

Diplomarbeit

**Besiedelung mit ESBL-bildenden Enterobakterien an der
NICU Graz, 2005 bis 2016: Epidemiologie und Korrelation
mit der Nekrotisierenden Enterokolitis**

Eine retrospektive Fall-Kontroll-Studie

eingereicht von

Martin Eberhart

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Univ. Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde

Klinische Abteilung für Neonatologie

unter der Anleitung von

Univ. Prof. Dr. Bernhard Resch

und

Univ. Prof.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ Andrea Grisold

Graz, am 28.5.2019

Eidesstattliche Erklärung

Ich, Martin Eberhart, 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, am 28.5.2019

Martin Eberhart eh

Danksagungen

Seit dem Beginn dieser Arbeit sind viele Monate vergangen. In den vergangenen zwei Jahren habe nicht nur ich alleine Zeit, Geduld und Wissen in diese Diplomarbeit gesteckt, sondern hatte auch einige fördernde und geduldige Menschen um mich herum.

Zunächst möchte ich mich bei meinem Betreuer Prof. Dr. Bernhard Resch für die Unterstützung bei meiner Themenwahl bedanken, wodurch er bei mir ein Interesse für wissenschaftliches Arbeiten weckte. Er zeigte viel Geduld und vor allem auch Verständnis, beriet mich während der Arbeit an der Diplomarbeit und hatte stets ein offenes Ohr für meine Fragen. Weiters möchte ich mich bei meiner Zweitbetreuerin Prof.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ Andrea Grisold bedanken. Sie erklärte sich spontan dazu bereit, die Zweitbetreuung zu übernehmen und nahm sich viel Zeit für das Besprechen und Korrigieren der Arbeit. Dank ihr war eine erweiterte PatientInnenrecherche über die Datenbank ihres Instituts möglich, was essentiell für diese Arbeit war.

Ein großer Dank gilt auch meinen Eltern, die mir meinen Bildungsweg inklusive aller Umwege ermöglichten, der ohne sie nicht so einfach machbar gewesen wäre. Sie unterstützen mich seit Beginn meiner Studienzeit in jeglicher Hinsicht und zeigten Geduld und Verständnis für meinen Berufswunsch und meine Interessen.

Schlussendlich möchte ich mich bei meiner Freundin Christina bedanken. Sie motivierte mich vor 6 Jahren, diesen Berufsweg einzuschlagen und glaubt bis heute stets an mich.

Zusammenfassung

Hintergrund

Die nekrotisierende Enterokolitis (NEC) ist mit erhöhter Mortalität unter Neugeborenen verbunden und weist einen inversen Zusammenhang mit Geburtsgewicht und Gestationsalter auf. Die Pathogenese ist multifaktoriell, jedoch wird neben der Frühgeburtlichkeit eine bakterielle Fehlbesiedlung als Risikofaktor angenommen. ESBL-Keime, welche eine pathologische Besiedlung des Gastrointestinaltraktes darstellen, sind ein zunehmendes Problem auf neonatologischen Intensivstationen. Im Rahmen dieser Diplomarbeit soll ermittelt werden, ob eine Korrelation zwischen einer enteralen ESBL-Keimbesiedelung und der Entstehung einer NEC besteht.

Methodik

Mithilfe einer retrospektiven Fall-Kontrollstudie wurden im Studienzeitraum 2005-2016 alle Neugeborenen der neonatologischen Intensivstation der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz mit einem Gestationsalter bis 32 SSW und einer enteralen ESBL-Besiedelung identifiziert und in die Fallgruppe eingeschlossen. Anhand der Matchingkriterien (Geburtsjahr, Gestationsalter, Geburtsgewicht, Geschlecht) wurde eine Kontrollgruppe mit Kindern ohne ESBL-Besiedelung erstellt. Sowohl die NEC Inzidenz als auch perinatale Daten und Komorbiditäten wurden erfasst und zwischen den beiden Gruppen verglichen. Weiters wurde die Gesamtzahl aller ESBL-Keime erfasst und deren Epidemiologie über den Studienzeitraum untersucht.

Ergebnisse

Es konnten 217 ESBL-besiedelte Kinder identifiziert und in die Fallgruppe eingeschlossen werden. Sieben Kinder der Fallgruppe entwickelten eine NEC \geq IIa. In der Kontrollgruppe erkrankte ein Kind (3,23% vs. 0,46%; $p = 0,016$). Innerhalb der ESBL-besiedelten Fallgruppe gab es signifikant mehr Mehrlingsschwangerschaften (39,17% vs. 21,66%; $p < 0,001$). 10 verschiedene ESBL-Keime wurden in der Fallgruppe nachgewiesen, wobei (ESBL+)-*Klebsiella oxytoca* (57,6%) der häufigste Keim war und 20,27% der Kinder mit mehr als einem Keim besiedelt waren. Über den gesamten Zeitraum gesehen, variiert die Anzahl der besiedelten Kinder, jedoch war kein eindeutiger saisonaler Zusammenhang zu erkennen. Die in den ersten Jahren dominierende (ESBL+)-*Klebsiella pneumoniae* wurde relativ rasch von (ESBL+)-*Klebsiella oxytoca* abgelöst. Die prozentuelle Verteilung, auf alle besiedelten Kinder bezogen, war wie folgt: (ESBL+)-*Klebsiella oxytoca* 57,6%,

(ESBL+)-*Klebsiella pneumoniae* 24%, (ESBL+)-*Citrobacter freundii* 21,2%. Die übrigen ESBL-Keime fanden sich in < 10%.

Schlussfolgerungen

Wir fanden eine signifikante Assoziation (7-fach erhöhte Rate) der NEC \geq IIa im Fall einer Besiedlung mit einem ESBL-produzierenden Erreger. Diese reine Assoziation einer Kolonisation ohne invasive Infektion ist in der Literatur noch nicht beschrieben worden. Die ESBL-bildenden Enterobakterien zeigten kein jahreszeitliches Verteilungsmuster; prädominant war (ESBL+)-*Klebsiella oxytoca*.

Abstract

Background

Necrotizing Enterocolitis (NEC) is associated with an increased mortality rate in newborns and NEC episodes exhibit an inverse relationship with gestational age and birth weight. The exact pathogenesis is not clear yet and etiology multifactorial, however, an abnormal bacterial colonization is found to be a risk factor. Multiresistant ESBL-germs, which represent a pathological colonization of the gut, became a growing problem at neonatal intensive care units. The aim of this thesis is to investigate the potential correlation between ESBL-colonization of the gut and the development of NEC.

Methods

By using a retrospective case-control study all neonates at the neonatal intensive care unit of the Pediatric department of the Medical University of Graz with a gestational age up to 32 weeks and an enteral ESBL-colonization during the study period between 2005 and 2016 were identified and built the case group. Under usage of predefined matching criteria (year of birth, gestational age, birth weight, sex) a control group with neonates without ESBL-colonization was designed. Beside NEC incidence perinatal data and comorbidities were registered and compared for both groups. Furthermore, the total number of ESBL-germs were recorded and epidemiology within the study period was explored.

Results

217 ESBL-colonized children were identified and finally represented the case group. Seven of those children developed a NEC \geq IIa, whereas in the control group only one NEC was diagnosed (3,23% vs. 0,46%; $p = 0,016$). Within the ESBL-colonized case group a higher number of multiple births could be recorded (39% vs. 22%; $p = <0,001$). Ten different ESBL-germs could be detected in the case group, in which (ESBL+)-*Klebsiella oxytoca* (58%) was the most common. 20% of the children were colonized by more than one germ. Within the study period the number of ESBL colonized children varies, however, no exact seasonal coherence could be identified. (ESBL+)-*Klebsiella pneumoniae*, which dominated in the first years was displaced by (ESBL+)-*Klebsiella oxytoca*. The percental split, on all colonized children was as follows: (ESBL+)-*Klebsiella oxytoca* 57,6%, (ESBL+)-*Klebsiella pneumoniae* 24%, (ESBL+)-*Citrobacter freundii* 21,2%. Other ESBL-positive germs were found at low rated ($< 10\%$).

Conclusion

A significant association (7-times higher rate) of NEC \geq IIa in the case of an ESBL-colonization was found. This association of ESBL-colonization without invasive infection is not mentioned in academic literature so far. The ESBL-colonizing enterobacteria did not show any seasonal correlation; (ESBL+)-*Klebsiella oxytoca* was predominant.

Inhaltsverzeichnis

DANKSAGUNGEN	III
ZUSAMMENFASSUNG	IV
ABSTRACT	VI
INHALTSVERZEICHNIS	VIII
ABKÜRZUNGEN	X
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	XI
TABELLENVERZEICHNIS	XIII
1 EINLEITUNG	14
1.1 Nekrotisierende Enterokolitis	14
1.1.1 Definition und Basisinformation	14
1.1.2 Pathogenese	16
1.1.3 Krankheitsbeginn und Klinik	22
1.1.4 Diagnostik	24
1.1.5 Klassifikation	25
1.1.6 Therapie	27
1.1.7 Prognose und Komplikationen	29
1.1.8 Langfristige Prognose	30
1.1.9 Prävention und Prophylaxe	30
1.2 Enterobakterien	35
1.3 Resistenzen	35
1.4 Beta-Laktamasen und Beta-Laktamantibiotika	36
1.4.1 Klassifikation von Resistenzen	39
1.4.2 Epidemiologie	41
1.4.3 Management	46
1.5 Fragestellung	50
2 MATERIAL UND METHODEN	51
2.1 Studiendesign	51
2.2 Recruiting und Datenerhebung	51
2.3 Statistische Auswertung	54

3	ERGEBNISSE	55
3.1	Studienpopulation	55
3.1.1	Fallgruppe	55
3.1.2	Kontrollgruppe	58
3.2	Vergleich von Fall-und Kontrollgruppe	59
3.2.1	Vergleich der perinatalen Daten	59
3.2.2	Vergleich der Komorbiditäten	61
3.3	Hauptzielgröße – Nekrotisierende Enterokolitis	62
3.3.1	NEC-Population	63
3.3.2	Vergleich der NEC-Kinder mit Nicht-NEC-Kindern	63
3.3.3	Diagnosezeitpunkt	66
3.4	Nebenzielgröße ESBL-Bakterien	67
3.4.1	Spektrum der Bakterienstämme	67
3.4.2	Zeitlicher Verlauf des Auftretens von ESBL-positiven Bakterienstämme	69
3.4.3	Saisonalität der ESBL-Kolonisationen	72
4	DISKUSSION	73
4.1	Limitationen	76
5	LITERATURVERZEICHNIS	77

Abkürzungen

ESBL	Extended Spektrum Betalaktamase
NEC	Nekrotisierende Enterokolitis
ECDC	European Centre for Disease Control
CDC	Centre for Disease Control and Prevention
KRINKO	Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention
TLR	Toll like Receptor
i.v.	intravenös
p.o.	per os
XDR	extensively drug-resitant
MDR	multidrug-resistant
PDR	pandrug-resistance
3MRGN	multiresistente gramnegative Stäbchen mit Resistenz gegen 3 der 4 Antibiotikagruppen
4MRGN	multiresistente gramnegative Stäbchen mit Resistenz gegen 4 der 4 Antibiotikagruppen
R	resistent
S	sensibel
NICU	Neonatal Intensive Care Unit
GA	Gestationsalter
GG	Geburtsgewicht
g	Gramm
SGA	Small for Gestational Age
CS	Cesarian Sectio (Kaiserschnitt)
NAPh	Nabelschnurarterien-PH Wert
EOS	Early Onset Sepsis
LOS	Late Onset Sepsis
IRDS	Infant Respiratory Distress Syndrome
IVH	Intraventrikuläre Hämorrhagie
PVE	Periventrikuläre Echodensität
PVL	Periventrikuläre Leukenzaphalomalazie
BPD	Bronchopulmonale Dysplasie
ROP	Retinopathie praematurorum
SIP	Spontane intestinale Perforation

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Pathophysiologie der nekrotisierenden Enterokolitis nach Lin et. al. (1)	18
Abbildung 2: Histogramm der NEC-Fälle nach korrigiertem Gestationsalter aus Pammi et. al. (7)	22
Abbildung 3: Frühgeborenes mit gespannt geblähtem Abdomen und rötlich-livider Verfärbung der Haut am Abdomen als klinisches Warnsignal bei V.a. NEC 24	
Abbildung 4: Therapie der Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) nach Stadien der Bell-Klassifikation nach Lin et al. (1)	27
Abbildung 5: Strukturformel der Penicilline (links) und der Cephalosporine (rechts). Der Beta-Laktamring ist rot eingefärbt (66)	36
Abbildung 6: Darstellung der Resistenzen von Escherichia coli gegen Cephalosporine der dritten Generation im Jahr 2005 (73)	42
Abbildung 7: Darstellung der Resistenzen von Escherichia coli gegen Cephalosporine der dritten Generation im Jahr 2016 (72)	43
Abbildung 8: Darstellung der Resistenzen von Klebsiella pneumoniae gegen Cephalosporine der dritten Generation im Jahr 2005 (73)	44
Abbildung 9: Darstellung der Resistenzen von Klebsiella pneumoniae gegen Cephalosporine der dritten Generation im Jahr 2016 (72)	44
Abbildung 10: Darstellung der Resistenzen von Klebsiella pneumoniae gegen Carbapeneme im Jahr 2005 (73)	45
Abbildung 11: Darstellung der Resistenzen von Klebsiella pneumoniae gegen Carbapeneme im Jahr 2016 (72)	46
Abbildung 12: Verlauf der Datenerhebung der Fallgruppe	55
Abbildung 13: Zeitlicher Verlauf und Anzahl der ESBL-Keimbesiedelten Kinder über den Studienzeitraum 2005 bis 2016	56
Abbildung 14: Anteil an ESBL-Keimbesiedelten Kinder an der Gesamtbelegung (≤ 32 SSW) der neonatologischen Intensivstation Graz über den Studienzeitraum 2005 bis 2016	57
Abbildung 15: Perinatale Daten der mit ESBL-Keimen besiedelten Fallgruppe und der nichtbesiedelten Kontrollgruppe	60
Abbildung 16: Vergleich der APGAR Werte und des Nabelschnurarterien-pH Wertes der mit ESBL-Keimen besiedelten Fallgruppe und der nichtbesiedelten Kontrollgruppe	60
Abbildung 17: Vergleich der Komorbiditäten der mit ESBL-Keimen besiedelten Fallgruppe und der nichtbesiedelten Kontrollgruppe	61
Abbildung 18: Inzidenz der Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) \geq IIa in der mit ESBL-Keimen besiedelten Fallgruppe und der nichtbesiedelten Kontrollgruppe	62
Abbildung 19: Zeitpunkt der Diagnose der NEC bzw. des ESBL Nachweises in Form des Lebensstages der sieben ESBL-positiven Kinder	66
Abbildung 20: Aufteilung der ESBL-positiven Bakterienstämme unter den 217 ESBL-Keim besiedelten Kindern*	68

Abbildung 21: Zeitlicher Verlauf des Erstnachweises der ESBL-Kolonisationen im Zeitraum 2005-2010	70
Abbildung 22: Zeitlicher Verlauf des Erstnachweises der ESBL-Kolonisationen im Zeitraum 2011-2016	71
Abbildung 23: Aufteilung der ESBL-Kolonisationen auf die Monate im Zeitraum 2005-2016	72

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klassifizierung der nekrotisierenden Enterokolitis nach der modifizierten Bell-Klassifikation (50)	26
Tabelle 2: NEC-Prophylaxe an der NICU Graz (58)	34
Tabelle 3: Stabilität der Beta-Laktam Antibiotika aus Hof et. al (67)	37
Tabelle 4: Auflistung der Beta-Laktamantibiotika (65)	38
Tabelle 5: Klassifizierung multiresistenter Enterobakterien nach Empfehlung der KRINKO (68).....	41
Tabelle 6: erhobene perinatale Daten und Komorbiditäten.....	52
Tabelle 7: erhobene Daten zu den ESBL-Nachweisen.....	53
Tabelle 8: ESBL-Keimbesiedelten Kinder und Gesamtbelegung ≤ 32 SSW der neonatologischen Intensivstation Graz über den Studienzeitraum 2005 bis 2016 57	
Tabelle 9: Differenz im Gestationsalter der gematchten Kinder	58
Tabelle 10: Perinatale Daten der mit ESBL-Keimen besiedelten Fallgruppe und der nichtbesiedelten Kontrollgruppe	59
Tabelle 11: Komorbiditäten der mit ESBL-Keimen besiedelten Fallgruppe und der nichtbesiedelten Kontrollgruppe	61
Tabelle 12: Inzidenz der Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) in der mit ESBL-Keimen besiedelten Fallgruppe und der nichtbesiedelten Kontrollgruppe	62
Tabelle 13: Kinder mit einer Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) \geq IIa	63
Tabelle 14: Vergleich der NEC-Kinder mit allen nicht an NEC erkrankten Kindern.....	65
Tabelle 15: ESBL-positive Bakterienstämme (n=270) nachgewiesen in 217 Neugeborenen 68	

1 Einleitung

1.1 Nekrotisierende Enterokolitis

1.1.1 Definition und Basisinformation

Die nekrotisierende Enterokolitis (NEC) bezeichnet eine entzündliche Erkrankung des Gastrointestinaltraktes, die sowohl segmental als auch kontinuierlich auftreten kann. Es ist der häufigste gastrointestinale Notfall bei Neugeborenen, wobei vor allem Frühgeborene mit weniger als 36 Schwangerschaftswochen (SSW) betroffen sind. Bei Reifgeborenen ist eine NEC mit anderen Komorbiditäten, wie perinataler Asphyxie, Polzythämie, Lungenerkrankungen oder kongenitalen Störungen assoziiert. Die Krankheit tritt nur postnatal auf und wurde noch nie intrauterin oder bei Totgeburten diagnostiziert (1). Das Auftreten auf einer Station erfolgt meist sporadisch, wobei es Fälle von Ausbrüchen in Zusammenhang mit nosokomialen Infektionen mit gramnegativen Bakterien gibt (2).

Die Relevanz dieser Erkrankung und auch die Fallzahlen steigen auf Grund von zwei unterschiedlichen Ursachen: Einerseits steigt die Rate an Frühgeburten, bedingt durch einen Anstieg an medizinisch indizierten Frühgeburten infolge von Präeklampsie, Eklampsie, intrauteriner Wachstumsretardierung und der steigenden Anzahl an Mehrlingsschwangerschaften durch künstliche Befruchtungen (3). Andererseits haben die Fortschritte der Geburtshilfe und Neonatologie in den letzten Jahrzehnten dazu geführt, dass Unreife, Lungenerkrankungen – wie das Infant Respiratory Distress Syndrome (IRDS) – Infektionen und andere besser behandelt werden können. Dadurch überleben Kinder mit geringem Geburtsgewicht (< 1500 g), sogenannte *Very Low Birth Weight* (VLBW) Kinder, die ersten Lebensstunden und erreichen ein Lebensalter, um an einer NEC zu erkranken. Somit ist die NEC die häufigste Todesursache für VLBW-Kinder zwischen dem 15. und 60. Lebenstag. Unter Frühgeborenen steigen die durch NEC verursachten Todesfälle, wohingegen Todesfälle aufgrund von pulmonologischen, infektiösen oder zentralnervösen Ursachen abnehmen, da deren Pathophysiologie mittlerweile besser bekannt ist und somit auch präventiv gegengesteuert werden bzw. effektiver therapiert werden kann (4).

1.1.1.1 Epidemiologie

Neben der Frühgeburtlichkeit, welche als die hauptsächliche Ursache der Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) gesehen wird, rückt zuletzt die bakterielle Besiedlung des Gastrointestinaltraktes in den Fokus der wissenschaftlichen Untersuchungen. Eine Dysbalance der bakteriellen Besiedlung zugunsten von potentiell pathogenen Keimen stellt für den unreifen Darm eines Frühgeborenen eine zusätzliche Belastung dar und könnte somit ein weiteres Puzzleteil in der Entwicklung einer NEC sein (5). Die aktuelle Forschung versucht den Zusammenhang einer bakteriellen (Fehl)-Besiedlung und der Ausbildung einer NEC, indirekt mit der Optimierung des Mikrobioms mit Hilfe von Probiotika, zu beweisen (6,7). Wobei die Studienlage einerseits einen direkten Zusammenhang zwischen einer bestimmten bakteriellen Besiedlung in Form des Mikrobioms und NEC finden konnte (8), gibt es andererseits auch gegenteilige Arbeiten die (9,10).

Klar ist, dass sowohl Inzidenz als auch Mortalität einen inversen Zusammenhang mit Geburtsgewicht (GG) und Gestationsalter (GA) aufweisen (1,11). Die Inzidenz schwankt international zwischen 1% und 5%. Die Schwankungsbreite ist abhängig davon, ob nur chirurgisch behandelte NEC-Fälle oder auch konservativ versorgte Fälle inkludiert werden und ob man sich auf alle Neugeborenen, alle Frühgeborenen – ≤ 32 Schwangerschaftswoche (SSW) – oder nur auf alle Frühgeborenen – < 1500 Gramm (g) – bezieht (12). Die NEC Inzidenz steigt zudem dann an, wenn auch NEC-Fälle aus Stadium Ia oder Ib miteinbezogen werden, welche lediglich den Verdacht auf eine NEC äußern. Ab Stadium II spricht man von einer definitiven NEC (siehe Kapitel 1.1.3).

Eine deutschlandweite Neonatologie-Erhebung ergab im Jahr 2014 eine Inzidenz von 1,03% für alle FG mit einem GG < 1500 g oder einem GA unter 32 + 0 SSW (13).

Das amerikanische *National Institute of Child Health and Human Development* (NICHD) ermittelt für *Very Low Birth Weight*-Kinder eine Inzidenz für eine definitive NEC von 7%.

Das inverse Verhältnis von Inzidenz und Geburtsgewicht zeigte sich hier wie folgt:

- 11% bei 501 – 750 g,
- 9% bei 751 – 1000 g,
- 5% bei 1001 – 1250 g,
- 3% bei 1251 – 1500 g (14).

In Deutschland findet man seit 25 Jahren eine stagnierende Mortalität der NEC von rund 20%. Für den Zeitraum 2008 bis 2012 liegt die erhobene Mortalität bei 20,5% (15) bzw. 20% für den Zeitraum 1994 bis 1998 (16).

International betrachtet beträgt die Gesamtmortalität 15-30% (1,11). Hier zeigt sich ein Unterschied in der Mortalität zwischen chirurgisch und konservativ therapierter NEC: Eine amerikanische Studie, welche nur VLBW-Kinder einschloss, fand für konservativ therapierte NEC-Fälle eine Mortalität von 21% und für chirurgische NEC-Fälle von 35%. Die Gesamtmortalität beider Gruppen zusammen liegt hier bei 28%. Je geringer das Geburtsgewicht ist, desto eher erfuhr das Kind eine chirurgische Therapie und desto höher war auch die Mortalität. Somit ist das Geburtsgewicht der beste alleinstehende Prognosefaktor für die Mortalität (11).

Obwohl es keinen Zusammenhang zwischen der NEC und einem Geschlecht gibt, ist die Mortalität bei Buben höher. In den USA zeigt sich außerdem eine höhere NEC-Rate innerhalb der afroamerikanischen Bevölkerung. Dies wird mit der höheren Rate an VLBW-Kindern und Frühgeburten – beides Risikofaktoren der NEC – dieser Bevölkerungsgruppe begründet (17).

Der amerikanische NEC-Risiko-Index *GutCheck*^{NEC} nennt neun unabhängige Risikofaktoren für die Entwicklung einer NEC: niedriges Gestationsalter, Gabe von Erythrozytenkonzentraten, NEC-Rate der spezifischen Intensivstation, Late Onset Sepsis, multiple Infektionen, mit inotropen Medikamenten behandelte Hypotension, afrikanische oder hispanische Abstammung, externe Geburt und metabolische Azidose innerhalb der ersten zwölf Lebensstunden (18).

Obwohl nach heutigem Stand noch keine genetische Prädisposition belegt ist, spricht eine Konkordanz in monozygoten und dizygoten Zwillingen für eine familiäre Prädisposition (19).

