkultur positive und klinische EOS 0,500 ng/ml
Youden Index	0,513	0,425
Sensitivität	57,1% (0,326-0,786)	46,7% (0,302-0,639)
Spezifität	97,4% (0,940-0,989)	97,4% (0,940-0,989)
PPV	61,5% (0,355-0,823)	73,7% (0,512-0,882)
NPV	96,9% (0,934-0,986)	92,1% (0,875-0,951)
LR+	21,829 (8,219-57,971)	17,827 (6,923-45,901)
LR-	0,440 (0,240-0,806)	0,548 (0,392-0,766)

Tabelle 15: Youden Index, Sensitivität und Spezifität, positiv prädiktiver Wert (PPV) und negativ prädiktiver Wert (NPV), positive Likelihood-Ratio (LR+) und negative Likelihood-Ratio (LR-) mit 95% Konfidenzintervallen von Interleukin 6 mit den optimalen Cut-off Werten in den verschiedenen Gruppen

	Interleukin 6		
	Blutkultur positive EOS (32,650 pg/ml   172,850 pg/ml)	klinische EOS (15,850 pg/ml)	Blutkultur positive und klinische EOS (15,850 pg/ml   32,650 pg/ml)
Youden Index	0,710   0,712	0,384	0,543   0,543
Sensitivität	83,3% (0,552-0,953)   175,0% (0,468-0,911)	55,6% (0,267-0,811)	71,4% (0,500-0,862)   66,7% (0,454-0,828)
Spezifität	87,6% (0,800-0,926)   196,2% (0,906-0,985)	82,9% (0,745-0,889)	82,9% (0,745-0,889)   87,6% (0,880-0,926)
PPV	43,5% (0,256-0,632)   169,2% (0,424-0,873)	21,7% (0,097-0,419)	45,5% (0,298-0,620)   51,9% (0,340-0,693)
NPV	97,9% (0,926-0,994)   197,1% (0,919-0,990)	95,6% (0,892-0,983)	93,5% (0,866-0,970)   92,9% (0,861-0,965)
LR+	6,731 (3,813-11,880)   19,690 (7,134-54,330)	3,241 (1,578-6,657)	4,167 (2,527-6,870)   5,385 (2,979-9,732)
LR-	0,190 (0,054-0,675)   10,260 (0,097-0,693)	0,536 (0,257-1,119)	0,345 (0,174-0,682)   0,380 (0,207-0,700)

Tabelle 16: Youden Index, Sensitivität und Spezifität, positiv prädiktiver Wert (PPV) und negativ prädiktiver Wert (NPV), positive Likelihood-Ratio (LR+) und negative Likelihood-Ratio (LR-) mit 95% Konfidenzintervallen von Interleukin 6 mit dem allgemein verwendeten Cut-off Wert in den verschiedenen Gruppen

	Interleukin 6		
	Blutkultur positive EOS (10,000 pg/ml)	klinische EOS (10,000 pg/ml)	Blutkultur positive und klinische EOS (10,000 pg/ml)
Youden Index	0,616	0,255	0,462
Sensitivität	91,7% (0,646-0,985)	55,6% (0,267-0,811)	76,2% (0,549-0,894)
Spezifität	69,5% (0,602-0,775)	69,5% (0,602-0,775)	69,5% (0,602-0,775)
PPV	25,6% (0,149-0,402)	13,5% (0,059-0,280)	33,3% (0,217-0,475)
NPV	98,6% (0,927-0,998)	94,8% (0,874-0,980)	93,6% (0,859-0,972)
LR+	3,008 (2,151-4,207)	1,823 (0,950-3,498)	2,500 (1,718-3,637)
LR-	0,120 (0,018-0,786)	0,639 (0,305-1,342)	0,342 (0,158-0,744)

Tabelle 17: Youden Index, Sensitivität und Spezifität, positiv prädiktiver Wert (PPV) und negativ prädiktiver Wert (NPV), positive Likelihood-Ratio (LR+) und negative Likelihood-Ratio (LR-) mit 95% Konfidenzintervallen von Interleukin 6 mit alternativem Cut-off Wert (100 pg/ml) in den verschiedenen Gruppen

	Interleukin 6	
	Blutkultur positive EOS (100,000 pg/ml)	Blutkultur positive und klinische EOS (100,000 pg/ml)
Youden Index	0,683	0,504
Sensitivität	75,0% (0,468-0,911)	57,1% (0,365-0,755)
Spezifität	93,3% (0,869-0,967)	93,3% (0,869-0,967)
PPV	56,3% (0,332-0,769)	63,2% (0,410-0,809)
NPV	97,0% (0,916-0,990)	91,6% (0,848-0,955)
LR+	11,250 (5,123-24,707)	8,571 (3,829-19,188)
LR-	0,268 (0,100-0,715)	0,459 (0,279-0,754)

Tabelle 18: Youden Index, Sensitivität und Spezifität, positiv prädiktiver Wert (PPV) und negativ prädiktiver Wert (NPV), positive Likelihood-Ratio (LR+) und negative Likelihood-Ratio (LR-) mit 95% Konfidenzintervallen von Interleukin 6 mit alternativem Cut-off Wert (150 pg/ml) in den verschiedenen Gruppen

	Interleukin 6	
	Blutkultur positive EOS (150,000 pg/ml)	Blutkultur positive und klinische EOS (150,000 pg/ml)
Youden Index	0,702	0,476
Sensitivität	75,0% (0,468-0,911)	52,4% (0,324-0,717)
Spezifität	95,2% (0,893-0,979)	95,2% (0,893-0,979)
PPV	64,3% (0,388-0,837)	68,8% (0,444-0,858)
NPV	97,1% (0,918-0,990)	90,9% (0,841-0,950)
LR+	15,750 (6,304-39,350)	11,000 (4,264-28,375)
LR-	0,263 (0,098-0,700)	0,500 (0,319-0,785)

Tabelle 19: Youden Index, Sensitivität und Spezifität, positiv prädiktiver Wert (PPV) und negativ prädiktiver Wert (NPV), positive Likelihood-Ratio (LR+) und negative Likelihood-Ratio (LR-) mit 95% Konfidenzintervallen von CRP am 1. Lebenstag mit den optimalen Cut-off Werten in den verschiedenen Gruppen

	CRP (1. Lebenstag)	
	Blutkultur positive EOS (0,550 mg/l)	Blutkultur positive und klinische EOS (0,550 mg/l)
Youden Index	0,700	0,510
Sensitivität	77,8% (0,453-0,937)	58,8% (0,360-0,784)
Spezifität	92,2% (0,858-0,958)	92,2% (0,858-0,958)
PPV	43,8% (0,231-0,668)	52,6% (0,317-0,727)
NPV	98,1% (0,935-0,995)	93,8% (0,878-0,970)
LR+	9,938 (4,848-20,375)	7,516 (3,576-15,796)
LR-	0,241 (0,071-0,819)	0,447 (0,252-0,790)

Tabelle 20: Youden Index, Sensitivität und Spezifität, positiv prädiktiver Wert (PPV) und negativ prädiktiver Wert (NPV), positive Likelihood-Ratio (LR+) und negative Likelihood-Ratio (LR-) mit 95% Konfidenzintervallen vom maximalen CRP (in den ersten vier Lebenstagen) mit den optimalen Cut-off Werten in den verschiedenen Gruppen

	max. CRP (1.-4. Lebenstag)	
	Blutkultur positive EOS (7,400 mg/l)	Blutkultur positive und klinische EOS (7,400 mg/l)
Youden Index	0,802	0,898
Sensitivität	81,3% (0,570-0,934)	90,9% (0,764-0,969)
Spezifität	98,9% (0,962-0,997)	98,9% (0,962-0,997)
PPV	86,7% (0,621-0,963)	93,8% (0,799-0,983)
NPV	98,4% (0,954-0,995)	98,4% (0,954-0,995)
LR+	76,375 (18,863-309,241)	85,455 (21,440-340,601)
LR-	0,190 (0,068-0,526)	0,092 (0,031-0,270)

Tabelle 21: Youden Index, Sensitivität und Spezifität, positiv prädiktiver Wert (PPV) und negativ prädiktiver Wert (NPV), positive Likelihood-Ratio (LR+) und negative Likelihood-Ratio (LR-) mit 95% Konfidenzintervallen von CRP am 1. Lebenstag mit dem allgemein verwendeten Cut-off Wert in den verschiedenen Gruppen

	CRP (1. Lebenstag)	
	Blutkultur positive EOS (8,000 mg/l)	Blutkultur positive und klinische EOS (8,000 mg/l)
Youden Index	0,110	0,117
Sensitivität	11,1% (0,020-0,435)	11,8% (0,033-0,343)
Spezifität	99,9% (0,966-1,000)	99,9% (0,966-1,000)
PPV	90,9% (0,184-0,998)	95,2% (0,321-0,999)
NPV	93,5% (0,877-0,967)	88,5% (0,818-0,929)
LR+	127,889 (0,199-82136,055)	135,412 (0,241-76029,681)
LR-	0,890 (0,706-1,121)	0,883 (0,742-1,051)

Tabelle 22: Youden Index, Sensitivität und Spezifität, positiv prädiktiver Wert (PPV) und negativ prädiktiver Wert (NPV), positive Likelihood-Ratio (LR+) und negative Likelihood-Ratio (LR-) mit 95% Konfidenzintervallen von CRP am 1. Lebenstag mit dem allgemein verwendeten Cut-off Wert in den verschiedenen Gruppen

	max. CRP (1.-4. Lebenstag)	
	Blutkultur positive EOS (8,000 mg/l)	Blutkultur positive und klinische EOS (8,000 mg/l)
Youden Index	0,749	0,878
Sensitivität	75,0% (0,505-0,898)	87,9% (0,727-0,952)
Spezifität	99,9% (0,979-1,000)	99,9% (0,979-1,000)
PPV	99,2% (0,747-1,000)	99,7% (0,877-1,000)
NPV	97,9% (0,948-0,992)	97,9% (0,948-0,992)
LR+	1410,750 (2,855-697065,004)	1653,000 (3,363-812560,159)
LR-	0,250 (0,107-0,584)	0,121 (0,048-0,304)

### 3.3.4 Kombination von Procalcitonin und Interleukin 6

Um zu beurteilen, wie gut die Kombination von PCT und IL-6 die EOS vorhersagt, wurde eine logistische Regression gerechnet. In einem ersten Schritt wurden die PCT- und IL-6 -Werte mit den allgemeinen (PCT  $0,500\text{ng/ml}$ , IL-6  $10,000\text{pg/ml}$ ) und auch den zuvor bestimmten (PCT  $0,235\text{ng/ml}$ , IL-6  $15,850\text{pg/ml}$ ) Cut-off Werten klassifiziert. Darauffolgend wurden diese Daten als Einflussgrößen der logistischen Regression verwendet.

