

Mikrobielle Besiedlung innerhalb der ersten 6 Lebenswochen
und Pulmonales Outcome bei Frühgeborenen
mit einem Geburtsgewicht <1000g

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Frodermann, Tina, geb. Lauer
aus Dormagen

Gießen (2024)

Aus dem Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Abteilung für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie,
Universitätsklinikum Gießen

Gutachter: Prof. Dr. H. Ehrhardt

Gutachter: Prof. Dr. M. Hecker

Tag der Disputation: 27.09.2024

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|-----------|
| Einleitung | 1 |
| Frühgeborene..... | 1 |
| Definition | 1 |
| Zahlen und Fakten..... | 1 |
| Prognose bei Frühgeborenen mit einem sehr niedrigen Geburtsgewicht..... | 2 |
| Pulmonale Komplikationen nach Frühgeburtlichkeit | 3 |
| Atemnotsyndrom/ chronische Lungenerkrankung | 3 |
| Bronchopulmonale Dysplasie (BPD) | 4 |
| Definition der BPD..... | 4 |
| Historische Aspekte der BPD - Alte versus Neue BPD | 5 |
| Ursachen der neuen BPD | 6 |
| Lebenslange Konsequenzen und Langzeitfolgen der BPD | 7 |
| Präventions- und Therapiemaßnahmen der BPD | 10 |
| Das Mikrobiom des Frühgeborenen | 11 |
| Besiedelung mit potentiell pathogenen Keimen und Dysbiosen - Die Folgen | 12 |
| Die Auswirkungen des Mikrobioms auf die Entstehung der BPD..... | 14 |
| Möglichkeiten der positiven Beeinflussung des Mikrobioms..... | 18 |
| Fragestellung der Arbeit und methodische Voraussetzungen | 19 |
| Material und Methoden | 21 |
| Patientenkohorte, Ausschlusskriterien und Ethik-Votum | 21 |
| Datenerhebung und Definition der erhobenen Parameter | 22 |
| Methoden..... | 23 |
| Abstrichentnahme..... | 23 |
| Probenverarbeitung | 24 |
| Keimidentifizierung mittels MALDI-TOF-MS (Matrix-unterstützte Laser- Desorptions-/Ionisations-Flugzeit-Massenspektrometrie) im <i>Vitek MS</i> | 26 |
| Resistenztestung mittels Bouillon- Mikrodilutionsmethode zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration mit dem <i>Vitek 2</i> | 27 |

| | |
|---|-----------|
| Im Labor des Instituts für Medizinische Mikrobiologie am UKGM Gießen verwendete Materialien | 28 |
| Im Labor des Instituts für Medizinische Mikrobiologie am UKGM Gießen verwendete Chemikalien und Reagenzien | 30 |
| Im Labor des Instituts für Medizinische Mikrobiologie am UKGM Gießen verwendete Geräte..... | 30 |
| Im Labor des Instituts für Medizinische Mikrobiologie am UKGM Gießen verwendete Software | 31 |
| Software für Datenbank und statistische Analyse..... | 31 |
| Statistische Auswertung..... | 31 |
| Ergebnisse..... | 35 |
| Allgemeine Untersuchungen der Kohorte zur Vorbereitung der weiteren Analysen | 35 |
| Untersuchung des Gestationsalters und des Geburtsgewichts bei Geburt | 35 |
| Untersuchung der Geschlechterverteilung und des SGA-Status..... | 35 |
| Untersuchung der Verteilung von Einlings- und Mehrlingsgeburten | 37 |
| Untersuchungen bezüglich des Erhalts von antenatalen Steroiden | 37 |
| Untersuchungen zum Einsatz einer antibiotischen Therapie | 38 |
| Untersuchung zur Muttermilchversorgung | 39 |
| Komorbiditäten..... | 40 |
| Untersuchungen zum Auftreten einer Bronchopulmonalen Dysplasie | 40 |
| Auswirkungen der untersuchten Grunddaten und Komorbiditäten auf den BPD-Schweregrad | 43 |
| Allgemeine Untersuchungen zur bakteriellen Besiedlung und Kategorisierung des Keimspektrums | 46 |
| Bakterielle Besiedlung des nasopharyngealen Raums und des Analsbereichs..... | 47 |
| Differenzierung der Keime nach potentieller Pathogenität und Gram-Färbung | 48 |
| Mikrobielle Besiedelung in den ersten 6 Lebenswochen und Schweregrad der BPD | 53 |

| | |
|---|-----------|
| Einfluss der Ko-Variable <i>antibiotische Therapie</i> auf die Keimbesiedelung der oberen Atemwege und das Auftreten einer moderaten/schweren BPD | 53 |
| Einfluss der Ko-Variable <i>Erhalt von Muttermilch</i> auf die Keimbesiedelung der oberen Atemwege und das Auftreten einer moderaten/schweren BPD | 56 |
| Diskussion | 58 |
| Beurteilung der Keimnachweise innerhalb der Kohorte | 59 |
| Beurteilung BPD-Häufigkeit und Schweregrad-Verteilung der Kohorte . | 60 |
| Auswirkungen der Grunddaten auf den BPD-Schweregrad | 61 |
| Einteilung der nachgewiesenen Bakterien nach der potentiellen Pathogenität und der Differenzierung nach der Gram-Färbung | 61 |
| Auswirkung der beiden Bakterienkategorisierungen auf das Auftreten einer moderaten/schweren BPD | 62 |
| Beurteilung des Auftretens bestimmter Komorbiditäten und deren Auswirkung auf den BPD-Schweregrad | 63 |
| Auswirkungen von Versorgungsmaßnahmen mit nachgewiesenem Effekt auf die mikrobielle Besiedelung und das Auftreten einer moderaten/schweren BPD | 64 |
| Limitierungen und Stärken der Arbeit | 67 |
| Ausblick | 68 |
| Zusammenfassung | 69 |
| Summary | 70 |
| Abkürzungsverzeichnis | 71 |
| Abbildungsverzeichnis | 73 |
| Tabellenverzeichnis | 75 |

| | |
|--------------------------------------|-----------|
| Literaturverzeichnis | 77 |
| Publikationsverzeichnis..... | 89 |
| Ehrenwörtliche Erklärung..... | 90 |
| Gender Erklärung | 91 |
| Danksagung | 92 |

Einleitung

Frühgeborene

Definition

Von einem frühgeborenen Kind spricht man per Definition, wenn dieses lebend vor Vollendung der 37. Schwangerschaftswoche (SSW), also $< 37+0$ SSW, zur Welt kommt, oder weniger als 259 Tage zwischen dem ersten Blutungstag der letzten Menstruation und der Geburt liegen. Der Entbindungsweg, ob per sectio caesarea (Kaiserschnitt) oder per Spontanpartus, das Geburtsgewicht (GG) sowie die Ursache der vorzeitigen Geburt spielen diesbezüglich keine Rolle. Je nachdem wie weit die Schwangerschaft (SS) fortgeschritten ist, werden die Frühgeborenen (FG) folgendermaßen kategorisiert:

- extrem Frühgeborene: Geburt vor Vollendung der 28. SSW ($< 28+0$ SSW)
- sehr Frühgeborene: Geburt nach Vollendung der 28. SSW bis vor Vollendung der 32. SSW ($\geq 28+0$ SSW bis $< 32+0$ SSW)
- moderate bis späte Frühgeborene: Geburt nach Vollendung der 32. SSW bis vor Vollendung der 37. SSW ($\geq 32+0$ SSW bis $< 37+0$ SSW)

(Howson et al., 2012).

Eine weitere Möglichkeit zur Einteilung von Frühgeborenen richtet sich nach dem vorliegenden Geburtsgewicht (GG):

- Kinder mit extrem niedrigem Geburtsgewicht (ELBW): $GG < 1000g$
- Kinder mit sehr niedrigem Geburtsgewicht (VLBW): $GG < 1500g$

(Garbe, 2011).

Zahlen und Fakten

Laut der Weltgesundheitsorganisation (WHO) kommt jährlich jedes zehnte Kind als Frühgeborenes zur Welt, dies entspricht ca. 15 Millionen Kindern. Rund eine Million dieser Kinder versterben aufgrund Komplikationen im Rahmen ihrer Frühgeburtlichkeit (Howson, C. et al., 2012). Damit zählt die Frühgeburtlichkeit zu den führenden Gründen der unter 5-Jahres-Mortalität bei Kindern (Liu et al., 2016). Auch wenn im Jahre 2010 60% der weltweiten Frühgeburten in Afrika und im süd-asiatischen Raum auftraten, ist die Frühgeburtlichkeit weiterhin ein globales Problem. Dies zeigt die Arbeit von Blencowe et al. aus dem Jahr 2012, in dessen Übersicht beispielsweise die USA unter den 10 Ländern mit den höchsten absoluten Zahlen an Frühgeburten lag (Blencowe et al.,

2012). In weniger weit industrialisierten Länder kommen etwa 12% der Neugeborenen zu früh zur Welt, in den Industriestaaten sind es immerhin 9%. Des Weiteren zeigen sich höhere Frühgeburtenraten entlang des sozio-ökonomischen Gefälles, so tritt Frühgeburtslichkeit gehäuft in schwächeren sozio-ökonomischen Schichten auf (Howson, C. et al., 2012).

Die aktuellen Zahlen aus Deutschland stellt das Institut für Qualitätssicherung und Transparenz im Gesundheitswesen (IQTIG) in der jährlichen Bundesauswertung der Geburtshilfe zur Verfügung. Laut dessen Bericht aus dem Jahr 2020, welcher das Erfassungsjahr 2019 widerspiegelt, kamen im Jahr 2019 insgesamt 765.636 Kinder in den bundesweiten Geburtskliniken zur Welt. 64.437 (8,4%) der Kinder waren Frühgeborene und davon 4.587 (0,6%) extreme Frühgeborene, welche vor der 28. SSW entbunden wurden. 5251 Kinder (0,68%) kamen mit einem Geburtsgewicht unter 1000g, 1096 Kinder (0,14%) sogar unter 500g zur Welt (IQTIG, 2020).

Trotz des medizinischen Fortschrittes stieg laut WHO und Blencowe et al. die Anzahl der Frühgeburten zwischen 1990 und 2010 zunehmend an (Howson, C. et al., 2012), (Blencowe et al., 2012) und stabilisierte sich erst in den letzten Jahren. So lag der Prozentanteil an Frühgeborenen in Deutschland im Jahr 2015 bei 8,8% und im Jahr 2019 bei 8,4% ebenfalls stabil (IQTIG, 2016), (IQTIG, 2020).

Prognose bei Frühgeborenen mit einem sehr niedrigen Geburtsgewicht

Die Prognose von Frühgeborenen, im Allgemeinen gemessen an den Überlebenschancen, hat sich in den letzten Jahrzehnten durch Fortschritte in der Betreuung von Risikoschwangeren und der perinatalen Versorgung sowie in der neonatalen Intensivmedizin stetig verbessert. Gegenwärtig überleben über 90% dieser Risikopatienten die Neonatalperiode, bei einem Gestationsalter $\geq 32+0$ SSW in Industriestaaten sogar nahezu alle Kinder. Dennoch sind weiterhin etwa 75% der perinatalen Todesfälle durch eine Frühgeburt bedingt (Slattery & Morrison, 2002). Eine Vielzahl der Frühgeborenen weisen eine hohe Rate an Spätfolgen mit schweren Beeinträchtigungen auf, zu denen unter anderem Zerebralparesen (2-9%) sowie schwerste Seh- (2-18%) und Hörbehinderungen (2-4%) zählen. Die Angaben beziehen sich auf extreme Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht unter 1500g, welche in den 1990er Jahren entbunden wurden (Speer et al., 2019). Auch neurologische Defizite und psycho-motorische sowie kognitive Entwicklungsverzögerungen und -defizite können Folgen einer Frühgeburt sein (Slattery & Morrison, 2002). Als positive Einflussfaktoren

auf die Entwicklung und das Überleben von extremer Frühgeborenen gelten das weibliche Geschlecht, Einlingsschwangerschaften sowie eutrophes Gedeihen bis zur Geburt (Berger et al., 2017). Eine weitere wichtige Rolle nimmt die Lungenreife ein, welche mittels Cortisongaben pränatal erfolgt. Sie senkt nicht nur die neonatale Mortalität, sondern reduziert auch die Prävalenz des Atemnotsyndroms und chronischer Lungenerkrankungen, zwei großen Komplikationen nach Frühgeburtlichkeit (Berger et al., 2019).

Pulmonale Komplikationen nach Frühgeburtlichkeit

Ursächlich für die meisten Komplikationen nach einer Frühgeburt ist die Unreife der Organe und damit verbunden auch deren eingeschränkte Funktion. Hierdurch können im Verlauf postnatal unterschiedlich stark ausgeprägte akute Problematiken, aber auch chronische Folgeschäden entstehen. In den folgenden Abschnitten werden die zwei häufigsten und auf die im weiteren Verlauf der Arbeit Bezug genommen pulmonalen Komplikationen, das akute Atemnotsyndrom und die chronische Lungenerkrankung Bronchopulmonale Dysplasie, beschrieben.

Atemnotsyndrom/ chronische Lungenerkrankung

Für bis zu 60% der Frühgeborenen mit einem Gestationsalter <30. SSW ist das Atemnotsyndrom (ANS) die häufigste Ursache für eine postnatale respiratorische Anpassungsstörung. Vor der Identifizierung der Problematik des Atemnotsyndroms, nämlich dem Mangel des oberflächenaktiven Surfactantsystems, verstarben knapp 50% dieser Kinder (Speer, 2020). Bei extremen Frühgeborenen ist die Lunge strukturell noch sehr unreif. In der 24. SSW befindet sich die Lungenentwicklung im kanalikulären bis sakkulären Stadium. Die Alveolargänge und ersten Sakkulae sowie die parallele Vaskularisierung, welche zusammen für den Gasaustausch notwendig sind, bilden sich erst zu diesem Zeitpunkt aus. Ebenso startet die Differenzierung der für die Surfactantproduktion notwendigen Typ II-Pneumozyten in dieser Phase, weshalb Surfactant nur in verminderter Menge vorliegt (Joshi & Kotecha, 2007). Surfactant besteht aus verschiedenen Phospholipiden (Lecithin und Phosphatidylcholin) sowie hochmolekularen hydrophilen Apoproteinen und kleidet das Alveolarsystem aus. Es vermindert die Oberflächenspannung und verhindert den Alveolarkollaps bei der Expiration. Beim Atemnotsyndrom mit unzureichender Surfactantmenge ist somit ein

erhöhter Eröffnungsdruck der Alveolen notwendig. Atelektasen, Hypoxien, respiratorische Erschöpfung und höhere Beatmungsdrücke sind die Folgen des Surfactantmangels. Klinische Symptome sind Tachypnoe und Dyspnoe mit deren klassischen Zeichen (juguläre und interkostale Einziehungen, Nasenflügeln) sowie Knorksen und Zyanose. Die Surfactant-Substitution ist die kausale Therapie, zusätzlich kann bei Frühgeborenen eine supportive Atemunterstützung bis hin zur maschinellen Beatmung notwendig sein (Speer, 2020), (Speer et al., 2019).

Je nach Verlauf der respiratorischen Situation mit Abhängigkeit von Dauer und Intensität der maschinellen invasiven oder non-invasiven Beatmung, Sauerstoffbedarf (O₂-Bedarf) sowie weiteren Einflüssen der postnatalen Episode der Frühgeborenen können chronische Atemwegserkrankungen wie die bronchopulmonale Dysplasie entstehen.

Bronchopulmonale Dysplasie (BPD)

Definition der BPD

Die bronchopulmonale Dysplasie ist eine chronische Lungenerkrankung bei Frühgeborenen. Obwohl die Forschung in der Neonatologie und somit die Behandlung der Frühgeborenen erheblich vorangeschritten ist, liegt das Inzidenzlevel der BPD bei Kindern, die unterhalb eines Gestationsalters von 30 SSW geboren wurden, in vielen europäischen Ländern bei über 30% (Gortner et al., 2011), bei einem Gestationsalter unter der 28. SSW sogar laut Daten aus den Vereinigten Staaten zwischen 48-68% (Thekkeveedu, Guaman, & Shivanna, 2017). Somit zählt die BPD zu den häufigsten und schwerwiegendsten pulmonalen Morbiditäten bei Frühgeborenen.

Die weitverbreitetste und auch für die Analysen dieser Arbeit genutzte Definition ist die von A. Jobe und E. Bancalari aus dem Jahre 2001. Die Diagnose BPD liegt vor, wenn die Behandlung mit Sauerstoff von >21 % für mindestens 28 Tage bei Frühgeborenen mit einem Gestationsalter <32+0 SSW bestand.

Zur Einteilung des Schweregrades der BPD der Kinder, welche <32+0 SSW geboren wurden, wird die respiratorische Situation mit 36+0 SSW, bzw. bei Entlassung, wenn diese vor 36+0 SSW erfolgt, beurteilt. Liegt zu diesem Zeitpunkt kein Sauerstoffbedarf mehr vor, entspricht dies einer milden BPD (Grad 1). Besteht ein Sauerstoffbedarf <30% liegt eine moderate BPD (Grad 2) und bei einem Sauerstoffbedarf $\geq 30\%$ und/ oder maschineller Beatmung/CPAP eine schwere BPD (Grad 3) vor (Tabelle 1, Seite 5), (Bancalari et al., 2001).

Tabelle 1: Modifizierte Tabelle zu Übersicht der BPD-Einteilung nach Jobe/Bancalari 2001

| | |
|-------------------------------------|--|
| Gestationsalter bei Geburt | < 32+0 SSW |
| Untersuchungszeitpunkt | 36+0 SSW/ bei Entlassung |
| Behandlung mit O ₂ > 21% | für mindestens 28 Tage |
| Milde BPD (Grad 1) | O ₂ -Bedarf für mindestens 28 Lebenstage, aber kein zusätzlicher O ₂ -Bedarf mit 36+0 SSW/ bei Entlassung |
| Moderate BPD (Grad 2) | O ₂ -Bedarf für mindestens 28 Lebenstage sowie O ₂ -Bedarf <30% mit 36+0 SSW/ bei Entlassung |
| Schwere BPD (Grad 3) | O ₂ -Bedarf für mindestens 28 Lebenstage sowie O ₂ -Bedarf > 30% und /oder Maschinelle Beatmung/ CPAP mit 36+0 SSW/ bei Entlassung |

Historische Aspekte der BPD - Alte versus Neue BPD

Erstmalig beschrieben wurde die bronchopulmonale Dysplasie 1967 von Northway et al. als eine chronische Lungenerkrankung bei Frühgeborenen nach Atemnotsyndrom aufgrund von Surfactantmangel. Als ursächlich für diese klassische Form wurden eine aggressive maschinelle Beatmung mit konsekutiven Volutraumata und die hohen Sauerstoffkonzentrationen bei der Beatmung angesehen. Beschriebene Folgen waren die Entzündungen des Lungengewebes, welche zu Fibrosen, Narben und Langzeitfolgen mit fortbestehenden pulmonalen Symptomen geführt haben (Northway et al., 1967).

In weit über 50 Jahren nach der Erstbeschreibung der BPD hat die Medizin viele Fortschritte erzielt. Inzwischen haben der Einsatz von antenatalen Steroiden zur Lungenreife, die exogene Surfactantsubstitution und große Entwicklungen in der postnatalen intensivmedizinischen Versorgung von extremen Frühgeborenen inklusive schonenderen Beatmungsformen die Mortalität dieser Kinder signifikant verringert. Trotz der Verbesserung hinsichtlich vieler der von Northway als ursächlich beschriebenen Risikofaktoren der BPD bleibt die Inzidenz in dieser Patientenkohorte fast unverändert hoch (Bancalari & Jain, 2019). Dies liegt zum einen daran, dass mit dem Fortschritt der intensivmedizinischen Therapie immer mehr und immer unreifere Frühgeborene die Neonatal- und Säuglingsperiode überleben und zum anderen an den

multifaktoriellen Ursachen der BPD, weshalb bis heute nur wenige Therapeutika mit begrenzter Effektivität zur Verfügung stehen (Götz et al, 2021). Gleichzeitig hat sich die Histopathologie und das Verständnis der Ursachen der Lungenschädigung grundlegend verändert. War bei der Erstbeschreibung durch Northway die Lungenschädigung der Lungenstrukturen durch oft lange Phasen mechanischer Beatmung und hohe Sauerstoffkonzentrationen führend, haben die Einführung der antenatalen Steroidprophylaxe und die postnatale Surfactantgabe die Frühgeborenenversorgung revolutioniert. Dies ist verbunden mit einem neuen Verständnis der BPD. Als heutige Ursache für die Entstehung der BPD wird die Störung der Lungenentwicklung nach Geburt vor allem im späten kanalikulären, sakkulären und frühen alveolären Reifestadium angesehen. In diesem kritischen Stadium kommt es normalerweise zur Ausbildung der primitiven Alveolen mit Differenzierung der Pneumozyten Typ I und Typ II sowie der Vaskularisierung (Shahzad et al., 2016), weshalb die Lunge bezüglich toxischer Einflüsse wie Infektionen, maschineller Beatmung und hochkonzentrierter Sauerstoffgaben besonders anfällig ist. Durch die gestörte Alveolarisierung und Vaskulogenese kommt es somit zu einer kombinierten Lungenentwicklungsstörung (Niedermaier & Hilgendorff, 2015). Identisch bei beiden Formen der BPD sind jedoch die Konsequenzen bezüglich der pulmonalen Langzeitfolgen und Lungenfunktionseinschränkungen der Patienten im Kindheits- und Erwachsenenalter (siehe *Lebenslange Konsequenzen und Langzeitfolgen der BPD*, Seite 7).