1.1.2 Pathogenese

Obwohl die Nekrotisierende Enterokolitis seit 60 Jahren auf neonatologischen Intensivstationen vorkommt, ist die Pathogenese dieser Erkrankung bis heute unklar. Ein Hemmnis im Verständnis der NEC und dem Finden von Gemeinsamkeiten innerhalb der erkrankten Populationen ist, dass mehr als nur eine Krankheit als NEC diagnostiziert wird. In der Vergangenheit sind andere Erkrankungen, welche fälschlicherweise als NEC bezeichnet wurden, in die Datenbanken aufgenommen worden und verfälschten somit die statistischen Auswertungen:

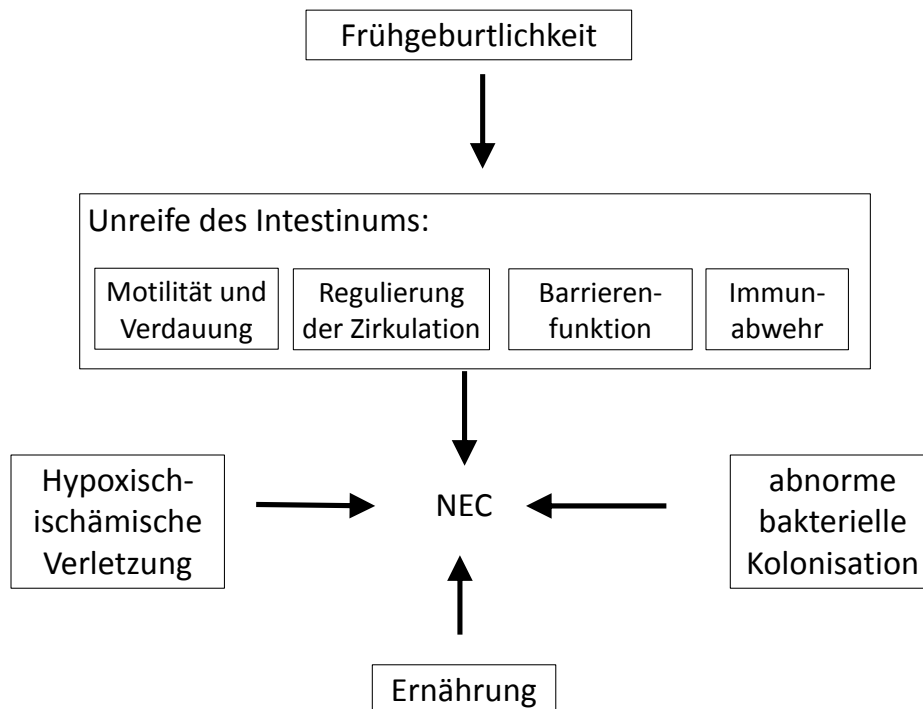
- Spontane intestinale Perforation (SIP),
- ischämische Darmerkrankungen aufgrund kardiologischer Erkrankungen und Herzfehler,
- Nahrungsprotein-induziertes Enterokolitis-Syndrom (FPIES),
- Kongenitale Darmerkrankungen wie Morbus Hirschsprung,
- NEC Stufe I,
- Fehlinterpretation von Darmgasen als Pneumatosis intestinalis (20).

Es liegt nahe, dass es nicht eine einzelne Ätiologie gibt, die für die Entwicklung einer NEC verantwortlich ist, sondern vielmehr ein Zusammenspiel mehrere Faktoren zur Erkrankung führt. Es stehen drei Hauptrisikofaktoren im Mittelpunkt der medizinischen Forschung:

- Frühgeburtlichkeit
- Art der enteralen Ernährung und
- bakterielle Besiedelung (21).

Abbildung 1 zeigt diese drei Faktoren, die zur Entwicklung einer NEC beitragen können, erweitert um die hypoxisch-ischämische Verletzung. Die aktuelle Forschung geht davon aus, dass sich der Gastrointestinaltrakt eines Frühgeborenen – im Vergleich zum Reifgeborenen – in einem überreaktiven Zustand befindet und dieser Zustand die Entwicklung einer NEC, zusammen mit der Unreife, einer bestimmten bakteriellen Besiedelung und einer genetischen Prädisposition, begünstigt (21). Im Weiteren wird auf diese Punkte näher eingegangen.

Abbildung 1: Pathophysiologie der nekrotisierenden Enterokolitis nach Lin et. al. (1)



1.1.2.1 Hypoxie und Ischämie

Obwohl Hypoxie und Ischämie zu Verletzungen des Darms führen können und somit auch ein Teil der Pathogenese der Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) sein könnten, ist es umstritten, dass dies der primär auslösende Faktor ist (22). Jedoch haben früh- und auch reifgeborene Kinder mit kongenitalen Herzfehlern, die zu hypoxischen oder ischämischen Zuständen führen, ein erhöhtes Risiko eine NEC zu entwickeln. Vor allem der komplette atrioventrikulospetale Defekt (AV-Kanal), ein Fehlen des Vorhof- und des Ventrikelseptums, ist im Vergleich zu anderen Herzanomalien mit einem höheren Risiko eine NEC zu entwickeln verbunden (23,24). Ein persistierender Ductus arteriosus (PDA) stellt bei *Very Low Birth Weight*-Kindern (VLBW) einen unabhängigen Risikofaktor für die Entwicklung einer NEC dar, wobei die Therapie mit Indomethacin, einem Prostaglandin-Synthesehemmer, zu keiner signifikanten Risikoreduktion führt (25).

1.1.2.2 Frühgeburtlichkeit

Als Frühgeborenes bezeichnet man Neugeborene mit einem Gestationsalter von weniger als 37 Schwangerschaftswochen bzw. 259 Tagen (26). Die Frühgeburtlichkeit stellt den wichtigsten Risikofaktor dar, um eine Nekrotisierende Enterokolitis (NEC) zu entwickeln, jedoch ist sie keine Voraussetzung für das Erkranken des Darms (2). Wenn reifgeborene Kinder erkranken liegt der Verdacht für eine kongenitale Erkrankung des Herz-Kreislaufsystems oder eine endokrine Störungen nahe (27). Die Unreife des Darms hat folgende Auswirkungen:

- eine verminderte Motilität und Verdauung,
- eine Störung der Regulation der intestinalen Perfusion,
- eine Unreife der intestinalen Barriere,
- eine Unreife der intestinalen unspezifischen (angeborene) Immunreaktion (1,28).

Die Summe dieser Faktoren führt zu einem erhöhten Risiko einer intestinalen Verletzung. Eine wichtige Rolle im Rahmen der Entwicklung einer NEC wird den Toll-like Receptors (TLR) zugesprochen, auf welchen in den letzten Jahren das Hauptaugenmerk im Verständnis der NEC lag. TLR sind Teil des angeborenen Immunsystems und dienen der Erkennung von pathogenen Strukturen. Der Toll-like Receptor 4 (TLR-4) reguliert die intestinale Entwicklung und sorgt für die Balance zwischen Verletzungen und Reparaturmechanismen im Gastrointestinaltrakt. Da der TLR-4 Signalweg ein Bestandteil der Entwicklung des Darms während der Schwangerschaft ist, herrscht auch noch im Intestinum eines Frühgeborenen, im Vergleich zum reifgeborenen Kind, eine signifikant erhöhte Aktivität (29). Die Aktivierung von TLR-4 durch bakterielle Endotoxine in den Enterocyten hemmt die Proliferation und erhöht die Apoptose der Enterocyten, was zu einer Verletzung der Darmschleimhaut führt und den Nährboden für die Entwicklung einer NEC darstellt (30,31).

Pharmakologische TLR-4 Inhibitoren haben im Versuch bei Mäusen mittlerweile auch schon die Entwicklung einer NEC verhindert. Ein natürlicher TLR-4 Inhibitor und lang bekannter NEC-protektiver Faktor ist Brustmilch (32).

Schlussendlich wurde auch eine Erhöhung der TLR-4 Aktivität bei Neugeborenen, welche eine NEC entwickeln, nachgewiesen, während ein Fehlen von TLR-4 vor der Entwicklung einer NEC im Mausmodell schützt (21).

Weiters gibt es Beweise, dass bestimmte genetische Varianten zu überschießender Aktivität von TLR-4 führen können, was wiederum eine erhöhte Anfälligkeit für eine NEC zur Folge hat und es somit eine genetische Prädisposition im angeborenen Immunsystem für die Entwicklung einer NEC gibt (33).

Mikrozirkulation und Perfusion

Die Frühgeburtlichkeit betrifft außerdem die vaskuläre Versorgung des Gastrointestinaltraktes, genauer gesagt die Regulierung der Mikrozirkulation des Darms, welche über intestinale Vasokonstriktoren und intestinale Vasodilatoren geregelt ist. Eine Dysregulierung dieses Systems, bestehend aus dem Vasokonstriktor Endothelin-1 (ET-1) und dem Vasodilatator Stickstoffmonoxid (*Nitric Oxid, NO*), hat eine beeinträchtigte Perfusion zur Folge, was wiederum mit der Entwicklung einer NEC in Verbindung gebracht wird. Sowohl in Tiermodellen als auch bei an NEC erkrankten Kindern ist eine Störung zu Gunsten der Vasokonstriktoren beobachtet worden, was in weiterer Folge zu einer Hypoperfusion der betroffenen Region führt (34).

Motilität und Barriere

Eine noch nicht vollständig ausgeprägte Motilität kann ebenfalls prädisponierend für eine NEC sein. Die Entwicklung der gastrointestinalen Motilität startet im Rahmen der fetalen Entwicklung im zweiten Trimenon, ist aber erst ab dem dritten Trimenon rund um die 24. bis 25. Schwangerschaftswoche ausgeprägt (35). Weiters hat der Gastrointestinaltrakt eines Frühgeborenen auch noch nicht die Fähigkeit Nährstoffe zu verdauen und aufzunehmen (36). Nicht vollständig verdaute Nahrungsbestandteile könnten zusammen mit der herabgesetzten Motilität zu intestinalen Verletzungen führen (1,37).

Die Unreife des Darms betrifft auch die Barrierefunktion der Darmschleimhaut. Wenn entweder Struktur oder biochemische Bestandteile des normalen intraluminalen Darmepithels nicht vollständig entwickelt sind, können Bakterien tiefer eindringen und Entzündungen verursachen (1). Die Barriere des Gastrointestinaltraktes besteht unter anderem aus Schleim, der das Epithel überzieht und von Becherzellen, welche im Epithel liegen, produziert wird. Die Anzahl der Becherzellen ist im unreifen Darm verringert und somit werden auch weniger Muzine, die Bestandteile des Schleims, gebildet, was in weiterer Folge zu einem geringeren mechanischen Schutz führt (21,38). Eine noch unreife Schicht aus Muzin-Schleim macht die Darmschleimhaut nicht nur gegenüber pathogenen Bakterien und toxischen Stoffen innerhalb des Lumen sensibel und verletzlich, sondern

könnte auch die Durchlässigkeit der Schleimhaut und die Wandadhärenz von Bakterien erhöhen, wodurch auch nicht-pathogene Stoffe zu Verletzungen führen können (1).

Ein weiterer wichtiger Teil der Darmschleimhaut sind die Paneth-Körnerzellen, denen ebenfalls ein Rolle in der Pathogenese der NEC zugeschrieben wird (39). Diese Drüsenzellen sind in den Lieberkühn-Krypten lokalisiert und haben eine wichtige Rolle im Dünndarm, indem sie antimikrobielle Peptide und Immunmediatoren ins Darmlumen abgeben und somit die Darmschleimhaut vor Pathogenen schützen (40). Eine Störung oder Zerstörung dieser Struktur könnte eine bakterielle Infektion begünstigen (39).

Weiters könnte eine fehlende Toleranz der Makrophagen gegenüber bakteriellen Bestandteilen innerhalb des Darmlumens die Barrierefunktion mindern und eine Schädigung der Schleimhaut begünstigen und so den unreifen Darm für die Entwicklung einer NEC prädisponieren (41).

1.1.2.3 Bakterielle Kolonisation und Mikrobiom

Die Bildung des Mikrobioms bzw. die Kolonisation des Gastrointestinaltraktes mit Bakterien beginnt während der Geburt. Neue Studien kommen jedoch zum Ergebnis, dass der Fetus unter Umständen auch schon intrauterin einem mikrobiellen Spektrum ausgesetzt sein kann (42).

Die postnatale bakterielle Kolonisation des kindlichen Darms erfolgt in zwei Wellen. Die erste Welle ist stark beeinflusst von der Art der Entbindung. Bei einer vaginalen Geburt wird das Kind von der vaginalen und der intestinalen Flora der Mutter kolonisiert. Bei Kindern, die mittels Kaiserschnitt entbunden werden, kommt es zu einer sich davon unterscheidenden Kolonisation, die eine geringere Anzahl an sonst überwiegenden *Bifidobacterien* und *Bacteroides* enthält (43). Die zweite Welle der Kolonisation hängt stark von der Art der enteralen Ernährung ab. Eine Ernährung mittels Brustmilch führt zu einem Mikrobiom, das wieder von *Bifidobacterien* und *Bacteroides* dominiert wird, während Formula-ernährte Neugeborene ein von *Streptokokken*, *Staphylokokken* und *Lactobacillen* dominiertes Mikrobiom haben (42). Bei Frühgeborenen unterscheidet sich die Kolonisation dadurch, dass die zweite Welle weniger von der Art der Ernährung beeinflusst wird und durch ein erhöhtes Vorkommen von *Clostridiaceae* und *Enterobacteriaceae* und einer niedrigen Anzahl an *Bifidobacteriaceae* und *Bacteroidetes* gekennzeichnet ist (44). Der Grad der Unreife stellt einen mitbestimmenden Faktor der Kolonisation dar (45).

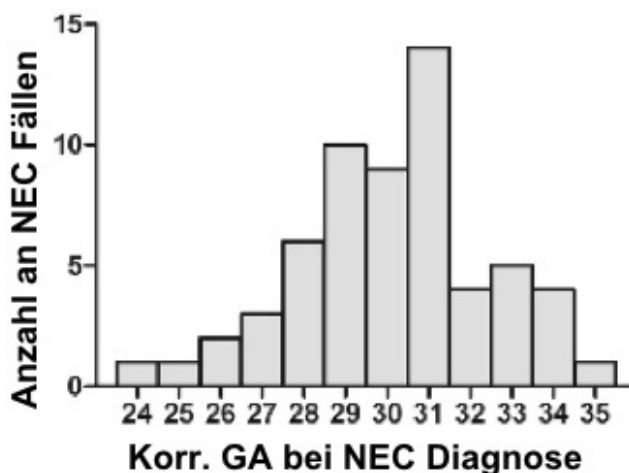
Die bakterielle Kolonisation ist eine Voraussetzung für die Entwicklung einer NEC, da die Krankheit nur nach dieser auftritt (28). Studien zeigen bisher nur eine verminderte Diversität der Darmflora von Kindern, die eine NEC entwickelten. Jedoch konnte bisher kein spezifisches Bakterium, eine pathogene Struktur innerhalb des Mikrobioms oder ein spezielles Muster der Darmflora als Auslöser identifiziert werden (8,21).

1.1.3 Krankheitsbeginn und Klinik

Ein an Nekrotisierender Enterokolitis (NEC) erkranktes Neugeborenes präsentiert sich mit allgemeinen und abdominellen Symptomen. Das Alter zum Zeitpunkt der Diagnose verhält sich invers mit dem Gestationsalter (GA) (1).

Der Beginn der Krankheit hängt weniger vom tatsächlichen postnatalen Alter ab, sondern korreliert mit dem korrigierten postnatalen Alter, basierend auf der letzten Menstruation bzw. der Konzeption. In einer retrospektiven Meta-Analyse konnte gezeigt werden, dass der Zeitpunkt der NEC-Diagnose eine Normalverteilung bildet. Abbildung 2 zeigt das Histogramm aus Pammi et. al. (7), aufgeteilt nach dem korrigierten GA mit einem Durchschnitt von 30,1 Wochen und einer Spitze bei 31 Wochen korrigiertem GA (7).

Abbildung 2: Histogramm der NEC-Fälle nach korrigiertem Gestationsalter aus Pammi et. al. (7)



Quelle: Pammi M. et. al. *Intestinal dysbiosis in preterm infants preceding necrotizing enterocolitis: A systematic review and meta-analysis. Microbiome. 2017;5(1):Seite 6.*

NEC = Nekrotisierende Enterokolitis; GA = Gestationsalter
n = 61; Durchschnitt = 30,1; Standardabweichung = 2,4

Ausgehend vom Lebenstag, an dem die NEC ausbricht, kann man noch eine frühe NEC (Early Onset NEC) mit Krankheitsausbruch vor dem 14. Lebenstag von einer späten NEC (Late Onset NEC) mit Krankheitsausbruch nach dem 14. Lebenstag unterscheiden. Die frühe NEC tritt im Mittel am siebenten Tag auf und betrifft reifere und schwerere Kinder. Wohingegen die späte NEC im Mittel 32 Tage nach Geburt auftritt und die betroffenen Kinder sowohl geringeres Gestationsalter als auch geringeres Geburtsgewicht haben (46). Daraus kann man schließen, dass Kinder mit geringem Gestationsalter länger Zeit haben bis zum Krankheitsausbruch. Noch ist unklar wieso Kinder erst ab einem gewissen postkonzeptionellen Alter an einer NEC erkranken, jedoch wird vermutet, dass eine gewisse Reife nötig ist, um an einer NEC zu erkranken (47).

Allgemeine Symptome

Die allgemeinen Symptome entsprechen einer septischen Infektion: Es kommt zu Veränderungen von Herzfrequenz, Atemfrequenz, Körpertemperatur und Blutdruck. Die Veränderung der Atmung kann sich als Tachypnoe aber auch als Dyspnoe, verursacht durch ein massiv geblähtes Abdomen, äußern. Weiters können Zeichen der Zentralisierung wie Hautblässe, marmorierte Haut und verlängerte Rekapillierungszeiten über 3 Sekunden auftreten (12). Aufgrund der Unspezifität dieser Symptome ist es initial schwer die Krankheit von einer Sepsis zu unterscheiden (1).

Abdominelle Symptome

Frühe abdominelle Symptome einer NEC können ein geblähtes und druckschmerzhaftes Abdomen mit Abwehrspannung und blutige Stühle sein. Die NEC zeigt sich unter anderem mit einer Ileus-ähnlichen Symptomatik: Erbrechen, fehlende Darmgeräusche, Stuhlverhalt und radiologisch nachgewiesene stehende Darmschlingen. Im weiteren Verlauf kann es zu einer ödematösen und geröteten Bauchdecke mit einem periumbilicalen Erythem kommen (12).

In der Vollausrprägung haben die betroffenen Kinder freie intraperitoneale Flüssigkeit (Aszites), sowie intraperitoneale Luft (Pneumoperitoneum) aufgrund einer Perforation des Darms (28).

Abbildung 3: Frühgeborenes mit gespannt geblähtem Abdomen und rötlich-livider Verfärbung der Haut am Abdomen als klinisches Warnsignal bei V.a. NEC



©Foto Martin Schreiner 2005, Kinderklinik Graz

1.1.4 Diagnostik

Für die Diagnostik der Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) werden vier Untersuchungstechniken angewandt:

- Röntgen,
- Sonographie,
- Labor,
- Nachweis bakterieller Infektionen mittels Blutkulturen (12).

Eines der wichtigsten diagnostischen Mittel ist das Abdomenröntgen. Hier können dilatierte Darmschlingen, verdickte Darmwände und Spiegelbildung frühzeitig auf eine NEC hinweisen; sind jedoch als unspezifische radiologische Befunde einzustufen. Kommt es zu Gasansammlungen innerhalb der Darmwand, die man als Pneumatosis intestinalis bezeichnet, ist eine NEC nahezu bewiesen. Des Weiteren können im Rahmen der NEC Gasansammlungen im Pfortadersystem und freie Luft im Abdomen auftreten und ebenfalls mittels Abdomenröntgen diagnostiziert werden. Die Sonographie der Leber wird

verwendet, um Gas im Pfortadersystem nachzuweisen. Bei der Sonographie des Darms können einerseits entzündlich verdickte Darmwände und eine fehlende Motilität befundet werden und andererseits mittels Farb-Doppler-Sonographie die Perfusion des Darms beurteilt werden. Pathologisch veränderte Laborparameter, wie Leukozyten, Thrombozyten, C-reaktives Protein (CRP), Interleukine oder Procalcitonin (PCT) sind für sich allein stehend wenig hinweisend für eine NEC. In Zusammenschau mit dem klinischen Bild und anderer nichtinvasiver Diagnostik sind sie ein wichtiger Bestandteil der NEC-Diagnostik. So hat ein im Verlauf ansteigendes CRP zusammen mit pathologischen Röntgenbefunden eine Spezifität von 100% (12). Neuere Studien geben außerdem einen Hinweis darauf, dass ein hohes Interleukin 8 (IL-8) ein für die Mortalität voraussagender Faktor ist (48). Nach heutigem Stand existiert kein spezifischer Biomarker für die NEC (20).

Bei Anzeichen für eine septische Infektion ist ein Erregernachweis mittels Blutkulturen angezeigt. Aufgrund vereinzelter epidemischer Fälle der NEC empfiehlt die Leitlinie der Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin den Nachweis von viralen und bakteriellen Erregern mittels Stuhlkulturen (12).

1.1.5 Klassifikation

Die Einteilung der Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) erfolgt anhand der Schwere der Krankheit nach Bell, der 1978 seine Klassifikation publizierte (49). Angewandt wird heute die modifizierte Bell-Klassifikation nach Walsh und Kliegman aus dem Jahr 1986 (50).

Die in Tabelle 1 dargestellte modifizierte Bell-Klassifikation hat insgesamt 6 Stadien, die die NEC in 3 Gruppen einteilt:

- Stadium I: Verdacht auf NEC
- Stadium II: definitive NEC
- Stadium III: fortgeschrittene NEC

Tabelle 1: Klassifizierung der nekrotisierenden Enterokolitis nach der modifizierten Bell-Klassifikation (50)

Stadium		Systemische Zeichen	Gastrointestinale Zeichen	Radiologische Zeichen
IA	Verdachtsdiagnose NEC	Temperaturinstabilität Apnoe, Bradykardie, Lethargie	Magenreste, Erbrechen, okkulte rektale Blutungen, geringgradige abdominelle Distention	Normal oder geringe Dilatation, milder Ileus
IB	Verdachtsdiagnose NEC	wie IA	blutige Stühle	wie IA
IIA	definitive NEC, leicht krank	wie IA	wie IB plus fehlende Darmgeräusche, abdominelle Spannung	Pneumatisis intestinalis, Ileus, dilatierter Darmschlingen
IIB	definitive NEC, mäßig krank	wie IIA plus milde metabolische Azidose, milde Thrombozytopenie	wie IIA plus Resistenz im Unterbauch	wie IIA plus portalvenöses Gas, ev. Aszites
IIIA	fortgeschrittene NEC, schwer krank Darm intakt	wie IIB plus Hypotension, metabolische und respiratorische Azidose, Neutropenie, Bradykardie, disseminierte intravasale Koagulopathie,	generalisierte Peritonitis, abdominelles Erythem,	wie IIB plus definitiver Aszites
IIIB	fortgeschrittene NEC, schwer krank, Darm perforiert	wie IIIA	wie IIIA	wie IIIA plus Pneumoperitoneum

1.1.6 Therapie

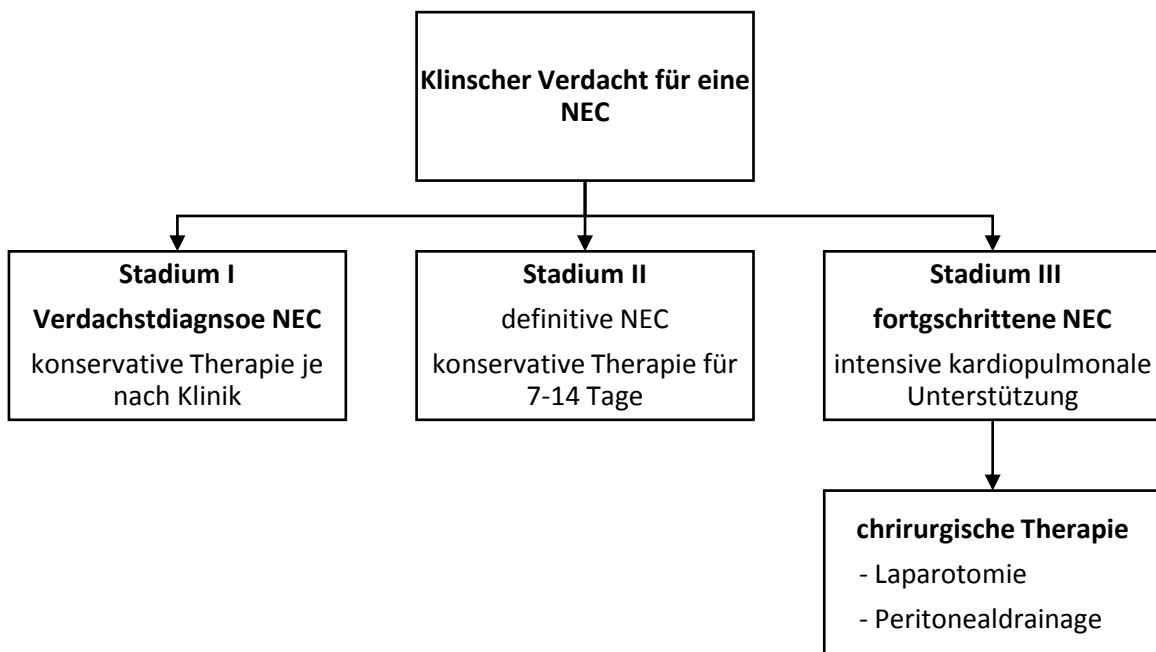
1.1.6.1 Allgemeine Überlegungen und konservative Therapie

Im folgenden Kapitel werden die Grundzüge der Therapie und des Managements der Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) erklärt. Als Grundlage hierzu dient die Leitlinie „Nekrotisierende Enterokolitis“ der Gesellschaft für Neonatologie und pädiatrische Intensivmedizin aus dem Jahr 2017 (12).