#### 3.3.4.1 Logistische Regression mit allgemein verwendetem Cut-off Wert

Ein Test des konstruierten Modells gegenüber einem konstanten Modell zeigte sich als statistisch signifikant, was darauf hindeutet, dass eine Kombination der auf diese Weise klassifizierten IL-6 und PCT Werten zwischen Neugeborenen mit und ohne Infektion unterscheiden kann ( $\chi^2_2 = 38,830$ ,  $p < 0,01$ ). Die Schätzung ergab einen Nagelkerkes  $R^2$  von  $0,488$ , was auf einen relativ schwachen Zusammenhang zwischen den Einflussgrößen und der Zielgröße hinweist. Weiters bestätigt der nicht signifikante Hosmer-Lemeshow-Test diesen Zusammenhang ( $\chi^2_1 = 0,700$ ,  $p = 0,67$ ). Für einen Cut-off von  $0,5$  in der logistischen Regression ergab sich ein Gesamtprozentsatz der richtig vorhergesagten Fälle von  $91,5\%$ . Die Vorhersagequalität unter Miteinbeziehung der Randverteilungen wurde über Cohens  $\kappa$  gemessen, welches  $\kappa = 0,620$  ergab. Das Vorhersageergebnis wird in Tabelle 23 dargestellt. Das Waldkriterium zeigte, dass sowohl PCT ( $p < 0,01$ ) als auch IL-6 ( $p = 0,02$ ) einen signifikanten Einfluss auf das Ergebnis haben. Für PCT zeigte sich ein  $\exp(B)$  von  $31,843$ , IL-6 erreichte ein  $\exp(B)$  von  $5,470$ .

Tabelle 23: Vorhersageergebnis der logistischen Regression mit den Einflussgrößen PCT und IL-6 (klassifiziert mit den allgemeinen Cut-off Werten) für einen logistischen Regressionscut-off von  $0.5$

beobachtet	vorhergesagt		
	keine Infektion	Infektion	Prozentsatz der richtigen
keine Infektion	98	2	98,0% (Spezifität)
Infektion	8	10	55,6% (Sensitivität)

#### 3.3.4.2 Logistische Regression mit optimalem Cut-off Wert

Ein Test des konstruierten Modells gegenüber einem konstanten Modell zeigte sich als statistisch signifikant, was darauf hindeutet, dass eine Kombination der auf diese Weise klassifizierten IL-6 und PCT Werten zwischen Neugeborenen mit und ohne Infektion unterscheiden kann ( $\chi^2_2 = 48,463$ ,  $p < 0,01$ ). Die Schätzung ergab einen Nagelkerkes  $R^2$  von  $0,586$ , was auf einen moderaten Zusammenhang zwischen den Einflussgrößen und der Zielgröße hinweist. Weiters bestätigt der nicht signifikante Hosmer-Lemeshow-Test diesen Zusammenhang ( $\chi^2_2 = 0,147$ ,  $p = 0,93$ ). Für einen Cut-off von  $0,5$  in der logistischen Regression ergab sich ein Gesamtprozentsatz der richtig vorhergesagten Fälle von  $91,5\%$ , sowie ein Cohens  $\kappa$  von  $0,657$ . Für einen

angepassten Cut-off von 0,3 ergab sich ein Gesamtprozentsatz der richtig vorhergesagten Fälle von 89,0%, sowie ein Cohens  $\kappa$  von 0,632. Die Vorhersageergebnisse werden in Tabelle 24 dargestellt. Das Waldkriterium zeigte, dass sowohl PCT ( $p < 0,01$ ) als auch IL-6 ( $p < 0,01$ ) einen signifikanten Einfluss auf das Ergebnis haben. Für PCT zeigte sich ein  $\exp(B)$  von 26,627, IL-6 erreichte ein  $\exp(B)$  von 7,431.

Tabelle 24: Vorhersageergebnis der logistischen Regression mit den Einflussgrößen PCT und IL-6 (klassifiziert mit den optimalen Cut-off Werten)

(a) logistische Regression mit Cut-off 0.5			
beobachtet	vorhergesagt		
	keine Infektion	Infektion	Prozentsatz der richtigen
keine Infektion	96	4	96,0% (Spezifität)
Infektion	6	12	66,7% (Sensitivität)

(b) logistische Regression mit Cut-off 0.3			
beobachtet	vorhergesagt		
	keine Infektion	Infektion	Prozentsatz der richtigen
keine Infektion	90	10	90,0% (Spezifität)
Infektion	3	15	83,3% (Sensitivität)

## 4 Diskussion

In unserer Studie konnte gezeigt werden, dass PCT aus dem Nabelschnurblut ein geeigneter Parameter in der Diagnostik der EOS ist. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied der PCT Werte zwischen der Blutkultur positiven EOS Gruppe und der keine EOS Gruppe, sowie zwischen der klinischen EOS Gruppe und keine EOS Gruppe. Dies lässt darauf schließen, dass PCT aus dem Nabelschnurblut in der klinischen Praxis als Marker zur Diagnose der EOS anwendbar ist.

Weiters konnte gezeigt werden, dass IL-6 aus dem Nabelschnurblut großteils ein geeigneter Parameter in der Diagnostik der EOS ist. Während sich die IL-6 Werte zwischen der Blutkultur positiven EOS Gruppe und der keine EOS Gruppe, sowie zwischen der zusammengeführten EOS Gruppe und der keine EOS Gruppe signifikant unterschieden, fiel der Unterschied zwischen den Gruppen klinische EOS und keine EOS nicht signifikant aus. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass es einen Zusammenhang zwischen IL-6 und der EOS gibt, dieser aber entweder nicht so stark ausfällt wie für PCT, oder IL-6 nur für einen Teil der EOS Fälle anschlägt.

Im Folgenden wird die Bestimmung eines optimalen Cut-off Werts für die beiden Marker diskutiert und der positive Einfluss dieser Anpassungen der Cut-offs auf die Erkennungsraten dargestellt. Danach findet sich eine Gegenüberstellung der Marker PCT, IL-6 und CRP sowie ein Vergleich der von uns erzielten Ergebnisse mit den Ergebnissen von anderen Autoren. Schlussendlich wird noch die Möglichkeit der Kombination der Marker PCT und IL-6 diskutiert.

### 4.1 Optimaler Cut-off Wert, Sensitivität und Spezifität

#### *Procalcitonin*

Der allgemein verwendete Cut-off Wert von PCT beträgt  $0,500\text{ng/ml}$ . Mit diesem wurde eine Sensitivität von 46,7% für die zusammengeführte Gruppe (57,1% für die Blutkultur positive EOS Gruppe, 37,5% für die klinische EOS Gruppe) und eine Spezifität von 97,4% (für alle Gruppen) erreicht. Mit Hilfe des Youden Index konnten wir einen Cut-off Wert von  $0,235\text{ng/ml}$  ( $0,225\text{ng/ml}$ ,  $0,240\text{ng/ml}$ ) bestimmen, womit wir eine Sensitivität von 80,0% (92,9%, 75,0%) und eine Spezifität von 85,3% (81,7%, 85,3%) erreichen konnten. Mit diesen veränderten Cut-off Werten konnten somit deutlich bessere Sensitivitäten (um 33,3%) erzielt werden, was in der Diagnostik der EOS von großer Bedeutung ist. Die dadurch entstehende Verringerung der Spezifität (um 12,1%) ist von geringerer Bedeutung, denn es ist wichtiger, ein krankes Neugeborenes zu erkennen und rechtzeitig zu behandeln – eine nicht rechtzeitige oder gar nicht erkannte Infektion bringt fatale Folgen mit sich – als ein gesundes Neugeborenes umsonst zu behandeln.

#### *Interleukin 6*

Der allgemein verwendete Cut-off Wert von IL-6 beträgt  $10,000\text{pg/ml}$ . Mit diesem wurde eine Sensitivität von 76,2% (91,7%, 55,6%) und eine Spezifität von 69,5% erreicht. Mit Hilfe

des Youden Index konnten wir für die zusammengefügte Gruppe sowie für die Blutkultur positive Gruppe jeweils zwei optimale Cut-off Werte bestimmen. Mit den Cut-off Werten von  $18,850\text{pg/ml}$  /  $32,650\text{pg/ml}$  ( $32,650\text{pg/ml}$  /  $172,850\text{pg/ml}$ ,  $15,850\text{pg/ml}$ ) konnten wir Sensitivitäten von  $71,4\%$  /  $66,7\%$  ( $83,3\%$  /  $75,0\%$ ,  $55,6\%$ ) und Spezifitäten von  $82,9\%$  /  $87,6\%$  ( $87,6\%$  /  $96,2\%$ ,  $82,9\%$ ) erreichen. Wir haben uns entschlossen, den Cut-off mit der höheren Sensitivität zu wählen, da diese unseres Erachtens nach in der Diagnostik der EOS aus oben genannten Gründen von größerer Bedeutung ist. Obwohl der allgemein verwendete Cut-off Wert eine noch bessere Sensitivität erzielt, sind wir der Meinung, dass es besser ist, den optimalen Cut-off zu verwenden, da dessen Spezifität im Vergleich zum Verlust des Wertes der Sensitivität (von  $4,8\%$ ) über das Doppelte an Wert gewinnt ( $13,4\%$ ).

### *Gruppenunterschiede*

Wie bereits beschrieben ergaben sich Unterschiede in den verschiedenen Gruppen. Es scheint, dass Neugeborene der Blutkultur positiven EOS Gruppe im Vergleich zur klinischen EOS Gruppe besser mit IL-6 erkannt werden können (für die rein klinische EOS Gruppe konnten sich hier die Ergebnisse nicht als signifikant erweisen). PCT konnte in beiden Gruppen signifikante Ergebnisse erzielen, jedoch zeigt sich auch dieser Marker besser in der Diagnose der Blutkultur positiven EOS im Vergleich zur klinischen EOS.

### *CRP*

Der allgemein verwendete Cut-off Wert von CRP beträgt  $8,000\text{mg/l}$ . Mit diesem wurde am ersten Lebenstag eine Sensitivität von  $11,8\%$  ( $11,1\%$ ,  $12,5\%$ ) und eine Spezifität von  $99,9\%$ , sowie mit dem maximalen CRP (in den ersten vier Lebenstagen) eine Sensitivität von  $87,9\%$  ( $75,0\%$ ,  $99,4\%$ ) und eine Spezifität von  $99,9\%$  erreicht. Mit Hilfe des Youden Index konnten wir Cut-off Werte am ersten Lebenstag von  $0,550\text{mg/l}$  ( $0,550\text{mg/l}$ ,  $6,150\text{mg/l}$ ), sowie mit dem maximalen CRP (in den ersten vier Lebenstagen) von  $7,400\text{mg/l}$  ( $7,400\text{mg/l}$ ,  $8,250\text{mg/l}$ ) bestimmen, mit denen wir am ersten Lebenstag eine Sensitivität von  $58,8\%$  ( $77,8\%$ ,  $37,5\%$ ) und eine Spezifität von  $92,2\%$  ( $92,2\%$ ,  $98,3\%$ ), sowie mit dem maximalen CRP (in den ersten vier Lebenstagen) eine Sensitivität von  $90,9\%$  ( $81,3\%$ ,  $99,4\%$ ) und eine Spezifität von  $98,9\%$  ( $98,9\%$ ,  $99,9\%$ ) erreichen konnten. Durch das Herabsetzen des Cut-off Werts konnten am ersten Lebenstag deutlich bessere Sensitivitäten (um  $47,0\%$ ), bei nur leichter Verminderung der Spezifität (um  $7,7\%$ ) erzielt werden. Dies konnte auch von Resch et al. beobachtet werden [197].

Da wir in unserer Studie CRP in der Definition der klinischen EOS verwendet haben, sind die Werte dieser Gruppe sowie die Werte der zusammengefügten Gruppe nur mit gewissen Einschränkungen zu betrachten.

In unserer Studie konzentrieren wir uns auf die praktisch frühestmögliche Diagnose der EOS – aus dem Nabelschnurblut –, und werden aus diesem Grund in weiterer Folge nur mehr mit dem CRP vom ersten Lebenstag arbeiten, und nicht näher auf den maximalen CRP-Wert (der ersten vier Lebenstage) eingehen. Dennoch bestätigen diese Ergebnisse, dass CRP eine gute

Spezifität aufweist, dessen Sensitivität aber zu Beginn (durch den langsamen physiologischen Anstieg) noch sehr niedrig ist. Dadurch bietet sich dieser Marker gut für Verlaufsbeobachtungen und Management der Antibiotikatherapie an.