Ursachen der neuen BPD

Die Entstehung der neuen BPD gilt als multifaktoriell bedingt. Um die Risikofaktoren übersichtlicher darzustellen, kann die Einteilung in prä-, peri- und postnatale Ursachen hilfreich sein. Zu den prä- und perinatalen Risikofaktoren zählen neben einem geringen Gestationsalter und Geburtsgewicht, welches mit der Unreife der Lungenentwicklung im vulnerablen Stadium des kanalikulären und sakkulären und der somit verminderten Surfactantbildung und dem Atemnotsyndrom korreliert, die genetische Prädisposition. Des Weiteren gelten ante- und perinatale Infektionen wie eine Chorioamnionitis oder neonatale Pneumonien sowie eine eventuell schon vorliegende Wachstumsrestriktion der Lunge des Kindes durch eine Plazentainsuffizienz oder ein maternaler Nikotinabusus als problematisch. Alle diese Faktoren greifen schon vor der Frühgeburt die unreife Lunge an und setzen, sofern sie inflammatorische Stimuli darstellen, bereits Inflamationsprozesse in Gang (Lignelli et al., 2019). Postnatal folgen weitere Noxen

wie hohe Sauerstoffkonzentrationen, maschinelle Beatmung, erneute Infektionen (nosokomial), Flüssigkeitsüberflutung, Defizite in der nutritiven Versorgung und mikrobiologischen Besiedelungen während der intensivmedizinischen Versorgung, welche das vulnerable Lungengewebe weiter schädigen und negative Auswirkungen auf die weitere Entwicklung der Lunge haben. Eine große Rolle in diesen Abläufen spielen Inflammationsreaktionen, wodurch es zu einer Dysbalance zwischen pro-inflammatorischen Zytokinen (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α), Makrophagen, Neutrophilen und anti-inflammatorischen Zytokinen (IL-10, IL-4, IL-12, IL-13 oder IL-1 Rezeptor-Antagonisten) sowie Wachstumsfaktoren kommt (Speer, 2006), (Shahzad et al., 2016). Dadurch kommt es zu einer Rarefizierung der Alveolen und durch eine verminderte Vaskularisierung bedingt auch zu einer reduzierten Oberfläche für den Gasaustausch (Shahzad et al., 2016). Diese Entwicklungsdefizite können wiederum zu verlängerten Beatmungszeiten und einem prolongierten Sauerstoffbedarf führen. Der große Einfluss von Infektionen auf die Entstehung der BPD konnte bereits in Meta-Analysen gezeigt werden (Hartling et al., 2012), weshalb weitergehende Untersuchungen diesbezüglich, vor allem die postnatalen Infektionen betreffend, von großer Bedeutung sein können. Hier könnte auch die mikrobiologische Besiedelung der oberen Atemwege mit positiven und negativen Auswirkungen auf die Entstehung der BPD wichtige neue Erkenntnisse liefern.

Lebenslange Konsequenzen und Langzeitfolgen der BPD

Auch wenn sich die beiden Formen der „Neuen“ und „Alten“ BDP deutlich unterscheiden, sind die Konsequenzen bezüglich der Langzeitfolgen der Patienten im Kindheits- und Erwachsenenalter jedoch nahezu identisch. Beide Formen führen zu fortbestehenden lebenslangen pulmonalen Symptomen und einer reduzierten Lungenfunktion (Mcevoy & Aschner, 2015). Des Weiteren besteht auch ein assoziiertes, erhöhtes Risiko für Entwicklungsschwächen und -defizite im somatischen und psychomotorischen Bereich (Shahzad et al., 2016), (Johnson et al., 2009).

Da heutzutage durch die enormen Weiterentwicklungen in der Versorgung von extremen Frühgeborenen ein Großteil des Patientenkontingents das Erwachsenenalter erreicht, sind nun immer mehr Verlaufsdaten bezüglich der Langzeitfolgen der BPD vorhanden, die eindeutig belegen, dass ein Aufholwachstum der Lungenfunktion in der weiteren Kindheit ausbleibt. Eine bereits im Neonatalalter auftretende und mit der BPD assoziierte schwere Komplikation ist die Pulmonale Hypertonie (PHT). Da sich die BPD nicht nur negativ auf die Entwicklung des Lungengewebes auswirkt, sondern auch mit einer

Rarefizierung der pulmonalen Gefäße sowie deren Remodeling mit einem erhöhten Tonus und einer veränderten Vasoreaktion einhergeht, gilt sie prädisponierend für die Entstehung einer PHT, auch wenn diesbezüglich über die Kausalzusammenhänge und Risikofaktoren noch wenig bekannt ist (Berkelhammer et al., 2013). Durch die vorliegenden Veränderungen der Pulmonalgefäße kommt es zu einem erhöhten Gefäßwiderstand mit reduzierter Lungendurchblutung. Dies führt zu einer Oxygenierungsstörung und nachfolgend zu einer Rechtsherzbelastung, welche zu einer Insuffizienz mit Dysfunktion des rechten Ventrikels und schlussendlich zu einem Herzversagen führen kann (Hislop & Haworth, 1990). Somit hat die Entwicklung einer BPD-assoziierten PHT enorme Auswirkungen auf die Mortalität der betroffenen Kinder. Retrospektive Analysen zeigen sowohl ein erhöhtes Auftreten von einer schweren PHT als auch eine erhöhte Mortalität (14-38%) bei Kindern mit vorliegender BPD (Khemanie et al., 2007), (An et al., 2010), (Slaughter et al., 2011). Laut einer neueren Studie aus dem Jahr 2012 liegt die Inzidenz der PHT bei Kindern mit BPD um die 18% (Bhat et al., 2012). Des Weiteren können mehrere Studien zeigen, dass Frühgeborene, die an einer schweren BPD litten, bereits im Grundschul- und bis ins hohe Erwachsenenalter hinein vermehrt an respiratorischen Symptomen mit einem hyperreagiblen Bronchialsystem mit Asthma-ähnlichem Phänotyp, Lungenfunktionseinschränkungen und auch schwereren Verläufen bei akuten viralen Infektionen leiden, welche gehäuft in der Entwicklung einer chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (COPD) münden können (McGrath-Morrow & Collaco, 2019). Bereits Anfang der 1990er Jahre zeigten Northway et al., dass Säuglinge mit einer BPD im Verlauf an Atemwegobstruktionen mit Abnahme des forcierten Expirationsvolumen sowie einer verminderten Vitalkapazität und akuten Atembeschwerden litten. Zusätzlich traten vermehrte Episoden mit Pneumonien, Keuchen und Belastungseinschränkungen auf (Northway et al. 1990). Auch wenn man im Laufe der Jahre belegen konnte, dass sich die Lungenmechanik in den ersten Lebensjahren zu stabilisieren scheint, zeigen sich im Verlauf bei diesen Kindern doch weiterhin deutliche Einschränkungen in der Lungenfunktion, vor allem gemessen an reduzierten forcierten Expirationsströmen (Baraldi et al., 1997). Auch neuere Studien weisen auf fortbestehende Einbußen bezüglich der Lungenfunktion, vor allem gemessen am forcierten Expirationsvolumens und der Vitalkapazität, hin (Vom Hove et al., 2014). Dies belegt ebenso die 59 Studien-umfassende Meta-Analyse von Kotecha et al. aus dem Jahre 2013, wie auch die späteren Folgeanalysen von 2022, welche knapp 19% niedrigere

FEV1-Werte bei Kindern mit BPD im Alter von 36+0 SSW im Vergleich zu termingerecht-geborenen Säuglingen zeigen (Kotecha et al., 2013, Kotecha et al., 2022). Neben einer Einschränkung der Lungenfunktion deutet die aktuelle Studienlage auf einen vermehrt auftretenden Asthma-ähnlichen Phänotyp im Schulkindalter bzw. ein hyperreagibles Bronchialsystem hin, auch wenn diesbezüglich aufgrund der unterschiedlichen Studiendesigns keine Signifikanz besteht (Pérez Tarazona et al., 2018), (Fawke et al., 2010). Eine Studie von Vom Hove et al. aus dem Jahr 2014 mit einer Analyse von 56 Frühgeborenen im Grundschulalter von 9,5 Jahren belegt dies ebenfalls. Hier litten etwa 38% der Kinder, welche im postnatalen Alter von 36+0 SSW eine BPD aufwiesen, an respiratorischen Symptomen, in der Kontrollgruppe jedoch nur 8%. Bezüglich der Anwendung einer Asthma-Medikation im Sinne von Bronchodilatoren waren die Ergebnisse mit 21% zu 0% noch deutlicher. Die Einschränkungen der Lungenfunktion sowie körperliche Symptome im Sinne von Keuchen oder Leistungseinschränkungen, aber auch ärztlich diagnostiziertes Asthma reduzieren die Lebensqualität dieser Patienten bis ins Erwachsenenalter (Gough et al., 2014). Frauen scheinen vereinzelt Studien zufolge vermehrt unter diesen klinischen Symptomen zu leiden (Vrijlandt et al., 2005). Frühgeborene zeigen im Vergleich zu reifgeborenen Säuglingen zusätzlich erhöhte Hospitalisierungsraten aufgrund von viralen Infekten, beispielsweise mit dem Respiratory-Syncytial-Virus (RSV) (Greenough et al., 2009), (Greenough, 2012).

Doch nicht nur bezüglich der pulmonalen Situation, sondern auch im Bereich der psychomotorischen und neurologischen Entwicklung kommt es bei Patienten mit BPD zu Entwicklungsstörungen und -defiziten. Bereits 1997 veröffentlichte Daten von Singer et al. zeigten bei 21% der in der Studie untersuchten 122 an einer BPD leidenden Kindern im Alter von 3 Jahren eine motorische Verzögerung bzw. Retardierung. Im gleichen Ausmaß zeigten sich auch geistige Retardierungen mit Lernbehinderung und Defiziten im sozialen Miteinander. Als ursächlich werden unter anderem Hirnatrophien und -gliosen nach vermehrten Hypoxieereignissen im Rahmen der BPD angesehen (Singer et al., 1997). Diese frühen Ergebnisse bestätigte die Arbeitsgruppe von Gray et al. im Jahr 2004, deren Daten Defizite vor allem im Sprachbereich und der Lesekompetenz sowie in knapp 40% der Fälle auch einen signifikant niedrigeren IQ bei Kindern mit BPD im Vergleich zu gleichaltrigen Kindern ohne BPD im Grundschulalter aufzeigten (Gray et al., 2004). Auch ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung von Zerebralpareesen, Seh- und Hörstörungen wird mit dem Vorliegen einer BPD und Frühgeburtlichkeit assoziiert (Vohr

et al., 2005), (Johnson et al., 2009), (Speer et al., 2019). Neuste Daten von Jaekel et al. aus 2013 belegen bei Zunahme der kognitiven Belastung im Rahmen von mathematischen Aufgaben und Problemlösefähigkeiten verminderte Leistungen im Vergleich zu termingerecht entbundenen Kindern (Jaekel et al., 2013). Zusammenfassend kann man sagen, dass das Auftreten einer BPD das Risiko des Todes, bzw. des Überlebens mit einer der oben genannten Behinderungen bis zum fünften Lebensjahr verdoppelt (Schmidt et al., 2015).

Präventions- und Therapiemaßnahmen der BPD

Im Hinblick auf die verheerenden Folgen sowohl das pulmonale als auch das neurologische Outcome betreffend, wird schon seit langem und unter größten Bemühungen an Präventions- und Therapiemöglichkeiten der BPD geforscht. Da die Pathogenese wie unter *Historische Aspekte der BPD - Alte versus Neue BPD* (Seite 5) und *Ursachen der Neuen BPD* (Seite 6) bereits erläutert durch Entzündungsgeschehen, welche multifaktoriell bedingt sind, gekennzeichnet ist, stellt dies eine große Herausforderung dar. Erste große Erfolge waren neben der Einführung der Surfactanttherapie auch der Einsatz von antenatalen Steroiden. Beide Medikamente ermöglichten zum einen durch die Verminderung der Ausprägung des Atemnotsyndroms und zum anderen durch die Förderung der Lungenreife eine zunehmende Stabilisierung der postnatalen Beatmungssituation, was deutlich geringere Sauerstoffgaben sowie weniger aggressive Beatmungsmanöver und -strategien erforderlich macht. Dadurch werden die bereits 1967 von Northway et al. als ursächlich angesehene Volumotraumata und die Sauerstofftoxizität reduziert, was sich somit präventiv auf die Entstehung einer BPD auswirkt (Northway et al., 1967). Die Steroide wirken sich jedoch nicht nur auf eine Reduktion der pulmonalen Symptome aus, sondern vermindern auch das Risiko für mittelschwere bis schwere Zerebralparesen und sind mit einer besseren sensomotorischen Entwicklung gemessen am Bayley Psychomotor Development Index assoziiert (Vohr et al., 2005).

Als weiterer Therapieansatz gilt die Zufuhr von Coffeincitrat zur Reduktion von Hypoxien und dem Beatmungsbedarf, was zum einen zu einem verringerten Sauerstoffbedarf mit präventivem Einfluss auf die BPD-Entstehung führt und zum anderen die Hirnschädigung und somit ein negatives neurologisches Outcome reduziert (Schmidt et al., 2006), (Schmidt et al., 2015). Darüber hinaus darf die anti-oxidative

Komponente der Wirkung, welche in präklinischen Modellen mit neugeborenen Nagetieren bestätigt wurde, nicht unterschätzt werden (Choi et al., 2021).

Neuere Präventionsansätze umfassen den Einfluss der postnatalen Ernährung der Frühgeborenen und die Supplementierung von Vitaminen wie beispielsweise Vitamin A. Die eigene Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass eine erhöhte postnatale Kalorienzufuhr, vornehmlich über eine höhere Kohlenhydratsubstitution innerhalb der ersten 14 Lebenstagen, den BPD-Schweregrad signifikant senken konnte. Des Weiteren senkt ein rascher enteraler Kostaufbau ohne rezidivierende Nahrungskarenzen das Risiko der Entstehung einer schweren BPD (Thiess et al., 2021). Bezüglich der Supplementierung von Vitaminen, beispielsweise des Vitamin A, gibt es noch wenige sichere Daten. Zusammenfassend deuten die Ergebnisse jedoch auf eine positive Beeinflussung hinsichtlich einer reduzierten Sauerstoffpflichtigkeit sowie einer reduzierten Todesrate und Krankenhausaufenthaltsdauer hin (Darlow & Graham, 2011), (Araki et al., 2018).

Das Mikrobiom des Frühgeborenen

Das Mikrobiom des Menschen beschreibt die Gesamtheit aller Bakterien, Viren und Pilze, die unseren Organismus besiedeln und in symbiotischer, kommensaler oder pathogener Interaktion mit uns leben. Durch weiter voranschreitende Erkenntnisse in der Forschung ist heute bekannt, dass jeder Bereich, jedes Organ des menschlichen Körpers eine mikrobielle Besiedelung aufweist, inklusive des Uterus und der Plazenta (Stauda et al., 2018). Somit gilt die Annahme der Amnionhöhle als sterile Umgebung für den Fetus als veraltet. Entgegen der weiteren Annahme, dass jede bakterielle Besiedelung der Amnionhöhle der Auslöser für eine Infektion und einer Frühgeburt sein muss, zeigten Combs et al., dass auch eine Besiedelung ohne Infektion möglich ist (Combs et al., 2014). Die Feten sind demnach bereits intrauterin einem wechselhaften Mikrobiom ausgesetzt, welches aus dem mütterlichen Genitaltrakt aufsteigt, oder durch hämatogene Streuung diaplazentär aus dem Mund- und dem Gastrointestinal-Bereich sowie der Plazenta in die Amnionhöhle gelangen kann. Mit Fortschreiten der Schwangerschaft nimmt auch die numerische Anzahl an Keimen und deren Vielfalt zu (Romero et al., 2014). Durch das Schlucken des Fruchtwassers gelangen die Keime in den Magen-Darm-Trakt und die Lunge der Kinder. Die mikrobielle Besiedelung findet demnach schon vor der Geburt statt und unterstützt die Entwicklung des fetalen Immunsystems. Postnatal erfolgt dann

die Besiedelung der Haut mit maternaler Vaginal-, Darm-, Haut- sowie der Umgebungsflora.

Besiedelung mit potentiell pathogenen Keimen und Dysbiosen - Die Folgen

Das Un- bzw. Neugeborene kommt prä-, peri- und postnatal neben den physiologischen Kommensalen, auch z.B. im Rahmen eines Amnioninfektionssyndroms, bei der vaginalen Geburt oder durch den Aufenthalt auf der Intensivstation mit potentiell pathogenen Keimen in Kontakt. Hierdurch können Dysbiosen entstehen und Infektionen auf das Un- bzw. Neugeborene übertragen werden. Schwere Infektionen, nekrotisierende Enterokolitiden und Organschäden bis hin zum Tod können die schwerwiegenden Folgen sein. Infektionen zählen noch immer weltweit mit zu den führenden Gründen der neonatalen Mortalität und Morbidität. Das Keimspektrum bezüglich der häufigsten intrauterinen Infektionen wird unter dem Akronym TORCH (Toxoplasmose, Others (z.B. Varizellen und HIV), Röteln, Cytomegalie, Herpes simplex) zusammengefasst. Sie werden über das mütterliche Blut diaplazentär übertragen und können zu einer Embryo- oder Fetopathie führen. Die perinatalen Infektionen entstehen, wie der Name schon vermuten lässt, durch Keimübertragung kurz vor oder während der Geburt. Die häufigsten Risikofaktoren dieser Infektionskategorie sind der vorzeitige Blasensprung, pathologische Keimbesiedelungen des Geburtskanales (β -hämolyisierende Streptokokken der Gruppe B, E. coli und Mykosen) und das Amnioninfektionssyndrom (Bernier R. et al., 2018). Da es sich bei den Frühgeborenen aufgrund der geschwächten Infektionsabwehr, welche durch eine Unreife der zellvermittelten spezifischen und der humoralen Immunität verursacht wird, um eine besonders vulnerable Patientengruppe handelt, stellen auch die Keime der Umgebungsflora auf der neonatologischen Intensivstation eine besondere Gefährdung dar. So registrierte das Nationale Referenzzentrum für Surveillance (NRZ) zwischen Januar 2017 und Dezember 2020 bei 20,6% der 14.119 in diesem Zeitraum entbundenen Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht <1000g eine schwere nosokomiale Infektion. Bei 2,2% dieser Infektionen handelte es sich um Pneumonien (NRZ, 2021). Nosokomiale Infektionen sind definiert durch ihr Auftreten mindestens 72 Stunden postnatal in einem stationären Klinikaufenthalt, was für extreme Frühgeborene bedeutet, dass die Infektionen häufig durch ein besonderes Keimspektrum auf der neonatologischen Intensivstation bedingt sind. Bezüglich der Auslöser dieser Infektionsgruppe ist die Datenlage speziell bei Frühgeborenen gering, doch bereits 1989 wurden Daten über häufige nosokomiale Infektionen besonders auf neonatologischen

Intensivstationen mit gram-positiven Bakterien (50%), gram-negativen Bakterien (18%) sowie Viren (23%) und anderen Erregern (5%) veröffentlichen. Auch Pilzinfektionen lagen in bis zu 4% vor (Ford-Jones et al., 1989). Der Großteil der Infektionen ist jedoch bakteriell bedingt. Ausgelöst durch den häufigen Einsatz breit wirkender Antibiotika bei Frühgeborenen spielen auch die Selektion pathogener Erreger und multi-resistenter Keime bezüglich nosokomialer Infektionen auf der neonatologischen Intensivstation eine große Rolle. Die Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention weist in ihrer „Empfehlung zur Prävention nosokomialer Infektionen bei neonatologischen Intensivpflegepatienten mit einem Geburtsgewicht unter 1500g“ auf Kolonisationen mit Methicillin-resistenten *Staphylokokkus aureus* (MRSA) und Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE) das gram-positive Spektrum betreffend, sowie im gram-negativen Bereich mit Serratien, Klebsiellen und *Acinetobacter* spp. hin (KRINKO, 2007).