Für die NEC existiert keine spezifische Therapie. Das behandelnde Team, welches aus den Fachgebieten Neonatologie, Radiologie und Chirurgie bestehen sollte, muss den klinischen Status und Verlauf zusammen mit radiologischer und laborchemischer Diagnostik berücksichtigen, um eine NEC zu diagnostizieren und die passende Therapie zu wählen (1).

Je nach Ausprägung der Erkrankung teilt man die NEC in 3 Stadien anhand der modifizierten Bell-Klassifikation ein, siehe dazu Kapitel 1.1.5, und wählt die passenden therapeutischen Maßnahmen:

Abbildung 4: Therapie der Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) nach Stadien der Bell-Klassifikation nach Lin et al. (1)



Sobald der Verdacht für eine NEC gegeben ist, muss mit einer symptomatischen Basistherapie, bestehend aus Nahrungskarenz, einer Magenablaufsonde und einer Schmerztherapie gestartet werden. Weiters sollte eine Antibiose begonnen werden, welche auch Anaerobier einschließt (1).

Elektrolytverschiebungen, Blutzuckerschwankungen sowie eine eventuell bestehende Sepsis müssen frühestmöglich therapiert werden, um ein weiteres Voranschreiten der Krankheit zu verhindern. Die Leitlinie (12) empfiehlt die frühzeitige endotracheale Intubation, um einerseits Darmblähungen zu reduzieren und andererseits den Kreislauf zu stabilisieren. Eine engmaschige Überwachung ist nötig, um ein Fortschreiten der Erkrankung zeitnahe zu erkennen. Im Falle eines Schocks sollte eine Therapie mit Katecholaminen und Volumen erfolgen sowie eine Gabe von Erythrozytenkonzentraten zur Hebung des Hämatokritwertes auf über 30-40%, angedacht werden (12). Bei Verdacht für eine NEC (entspricht Stadium I), ist die Therapiedauer am klinischen Bild zu orientieren. Bei definitiver NEC (entspricht NEC Stadium II) sollte die Therapie für 7 bis 14 Tage fortgesetzt werden. Bei einer fortgeschrittenen NEC (entspricht Stadium III) ist eine intensive kardiopulmonale Unterstützung nötig und eine chirurgische Therapie muss in Erwägung gezogen werden (1).

1.1.6.2 Chirurgische Therapie

Für eine chirurgische Therapie gibt es eine klare Indikation, nämlich die Perforation des Darms, welche sich radiologisch als Pneumoperitoneum nachweisen lässt. Weitere relative Indikationen, unter welchen eine chirurgische Therapie zu erwägen ist, sind: dilatierte Darmschlingen, portalvenöses Gas, palpabler Bauchtumor, Bauchwanderythem und ein klinisches Fortschreiten der Erkrankung. Die Entscheidung zur chirurgischen Therapie ist eine individuelle, welche vom Krankheitsbild, dem klinischen Zustand und dem Reifegrad des Kinds abhängt (12).

Hinsichtlich der Art der chirurgischen Therapie gibt die Leitlinie (12) keine Empfehlung ab, da in den großen randomisierten Studien bisher kein Vorteil für die Laparotomie oder die Peritonealdrainage nachgewiesen werden konnte. Die primäre Laparotomie wird in ca. 2/3 aller Fälle angewandt. Bei den restlichen Kindern wird primär eine Peritonealdrainage durchgeführt, jedoch müssen hier 2/3 der Kinder anschließend trotzdem noch laparotomiert werden. Eine Laparotomie umfasst meist eine Resektion der betroffenen Darmabschnitte und die Anlage eines künstlichen Darmausgangs. Fallweise wird auch eine primäre Anastomose anstatt der Stomaanlage gewählt, jedoch gibt es im Moment noch keine

Studien, welche Vorteile für ein Stoma oder eine Anastomose aufzeigen können. Die Peritonealdrainage hat den Vorteil, dass sie direkt am Krankenbett erfolgen kann, jedoch wird der nekrotische Anteil des Darms belassen und eine spätere Laparotomie wird erschwert. Empfohlen wird sie für sehr unreife Kinder mit einem Gewicht unter 1000 Gramm, welche nicht operabel sind. In Studien konnte für die postoperative Zeit von 100-200 Tagen kein Vor-oder Nachteil einer der beiden Methoden nachgewiesen werden. Jedoch fehlen hier noch Langzeitergebnisse, da einerseits nach der Peritonealdrainage ein nekrotischer Darm verbleibt und das Kind in seiner Entwicklung beeinträchtigt sein kann und andererseits eine Laparotomie mit Resektion zum Kurzdarmsyndrom führen kann (12).

1.1.7 Prognose und Komplikationen

Wie schon in Kapitel 1.1.6 erwähnt, hängt die Dauer der Therapie, welche auch Nahrungskarenz beinhaltet, von der Symptomatik ab. Empfohlen wird die Nahrungskarenz bis zum Sistieren der Anzeichen einer bakteriellen Infektion beizubehalten. Eine zu lange Nahrungskarenz ist zu vermeiden, da dies zur Darmatrophie führen kann. Auch hier sollten Reifegrad und Ausmaß der Erkrankung für die Entscheidung berücksichtigt werden (12).

1.1.7.1 Kurzdarmsyndrom

Das Kurzdarmsyndrom (KDS) ist definiert als eine ungenügende Länge des Dünndarms, um Nährstoffe zu verdauen und zu absorbieren, was in weiterer Folge das Wachstum des Kindes negativ beeinflusst. KDS ist meist das Resultat einer Resektion großer Anteile des Dünndarms oder kann auch durch eine fehlende Anlage des Dünndarms (Atresie) bedingt sein (51). Neben Mesenterialinfarkten oder Verschlingungen des Darms (Volvulus) ist die Nekrotisierende Enterokolitis (NEC) die häufigste Ursache des KDS. 96% aller KDS sind bedingt durch die chirurgische Therapie einer NEC und umgekehrt beträgt die Inzidenz des KDS bei bestätigter NEC 8%. Beim KDS kommt es aufgrund der reduzierten Oberfläche und einer verminderten mukosalen Funktion zu einer chronischen Malabsorption. Dies hat für das betroffene Kind oftmals die Folge, dass es auf eine spezielle parenterale und enterale Ernährungsform angewiesen ist. In weiterer Folge kann es zu Wachstumsretardierung, kognitiven Defiziten und einer verzögerten geistigen Entwicklung oder zum Tod führen (52).

1.1.8 Langfristige Prognose

Von den chirurgisch therapierten Kindern, welche an einer Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) erkrankten, sogenannte chirurgische NEC, müssen 25% längerfristig parenteral ernährt werden. Bei rund 10% aller an NEC erkrankten Kinder kommt es auf Grund einer Resorptionsstörung längerfristig zu Ernährungs- und Verdauungsproblemen, welche in weiterer Folge die kindliche Entwicklung negativ beeinflussen (12).

Kinder mit einer chirurgischen NEC-Erkrankung haben ein signifikant höheres Risiko für Wachstumsstörungen und neurologische Entwicklungsstörungen im Vergleich zu nicht an NEC erkrankten Kindern. Rein konservativ therapierte NEC-Kinder, sogenannte medizinische NEC, haben kein erhöhtes Risiko. Dies wird damit erklärt, dass eine NEC, die eine chirurgische Therapie benötigt eine schwerere Ausprägung der Krankheit darstellt. Somit stellt die chirurgische NEC einen Risikofaktor für spätere Gedeihstörungen und neurologische bzw. mentale Beeinträchtigungen dar (53).

Wie schon eingangs in Kapitel 1.1.1.1 erwähnt, beträgt die Gesamtmortalität in den internationalen Studien 15-30% (1,11) und die Prognose bessert sich mit steigendem Gestationsalter und Geburtsgewicht (16).

1.1.9 Prävention und Prophylaxe

1.1.9.1 Ernährung

Da die Nekrotisierende Enterokolitis (NEC) eine lebensbedrohliche Erkrankung der Neonatalperiode mit weitreichenden Folgen und hoher Mortalität darstellt, wurde eine Vielzahl von Maßnahmen im Rahmen von Studien untersucht, jedoch gibt es nur für wenige Praktiken eine Evidenz. Evidenz in der Wirkung und Sicherheit in der Therapie gibt es nur für zwei Maßnahmen: die Fütterung mittels Brustmilch sowie der frühe Nahrungsbeginn (1).

Eine Ernährung mit Brustmilch oder, falls diese nicht verfügbar ist, mit gespendeter Brustmilch – sogenannte Spender- oder Donormilch – ist die empfohlene enterale Nahrungsform. In Studien konnte nachgewiesen werden, dass Brustmilch vor einer NEC schützt (12,54). So haben Neugeborene, welche mit Formulanahrung ernährt werden, ein sechs- bis zehnfach höheres Risiko eine NEC zu entwickeln (55). Spendermilch stammt von Müttern von reifen Kindern und wird unter Umständen nachträglich noch mit Frauenmilchverstärkern angereichert. Spendermilch reduzierte im Vergleich zu

Formulanahrung das Risiko einer NEC, jedoch führt eine Ernährung mit Formulanahrung zu einer größeren Gewichtszunahme und besserem Wachstum (54).

Somit sind auch nur geringste Mengen an Brustmilch empfohlen, um dem Kind die Bestandteile der Brustmilch, welche im Verdacht stehen die Entwicklung einer NEC zu verhindern, zukommen zu lassen. Unter anderem sollen Toll Like Receptor-4, Immunglobuline, Erythropoetin, Interleukin 10, Epidermal Growth Factor sowie platelet activating factor (PAF)-acetylhydrolase als Bestandteile von Brustmilch diesen Effekt haben (56).

Da Brustmilch neben der Vielzahl an immunaktiven Substanzen auch mit verschiedenen Bakterien wie der koagulase-negativen *Staphylococcus*-, *Klebsiella*-, *Enterobacter*- und *Serratia* spezieis oder *Escherichia coli* und dem *Zytomegalovirus* kontaminiert sein kann, wird vor allem gespendete Brustmilch pasteurisiert. Ob dies negative oder positive Folgen auf die Entwicklung einer NEC hat ist zur Zeit noch unklar (57).

Neben der Ernährung mit Brustmilch hat sich der frühe enterale Nahrungsbeginn etabliert. Weder eine lange parenterale Ernährung noch eine langsame Steigerung der enteralen Ernährung senken das Risiko für eine NEC. Daher wird ein enteraler Nahrungsbeginn in den ersten Lebenstagen empfohlen und die Menge kann pro Tag um 30-35ml/kg gesteigert werden (12).

1.1.9.2 Probiotika

„Probiotika sind lebende Mikroorganismen, die bei Verabreichung in ausreichender Menge dem Wirt einen gesundheitlichen Nutzen verschaffen“¹. Probiotika sind somit keine Medikamente, sondern Nahrungsergänzungsmittel, die mehrere positive Effekte auf den Gastrointestinaltrakt haben:

- Veränderungen der intestinalen Permeabilität,
- verstärkte Schleimhaut-IgA-Reaktion,
- erhöhte Produktion von entzündungshemmenden Zytokinen und
- Schutz der Schleimhaut gegen Besiedlung mit Krankheitserregern (58).

¹ Reid G, Jass J, Sebulsky MT, McCormick JK. Potential Uses of Probiotics in Clinical Practice. Clin Microbiol Rev. 2003.

Eine Metaanalyse von Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht unter 1500 Gramm zeigt bei Probiotikagabe eine 30% Reduktion der Inzidenz einer Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) und keine signifikanten Nebenwirkungen (59).

Jedoch herrschen hier Unterschiede zwischen den einzelnen verfügbaren Probiotika nicht nur hinsichtlich der Evidenz, sondern auch für Dosis und Dauer. Anhand der aktuellen Studienlage haben Kombinationspräparate im Vergleich zu Monopräparaten eher einen prophylaktischen Wert. Hier wird vor allem die Kombination von *Lactobacillus acidophilus* und *Bifidusbacterium infantis* als am aussichtsreichsten gesehen. Die aktuelle Leitlinie gibt im Moment keine uneingeschränkte Empfehlung für ein probiotisches Präparat ab. „Allerdings sind Probiotika in Bezug auf die Prävention einer NEK neben der Gabe von Mutter- bzw. Frauenmilch derzeit die einzige evidenz-basierte Option“². Prinzipiell sind hier weitere Studien in Zukunft nötig, jedoch ist immer auch zu beachten, dass es sich hierbei um Nahrungsergänzungsmittel handelt, für welche nicht die gleichen Sicherheitsstandards wie für Medikamente gelten (12).

1.1.9.3 Antibiotika

Da die initiale Klinik einer Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) einer Sepsis ähnelt und es sich um ein entzündliches Geschehen mit oftmaliger bakterieller Kolonisation des Darms handelt, wurde bereits vor 40 Jahren die NEC-Prävention mit Antibiotika untersucht. So fand man 1976 in einer Studie eine verminderte NEC-Inzidenz bei einer Prophylaxe mit oralem Kanamycin, einem Aminoglykosid Antibiotikum (60). Dieses Ergebnis wurde mit verschiedenen Antibiotika, wie Gentamicin, ebenfalls ein Aminoglykosid oder Vancomycin, einem Glykopeptid Antibiotikum, entweder bestätigt oder wiederlegt (56), bis eine Metaanalyse der *Cochrane Collaboration* zur Antibiotikaphylaxe der NEC aus dem Jahr 2001 eine signifikante Reduktion der NEC und der NEC-assoziierten Todesfälle endgültig bestätigen konnte. Jedoch fand sich auch eine Erhöhung der Inzidenz von resistenten Bakterienstämmen (61). Deshalb wird eine generelle antibiotische Prophylaxe nicht empfohlen (12).

² Genzel-Boroviczeny O, Jenke A, Mihatsch W, Schmittenebecher Peter. Nekrotisierende Enterokolitis AWMF-Leitlinie 024-009 S2k. 2017.

1.1.9.4 Sonstige Maßnahmen

Indomethacin

Der persistierende Ductus Arteriosus (PDA) tritt auf, wenn sich der Ductus Arteriosus, ein arterielles Gefäß zwischen Aorta und Truncus Pulmonalis, nach der Geburt nicht schließt. Dies ist bei rund 30% der Kinder mit einem Geburtsgewicht unter 1500 Gramm der Fall und ist mit erhöhter Morbidität und Mortalität vergesellschaftet. Da der PDA zu einer intestinalen Hypoperfusion führen kann, ist er außerdem ein Risikofaktor für die Nekrotisierende Enterokolitis (NEC) (25).

Um den PDA zu schließen, wird Neugeborenen innerhalb der ersten 24 Stunden Indomethacin, ein nichtsteroidales Antirheumatikum, verabreicht, was außerdem noch das Risiko für eine intraventrikuläre Hämorrhagie (IVH) reduziert. Die Indomethacin Gabe hat aber keinen Einfluss auf das Risiko eine NEC zu entwickeln (25,62)

Präpartale Kortikosteroide

Bei einer drohenden Frühgeburt werden der Mutter präpartale Kortikosteroide zur fetalen Lungenreifung verabreicht. Dies hat nicht nur den Effekt einer Prophylaxe für das „Infant Respiratory Distress Syndrom“, sondern senkt auch das Risiko für eine NEC (63).

1.1.9.5 Das Grazer Modell

Die neonatologische Intensivstation der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde (neonatal intensiv care unit = NICU) entwickelte ein Protokoll für die Prophylaxe der Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) für Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht unter 1500 Gramm. Dies umfasst einerseits orale antibiotische und orale antimykotische Therapie, als auch eine enterale Fütterungsstrategie, die unter anderem Probiotika beinhaltet. Tabelle 2 zeigt die die NEC-Prophylaxe der NICU Graz (58).

Tabelle 2: NEC-Prophylaxe an der NICU Graz (58)

Art der Prophylaxe	verwendetes Mittel	Dosis
Probiotikum	Lactobacillus rhamnosus	1 x 10 ⁹ CFU/d, p.o. in zwei Dosen
Antibiotikum	Gentamicin	7 mg/kg, alle 12 Stunden p.o.
Antimykotikum	Nystatin	10.000 IU/kg, alle 6 Stunden p.o.
Ernährung	Brustmilch	1 ml/kg, alle 3 Stunden mit einer Steigerung von 1 ml/kg pro Tag

NICU= neonatal intensiv care unit; CFU = colony forming units; d = day, p.o. = per os ; IU = international units; ml = milliliter; kg = kilogramme; mg = milligramme

Sofern verfügbar, wird die Brustmilch der Mutter oder ersatzweise Spendermilch verwendet bis das Kind vollständig enteral ernährt werden kann, was am vierzehnten Lebenstag erreicht werden soll. Weiters wird die Brustmilch pasteurisiert bis das Kind ein Gestationsalter von 32 Wochen oder ein Körpergewicht von 1500 Gramm erreicht hat. Die 2006 publizierte retrospektive Studie zeigte unter 405 Neugeborenen (Geburtsgewicht < 1500 Gramm) eine Inzidenz einer NEC von 0,7% (58).

1.2 Enterobakterien

Die Familie der Enterobakterien (*Enterobacteriaceae*) umfasst eine Vielzahl an gramnegativen Stäbchen, wovon einige Gattungen wie zum Beispiel *Klebsiella* sp. oder *Escherichia coli* zur physiologischen Darmflora gehören und nur fakultativ pathogen sind. Das heißt, sie werden nur bei bestimmter Prädisposition von PatientInnen, wie zum Beispiel einer Immunschwäche, in einem sonst physiologischen Milieu zum Krankheitserreger. Auch bei einer Verschleppung in andere Körperregionen, wie dem Urogenitalsystem oder dem Respirationstrakt werden diese fakultativ pathogenen Bakterien zu Krankheitserregern und lösen spezielle Krankheitsbilder wie Harnwegsinfektion, Sepsis oder Meningitis aus. Von den fakultativ pathogenen Enterobakterien sind die obligat pathogenen Enterobakterien, wie *Salmonella*, *Shigella*, und *Yersinia* zu unterscheiden, die bei einer Besiedelung des Darms bakterielle Enteritiden auslösen können (64).

1.3 Resistenzen

Zur Therapie von bakteriellen Infektionskrankheiten werden Antibiotika verwendet, die entweder den Erreger abtöten oder an der Vermehrung hindern. 1928 begann das Zeitalter der antibiotischen Therapie mit der Entdeckung von Penicillin durch Alexander Flemming. Im Lauf der letzten 90 Jahre wurden verschiedenste antibiotisch wirksame Substanzen entdeckt und weiterentwickelt. Jedoch stieß man im Laufe der Zeit auf das Problem der Resistenzen (64).

„Ein Bakterienstamm ist resistent gegen ein Antibiotikum, wenn seine minimale Hemmkonzentration so hoch ist, dass auch bei Verwendung der zugelassenen Höchstdosierung ein therapeutischer Erfolg nicht zu erwarten ist.“³

Man unterscheidet natürliche, sogenannte primäre Resistenzen und erworbene, sogenannte sekundäre Resistenzen. Als primäre Resistenz bezeichnet man die Tatsache, dass ein Bakterium aufgrund des Fehlens der Zielstruktur des Antibiotikums oder anderen strukturellen Eigenschaften generell unempfindlich für ein Antibiotikum ist. Bei sekundären Resistenzen handelt es sich hingegen um die evolutionären Vorgänge der Mutation und Selektion. Mutierte Bakterienstämme, welche gegen ein Antibiotikum resistent sind, werden durch den Einsatz des Antibiotikums selektioniert. Sekundäre

³ Suerbaum S, et al. Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie . 8. Auflage. 2016. S 713.

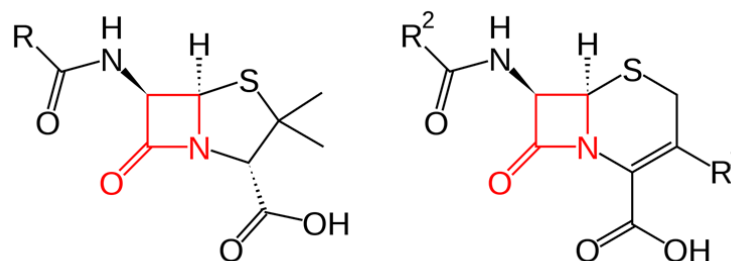
Resistenzen können einerseits durch spontane Mutation oder durch die Übertragung von DNA entstehen. Man unterscheidet verschiedene Mechanismen:

- Inaktivierende Enzyme: Das Bakterium bildet Enzyme, die das Antibiotikum wirkungslos machen, z.B. Beta-Laktamasen.
- Veränderte Zielmoleküle: Eine Veränderung der Zielstruktur am Bakterium führt dazu, dass das Antibiotikum sich nicht an jenes Molekül binden kann und somit wirkungslos bleibt.
- Veränderte Permeabilität der Zellhülle: Durch eine Änderung der Permeabilität der äußeren Membran des Bakteriums kann das Antibiotikum diese nicht mehr passieren und gelangt somit nicht an sein Zielmolekül innerhalb der Zelle
- Verstärkte Ausschleusung aus der Zelle: Hier wird ein eingedrungenes Antibiotikum durch spezielle Pumpen sehr rasch aus der Zelle eliminiert.
- Überproduktion des Zielmoleküls: Durch eine übermäßige Exprimierung des Zielmoleküls reicht die Konzentration des Antibiotikums nicht mehr für eine therapeutische Wirksamkeit aus (64).

1.4 Beta-Laktamasen und Beta-Laktamantibiotika

Beta-Laktamasen sind Enzyme, die von Bakterien gebildet werden, und den Beta-Laktamring, eine Struktur, die Beta-Laktamantibiotika gemein haben, spaltet und diese somit wirkungslos macht. Zu den Beta-Laktamantibiotika zählt man unter anderem die Penicilline und Cephalosporine. Weitere Beta-Laktamantibiotika sind Monobactame und Carbapeneme. Abbildung 5 zeigt die Strukturformel der Penicilline und der Cephalosporine (65).

Abbildung 5: Strukturformel der Penicilline (links) und der Cephalosporine (rechts). Der Beta-Laktamring ist rot eingefärbt (66).



Quelle: Wikipedia. Beta Laktam AB [zitiert 5. Oktober 2018].
Verfügbar unter: <https://de.wikipedia.org/wiki/B-Lactam-Antibiotik>

Die bakterizide Wirkung der Beta-Laktamantibiotika basiert auf der Hemmung der Zellwandsynthese von proliferierenden Bakterien. Sie unterscheiden sich untereinander in ihrer Stabilität gegenüber Beta-Laktamasen; so weisen Penicillin-Derivate die geringste Stabilität gegenüber beta-laktamasebildenden Bakterien auf. Cephalosporine der dritten und vierten Generation hingegen sind schon gegen viele Beta-Laktamasen eine gute Therapieoption. (67)

Tabelle 3: Stabilität der Beta-Laktam Antibiotika aus Hof et. al (67)

Beta-Laktamantibiotika	Betalaktamasestabilität
Penicilline	gering
Cephalosporine 1. und 2. Generation	mäßig
Cephalosporine 3. und 4. Generation	gut
Carbapeneme und Monobactame	sehr gut (aber nicht absolut)

Man unterscheidet 340 verschiedene Gruppen bzw. Klassen von Beta-Laktamasen. Je nachdem welche Antibiotikaklasse gespaltet werden kann, ist es möglich folgende Unterteilung vorzunehmen:

- Penicillinasen,
- Cephalosporinasen,
- Extended Spektrum Beta-Laktamasen,
- Metallo-Beta-Laktamasen,
- Carbapenemasen (67).

Namensgebend wird durch Pencillinasen der Beta-Laktam-Ring von Penicillin und seinen Derivaten gespaltet oder durch Cephalosporinasen, Cephalosporine inaktiviert. Extended Spektrum Beta-Laktamasen (ESBL) können nicht nur Penicilline und Cephalosporine der ersten und zweiten Genration spalten, sondern auch Cephalosporine der dritten Generation. Carbapeneme werden hingegen nur von Carbapenemasen gespaltet, welche zum großen Teil auch alle Beta-Laktam-Antibiotika spalten können (67).