## 4.2 PPV und NPV

### *Procalcitonin*

Mit dem allgemein verwendeten Cut-off Wert von PCT wurde ein positiv prädiktiver Wert (PPV) von 73,7% (61,6%, 54,5%), sowie ein negativ prädiktiver Wert (NPV) von 92,1% (96,9%, 94,9%) erreicht. Mit dem optimalen Cut-off Wert wurde ein positiv prädiktiver Wert von 46,2% (27,1%, 30,0%), sowie ein negativ prädiktiver Wert von 96,4% (99,4%, 97,6%) erreicht. Der optimale Cut-off Wert verbessert zwar den NPV (um 4,3%), verschlechtert den PPV (um 27,5%) aber sehr stark, was darauf zurückzuführen ist, dass nun nicht nur wesentlich mehr kranke Kinder als krank erkannt werden, sondern auch viele nicht kranke Kinder fälschlicherweise als krank erkannt werden. Die Verschlechterung dieses Wertes ist in diesem Fall besonders stark ausgeprägt, da sich in der Studienpopulation im Vergleich zu den wenigen kranken Kinder sehr viele gesunde Kinder befinden. Wir denken, dass das Erkennen von 33,3% (Sensitivität) mehr kranken Kindern es rechtfertigt, 27,5% (PPV) zusätzlich fälschlicherweise als krank diagnostizierte Kinder mit Antibiotika zu behandeln.

### *Interleukin 6*

Mit dem allgemein verwendeten Cut-off Wert von IL-6 wurde ein positiv prädiktiver Wert von 33,3% (25,6%, 13,5%) sowie ein negativ prädiktiver Wert von 93,6% (98,6%, 94,8%) erreicht. Mit dem optimalen Cut-off Wert wurde ein positiv prädiktiver Wert von 45,5% (43,5%, 21,7%) sowie ein negativ prädiktiver Wert von 93,5% (97,9%, 95,6%) erreicht. Durch das Herabsetzen des Cut-off Werts konnte der PPV (um 12,2%) deutlich verbessert werden, mit nur einer geringen Verschlechterung des NPV (um 0,1%). Dies führt dazu, dass sich unter den behandelten Kindern um 12,2% weniger nicht kranke Kinder befinden, während sich unter den nicht behandelten Kinder nur 0,1% zusätzliche kranke Kinder befinden. Somit werden wesentlich weniger Kinder mit Antibiotika behandelt, während nur geringfügig weniger kranke Kinder nicht erkannt werden.

## 4.3 Procalcitonin, Interleukin 6 und CRP im Vergleich

In unserer Studie zeigte sich PCT als bester früher Marker für die Diagnose der EOS. Übereinstimmende Resultate wurden auch von anderen Autoren aufgezeigt. So fanden Resch et al. [197], dass PCT den Markern IL-6 und CRP überlegen ist, während Llorente et al. [5] und Joram et al. [219] die Überlegenheit von PCT im Vergleich mit CRP beschrieben.

In unserer Studie betragen die Sensitivitäten für PCT 80,0%, für IL-6 71,4% und für CRP 58,8%. Somit hatte PCT eine um 8,6% und 21,2% bessere Sensitivität als die vergleichbaren

Marker. Die Spezifitäten betragen für PCT 85,3%, für IL-6 82,9% und für CRP 92,2%. PCT hatte folglich eine um 2,4% bessere Spezifität als IL-6, aber eine um 6,9% schlechtere Spezifität als CRP. Dies wird in der Diagnostik der EOS aber leichter in Kauf genommen, als auf die Sensitivität zu verzichten (die von PCT deutlich besser als von CRP ist), da es besonders wichtig ist, die erkrankten Neugeborenen schnellstmöglich zu erkennen und zu therapieren.

Mit Hilfe der AUC lassen sich die Marker unabhängig von den gewählten Cut-off Werten unterscheiden. Die AUCs der drei Marker zeigen wiederum das selbe Bild. PCT ist mit einer AUC von 0,841 (0,916, 0,775) der beste Marker. IL-6 erreicht eine AUC von 0,781 (0,889, 0,638), gefolgt von CRP am ersten Lebenstag mit einer AUC von 0,762 (0,860, 0,653). Das Ergebnis von CRP für die klinische EOS Gruppe ist wieder mit Vorsicht zu genießen, da CRP für die Definition der klinischen EOS Gruppe verwendet wurde.

#### **4.4 Procalcitonin und Interleukin 6 im Vergleich zur Literatur**

##### *Procalcitonin*

In vorangegangenen Studien wurde PCT für die Diagnostik der EOS untersucht und als sensibler und spezifischer Marker beschrieben [167, 197, 216, 220–222]. Resch et al. fanden eine Sensitivität von 77,0% und eine Spezifität von 91,0% [197], Chiesa et al. konnten eine Sensitivität von 92,6% und eine Spezifität von 97,5% [221] erreichen, während Ballot et al. eine Sensitivität von 76,9% und eine Spezifität von nur 50,0% [167] beschrieben.

PCT zeigt einen physiologischen Anstieg in den ersten zwei Lebenstagen, mit einem Maximum zwischen 24 und 36 Stunden nach der Geburt, welcher die Interpretation der Laborergebnisse innerhalb dieser Zeit erschwert [223]. Dieser physiologische postnatale Anstieg ist sowohl bei gesunden Frühgeborenen [224] als auch bei gesunden Reifgeborenen [221] beschrieben. Alters- sowie auch gestationsaltersabhängige Unterschiede (unabhängig vom Geschlecht) wurden bei PCT, IL-6 sowie auch bei CRP beobachtet [225–227]. Trotz der altersbezogenen Normogramme [221, 224] erschwert diese Tatsache die Diagnostik während dieser Zeit. Da die Messung aus dem Nabelschnurblut noch vor dem physiologischen Anstieg durchgeführt wird, stellt sie somit eine gute Alternative zur herkömmlichen Blutabnahme dar.

In unserer Studie untersuchten wir PCT aus dem Nabelschnurblut und konnten eine Sensitivität von 80,0% und eine Spezifität von 85,3% erreichen. Wir konnten somit zeigen, dass die Messung aus dem Nabelschnurblut keine schlechteren Ergebnisse als die Entnahme aus dem kindlichen Blut bringt. Der positive Aspekt der Messung aus dem Nabelschnurblut besteht vor allem in der frühestmöglichen Messung und den damit erreichten frühen Ergebnissen, dem Vermeiden der Blutentnahme vom Neugeborenen (welche belastend für das Kind und auch oft schwierig durchzuführen ist) sowie in der Umgehung des physiologischen Anstiegs. Der negative Aspekt besteht darin, dass später entstehende Entzündungen natürlich nicht erkannt werden können.

Auch in vorangegangenen Studien wurde PCT aus dem Nabelschnurblut untersucht. Llorente et al. fanden eine Sensitivität von 92,6% und eine Spezifität von 97,5% (mit einem altersabhängigen Cut-off) [5], Joram et al. eine Sensitivität von 92,0%/87,5% und eine Spezifität von 97,0%/98,7% (mit Cut-off Werten von 0,600ng/ml/0,500ng/ml) [219, 228], und Kordek et al. eine Sensitivität von 69,0% und eine Spezifität von 81,0% (mit einem Cut-off von 1,200ng/ml) [208].

All diese Studien bestätigen somit den Nutzen der Messung aus dem Nabelschnurblut. Wir konnten zeigen, dass wir mit unseren Messungen im Bereich der vorangegangenen Ergebnisse liegen. Mit unseren Ergebnissen aus der Blutkultur positiven EOS Gruppen, mit einer Sensitivität von 92,9% und einer Spezifität von 81,7%, können wir unsere Werte sogar zu den besseren Ergebnissen zählen.

### *Interleukin 6*

In vorangegangenen Studien wurde IL-6 für die Diagnostik der EOS untersucht und als nützlicher Marker beschrieben [8, 142, 145, 147, 197, 229–234]. Resch et al. fanden eine Sensitivität 54,0% von und eine Spezifität von 100,0% [197], Messer et al. eine Sensitivität von 83,3% und eine Spezifität von 90,3% [147], Kuster et al. eine Sensitivität von 89,3% und eine Spezifität von 89,2% [231], Doellner et al. eine Sensitivität von 78,0%, 65,0% und eine Spezifität von 71,0%, 65,0% [142, 230], und Panero et al. eine Sensitivität von 69,0% und eine Spezifität von 36,0% [232].

In unserer Studie untersuchten wir IL-6 aus dem Nabelschnurblut und konnten eine Sensitivität von 71,4% und eine Spezifität von 82,9% erreichen. Auch hier konnten wir somit zeigen, dass die Messung aus dem Nabelschnurblut keine wesentlich schlechteren Ergebnisse als die Entnahme aus dem kindlichen Blut bringt. Die positiven sowie negativen Aspekte der Messung aus dem Nabelschnurblut entsprechen somit denen des PCT (siehe oben).

Auch in vorangegangenen Studien wurde IL-6 aus dem Nabelschnurblut untersucht. So beschrieben Smulian et al. eine Sensitivität von 88,5% und eine Spezifität von 93,3% (mit einem Cut-off von 7,000pg/ml) [235]. Während Krueger et al. mit einem Cut-off von 80,000pg/ml eine Sensitivität von 87,0% und eine Spezifität von 90,0% [236] fanden und Hatzidaki et al. mit einem Cut-off von 108,500pg/ml eine Sensitivität von 95,0% und eine Spezifität von 100,0% [237] erreichten, konnten wir bei einem Cut-off von 100,000pg/ml nur eine Sensitivität von 57,1% und eine Spezifität von 93,3% erzielen. Mit einem noch höheren Cut-off von 150,000pg/ml beschrieben Lehrnbecher et al. eine Sensitivität von 69,0% und eine Spezifität von 91,0% [238, 239] und Veleminsky et al. erreichten mit einem Cut-off von 160,000pg/ml eine Sensitivität von 80,0% und eine Spezifität von 92,7% [240]. Wir konnten in diesem Fall (mit einem Cut-off von 150,000pg/ml) nur eine Sensitivität von 52,4% und eine Spezifität von 95,2% erzielen.

All diese Studien bestätigen jedoch den Nutzen der Messung aus dem Nabelschnurblut. Wir konnten zeigen, dass wir mit unseren Messungen im unteren Bereich der vorangegangenen Ergebnisse liegen. Unsere Ergebnisse aus der Blutkultur positiven EOS Gruppen, mit einer

Sensitivität von 83,3% und einer Spezifität von 87,6%, fallen in den mittleren Bereich der Werte dieser Studien. Mit, wie in der Literatur verwendeten, höheren Cut-off Werten konnten wir keine entsprechend hohe Sensitivität erzielen und sind folglich der Meinung, dass in unserem Fall ein niedrigerer Cut-off besser für die Diagnostik der EOS ist.