Auch der Zusammenhang zwischen der bakteriellen Besiedelung des Darms und der Entstehung der nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) wurde bereits vor über 40 Jahren von Santulli et al. beschrieben (Santulli et al., 1975). Diese entzündliche Erkrankung des Darmes, welche immer noch den schwerwiegendsten den Magen-Darmtrakt betreffenden Notfall für Früh- und Neugeborene darstellt, tritt in 5-10% bei Frühgeborenen und nur sehr sporadisch bei reifgeborenen Kindern auf (Cuna et al., 2021). Auch wenn der NEC eine multifaktorielle Genese zu Grunde liegt, ist sie zum Teil auch in den unterschiedlichen intestinalen Mikrobiomen bei den betroffenen Patienten begründet. Wohingegen Bifidobakterien und *Bacteroides* die überwiegende Darmflora bei reifen Neugeborenen bilden, dominieren bei extremen Frühgeborenen Proteobakterien das intestinale Mikrobiom (Stauder et al., 2018). Diese intestinalen Dysbiosen gelten als wichtiger Aspekt der multifaktoriellen Genese der NEC. Zahlreiche Studien belegen den Einfluss einer verminderten Diversität der bakteriellen Flora sowie einer verminderten Anzahl von gram-negativen Firmicutes-Formen bei einem deutlich erhöhten Nachweis von Proteobakterien und pathogenen Keimen wie *Enterobacter*, *E. coli* und Klebsiellen in Zusammenhang mit der Entstehung der NEC (Boccia et al., 2001), (Millar et al., 1992), (Pammi et al., 2017), (Warner et al., 2016).

Als ursächlich für die Besiedelung der Frühgeborenen mit diesen teils hochpathogenen Keimen werden sowohl die Übertragungen durch besiedelte Eltern sowie Fachpersonal, bedingt durch unzureichende Hygienebedingungen, als auch die intensivmedizinische Therapie, die nach einer Frühgeburt notwendig ist (intravaskuläre Katheter, invasive- oder non-invasive Beatmung, Magensonden, parenterale Ernährung, Medikamente,

insbesondere Antibiotikatherapie und ggf. notwendige Operationen), angesehen (KRINKO, 2007).

Des Weiteren wird mikrobiellen Dysbiosen, hier sowohl die lokale, auf die Lunge begrenzte Besiedlung, als auch die pathologische Besiedelung an anderer Stelle wie dem Darm und bei Infektionen, ein hoher Einfluss auf die Entstehung von sowohl akuten als auch chronischen Lungenerkrankungen zugesprochen (Whiteside et al., 2021), (Wypych et al., 2019), (Man et al., 2017). So rückt die mikrobielle Besiedelung sowie die Dysbiosen und deren Auswirkungen auf Neu- und Frühgeborene auch im Hinblick auf die BPD in den letzten Jahren immer mehr in den Fokus der Forschung.

Die Auswirkungen des Mikrobioms auf die Entstehung der BPD

Nachdem seit den letzten Jahren die Pathogenese der neuen bronchopulmonalen Dysplasie zunehmend als multifaktoriell verstanden wird, gewinnt auch die Auswirkung der mikrobiellen Besiedelung der Lunge als Bestandteil dieser Genese der BPD immer mehr an Bedeutung. Der enorme Einfluss des Mikrobioms auf die Entstehung der BPD wurde unter anderem durch die von Dolman et al. im Jahr 2020 veröffentlichte Arbeit bezüglich der Lungenentwicklung bei keimfreien Mäusen belegt. Die Forschungsgruppe konnte zeigen, dass die Lungenentwicklung bei keimfreien und Mäusen mit einem eigenen Mikrobiom unter Normoxie keine signifikanten Unterschiede aufwiesen. Des Weiteren zeigten sich keine Unterschiede bezüglich der Lungenmechanik, der Entwicklung einer pulmonalen Hypertonie sowie der Vaskularisierung und Entzündungsmarker bzw. -modulatoren. Bedeutsame Unterschiede zeigten sich jedoch nach Hyperoxie-Exposition und bei der Hyperoxie-induzierten Lungenschädigung, die vergleichbare Pathomechanismen hat wie die BPD-Entstehung bei Frühgeborenen. Entgegen den initialen Erwartungen wiesen zwar beide Gruppen eine verminderte alveoläre Entwicklung mit reduzierter Septierung und vergrößerten Alveolarräumen auf, jedoch waren die pathologischen Veränderungen bei den keimfreien Mäusen signifikant geringer ausgeprägt. Darüber hinaus wiesen die keimfreien Mäuse keine Veränderungen der Lungenfunktion und im Vergleich zu den Mäusen mit eigenem Mikrobiom eine bessere Compliance und eine niedrigere Resistance auf. Bezüglich Entzündungsmarker bzw. -modulatoren wurden in beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede festgestellt bis auf verminderte Expressionsspiegel der inflammatorischen Zytokinproteine IFN- γ und IL-1 β (Dolma et al., 2020).

Weitere Untersuchungen das Mikrobiom betreffend wurden meist mittels molekular diagnostischer Methoden und fast ausschließlich aus Trachealsekret bei invasiv maschinell-beatmeten extremen Frühgeborenen durchgeführt. Lal et al. konnten eine frühe Besiedelung bereits direkt postnatal sowie eine rasche Zunahme der Keimlast und -vielfalt in den ersten Lebenswochen beschreiben. Zusätzlich korrelierte die Zunahme an Proteobakterien (z.B.: Neisserien, Bartonella, Pseudomonaden, E.coli und Citrobacter) und Firmicutes (z.B.: Streptokokken, Clostridien) sowie die Abnahme von Lactobacillen mit der Ausprägung und Schwere einer BPD (Lal et al., 2016). Tabelle 2 auf Seite 15 zeigt eine Auswahl der bisher noch geringen Anzahl von Arbeiten, die sich mit dem Zusammenhang zwischen der Besiedelung mit pathogenen Keimen und Dysbiosen sowie deren Auswirkung auf die Entstehung der BPD beschäftigt haben.

Tabelle 2: Ausgewählte Studienübersicht bzgl. der Auswirkung von Mikrobiomveränderungen auf die BPD-Entwicklung sowie deren Nachweismethoden

| Studie | Kohorte n= | Material-gewinnung | Zeitpunkt der Materialgewinnung | Methode | Ergebnis |
|--------------------------------------|----------------|--------------------|---|-------------------|--|
| Cordero et al., 1997, Columbus, Ohio | n= 260, <1250g | Trachealsekret | direkt post-natal, im Anschluss wöchentlich | DNA-Sequenzierung | -bei Geburt 80% der Proben steril -nach 2 Wochen: 80% Besiedelung mit gram-pos. Bakt. (S. epidermidis/ S. haemolyticus) -nach 2 Wochen: 40% Besiedelung mit gram-neg. Bakt. (E.coli, Klebsiellen, Pseudomonaden, Serratien, Enterobacter spp., Acinetobacter, H. influenzae) Schwere BPD assoz. mit erhöhtem Nachweis der gram-neg. Bakterien |

| | | | | | |
|----------------------------------|---------------------------------|--|--|---|---|
| Stressmann et al., 2010, UK | n= 8 | Trachealsekret | Im Rahmen von Routineabsaugungen | -PCR und DNA-Sequenzierung, -kulturunabhängige Methoden | -häufigster Nachweis von path. Keimen wie S. aureus, Enterobacter sp., Moraxella catarrhalis, Pseudomonas aeruginosa und Streptococcus sp. -Unterschiede bzgl. der Sensitivität zw. den Nachweismethoden bzgl. Ureaplasmen |
| Payne et al., 2010, UK | n= 55, <1300g | Trachealsekret | - erste Abnahme spätestens 24h postnatal oder früher, wenn kl. Indiziert - alle Proben aus den ersten 5 Lebenstagen | -kulturunabhängige Methoden - DNA- und 16SrRNA-Sequenzierung | -häufigster Nachweis von Koagulase-negativen Staphylokokken, Staphylococcus haemolyticus und Staphylococcus epidermidis BPD assoz. mit erhöhter Anzahl von: -Ureaplasmen |
| Beeton et al., 2011. Cardiff, UK | n= 192, (61terms, 131 ≤ 34 SSW) | Trachealsekret/ Nasopharyngs-Spülwasser | Routineabsaugungen -1. Woche: täglich -bis Lebenstag 28: 2x wöchentlich | Kultur, 16SrRNA- & DNA-Sequenzierung | BPD assoz. mit erhöhter Anzahl von: -Ureaplasmen (parvum/urealyticum) -Gram-pos. Bakt. (S. epidermidis) -Gram-neg. Bakt. (E. coli, Pseudomonaden, H. influenzae, Enterobacter spp.) |

| | | | | | |
|--------------------------------------|--|----------------|---|---------------------------------|---|
| Mourani et al., 2011 | n= 10, < 28 SSW, GG 500- 1250g | Trachealsekret | -früh post-natal (<72h post-natal) -Tag 7, 14 und 21 | -PCR -Pyro- Sequenzierung | häufigster Nachweis von: Staphylococcus und Ureaplasmen ebenfalls nachgewiesen: -Pseudomonas -Enterococcus -Escherichia -BPD assoz. mit erhöhter Anzahl von: -Ureaplasmen -kein Einfluss der Keimvielfalt auf BPD-Risiko |
| Lohmann et al., 2014, Houston, Texas | n= 25, ≤ 32 SSW | Trachealsekret | < 24h post-natal -Lebenstag 3, 7, 28 | 16SrRNA- & DNA-Sequenzierung | BPD assoz. mit erhöhter Anzahl von: -S. epidermidis -S. capitis -Klebsiellen BPD assoz. mit reduzierter Vielfalt des Mikrobioms |
| Lal et al., 2016, Alabama, USA | n= 51 (10 terms, 23 Pre-terms, 18 with BPD) | Trachealsekret | -direkt post-natal (max. 6h nach Geburt), -36+0 SSW -Tubuswechsel | 16SrRNA- & DNA-Sequenzierung | BPD assoz. mit erhöhter Anzahl von: -Proteobakterien (Enterobacter nachweis mit erhöhtem Endotoxin) BPD assoz. mit reduzierter Anzahl von: -Firmicutes -Fusobakterien -Lactobacillus BPD assoz. mit reduzierter Vielfalt des Mikrobioms |

Möglichkeiten der positiven Beeinflussung des Mikrobioms

Wie unter den vorherigen Abschnitten erläutert, können Dysbiosen zu schweren Septitiden, der nekrotisierenden Enterokolitis und einer erhöhten Mortalität bei extremen Frühgeborenen führen. Auch der negative Einfluss von Infektionen auf die Entstehung einer BPD gilt immer mehr als anerkannt, weshalb zunehmend auch nach Möglichkeiten der positiven Beeinflussung des Mikrobioms gesucht wird. Im Hinblick auf ihren positiven Einfluss auf das Mikrobiom der Frühgeborenen wurde die Versorgung mit Muttermilch immer wieder untersucht und bewertet. Bekannt ist bereits die positive Wirkung von Muttermilch auf die nekrotisierende Enterokolitis, die Retinopathia praematurorum (ROP) und auf die Sepsisraten, weshalb auch Untersuchungen hinsichtlich eines protektiven Faktors für die BPD erfolgten. Auch hier zeigten sich unter Muttermilcherhalt erste Hinweise auf eine Reduktion der BPD-Inzidenz (Villamor-Martínez et al., 2019), (Huang et al., 2019).

Zusätzlich rückt auch der prophylaktische Einsatz von Probiotika zur Vorbeugung bzw. Vermeidung von Dysbiosen in den Blickpunkt der Forschung. 2011 veröffentlichten Al Faleh et al. eine 24 randomisierte Studien umfassende Übersichtsarbeit, welche eine signifikante Reduktion der Mortalität und der Inzidenz einer schweren NEC unter Probiotikagabe belegte. Die Meta-Analyse von Dermyshe et al. aus dem Jahr 2017 bestärkte diese Ergebnisse. Nach der Auswertung von 30 randomisiert-kontrollierten Studien (RCT) und 14 Beobachtungsstudien hinsichtlich eines Benefits von Probiotika bei Frühgeborenen mit einem sehr niedrigen Geburtsgewicht zeigten sich auch hier eine signifikante Reduktion an schweren NEC-Raten (\geq Stadium III) und der Gesamtmortalität in den RCT. Des Weiteren war das Sepsisrisiko um 12-19% vermindert (Dermyshe et al., 2017).

Fragestellung der Arbeit und methodische Voraussetzungen

Die bronchopulmonale Dysplasie gilt bereits seit ihrer Erstbeschreibung vor weit über 50 Jahren als eine der häufigsten und schwersten pulmonalen Morbiditäten in der Pädiatrie, welche, trotz enormen Fortschritten in der medizinischen Versorgung, weiterhin in hoher Inzidenz auftritt und teilweise mit schweren Langzeitfolgen für die betroffenen Patientin bis ins Erwachsenenalter verbunden ist.

Aufgrund der inzwischen bekannten multifaktoriellen Genese der BPD bieten sich viele Forschungsansätze zur Prävention und Verbesserung des prä- und postnatalen Managements der Versorgung dieser frühgeborenen Kinder.

Als ein besonders wichtiger Aspekt der multifaktoriellen Pathogenese der BPD wird das Inflammationsgeschehen angesehen, welches u.a. durch peri- und postnatale Infektionen sowie der bakteriellen Besiedelung bei Frühgeborenen beeinflusst wird. In der hier vorliegenden Arbeit wird daher ein besonderes Augenmerk auf die Assoziation der bakteriellen Besiedelung des nasopharyngealen Raums und des Analbereichs mit dem Auftreten und einer moderaten oder schweren Form der BPD gelegt. Es sollten die innerhalb der ersten 6 Lebenswochen bei der hiesigen Kohorte aufgetretenen Keime detektiert und eine mögliche Beeinflussung des pulmonalen Outcomes, gemessen an der Inzidenz der moderaten/schweren BPD, festgestellt werden. Da die Fortschritte in der neonatologischen Intensivmedizin heutzutage eine invasive Beatmung in vielen Fällen nicht mehr notwendig machen, stehen Trachealsekrete für mikrobielle Analysen häufig nicht mehr zur Verfügung. Um möglichst alle Frühgeborenen in die Untersuchungen einschließen zu können, wurde daher die mikrobielle Besiedelung im Nasopharynx sowie anal gescreent. Die im Rahmen der vorgelegten monozentrischen retrospektiven Arbeit wöchentlich entnommenen Screening-Abstriche wurden im Institut für Mikrobiologie des Universitätsklinikums Gießen und Marburg (UKGM), Standort Gießen auf ein Keimwachstum untersucht, um die mikrobielle Besiedelung bei n= 102 Frühgeborenen <1000g Geburtsgewicht in Zusammenhang mit dem pulmonalen Outcome zu untersuchen. Die Ergebnisse wurden zusammen mit weiteren Analyse-Items wie den Grunddaten und Komorbiditäten erhoben und in einer Patientendatenbank dokumentiert. Im Anschluss wurden die vorliegenden Daten mit Hilfe von statistischen Analysen risiko-adjustiert auf die folgenden Fragestellungen hin untersucht:

- Hat die bakterielle Besiedelung innerhalb der ersten 6 Lebenswochen eine Auswirkung auf das Auftreten einer moderaten oder schweren BPD?
- Lassen sich besonders relevante Keime-Spektren detektieren?
- Sind weitere beeinflussende Ko-Faktoren, wie die Muttermilch-Versorgung oder eine stattgehabte antibiotische Therapie, in diesem Zusammenhang erkennbar?
- Ist die verwendete Untersuchungsmethodik mittels Screeningabstrichen des nasopharyngealen Raums und der Analregion für mikrobiologische Assoziationsstudien geeignet und ermöglicht diese somit die Beobachtung auch nicht invasiv-beatmeter Frühgeborener ohne die Möglichkeit der Entnahme von Trachealsekreten?

Material und Methoden

Patientenkohorte, Ausschlusskriterien und Ethik-Votum

In die Analyse eingeschlossen wurden alle Frühgeborene, welche im Zeitraum von Dezember 2014 bis Juni 2017 am Level-1-Perinatalzentrum des Universitätsklinikums Gießen (UKGM Gießen, Deutschland) mit einem Geburtsgewicht <1000g und Gestationsalter < 32+0 SSW entbunden wurden. Insgesamt wurden n=146 Frühgeborene in diesem Zeitraum entbunden, jedoch wurden n=44 Kinder aufgrund folgender Kriterien ausgeschlossen: n=28 Kinder verstarben vor dem Erreichen eines Gestationsalters von 36 SSW, somit konnte der BPD Schweregrad nicht ermittelt werden; n=2 Kinder wurden vor Erreichen des Gestationsalters von 36 Wochen entlassen, oder in ein anderes Krankenhaus verlegt, so dass eine Erhebung des BPD Schweregrades ebenfalls nicht möglich war; n= 7 Kinder wiesen schwere Fehlbildungen des Gehirns, des Herzens, des Darms oder des Urogenitaltraktes auf, welche mit langen Beatmungszeiten assoziiert waren; n=7 Kinder entwickelten schwere gastrointestinale Komplikationen, wie eine fokale intestinale Perforation (FIP) oder eine nekrotisierende Enterokolitis (NEC), bei denen ebenfalls lange Beatmungszeiten und rezidivierende Infektionen und Inflammationsepisoden zu erwarten waren, die das Risiko für das Auftreten einer BPD relevant beeinflussen. Somit wurden insgesamt n=102 Patienten in die Analyse eingeschlossen.

Die Studie wurde unter Berücksichtigung des Regelwerkes der Deklaration des Weltärztebundes von Helsinki, welche 2013 zuletzt überarbeitet wurde, durchgeführt und die retrospektive Analyse durch die Ethik-Kommission der Justus-Liebig-Universität Gießen geprüft und genehmigt (Az 97/14).

Das für diese Promotion ausgewertete Abstrichmaterial wurde routinemäßig, wie durch die deutsche Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) und das Robert-Koch-Institut (RKI) empfohlen (KRINKO, 2013), entnommen. Somit entstanden für die Patienten keinerlei studienbedingte Belastungen.

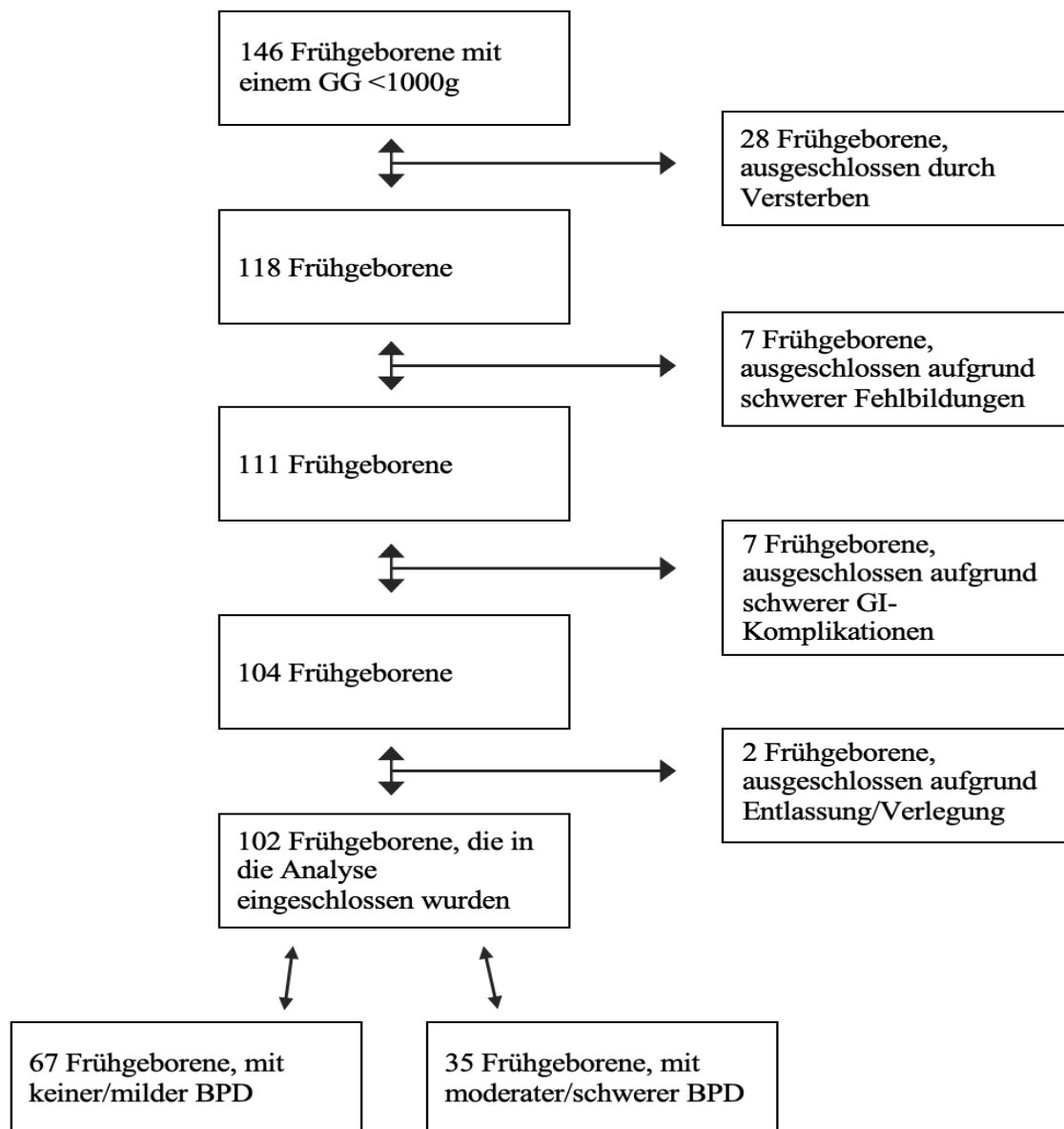


Abb. 1: Darstellung der Patientenkohorte mit ein- und ausgeschlossenen Patienten

Datenerhebung und Definition der erhobenen Parameter

Den eingeschlossenen 102 Frühgeborenen wurden zur Datenanonymisierung je eine individuelle, fortlaufende Patienten-Identifikationsnummer (ID) zugeordnet. Zusätzlich wurden neben der Patienten-ID 27 Variablen erhoben. Diese setzen sich aus den Grunddaten wie dem Geburtsdatum, dem Geburtsgewicht, dem Geschlecht, der Schwangerschaftswoche und ob es sich um Einlings- bzw. Mehrlingsschwangerschaften handelt, zusammen. Des Weiteren wurden aufgetretene Komorbiditäten wie das Vorliegen und der Grad einer Retinopathia praematurorum (ROP), einer intraventrikulären Hämorrhagie (IVH) und eines small for gestational age-Status (SGA-

Status = Messwerte für Kopfumfang, Länge und Gewicht <10. Perzentile (Voigt et al., 1996)) erfasst. Die Einteilung der BPD-Schweregrade (milde, moderate und schwere BPD) erfolgte nach der am häufigsten angewendeten klinischen Definition der bronchopulmonalen Dysplasie nach A. Jobe und E. Bancalari (Tabelle 1, Seite 5). Zusätzlich erfolgte die Dokumentation stattgehabter Infektionen und Antibiotikagaben. Die Infektionen wurden nach der Definition des nationalen Referenzzentrums für Surveillance von nosokomialen Infektionen dokumentiert (NRZ, 2017). Bezüglich der Antibiotikagaben wurde zwischen einer Gabe innerhalb der ersten 6 Lebenswochen unabhängig vom Zeitpunkt des erstmaligen Beginns und einer direkt postnatal begonnenen antibiotischen Therapie unterschieden. Auch die Gesamtdauer einer antibiotischen Therapie innerhalb der ersten 6 Lebenswochen wurde erfasst. Daten bezüglich einer stattgehabten Muttermilch-Versorgung (ja/nein) innerhalb der ersten 6 Lebenswochen wurden ebenso wie eine antenatale Steroidgabe, unterteilt in einen Applikationsbeginn <24 Stunden vor Geburt, zwischen 24 Stunden und 7 Tagen und >7 Tage vor Geburt, dokumentiert und in der Analyse berücksichtigt.