Art des Antibiotikums	Substanz	Anwendung	Spektrum	ESBL-wirksam	Kommentar
Benzylpenicilline	Penicillin G	i.v.	schmal	Nein	
Phenoxypenicilline	Penicillin V	p.o.	schmal	Nein	
Isoxazolylpenicilline	Oxacillin	i.v.	schmal	Nein	
	Flucloxacillin	i.v.	schmal	Nein	penicillinastabil
	Cloxacillin	i.v.	schmal	Nein	
Aminopenicilline	Ampicillin	i.v.	breit	Nein	Kombination mit Betalaktamaseinhibitoren
	Amoxicillin	i.v.	breit	Nein	
Acylamino-penicilline	Piperacillin	i.v.	breit	Nein	
	Mezlocillin	i.v.	breit	Nein	
Cephalosporine Gruppe 1	Cefazolin	p.o.	schmal	Nein	
	Cefaclor	p.o.	schmal	Nein	
	Cefalexin	p.o.	schmal	Nein	
	Cefadroxil	p.o.	schmal	Nein	
Cephalosporine Gruppe 2	Cefuroxim	p.o. / i.v.	breit	Nein	
Cephalosporine Gruppe 3	Cefexim	p.o.	breit	Nein	
	Cefpodoxim	p.o.	breit	Nein	
	Ceftibuten	p.o.	breit	Nein	
Cephalosporine Gruppe 3a	Cefotaxim	i.v.	breit	Nein	
	Ceftriaxon	i.v.	breit	Nein	
Cephalosporine Gruppe 3b	Ceftazidim	i.v.	breit	Nein	
Gruppe 4	Cefepim	i.v.	breit	Ja	
Cephalosporine Gruppe 5	Ceftobiprol	i.v.	Reserve	Ja	
	Ceftarolin	i.v.	Reserve	Ja	
Carbapeneme	Imipenem	i.v.	Reserve	Ja	Breitestes Wirkungsspektrum
	Meropenem	i.v.	Reserve	Ja	
	Ertapenem	i.v.	breit	Ja	
Monobactame	Aztreonam	i.v.	lokal	Ja	

Tabelle 4: Auflistung der Beta-Laktamantibiotika (65)

i.v. = intravenös; p.o.= per os, Kein Anspruch auf Vollständigkeit.

Tabelle 4 zeigt eine nicht vollständige Liste der vier Gruppen von Beta-Laktamantibiotika. Neben der Substanz und der jeweiligen Art von Antibiotikum ist noch die Art der Anwendung – intravenös (i.v.) oder per os (p.o.) – und das Spektrum vermerkt. Man unterscheidet zwischen Schmalspektrum- und Breitspektrumantibiotika sowie Reserveantibiotika. Schmalspektrumantibiotika sind nur gegen einige wenige Erreger wirksam und werden nur dann eingesetzt, wenn Erreger und Empfindlichkeit mikrobiologisch nachgewiesen worden sind. Breitspektrumantibiotika hingegen sind gegen eine Vielzahl von Erregern wirksam und kommen bei (noch) unbekanntem Erregern zum Einsatz. Reserveantibiotika sind eine Gruppe gegen welche wenige Resistenzen bekannt sind und die im Falle von lebensbedrohlichen Infekten für die Therapie verwendet werden können (64).

Ebenfalls Beta-Laktame, aber ohne antibiotische Wirkung, sind Clavulansäurederivate, welche als Beta-Laktamaseinhibitoren bezeichnet werden. Sie haben die Eigenschaft einige Beta-Laktamasen zu hemmen und können somit das Wirkspektrum einiger Beta-Laktamantibiotika, die sonst durch Beta-Laktamasen gespaltet werden, erweitern. Daher sind Beta-Laktamaseinhibitoren bereits in Kombination mit beta-laktamaseinstabilen Penicillinen als Präparat verfügbar. Die drei wichtigsten Vertreter sind:

- Clavulansäure (Kombination mit Amoxycillin),
- Sulbactam (Kombination mit Ampicillin),
- Tazobactam (Kombination mit Piperacillin) (65).

Clavulansäure ist gering antibiotisch wirksam und nur Sulbactam gibt es als Monopräparat zur Kombination mit beta-laktamaseinstabilen Antibiotika (65).

1.4.1 Klassifikation von Resistenzen

Aufgrund der weltweit zunehmenden Verbreitung von Resistenzen gegenüber antibiotischen Substanzen als auch durch die zunehmende Erforschung der zugrundeliegenden Resistenzmechanismen und der resistenzvermittelnden Enzyme gab es in den letzten Jahren in der Mikrobiologie neue Definitionen und Bezeichnungen. Der Begriff „Extended Spektrum Beta Laktamase“ (ESBL) bezeichnet einen

Resistenzmechanismus, der auf der Bildung von Enzymen basiert, jedoch fallen unter diesen Begriff nicht alle Resistenzmechanismen gegenüber Beta-Laktamantibiotika (68). 2011 wurden vom *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) und dem amerikanischen *Centre for Disease Control and Prevention* (CDC) verschiedene Begriffe für Mehrfachresistenzen festgelegt. Als *multidrug-resistant* (MDR) wurden Bakterien definiert, die für zumindest einen Wirkstoff in drei oder mehr Antibiotikagruppen nicht empfindlich sind. Von MDR spricht man daher, wenn ein Bakterium gegenüber mindestens einem Wirkstoff aus mindestens drei von vier Antibiotikagruppen resistent ist. Eine Resistenz vom Typ *extensively drug-resistant* (XDR) erfordert die Unempfindlichkeit für zumindest einen Wirkstoff in allen bis auf zwei oder weniger Antibiotikagruppen, sodass nur mehr ein bis zwei Kategorien vollständig wirksam bleiben. Und die *pandrug-resistance* (PDR) wurde als das Nichtansprechen auf alle Antibiotikagruppen bestimmt. Folglich wird ein als XDR kategorisiertes Bakterium immer auch als MDR bezeichnet und eine PDR-Resistenz umschließt immer auch eine XDR-Resistenz (69).

Da in der vorhin erwähnten Definition von ECDC und CDC alle Antibiotikaklassen als gleichwertig betrachtet werden und keine Differenzierung zwischen Resistenzen gegenüber Standardantibiotika wie Penicillinen und Resistenzen gegen Reserveantibiotika getroffen wird, hat die Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI), Berlin, Deutschland im Rahmen ihrer Empfehlung im Umgang mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen eine eigene Klassifizierung entwickelt. Bei der 2012 publizierten Klassifikation war die klinische Relevanz der Resistenzen, welche man mit dem Verlust von zwei oder mehr Antibiotikagruppen definierte, im Vordergrund. Betrachtet wurden jene antibiotischen Substanzen, die bei schweren Infektionen als primäre Therapie angewandt werden: Acylaminopenicilline, Cephalosporine der dritten und vierten Generation, Carbapeneme und Fluorchinolone. Um Verwechslungen zu vermeiden wurden außerdem neue Bezeichnungen vorgeschlagen:

- 3MRGN: multiresistente gramnegative Stäbchen mit Resistenz gegen 3 der 4 Antibiotikagruppen,
- 4MRGN: multiresistente gramnegative Stäbchen mit Resistenz gegen 4 der 4 Antibiotikagruppen (68).

4MRGN schließt außerdem die Panresistenz oder PDR ein. Tabelle 5 zeigt die Definitionen für 3MRGN und 4MRGN mit Angabe der Antibiotikagruppen und jeweiligen Leitsubstanzen. Der Sinn in der MRGN-Klassifikation besteht darin mit einem einfachen

Algorithmus die Ausprägungen von Mehrfachresistenzen in zwei Grade einzuteilen und dies für krankenhaushygienischen Zwecke nutzbar zu machen (68).

Tabelle 5: Klassifizierung multiresistenter Enterobakterien nach Empfehlung der KRINKO (68)

Antibiotikagruppe	Leitsubstanz	3MRGN	4MRGN
Acylaminopenicilline	Piperacillin	R	R
3./4.Generation Cephalosporine	Cefotaxim und/oder Ceftazidim	R	R
Carbapeneme	Imipenem und/oder Meropenem	S	R
Fluorochinolone	Ciprofloxacin	R	R

R = resistent oder intermediär empfindlich; S = sensibel
KRINKO = Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention

1.4.2 Epidemiologie

Zur Überwachung der aktuellen Resistenzlage von Bakterien gibt es einerseits nationale Berichte als auch internationale Netzwerke. In Österreich wird der sog. AURES-Resistenzbericht vom Bundesministerium für Gesundheit und Frauen einmal jährlich publiziert und beinhaltet unter anderem einen Überblick über die Resistenzen gegenüber antibiotischen Wirkstoffen und auch über den Verbrauch antimikrobieller Substanzen in Österreich. Auf europäischer Ebene existiert das europäische antimikrobielle Resistenz Überwachungsnetzwerk *EARS-Net (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network)*, welches vom europäischen *European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)* gegründet wurde (70). Zum Resistenzbericht von EARS-Net aus dem Jahr 2016 trugen alle aktuellen 28 EU-Staaten sowie Island und Norwegen bei. Neben dem jährlichen Bericht betreibt *EARS-Net* eine Onlinedatenbank⁴, mit welcher die Resistenzen gegen unterschiedliche antibiotische Substanzen in einzelnen Ländern und vor allem auch geografische Unterschiede sowie Entwicklung von Resistenzen über die letzten Jahre dargestellt werden können (71).

Um einen Überblick über Entwicklung der Resistenzlage in den letzten Jahren zu schaffen, werden folgend die Auswertungen des *EARS-Net* Berichts aus dem Jahr 2005 mit den im September 2018 aktuellsten, verfügbaren Daten aus dem Jahr 2016 verglichen. Es lassen

⁴ <https://atlas.ecdc.europa.eu/>

sich prinzipiell zwei Entwicklungen in diesem Zeitraum beobachten: Einerseits nahmen Resistenzen zu, aber andererseits sind große regionale Unterschiede zu vermerken. Generell sind Resistenzen in Süd- und Südosteuropa häufiger anzutreffen als in Nordeuropa (72).

1.4.2.1 *Escherichia coli*

Die folgenden beiden Abbildungen geben einen Überblick über die Resistenzlage von *Escherichia coli* (*E. coli*) gegenüber Cephalosporinen der dritten Generation, was im Allgemeinen einer ESBL-Bildung gleichzusetzen ist. So traten diese Resistenzen 2005 gehäuft nur in Osteuropa, wie in Bulgarien und Mazedonien auf. Innerhalb von 11 Jahren kam es zu einer Verbreitung von *E. coli* Stämmen mit dieser Resistenz über ganz Europa, sodass in fast allen Ländern mindestens 5% der untersuchten *E. coli* Isolate resistent gegen Cephalosporine der dritten Generation waren. In Mazedonien, Zypern, Italien und der Slowakei zeigten über 25% der untersuchten Isolate eine Resistenz. (72,73).

Abbildung 6: Darstellung der Resistenzen von *Escherichia coli* gegen Cephalosporine der dritten Generation im Jahr 2005 (73)

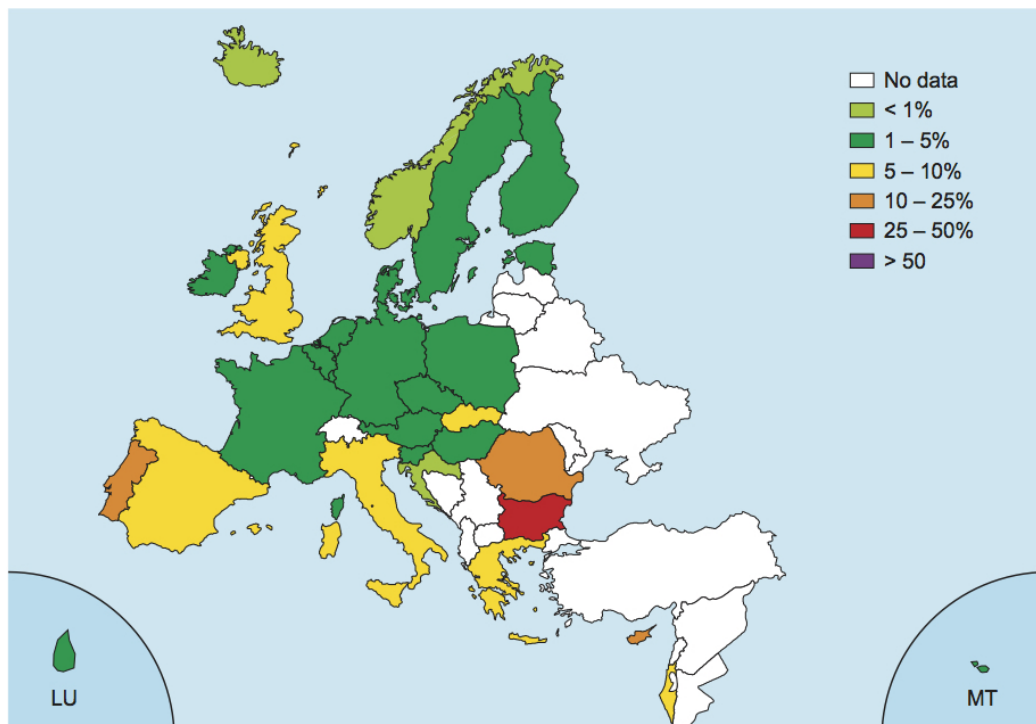
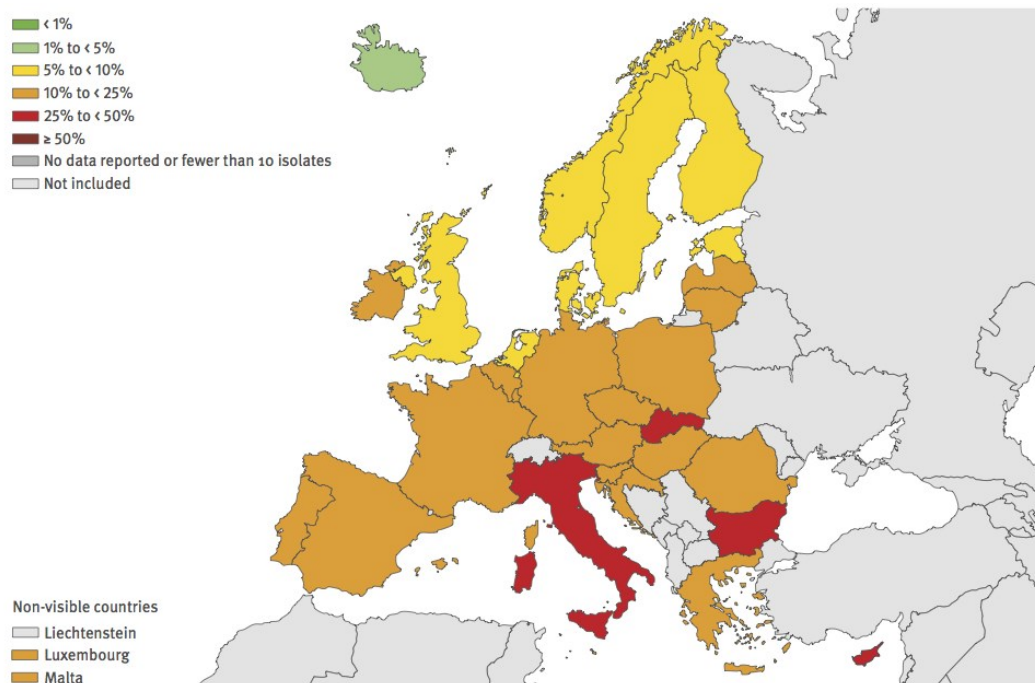


Abbildung 7: Darstellung der Resistenzen von *Escherichia coli* gegen Cephalosporine der dritten Generation im Jahr 2016 (72)



Das *EARS-Net* Netzwerk berichtet von einem signifikanten Zusammenhang des nationalen Resistenzlevels von *E. coli* Isolaten gegenüber Cephalosporine der dritten und vierten Generation mit dem nationalen Verbrauch dieser antimikrobieller Substanzen (74). Gegenüber Carbapenemen, welche als Reserveantibiotikum gegen multiresistente gramnegative Bakterien verwendet werden, sind auch im Jahr 2016 in allen 30 Ländern weniger als 1% der untersuchten *E. coli* Isolate resistent (71).

1.4.2.2 *Klebsiella pneumoniae*

Betrachtet man *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), so gab es schon 2005 in weiten Teilen Europas Isolate, welche gegenüber Cephalosporinen der dritten Generation resistent waren, dargestellt in Abbildung 8. Im weiteren Verlauf zeigt Abbildung 9, dass sich die Lage bis 2016 vor allem in Süd- und Osteuropa verschlechtert hat. Bis zum Jahr 2016 haben sich auch immer mehr Staaten dem Netzwerk von EARS angeschlossen, sodass noch mehr Informationen zur Ausbreitung von Resistenzen dargestellt werden konnten. In Österreich konnte von 2005 weg ein leichter Rückgang an *K. pneumoniae* Isolaten, die resistent gegen Cephalosporine der dritten Generation waren, gefunden werden. Für das Jahr 2016 werden etwas unter 10% resistente Isolate ausgewiesen (72,73).

Abbildung 8: Darstellung der Resistenzen von *Klebsiella pneumoniae* gegen Cephalosporine der dritten Generation im Jahr 2005 (73)

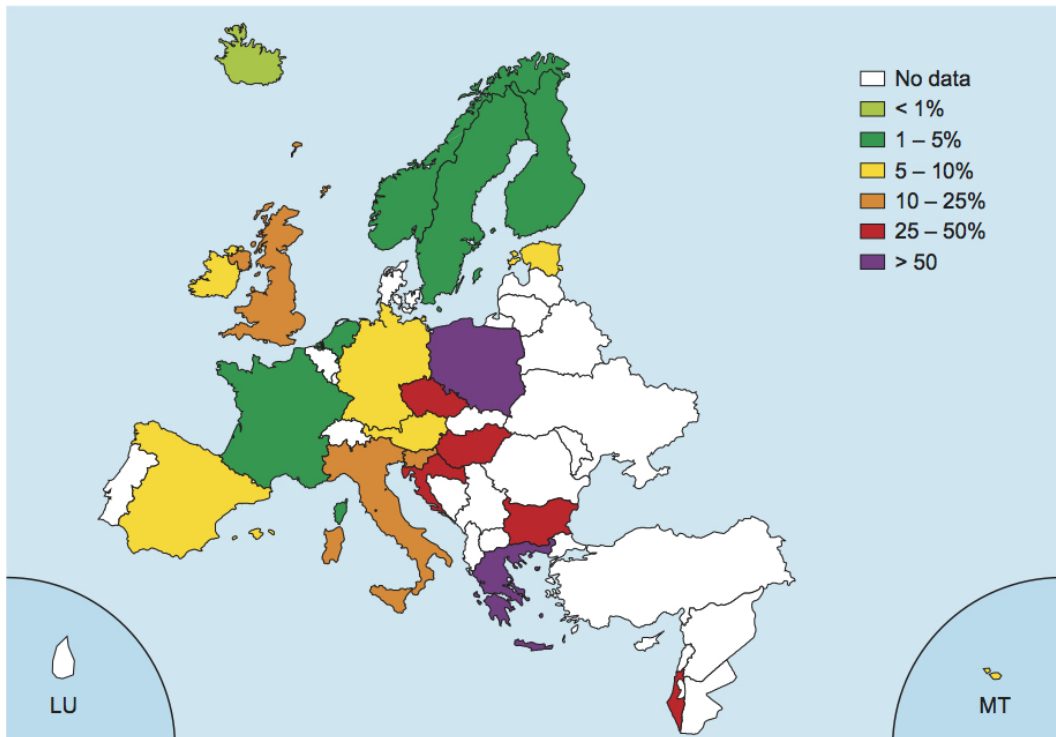
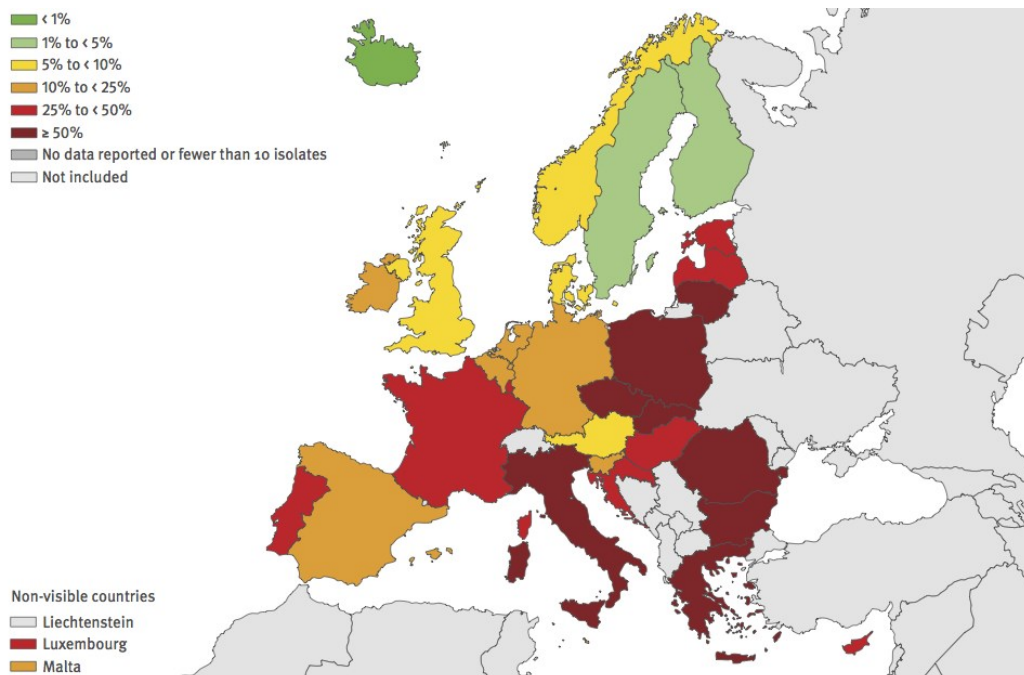


Abbildung 9: Darstellung der Resistenzen von *Klebsiella pneumoniae* gegen Cephalosporine der dritten Generation im Jahr 2016 (72)



Gegenüber den Carbapenemen resistente *K. pneumoniae* Isolate wurden im Jahr 2005 aus nur zwei Ländern berichtet: Deutschland und Griechenland (siehe Abbildung 10). Zweiteres sticht mit einer Rate von 28% an resistenten Isolaten hervor. Betrachtet man Abbildung 11 im Vergleich, ist zu sehen, dass sich der Anteil an Carbapenem-Resistenzen in vereinzelt Ländern wie Griechenland, Italien, Rumänien und Portugal wesentlich erhöhte. Dies ist dahingehend besorgniserregend, da Carbapeneme ein Reserveantibiotikum für Infektionen mit multiresistenten gramnegativen Bakterien sind.

Abbildung 10: Darstellung der Resistenzen von *Klebsiella pneumoniae* gegen Carbapeneme im Jahr 2005 (73)

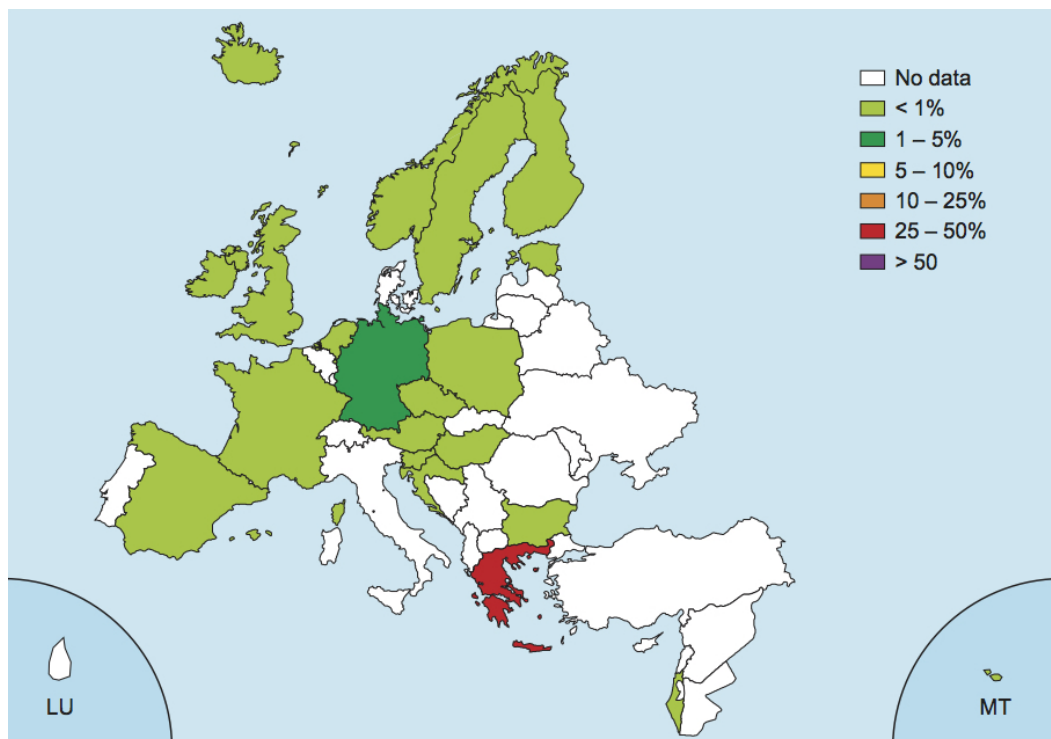
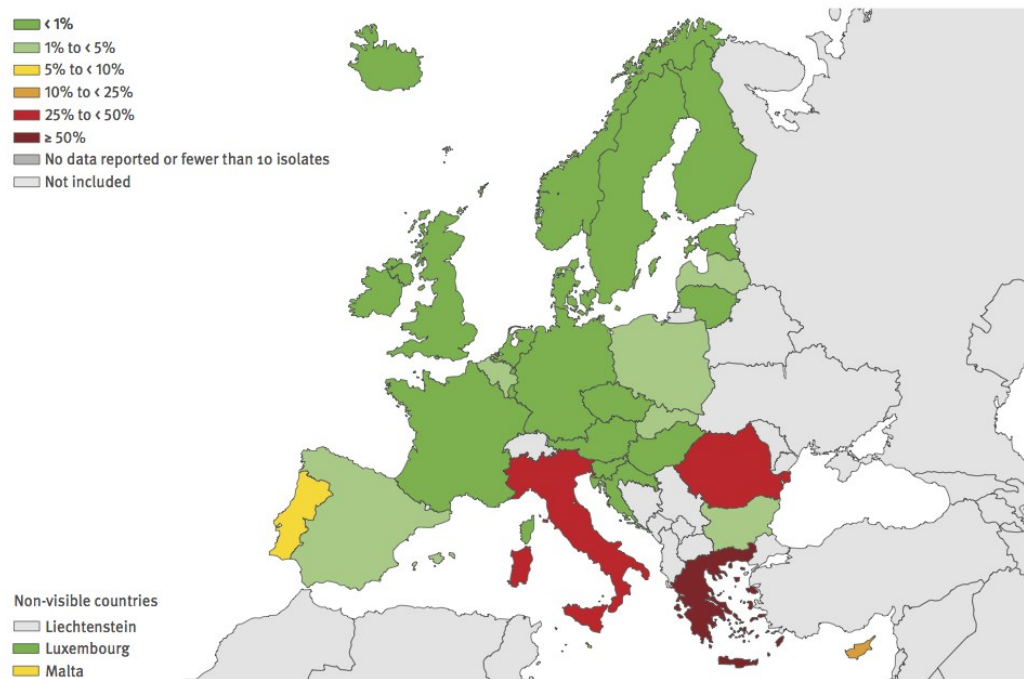


Abbildung 11: Darstellung der Resistenzen von *Klebsiella pneumoniae* gegen Carbapeneme im Jahr 2016 (72)



Das *EARS-Net* Netzwerk beschreibt auch für *K. pneumoniae*, dass eine Korrelation zwischen der verbrauchten Menge an antibiotischen Substanzen und Resistenzen gegenüber den verwendeten antibiotischen Gruppen besteht: Je höher der nationale Konsum an Antibiotika ist, desto mehr nehmen Resistenzen gegen antibiotische Gruppen wie Carbapeneme zu (74).