Weitere Studien beschreiben IL-6 aus dem Nabelschnurblut bei Frühgeborenen als nützlichen Marker in der Diagnose der EOS. Krueger et al. fanden eine Sensitivität von 96,0% und eine Spezifität von 95,0% (mit einem Cut-off von  $80,000\text{pg/ml}$ ) [236], Smulian et al. eine Sensitivität von 92,9% und eine Spezifität von 92,9% (mit einem Cut-off von  $25,000\text{pg/ml}$ ) [241], Kashlan et al. eine Sensitivität von 80,0% und eine Spezifität von 90,0% (mit einem Cut-off von  $100,000\text{pg/ml}$ ) [242], und Doellner et al. eine Sensitivität von 84,0% und eine Spezifität von 70,0% (mit einem Cut-off von  $33,000\text{pg/ml}$ ) [143].

Da die Neugeborenen unserer Studie zu 95,2% aus Frühgeborenen bestehen (11 (4,8%) Reifgeborene in der Studienpopulation von insgesamt 229 Neugeborenen, davon nur ein Reifgeborenes in der Blutkultur positiven EOS Gruppe), können wir diese Ergebnisse bestätigen, zur Diagnostik bei Reifgeborenen aber keine Aussagen machen.

## 4.5 Kombination von Procalcitonin und Interleukin 6

Da sich PCT und IL-6 als sensitive und spezifische Marker herausgestellt haben, ist es nicht verwunderlich, dass eine Kombination dieser beiden Marker eine statistisch signifikante Vorhersage der EOS ermöglicht.

Die Kombination der beiden Marker unter Einbeziehung des allgemein verwendeten Cut-off Werts zeigte einen relativ schwachen Zusammenhang zwischen den Markern und der EOS. Obwohl 91,5% der Fälle richtig vorhergesagt werden konnten, erzielte die Kombination nur eine Sensitivität von 55,6% und eine Spezifität von 98,0%. Die Problematik des Vorhersageungleichgewichts wird auch in Cohens  $\kappa$  dargestellt, welches nur bei 0,620 lag. In diesem Fall zeigte sich PCT als stärkerer Marker. Liegt ein positives PCT-Ergebnis vor, verzweihunddreißigfacht sich die Wahrscheinlichkeit, dass eine EOS vorliegt, wobei ein positives IL-6-Ergebnis die Wahrscheinlichkeit nur verfünffacht.

Mit den optimalen Cut-off Werten konnte das Vorhersageergebnis verbessert werden. Mit einem Cut-off von 0,5 in der logistischen Regression erzielten die Marker ein Vorhersageergebnis von 91,5%, ein Cohens  $\kappa$  von 0,657 sowie eine Sensitivität von 66,7% und eine Spezifität von 96,0%. Durch eine Senkung des Cut-offs auf 0,3 wurde zwar das Vorhersageergebnis auf 89,0%, das Cohens  $\kappa$  auf 0,632, und die Spezifität auf 90,0% reduziert, dafür konnte aber die Sensitivität auf 83,3% erhöht werden. Dieser Cut-off würde eher in der klinischen Praxis verwendet werden, da es wichtiger ist, ein krankes Kind zu erkennen, als ein gesundes Kind fälschlicherweise zu behandeln. Sowohl PCT als auch IL-6 zeigten einen signifikanten Einfluss auf das Ergebnis, woraus sich schließen lässt, dass eine Kombination der beiden Marker einem allei-

nigen Einsatz überlegen ist. Dies zeigt sich auch an der höheren Sensitivität und Spezifität der Kombination (83,3%, 90,0%) im Vergleich zu PCT (80,0%, 85,3%) und IL-6 (71,4%, 82,9%). Auch in diesem Fall zeigte sich PCT als stärkerer Marker. Liegt ein positives PCT-Ergebnis vor, versechszwanzigfach sich die Wahrscheinlichkeit, dass eine EOS vorliegt, wobei ein positives IL-6-Ergebnis die Wahrscheinlichkeit nur versiebenfach.

## 4.6 Conclusio

In unserer Studie konnten wir zeigen, dass PCT wie auch IL-6 nützliche Marker in der Diagnostik der EOS sind. Mit einer Anpassung der Cut-off Werte konnten wir für PCT eine Sensitivität von 80,0% und eine Spezifität von 85,3%, und für IL-6 eine Sensitivität von 71,4% und eine Spezifität von 82,9% erzielen. Unsere Messungen aus dem Nabelschnurblut erreichten damit ähnliche Ergebnisse wie vergleichbare Studien aus dem kindlichen Blut. Durch die Verwendung von PCT und IL-6, deren Sensitivitäten schon im Nabelschnurblut (also frühestmöglich) brauchbare Werte annehmen, können somit Neugeborene schon frühzeitig erkannt und bei Anzeichen einer Infektion behandelt werden. Weiters könnten so auch Blutabnahmen vom Neugeborenen (die belastend für das Neugeborene und oft auch schwierig durchzuführen sind) vermieden werden. Die Limitation dieser frühen Messung besteht jedoch darin, dass sie nicht die Diagnose einer späteren Entzündung (während oder nach der Geburt) erlaubt. Dafür müssen folglich unvermeidbar weitere Blutabnahmen durchgeführt und Entzündungsmarker bestimmt werden. Die oben genannten Werte zeigen, dass PCT der bessere Marker ist, was weiters auch von den Unterschieden in den AUCs (PCT 0,841, IL-6 0,781) bestätigt wurde. Zusätzlich kann die Kombination der Marker das Vorhersageergebnis mit einer Sensitivität von 83,3% und einer Spezifität 90,0% weiter verbessern. Betrachtet man alle Ergebnisse, zeigt sich, dass die Messung von PCT und IL-6 aus dem Nabelschnurblut sowie deren Kombination sinnvoll in der Diagnostik der EOS sind und auf einen erhöhten Nutzen in der klinischen Praxis schließen lassen.

## Literatur

- [1] Sitzmann F. Erkrankungen in der Neugeborenenperiode. In: Pädiatrie. 3rd ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2007. p. 71–123.
- [2] Dear P. Infection in the Newborn. In: Rennie J, editor. Robertson's Textbook of Neonatology. 4th ed. London: Elsevier Limited; 2005. p. 1011–1075.
- [3] Klein J. Bacterial Sepsis and Meningitis. In: Remington J, Klein J, editors. Infectious Diseases of the Fetus und Newborn Infant. 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2001. .
- [4] Chiesa C, Pacifico L, Mancuso G, Panero A. Procalcitonin in pediatrics: overview and challenge. *Infection*. 1998;26:236–241.
- [5] Llorente E, Prieto B, Cardo L, Avello N, Alvarez FV. Umbilical cord blood serum procalcitonin by Time-Resolved Amplified Cryptate Emission (TRACE) technology: reference values of a potential marker of vertically transmitted neonatal sepsis. *Clinical chemistry and laboratory medicine: CCLM / FESCC*. 2007;45(11):1531–1535.
- [6] Lam HS, Ng PC. Biochemical markers of neonatal sepsis. *Pathology*. 2008 Feb;40(2):141–148.
- [7] Ng PC. Diagnostic markers of infection in neonates. *Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal Edition*. 2004 May;89(3):F229–235.
- [8] Volante E, Moretti S, Pisani F, Bevilacqua G. Early diagnosis of bacterial infection in the neonate. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine: the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians*. 2004 Nov;16 Suppl 2:13–16.
- [9] 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. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*. 2003 Jun;157(6):511–516.
- [10] Bizzarro MJ, Dembry LM, Baltimore RS, Gallagher PG. Changing patterns in neonatal *Escherichia coli* sepsis and ampicillin resistance in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *Pediatrics*. 2008 Apr;121:689–696.
- [11] Schrag SJ, Stoll BJ. Early-onset neonatal sepsis in the era of widespread intrapartum chemoprophylaxis. *Pediatr Infect Dis J*. 2006 Oct;25:939–940.

- [12] Edwards M. Postnatal Bacterial Infections. In: Fanaroff A, Martin R, editors. Neonatal-Perinatal Medicine: Diseases of the Fetus und Infant. vol. 2. 7th ed. Missouri: Mosby; 2002. p. 706–719.
- [13] Schuchat A, Zywicki SS, Dinsmoor MJ, Mercer B, Romaguera J, O’Sullivan MJ, et al. 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.
- [14] Isaacs D, Barfield CP, Grimwood K, McPhee AJ, Minutillo C, Tudehope DI. Systemic bacterial and fungal infections in infants in Australian neonatal units. Australian Study Group for Neonatal Infections. *The Medical Journal of Australia*. 1995 Feb;162(4):198–201.
- [15] Philip AG. The changing face of neonatal infection: experience at a regional medical center. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 1994 Dec;13(12):1098–1102.
- [16] Zemlin M, Berger A, Pollak A, Bühler C. Immunologie und Infektiologie. In: Jorch G, Hübler A, editors. *Neonatologie: Die Medizin des Früh- und Reifgeborenen*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2010. p. 527–535, 550–552.
- [17] Greenberg D, Leibovitz E, Shinnwell ES, Yagupsky P, Dagan R. Neonatal sepsis caused by *Streptococcus pyogenes*: resurgence of an old etiology? *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 1999 May;18(5):479–481.
- [18] Brook I. *Bacteroides* infections in children. *Journal of Medical Microbiology*. 1995 Aug;43(2):92–98.
- [19] Matsubara K, Sugiyama M, Hoshina K, Mikamo H, Baba K. Early onset neonatal sepsis caused by serotype VIII group B streptococci. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 2000 Apr;19(4):359–360.
- [20] Harrison LH, Elliott JA, Dwyer DM, Libonati JP, Ferrieri P, Billmann L, et al. Serotype distribution of invasive group B streptococcal isolates in Maryland: implications for vaccine formulation. Maryland Emerging Infections Program. *The Journal of Infectious Diseases*. 1998 Apr;177(4):998–1002.
- [21] Gibbs RS, McDuffie J R S, McNabb F, Fryer GE, Miyoshi T, Merenstein G. Neonatal group B streptococcal sepsis during 2 years of a universal screening program. *Obstetrics and Gynecology*. 1994 Oct;84(4):496–500.
- [22] Jeffery HE, McIntosh ED. Antepartum screening and non-selective intrapartum chemoprophylaxis for group B streptococcus. *The Australian & New Zealand Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 1994 Feb;34(1):14–19.

- [23] Pylipow M, Gaddis M, Kinney JS. Selective intrapartum prophylaxis for group B streptococcus colonization: management and outcome of newborns. *Pediatrics*. 1994 Apr;93(4):631–635.
- [24] Armer T, Clark P, Duff P, Saravanos K. Rapid intrapartum detection of group B streptococcal colonization with an enzyme immunoassay. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1993 Jan;168(1 Pt 1):39–43.
- [25] Hervás JA, González L, Gil J, Paoletti LC, Madoff LC, Benedí VJ. Neonatal group B streptococcal infection in Mallorca, Spain. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. 1993 May;16(5):714–718.
- [26] Stoll BJ, Schuchat A. Maternal carriage of group B streptococci in developing countries. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 1998 Jun;17(6):499–503.
- [27] Boyer KM. Neonatal group B streptococcal infections. *Current Opinion in Pediatrics*. 1995 Feb;7(1):13–18.
- [28] Cimolai N, Roscoe DL. Contemporary context for early-onset group B streptococcal sepsis of the newborn. *American Journal of Perinatology*. 1995 Jan;12(1):46–49.
- [29] Beardsall K, Thompson MH, Mulla RJ. Neonatal group B streptococcal infection in South Bedfordshire, 1993-1998. *Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal Edition*. 2000 May;82(3):F205–207.
- [30] Kalliola S, Vuopio-Varkila J, Takala AK, Eskola J. Neonatal group B streptococcal disease in Finland: a ten-year nationwide study. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 1999 Sep;18(9):806–810.
- [31] Baker C, Edwards M. Group B streptococcal infections. In: Remington J, Klein J, editors. *Infectious Diseases of the Fetus und Newborn Infant*. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1983. p. 820–881.
- [32] Pyati SP, Pildes RS, Ramamurthy RS, Jacobs N. Decreasing mortality in neonates with early-onset group B streptococcal infection: reality or artifact. *The Journal of Pediatrics*. 1981 Apr;98(4):625–627.
- [33] Heath PT, Balfour G, Weisner AM, Efstratiou A, Lamagni TL, Tighe H, et al. Group B streptococcal disease in UK and Irish infants younger than 90 days. *Lancet*. 2004 Jan;363(9405):292–294.
- [34] Moses LM, Heath PT, Wilkinson AR, Jeffery HE, Isaacs D. Early onset group B streptococcal neonatal infection in Oxford 1985-96. *Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal Edition*. 1998 Sep;79(2):F148–149.