Die Abstrichdokumentation erfolgte über die ersten 6 Lebenswochen der Frühgeborenen. Die Abstriche wurden nach dem Abnahmeort in Rachen, Nase und anal unterteilt. Pro Woche wurden bis zu fünf Keime in die Datenbank aufgenommen und eine eventuelle Resistenzlage mitdokumentiert. Wenn die Abstriche nicht exakt im wöchentlichen Rhythmus entnommen wurden, wurden sie mit einer maximal zweitägigen Latenzzeit der jeweiligen Woche zugeordnet. Die Daten wurden retrospektiv aus der elektronischen Patientenakte der Kinder, den aktuellen Dokumentationsprogrammen des UKGMs *KisData*- und *Meona* sowie dem ehemaligen Dokumentationsprogramm *KAOS* entnommen. Teilweise handelte es sich auch um handschriftlich verfasste, zum Auswertungszeitraum aber bereits digital archivierte, Patientenakten. Zur Dokumentation der Daten wurde das Programm *SPSS Statistics* von IBM in der Version 23 -26 verwendet.

Methoden

Abstrichentnahme

Die Abstrichentnahme wird am UKGM Gießen routinemäßig durch die das Frühgeborene betreuende Fachpflegekraft durchgeführt. Die erste Entnahme erfolgt in der Regel direkt

im Erstversorgungsraum nach der Entbindung und vor der Verlegung auf die neonatologische Intensivstation, oder aber im Rahmen der ersten Versorgung auf der Station. Die Folgeabstriche werden stets in der routinemäßigen nächtlichen Versorgung von Sonntag auf Montag entnommen. Die Pflegekräfte nutzen hierfür die steril verpackten Transport Swabs der Firma *Microbiotec S.r.l.*. Für den Nasen-, Rachen- und Analbereich wird jeweils ein gesonderter Abstrich entnommen. Nach dem Abstreichen der bereits beschriebenen Regionen werden die Abstriche mit der beigefügten Schutz-Gel-Kappe verschlossen und nach der Etikettierung in einer Schutzhülle verpackt in das Institut für Medizinische Mikrobiologie des UKGM Gießen versendet. Standardmäßig wird eine Testung auf pathogene Keime und Pilze inklusive Resistenztestung der jeweiligen Keime sowie eine Resistenztestung auf Methicillin-resistente-Staphylococcus-aureus-Species (MRSA), Vancomycin resistente Enterokokken (VRE) und Extended-Spectrum-Betalaktamasen (ESBL) bildende gramnegative Bakterien angefordert.

Probenverarbeitung

Die Proben werden mittels ortsständigem Rohrpostsystem zu einer speziellen Sammelstation für mikrobiologische Proben oder ins Zentrallabor des Haupthauses des UKGM Gießen befördert und dort gesammelt. Mehrmals täglich werden die Abstrichproben durch einen Boten zur Annahmestelle des Instituts für Medizinische Mikrobiologie des UKGM Gießen transportiert. Die in den nachfolgenden Abschnitten erläuterten Arbeitsschritte (Seite 24 bis 28) werden durch die Mitarbeiter des Instituts für Medizinische Mikrobiologie durchgeführt und die Ergebnisse der Analysen über die Patientenmanagementsysteme *KAOS* und *Meona* zur Verfügung gestellt.

Nach Ankunft des Probenmaterials im Institut für medizinische Mikrobiologie werden die Proben aus den Schutzhüllen entnommen und durch einen Scannvorgang in die Laborsoftware *SwissLab* eingefügt, wodurch die Aufträge erfasst und unter dem Patientennamen abgespeichert werden. Anschließend werden die Proben in Metall-Probenständern zur Weiterverarbeitung einsortiert.

Die Proben gelangen anschließend zum ersten Verarbeitungsplatz des Instituts für Medizinische Mikrobiologie am UKGM Gießen. Hier erfolgt initial das Ausstreichen der Screeningabstriche standardmäßig auf sieben Agarplatten (Blut-, Kochblut-, MacConkey-, Sabouraud-Agar und MRSA-, VRE-, ESBL-TestAgar), (Abb. 2a-e, Seite 25). Die verschiedenen Agar-Platten dienen zur Anzucht unterschiedlicher

Bakterienstämme. Blut-Agar und Kochblut-Agar gelten als Universalnährböden. Durch ihre Beschaffenheit mit einem pH-Wert zwischen 7,2-7,6, einem reichhaltigem Nährstoffangebot und dem Zusatz von 5% meist tierischem Blut sind sie zur Anzucht der meisten humanpathogenen Keimen, wie beispielsweise auch *S. aureus*, geeignet. Der Kochblutagar dient speziell zur Anzucht von Haemophilus- und Neisserienformen. MacConkey- und Sabouraud-Agar gelten als Selektivnährböden, da auf ihnen durch die Zugabe spezieller Stoffe nur bestimmte Bakterien wachsen. Die MacConkey-Platte dient zum Nachweis von gram-negativen Stäbchen, wie *Enterobacter* spp., *Pseudomonas* sowie *E. coli* und Salmonellen, der Sabouraud-Agar zum Nachweis von Pilzen (Kayser et al., 2010). Das Auftragen erfolgt im dichten Bereich mit dem Tupfer des Abstriches über die Hälfte der Agar-Platte und anschließend die Ausdünnung mit Hilfe der 10 μ l und 1 μ l Impfschlingen (Abb. 3, Seite 25).

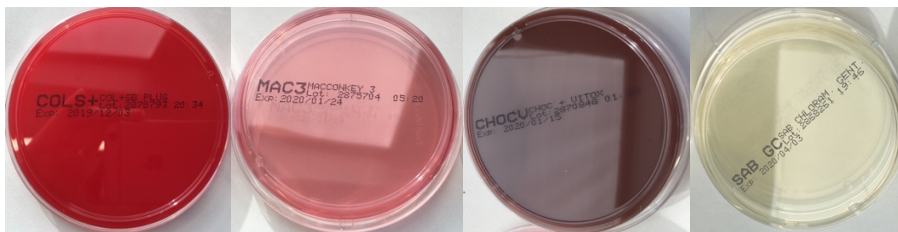


Abb. 2a:
Blut-Agar

Abb. 2b:
MacConkey-Agar

Abb. 2c:
Kochblut-Agar

Abb. 2d:
Sabouraud-Agar

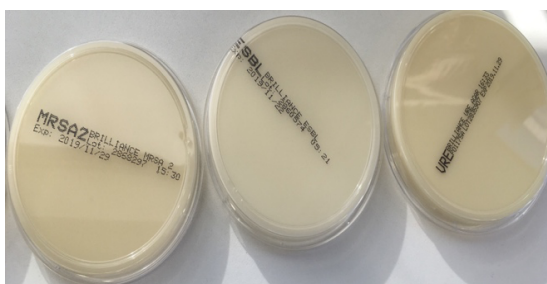


Abb. 2e: Resistenztestungs-Agar (MRSA, VRE, ESBL)

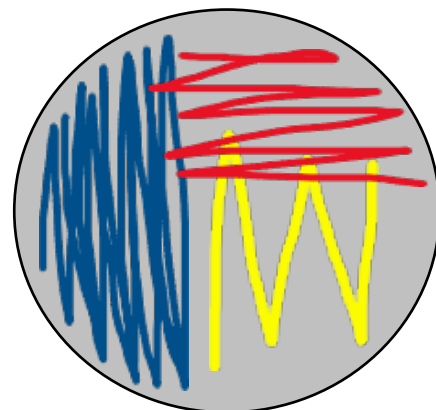


Abb. 3: Schematische Darstellung des verdünnenden Ausstreichens der Agarplatten

Nach dem Ausstreichen werden die Agarplatten für 16-22 Stunden im 37° C warmen und mit 5% Kohlendioxid (CO₂) angereichertem Brutschrank gelagert. Lediglich die Sabouraud-Agarplatten für die Pilztestung werden in einem Brutschrank ohne CO₂ - Zufuhr inkubiert.

Nach ausreichender Inkubationszeit werden die Agarplatten am Folgetag durch den diensthabenden Laborarzt begutachtet. Hier wird zunächst nach sterilen Platten ohne Keimwachstum und positiven Platten mit Keimnachweis differenziert. Bei positiv bewachsenen Agarplatten (Abb. 4a-d, Seite 26) wird je nach Befund weitere Diagnostik zur Keimidentifizierung und Resistenztestung initiiert.

Zeigt sich nach den ersten 16-22 Stunden kein Keimnachweis, erfolgt eine weitere Inkubation unter den oben genannten Bedingungen der Agarplatten für weitere 24-48 Stunden. Bleiben die Agarplatten über 72 Stunden ohne Keimnachweis, gelten sie als steril und werden ordnungsgemäß entsorgt.

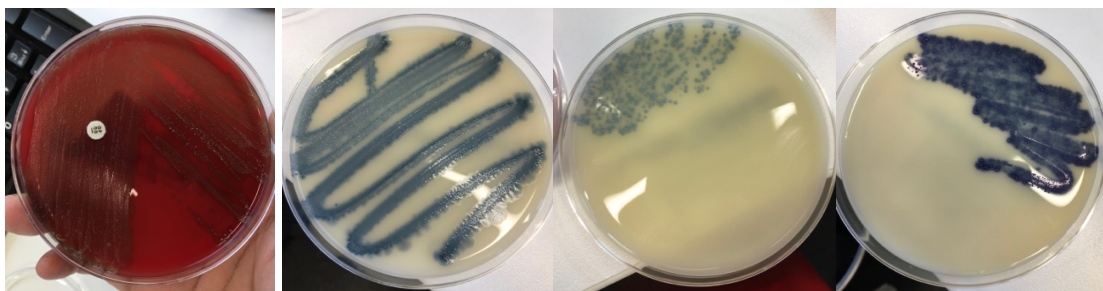


Abb. 4a

Abb. 4b

Abb. 4c

Abb. 4d

Abb. 4a-d: Agarplatten mit positivem Keimnachweis

Keimidentifizierung mittels MALDI-TOF-MS (Matrix-unterstützte Laser-Desorptions-/Ionisations-Flugzeit-Massenspektrometrie) im *Vitek MS*

Zur Vorbereitung der Analyse wird vorerst der Referenz-Stammkeim *E. coli* mittels einer hölzernen Spitze auf den Kalibrierspot aufgetragen (Abb. 5, Seite 27). Anschließend werden die zu identifizierenden Bakterien- oder Pilzkolonien auf die Spots der Target-Platte des *Vitek MS* aufgetragen und mit 1µl der Matrix-Lösung (*Vitek MS CHCA*) fixiert. Dies führt zur Ko-Kristallisierung mit der Erregerprobe (Neumeister et al., 2009). Bei Pilzen wird vor Auftragen der Matrix-Lösung 0,5µl der Ameisensäure (*Vitek MS FA*) auf die Erregerprobe gegeben, um die Zellwände aufzubrechen.

Zur Probenidentifizierung werden mittels der Software *Vitek MS Prep Station* die Patientenproben den jeweiligen Spots zugeordnet (Abb. 6, Seite 27). Anschließend wird die Target-Platte in den *Vitek MS* eingelegt. Nach Laserbeschuss im Hochvakuum verdampft die Matrix mit den Erregerbestandteilen explosionsartig und es kommt zu einer Ionisierung der Analyten. Durch die Erzeugung eines elektronischen Feldes mit einer Spannung zwischen 10-30kV werden die Ionen beschleunigt. Die erreichte Geschwindigkeit, abhängig von Ionisierung und Masse, kann im Vakuum exakt

gemessen werden (Schubert & Wiesner, 2016). Insgesamt benötigt der *Vitek MS* einhundert Messwerte, mittels denen das Gerät ein spezifisches Spektrum erstellt (Abb. 7, Seite 27), mit einer großen integrierten Forschungsdatenbank vergleicht und somit den Erreger identifizieren kann.

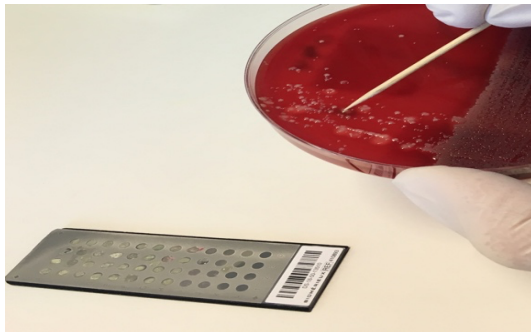


Abb. 5: Beimpfung der Target- Platten des *Vitek MS*

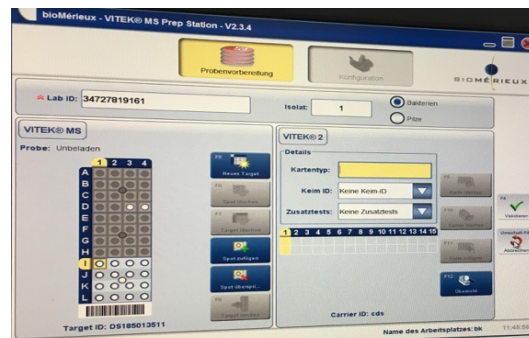


Abb. 6: Software *Vitek MS Prep Station* zur Belegung der Target-Platten und Carrier

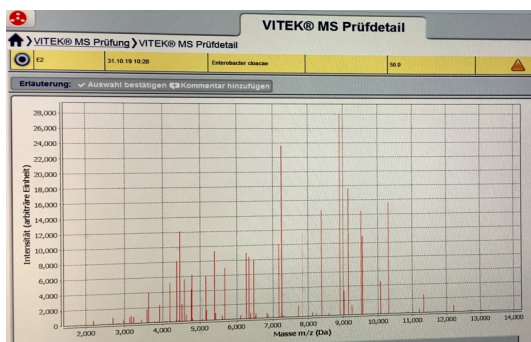


Abb. 7: Beispiel-Spektrum eines *Enterobacter cloacae* mittels *Vitek MS*

Resistenztestung mittels Bouillon- Mikrodilutionsmethode zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration mit dem *Vitek 2*

Zur Vorbereitung der Resistenztestung wird eine Mikroorganismus-Suspension aus einer Kolonie des zu testenden Keims mit 1,5ml steriler 0,45%iger- Kochsalzlösung (*Saline Solution*) nach McFarland-Trübungsstandard von 0,5-0,6 McFarland-Units erstellt. Diese Suspension wird in einem Reagenzglas in den Carrier des *Vitek 2* eingesetzt. Währenddessen wird je nach Keim eine von der Firma *bioMerieux Deutschland GmbH* für den *Vitek 2* gefertigte Antibiotika-Testkarte vorbereitet. Sie enthalten je 64 Vertiefungen, in welche die zu testenden Antibiotika in Verdünnungsreihen aufgetragen werden (Neumeister et al., 2009). Neben dem Reagenzglas mit der Keimsuspension wird ein weiteres leeres Reagenzglas in den Carrier eingebracht und mit der Testkarte

verbunden (Abb. 8, Seite 28). In diesem Reagenzglas stellt der *Vitek 2* automatisch die von ihm benötigte Keimsuspension in der exakten Konzentration her und nutzt diese zu Befüllung der Testkarte. Mittels der Software *Vitek MS Prep Station* wird die Belegung des vorbereiteten Carriers an das System übermittelt und anschließend der Carrier in den *Vitek 2* eingestellt.

Die Resistenztestung erfolgt anschließend nach dem Prinzip der Bouillon-Mikrodilutionsmethode zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK). Hierfür werden die Testkarten mit den Verdünnungsreihen der Antibiotika mit der durch den *Vitek 2* hergestellten Keimsuspension vollautomatisch beimpft, bebrütet und alle 15 Minuten abgelesen. Die minimale Hemmkonzentration beschreibt die Vertiefung der Testkarte mit der minimalen Antibiotikumkonzentration, welche das Wachstum des zu testenden Keims hemmt. Das Ablesen durch den *Vitek 2* erfolgt mittels Trübungs- und kolorimetrischer Messung der Testkarten (Neumeister et al., 2009).

Das Europäische Komitee für antimikrobielle Empfindlichkeitstestung (EUCAST) veröffentlichte zum 01.01.2019 neue Breakpoints mit deren Hilfe anhand der MHK-Testung die Resistenzlage des untersuchten Keimes bestimmt werden kann (EUCAST, 2019). Dies erfolgt nach der Analyse der Testkarten automatisch und ein Resistogramm kann über den *Vitek 2* abgerufen werden (Abb. 9, Seite 28).

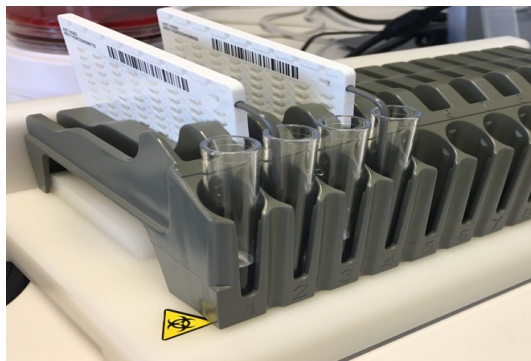


Abb. 8: Vorbereiteter Carrier des *Vitek 2* mit 2 angesetzten Keim-Suspensionen und Antibiotika- Resistenztestungs-Karten

| Infos zur Resistenz | | | Karte: AST-P611 | Chargenbez: 4911075203 | Verfallsdatum: 05.11.2020 12:00 MEZ |
|------------------------------------|--------|----------------|-------------------------------|------------------------|-------------------------------------|
| | | | Beendet: 30.10.2019 23:57 MEZ | Status: Fertig | Analysen-Dauer: 9,90 Std. |
| Antibiotikum | MHK | Interpretation | Antibiotikum | MHK | Interpretation |
| Cefoxitin-Screen | | | Clindamycin | (-) | (-) |
| Benzylpenicillin | | | Linezolid | 2 | S |
| Ampicillin | <= 2 | S | Daptomycin | 2 | IE |
| Oxacillin | | | Vancomycin | 1 | S |
| Imipenem | <= 1 | S | Tetracyclin | (+) | (+) |
| Gentamicin, High-Level (Synergie) | SYN-S | S | Tigecycline | <= 0,12 | S |
| Gentamicin | | | Fosfomycin | | |
| Ciprofloxacin | <= 0,5 | S | Fusidinsäure | | |
| Moxifloxacin | (-) | (-) | Rifampicin | | |
| Induzierbare Clindamycin Resistenz | | | Trimethoprim/Sulfamethoxazol | <= 10 | *R |
| Erythromycin | (-) | (-) | | | |

+= Abgeleitete Antibiotika * = AES modifiziert ** = Anwender modifiziert IE = Unzureichende Evidenz, dass die Spezies ein geeignetes Ziel für Therapie ist; MHK kann ohne Interpretation berichtet werden. (-) = Resistenztest nicht empfohlen; Spezies nicht als Ziel für Therapie geeignet.