1.4.3 Management

1.4.3.1 Prävention

Die Kinder einer neonatologischen Intensivstation (*Neonatal Intensive Care Unit*, NICU) und hier vor allem Frühgeborene sind einer Vielzahl an exogenen Risikofaktoren für nosokomiale Infektionen, wie intravaskuläre Katheter, maschinelle Beatmung und unter Umständen auch unzureichender Hygiene ausgesetzt. Hinzu kommt als prädisponierender Faktor noch die geschwächte Immunabwehr. Aus diesem Grund hat die Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) im Jahr 2007 eine Empfehlung für eine Vielzahl an Maßnahmen zur „Prävention nosokomialer Infektionen bei neonatologischen IntensivpflegepatientInnen mit einem Geburtsgewicht unter 1500 g“ publiziert (75).

Im Folgenden wird auf einen Teil der Empfehlungen eingegangen. Das Fundament zur Infektionsprävention stellen quasi die übergeordneten Aspekte wie personelle Ressourcen, bauliche Voraussetzungen und grundlegende Aspekte der Hygiene dar. Es ist wissenschaftlich nachgewiesen, dass eine Überbelegung mit Neugeborenen bzw. eine Unterbesetzung in Bezug auf das pflegerische oder ärztliche Personal mit einem erhöhten Risiko für nosokomiale Infektionen einhergeht (76). Weiters wird darauf hingewiesen, dass eine NICU über eine angemessene bauliche Größe verfügen sollte. Um einerseits ausreichend Bewegungsfreiheit garantieren und andererseits einen Isolierzimmer-Anteil von 10-30% zur Verfügung stellen zu können. Das Wasser muss den Standards der Trinkwasserkommission entsprechen oder zuvor sterilisiert worden sein. Die Luftauslässe der Inkubatoren haben über HEPA-Filter (*High Efficiency Particulate Air filter*) zu verfügen, um die Verbreitung von aerogenen nosokomialen Transmissionen zu vermeiden. Das strikte Einhalten der Händehygiene gemäß den Empfehlungen der KRINKO vom gesamten Behandlungsteam sowie allen anderen Kontaktpersonen, wie Angehörigen und Besuchern ist ebenfalls essentiell (77). Potentiell infektiöse Besucher mit Zeichen einer Infektion oder Infektionskrankheiten in Inkubation stellen ein besonderes Risiko für die PatientInnen der NICU dar und können auch von einem Besuch ausgeschlossen werden. Es ist empfohlen für jedes Frühgeborene ein eigenes patientInnenbezogenes Stethoskop zur Verfügung zu stellen, um eine weitere Übertragungsmöglichkeit von Krankheitserregern auszuschließen. Dasselbe gilt auch für alle benötigten Pflegutensilien und Pflegemittel, welche ebenfalls nur patientInnenbezogen zu verwenden sind. Schutzkittel sind laut KRINKO nur bei der Pflege von Frühgeborenen außerhalb des Inkubators erforderlich und sollten nur patientInnenbezogen getragen werden. Das bakteriologische Untersuchen der Muttermilch wird nur bei Neugeborenen mit gastrointestinalen Infektionen oder einer Nekrotisierenden Enterokolitis empfohlen. Wie sonst auch gilt es vor jeder invasiven Maßnahme, wie der Durchtrennung der Haut zur Blutabnahme, ein Hautantiseptikum zu verwenden. Von der KRINKO wird die Verwendung von Octenidin 0,1% ohne Phenoxyethanol sowohl für die Haut- als auch für die Schleimhautdesinfektion empfohlen (75).

Neben diesen Basismaßnahmen gibt es noch eine Vielzahl an Empfehlungen für Infektionen unterschiedlichsten Ursprungs, wie beatmungsassoziierte Pneumonie oder Infektionen durch invasive Zugänge wie arterielle oder venöse Gefäßkatheter oder auch zur Prävention und Kontrolle ausgewählter Krankheitserreger (75).

1.4.3.2 Prophylaxe der Nekrotisierenden Enterokolitis

Neben den allgemein gültigen Empfehlungen zur Infektionsprävention der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO), gibt es in der 2007 publizierten Empfehlung auch ein eigenes Kapitel zur Prävention der Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) (75).

Von einer NEC-Prophylaxe in Form einer oralen antibiotischen Therapie wird hier abgeraten (vergleiche Kapitel 1.1.9.3), da dies den Selektionsdruck für resistente Bakterien erhöht und außerdem nosokomiale Candida-Infektionen fördert. Erst bei einem mikrobiologischen Nachweis eines potenziell pathogenen Bakteriums innerhalb des Gastrointestinaltraktes sollte, passend zum Antibiogramm, therapiert werden. Wenn an einer Abteilung zwei NEC Fälle innerhalb von dreißig Tagen auftreten bezeichnet man dies als „Cluster“. Ungefähr 50% der NEC-Fälle innerhalb des deutschsprachigen neonatologischen Krankenhaus-Infektions-Surveillance-Systems (NEO-KISS), dem 2017 123 Abteilungen angehörten, traten in „Clustern“ auf (78). Hier wird ein Ausbruchmanagement in Form von Kohortierung, Isolierung aller symptomatischen Kinder und intensiver mikrobiologischer Diagnostik zur Identifikation eines Erregers empfohlen. Neben diesen Akutmaßnahmen ist eine enge Zusammenarbeit der neonatologischen Abteilung mit der lokalen Abteilung für Mikrobiologie essentiell. So sollte ein stufenartiges Vorgehen der antibiotischen Therapie, welches vor allem den Einsatz von Reserveantibiotika wie Glycopeptiden und Carbapenemen regelt, erstellt werden. Dieser antibiotische Therapieplan sollte weiters zusammen mit dem abteilungsspezifischen Resistenzprofil jährlich analysiert und gegebenenfalls angepasst werden (75).

Ob eine Rotation der abteilungsinternen Antibiotikaleitlinie, in Form eines regelmäßigen Wechsels der verwendeten antibiotischen Substanzen, sogenanntes „Cycling“ zur Minderung des Anteils resistenter Stämme führt, ist noch nicht eindeutig geklärt. Es gibt mehrere Studien deren Daten ein *antibiotic cycling* vorschlagen (79,80), jedoch hat zuletzt eine randomisierte Studie mit acht europäischen Intensivstationen keine Reduktion von antibiotikaresistenten gramnegativen Bakterien nachweisen können (81).

1.4.3.3 Screening

Als *Screening* bezeichnet man das regelmäßige Abnehmen von mikrobiologischen Kulturen von Haut, Schleimhaut, Stuhl oder Harn, auch wenn keine Anzeichen einer Infektion existieren, um etwaige Infektionen bzw. Kolonisation frühzeitig zu erkennen und somit entsprechende Maßnahmen setzen zu können. Von der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) wird in einer Mitteilung aus dem Jahr 2013 ein wöchentliches *Screenen* von allen PatientInnen, die auf einer neonatologischen Intensivstation behandelt werden, empfohlen. Bei Anzeichen einer Infektion, Verdacht auf nosokomiale Infektionen oder dem Neuzugang von PatientInnen soll das Intervall verkürzt werden bzw. ist ein gesondertes *Screenen* nötig. Beim *Screenen* auf multiresistente gramnegative Bakterien wird ein Abstrich vom Anus und/oder Rachen auf standardisierten Selektivmedien aufgebracht und von einem geeigneten mikrobiologischen Labor ausgewertet. Zum Nachweis von anderen Erregern mit besonders hoher Pathogenität und einem großen Risiko für nosokomiale Infektionen, wie zum Beispiel der *Enterobacter spezies*, ist die Verwendung von nichtselektiven Nährmedien erforderlich. Es ist eine gute Zusammenarbeit vom behandelnden Ärzteteam und den Mitarbeitern des Labor essentiell, um ein koordiniertes *Screenen* sowie im Falle von positiven Befunden eine schnelle Befundübermittlung zu garantieren.(82)

1.5 Fragestellung

Die Nekrotisierende Enterokolitis (NEC) ist ein lebensbedrohendes Krankheitsbild bei Neugeborenen. Neben der Frühgeburtlichkeit werden auch nosokomiale Infektionen als Risikofaktor in der Literatur genannt. Die Besiedelung der Neugeborenen mit multiresistenten ESBL-Keimen stellt seit Jahren ein Problem auf neonatalen Intensivstationen dar. Anhand dieser retrospektiven Studie soll ermittelt werden, ob eine Korrelation zwischen einer enteralen ESBL-Keimbesiedelung und der Entstehung einer NEC besteht.

Hypothese

Eine ESBL-Keimbesiedelung stellt einen Risikofaktor für eine NEC dar.

Hauptzielgröße

Diagnose einer NEC, definiert nach den modifizierten Bell Kriterien \geq IIa.

Nebenzielgröße

Epidemiologie der ESBL-Keime über den Studienzeitraum hinsichtlich jahreszeitlicher Schwankungen.

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign

In dieser retrospektiven Fall-Kontrollstudie werden alle Frühgeborenen bis zu einem Gestationsalter von 32 Wochen, welche an der Neonatologischen Intensivstation der Klinischen Abteilung für Neonatologie der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz zwischen 2005 bis 2016 stationär waren und eine enterale ESBL-Keimbesiedelung vorweisen, eingeschlossen.

Die Kontroll-Neugeborenen werden gemäß nachfolgenden Kriterien *gematcht* und dürfen mit keinem ESBL-Keim besiedelt sein:

- Geburtsjahr,
- Gestationsalter +/-1 Woche,
- Geburtsgewicht +/-100 Gramm,
- Geschlecht.

Das *Matchen* erfolgte händisch mit der Karteikartendatenbank der Klinischen Abteilung für Neonatologie der Universitätsklinik für Kinder und Jugendheilkunde. Als Einschlusskriterien für die Studie dienten ein Gestationsalter bis 32 (+ 6) Schwangerschaftswochen (SSW) sowie ein Aufenthalt auf der neonatologischen Intensivstation spätestens ab der ersten Lebenswoche.

Ausschlusskriterien waren angeborene Fehlbildungen, genetische Erkrankungen und unklare Dismorphiesyndrome, Tod innerhalb der ersten Lebenswoche sowie sekundäre Aufenthalte auf der neonatologischen Intensivstation.

2.2 Recruiting und Datenerhebung

Die Erhebung der Daten der ESBL-positiven Kinder erfolgte durch das Medical Data Management der Medizinischen Universität Graz (MUG) und mit der Datenbank des D&F Instituts für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin der MUG.

Neben der ESBL-Besiedelung und NEC wurden demographische oder perinatale Daten und Komorbiditäten, sowohl in der Fallgruppe als auch in der Kontrollgruppe erhoben. Die Daten wurden anhand des openMedocs[©] des LKH-Universitätsklinikums Graz erhoben. Die Identifikation der PatientInnen erfolgt anhand von Geburtsdatum, Initialen sowie der

innerklinischen PatientInnennummer. Weiters wurde jedem Kind in der Fall- als auch in der Kontrollgruppe eine Laufnummer zugeordnet.

Die erhobenen Variablen können aus Tabelle 6 entnommen werden.

Tabelle 6: erhobene perinatale Daten und Komorbiditäten

Variable	Erklärung	Skalenniveau
Initialen		
PatientInnennummer	Innerklinische Nummer	
Geburtsdatum		
Geschlecht	Männlich/weiblich	Nominal
Exitus	Ja/nein	Nominal
Gestationsalter	in Wochen	Rational
Geburtsgewicht	in Gramm	Rational
Small for Gestational Age (SGA)	Ja/nein	Nominal
Kaiserschnitt (CS)	Ja/nein	Nominal
Mehrlingsschwangerschaft	Ja/nein	Nominal
mütterliches Alter	Alter bei Entbindung	Rational
APGAR	Werte in Lebensminute 1,5 & 10	Ordinal
Nabelschnurarterien-pH Wert (NAPh)		Rational
NEC	Ja/nein	Nominal
Early Onset Sepsis (EOS)	Ja/nein	Nominal
Late Onset Sepsis (LOS)	Ja/nein	Nominal
Infant Respiratory Distress Syndrome (IRDS)	Ja/nein	Nominal
Intraventrikuläre Hämorrhagie (IVH)	Ja/nein	Nominal
Grad der IVH	Skala 1-4	Ordinal
Periventrikuläre Echodensitäten (PVE)	Ja/nein	Nominal
Periventrikuläre Leukenzephalomalazie	Ja/nein	Nominal
Bronchopulmonale Dysplasie (BPD)	Ja/nein	Nominal
Retinopathia praematurorum (ROP)	Ja/nein	Nominal
Spontane intestinale Perforation (SIP)	Ja/nein	Nominal
Mekoniumtransportstörung (= Ileus)	Ja/nein	Nominal

SGA= Small for Gestational Age; NAPh= Nabelschnurarterien-pH Wert

EOS = Early Onset Sepsis, LOS = Late Onset Sepsis; IRDS = Infant Respiratory Distress Syndrome; IVH = Intraventrikuläre Hämorrhagie; PVE = Periventrikuläre Echodensitäten; PVL = Periventrikuläre Leukenzephalomalazie; BPD = Bronchopulmonale Dysplasie; ROP = Retinopathia praematurorum; SIP = Spontane intestinale Perforation

Die in Tabelle 6 angeführten Variablen dienen dazu, um weitere Zusammenhänge und Unterschiede zwischen der ESBL-positiven Fallgruppe und der ESBL-negativen Kontrollgruppe, als auch zwischen den NEC- und Nicht-NEC Fällen zu finden.

Das Gestationsalter (GA) wurde in vollendeten Wochen erhoben. Das heißt, Kinder mit einem GA von 31+6 Wochen wurden mit 31 Wochen gewertet. Die Variable *Small for Gestational Age* (SGA) bezeichnet Neugeborene mit einem GG < 10 Perzentile (83). Mit den Variablen APGAR 1, 5 bzw. 10 wurde der in der ersten, fünften und zehnten Lebensminute gemessene APGAR Wert erhoben (84).

Eine NEC wurde nach den Bell-Kriterien \geq IIa definiert. Siehe dazu Kapitel 1.1.3 (12).

Als *Early Onset Sepsis* (EOS) ist eine Sepsis des Frühgeborenen, welche sich innerhalb der ersten 72 Lebensstunden manifestiert, definiert. Nach 72 Stunden bzw. 3 Tagen bezeichnet man dies als *Late Onset Sepsis* (LOS). Die Diagnose ist eine Kombination aus klinischer Präsentation, Blutbild mit Leukozytenzahl und unspezifischen Markern wie C-reaktivem Protein, Procalcitonin und Interleukin 6 (85).

Die Graduierung bzw. Klassifikation der Intraventrikulären Hämorrhagie (IVH) erfolgt in den Graden I bis IV (86).

Während dem Studienzeitraum erhielten alle Frühgeborenen, die abteilungsinterne NEC-Prophylaxe bestehend aus einem Probiotikum (*Lactobacillus casei rhamnosus*), einer antibiotischen Therapie mit Gentamycin und Nystatin als Antimykotikum (58).

Die Stuhlüberwachungskulturen wurden zweimal pro für ESBL produzierende Enterobakterien und multiresistenten gramnegativen Bakterien durchgeführt. Für die ESBL-positive Fallgruppe wurden außerdem die Gattung und Anzahl der ESBL-positiven Keime, der Monat des erstmaligen Auftretens und ob das Kind als ESBL-Ausscheider entlassen wurde (Persistierende Kolonisation) erhoben. Siehe dazu Tabelle 7.

Tabelle 7: erhobene Daten zu den ESBL-Nachweisen

Variable	Erklärung	Skalenniveau
ESBL-Keim(e)		Nominal
Anzahl	ESBL-positive Keime	Rational
Monat	(erstmaliges Auftreten) 1-12	Ordinal
Persistierende Kolonisation	Ja/nein	Nominal

2.3 Statistische Auswertung

Alle oben genannten Daten sind mit Hilfe von Microsoft Excel 2017 gesammelt worden und in weiterer Folge wurde die statistische Auswertung in den Programmen „Microsoft Excel 2017“ und „IBM SPSS Statistics 22“ durchgeführt.

Für numerische Daten wurde nach Überprüfung der Normalitätsannahme, mittels Kolmogorov-Smirnov-Test, der t-Test und der Wilcoxon-Test durchgeführt. Für kategoriale Daten wurde unter Verwendung von Yates-Korrektur und des Exakt-Tests nach Fisher der Chi-Quadrat-Test angewandt. Für alle statistischen Tests galt ein Signifikanz Level von 0,05.

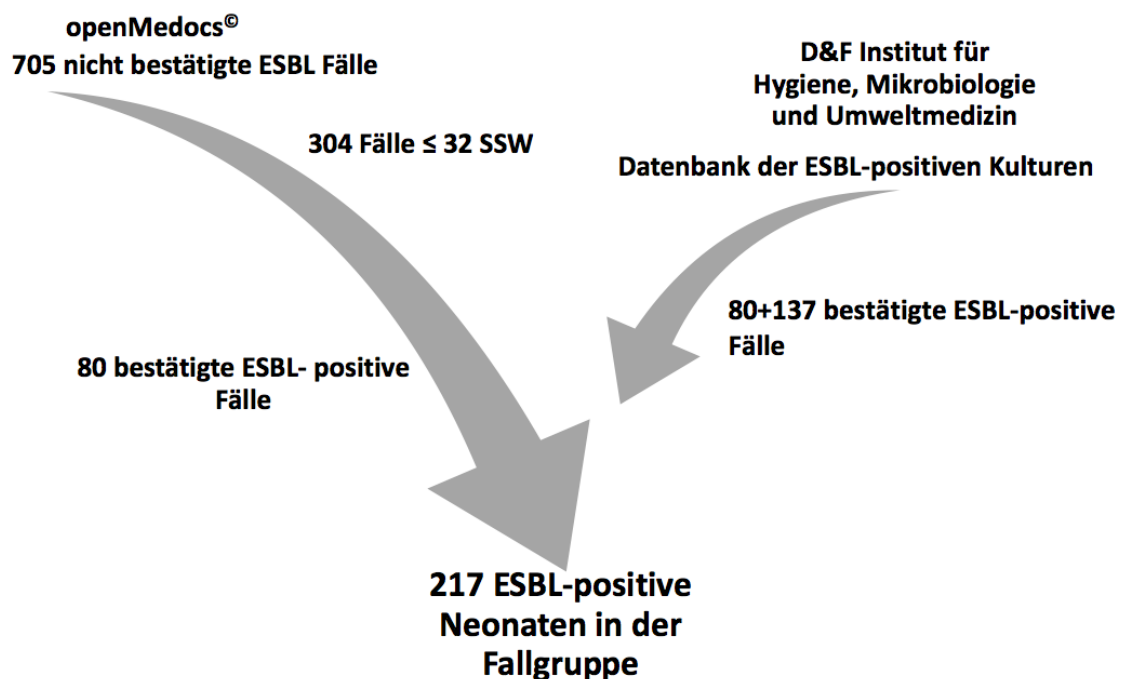
3 Ergebnisse

3.1 Studienpopulation

3.1.1 Fallgruppe

Im untersuchten Studienzeitraum von 2005 bis 2016 konnten insgesamt 217 Kinder mit einem positiven ESBL-Stuhlbefund gefunden und in die Studie eingeschlossen werden. Siehe dazu Abbildung 12.

Abbildung 12: Verlauf der Datenerhebung der Fallgruppe



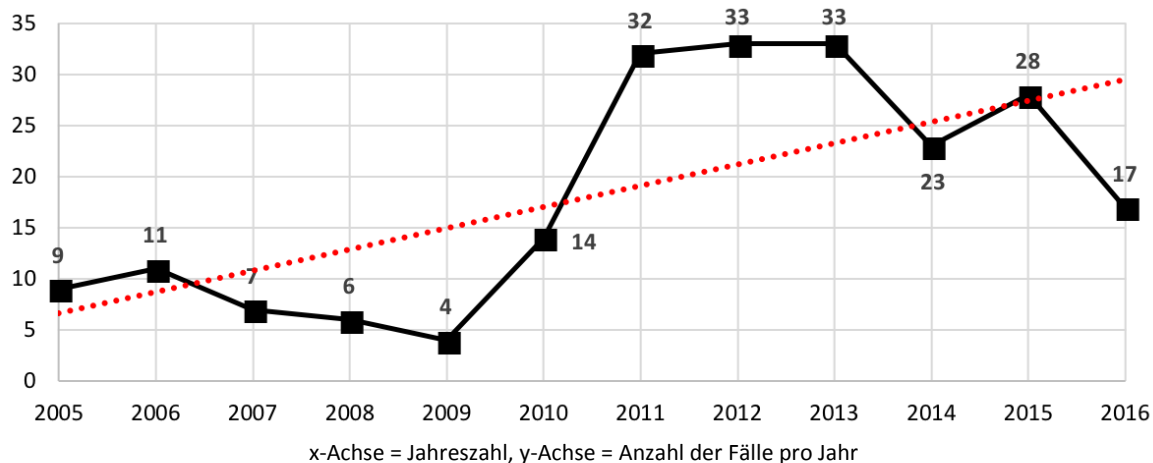
SSW = Schwangerschaftswochen; ESBL = Extended Spectrum Beta Lactamase;

Die Suche des Medical Data Managements (MDM) im MEDOCS-Systems des LKH-Universitätsklinikums Graz ergab zunächst 705 ESBL-positive Kinder innerhalb des Studienzeitraums, wobei nur 304 Fälle ein Gestationsalter kleiner 32 (+ 6) Schwangerschaftswochen (SSW) aufwiesen. Weiters stellte sich nach Durchsicht dieser 304 Fälle heraus, dass bei einem Großteil nur der Vermerk „kein Hinweis auf eine ESBL-Infektion“ innerhalb des Arztbriefes zu einem Aufscheinen innerhalb der MDM-Liste

fürte. Nach Beachtung der Ein- und Ausschlusskriterien blieben 80 ESBL-positive Fälle über. Abschließend wurde die Datenbank des D&F Instituts für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin miteinbezogen und es konnten noch 137 weitere ESBL-positive Fälle gefunden werden, was zu 217 Neonaten in der Fallgruppe führte.

Abbildung 13 zeigt den zeitlichen Verlauf der ESBL-Fälle pro Jahr von 2005 bis 2016. In den ersten Studienjahren 2005 bis 2009 lag die Anzahl zwischen vier und elf Fällen. Ab 2010 kam es zu einem erheblichen Anstieg mit einem Maximum von jeweils 33 Fällen in den Jahren 2012 und 2013. Zuletzt konnte wieder ein Absinken auf 17 ESBL-Fälle im Jahr 2016 beobachtet werden. In Rot ist die von Microsoft Excel berechnete lineare Trendlinie zu sehen, welche verdeutlicht, dass das Jahr 2016 unter dem Trend der letzten Jahre liegt.