- [35] Howard JB, McCracken J G H. The spectrum of group B streptococcal infections in infancy. *American Journal of Diseases of Children* (1960). 1974 Dec;128(6):815–818.
- [36] Sabella C, Prober C. Neonatal Bacterial and Viral Sepsis. In: Reed G, Claireaux A, Cockburn F, editors. *Diseases of the Fetus and Newborn*. vol. 2. 2nd ed. London: Chapman & Hall; 1995. p. 1445–1450.
- [37] McCracken G, Freij B. Infectious diseases of the fetus and newborn. In: Feigin R, Cherry J, editors. *Textbook of Pediatric Infectious Diseases*. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1987. p. 940–1007.
- [38] Mendoza JC, Roberts JL. Early-onset *Haemophilus influenzae* sepsis in the neonate. *Journal of Perinatology: Official Journal of the California Perinatal Association*. 1991 Jun;11(2):126–129.
- [39] Finelli L, Livengood JR, Saiman L. Surveillance of pharyngeal colonization: detection and control of serious bacterial illness in low birth weight infants. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 1994 Oct;13(10):854–859.
- [40] Gaynes RP, Martone WJ, Culver DH, Emori TG, Horan TC, Banerjee SN, et al. Comparison of rates of nosocomial infections in neonatal intensive care units in the United States. *National Nosocomial Infections Surveillance System. The American journal of medicine*. 1991 Sep;91(3B):192S–196S.
- [41] de Champs C, Franchineau P, Gourgand JM, Loriette Y, Gaulme J, Sirot J. Clinical and bacteriological survey after change in aminoglycoside treatment to control an epidemic of *Enterobacter cloacae*. *The Journal of hospital infection*. 1994 Nov;28(3):219–229.
- [42] McDuffie J R S, McGregor JA, Gibbs RS. Adverse perinatal outcome and resistant *Enterobacteriaceae* after antibiotic usage for premature rupture of the membranes and group B streptococcus carriage. *Obstetrics and gynecology*. 1993 Oct;82(4 Pt 1):487–489.
- [43] Millar MR, MacKay P, Levene M, Langdale V, Martin C. *Enterobacteriaceae* and neonatal necrotising enterocolitis. *Archives of disease in childhood*. 1992 Jan;67(1 Spec No):53–56.
- [44] Shamseldin el Shafie S, Smith W, Donnelly G. An outbreak of gentamicin-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal ward. *Central European journal of public health*. 1995 Aug;3(3):129–131.
- [45] Drews MB, Ludwig AC, Leititis JU, Daschner FD. Low birth weight and nosocomial infection of neonates in a neonatal intensive care unit. *The Journal of hospital infection*. 1995 May;30(1):65–72.

- [46] Kazembe P, Simor AE, Swarney AE, Yap LG, Kreiswirth B, Ng J, et al. A study of the epidemiology of an endemic strain of staphylococcus haemolyticus (TOR-35) in a neonatal intensive care unit. *Scandinavian journal of infectious diseases*. 1993;25(4):507–513.
- [47] Stark V, Harrison SP. Staphylococcus aureus colonization of the newborn in a Darlington hospital. *The Journal of hospital infection*. 1992 Jul;21(3):205–211.
- [48] Ben-David Y, Hallak M, Evans MI, Abramovici H. Amnionitis and premature delivery with intact amniotic membranes involving Staphylococcus aureus. A case report. *J Reprod Med*. 1995 Jun;40:485–486.
- [49] Morison J. *Foetal and Neonatal Pathology*. 3rd ed. Washington D.C.: Butterworth; 1970.
- [50] Benirschke K, Driscoll S. *The Pathology of the Human Placenta*. New York: Springer-Verlag; 1967.
- [51] St Geme JW, Murray DL, Carter J, Hobel CJ, Leake RD, Anthony BF, et al. Perinatal bacterial infection after prolonged rupture of amniotic membranes: an analysis of risk and management. *J Pediatr*. 1984 Apr;104:608–613.
- [52] Benirschke K. Routes and types of infection in the fetus and the newborn. *AMA J Dis Child*. 1960 Jun;99:714–721.
- [53] Gibbs RS, Duff P. Progress in pathogenesis and management of clinical intraamniotic infection. *Am J Obstet Gynecol*. 1991 May;164:1317–1326.
- [54] Blanc WA. Pathways of fetal and early neonatal infection. Viral placentitis, bacterial and fungal chorioamnionitis. *J Pediatr*. 1961 Oct;59:473–496.
- [55] Charles D, Edwards WR. Infectious complications of cervical cerclage. *Am J Obstet Gynecol*. 1981 Dec;141:1065–1071.
- [56] Fejgin M, Amiel A, Kaneti H, Ben-Nun I, Beyth Y. Fulminant sepsis due to group B beta-hemolytic streptococci following transcervical chorionic villi sampling. *Clin Infect Dis*. 1993 Jul;17:142–143.
- [57] Wilkins I, Mezrow G, Lynch L, Bottone EJ, Berkowitz RL. Amnionitis and life-threatening respiratory distress after percutaneous umbilical blood sampling. *Am J Obstet Gynecol*. 1989 Feb;160:427–428.
- [58] Sarkany I, Gaylarde CC. Skin flora of the newborn. *Lancet*. 1967 Mar;1:589–590.
- [59] Hawkins S. Water vs conventional births: infection rates compared. *Nurs Times*. 1995;91:38–40.

- [60] Khadilkar V, Tudehope D, Fraser S. A prospective study of nosocomial infection in a neonatal intensive care unit. *Journal of Paediatrics and Child Health*. 1995 Oct;31(5):387–391.
- [61] Mouzinho A, Rosenfeld CR, Sanchez PJ, Risser R. Effect of maternal hypertension on neonatal neutropenia and risk of nosocomial infection. *Pediatrics*. 1992 Sep;90(3):430–435.
- [62] Woods JR. Drug abuse in pregnancy. *Clin Obstet Gynecol*. 1993 Jun;36:221–222.
- [63] Chasnoff I. Cocaine and pregnancy: clinical and methodologic issues. *Clin Perinatol*. 1991;18(1):113–23.
- [64] Culver KW, Ammann AJ, Partridge JC, Wong DF, Wara DW, Cowan MJ. Lymphocyte abnormalities in infants born to drug-abusing mothers. *J Pediatr*. 1987 Aug;111:230–235.
- [65] Chasnoff I. *Drug Use in Pregnancy: Mother and Child*. MTP Press. 1986;.
- [66] Fanaroff AA, Korones SB, Wright LL, Verter J, Poland RL, Bauer CR, et al. Incidence, presenting features, risk factors and significance of late onset septicemia in very low birth weight infants. The National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *Pediatr Infect Dis J*. 1998 Jul;17:593–598.
- [67] Simon C, Schroder H, Beyer C, Zerbst T. Neonatal sepsis in an intensive care unit and results of treatment. *Infection*. 1991;19:146–149.
- [68] La Gamma EF, Drusin LM, Mackles AW, Machalek S, Auld PA. Neonatal infections. An important determinant of late NICU mortality in infants less than 1,000 g at birth. *Am J Dis Child*. 1983 Sep;137:838–841.
- [69] Hemming V, Britt M, Overall J. Infections in a newborn intensive care unit. *Pediatr Res*. 1975;9:297.
- [70] Overall JC. Neonatal bacterial meningitis. Analysis of predisposing factors and outcome compared with matched control subjects. *J Pediatr*. 1970 Apr;76:499–511.
- [71] Vesikari T, Janas M, Gronroos P, Tuppurainen N, Renlund M, Kero P, et al. Neonatal septicaemia. *Arch Dis Child*. 1985 Jun;60:542–546.
- [72] Barton L, Hodgman JE, Pavlova Z. Causes of death in the extremely low birth weight infant. *Pediatrics*. 1999 Feb;103:446–451.
- [73] Takizawa T, Anderson CL, Robinson JM. A novel Fc gamma R-defined, IgG-containing organelle in placental endothelium. *J Immunol*. 2005 Aug;175:2331–2339.

- [74] Malek A. Ex vivo human placenta models: transport of immunoglobulin G and its subclasses. *Vaccine*. 2003 Jul;21:3362–3364.
- [75] Willems F, Vollstedt S, Suter M. Phenotype and function of neonatal DC. *Eur J Immunol*. 2009 Jan;39:26–35.
- [76] Marodi L. Innate cellular immune responses in newborns. *Clin Immunol*. 2006;118:137–144.
- [77] Kallman J, Schollin J, Schalen C, Erlandsson A, Kihlstrom E. Impaired phagocytosis and opsonisation towards group B streptococci in preterm neonates. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1998 Jan;78:46–50.
- [78] Buhner C, Stibenz D, Graulich J, Gernhold U, Butcher EC, Dudenhausen JW, et al. Soluble L-selectin (sCD62L) umbilical cord plasma levels increase with gestational age. *Pediatr Res*. 1995 Sep;38:336–341.
- [79] Bauer K, Zemlin M, Hummel M, Pfeiffer S, Karstaedt J, Steinhauser G, et al. Diversification of Ig heavy chain genes in human preterm neonates prematurely exposed to environmental antigens. *J Immunol*. 2002 Aug;169:1349–1356.
- [80] Polin RA, St Geme JW. Neonatal sepsis. *Adv Pediatr Infect Dis*. 1992;7:25–61.
- [81] Schlegel RJ, Bellanti JA. Increased susceptibility of males to infection. *Lancet*. 1969 Oct;2:826–827.
- [82] Washburn TC, Medearis DN, Childs B. Sex differences in susceptibility to infections. *Pediatrics*. 1965 Jan;35:57–64.
- [83] Soman M, Green B, Daling J. Risk factors for early neonatal sepsis. *American Journal of Epidemiology*. 1985 May;121(5):712–719.
- [84] Schiano MA, Hauth JC, Gilstrap r L C. Second-stage fetal tachycardia and neonatal infection. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1984 Mar;148(6):779–781.
- [85] Hegyi T, Carbone T, Anwar M, Ostfeld B, Hiatt M, Koons A, et al. The apgar score and its components in the preterm infant. *Pediatrics*. 1998 Jan;101(1 Pt 1):77–81.
- [86] Bonadio WA, Hennes H, Smith D, Ruffing R, Melzer-Lange M, Lye P, et al. Reliability of observation variables in distinguishing infectious outcome of febrile young infants. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 1993 Feb;12(2):111–114.
- [87] Fielkow S, Reuter S, Gotoff SP. Cerebrospinal fluid examination in symptom-free infants with risk factors for infection. *The Journal of Pediatrics*. 1991 Dec;119(6):971–973.