Abb. 9: Beispiel- Resistogramm des *Vitek 2* eines *Enterococcus faecalis*

Im Labor des Instituts für Medizinische Mikrobiologie am UKGM Gießen verwendete Materialien

Sterile Transport Swabs

Microbiotec S.r.l., Magline, Italy

Blut-Agarplatte (Universalmedium)

Oxoid, Thermo Fisher Scientific GmbH, Schwerte, Deutschland

| | |
|--|---|
| Kochblut-Agarplatte (Universalmedium) | Oxoid, Thermo Fisher Scientific GmbH, Schwerte, D |
| MacConkey-Agarplatte | Oxoid, Thermo Fisher Scientific GmbH, Schwerte, D |
| Sabouraud-Agarplatte (Pilz-Anzucht) | Oxoid, Thermo Fisher Scientific GmbH, Schwerte, D |
| BrillianceESBL-Agarplatte | Oxoid, Thermo Fisher Scientific GmbH, Schwerte, D |
| BrillianceMRSA2-Agarplatte | Oxoid, Thermo Fisher Scientific GmbH, Schwerte, D |
| BrillianceVRE-Agarplatte | Oxoid, Thermo Fisher Scientific GmbH, Schwerte, D |
| Impfschlingen 10µl | Sarstedt, Nümbrecht, D |
| Impfschlingen 1µl | Sarstedt, Nümbrecht, D |
| BD BBL DrySlide | BD, Heidelberg, D |
| ART XLG (Pipettenspitzen) | Fisher Scientific GmbH, Schwerte, D |
| Eppendorf (Pipettenspitzen) | Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Wesseling-Berzdorf, D |
| Vitek MS-DS (Target-Platten) | bioMerieux Deutschland GmbH, Nürtingen, D |
| Escherichia coli-Stammkeim ATCC® 8739 | American Type Culture Collection PO Box 1549 Manassas, VA 20108 USA |
| Vitek 2 AST-N248/ N263 (Test-Karte gram-neg. Stäbchen) | bioMerieux Deutschland GmbH, Nürtingen, D |
| Vitek 2 AST-P654/ P661 (Test-Karte Staphylococcus ssp., Enterococcus ssp. & S. agalactiae) | bioMerieux Deutschland GmbH, Nürtingen, D |
| Vitek 2 AST-ST03 (Test-Karte S. pneumoniae, β-hämolys. Streptokokken & Viridans-Gruppe) | bioMerieux Deutschland GmbH, Nürtingen, D |
| Vitek 2 GN (Test-Karte Enterobacteriaceae, gram-neg. & | bioMerieux Deutschland GmbH, Nürtingen, D |

Nichtfermentierende Keime)

Vitek 2 AST-YS08

(Test-Karte Hefen)

bioMerieux Deutschland GmbH,

Nurtingen, D

**Im Labor des Instituts für Medizinische Mikrobiologie am UKGM Gießen
verwendete Chemikalien und Reagenzien**

Vitek MS CHCA (Matrix-Lösung)

bioMerieux Deutschland GmbH,

Nurtingen, D

Vitek MS FA (Ameisensäure)

bioMerieux Deutschland GmbH,

Nurtingen, D

Saline Solution (NaCl 0,45%)

bioMerieux Deutschland GmbH,

Nurtingen, D

**Im Labor des Instituts für Medizinische Mikrobiologie am UKGM Gießen
verwendete Geräte**

Eppendorf Pipetten

Eppendorf Vertrieb Deutschland

GmbH, Wesseling-Berzdorf, D

Flaschenaufsatz Dispensette 1-10ml

Brand, Wertheim, D

DensiCHEK plus

bioMerieux Deutschland GmbH,

Nurtingen, D

Reagenzglas-Vortex-Schüttler

VWR International GmbH,

Darmstadt, D

Vitek MS (Massenspektrometer)

bioMerieux Deutschland GmbH,

Nurtingen, D

Vitek 2 (ID/AST-Bestimmung)

bioMerieux Deutschland GmbH,

Nurtingen, D

CO₂- Inkubator

Thermo Scientific, Darmstadt, D

Wärme-Inkubator UF450

Memmert, Schwabach/

Büchenbach, D

Im Labor des Instituts für Medizinische Mikrobiologie am UKGM Gießen verwendete Software

| | |
|---|--|
| Swiss Lab | Nexus AG, SwissLab DITS GmbH, Berlin, D |
| Vitek MS IVD (Datenbank für klinisch relevante Spezies) | bioMerieux Deutschland GmbH, Nurtingen, D |
| Vitek MS Prep Station | bioMerieux Deutschland GmbH, Nurtingen, D |
| Vitek MS Acquisitions Station | bioMerieux Deutschland GmbH, Nurtingen, D |

Patientenmanagementsoftware des Krankenhausträgers

| | |
|-----------------------------|---|
| IMESO KisData | IMESO-IT GmbH Gießen, Deutschland |
| KAOS, Version: 5.9.1.2 | Interne Eigenentwicklung (UKGM - AKAD (Abteilung für Klinische und Administrative Datenverarbeitung)), Gießen, Deutschland |
| Meona, Version 92.566x64_c7 | Mesalvo Freiburg GmbH, Deutschland |

Software für Datenbank und statistische Analyse

| | |
|---|--|
| SPSS Statistics databank, Version 23-26 | IBM, New York, USA |
| SigmaPlot, Version 12.3 | Systat Software Inc., San Jose, CA, USA |
| R 2.5.2 | R Base Distribution, R Core Team, Vienna, Austria |

Statistische Auswertung

In die Analyse wurden nach Anwendung der oben beschriebenen Ausschlusskriterien n =102 Patienten eingeschlossen. Vor Beginn der statistischen Auswertung wurden die Daten der oralen und nasalen Abstriche als nasopharyngeal zusammengefasst, da bei

diesen beiden Lokalisationen von einem identischen Keimspektrum auszugehen war. Diese Annahme beruhte darauf, dass die Absaugmanöver dieser Kinder sowohl oral als auch nasal erfolgten, die einliegenden Magensonden von nasal über den Pharynx eingebracht wurden und auch das CPAP-Interface die Keime in die tieferen Atemwege beförderte. Des Weiteren erfolgte zusätzlich die Unterteilung der Patienten nach dem vorliegenden BPD-Schweregrad (keine BPD/milde BPD und moderate/schwere BPD). Diese Unterteilung erfolgte in Anbetracht dessen, dass Kinder mit einer moderaten oder schweren BPD besonders häufig lebenslange Folgeerscheinungen und Einschränkungen wie beispielsweise eine verminderte Lungenfunktion und neurologische Defizite aufweisen, während Kinder mit milder BPD sich kaum von Frühgeborenen ohne die Diagnose BPD unterscheiden (siehe *Lebenslange Konsequenzen und Langzeitfolgen der BPD*, Seite 7), (Fawke et al., 2010). Durch die Unterteilung in diese zwei Schweregrad-Gruppen war von einer größeren klinischen Relevanz auszugehen. Um genauere Aussagen bezüglich der bakteriellen Besiedelung zu treffen, wurden die detektierten Keime weiter nach ihrer Gram-Färbung und einer potentiellen Pathogenität differenziert. Dies erfolgte anhand der in Tabelle 2 auf Seite 15 aufgeführten Studien sowie mit Hilfe der Literatur und Daten des Deutschen Referenzzentrums für Surveillance von nosokomialen Infektionen und der KRINKO (2013). Tabelle 3 auf Seite 32 zeigt eine Auflistung der nach Literaturrecherche relevanten potentiell pathogenen Keime, welche als Grundlage für die Analysen diente.

Tabelle 3: Auflistung potentiell pathogener Keime für Frühgeborene

| Keim | Gram-Färbung | Literaturangaben |
|-----------------------------------|---------------|---|
| Koagulase-negative Staphylokokken | gram-positiv | NRZ/KRINKO 2013 |
| S. aureus | gram-positiv | NRZ/KRINKO 2013 Lohman et al., 2014 Beeton et al., 2011 Cordero et al., 1997 |
| Enterokokken | gram-positiv | NRZ/KRINKO 2013 |
| Clostridien | gram- positiv | Pammi et al., 2019 |
| Streptokokken | gram-positiv | Pammi et al, 2019 |

| | | |
|------------------------|--------------|---|
| E. coli | gram-negativ | NRZ/KRINKO 2013 Pammi et al, 2019 Beeton et al., 2011 Cordero et al., 1997 |
| Enterobacter spp. | gram-negativ | NRZ/KRINKO 2013 Lal et al., 2016 Beeton et al., 2011 Cordero et al., 1997 |
| Klebsiellen | gram-negativ | NRZ/KRINKO 2013 Lohmann et al, 2014 Cordero et al., 1997 |
| Serratien | gram-negativ | NRZ/KRINKO 2013 Cordero et al., 1997 |
| Citrobacter | gram-negativ | Pammi et al, 2019 |
| Clostridien | gram-negativ | Pammi et al., 2019 |
| Neisserien | gram-negativ | Pammi et al., 2019 |
| Pseudomonaden | gram-negativ | Pammi et al., 2019 Beeton et al., 2011 |
| Acinetobacter | gram-negativ | NRZ/KRINKO 2013 Cordero et al., 1997 |
| Haemophilus influenzae | gram-negativ | Cordero et al., 1997 |

Im Anschluss erfolgten initial deskriptive Analysen zur Beschreibung des Patientenkollektives anhand der oben benannten Grunddaten mittels Mittelwert-Angaben und es wurden mit Hilfe von *SPSS Statistics databank* Verteilungsgraphiken bezüglich der Grunddaten, der Keimlage über die ersten 6 Lebenswochen und der Komorbiditäten erstellt. Um die Grunddaten der Kohorte ebenfalls im Hinblick auf das Ausmaß des BPD-Grades vergleichen zu können, wurde der Mann-Whitney-U-Test angewandt und mittels Logit-Modellen verschiedene Regressionsanalysen erstellt. Die Analysen erfolgten unter einer Risikoadjustierung bezüglich bestimmter Grunddaten wie der SSW, dem Geburtsgewicht, dem SGA-Status, dem Geschlecht, dem Erhalt von antenatalen

Steroiden und Antibiotikagaben. Das diesbezüglich verwendete Confounder-Modell wurde unter Berücksichtigung des Akaike-Information-Criterions ausgewählt.

Zur Signifikanztestung wurde der Chi-Quadrat- und der exakte Fisher-Test verwendet. Das gewählte statistische Signifikanzniveau betrug bei den gesamten Analysen $p < 0,05$. Ergebnisse, bei denen diese niedrige Fehlerwahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ vorlag, wurden dementsprechend als statistisch signifikant bezeichnet und mit * markiert. Betrug das Signifikanzniveau $p < 0,01$ wurde eine Markierung mit ** angebracht und bei einem Signifikanzniveau von $p < 0,001$ erfolgte eine Markierung mit ***.

Die deskriptive Statistik inklusive der Erstellung der graphischen Darstellungen in Form von Balkendiagrammen und Tabellen erfolgte in Eigenleistung mit Hilfe des Statistikprogramms *SPSS statistics*, Version 23-26.

Die weitere statistische Auswertung unter Risikoadjustierung inklusive der Erstellung der Regressions- und der Confounder- sowie der modifizierten Confounder-Modelle erfolgte durch Herrn Prof. Dr. Jan Gertheiss, Institut für Wirtschafts- und Sozialwissenschaften, Helmut-Schmidt-Universität, Hamburg. Hierfür wurden die Statistik-Programme *R 2.5.2*, *SigmaPlot Version 12.3* und *SPSS statistics* angewendet.

Ergebnisse

Allgemeine Untersuchungen der Kohorte zur Vorbereitung der weiteren Analysen

Zur Vorbereitung der Analysen hinsichtlich der Auswirkung der bakteriellen Besiedelung auf das Pulmonale Outcome wurde die Kohorte aus n=102 Frühgeborenen zunächst beschreibend charakterisiert. Es erfolgte die genauere Betrachtung bezüglich der Grunddaten, welche das Gestationsalter, das Geburtsgewicht, den SGA-Status sowie die Geschlechterverteilung, den Erhalt von antenatalen Steroiden und antibiotischer Therapie, die Versorgung mit Muttermilch und die häufigsten Komorbiditäten umfassten, um die für die Analyse relevanten Risikofaktoren für das Auftreten einer BPD verfügbar zu haben. Des Weiteren wurde die Verteilung des BPD-Schweregrades in der Kohorte und im Anschluss dessen Korrelation mit den Grunddaten untersucht.

Untersuchung des Gestationsalters und des Geburtsgewichts bei Geburt

Das mediane Gestationsalter der n= 102 Patienten in der vorliegenden Kohorte lag bei 26+3 SSW (min. 23+4 SSW, max. 30+5 SSW).

Alle 102 Frühgeborene, welche in die Kohorte eingeschlossen wurden, wiesen ein Geburtsgewicht <1000g auf. Das mediane Geburtsgewicht lag bei 795g (min. 320g, max. 995g) wie in Tabelle 4 auf Seite 35 dargestellt.

Tabelle 4: Verteilung des Gestationsalters und des Geburtsgewichtes

| | Median | Minimum | Maximum |
|--------------------|---------------|----------------|----------------|
| Geburtsgewicht (g) | 795 | 320 | 995 |
| SSW (Woche + Tage) | 26+3 | 23+4 | 30+5 |

SSW= Schwangerschaftswoche

Untersuchung der Geschlechterverteilung und des SGA-Status

Bei 57 der 102 Frühgeborenen handelte es sich um Kinder des weiblichen und bei 45 um Kinder des männlichen Geschlechts. So lag die Geschlechterverteilung mit 55,9% zu 44,1% zu Gunsten des weiblichen Geschlechts (Abb. 10, Seite 36).

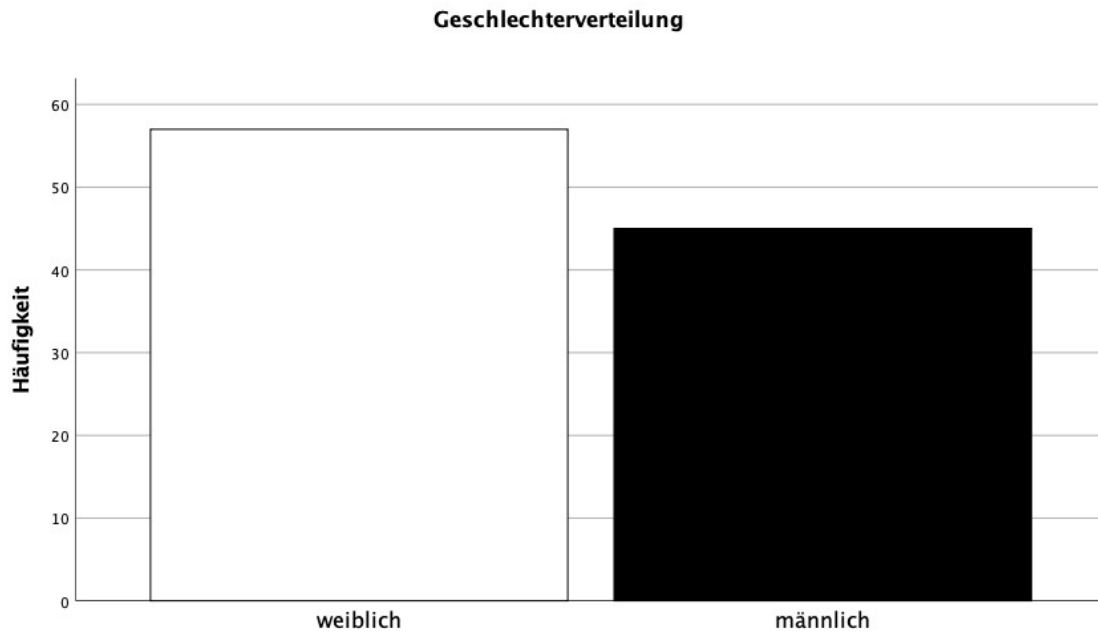


Abb. 10: Geschlechterverteilung nach weiblichen und männlichen Frühgeborenen

Bezüglich des SGA-Status wiesen 11 von 102 Patienten (10,8%) ein Wachstum <10. Perzentile das Gewicht, den Kopfumfang und die Länge betreffend auf (Voigt et al., 1996). Mit 7 (63,6%) zu 4 (36,4%) waren fast doppelt so viele Kinder des männlichen Geschlechts betroffen (Abb. 11, Seite 36).

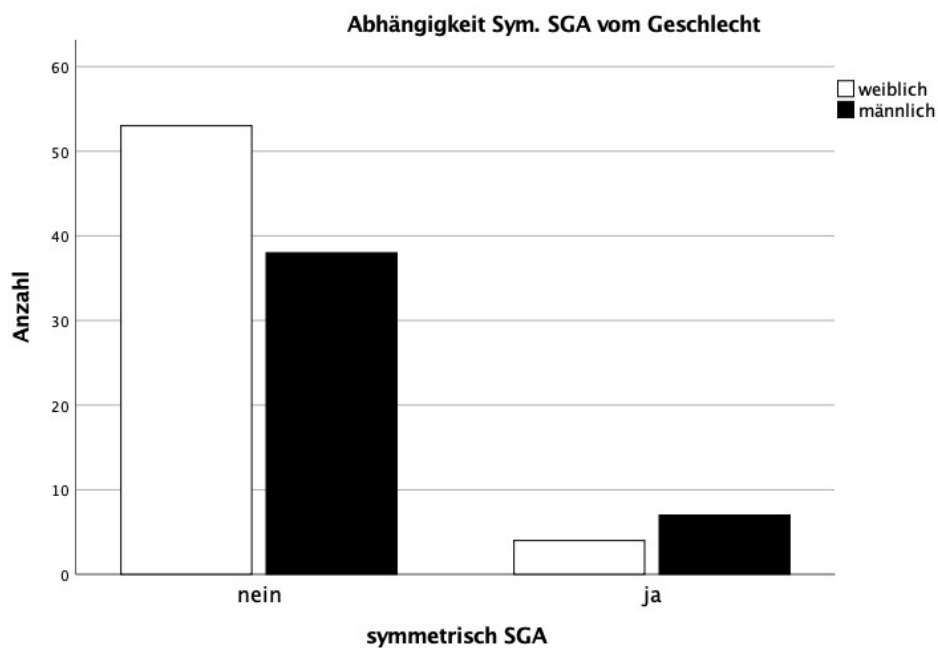


Abb. 11: Abhängigkeit des symmetrischen SGA-Status vom Geschlecht

Untersuchung der Verteilung von Einlings- und Mehrlingsgeburten

Bei 55 (53,9%) der 102 Frühgeborenen handelte es sich um Einlinge, 47 (46,1%) Kinder sind Mehrlingsschwangerschaften entsprungen. Die höchste Mehrlingskombination waren Vierlinge, 38 Kinder stammten aus Zwillings- und 5 aus Drillingschwangerschaften (Abb. 12, Seite 37).

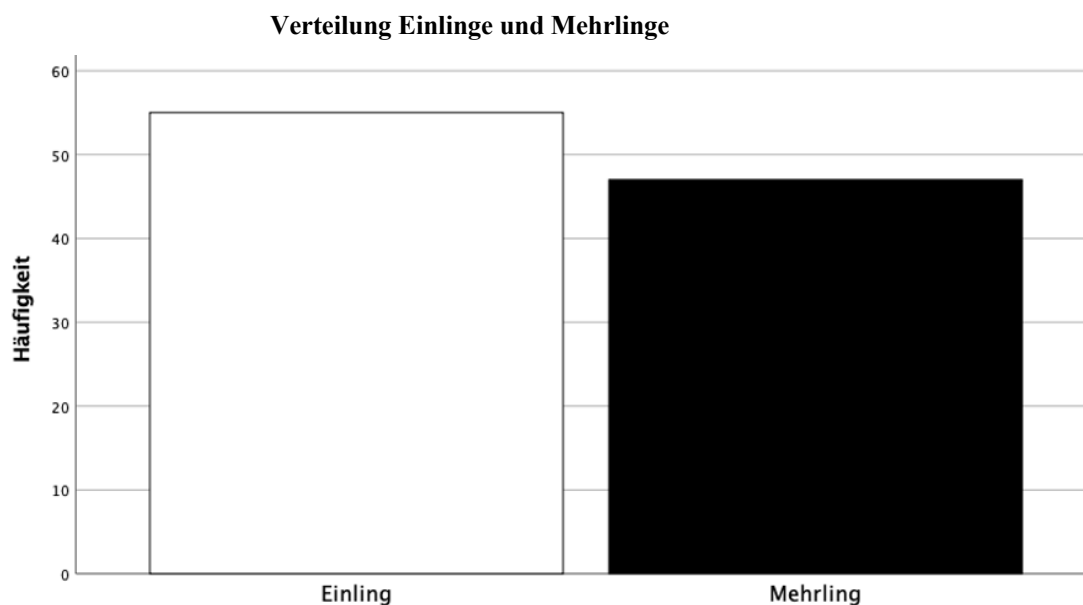


Abb. 12: Verteilung der Einlinge und Mehrlinge in der Kohorte

Untersuchungen bezüglich des Erhalts von antenatalen Steroiden

In der vorliegenden Kohorte von 102 Frühgeborenen erhielten 98 Patienten (96,1%) antenatale Steroide. Zusätzlich erfolgte die Einteilung nach dem Zeitpunkt der Applikation der antenatalen Steroide. Hier wurden drei Gruppen nach dem Applikationszeitpunkt <24 Stunden, zwischen 24 Stunden und 7 Tage und >7 Tage vor der Geburt unterschieden. Die meisten Kinder (47,1%) der Kohorte erhielten die antenatalen Steroide zwischen 24 Stunden und 7 Tage vor der Geburt. Bei 39,2% der Kinder wurden die Steroide mehr als 7 Tage vor Entbindung und bei 9,8% innerhalb der letzten 24h pränatal verabreicht. Lediglich 3,9% der Kinder der vorliegenden Kohorte erhielten keine Steroide vor der Geburt (Abb. 13, Seite 38).