Abbildung 13: Zeitlicher Verlauf und Anzahl der ESBL-Keimbesiedelten Kinder über den Studienzeitraum 2005 bis 2016



Um auszuschließen, dass der oben beschriebene Trend nicht durch ein erhöhtes PatientInnenaufkommen bedingt ist, wurde die Belegung der neonatologischen Intensivstation Graz (NICU) erhoben. Alle Kinder mit einem maximalen Gestationsalter von 32 Schwangerschaftswochen (SSW) sind in Tabelle 8 den 217 erhobenen ESBL-Keimbesiedelten Kinder der Fallgruppe, welche ebenfalls ein maximales Gestationsalter von 32 SSW hat, gegenübergestellt.

Tabelle 8: ESBL-Keimbesiedelten Kinder und Gesamtbelegung ≤ 32 SSW der neonatologischen Intensivstation Graz über den Studienzeitraum 2005 bis 2016

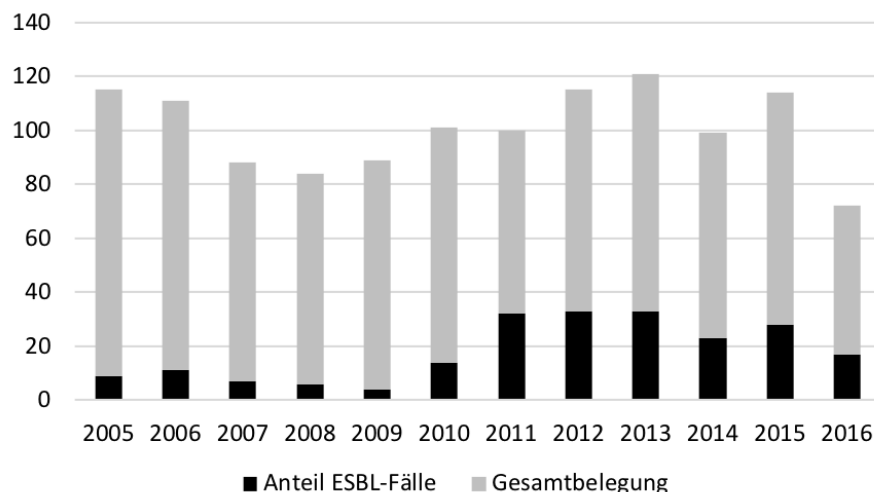
Jahr	ESBL-Fälle	Gesamt-Belegung	Anteil an ESBL Fällen in Prozent
2005	9	115	7,83
2006	11	111	9,91
2007	7	88	7,95
2008	6	84	7,14
2009	4	89	4,49
2010	14	101	13,86
2011	32	100	32,00
2012	33	115	28,70
2013	33	121	27,27
2014	23	99	23,23
2015	28	114	24,56
2016	17	72	23,61

Daten gegeben als Summe

SSW = Schwangerschaftswochen; ESBL = Extended Spectrum Beta Lactamase;

Abbildung 14 zeigt den Anteil an ESBL-keimbesiedelten Kindern an allen Kindern mit einem Gestationsalter von unter 32 SSW. Es ist ersichtlich, dass der oben beschriebene Anstieg an ESBL-Fällen an der NICU Graz nicht eindeutig mit dem erhöhten PatientInnenaufkommen erklärbar ist. Zwar weisen Jahre mit unterdurchschnittlicher Belegung, wie dies in den Jahren 2007, 2008 oder 2016 der Fall ist, einen geringeren Anteil an ESBL-Fällen auf, jedoch ist auch hier ein Trend hinsichtlich eines vermehrten Auftretens von ESBL- Fällen ab dem Jahr 2010, bei konstant hoher Belegung der NICU, zu erkennen.

Abbildung 14: Anteil an ESBL-Keimbesiedelten Kinder an der Gesamtbelegung (≤ 32 SSW) der neonatologischen Intensivstation Graz über den Studienzeitraum 2005 bis 2016



3.1.2 Kontrollgruppe

Wie in Kapitel 2.1 Studiendesign erläutert, wurden alle 217 ESBL-keimbesiedelten Neugeborenen der Fallgruppe anhand der Matchingkriterien *gematcht*. 111 (51,15%) Kinder konnten ohne Differenz im Gestationsalter (GA) *gematcht* werden, bei weiteren 78 (35,94%) Kindern konnte mit einer Differenz von einer Woche im GA *gematcht* werden. Somit konnte bei insgesamt 189 von 217 Kindern (87,1%) das Matchingkriterium Gestationsalter +/-1 Woche eingehalten werden. Bei 24 (11,06%) bzw. vier (1,84%) Kindern war es nicht möglich dieses Kriterium einzuhalten und es musste mit einer Differenz von zwei bzw. drei Wochen Gestationsalter *gematcht* werden. Siehe dazu Tabelle 9.

Tabelle 9: Differenz im Gestationsalter der gematchten Kinder

Differenz*	Anzahl (%)
0	111 (51,15)
1	78 (35,94)
2	24 (11,06)
3	4 (1,84)

*Gestationsalter in Wochen

Bei 174 Kindern (80,18%) konnte das Matchingkriterium von maximal 100 Gramm (g) Differenz beim Geburtsgewicht eingehalten werden. Bei weiteren 43 Kindern (19,81%) beläuft sich die Differenz auf maximal 200 g und vier (1,84%) Kinder wurden mit einer Differenz von über 200 g im Geburtsgewicht *gematcht*. Das Geschlecht konnte ohne Ausnahme immer ident *gematcht* werden. In neun Fällen stammt das *gematchte* Kind aus einem anderen Geburtsjahr. Dies kam vor allem in den Jahren 2011, 2012 und 2013 aufgrund der Häufung der ESBL-Fälle in diesen Jahren vor.

Im weiteren Verlauf wurde das Geburtsgewicht von Fall- und Kontrollgruppe sowohl im Median als auch im Durchschnitt ermittelt und verglichen. Eine möglichst geringe Differenz im Geburtsgewicht, welche auch ein Risikofaktor für die NEC ist, kann als Qualitätskriterium des *Matchings* betrachtet werden. Das Geburtsgewicht der Fallgruppe ist im Durchschnitt mit 1202 g um 47 g höher als das der Kontrollgruppe (1155 g). Im Vergleich der Medianwerte liegt die Kontrollgruppe mit 1100g um 14 g über dem Wert der

Fallgruppe (1086 g). Der Unterschied der Durchschnittswerte ist mit einem p-Wert von 0,237 nicht signifikant.

3.2 Vergleich von Fall-und Kontrollgruppe

3.2.1 Vergleich der perinatalen Daten

Wie in Kapitel 2.2 erwähnt, wurden neben der Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) noch einige weitere perinatale Parameter erhoben, um die ESBL-positive Fall- und die ESBL-negative Kontrollgruppe zu vergleichen. Tabelle 10 zeigt alle erhobenen Parameter der beiden Gruppen. Zur Erklärung der erhobene Parameter siehe Kapitel 2.2.

Tabelle 10: Perinatale Daten der mit ESBL-Keimen besiedelten Fallgruppe und der nichtbesiedelten Kontrollgruppe

	Fallgruppe	Kontrollgruppe	p-Wert
Exitus*	5 (2,3)	7 (3,2)	0,274
Gestationsalter	28 ± 2,7	28 ± 2,7	0,401
Geburtsgewicht	1202 ± 863	1155 ± 412	0,237
SGA	37 (17,1)	29 (13,4)	0,138
Mehrlingsschwangerschaft	85 (39,2)	47 (21,7)	<0,001
mütterliches Alter	30,4 ± 6,1	29,67 ± 6,0	0,127
Kaiserschnitt	186 (85,7)	183 (84,3)	0,396
APGAR 1	6,5 ± 1,9	6,6 ± 2,0	0,222
APGAR 5	8,2 ± 1,2	8,2 ± 1,3	0,485
APGAR 10	8,8 ± 0,9	8,8 ± 1,0	0,276
NApH	7,29 ± 0,09	7,25 ± 0,52	0,149

SGA= Small for Gestational Age; NApH= Nabelschnurarterien-pH Wert

*Tod nach dem siebenten Lebenstag

Daten angegeben als Summe (%) oder Mittelwert (± Standardabweichung)

In Anbetracht der Größe der beiden Gruppen - 217 Neugeborenen - verstarben in beiden Gruppen nur wenige Kinder nach der ersten Lebenswoche. Es verstarben mit sieben Kindern in der Kontrollgruppe sogar mehr nicht mit ESBL-Keimen kolonisierte Kinder als ESBL-positive Kinder (p= 0,274; nicht signifikant). In Gestationsalter und Geburtsgewicht ergaben sich keine Unterschiede.

Mit 85 von 217 Kindern (39%) gab es in der Fallgruppe mehr Kinder, die aus einer Mehrlingsschwangerschaft stammen als in der Kontrollgruppe mit 47 von 217 Kindern

(21,65%, p-Wert < 0,001). In Bezug auf den Geburtsmodus unterscheiden sich die beiden Gruppen nicht.

Abbildung 15 und Abbildung 16 zeigen die vorhin erwähnten Parameter in einem Balkendiagramm und verdeutlichen nochmals, dass es sich weitgehend um eine gut gematchte Studienpopulation hinsichtlich dieser Parameter handelt.

Abbildung 15: Perinatale Daten der mit ESBL-Keimen besiedelten Fallgruppe und der nichtbesiedelten Kontrollgruppe

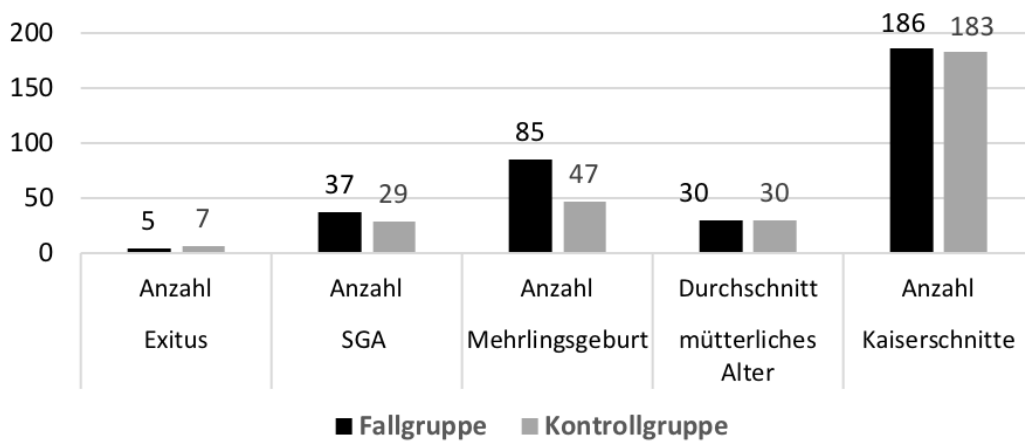
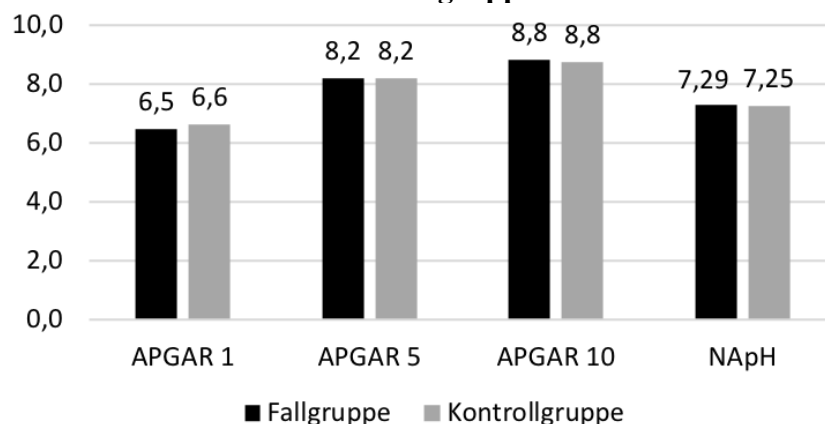


Abbildung 16: Vergleich der APGAR Werte und des Nabelschnurarterien-pH Wertes der mit ESBL-Keimen besiedelten Fallgruppe und der nichtbesiedelten Kontrollgruppe



Daten angegeben als Mittelwert

3.2.2 Vergleich der Komorbiditäten

Tabelle 11 zeigt die Komorbiditäten von Fall- und Kontrollgruppe im Vergleich sowie den ermittelten p-Wert. Während in der Fallgruppe 21 von 217 Kindern (9,68%) an einer Early Onset Sepsis (EOS) erkrankten, war dies in der Kontrollgruppe bei 34 von 217 (15,67%) der Fall. Dieses Ergebnis ist mit einem p-Wert von 0,03 statistisch signifikant. Ansonsten fanden sich bezüglich der Komorbiditäten keine Unterschiede (siehe Tabelle 11).

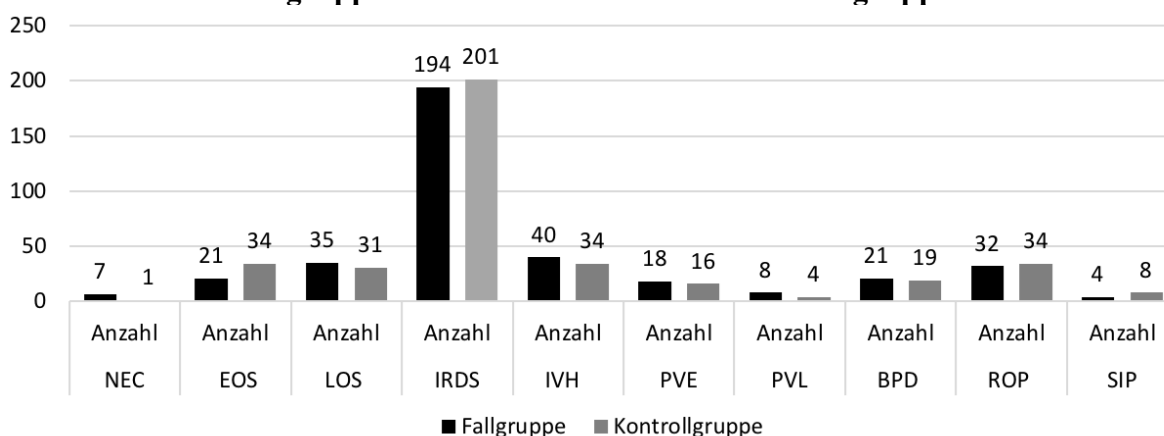
Tabelle 11: Komorbiditäten der mit ESBL-Keimen besiedelten Fallgruppe und der nichtbesiedelten Kontrollgruppe

	Fallgruppe	Kontrollgruppe	p-Wert
EOS	21 (9,7)	34 (16)	0,030
LOS	35 (16)	31 (14)	0,290
IRDS	194 (89)	201 (93)	0,121
IVH	40 (18)	34 (16)	0,222
PVE	18 (8,3)	16 (7,4)	0,366
PVL	8 (3,7)	4 (1,8)	0,121
BPD	21 (9,7)	19 (8,8)	0,370
ROP	32 (15)	34 (16)	0,395
SIP	4 (1,8)	8 (3,7)	0,123
Ileus	39 (18)	32 (15)	0,182

Daten gegeben als Summe (%); n=217

EOS = Early Onset Sepsis, LOS = Late Onset Sepsis; IRDS = Infant Respiratory Distress Syndrome; IVH = Intraventrikuläre Hämorrhagie; PVE = Periventrikuläre Echodensitäten; PVL = Periventrikuläre Leukenzephalomalazie; BPD = Bronchopulmonale Dysplasie; ROP = Retinopathia praematurorum; SIP = Spontane intestinale Perforation

Abbildung 17: Vergleich der Komorbiditäten der mit ESBL-Keimen besiedelten Fallgruppe und der nichtbesiedelten Kontrollgruppe



Daten gegeben als Summe; n=217

NEC = Nekrotisierende Enterokolitis; EOS = Early Onset Sepsis, LOS = Late Onset Sepsis; IRDS = Infant Respiratory Distress Syndrome; IVH = Intraventrikuläre Hämorrhagie; PVE = Periventrikuläre Echodensitäten; PVL = Periventrikuläre Leukenzephalomalazie; BPD = Bronchopulmonale Dysplasie; ROP = Retinopathia praematurorum; SIP = Spontane intestinale Perforation

3.3 Hauptzielgröße – Nekrotisierende Enterokolitis

Die Hauptzielgröße dieser Studie war es, die Häufigkeit der Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) in der mit ESBL-Keimen besiedelten Fallgruppe und der nichtbesiedelten Kontrollgruppe zu erheben und zu vergleichen. Tabelle 12 zeigt die Inzidenz der NEC \geq IIa in den beiden Gruppen. Insgesamt gab es 12 NEC-Diagnosen bzw. NEC-Verdachtsdiagnosen in der gesamten Studienpopulation von 434 Kindern (je 217 Kinder in Fall- und Kontrollgruppe).

10 von 217 (4,61%) Kinder der Fallgruppe und 2 von 217 (0,92%) Kinder der Kontrollgruppe erkrankten. Dieser Unterschied ist statistisch signifikant (p-Wert 0,009). Bei Beschränkung auf die klinisch relevanten NEC-Diagnosen \geq IIa nach der modifizierten Bell-Klassifikation ergibt sich ein statistisch signifikanter Unterschied von 7 (3,23%) zu 1 (0,46%) erkrankten Kindern, mit einem p-Wert 0,016. (Odds ratio [OR] 7,00; 90% Konfidenzintervall [CI]: 1,2-40,6).

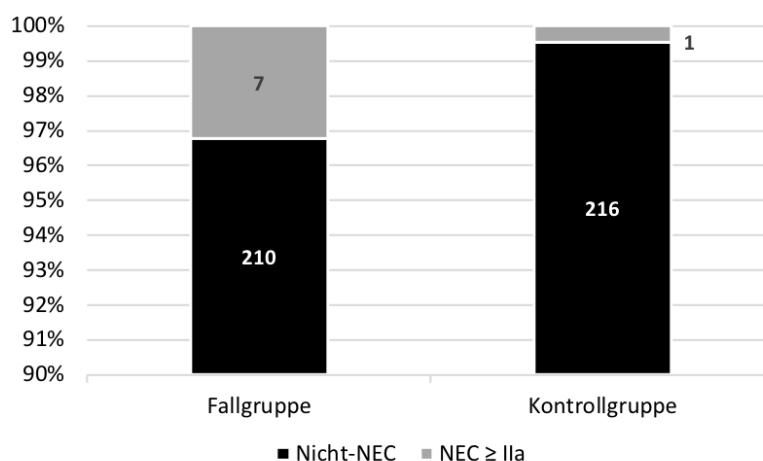
Tabelle 12: Inzidenz der Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) in der mit ESBL-Keimen besiedelten Fallgruppe und der nichtbesiedelten Kontrollgruppe

	Fallgruppe	Kontrollgruppe	p-Wert
NEC gesamt	10 (4,61)	2 (0,92)	0,009
NEC \geqIIa *	7 (3,23)	1 (0,46)	0,016

Daten angegeben als Summe (%)
*definiert nach den Bell-Kriterien

Abbildung 18 stellt die Anzahl der NEC Diagnosen ab IIa für Fall- und Kontrollgruppe dar und zeigt, dass es in der Fallgruppe 7-mal mehr NEC-Fälle als in der Kontrollgruppe gab.

Abbildung 18: Inzidenz der Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) \geq IIa in der mit ESBL-Keimen besiedelten Fallgruppe und der nichtbesiedelten Kontrollgruppe



3.3.1 NEC-Population

Tabelle 13 zeigt eine Liste der sieben mit einem ESBL-Keim besiedelten Kinder mit einer Nekrotisierenden Enterokolitis \geq IIa. Vier Kinder erlitten eine NEC im Maximalstadium IIIb. Ein Kind war mit zwei ESBL-Bildnern gleichzeitig besiedelt. Der ESBL-bildende Keim war in drei Fällen (ESBL+)-*Klebsiella pneumoniae*, in je zwei Fällen (ESBL+)-*Klebsiella oxytoca* und (ESBL+)-*Citrobacter freundii* und einmal (ESBL+)-*E. coli*.

Tabelle 13: Kinder mit einer Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) \geq IIa

NEC-Klassifikation	Jahr	Geschlecht	GA	GG	Exitus	ESBL-Keim
IIIb	2005	männlich	26	1.000	Nein	<i>K. pneumoniae</i>
IIIb	2005	männlich	26	898	Nein	<i>K. pneumoniae</i>
IIIa	2011	weiblich	27	938	Nein	<i>K. pneumoniae</i>
IIIb	2011	männlich	28	1.144	Nein	<i>K. oxytoca</i>
IIIa	2012	weiblich	31	1.256	Ja	<i>C. freundii</i>
IIIb	2012	weiblich	31	1.166	Ja	<i>C. freundii</i>
IIa	2015	weiblich	28	1.130	Nein	<i>K. oxytoca, E. coli</i>

GA = Gestationsalter in Wochen; GG = Geburtsgewicht in Gramm

3.3.2 Vergleich der NEC-Kinder mit Nicht-NEC-Kindern

Es wurden die sieben Kinder der Fallgruppe und das eine Kind der Kontrollgruppe, welche an einer definitiven Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) erkrankten, unabhängig von ihrer ESBL-Besiedelung, gesammelt betrachtet und mit den nicht an einer NEC erkrankten Kindern aus Fall- und Kontrollgruppe verglichen. Tabelle 14 zeigt diese acht Kinder mit einer NEC \geq IIa im Vergleich zur restlichen Studienpopulation, bestehend aus 426 gesunden Kindern.

Drei der acht (37,5%) NEC-Kinder waren Buben bzw. fünf (62,5%) waren Mädchen, wohingegen in der restlichen Studienpopulation ein ausgeglicheneres Geschlechterverhältnis vorlag: 219 von 426 Kindern (51,41%) waren Buben und 207 von 426 Kindern waren (48,59%) Mädchen. Das Gestationsalter der NEC-Kinder lag mit 28 Wochen auf dem Niveau der Studienpopulation (28 ± 2 vs. 28 ± 0). Das durchschnittliche Geburtsgewicht der NEC-Kinder war mit 1028 Gramm um 153 Gramm unter dem Wert der restlichen Studienpopulation. Von acht NEC-Kindern verstarben zwei Kinder, was eine

Mortalität von 25% ergibt, wohingegen 10 von 426 (2.35%) der Nicht-NEC-Kinder verstarben.

Die Hälfte der NEC-Kinder (4 von 8, 50%) entstammten einer Mehrlingsschwangerschaft, zwei der an NEC erkrankten Kinder entstammten derselben Mehrlingsschwangerschaft. Das Alter der Mütter der NEC-Kinder lag um mehr als drei Jahre unter dem Wert der gesunden Studienpopulation (26,86 vs. 30,08). Die Kaiserschnitttrate lag mit 62,50% unter dem Wert der Studienpopulation (85,45%).

Die durchschnittlichen APGAR Werte 1, 5 und 10 der NEC-Kinder waren jeweils auf dem Niveau der gesunden Kinder, ebenso lag der Nabelschnurarterien pH-Wert mit 7,32 auf dem Niveau der gesunden Kinder mit 7,27.

Sowohl an einer *Early Onset Sepsis* (EOS) als auch an einer *Late Onset Sepsis* (LOS) erkrankten mit 37,5% (drei von acht Kindern) bzw. 87,50% (sieben von acht Kindern) mehr NEC-Kinder als gesunde Kinder (53 von 426 bzw. 12,44% und 59 von 426 bzw. 13,98%).

Das *Infant Respiratory Distress Syndrome* (IRDS) trat hingegen unter den gesunden Kindern mit 91,08% (388 von 426 Kindern) häufiger als bei den an NEC erkrankten Kindern mit 75% (sechs von acht Kindern) auf.

Zwei von acht (25%) der NEC-Kinder erlitten außerdem eine Intraventrikuläre Hämorrhagie (IVH), was nur bei 16,9% (72 von 426 Kindern) der nicht an NEC erkrankten Kinder der Fall war. Periventrikuläre Echodensitäten (PVE) gab es bei einem von acht Kindern mit NEC (12,5%) und bei 33 von 426 Kindern ohne NEC (7,75%). Eine Periventrikuläre Leukenzephalomalazie trat bei 2,82% (12 von 426 Kinder) der Nicht-NEC-Kinder und keinem NEC-Kind auf.

Bronchopulomonale Dysplasie (BPD) und *Retinopathia praematurorum* (ROP) waren Komplikationen, welche je bei einem NEC-Fall (ein von acht Kindern, 12,5%) auftraten, was mit dem Niveau der gesunden Studienpopulation vergleichbar ist (40 von 426 bzw. 9,39% und 65 von 426 bzw. 15,26%).