- [88] Albers WH, Tyler CW, Boxerbaum B. Asymptomatic bacteremia in the newborn infant. *The Journal of Pediatrics*. 1966 Aug;69(2):193–197.
- [89] El-Radhi AS, Jawad MH, Mansor N, Ibrahim M, Jamil II. Infection in neonatal hypothermia. *Archives of Disease in Childhood*. 1983 Feb;58(2):143–145.
- [90] Voora S, Srinivasan G, Lilien LD, Yeh TF, Pildes RS. Fever in full-term newborns in the first four days of life. *Pediatrics*. 1982 Jan;69(1):40–44.
- [91] Weisman LE, Stoll BJ, Cruess DF, Hall RT, Merenstein GB, Hemming VG, et al. Early-onset group B streptococcal sepsis: a current assessment. *The Journal of Pediatrics*. 1992 Sep;121(3):428–433.
- [92] Yagupsky P, Menegus MA, Powell KR. The changing spectrum of group B streptococcal disease in infants: an eleven-year experience in a tertiary care hospital. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 1991 Nov;10(11):801–808.
- [93] Bonadio WA, Hegenbarth M, Zachariason M. Correlating reported fever in young infants with subsequent temperature patterns and rate of serious bacterial infections. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 1990 Mar;9(3):158–160.
- [94] Messaritakis J, Anagnostakis D, Laskari H, Katerelos C. Rectal-skin temperature difference in septicemic newborn infants. *Archives of Disease in Childhood*. 1990 Apr;65(4 Spec No):380–382.
- [95] Solomon SL, Wallace EM, Ford-Jones EL, Baker WM, Martone WJ, Kopin IJ, et al. Medication errors with inhalant epinephrine mimicking an epidemic of neonatal sepsis. *The New England Journal of Medicine*. 1984 Jan;310(3):166–170.
- [96] Ramsey PG, Zwerdling R. Letter: Asymptomatic neonatal bacteremia. *The New England Journal of Medicine*. 1976 Jul;295(4):225.
- [97] Yu JS, Grauaug A. Purulent Meningitis in the Neonatal Period. *Archives of Disease in Childhood*. 1963 Aug;38:391–396.
- [98] Johnson KJ, Bhatia P, Bell EF. Infrared thermometry of newborn infants. *Pediatrics*. 1991 Jan;87(1):34–38.
- [99] Mayfield SR, Bhatia J, Nakamura KT, Rios GR, Bell EF. Temperature measurement in term and preterm neonates. *The Journal of Pediatrics*. 1984 Feb;104(2):271–275.
- [100] Kravitz H. Temperature of the umbilicus. *The Journal of Pediatrics*. 1966 Mar;68(3):418–422.

- [101] Roos R, Genzel-Boroviczeny O, Proquitte H. Checkliste Neonatologie. 4th ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2012.
- [102] Sikuler E, Guetta V, Keynan A, Neumann L, Schlaeffer F. Abnormalities in bilirubin and liver enzyme levels in adult patients with bacteremia. A prospective study. *Archives of Internal Medicine*. 1989 Oct;149(10):2246–2248.
- [103] Rooney JC, Hill DJ, Danks DM. Jaundice associated with bacterial infection in the newborn. *American Journal of Diseases of Children* (1960). 1971 Jul;122(1):39–41.
- [104] Bühner C, Roll C. Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems. In: Jorch G, Hübner, editors. *Neonatologie: Die Medizin des Früh- und Reifgeborenen*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2010. p. 260–265.
- [105] Pathan N, Hemingway CA, Alizadeh AA, Stephens AC, Boldrick JC, Oragui EE, et al. Role of interleukin 6 in myocardial dysfunction of meningococcal septic shock. *Lancet*. 2004 Jan;363(9404):203–209.
- [106] Squire E, Favara B, Todd J. Diagnosis of neonatal bacterial infection: hematologic and pathologic findings in fatal and nonfatal cases. *Pediatrics*. 1979 Jul;64(1):60–64.
- [107] Meadow WL, Schwartz IK. Time course of radiometric detection of positive blood cultures in childhood. *Pediatric Infectious Disease*. 1986 Jun;5(3):333–336.
- [108] Rowley AH, Wald ER. Incubation period necessary to detect bacteremia in neonates. *Pediatric Infectious Disease*. 1986 Oct;5(5):590–591.
- [109] Isaacman DJ, Karasic RB, Reynolds EA, Kost SI. Effect of number of blood cultures and volume of blood on detection of bacteremia in children. *The Journal of Pediatrics*. 1996 Feb;128(2):190–195.
- [110] Schelonka RL, Chai MK, Yoder BA, Hensley D, Brockett RM, Ascher DP. Volume of blood required to detect common neonatal pathogens. *The Journal of Pediatrics*. 1996 Aug;129(2):275–278.
- [111] Kennaugh JK, Gregory WW, Powell KR, Hendley JO. The effect of dilution during culture on detection of low concentrations of bacteria in blood. *Pediatric Infectious Disease*. 1984 Aug;3(4):317–318.
- [112] Puri J, Revathi G, Faridi MM, Talwar V, Kumar A, Parkash B. Role of body surface cultures in prediction of sepsis in a neonatal intensive care unit. *Annals of Tropical Paediatrics*. 1995 Dec;15(4):307–311.
- [113] Zuerlein TJ, Butler JC, Yeager TD. Superficial cultures in neonatal sepsis evaluations. Impact on antibiotic decision making. *Clinical Pediatrics*. 1990 Aug;29(8):445–447.

- [114] Schwersenski J, McIntyre L, Bauer CR. Lumbar puncture frequency and cerebrospinal fluid analysis in the neonate. *American Journal of Diseases of Children* (1960). 1991 Jan;145(1):54–58.
- [115] Ahmed A, Hickey SM, Ehrett S, Trujillo M, Brito F, Goto C, et al. Cerebrospinal fluid values in the term neonate. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 1996 Apr;15(4):298–303.
- [116] Mussap M, Molinari MP, Senno E, Gritti P, Soro B, Mannelli S, et al. 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. *Journal of Chemotherapy (Florence, Italy)*. 2007 Oct;19 Suppl 2:31–34.
- [117] Reier-Nilsen T, Farstad T, Nakstad B, Lauvrak V, Steinbakk M. Comparison of broad range 16S rDNA PCR and conventional blood culture for diagnosis of sepsis in the newborn: a case control study. *BMC Pediatrics*. 2009;9:5.
- [118] Jordan JA, Durso MB. Comparison of 16S rRNA gene PCR and BACTEC 9240 for detection of neonatal bacteremia. *Journal of Clinical Microbiology*. 2000 Jul;38(7):2574–2578.
- [119] Ng PC, Lam HS. Diagnostic markers for neonatal sepsis. *Current Opinion in Pediatrics*. 2006 Apr;18(2):125–131.
- [120] Segel GB, Halterman JS. Neutropenia in pediatric practice. *Pediatrics in Review / American Academy of Pediatrics*. 2008 Jan;29(1):12–23; quiz 24.
- [121] Darmstadt GL, Badrawi N, Law PA, Ahmed S, Bashir M, Iskander I, et al. Topically applied sunflower seed oil prevents invasive bacterial infections in preterm infants in Egypt: a randomized, controlled clinical trial. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 2004 Aug;23(8):719–725.
- [122] Schelonka RL, Yoder BA, desJardins SE, Hall RB, Butler J. Peripheral leukocyte count and leukocyte indexes in healthy newborn term infants. *The Journal of Pediatrics*. 1994 Oct;125(4):603–606.
- [123] Manroe BL, Weinberg AG, Rosenfeld CR, Browne R. The neonatal blood count in health and disease. I. Reference values for neutrophilic cells. *The Journal of Pediatrics*. 1979 Jul;95(1):89–98.
- [124] Weinberg G. Laboratory aids for diagnosis of neonatal sepsis. In: Remington J, Klein J, editors. *Infectious Diseases of the Fetus und Newborn Infant*. 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2001. p. 1330.

- [125] 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. *European Journal of Pediatrics*. 1995 Feb;154(2):138–144.
- [126] Rodwell RL, Leslie AL, Tudehope DI. Early diagnosis of neonatal sepsis using a hematologic scoring system. *The Journal of Pediatrics*. 1988 May;112(5):761–767.
- [127] Christensen RD, Rothstein G. Exhaustion of mature marrow neutrophils in neonates with sepsis. *The Journal of Pediatrics*. 1980 Feb;96(2):316–318.
- [128] Philip AG, Hewitt JR. Early diagnosis of neonatal sepsis. *Pediatrics*. 1980 May;65(5):1036–1041.
- [129] DaSilva O, Hammerberg O. Diagnostic value of leukocyte indices in late neonatal sepsis. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 1994 May;13(5):409–411.
- [130] Makhoul IR, Yacoub A, Smolkin T, Sujov P, Kassis I, Sprecher H. Values of C-reactive protein, procalcitonin, and Staphylococcus-specific PCR in neonatal late-onset sepsis. *Acta Paediatrica (Oslo, Norway)*. 2006 Oct;95(10):1218–1223.
- [131] Misra PK, Kumar R, Malik GK, Mehra P, Awasthi S. Simple hematological tests for diagnosis of neonatal sepsis. *Indian Pediatrics*. 1989 Feb;26(2):156–160.
- [132] Walka MM, Sonntag J, Kage A, Dudenhausen JW, Obladen M. Complete blood counts from umbilical cords of healthy term newborns by two automated cytometers. *Acta Haematologica*. 1998;100(4):167–173.
- [133] Lothar T. *Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden fuer die medizinische Diagnostik*. 5th ed. Frankfurt/Main: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1999. p. 728–731.
- [134] Speer C, Bruns A, Gahr M. Sequential determination of CRP, alpha 1-antitrypsin and haptoglobin in neonatal septicaemia. *Acta Paediatrica Scandinavica*. 1983 Sep;72(5):679–683.
- [135] Gerdes JS, Polin RA. Sepsis screen in neonates with evaluation of plasma fibronectin. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 1987 May;6(5):443–446.
- [136] Scott PH. Plasma lactoferrin levels in newborn preterm infants: effect of infection. *Annals of Clinical Biochemistry*. 1989 Sep;26 ( Pt 5):412–415.
- [137] Jurges ES, Henderson DC. Inflammatory and immunological markers in preterm infants: correlation with disease. *Clinical and Experimental Immunology*. 1996 Sep;105(3):551–555.

- [138] Franz AR, Steinbach G, Kron M, Pohlandt F. Interleukin-8: a valuable tool to restrict antibiotic therapy in newborn infants. *Acta Paediatrica* (Oslo, Norway: 1992). 2001 Sep;90(9):1025–1032.
- [139] 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 Jul;108(1):E12.
- [140] Berner R, Tüxen B, Clad A, Forster J, Brandis M. Elevated gene expression of interleukin-8 in cord blood is a sensitive marker for neonatal infection. *European Journal of Pediatrics*. 2000 Mar;159(3):205–210.
- [141] 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.
- [142] Døllner H, Vatten L, Austgulen R. Early diagnostic markers for neonatal sepsis: comparing C-reactive protein, interleukin-6, soluble tumour necrosis factor receptors and soluble adhesion molecules. *Journal of Clinical Epidemiology*. 2001 Dec;54(12):1251–1257.
- [143] Døllner H, Vatten L, Linnebo I, Zanussi GF, A L, Austgulen R. Inflammatory mediators in umbilical plasma from neonates who develop early-onset sepsis. *Biology of the Neonate*. 2001 Jul;80(1):41–47.
- [144] Santana C, Guindeo MC, González G, García-Muñoz F, Saavedra P, Doménech E. Cord blood levels of cytokines as predictors of early neonatal sepsis. *Acta Paediatrica* (Oslo, Norway: 1992). 2001 Oct;90(10):1176–1181.
- [145] Berner R, Niemeyer CM, Leititis JU, Funke A, Schwab C, Rau U, et al. 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. *Pediatric Research*. 1998 Oct;44(4):469–477.
- [146] Ng PC, Cheng SH, Chui KM, Fok TF, Wong MY, Wong W, et al. Diagnosis of late onset neonatal sepsis with cytokines, adhesion molecule, and C-reactive protein in preterm very low birthweight infants. *Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal Edition*. 1997 Nov;77(3):F221–227.
- [147] 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. *The Journal of Pediatrics*. 1996 Oct;129(4):574–580.