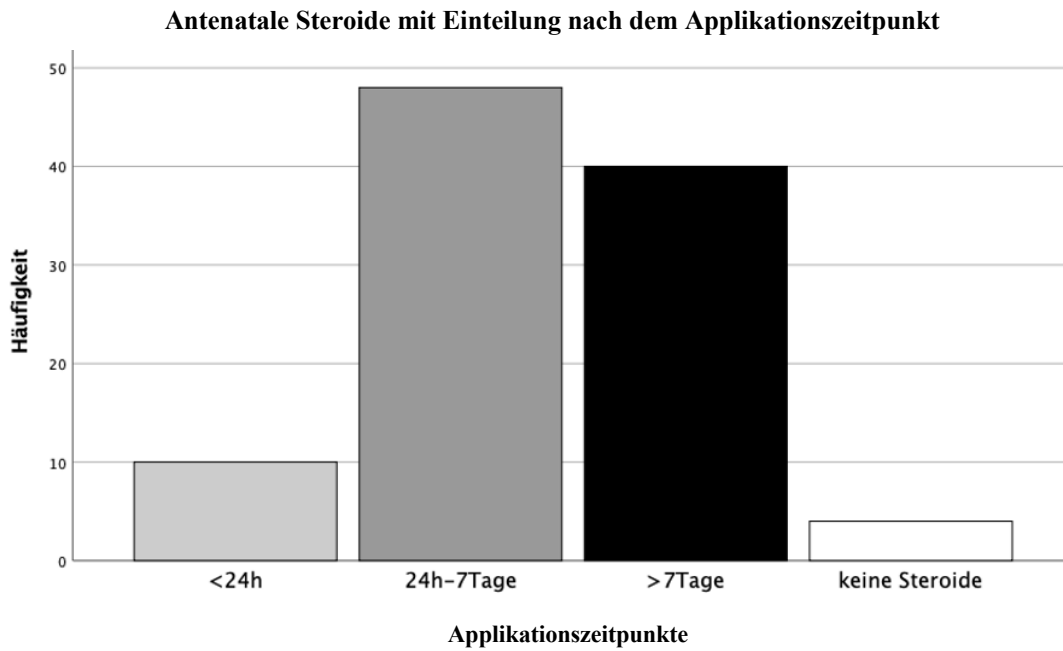


Abb. 13: Übersicht der Applikationszeitpunkte der antenatalen Steroide vor der Geburt

Untersuchungen zum Einsatz einer antibiotischen Therapie

Insgesamt erhielten 90 der 102 Frühgeborenen und somit 88,2% innerhalb der ersten 6 Lebenswochen eine antibiotische Therapie. In 84,4% der Fälle wurde die antibiotische Therapie direkt postnatal begonnen (Abb. 14, Seite 38).

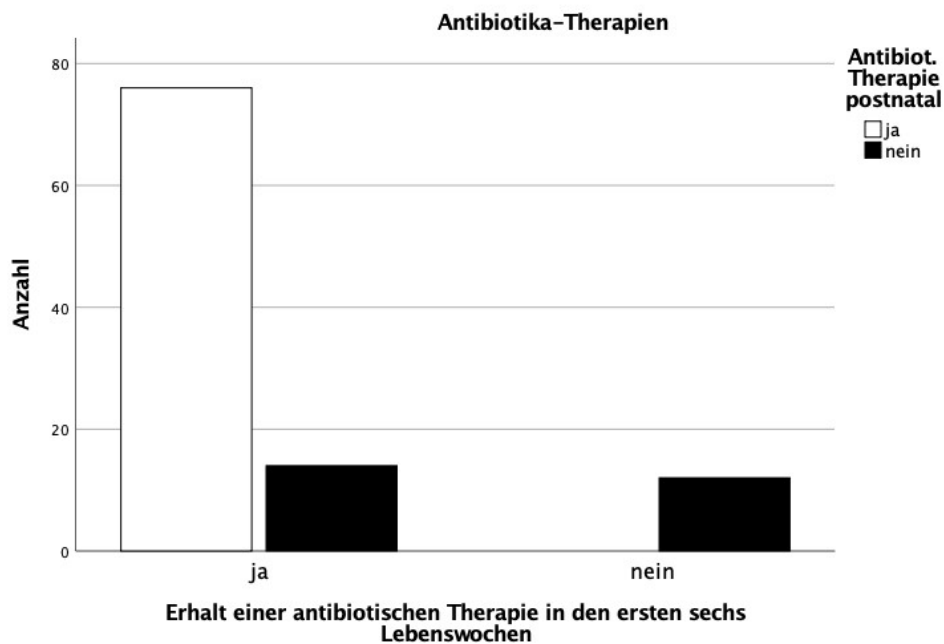


Abb. 14: Darstellung des Erhalts einer antibiotischen Therapie innerhalb der ersten 6 Lebenswochen mit Differenzierung nach dem Startzeitpunkt postnatal

Im Durchschnitt betrug die Dauer der antibiotischen Therapie 8,28 Tage, die minimale Dauer lag bei 0 Tagen, die maximale bei 41 Tagen (Tabelle 5, Seite 39).

Tabelle 5: Übersicht über die Dauer der antibiotischen Therapie

| | Mittelwert | Median | Minimum | Maximum |
|-------------------------------------|-------------------|---------------|----------------|----------------|
| Dauer antibiotische Therapie (Tage) | 8,28 | 5,00 | 0 | 41 |

Untersuchung zur Muttermilchversorgung

Es war bei der vorliegenden Kohorte bei 93 von 102 Frühgeborenen und somit bei 91,2% der Kinder eine Versorgung mit Muttermilch erfolgt. Zusätzlich wurde das Auftreten von Infektionen bei den mit Muttermilch versorgten Kindern betrachtet. Hier traten lediglich bei 16 von 93 Kindern mit Muttermilchernährung nosokomiale Infektionen, definiert nach den KISS-Kriterien, auf (NRZ, 2017). 82,8% blieben innerhalb der ersten sechs Lebenswochen infektionsfrei. Bei den 9 Kindern ohne Muttermilchversorgung traten in knapp einem Fünftel (22,2%) der Fälle nosokomiale Infektionen auf (Abb. 15, Seite 39).

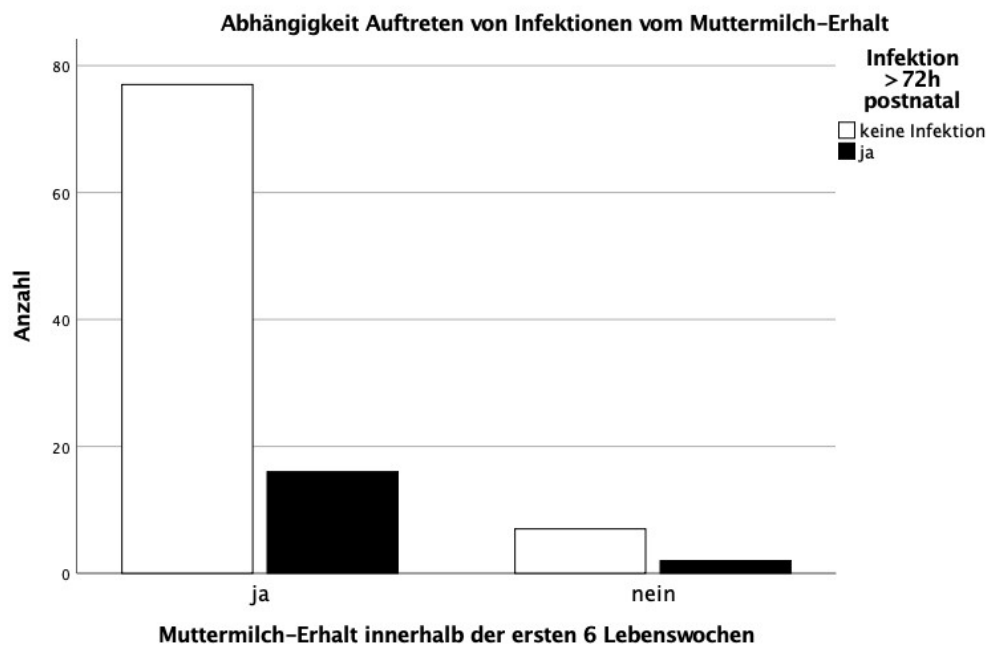


Abb. 15: Infektionshäufigkeit je nach vorhandener Muttermilchversorgung

Komorbiditäten

Die häufigsten untersuchten Komorbiditäten der Kohorte neben der BPD waren die intraventrikuläre Hämorrhagie (IVH), die Retinopathia praematurorum (ROP) und bakterielle Infektionen. Bei einem Drittel (33,3%) der 102 Frühgeborenen lag keine der genannten Komorbiditäten vor. Mit 66 von 68 Betroffenen war die ROP die am häufigsten aufgetretene Erkrankung. Sie trat in 41 Fällen isoliert, in 11 Fällen kombiniert mit einer Infektion und in 8 Fällen kombiniert mit einer IVH auf. In 6 Fällen traten alle drei Komorbiditäten gepaart auf. Isolierte intraventrikuläre Blutungen und Infektionen traten hingegen mit jeweils 1 Patient von den 68 mit Komorbiditäten betroffenen Kindern nur selten auf (Abb. 16, Seite 40).

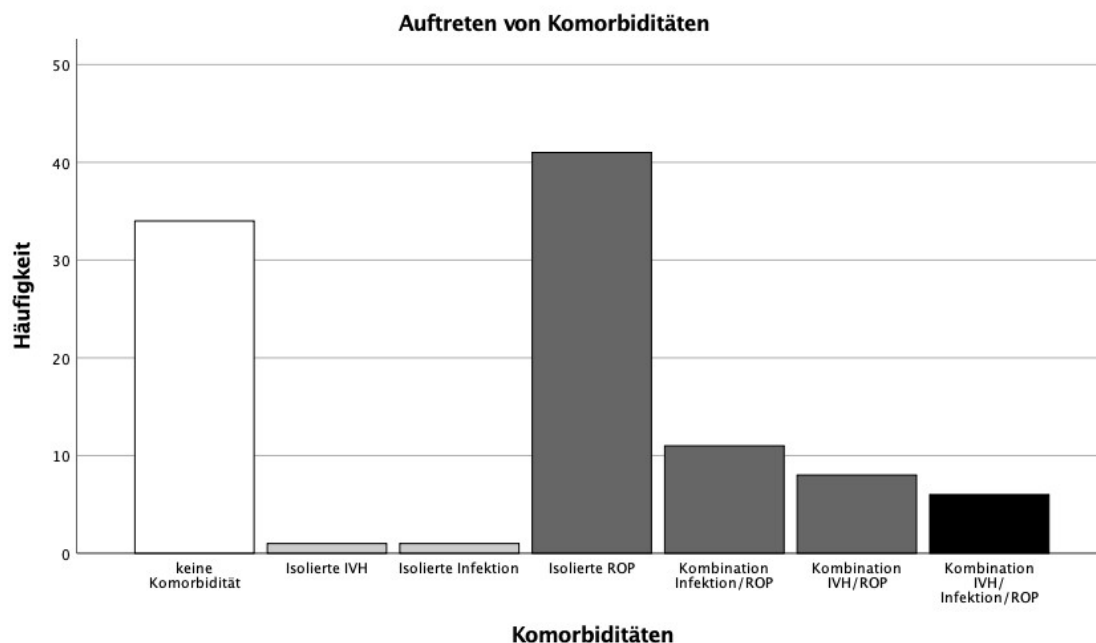


Abb. 16: Übersicht der aufgetretenen Komorbiditäten

Untersuchungen zum Auftreten einer Bronchopulmonalen Dysplasie

Wie bei einer Kohorte mit einem Geburtsgewicht <1000g zu erwarten, wiesen 84 von 102 Kindern und somit 82,4% eine BPD auf. Nach der bereits in der Einleitung beschriebenen Definition von Jobe und Bancalari (Tabelle 1, Seite 5) erfolgte die Einteilung nach dem Schweregrad der BPD von 0 (keine BPD vorliegend) bis Grad 3 (schwere BPD). 18 der 102 Kinder wiesen keine BPD auf, bei 48,0% lag eine milde, bei 4,9% eine moderate und bei 29,4% eine schwere BDP vor (Abb. 17, Seite 41).

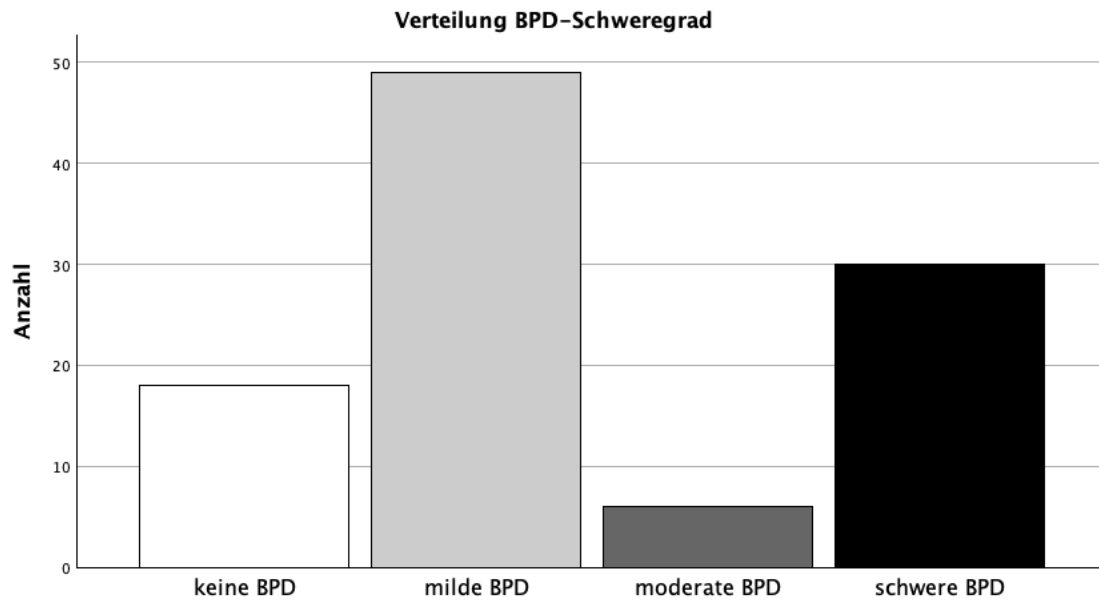


Abb. 17: Einteilung der Kohorte nach dem BPD-Schweregrad

Da nahezu alle der extrem zu früh geborenen Kinder die Kriterien einer BPD erfüllen und in ihrem späteren Leben gewisse Einschränkung der Lungenfunktion aufweisen, wurden sie für die Analyse angelehnt an den zu erwartenden Schweregrad der Lungenfunktionsbeeinträchtigung in die Gruppen keine/milde BPD (67 Kinder (65,7%)) und moderate/schwere BPD (35 Kinder (34,3%)) unterteilt (Abb. 18, Seite 41).

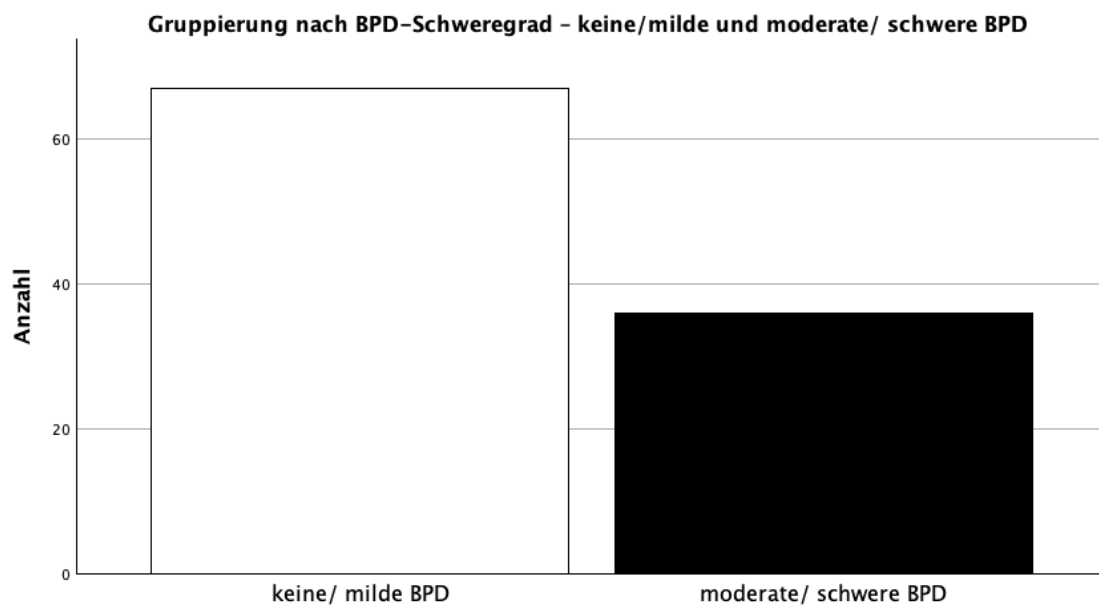


Abb. 18: Einteilung der Kohorte nach dem BPD-Schweregrad in keine/milde und moderate/schwere BPD

Im Hinblick auf die Ausprägung des BPD-Schweregrades im Geschlechtervergleich wurde erkenntlich, dass bei Kindern des männlichen Geschlechts zu weiblichen Kindern mit 21 von 45 (46,6%) betroffenen Patienten im direkten Vergleich knapp 22% mehr einen moderaten bis schweren BPD-Grad aufwiesen (Abb. 19, Seite 42).

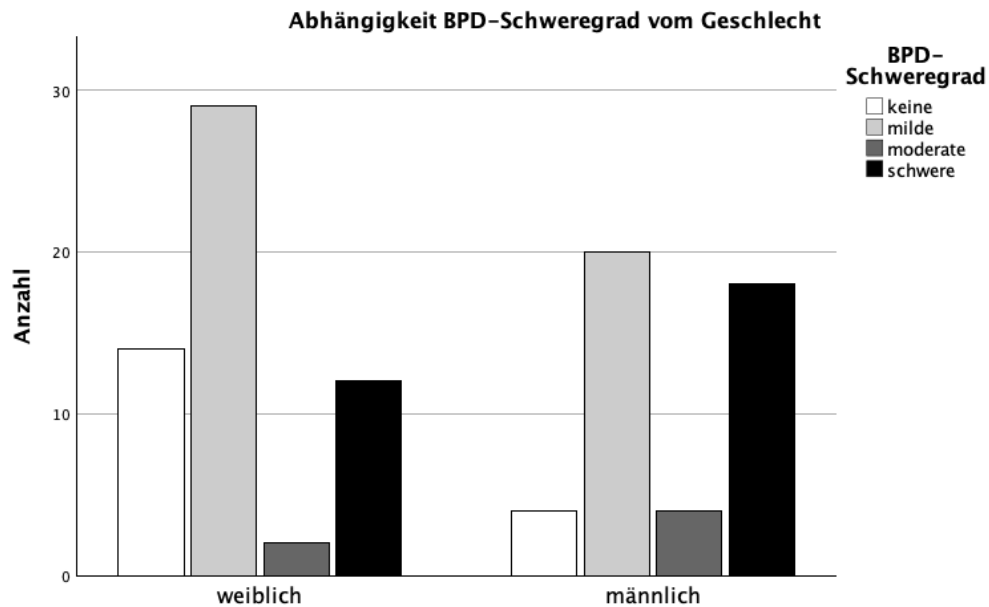


Abb. 19: Abhängigkeit des BPD-Schweregrades nach Geschlechterverteilung

Bei den weiblichen Kindern wiesen insgesamt nur 14 von 57 (24,5%) einen moderaten bis schweren Grad auf. Umgekehrt war zu sehen, dass bei den weiblichen Kindern 28,4% mehr als bei den männlichen eine milde beziehungsweise keine BPD aufwiesen (Abb. 19, Seite 42).