Intestinale Komplikationen wie eine spontane intestinale Perforation (SIP) oder einen Ileus gab es unter den NEC-Kindern mit drei von acht (37,5%) und 4 von acht (50%) Fällen wesentlich häufiger als unter den gesunden Kindern (9 von 426 bzw. 2,11% und 66 von 426 bzw. 15,49%).

Tabelle 14: Vergleich der NEC-Kinder mit allen nicht an NEC erkrankten Kindern

	NEC ≥ IIa	Nicht NEC
Anzahl	8	426
Geschlecht männlich	3 (37,5)	219 (51,41)
Geschlecht weiblich	5 (62,5)	207 (48,59)
Gestationsalter	28 ± 2	28 ± 0
Geburtsgewicht	1028 ± 182	1181 ± 3
Exitus	2 (25,00)	10 (2,35)
SGA	1 (12,50)	65 (15,26)
Mehrlingsschwangerschaft	4 (50,00)	128 (30,05)
mütterliches Alter	26,86 ± 5,24	30,08 ± 0,46
Kaiserschnitt	5 (62,50)	364 (85,45)
APGAR 1	6,50 ± 1,85	6,54 ± 0,39
APGAR 5	8,50 ± 1,20	8,19 ± 1,93
APGAR 10	9,00 ± 0,93	8,78 ± 1,28
NAPh	7,32 ± 0,07	7,27 ± 0,95
EOS	3 (37,50)	53 (12,44)
LOS	7 (87,50)	59 (13,85)
IRDS	6 (75,0)	388 (91,08)
IVH	2 (25,0)	72 (16,9)
PVE	1 (12,5)	33 (7,75)
PVL	0 (0)	12 (2,82)
BPD	1 (12,5)	40 (9,39)
ROP	1 (12,5)	65 (15,26)
SIP	3 (37,5)	9 (2,11)
Ileus	4 (50,0)	66 (15,49)

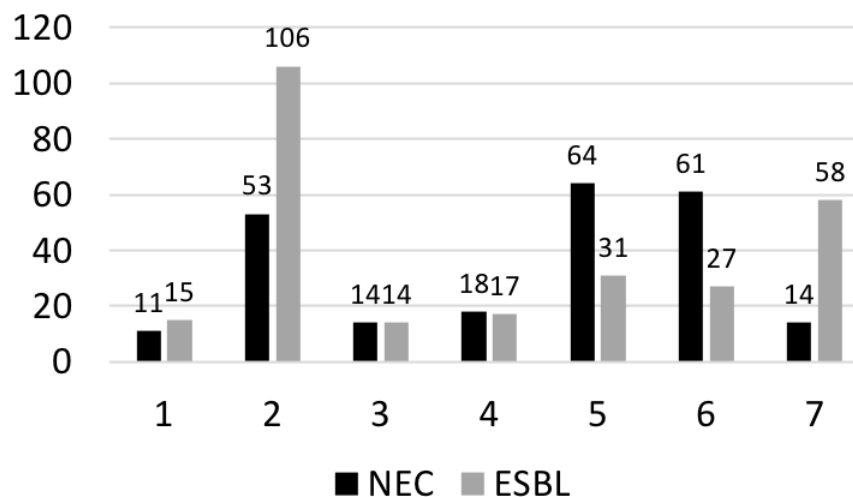
Daten angegeben als Summe (%) oder Durchschnitt (± Standardabweichung)

NEC = Nekrotisierenden Enterokolitis, SGA = Small for Gestational Age; NAPh= Nabelschnurarterien-pH Wert; EOS = Early Onset Sepsis, LOS = Late Onset Sepsis; IRDS = Infant Respiratory Distress Syndrome; IVH = Intraventrikuläre Hämorrhagie; PVE = Periventrikuläre Echodensitäten; PVL = Periventrikuläre Leukenzephalomalazie; BPD = Bronchopulmonale Dysplasie; ROP = Retinopathia praematurorum; SIP = Spontane intestinale Perforation

3.3.3 Diagnosezeitpunkt

Für die sieben ESBL-keimbesiedelten Kinder, welche an einer definitiven Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) erkrankt sind, wurden sowohl das Datum der NEC-Diagnose als auch der erstmalige ESBL-Keimnachweis in einer mikrobiologischen Untersuchung des Stuhls erhoben. Der Zeitpunkt der NEC-Diagnose wurde anhand der ärztlichen Dekurse der neonatologischen Intensivstation erhoben. Hier wurde als Erkrankungszeitpunkt jener Tag gewertet, an dem erstmals ein radiologischer Hinweis für eine NEC bestand oder durch eine explorative Laparotomie operativ bestätigt wurde.

Abbildung 19: Zeitpunkt der Diagnose der NEC bzw. des ESBL Nachweises in Form des Lebenstages der sieben ESBL-positiven Kinder



NEC = Nekrotisierende Enterokolitis, ESBL = Extended Spectrum Beta Laktamase

In Abbildung 19 ist für diese sieben Kinder der Lebensstag eingetragen, an dem die NEC diagnostiziert wurde oder ein ESBL-Keim positiver Nachweis im Stuhl erstmals vorhanden war. Es ist zu sehen, dass es hier kein eindeutiges Ergebnis gibt, welches aussagen könnte, ob zunächst die NEC-Erkrankung oder zunächst die ESBL-Keimbesiedelung eintrat. Bei drei Kindern wurde zunächst die NEC diagnostiziert und bei drei wiederum zunächst der ESBL-Keim nachgewiesen und ein Kind hatte beides am selben Tag. In zwei Fällen ist der Abstand zwischen diesen beiden Ereignissen mit drei bzw. 4 Tagen sehr gering. Im Durchschnitt wurde die NEC am 34. Lebensstag diagnostiziert und die ESBL Kolonisation am 38. Lebensstag nachgewiesen, diese Differenz ist nicht signifikant ($p=0.267$).

3.4 Nebenzielgröße ESBL-Bakterien

3.4.1 Spektrum der Bakterienstämme

Im weiteren Verlauf der statistischen Auswertung wurde die bakterielle Kolonisation der 217 ESBL-positiven Kinder der Fallgruppe betrachtet.

Neben dem Vorhandensein eines ESBL-bildenden Keimes im Stuhl wurde auch die Spezies bzw. Gattung des Keimes erfasst. Innerhalb des Studienzeitraumes wurden zehn verschiedene ESBL-bildende Keimgattungen festgestellt. Tabelle 15 zeigt das Keimspektrum mit der Anzahl der besiedelten Kinder und auch wieviel Prozent der 217 ESBL-positiven Kinder mit dem jeweiligen ESBL-Keim besiedelt waren.

Insgesamt wurde bei 217 Kinder zumindest einmalig im Stuhl ein ESBL-bildender Keim nachgewiesen. 173 Kinder (79,72%) waren mit einem ESBL-Keim, 36 Kinder (16,59%) mit zwei ESBL-Keimen und acht Kinder (3,69%) mit drei unterschiedlichen ESBL-Keimen besiedelt. 203 Kinder (93,55%) wurden mit noch vorhandener ESBL-Besiedelung im Stuhl entlassen. Bei 14 Kindern (6,45%) konnte bei Entlassung keine bestehende ESBL-Keimbesiedelung mehr nachgewiesen werden.

Der am häufigsten nachgewiesene ESBL-bildende Keim war (ESBL+)-*Klebsiella oxytoca* mit 125 (57,60%) besiedelten Kindern. Ebenfalls in die Gattung der *Klebsiella* gehört der zweithäufigste Keim (ESBL+)-*Klebsiella pneumoniae* mit 52 Fällen bzw. 23,96% der besiedelten Kinder. (ESBL+)-*Citrobacter freundii* trat in 46 (21,20%) Fällen auf.

In weiterer Folge fand sich (ESBL+)-*Escherichia coli* bei 19 von 217 Kindern (8,76%), (ESBL+)-*Enterobacter cloacae* in 17 (7,83%), (ESBL+)-*Citrobacter amaloniticus* in vier (1,84%), (ESBL+)-*Kluyvera spezies* in drei (1,38%) und (ESBL+)-*Enterobacter aerogenes* in zwei (0,92%) Fällen. (ESBL+)-*Aeromonas spezies* und (ESBL+)-*Citrobacter farmeri* wurden jeweils nur bei einem (0,46%) Kind nachgewiesen.

Abgesehen von (ESBL+)-*Aeromonas sp.* handelt es sich bei den nachgewiesenen ESBL-Produzenten ausschließlich um Enterobakterien.

Tabelle 15: ESBL-positive Bakterienstämme (n=270) nachgewiesen in 217 Neugeborenen

Keim	Anzahl*	% n=270	%** n=217
<i>Klebsiella oxytoca</i> (ESBL+)	125	46,3	57,6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ESBL+)	52	19,3	24,0
<i>Citrobacter freundii</i> (ESBL+)	46	17,0	21,2
<i>Escherichia coli</i> ((ESBL+)	19	7,0	8,8
<i>Enterobacter cloacae</i> (ESBL+)	17	6,3	7,8
<i>Citrobacter amalonaticus</i> (ESBL+)	4	1,5	1,8
<i>Kluyvera spezie</i> (ESBL+)	3	1,1	1,4
<i>Enterobacter aerogenes</i> (ESBL+)	2	0,7	0,9
<i>Aeromonas spezie</i> (ESBL+)	1	0,4	0,5
<i>Citrobacter farmeri</i> (ESBL+)	1	0,4	0,5

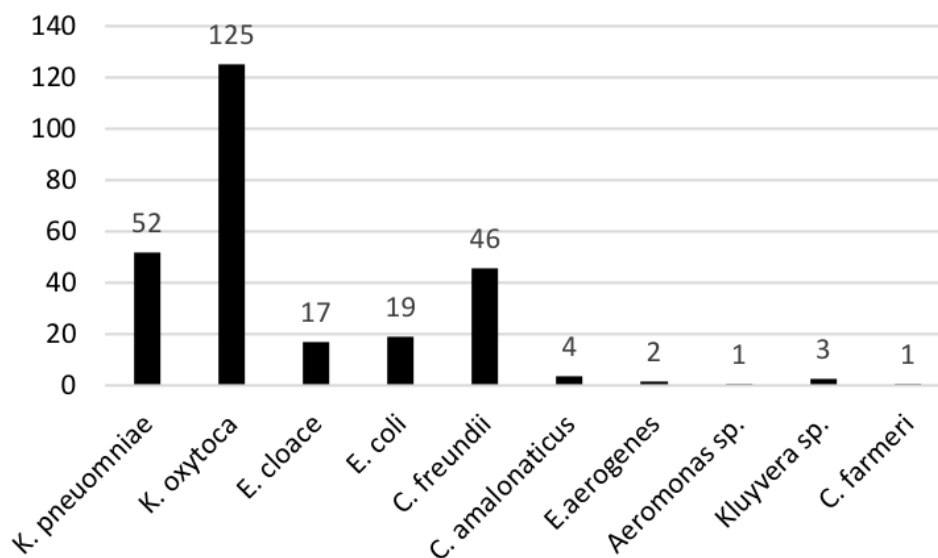
Daten gegeben als Summe oder Prozent

* Anzahl der mit ESBL-produzierenden Stämmen besiedelten Kinder

** Anteil an ESBL-positiven Kindern

Abbildung 20 zeigt die Häufigkeit der einzelnen ESBL-positiven Bakterienstämme unter den 217 besiedelten Kindern als Balkendiagramm.

Abbildung 20: Aufteilung der ESBL-positiven Bakterienstämme unter den 217 ESBL-Keim besiedelten Kindern*



*Mehrfachbesiedlung möglich

3.4.2 Zeitlicher Verlauf des Auftretens von ESBL-positiven Bakterienstämme

Um die Aufteilung und den Verlauf der ESBL produzierenden Bakterienstämme zu veranschaulichen, wurde für die fünf häufigsten Bakterienstämme, (ESBL+)-*K. pneumoniae*, (ESBL+)-*K. oxytoca*, (ESBL+)-*E. cloacae*, (ESBL+)-*E. coli* und (ESBL+)-*C. freundii* ein Diagramm erstellt, welches den Zeitpunkt des Nachweises darstellt. Abbildung 21 und Abbildung 22 zeigen den zeitlichen Verlauf der ESBL-Keime für die Zeiträume 2005-2010 und 2011-2016.

In den Jahren 2005 und 2006 war (ESBL+)-*K. pneumoniae* der vorherrschende ESBL produzierende Bakterienstamm mit je fünf besiedelten Kindern im August 2005 und Mai 2006. In den Folgejahren 2007 bis 2010 traten immer wieder vereinzelt verschiedene ESBL-bildende Bakterienstämme auf. (ESBL+)-*K. pneumoniae* kann jedoch als dominierender Keim für diesen Zeitraum bezeichnet werden. Ab 2010 stiegen die Kolonisationen mit (ESBL+)-*K. oxytoca* an und es gab in den Folgejahren ab 2011 immer wieder mehrere Kinder die gleichzeitig von (ESBL+)-*K. oxytoca* besiedelt waren. Weiters kam es ab dem Jahr 2011 auch zunehmend zu Kolonisationen mit (ESBL+)-*C. freundii* oder (ESBL+)-*E. cloacae*. Insgesamt ergibt sich für die zweite Hälfte des Studienzeitraums ein wesentlich „bunteres“ Bild an ESBL-Keimen, welche die Kinder der Station besiedelten.

Abbildung 21: Zeitlicher Verlauf des Erstnachweises der ESBL-Kolonisationen im Zeitraum 2005-2010

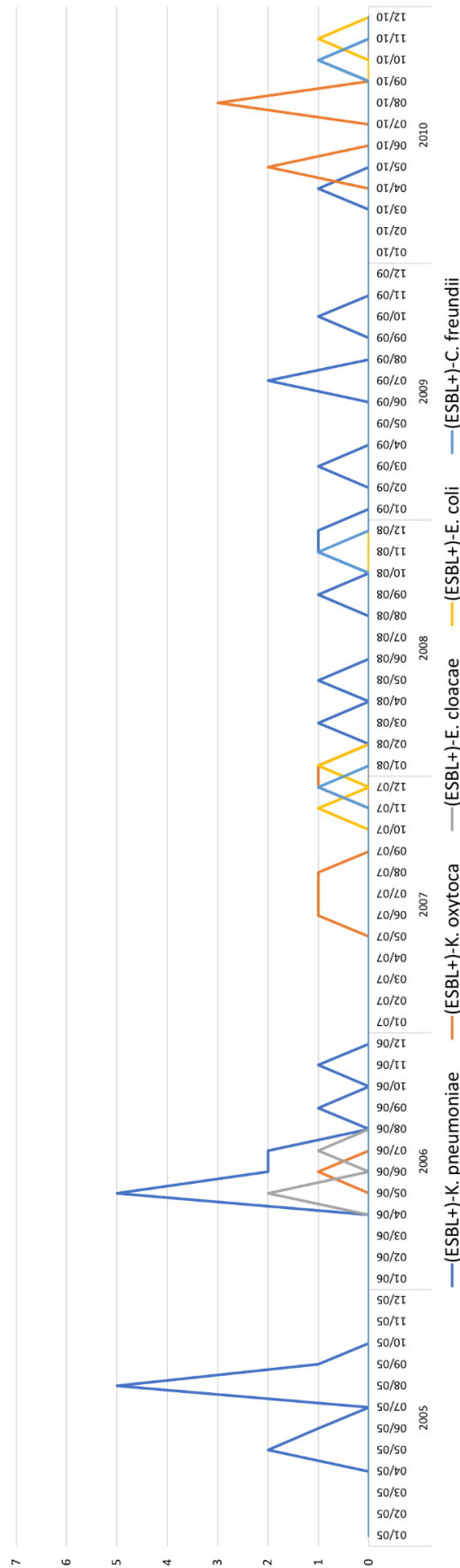
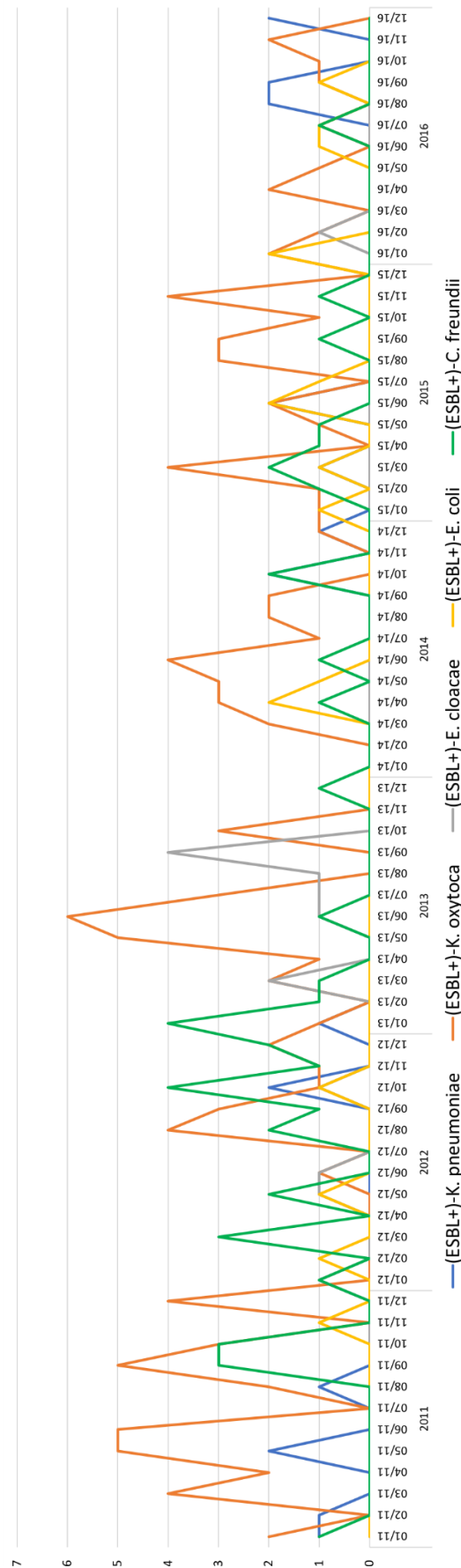


Abbildung 22: Zeitlicher Verlauf des Erstnachweises der ESBL-Kolonisationen im Zeitraum 2011-2016

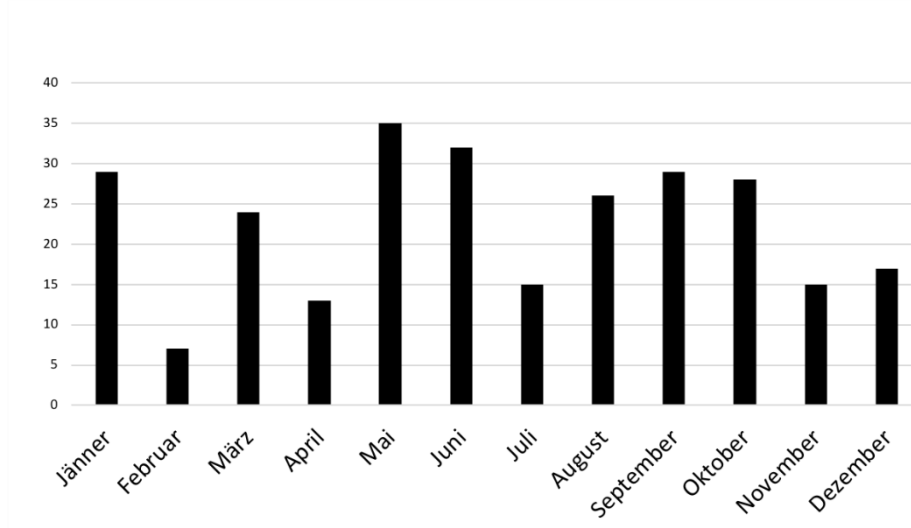


3.4.3 Saisonalität der ESBL-Kolonisationen

Um saisonale Zusammenhänge mit den ESBL-Kolonisationen auf der neonatologischen Intensivstation zu erkennen, wurden die Kolonisationen über den gesamten Studienzeitraum 2005 bis 2016 nach Monaten sortiert. Hierzu wurden alle Kolonisationen, welche im Studienzeitraum im jeweiligen Monat auftraten, subsummiert, was aber auch zur Folge hat, dass ein Ausbruch mit mehreren besiedelten Kindern die gesamte Statistik beeinflusst. Abbildung 23 zeigt die Summe der Kolonisationen in den jeweiligen Monaten in einem Balkendiagramm.

Es ist zu erkennen, dass die Anzahl an Kolonisationen pro Monat zwischen sieben im Februar und 35 im Mai schwankt. Jedoch ist kein eindeutiger Trend zu einer Jahreszeit hin zu erkennen.

Abbildung 23: Aufteilung der ESBL-Kolonisationen auf die Monate im Zeitraum 2005-2016



4 Diskussion

Primäres Ziel dieser Studie war es herauszufinden, ob eine Korrelation zwischen einer enteralen ESBL-Keimbesiedelung und einer Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) existiert. Ein epidemisches Auftreten der NEC in Zusammenhang mit Enterobakterien, anaeroben Bakterien oder Viren ist bekannt (2,87). Es sind erhöhte NEC-Inzidenzen durch Ausbrüche von einzelnen ESBL-produzierenden Bakterien dokumentiert (88,89). In der Literatur wird die Frühgeburtlichkeit als Hauptrisikofaktor genannt (1,11,12). Neben dem niedrigen Gestationsalter werden noch weitere Risikofaktoren genannt, welche mit einer erhöhten NEC-Inzidenz verbunden sind: niedriges Geburtsgewicht (14), Infektionen wie Late Onset Sepsis (12,18) und angeborene Herzfehler (23,24).

Um eine Beeinflussung der NEC-Inzidenz durch ein niedriges Gestationsalter oder intrauterine Wachstumsretardierung auszuschließen, wurden alle mit ESBL-Keimen besiedelten Neugeborenen, welche im Zeitraum 2005 bis 2016 auf der neonatologischen Intensivstation stationär waren, anhand von Geburtsgewicht und Gestationsalter 1:1 mit ESBL-negativen Kindern *gematcht*. Kinder mit angeborenen Fehlbildungen, wie Herzfehlern, wurden ausgeschlossen.

In der gesamten Studienpopulation an der NICU Graz mit einem Gestationsalter ≤ 32 Schwangerschaftswoche (SSW) tritt eine NEC \geq IIa in der ESBL-positiven Fallgruppe siebenmal häufiger auf als in der ESBL-negativen Kontrollgruppe ($n = 217$, p-Wert 0,016). Bei Einschluss der NEC-Verdachtsdiagnosen Ia und Ib zeigt sich ein noch deutlicherer Unterschied zwischen der Fall- und der Kontrollgruppe (10 vs. 2, $n=217$, p-Wert 0,009). Diese reine Assoziation ohne invasive Infektion ist in der Literatur noch nie beschrieben worden. Die Häufigkeit der NEC innerhalb der Studienpopulation von 3,23% in der ESBL-besiedelten Fallgruppe und 0,46% in der nichtbesiedelten Kontrollgruppe erscheint niedrig im Vergleich zu den Werten von großen internationalen Kohorten mit einer Prävalenz von 7-11% bei *Very Low Birth Weight*-Kindern (VLBW, < 1500 Gramm) (14,90). Jedoch sind in der hier vorliegenden Studie auch Kinder mit einem Geburtsgewicht über 1500 Gramm eingeschlossen. In Fall- und Kontrollgruppe haben 47 Kinder (21,66%) bzw. 48 Kinder (22,12%) ein Geburtsgewicht von über 1500 Gramm.

Die NEC-Inzidenz der ESBL-besiedelten Kinder in dieser Arbeit liegt mit 3,23% über dem Wert der deutschen Neonatologie Erhebung 2014 mit 1,03%, wobei es sich hier wieder nur um besonders gefährdete Kinder mit einem Geburtsgewicht < 1500 oder einem Gestationsalter $< 32 + 0$ SSW handelte (13). An der neonatologischen Intensivstation der Klinischen Abteilung für Neonatologie der Universitätsklinik für Kinder- und

Jugendheilkunde Graz wurde von Schmolzer et. al. über eine siebenjährige Periode von 1998 bis 2004 eine NEC Inzidenz von 0,7% bei 334 VLBW-Kindern berichtet (58).

In Bezug auf die Komorbiditäten und perinatalen Daten ergab sich nur bei Mehrlingsschwangerschaften ein signifikanter Unterschied zwischen ESBL-besiedelten Kindern und nichtbesiedelnden Kindern. Es entstammten in der durchgeführten Studie 39,2% der ESBL-besiedelten Kinder einer Mehrlingsschwangerschaft, in der Kontrollgruppe waren es 21,7%. Laut Literatur wurde bis dato noch keine genetische Prädisposition gefunden. Es zeigt sich aber unter Zwillingen eine Konkordanz hinsichtlich der Entwicklung einer NEC (19,21). Zu erwarten ist, dass in naher Zukunft eine genetische Prädisposition für eine NEC nachgewiesen werden kann (91). Daher ist es nicht auszuschließen, dass die erhöhte NEC-Inzidenz der Fallgruppe auch mit der erhöhten Mehrlingsrate dieser Gruppe zusammenhängt.