- [148] Edgar JD, Wilson DC, McMillan SA, Crockard AD, Halliday MI, Gardiner KR, et al. Predictive value of soluble immunological mediators in neonatal infection. *Clinical Science* (London, England: 1979). 1994 Aug;87(2):165–171.
- [149] Lehr HA, Krombach F, Münzing S, Bodlaj R, Glaubitt SI, Seiffge D, et al. In vitro effects of oxidized low density lipoprotein on CD11b/CD18 and L-selectin presentation on neutrophils and monocytes with relevance for the in vivo situation. *The American Journal of Pathology*. 1995 Jan;146(1):218–227.
- [150] Simms HH, D'Amico R. Lipopolysaccharide induces intracytoplasmic migration of the polymorphonuclear leukocyte CD11b/CD18 receptor. *Shock* (Augusta, Ga). 1995 Mar;3(3):196–203.
- [151] Ng PC, Li K, Wong RPO, Chui KM, Wong E, Fok TF. Neutrophil CD64 expression: a sensitive diagnostic marker for late-onset nosocomial infection in very low birthweight infants. *Pediatric Research*. 2002 Mar;51(3):296–303.
- [152] Fjaertoft G, Håkansson L, Ewald U, Foucard T, Venge P. Neutrophils from term and preterm newborn infants express the high affinity Fcγ-receptor I (CD64) during bacterial infections. *Pediatric Research*. 1999 Jun;45(6):871–876.
- [153] Weirich E, Rabin RL, Maldonado Y, Benitz W, Modler S, Herzenberg LA, et al. Neutrophil CD11b expression as a diagnostic marker for early-onset neonatal infection. *The Journal of Pediatrics*. 1998 Mar;132(3 Pt 1):445–451.
- [154] Dördelmann M, Rau GA, Bartels D, Linke M, Derichs N, Behrens C, et al. Evaluation of portal venous gas detected by ultrasound examination for diagnosis of necrotizing enterocolitis. *Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal Edition*. 2009 May;94(3):F183–187.
- [155] de Man P, Verhoeven BA, Verbrugh HA, Vos MC, van den Anker JN. An antibiotic policy to prevent emergence of resistant bacilli. *Lancet*. 2000 Mar;355(9208):973–978.
- [156] Aktories K, Förstermann U, Hofmann F, Starke K. Antibiotika und Chemotherapeutika - antiinfektiöse Therapie. In: *Repetitorium: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 2nd ed. München: Elsevier Urban&Fischer; 2009. p. 319–376.
- [157] Kreymann KG, de Heer G, Nierhaus A, Kluge S. Use of polyclonal immunoglobulins as adjunctive therapy for sepsis or septic shock. *Critical Care Medicine*. 2007 Dec;35(12):2677–2685.
- [158] Ohlsson A, Lacy JB. Intravenous immunoglobulin for suspected or subsequently proven infection in neonates. *Cochrane Database of Systematic Reviews* (Online). 2004;(1):CD001239.

- [159] Jenson HB, Pollock BH. The role of intravenous immunoglobulin for the prevention and treatment of neonatal sepsis. *Seminars in Perinatology*. 1998 Feb;22(1):50–63.
- [160] Haque K, Mohan P. Pentoxifylline for neonatal sepsis. *Cochrane Database of Systematic Reviews (Online)*. 2003;(4):CD004205.
- [161] Lauterbach R, Pawlik D, Kowalczyk D, Ksycínski W, Helwich E, Zembala M. Effect of the immunomodulating agent, pentoxifylline, in the treatment of sepsis in prematurely delivered infants: a placebo-controlled, double-blind trial. *Critical Care Medicine*. 1999 Apr;27(4):807–814.
- [162] May M, Daley AJ, Donath S, Isaacs D. Early onset neonatal meningitis in Australia and New Zealand, 1992-2002. *Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal Edition*. 2005 Jul;90(4):F324–327.
- [163] Schrag S, Gorwitz R, Fultz-Butts K, Schuchat A. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. Revised guidelines from CDC. *MMWR Recommendations and Reports: Morbidity and Mortality Weekly Report Recommendations and Reports / Centers for Disease Control*. 2002 Aug;51(RR-11):1–22.
- [164] Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet*. 1993 Feb;341(8844):515–518.
- [165] Meisner M. Pathobiochemistry and clinical use of procalcitonin. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2002 Sep;323(1-2):17–29.
- [166] Giamarellos-Bourboulis EJ, Mega A, Grecka P, Scarpa N, Koratzanis G, Thomopoulos G, et al. Procalcitonin: a marker to clearly differentiate systemic inflammatory response syndrome and sepsis in the critically ill patient? *Intensive care medicine*. 2002 Sep;28(9):1351–1356.
- [167] Ballot DE, Perovic O, Galpin J, Cooper PA. Serum procalcitonin as an early marker of neonatal sepsis. *South African medical journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde*. 2004 Oct;94(10):851–854.
- [168] Meisner M. *Procalcitonin - Biochemie und klinische Diagnostik*. 1st ed. Bremen: UNI-MED Verlag; 2010.
- [169] Brunkhorst F, Forycki Z, Wagner J. Procalcitonin immunoreactivity in severe human shock. *Intens Care Med*. 1995;21(suppl. 1):12.
- [170] Becker KL, O'Neil WJ, Snider RH, Nylen ES, Moore CF, Jeng J, et al. Hypercalcitonemia in inhalation burn injury: a response of the pulmonary neuroendocrine cell? *Anat Rec*. 1993 May;236:136–138.

- [171] Le Moullec JM, Jullienne A, Chenais J, Lasmoles F, Guliana JM, Milhaud G, et al. The complete sequence of human preprocalcitonin. *FEBS Lett.* 1984 Feb;167:93–97.
- [172] Becker KL, Snider RH, Silva OL, Moore CF. Calcitonin heterogeneity in lung cancer and medullary thyroid cancer. *Acta Endocrinol.* 1978 Sep;89:89–99.
- [173] Seligman R, Meisner M, Lisboa TC, Hertz FT, Filippin TB, Fachel JM, et al. Decreases in procalcitonin and C-reactive protein are strong predictors of survival in ventilator-associated pneumonia. *Crit Care.* 2006;10:R125.
- [174] Linscheid P, Seboek D, Schaer DJ, Zulewski H, Keller U, Muller B. Expression and secretion of procalcitonin and calcitonin gene-related peptide by adherent monocytes and by macrophage-activated adipocytes. *Crit Care Med.* 2004 Aug;32:1715–1721.
- [175] Oberhoffer M, Vogelsang H, Jager L, Reinhart K. Katalcalcin and calcitonin immunoreactivity in different types of leukocytes indicate intracellular procalcitonin content. *J Crit Care.* 1999 Mar;14:29–33.
- [176] Russwurm S, Wiederholt M, Stonans I, Oberhofer M, Meisner M, Reinhart K. Procalcitonin is released by human monocytes. *Shock.* 1999;12:17.
- [177] Wiedermann FJ, Kaneider N, Egger P, Tiefenthaler W, Wiedermann CJ, Lindner KH, et al. Migration of human monocytes in response to procalcitonin. *Crit Care Med.* 2002 May;30:1112–1117.
- [178] Linscheid P, Seboek D, Nylen ES, Langer I, Schlatter M, Becker KL, et al. In vitro and in vivo calcitonin I gene expression in parenchymal cells: a novel product of human adipose tissue. *Endocrinology.* 2003 Dec;144:5578–5584.
- [179] Hoffmann G, Czechowski M, Schloesser M, Schobersberger W. Procalcitonin amplifies inducible nitric oxide synthase gene expression and nitric oxide production in vascular smooth muscle cells. *Crit Care Med.* 2002 Sep;30:2091–2095.
- [180] Hoffmann G, Totzke G, Seibel M, Smolny M, Wiedermann FJ, Schobersberger W. In vitro modulation of inducible nitric oxide synthase gene expression and nitric oxide synthesis by procalcitonin. *Crit Care Med.* 2001 Jan;29:112–116.
- [181] Becker KL, Nylen ES, Snider RH, Muller B, White JC. Immunoneutralization of procalcitonin as therapy of sepsis. *J Endotoxin Res.* 2003;9:367–374.
- [182] Redl H, Schiesser A, Toegel E, Assicot M, Bohuon C. Possible role of TNF on procalcitonin release in a baboon model of sepsis. *Shock.* 2001;16(1):25–27.

- [183] Monneret G, Pachot A, Laroche B, Picollet J, Bienvenu J. Procalcitonin and calcitonin gene-related peptide decrease LPS-induced tnf production by human circulating blood cells. *Cytokine*. 2000 Jun;12:762–764.
- [184] Schinkel C, Sendtner R, Zimmer S, Faist E. Functional analysis of monocyte subsets in surgical sepsis. *J Trauma*. 1998 May;44:743–748.
- [185] Nylen ES, Whang KT, Snider RH, Steinwald PM, White JC, Becker KL. Mortality is increased by procalcitonin and decreased by an antiserum reactive to procalcitonin in experimental sepsis. *Crit Care Med*. 1998 Jun;26:1001–1006.
- [186] Hochreiter M, Kohler T, Schweiger AM, Keck FS, Bein B, von Spiegel T, et al. Antibiotikatherapie bei operativen Intensivpatienten. *Anaesthesist*. 2008 Jun;57:571–577.
- [187] Meisner M. Procalcitonin: Erfahrung mit einer neuen Messgroesse fuer bakterielle Infektionen und systemische Inflammation. *J Lab Med*. 1999;23:263–272.
- [188] Brunkhorst FM, Heinz U, Forycki ZF. Kinetics of procalcitonin in iatrogenic sepsis. *Intensive Care Med*. 1998 Aug;24:888–889.
- [189] Dandona P, Nix D, Wilson MF, Aljada A, Love J, Assicot M, et al. Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994 Dec;79:1605–1608.
- [190] Petitjean S, Mackensen A, Engelhardt R, Bohoun C. Induction de la procalcitonine circulante apres administration intraveuse d'endotoxine chez l'homme. *Act Pharm Biol Clin*. 1994;p. 265–268.
- [191] Petitjean S, Assicot M. Etude de l'immunoreactivite calcitonine-like au cours des processus infectieux. Diplome d'e etudes approfondies de biotechnologie. Universite Paris. 1993;5:1–29.
- [192] Meisner M, Tschakowsky K, Schnabel S, Schmidt J, Katalinic A, Schuttler J. Procalcitonin–influence of temperature, storage, anticoagulation and arterial or venous asservation of blood samples on procalcitonin concentrations. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1997 Aug;35:597–601.
- [193] Neupert K. Bestimmung der Konzentrationen von Procalcitonin (PCT) im ultrasensitiven Bereich bei ambulanten und fruehstationaeren Patienten. Universitaet Jena. Germany; 2009.
- [194] Charles PE, Dalle F, Aho S, Quenot JP, Doise JM, Aube H, et al. Serum procalcitonin measurement contribution to the early diagnosis of candidemia in critically ill patients. *Intensive Care Med*. 2006 Oct;32:1577–1583.