Auch im Hinblick auf die vollendete Schwangerschaftswoche waren Auswirkungen auf den BPD-Schweregrad erkennbar. So wiesen 32 von 82 (39%) Kinder mit in einem Gestationsalter <28 vollendeten SSW eine moderate bis schwere BPD auf. Bei den Kindern mit einem Gestationsalter >28 vollendeten SSW hingegen waren nur noch 3 von 20 (15%) von einer moderaten bis schweren BPD betroffen (Abb. 20, Seite 43).

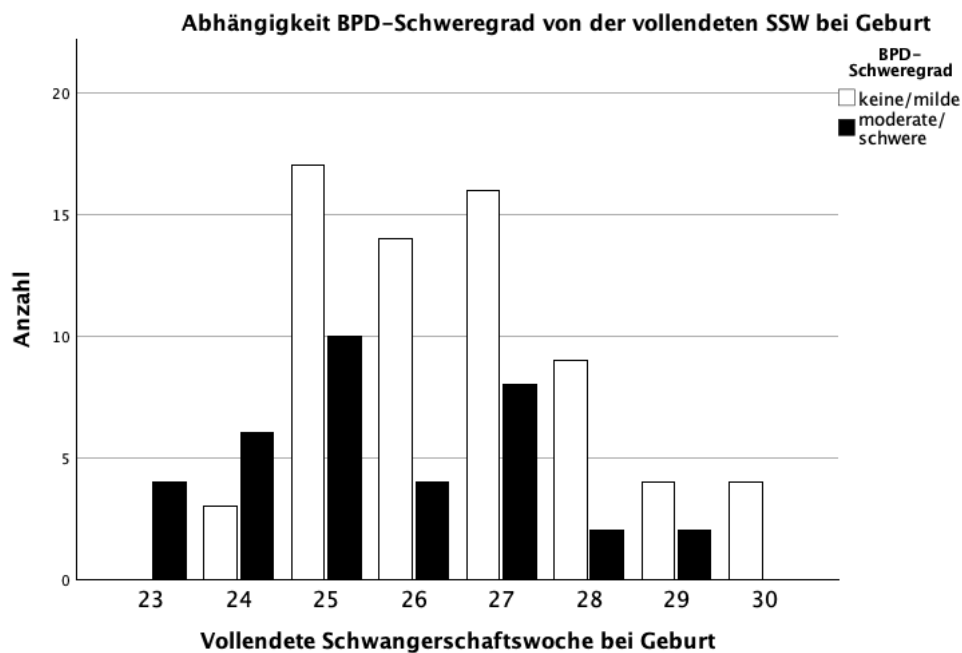


Abb. 20: Abhängigkeit des BPD-Schweregrades von der vorliegenden vollendeten Schwangerschaftswoche

Auswirkungen der untersuchten Grunddaten und Komorbiditäten auf den BPD-Schweregrad

Des Weiteren wurden die Auswirkungen der oben genannten Variablen auf den BPD-Schweregrad analysiert. Hierfür blieb die Gruppierung nach keine/milde (n= 67) und moderate/schwere (n= 35) BPD fortbestehen. In Tabelle 6 auf Seite 44 werden die Ergebnisse der statistischen Analysen der gesamten Kohorte präsentiert. Die Frühgeborenen wurden in Bezug auf die Variablen mittels der statistischen Analyse nach den Gruppen keine/milde BPD und moderate/schwere BPD miteinander verglichen und die Signifikanz der Ergebnisse bestimmt. In dieser Analyse bestätigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden BPD-Schweregrad-Gruppen bezüglich der Grunddaten des Gestationsalters, des Geburtsgewichtes, des männlichen Geschlechtes und des SGA-Status. In der Gruppe keine/milde BPD lag das durchschnittliche Gestationsalter bei 26+6 SSW, die Kinder der Gruppe moderate/schwere BPD waren im Durchschnitt mehr als eine SSW früher geboren (25+4 SSW). Das Signifikanzniveau wurde hier mit $p=0,001^{**}$ berechnet. Das Signifikanzniveau bezüglich der Untersuchungen des Geburtsgewichtes lag bei $p<0,001^{***}$. Die Frühgeborenen der moderaten/schweren-BPD-Gruppe wiesen im Durchschnitt bei Geburt ein um 190g niedrigeres Gewicht auf als die Vergleichsgruppe. Von den 11 Kindern, welche SGA geboren wurden, wiesen 8 (81,8%) eine moderate/schwere BPD

und nur 2 (19,2%) keine/eine milde BPD auf. In den Vergleichsgruppen lag die Inzidenz damit bei 3% in der keine/milde BPD-Gruppe im Gegensatz zu 25,7% in der moderaten/schweren BPD-Gruppe. Auch hier zeigte sich ein hohes Signifikanzniveau mit $p < 0,001$ ***. Auch das männliche Geschlecht betreffend ergaben die Analysen einen mit $p = 0,02$ * signifikanten Unterschied zwischen den beiden Vergleichsgruppen, da das männliche Geschlecht mit 60,0% in der moderaten/schwere BPD-Gruppe fast doppelt so häufig wie in der Vergleichsgruppe (35,8%) vorlag. Hinsichtlich der Variable Mehrlingsgeburt konnten keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,66$) festgestellt werden. Des Weiteren wurden die BPD-Schweregrad-Gruppen bezüglich der Komorbiditäten IVH und ROP verglichen. Die IVH betreffend zeigten sich keine signifikanten Unterschiede, bei der ROP lag jedoch sowohl im Hinblick auf die totale Inzidenz als auch für die schwere Ausprägung \geq Grad 3 ein hohes Signifikanzniveau von $p = 0,001$ ** bzw. $< 0,001$ *** vor. In der keine/milde BPD-Gruppe lag die totale Inzidenz bei 53%, in der moderate/schwere BPD-Gruppe bei 85,7%. Noch deutlicher wird der Unterschied im Vergleich bei der schweren Ausprägung \geq Grad 3 der ROP. Hier liegt die Inzidenz mit 45,7% in der moderaten/schweren BPD-Gruppe mehr als vierfach so hoch als in der Vergleichsgruppe (10,4%). Auch die Variablen der Behandlung der Frühgeborenen, entsprechend antenataler Steroide, antibiotischer Therapie und die Muttermilchversorgung wurden im Gruppenvergleich untersucht. Hier zeigte sich ein signifikanter Unterschied in den Teilbereichen antenatale Steroide < 24 Stunden vor Geburt ($p = 0,026$ *) und Dauer der antibiotischen Therapie ($p = 0,002$ **). Die anderen Teilbereiche dieser Variablen ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Vergleichsgruppen. Auch die Muttermilchversorgung zeigte im Gruppenvergleich keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,509$).

Tabelle 6: Charakteristika der Patientenkohorte

| | Totale Kohorte (n=102) | Keine/ milde BPD (n=67) | Moderate/schwere BPD (n=35) | p-Wert |
|----------------------------|---------------------------|----------------------------|--------------------------------|-----------------|
| Gestationsalter (Wo +Tage) | 26+3 (23+4- 30+5) | 26+6 (24+3- 30+5) | 25+4 (23+4- 29+1) | $p = 0,001$ ** |
| Geburtsgewicht (g) | 795 (320-995) | 880 (490-995) | 690 (320-990) | $p < 0,001$ *** |
| Männl. Geschlecht (%) | 45/102 (44,1%) | 24/67 (35,8%) | 21/35 (60,0%) | $p = 0,020$ * |
| SGA (%) | 11/102 (10,8%) | 2/67 (3%) | 9/35(25,7%) | $p < 0,001$ *** |
| Mehrlings-Geburt (%) | 47/102 (46,1%) | 32/67 (47,8%) | 15/35 (42,9%) | $p = 0,660$ |

| | | | | |
|--------------------------------------|----------------|----------------|---------------|------------|
| BPD, keine (%) | 18/102 (17,6%) | 18/67 (26,9%) | | |
| BPD, mild (%) | 49/102 (48,0%) | 49/67 (73,1%) | | |
| BPD, moderat (%) | 5/102 (4,9%) | | 5/35 (14,3%) | |
| BPD, schwer (%) | 30/102 (29,4%) | | 30/35 (85,7%) | |
| Intraventrikuläre Hämorrhagie | | | | |
| Totale Inzidenz (%) | 15/102 (14,7%) | 9/67 (13,4%) | 6/35 (17,1%) | p=0,621 |
| Grad III/IV (%) | 11/102 (10,8%) | 7/67 (10,4%) | 4/35 (11,4%) | p=0,885 |
| PVL (%) | 1/102 (1,0%) | 1/67 (1,5%) | 0/35 (0,0%) | p=0,485 |
| Retinopathia praematurorum | | | | |
| Totale Inzidenz (%) | 66/102 (64,7%) | 36/67 (53,7%) | 30/35 (85,7%) | p=0,001** |
| ≥Grad 3 (%) | 23/102 (22,5%) | 7/67 (10,4%) | 16/35 (45,7%) | p<0,001*** |
| Antenatale Steroide | | | | |
| <24h (%) | 14/102 (13,7%) | 8/67 (11,9%) | 6/35 (17,1%) | p=0,026* |
| 24h-7 Tage (%) | 48/102 (47,1%) | 27/67 (40,3%) | 21/35 (60,0%) | |
| >7Tage | 40/102 (39,2%) | 32/67 (47,58%) | 8/35 (22,9%) | |
| Muttermilchversorgung (%) | 93/102 (91,2%) | 62/67 (92,5%) | 31/35 (88,6%) | p=0,509 |
| Antibiotische Therapie | | | | |
| Alle (%) | 90/102 (88,2%) | 58/67 (86,6%) | 32/35 (91,4%) | p=0,475 |
| Postnataler Beginn (%) | 76/102 (74,5%) | 52/67 (77,6%) | 24/35 (68,6%) | p=0,325 |
| Dauer der Gabe (Tage) | 5 (0-41) | 5 (0-38) | 9 (0-41) | p=0,002** |

Die Tabelle beschreibt die Patienten-Charakteristika der gesamten Kohorte. Die Frühgeborenen wurden entsprechend der Schwere der bronchopulmonalen Dysplasie nach der aktuellen Definition eingeteilt und in keine/milde BPD sowie moderate/schwere BPD zusammengefasst (Tabelle 1, Seite 5).

Das Gestationsalter ist in vollendeten Wochen plus zusätzliche Tage angegeben. Das Kriterium SGA wurde als Wachstum des Kopfumfangs, der Länge und des Gewichtes unterhalb der 10. Perzentile definiert. Der Erhalt von antenatalen Steroiden wurde in die Gabe <24h, zwischen 24h und 7 Tagen, sowie mehr als 7 Tage vor Geburt eingeteilt. Eine erneute Gabe im Abstand von mindestens 7 Tagen nach Erstgabe unmittelbar vor der Geburt wurde in Gruppe 24h bis 7 Tage pränatal eingestuft. Die Muttermilchversorgung umfasst alle Kinder, die Muttermilch innerhalb der ersten sechs Lebenswochen erhalten haben, unabhängig von Menge und Dauer. Antibiotische Therapie schließt jede Applikation innerhalb der ersten sechs Lebenswochen, den Start der Therapie direkt nach der Geburt und die Dauer der Applikation ein. Mittels der statistischen Analyse wurden Kinder ohne/mit milder BPD und Kinder mit moderater/schwerer BPD verglichen. *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.

Um mögliche relevante Störfaktoren in weiteren Analysen auszugleichen, wurden die Variablen der Grunddaten sowie die Variablen antenatale Steroide und Dauer der Antibiotikatherapie mit einem logistischen Regressionsmodell, welches mit Hilfe einer AIC-basierte Rückwärtsauswahl definiert wurde, risikoadjustiert. Die Ergebnisse aus dem Confounder-Modell stellt die Tabelle 7 auf Seite 46 dar. Hier zeigte sich in der untersuchten Kohorte nur ein signifikanter Einfluss des männlichen Geschlechts und des Geburtsgewichtes auf den BPD-Schweregrad. Auch beim SGA-Status und den antenatalen Steroiden zeichnete sich ein Trend hin zur Signifikanz ab, weshalb auch diese beiden Variablen in den folgenden Berechnungen zur Risikoadjustierung mit herangezogen wurden.

Tabelle 7: Confounder-Modell zur Detektierung/Berücksichtigung zusätzlicher Risikofaktoren für BPD

| | Estimate | Standard Error | z-Wert | p-Wert |
|--|-----------------|-----------------------|---------------|---------------|
| (intercept) | 8,8811 | 5,5682 | 1,595 | 0,1107 |
| Gestationsalter (Tage) | -0,0288 | 0,0331 | -0,871 | 0,3838 |
| Geburtsgewicht (g) | -0,0078 | 0,0026 | -3,023 | 0,0025** |
| SGA | 2,1459 | 1,3547 | 1,584 | 0,1132 |
| Männl. Geschlecht | 1,4725 | 0,6621 | 2,224 | 0,0262* |
| Mehrlingsgeburt | 0,4519 | 0,3816 | 1,184 | 0,2363 |
| Antenatale Steroide (Tage vor der Geburt) | -0,0689 | 0,0396 | -1,740 | 0,0818 |
| Dauer der antibiot. Therapie | 0,0660 | 0,0495 | 1,334 | 0,1822 |

Der Schweregrad der bronchopulmonalen Dysplasie (BPD) wurde als binäre Antwort in keine/milde BPD (0) und moderate/schwere BPD (1) unterteilt. Kovarianten sind Gestationsalter, Geburtsgewicht, für das Gestationsalter (mit 1: Ja, 0: Nein), Geschlecht (1: männlich, 0: weiblich), Mehrlingsgeburt (Anzahl der Vielfachen: 1, 2, 3 oder 4), vorgeburtliche Steroide (die Anzahl der Tage, an denen Steroide vor der Geburt verabreicht wurden) und die Gesamtdauer der Antibiotikatherapie in den ersten 6 Lebenswochen (Beobachtungszeitraum). * p <0,05, ** p <0,01.

Allgemeine Untersuchungen zur bakteriellen Besiedlung und Kategorisierung des Keimpektrums

Ein besonderes Augenmerk dieser Arbeit wurde zum einen auf die bakterielle Besiedlung der Frühgeborenen im nasopharyngealen Raum sowie dem Analtbereich, zum anderen insbesondere auch auf den Besiedlungszeitpunkt innerhalb der ersten 6 Lebenswochen gelegt. Durch die enormen Forschungsfortschritte in den letzten Jahrzehnten ist es heute möglich, auch viele der extremen Frühgeborenen nur mit Hilfe einer non-invasiven Beatmung durch die ersten Lebenswochen zu führen. So waren auch in der vorliegenden Kohorte insgesamt 42 (41,2%) der 102 Kinder zu keinem Zeitpunkt invasiv beatmet, sodass eine Gewinnung von Trachealsekret zur mikrobiologischen Untersuchung nicht möglich war. Aufgrund der bereits im Material- und Methodenteil unter dem Abschnitt *Statistische Auswertung* auf Seite 31 erläuterten und begründeten Annahme, dass es sich im Mund- und Nasenraum um ein vergleichbares Keimpektrum handelt, wurden in den nachfolgenden Untersuchungen und statistischen Auswertungen die Abstrichergebnisse von oral und nasal als nasopharyngeal zusammengefasst. Diese Annahme wurde zuletzt auch in einer aktuellen Publikation bestätigt (Brewer et al., 2021). Aufgrund des bereits bekannten Einflusses des Mikrobioms des Magen-Darm-Traktes auf mögliche Komplikationen postnatal und der etablierten Hypothese der gut-lung Achse wurden zusätzlich noch die mikrobiologischen Abstriche des Analtbereiches mit in die Untersuchungen einbezogen.

Die bakteriellen Besiedlungen der Frühgeborenen innerhalb der ersten 6 Lebenswochen verlief innerhalb der Kohorte recht heterogen. Das Vorkommen spezifischer Keime lag innerhalb erwarteter Bereiche. Individuelle Variationen und Keimvorkommen waren trotz einer Nachweisrate von 70,6% für die statistischen Analysen nicht ausreichend. Daher erfolgten zusätzliche Untersuchungen nach der Einteilung bezüglich der Beschaffenheit der Gram-Färbung sowie der potentiellen Pathogenität der nachgewiesenen Bakterien, um eine aussagekräftigere Analyse gewährleisten zu können.

Bakterielle Besiedlung des nasopharyngealen Raums und des Analbereichs

Eine Besiedlung beider Lokalisationen war bei Geburt und in der ersten Lebenswoche unabhängig von den Keimstämmen sehr niedrig, nahm aber rapide auf annähernd 80% innerhalb der zweiten Lebenswoche zu. Während bei der Geburt lediglich 9,8% der Kinder eine bakterielle Besiedlung des nasopharyngealen Raums und 4,9% des Analbereichs aufwiesen, lagen die Werte in der zweiten Lebenswoche bereits bei 74,5% und 72,5%. Eine bakterielle Besiedlung aller Kinder war im nasopharyngealen Raum ab der fünften Lebenswoche und im Analbereich ab der vierten Lebenswoche nachweisbar (Abb. 21 und 22, Seite 48). Auch zeigte sich, dass die meisten Kinder, die an einer moderaten bis schweren BPD litten, eine frühe Besiedelung innerhalb der zweiten Lebenswoche aufwiesen. Die separate Untersuchung der Besiedelung mit multiresistenten Erregern war nicht möglich, da die Besiedelungsraten für VRE bei 0,98%, für MRSA bei 0% und für MRGN-Erreger bei 16,7% lagen.

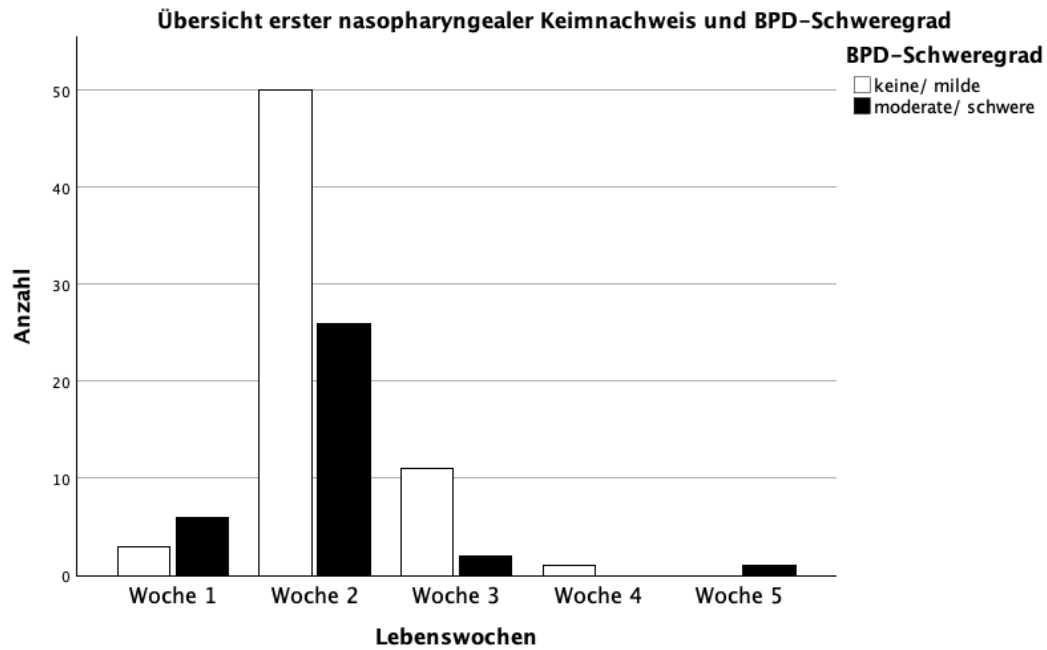


Abb. 21: Besiedlungszeitpunkt mit dem ersten nasopharyngealen Keim in Lebenswochen separiert nach den Vergleichsgruppen keine/milde und moderate/schwere BPD

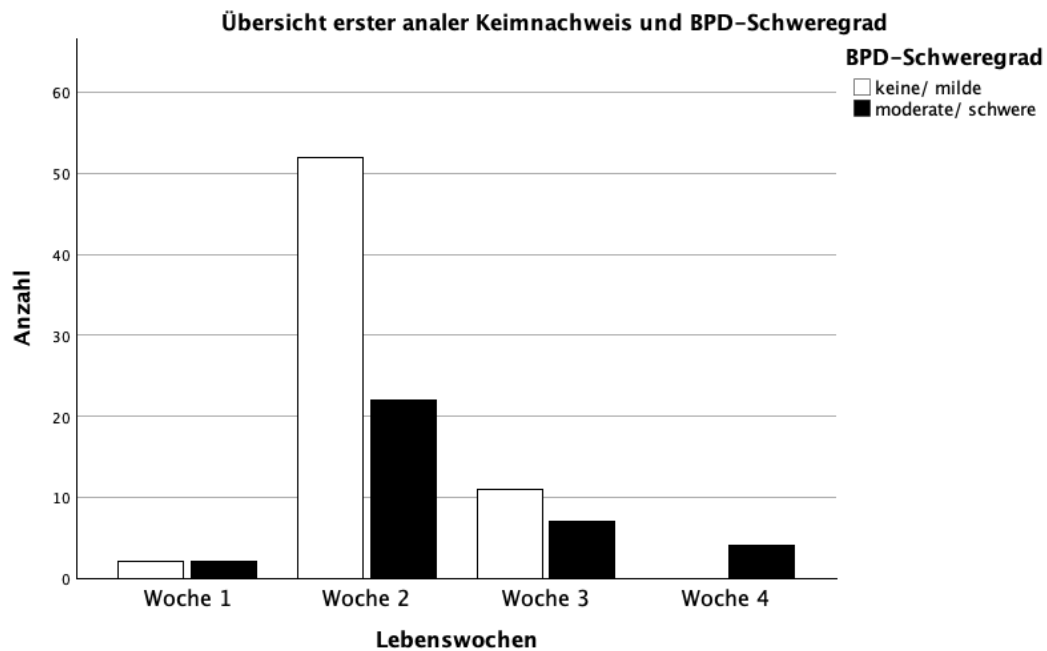


Abb. 22: Besiedlungszeitpunkt mit dem ersten analen Keim in Lebenswochen separiert nach den Vergleichsgruppen keine/milde und moderate/schwere BPD

Differenzierung der Keime nach potentieller Pathogenität und Gram-Färbung

Trotz des deutlichen Anstiegs der Keimnachweise innerhalb der zweiten Lebenswoche reichten die erhobenen Angaben und die Variabilität der Ereignisse für eine

weitergehende statistische Analyse nicht aus, sodass die Keime nach Stammzugehörigkeit näher differenziert wurden.