Bakterielle Infektionen könnten laut Literatur zur Schädigung der Darmschleimhaut beitragen und stellen somit auch einen Risikofaktor für die NEC dar (92). Unabhängig vom klinischen Bild der NEC trat eine Early Onset Sepsis bei der nichtbesiedelten Kontrollgruppe signifikant öfter auf, als in der ESBL-keimbesiedelten Fallgruppe (16,67% vs. 9,68%; p-Wert 0,03). Dahingehend kann gesagt werden, dass in der ESBL-positiven Population mit der höheren NEC-Rate eine Early Onset Sepsis nicht als prädisponierender Faktor zur NEC beigetragen hat.

Innerhalb der NEC-Population, bestehend aus acht Kindern mit einer NEC \geq IIa, unabhängig von der ESBL-Keimbesiedelung, kam es zu einer Mortalität von 25%, was sich mit den in der Literatur beschriebenen Werten von 20-30% deckt (11,16).

Der amerikanische NEC-Risiko-Index *GutCheck*^{NEC} nennt neun unabhängige Risikofaktoren für die Entwicklung einer NEC: niedriges Gestationsalter, Gabe von Erythrozytenkonzentraten, NEC-Rate der spezifischen Intensivstation, Late Onset Sepsis, multiple Infektionen, mit inotropen Medikamenten behandelte Hypotension, afrikanische oder hispanische Abstammung, externe Geburt und metabolische Azidose innerhalb der ersten zwölf Lebensstunden. Alle acht NEC-Kinder hatten ein erhöhtes NEC-Risiko aufgrund ihres Gestationsalter (GA) unter 32 Schwangerschaftswochen (SSW) und 3 davon hatten sogar ein sehr großes Risiko aufgrund eines GA < 28 SSW. Sieben Kinder (87,5%) waren einem erhöhten Risiko aufgrund ihrer Late Onset Sepsis ausgesetzt. Alle weiteren erwähnten Risikofaktoren des *GutCheck*^{NEC} wurden im Rahmen dieser Studie nicht erhoben, da diese Daten nicht primäres Ziel der Studie waren und nicht retrospektiv erhebbar sind(18).

Bezüglich des Diagnosezeitpunktes, ob zuerst die ESBL-Besiedelung oder NEC-Erkrankung da waren, zeigt sich kein Trend zu einer Seite hin. Dies ist dahingehend auch wenig aussagekräftig, da das ESBL-Screening nicht täglich stattfand. Somit ist möglich, dass die ESBL-Besiedelung schon länger bestand, aber erst nach einigen Tagen mittels Stuhlprobe diagnostiziert wurde.

Im Rahmen der Studie wurde weiters die Epidemiologie der Bakterienstämme untersucht. Fälle wie das Auftreten von (ESBL+)-*K. oxytoca* im Jahr 2007 können mit nosokomialen Übertragungen erklärt werden, was von Grisold et. al. auch publiziert wurde (93). Ansonsten gab bis zum Jahr 2011 nur wenige Fälle, wo mehrere Kinder vom gleichen Bakterienstamm besiedelt waren. Nosokomiale Übertragungen haben vermutlich den Anstieg an Kolonisationen ab dem Jahr 2010 bedingt, wobei dahingehend keine weiteren Untersuchungen durchgeführt wurden. Vergleicht man den Zeitraum 2005-2010 mit 2011-2016 kann man erkennen, dass es nicht mehr nur zum vereinzelt Auftreten von ESBL-bildenden Keimen kam, sondern, dass mehrere ESBL-Bildner gleichzeitig auf der untersuchten neonatologischen Intensivstation auftraten und immer wieder mehrere Kinder parallel von der gleichen Keimgattung besiedelt waren. Es waren vor allem (ESBL+)-*K. oxytoca* Stämme und (ESBL+)-*C. freundii* Stämme, welchen die meisten Kolonisationen zugeschrieben werden konnten.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die NEC-Inzidenz bei ESBL-Besiedlung, in der in dieser Studie untersuchten Studienpopulation, bei 3,23% liegt. Die siebenfach höhere NEC-Rate innerhalb der ESBL-positiven Gruppe spricht dafür, dass eine ESBL-Besiedelung als Risikofaktor für eine NEC durchaus in Betracht kommen kann. Aufgrund der Zunahme des Auftretens von ESBL-Erregern sollte der enteralen ESBL-Kolonisation als Risikofaktor für die NEC in Zukunft mehr Beachtung geschenkt werden. Neben der bestehenden NEC-Prophylaxe sollte somit auch das Vorbeugen von ESBL-Kolonisationen und Infektionen weiterhin vorangetrieben werden. Eine ESBL-Prophylaxe bestehend aus Screeningmaßnahmen und einem gesteigerten Augenmerk auf Hygienemaßnahmen, könnte die Inzidenz dieser Erreger beeinflussen.

4.1 Limitationen

Für die primäre Recherche der ESBL-Fälle zum Erstellen der Kontrollgruppe wurden die Daten durch das Media Data Management des LKH Universitätsklinikums erhoben, welche jedoch aus unbekanntem Gründen unvollständig waren. Im weiteren Verlauf wurden zusätzlich alle ESBL-positiven Befunde der neonatologischen Intensivstation aus der Datenbank des D&F Instituts für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin miteinbezogen. Es kann eine unvollständige oder fehlende Dokumentation eines ESBL-positiven Stuhlbefundes, was eine verminderte Fallzahl bzw. eine veränderte Fallgruppe bedingen würde, nicht ausgeschlossen werden. Das Erstellen der Kontrollgruppe erfolgte händisch mithilfe der Karteikartendatenbank der klinischen Abteilung für Neonatologie und wurde anschließend mit EXCEL dokumentiert. Auch hier kann eine unvollständige oder nicht korrekt durchgeführte Dokumentation oder ein Fehlen von Karteikarten nicht ausgeschlossen werden, was die Zusammensetzung der Kontrollgruppe verfälscht hätte. Die restliche Recherche der perinatalen Daten und Komorbiditäten erfolgte mittels des Krankenhausinformationssystem openMEDOCS. Ein Fehlen von Befunden oder eine nicht korrekt durchgeführte Dokumentation könnte auch diese Daten und somit das Ergebnis der Studie geringfügig verfälschen.

Eine Schwäche der durchgeführten Studie ist, dass nicht alle Risikofaktoren (NEC-Risiko-Index *GutCheck*^{NEC} (18)) der Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) erhoben wurden und somit kann nicht ausgeschlossen werden, dass andere Faktoren, außer der ESBL-Besiedelung zum Unterschied zwischen Fall- und Kontrollgruppe geführt haben.

In dieser Studie wurden im Gegensatz zu den meisten anderen internationalen Studien auch Kinder mit einem Geburtsgewicht über 1500 Gramm eingeschlossen, da sonst die Fallzahl zu niedrig gewesen wäre. Somit sind die erhobenen Inzidenzwerte nicht direkt vergleichbar mit den Werten anderer Studien.

5 Literaturverzeichnis

1. Lin PW, Stoll BJ. Necrotising enterocolitis. *Lancet*. 2006;368(9543):1271–83.
2. Boccia D, Stolfi I, Lana S, Moro ML. Nosocomial necrotising enterocolitis outbreaks: Epidemiology and control measures. *Eur J Pediatr*. 2001;160(6):385–91.
3. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Bd. 371, The Lancet*. 2008. S. 75–84.
4. Patel RM, Kandeler S, Walsh MC, Bell EF, Carlo WA, Laptook AR, u. a. Causes and Timing of Death in Extremely Premature Infants From 2000 Through 2011. *Obstet Anesth Dig*. 2015;35(4):213–4.
5. Claud EC, Walker WA. Bacterial Colonization, Probiotics, and Necrotizing Enterocolitis. 2008;42(July):46–52.
6. Lau CSM, Chamberlain RS. Probiotic administration can prevent necrotizing enterocolitis in preterm infants: A meta-analysis. *J Pediatr Surg*. 2015;50(8):1405–12.
7. Pammi M, Cope J, Tarr PI, Warner BB, Morrow AL, Mai V, u. a. Intestinal dysbiosis in preterm infants preceding necrotizing enterocolitis: A systematic review and meta-analysis. *Microbiome*. 2017;5(1):1–15.
8. Torrazza RM, Neu J. The Altered Gut Microbiome and Necrotizing Enterocolitis. *Clin Perinatol*. 2013;40(1):93–108.
9. Chassard C, Wouters T De, Lacroix C. Probiotics tailored to the infant : a window of opportunity. *Curr Opin Biotechnol*. 2014;26:141–7.
10. Kurath-Koller S, Moissl-Eichinger C, Gorkiewicz G, Kraschl R, Kanduth C, Hopfer B, u. a. Changes of intestinal microbiota composition and diversity in very low birth weight infants related to strategies of NEC prophylaxis: protocol for an observational multicentre pilot study. *Pilot Feasibility Stud*. 2017;3(1):52.
11. Hull MA, Fisher JG, Gutierrez IM, Jones BA, Kang KH, Kenny M, u. a. Mortality and management of surgical necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates: A prospective cohort study. *J Am Coll Surg*. 2014;218(6):1148–55.
12. Genzel-Boroviczeny O, Jenke A, Mihatsch W, Schmittenbecher Peter. Nekrotisierende Enterokolitis AWMF-Leitlinie 024-009 S2k. 2017.
13. Bundesauswertung zum Erfassungsjahr 2014, NEO – Neonatologie [Internet]. Göttingen; 2014. Verfügbar unter: https://sqg.de/downloads/Bundesauswertungen/2014/bu_Gesamt_NEO_2014.pdf
14. Fanaroff AA, Stoll BJ, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, Stark AR, u. a. Trends in neonatal morbidity and mortality for very low birthweight infants. *Am J Obs Gynecol*. 2007;196(2):147 e1-8.
15. Jeschke E, Biermann A, Günster C, Böhler T, Heller G, Hummler HD, u. a. Mortality and Major Morbidity of Very-Low-Birth-Weight Infants in Germany 2008–2012: A Report Based on Administrative Data. *Front Pediatr*. 2016;4.
16. Gensch A. Nekrotisierende Enterokolitis. Technische Universität München; 2005.
17. Holman RC, Stoll BJ, Curns AT, Yorita KL, Steiner CA, Schonberger LB. Necrotising enterocolitis hospitalisations among neonates in the United States. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2006;20(6):498–506.
18. Gephart SM, Spitzer AR, Effken JA, Halpern M, Mcgrath JM. Discrimination of GutCheckNEC , a clinical risk index for necrotizing enterocolitis. 2015;34(6):468–75.
19. Bhandari V. Familial and Genetic Susceptibility to Major Neonatal Morbidities in Preterm Twins. *Pediatrics*. 2006;117(6):1901–6.
20. Neu J. Necrotizing enterocolitis: The mystery goes on. *Neonatology*. 2014;106(4):289–95.

21. Niño DF, Sodhi CP, Hackam DJ. Necrotizing enterocolitis: new insights into pathogenesis and mechanisms. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016;13(10):590–600.
22. Neu J. The „myth“ of asphyxia and hypoxia-ischemia as primary causes of necrotizing enterocolitis. *Biol Neonate.* 2005;87(2):97–8.
23. Limbach H.-G, Lindinger A, Hoffmann W. Herz-Kreislauf-Erkrankungen. In: *Duale Reihe Pädiatrie*, Gortner L, Meyer S, Sitzmann F. 4. Auflage. 2012. S. 331–84, hier S.341.
24. Fisher JG, Bairdain S, Sparks EA, Khan FA, Archer JM, Kenny M, u. a. Serious congenital heart disease and necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates. *J Am Coll Surg.* 2015;220(6):1018-1026.e14.
25. Dollberg S, Lusky A, Reichman B. Patent ductus arteriosus, indomethacin and necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants: A population-based study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2005;
26. Bartmann P, Roos R. Erkrankungen in der Neugeborenenperiode. In: *Duale Reihe Pädiatrie.* 4. Auflage. 2012. S. 94–142, hier S.94.
27. Bolisetty S, Lui K, Oei J, Wojtulewicz J. A regional study of underlying congenital diseases in term neonates with necrotizing enterocolitis. *Acta Paediatr.* 2000;89(10):1226–30.
28. Neu J, Walker WA. Necrotizing enterocolitis. *N Engl J Med.* 2011;
29. Lu P, Sodhi CP, Hackam DJ. Toll-like receptor regulation of intestinal development and inflammation in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Pathophysiology.* 2014;21(1):81–93.
30. Sodhi CP, Shi XH, Richardson WM, Grant ZS, Shapiro RA, Prindle T, u. a. Toll-Like Receptor-4 Inhibits Enterocyte Proliferation via Impaired beta-Catenin Signaling in Necrotizing Enterocolitis. *Gastroenterology.* 2010;138(1):185–96.
31. Gribar SC, Sodhi CP, Richardson WM, Anand RJ, Gittes GK, Branca MF, u. a. Reciprocal Expression and Signaling of TLR4 and TLR9 in the Pathogenesis and Treatment of Necrotizing Enterocolitis. *J Immunol.* 2009;182(1):636–46.
32. Good M, Sodhi CP, Egan CE, Afrazi A, Jia H, Yamaguchi Y, u. a. Breast milk protects against the development of necrotizing enterocolitis through inhibition of Toll-like receptor 4 in the intestinal epithelium via activation of the epidermal growth factor receptor. *Mucosal Immunol.* 2015;8(5):1166–79.
33. Sampath V, Le M, Lane L, Patel AL, Cohen JD, Simpson PM, u. a. The NFKB1 (g.-24519delATTG) variant is associated with necrotizing enterocolitis (NEC) in premature infants. *J Surg Res.* 2011;169(1).
34. Watkins DJ, Besner GE. The role of the intestinal microcirculation in necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg.* 2013;22(2):83–7.
35. Sase M, Nakata M, Tashima R, Kato H. Development of gastric emptying in the human fetus. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2000;16(1):56–9.
36. Lebenthal A, Lebenthal E. The ontogeny of the small intestinal epithelium. *J Parenter Enter Nutr.* 1999;23(5_suppl):S3–6.
37. Lin J. Too much short chain fatty acids cause neonatal necrotizing enterocolitis. *Med Hypotheses.* 2004;62(2):291–3.
38. Deplancke B, Gaskins HR. Microbial modulation of innate defense: Goblet cells and the intestinal mucus layer. *Am J Clin Nutr.* 2001;73(6).
39. McElroy SJ, Underwood MA, Sherman MP. Paneth cells and necrotizing enterocolitis: A novel hypothesis for disease pathogenesis. *Neonatology.* 2012;103(1):10–20.
40. Underwood MA. Paneth cells and necrotizing enterocolitis. *Gut Microbes.* 2012;3(6):562–5.

41. Maheshwari A, Kelly D, Nicola T, Ambalavanan N, Jain S, Murphy-Ullrich J, u. a. TGF- β 2 Suppresses Macrophage Cytokine Production and Mucosal Inflammatory Responses in the Developing Intestine. *Gastroenterology*. 2011;(140):242–53.
42. Vongbhavit K, Underwood MA. Prevention of Necrotizing Enterocolitis Through Manipulation of the Intestinal Microbiota of the Premature Infant. *Clin Ther*. 2016;38(4):716–32.
43. Biasucci G, Rubini M, Riboni S, Morelli L, Bessi E, Retetangos C. Mode of delivery affects the bacterial community in the newborn gut. *Early Hum Dev*. 2010;86(SUPPL. 1):13–5.
44. Arboleya S, Binetti A, Salazar N, Fernández N, Solís G, Hernández-Barranco A, u. a. Establishment and development of intestinal microbiota in preterm neonates. *FEMS Microbiol Ecol*. 2012;79(3):763–72.
45. La Rosa PS, Warner BB, Zhou Y, Weinstock GM, Sodergren E, Hall-Moore CM, u. a. Patterned progression of bacterial populations in the premature infant gut. *Proc Natl Acad Sci*. 2014;111(34):12522–7.
46. Yee WH, Soraisham AS, Shah VS, Aziz K, Yoon W, Lee SK. Incidence and Timing of Presentation of Necrotizing Enterocolitis in Preterm Infants. *Pediatrics*. 2012;129(2):e298–304.
47. Neu J, Pammi M. Pathogenesis of NEC: Impact of an altered intestinal microbiome. *Semin Perinatol*. 2017;41(1):29–35.
48. Benkoe T, Reck C, Pones M, Weninger M, Gleiss A, Stift A, u. a. Interleukin-8 predicts 60-day mortality in premature infants with necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* [Internet]. 2014;49(3):385–9. Verfügbar unter: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2013.05.068>
49. Bell MJ, Ternberg JL, Feigin RD, Keating JP, Marshall R, Barton L, u. a. Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging. *Ann Surg*. 1978;187(1):1–7.
50. Walsh MC, Kliegman RM. Necrotizing enterocolitis: Treatment based on staging criteria. *Pediatr Clin North Am*. 1986;33(1):179–201.
51. Schwartz MZ, Maeda K. Short bowel syndrome in infants and children. *Pediatr Clin North Am*. 1985;32(5):1265–79.
52. Cole CR, Hansen NI, Higgins RD, Ziegler TR, Stoll BJ. Very low birth weight preterm infants with surgical short bowel syndrome: incidence, morbidity and mortality, and growth outcomes at 18 to 22 months. *Pediatrics*. 2008;122(3):e573-82.
53. Hintz SR. Neurodevelopmental and Growth Outcomes of Extremely Low Birth Weight Infants After Necrotizing Enterocolitis. *Pediatrics*. 2005;115(3):696–703.
54. Quigley M, McGuire W. Formula versus donor breast milk for feeding preterm or low birth weight infants. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2014.
55. Lucas A, Cole TJ. Breast milk and neonatal necrotising enterocolitis. *Lancet*. 1990;
56. Reber KM, Nankervis CA. Necrotizing enterocolitis: Preventative strategies. *Clinics in Perinatology*. 2004.
57. Ewaschuk JB, Unger S, Harvey S, O'Connor DL, Field CJ. Effect of pasteurization on immune components of milk: implications for feeding preterm infants. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2011;
58. Schmolzer G, Urlesberger B, Haim M, Kutschera J, Pichler G, Ritschl E, u. a. Multi-modal approach to prophylaxis of necrotizing enterocolitis: Clinical report and review of literature. *Pediatr Surg Int*. 2006;22:573–80.
59. Deshpande G, Rao S, Patole S, Bulsara M. Updated meta-analysis of probiotics for preventing necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *Pediatrics*. 2010;125(5):921–30.

60. Egan E a, Mantilla G, Nelson RM, Eitzman D V. A prospective controlled trial of oral kanamycin in the prevention of neonatal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr.* 1976;89(3):467–70.
61. Bury RG, Tudehope D. Enteral antibiotics for preventing necrotizing enterocolitis in low birthweight or preterm infants. In: *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2001.
62. Fowlie PW, Davis PG. Cochrane Review: Prophylactic intravenous indomethacin for preventing mortality and morbidity in preterm infants. *Evidence-Based Child Heal A Cochrane Rev J.* 2010;
63. Roberts D, Dalziel S. Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane database Syst Rev.* 2006;
64. Suerbaum S, Burchard G-D, Kaufmann SHE, Schulz TF. *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie.* 8. Auflage. 2016. 954 S.
65. Karow T, Lang-Roth R. Antimikrobielle Pharmaka und Infektionskrankheiten. In: *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie.* 26. Aufl. 2017. S. 723–84.
66. Wikipedia. Beta Lkatam AB [Internet]. [zitiert 5. Oktober 2018]. Verfügbar unter: <https://de.wikipedia.org/wiki/B-Lactam-Antibiotika>
67. Hof H. Resistenz. In: Hof H, Dörries R, Herausgeber. *Duale Reihe Medizinische Mikrobiologie* [Internet]. 6., unverä. Georg Thieme Verlag; 2017. Verfügbar unter: https://eref.thieme.de/ebooks/1732046#/ebook_1732046_SL47075053_BT - Duale Reihe Medizinische Mikrobiologie
68. Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention. Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz.* 2012;55(10):1311–54.
69. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, u. a. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(3):268–81.
70. AURES – der Österreichische Antibiotikaresistenz-Bericht [Internet]. [zitiert 14. November 2018]. Verfügbar unter: <http://www.aures.at>
71. Surveillance Atlas of Infectious Diseases [Internet]. [zitiert 14. November 2018]. Verfügbar unter: <https://atlas.ecdc.europa.eu/>
72. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2016. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). [Internet]. ECDC surveillance report. Stockholm.; 2017. Verfügbar unter: <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2016>
73. European Antimicrobial Resistance Surveillance System. The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS). Annual Report 2005 [Internet]. EARSS Management Team. 2006. Verfügbar unter: www.rivm.nl/earss
74. European Centre for Disease Prevention and Control, European Food Safety Authority and, European Medicines Agency. ECDC/EFSA/EMA second joint report on the integrated analysis of the consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals - Joint Interagency Antimicrobial Consumption and Resistans [Internet]. Bd. 15, *EFSA Journal.* 2017. Verfügbar unter: <http://doi.wiley.com/10.2903/j.efsa.2017.4872>

75. Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut. Empfehlung zur Prävention Nosokomialer Infektionen bei Neonatologischen Intensivpflegepatienten mit Einem Geburtsgewicht Unter 1500 g. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz 2007 S. 1265–303.
76. Cimiotti JP, Haas J, Saiman L, Larson EL. Impact of staffing on bloodstream infections in the neonatal intensive care unit. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2006;160(8):832–6.
77. Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut. Händehygiene in Einrichtungen des Gesundheitswesens. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 2016;59(9):1189–220.
78. Nationales Referenzzentrum Für Surveillance von nosokomialen Infektionen. NEO-KISS Referenzdaten 2017. 2018.
79. Viechtbauer W, Bonhoeffer S, Abel P, Kouyos R. Cycling Empirical Antibiotic Therapy in Hospitals : Meta- Analysis and Models. *PLoS Pathog.* 2014;10(6):e1004225.
80. Moss WJ, Beers MC, Johnson E, Nichols DG, Perl TM, Dick JD, u. a. Pilot study of antibiotic cycling in a pediatric intensive care unit. *Crit Care Med.* 2002;30(8):1877–82.
81. Duijn PJ Van, Verbrugghe W, Jorens PG, Spöhr F, Schedler D, Deja M, u. a. The effects of antibiotic cycling and mixing on antibiotic resistance in intensive care units : a cluster-randomised crossover trial. 2018;3099(18).
82. Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut. Praktische umsetzung sowie krankenhaushygienische und infektionspräventive konsequenzen des mikrobiellen kolonisationsscreenings bei intensivmedizinisch behandelten früh- und neugeborenen. Bd. 42, Hygiene + Medizin. 2013.
83. Voigt M, Rochow N, Hesse V, Olbertz D, Schneider KTM, Jorch G. Kurzmitteilung zu den Perzentilwerten für die Körpermaäe der Neugeborenen. *Z Geburtshilfe Neonatol.* 2010;214(1):24–9.
84. Baskett TF. Virginia Apgar and the newborn Apgar Score. *Resuscitation.* 2000;47(3):215–7.
85. Simonsen KA, Anderson-Berry AL, Delair SF, Dele Davies H. Early-onset neonatal sepsis. *Clin Microbiol Rev.* 2014;
86. Deeg KH, Staudt F, Rohden L. Klassifikation der intrakraniellen Blutungen des Frühgeborenen. *Ultraschall der Medizin.* 31. Dezember 1999;20(04):165–70.
87. Turcios-Ruiz R, Axelrod P, St John K, Bullitt E, Donahue J, Robinson N, u. a. Outbreak of Necrotizing Enterocolitis Caused by Norovirus in a Neonatal Intensive Care Unit. *J Pediatr.* 2008;153(3):339–44.
88. Cotton M, Pieper C, Kirtsen G, Orth H, Theron D. Necrotising enterocolitis as an infectious disease - Evidence from an outbreak of invasive disease due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *South African Med J.* 2001;91(2):133–5.
89. Gregersen N, Van Nierop W, Von Gottberg A, Duse A, Davies V, Cooper P. *Klebsiella pneumoniae* with extended spectrum beta-lactamase activity associated with a necrotizing enterocolitis outbreak. *Pediatr Infect Dis J.* 1999;18(11):963–7.
90. Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, Shankaran S, Lupton AR, Walsh MC, u. a. Neonatal Outcomes of Extremely Preterm Infants From the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics.* 2010;126(3):443–56.

91. Cuna A, George L, Sampath V. Genetic predisposition to necrotizing enterocolitis in premature infants: Current knowledge, challenges, and future directions. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2018;23(6):387–93.
92. Hsueh W, Caplan MS, Qu XW, Tan X Di, De Plaen IG, Gonzalez-Crussi F. Neonatal necrotizing enterocolitis: Clinical considerations and pathogenetic concepts. *Pediatr Dev Pathol.* 2003;6(1):6–23.
93. Grisold AJ, Zarfel G, Strenger V, Feierl G, Leitner E, Masoud L, u. a. Use of automated repetitive-sequence-based PCR for rapid laboratory confirmation of nosocomial outbreaks. *J Infect.* 2010;60(1):44–51.