- [195] Petrikkos GL, Christofilopoulou SA, Tentolouris NK, Charvalos EA, Kosmidis CJ, Daidkos GL. Value of measuring serum procalcitonin, C-reactive protein, and mannan antigens to distinguish fungal from bacterial infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2005 Apr;24:272–275.
- [196] Kishimoto T. The biology of interleukin-6. *Blood*. 1989 Jul;74(1):1–10.
- [197] Resch B, Gusenleitner W, Müller WD. Procalcitonin and interleukin-6 in the diagnosis of early-onset sepsis of the neonate. *Acta paediatrica (Oslo, Norway: 1992)*. 2003;92(2):243–245.
- [198] Sehgal PB, Zilberstein A, Ruggieri RM, May LT, Ferguson-Smith A, Slate DL, et al. Human chromosome 7 carries the beta 2 interferon gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1986 Jul;83(14):5219–5222.
- [199] Hirano T, Yasukawa K, Harada H, Taga T, Watanabe Y, Matsuda T, et al. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature*. 1986 Nov;324(6092):73–76.
- [200] Kishimoto T, Akira S, Narazaki M, Taga T. Interleukin-6 family of cytokines and gp130. *Blood*. 1995 Aug;86(4):1243–1254.
- [201] Faist E, Ninnemann J, Green D. *Immune Consequences of Trauma, Shock, and Sepsis: Mechanisms and Therapeutic Approaches*. Bologna: Monduzzi Editore; 1996.
- [202] Tiller F, Stein B. *Das klinische Labor*. 2nd ed. Landsberg: ecomed MEDIZIN; 2005. p. 266, 366.
- [203] Saez-Llorens X, McCraecken G. *Textbook of Pediatric Infectious Diseases*; 1998. p. 892–926.
- [204] Stocker M, Hop WC, van Rossum AM. Neonatal Procalcitonin Intervention Study (Neo-PInS): Effect of Procalcitonin-guided decision making on duration of antibiotic therapy in suspected neonatal early-onset sepsis: A multi-centre randomized superiority and non-inferiority Intervention Study. *BMC Pediatr*. 2010;10:89.
- [205] Rey C, Los Arcos M, Concha A, Medina A, Prieto S, Martinez P, et al. Procalcitonin and C-reactive protein as markers of systemic inflammatory response syndrome severity in critically ill children. *Intensive Care Med*. 2007 Mar;33:477–484.
- [206] Koksall N, Harmanci R, Cetinkaya M, Hacimustafaoglu M. Role of procalcitonin and CRP in diagnosis and follow-up of neonatal sepsis. *Turk J Pediatr*. 2007;49:21–29.

- [207] Distefano G, Curreri R, Betta P, Romeo MG, Amato M. Procalcitonin serum levels in perinatal bacterial and fungal infection of preterm infants. *Acta Paediatr.* 2004 Feb;93:216–219.
- [208] Kordek A, Giedrys-Kalemba S, Pawlus B, Podraza W, Czajka R. Umbilical cord blood serum procalcitonin concentration in the diagnosis of early neonatal infection. *J Perinatol.* 2003 Mar;23:148–153.
- [209] Hsiao AL, Baker MD. Fever in the new millennium: a review of recent studies of markers of serious bacterial infection in febrile children. *Curr Opin Pediatr.* 2005 Feb;17:56–61.
- [210] Leclerc F, d’Herbomez M. Procalcitonin in pediatric resuscitation. *Arch Pediatr.* 2004 Jun;11:587–589.
- [211] van Rossum AM, Wulkan RW, Oudesluys-Murphy AM. Procalcitonin as an early marker of infection in neonates and children. *Lancet Infect Dis.* 2004 Oct;4:620–630.
- [212] Mariscalco MM. Is plasma procalcitonin ready for prime time in the pediatric intensive care unit? *Pediatr Crit Care Med.* 2003 Jan;4:118–119.
- [213] Kunz D, Kohse K. Entzündungsdiagnostik in der Paediatric. *J Lab Med.* 2002;26:335–340.
- [214] Chiesa C, Pellegrini G, Panero A, Osborn JF, Signore F, Assumma M, et al. 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;49:60–68.
- [215] Chiesa C, Panero A, Rossi N, Stegagno M, De Giusti M, Osborn JF, et al. Reliability of procalcitonin concentrations for the diagnosis of sepsis in critically ill neonates. *Clin Infect Dis.* 1998 Mar;26:664–672.
- [216] Kordek A, Torbe A, Czajka R. Maternal venous procalcitonin levels do not correlate with umbilical cord blood and venous blood concentrations in the neonate. *J Perinat Med.* 2006;34:462–465.
- [217] Weiß C. *Basiswissen Medizinische Statistik.* 5th ed. Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2010.
- [218] Fluss R, Faraggi D, Reiser B. Estimation of the Youden Index and its associated cutoff point. *Biometrical Journal Biometrische Zeitschrift.* 2005 Aug;47(4):458–472.
- [219] Joram N, Boscher C, Denizot S, Loubersac V, Winer N, Roze JC, et al. Umbilical cord blood procalcitonin and C reactive protein concentrations as markers for early diagnosis of very early onset neonatal infection. *Archives of disease in childhood Fetal and neonatal edition.* 2006 Jan;91(1):F65–66.

- [220] Kordek A, Hałasa M, Podraza W. Early detection of an early onset infection in the neonate based on measurements of procalcitonin and C-reactive protein concentrations in cord blood. *Clinical chemistry and laboratory medicine: CCLM / FESCC*. 2008;46(8):1143–1148.
- [221] Chiesa C, Panero A, Rossi N, Stegagno M, De Giusti M, Osborn JF, et al. Reliability of procalcitonin concentrations for the diagnosis of sepsis in critically ill neonates. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 1998 Mar;26(3):664–672.
- [222] Gendrel D, Assicot M, Raymond J, Moulin F, Francoual C, Badoual J, et al. Procalcitonin as a marker for the early diagnosis of neonatal infection. *The Journal of pediatrics*. 1996 Apr;128(4):570–573.
- [223] Sachse C, Dressler F, Henkel E. Increased serum procalcitonin in newborn infants without infection. *Clinical chemistry*. 1998 Jun;44(6 Pt 1):1343–1344.
- [224] Turner D, Hammerman C, Rudensky B, Schlesinger Y, Goia C, Schimmel MS. Procalcitonin in preterm infants during the first few days of life: introducing an age related nomogram. *Archives of disease in childhood Fetal and neonatal edition*. 2006 Jul;91(4):F283–286.
- [225] Chiesa C, Natale F, Pascone R, Osborn JF, Pacifico L, Bonci E, et al. C reactive protein and procalcitonin: reference intervals for preterm and term newborns during the early neonatal period. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2011 May;412(11-12):1053–1059.
- [226] Chiesa C, Signore F, Assumma M, Buffone E, Tramontozzi P, Osborn JF, et al. Serial measurements of C-reactive protein and interleukin-6 in the immediate postnatal period: reference intervals and analysis of maternal and perinatal confounders. *Clinical chemistry*. 2001 Jun;47(6):1016–1022.
- [227] Marchini G, Berggren V, Djilali-Merzoug R, Hansson LO. The birth process initiates an acute phase reaction in the fetus-newborn infant. *Acta paediatrica (Oslo, Norway: 1992)*. 2000 Sep;89(9):1082–1086.
- [228] Joram N, Muller J, Denizot S, Orsonneau J, Caillon J, Rozé J, et al. Umbilical cord blood procalcitonin level in early neonatal infections: a 4-year university hospital cohort study. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 2011 Aug;30(8):1005–1013.
- [229] Cancelier AC, Petronilho F, Reinke A, Constantino L, Machado R, Ritter C, et al. Inflammatory and oxidative parameters in cord blood as diagnostic of early-onset neonatal

- sepsis: a case-control study. *Pediatric critical care medicine: a journal of the Society of Critical Care Medicine and the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies*. 2009 Jul;10(4):467–471.
- [230] Doellner H, Arntzen KJ, Haereid PE, Aag S, Austgulen R. Interleukin-6 concentrations in neonates evaluated for sepsis. *The Journal of pediatrics*. 1998 Feb;132(2):295–299.
- [231] Küster H, Weiss M, Willeitner AE, Detlefsen S, Jeremias I, Zbojan J, et al. Interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-6 for early diagnosis of neonatal sepsis 2 days before clinical manifestation. *Lancet*. 1998 Oct;352(9136):1271–1277.
- [232] Panero A, Pacifico L, Rossi N, Mancuso G, Stegagno M, Chiesa C. Interleukin 6 in neonates with early and late onset infection. *The Pediatric infectious disease journal*. 1997 Apr;16(4):370–375.
- [233] de Bont ES, Martens A, van Raan J, Samson G, Fetter WP, Okken A, et al. Diagnostic value of plasma levels of tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) and interleukin-6 (IL-6) in newborns with sepsis. *Acta paediatrica (Oslo, Norway: 1992)*. 1994 Jul;83(7):696–699.
- [234] de Bont ES, Martens A, van Raan J, Samson G, Fetter WP, Okken A, et al. Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-6 plasma levels in neonatal sepsis. *Pediatric research*. 1993 Apr;33(4 Pt 1):380–383.
- [235] Smulian JC, Bhandari V, Campbell WA, Rodis JF, Vintzileos AM. Value of umbilical artery and vein levels of interleukin-6 and soluble intracellular adhesion molecule-1 as predictors of neonatal hematologic indices and suspected early sepsis. *The Journal of maternal-fetal medicine*. 1997 Oct;6(5):254–259.
- [236] Krueger M, Nauck MS, Sang S, Hentschel R, Wieland H, Berner R. Cord blood levels of interleukin-6 and interleukin-8 for the immediate diagnosis of early-onset infection in premature infants. *Biology of the neonate*. 2001 Aug;80(2):118–123.
- [237] Hatzidaki E, Gourgiotis D, Manoura A, Korakaki E, Bossios A, Galanakis E, et al. Interleukin-6 in preterm premature rupture of membranes as an indicator of neonatal outcome. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*. 2005 Jul;84(7):632–638.
- [238] Lehrnbecher T, Schrod L, Rutsch P, Roos T, Martius J, von Stockhausen HB. Immunologic parameters in cord blood indicating early-onset sepsis. *Biology of the neonate*. 1996;70(4):206–212.
- [239] Lehrnbecher T, Schrod L, Kraus D, Roos T, Martius J, von Stockhausen HB. Interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptor in cord blood in the diagnosis of early onset sepsis in neonates. *Acta paediatrica (Oslo, Norway: 1992)*. 1995 Jul;84(7):806–808.

- [240] Velemínský J Milos, Stránský P, Velemínský S Milos, Tosner J. Relationship of IL-6, IL-8, TNF and sICAM-1 levels to PROM, pPROM, and the risk of early-onset neonatal sepsis. *Neuro endocrinology letters*. 2008 Jun;29(3):303–311.
- [241] 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. *The Journal of maternal-fetal medicine*. 1999 Jun;8(3):88–94.
- [242] Kashlan F, Smulian J, Shen-Schwarz S, Anwar M, Hiatt M, Hegyi T. Umbilical vein interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha plasma concentrations in the very preterm infant. *The Pediatric infectious disease journal*. 2000 Mar;19(3):238–243.