Zuerst erfolgte die Klassifizierung der Keimstämme nach den Eigenschaften in der Gram-Färbung (gram-positiv/gram-negativ) und in einem weiteren Schritt nach der potentiellen Pathogenität der Erreger für die Frühgeborenen. Hierfür wurde sich an den Daten des Nationalen Referenz-Zentrums für Surveillance von nosokomialen Infektionen sowie den in Tabelle 2 auf Seite 15 aufgeführten Studien orientiert (Zusammenfassung in Tabelle 3 Seite 32). So wurden in unserer Kohorte insgesamt 12 Keime als potentiell pathogen eingestuft. In Tabelle 8 auf Seite 49 wurden diese zusätzlich nach ihren Gram-Färbungsverhalten separiert.

Tabelle 8: Nachgewiesene potentiell pathogene Bakterien separiert nach der jeweiligen Gramfärbung in alphabetischer Reihenfolge

| Gram-positive Bakterien | Gram-negative Bakterien |
|--------------------------------|--|
| Enterococcus species (n= 72) | Citrobacter species (n= 2) |
| Staphylococcus aureus (n= 44) | Enterobacter species (n= 28) |
| Streptococcus Gruppe A (n= 1) | Escherichia coli (n= 63) |
| Streptococcus Gruppe B (n= 2) | Haemophilus species (n= 2) |
| | Klebsiella species (n= 17) |
| | Proteus species (n= 4) |
| | Pseudomonas species (n= 6) |
| | Serratia species (n= 0) |
| | <u>Stenotrophomonas maltophilia (n= 0)</u> |

Insgesamt 12 Bakterien wurden basierend auf Literatur und Daten des Deutschen Referenzzentrums für Surveillance von nosokomialen Infektionen und der KRINKO (2013) als potentiell pathogen eingestuft. *n* entspricht der Anzahl der in der untersuchten Kohorte besiedelten Kinder innerhalb der ersten 6 Lebenswochen.

Des Weiteren ist zusätzlich zu denen in Tabelle 8 auf Seite 49 aufgeführten Keimen bei einem sehr hohen Nachweiswert von 93,1 % (95 von 102 Kindern) in der vorliegenden Kohorte der Koagulase-negative Staphylococcus (KNS) zu berücksichtigen. In der Literatur und auch für den deutschsprachigen Sprachraum wird KNS als der häufigste Erreger bei nosokomialen Infektionen bei kleinen Frühgeborenen angegeben, jedoch meist assoziiert mit einem Gefäßzugang und nicht als primäre Ursache von late onset Infektionen, was seine per se eher geringe Pathogenität unterstreicht. Bei einer solch hohen Besiedelung, nahezu der gesamten Kohorte entsprechend, war eine statistische Analyse bezüglich der Auswirkung auf den BPD-Schweregrad für diesen Keim nicht anwendbar, sodass dieser Keim in die folgenden Analysen nicht weiter mit einbezogen wurde. Gerade vor dem Hintergrund der hohen Besiedelungsrate in beiden Gruppen

(keine/milde BPD 92,5%, moderate/schwere BPD 97%) ist auch nicht von einem relevanten Einfluss auf die Inzidenz der moderaten/schweren BPD auszugehen.

Nach Einteilung hinsichtlich der potentiellen Pathogenität zeigte sich äquivalent zum generellen ersten Keimnachweis sowohl im nasopharyngealen als auch im analen Bereich ein sehr geringer Nachweis direkt postnatal und in der ersten Lebenswoche sowie eine deutliche Zunahme der Besiedelung ab der zweiten Lebenswoche. Besonders zeigte sich dies für die keine/milde BPD-Schweregrad-Gruppe. Für die Gruppe der moderaten/schweren BPD zeigte sich bei den potentiell pathogenen Keimen ein Gipfel in der zweiten bis vierten Lebenswoche (Abb. 23, Seite 50, Abb. 24, Seite 51).

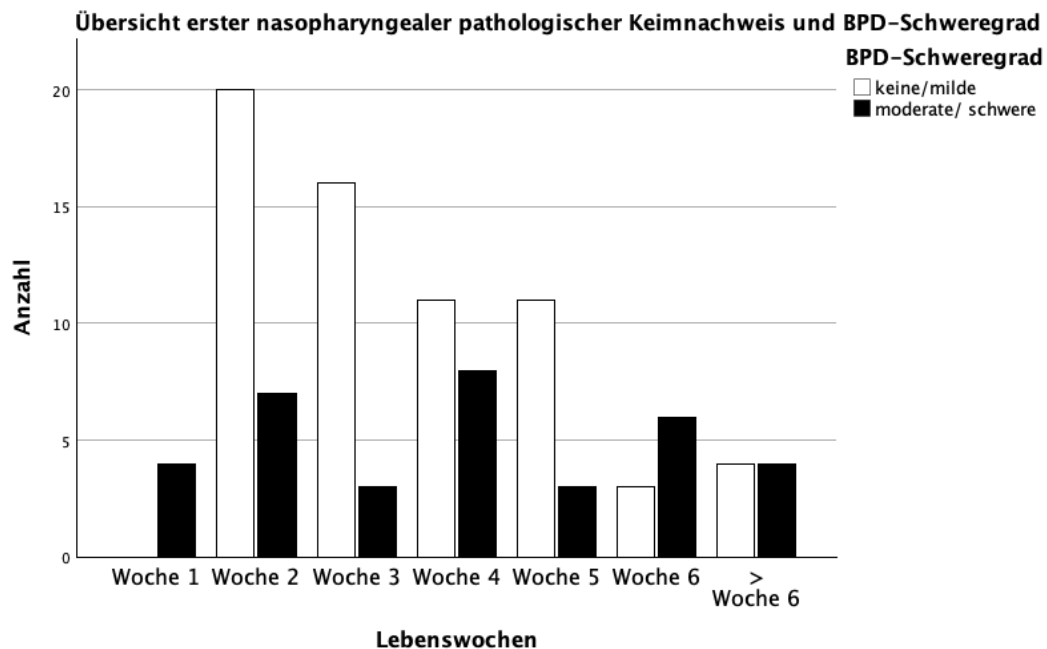


Abb. 23: Besiedelungszeitpunkt mit dem ersten nasopharyngealen pathogenem Keim in Lebenswochen separiert nach den Vergleichsgruppen keine/milde und moderate/schwere BPD

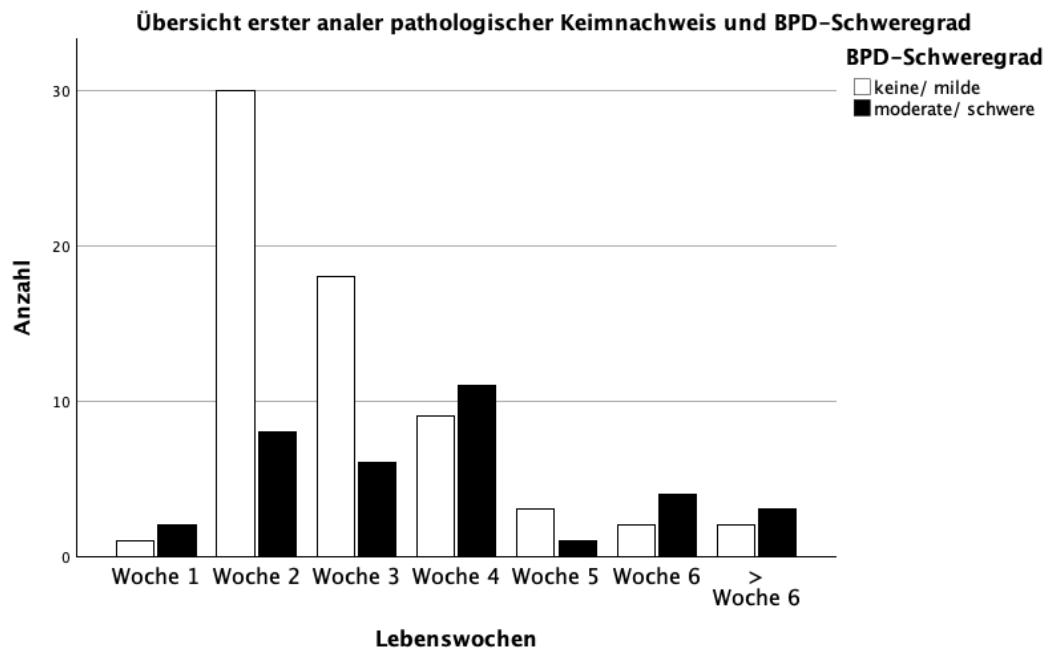


Abb. 24: Besiedlungszeitpunkt mit dem ersten analen pathogenem Keim in Lebenswochen separiert nach den Vergleichsgruppen keine/milde und moderate/schwere BPD

Bei näherer Betrachtung der Besiedlungszeitpunkte für die gram-negativen Keime zeigte sich im nasopharyngealen Raum erstmalig kein deutlicher Anstieg der Besiedlungen ab der zweiten Lebenswoche. Sowohl in der keine/milde BPD-Schweregrad-Gruppe als auch in der moderaten/schwere Gruppe blieben die Besiedlungen innerhalb der ersten 6 Lebenswochen stabil.

Im Vergleich zu den Beobachtungen beim generellen nasopharyngealen und analen Keimnachweis gab es nach der Differenzierung bezüglich der Pathogenität und der Gram-Färbung auch Kinder, die keine Besiedelung mit Keimen dieser Kategorien aufwiesen. In diesen Fällen wurde in den Grafiken die Kategorie >Woche 6 hinzugefügt. Bei den potentiell pathogenen Keimen lag die Anzahl nicht besiedelter Kinder im nasopharyngealen Raum bei 8 (7,8%) und im Analbereich bei 5 (4,9%) Patienten (Abb. 23, Seite 50, Abb. 24, Seite 51). Bei den gram-negativen Keimen zeigte sich im nasopharyngealen Raum bei knapp einem Drittel (31 von 102 Kindern) und im analen Bereich bei circa einem Viertel (24 von 102 Kindern) kein Nachweis einer Besiedelung (Abb. 25 und 26, Seite 52).

Da die Besiedlungsrate postnatal und in der ersten Lebenswoche sehr gering ist, wurden die Werte der ersten und zweiten Lebenswoche für die kommenden Analysen zu ≤ 2 kombiniert.

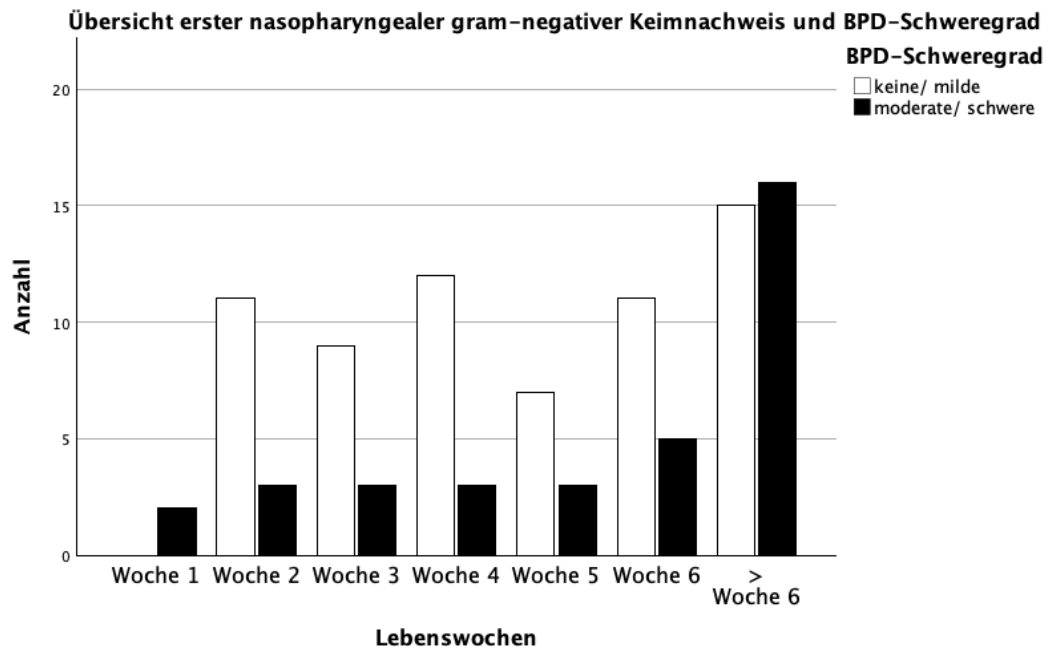


Abb. 25: Besiedelungszeitpunkt mit dem ersten nasopharyngealem gram-negativem Keim in Lebenswochen separiert nach den Vergleichsgruppen keine/milde und moderate/schwere BPD

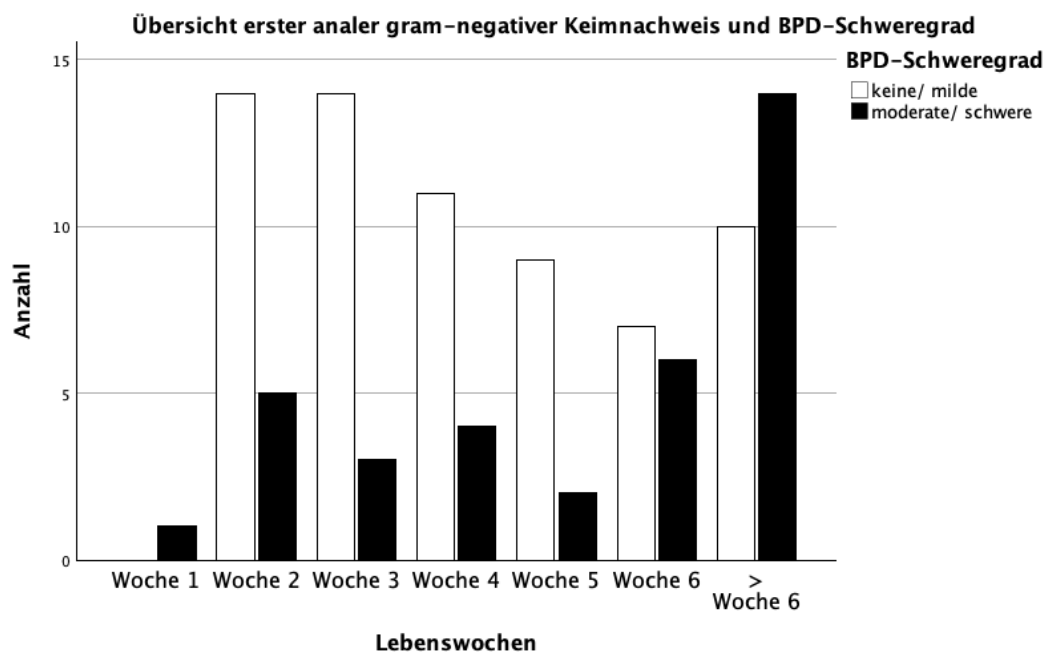


Abb. 26: Besiedelungszeitpunkt mit dem ersten analen gram-negativem Keim in Lebenswochen separiert nach den Vergleichsgruppen keine/milde und moderate/schwere BPD

Mikrobielle Besiedelung in den ersten 6 Lebenswochen und Schweregrad der BPD

Zur Untersuchung der statistischen Signifikanz des Einflusses der Lokalisation (nasopharyngealer Raum oder Analbereich) und der Keimkategorisierung (potentielle Pathogenität oder Zugehörigkeit zu gram-negativen Stämmen) wurden die im Confounder-Modell in Tabelle 7, Seite 46 risikoadjustierten Variablen mittels Devianz-Analyse mit einem Model verglichen, in welches die jeweiligen Lokalisationen und Keimkategorisierungen eingeschlossen wurden. Hiernach zeigte sich lediglich für die Kategorie *pathogene Bakterien der oberen Atemwege* ein signifikanter Effekt ($p=0,0043^{**}$) auf den BPD-Schweregrad (Tabelle 9, Seite 53).

Zur erneuten Prüfung erfolgte die gleiche Analyse ohne Einschluss der bis zur sechsten Lebenswoche nicht besiedelten Kinder. Hier bestätigte sich der Effekt ohne große Veränderungen die Signifikanz betreffend, der p-Wert lag bei $0,038^{**}$.

Hinsichtlich der gram-negativen Bakterienbesiedlung der oberen Atemwege und der Besiedelung der Analregion zeigte sich nicht annähernd ein Trend zur statistischen Signifikanz.

Tabelle 9: Einfluss der Lokalisation und der Kategorie der bakteriellen Besiedlung innerhalb der ersten 6 Lebenswochen auf das Auftreten einer moderaten/schweren BPD

| | Residual Degrees of Freedom | Residual Deviance | Degrees of Freedom | Deviance | p-Wert |
|---|-----------------------------|-------------------|--------------------|----------|----------|
| Pathogene Bakterien der oberen Atemwege | 87 | 63,662 | 5 | 17,1102 | 0,0043** |
| Gram-negative Bakterien der oberen Atemwege | 87 | 77,876 | 5 | 2,8959 | 0,7160 |
| Pathogene Bakterien anal | 87 | 74,365 | 5 | 6,4067 | 0,2686 |
| Gram-negative Bakterien anal | 87 | 71,086 | 5 | 9,6856 | 0,0847 |

Für die Kategorie pathogene Bakterien der oberen Atemwege war der Effekt auf den BPD-Schweregrad auf dem 5%-Niveau nach Adjustierung des p-Wertes unter der Verwendung der Bonferroni Korrektur signifikant, $**p<0,01$.

Einfluss der Ko-Variable *antibiotische Therapie* auf die Keimbesiedelung der oberen Atemwege und das Auftreten einer moderaten/schweren BPD

Innerhalb der Kohorte zeigte sich, wie bereits in Tabelle 6 auf Seite 44 beschrieben, ein signifikanter Unterschied bezüglich der Dauer der antibiotischen Therapie zwischen den beiden Vergleichsgruppen keine/milde BPD und moderate/schwere BPD. Daher wurde

diese Variante der Ko-Variable *antibiotische Therapie* im initialen Confounder-Modell (Tabelle 7, Seite 46) aufgenommen und risikoadjustiert. Durch die Risikoadjustierung zeigte sich jedoch, dass der Dauer der antibiotischen Therapie kein signifikanter Einfluss auf das Auftreten einer moderaten/schweren BPD zuzuschreiben ist. Daher wurde diese Form der Ko-Variante als möglicher Störfaktor in die weiteren Analysen mit einbezogen und insbesondere der Einfluss als Störfaktor im Hinblick auf die Signifikanz der Lokalisation und der Kategorisierung der bakteriellen Besiedelung für das Auftreten einer moderaten/schweren BPD untersucht (Tabelle 12, Seite 56).

Um die Auswirkungen der antibiotischen Therapie auf die Keimbesiedelung und somit das Auftreten einer moderaten/schweren BPD noch genauer zu analysieren, erfolgte initial eine erneute Risikoadjustierung analog zu dem Confounder-Modell aus Tabelle 7 auf Seite 46 mit den beiden weiteren Varianten der Ko-Variable *antibiotische Therapie* (Start der antibiotischen Therapie direkt nach Geburt und generelle antibiotische Therapie innerhalb der ersten 6 Lebenswochen). Bezüglich beider Varianten zeigte sich, ebenso wie bei der Variante *Dauer der antibiotischen Therapie* kein signifikanter Effekt im Hinblick auf eine Auswirkung bezüglich des Auftretens einer moderaten/schweren BPD (Tabelle 10 und 11, Seite 55).

Trotz des Ausbleibens eines signifikanten Effekts aller drei Varianten der Ko-Variable *antibiotische Therapie* betreffend, zeigte sich nach Risikoadjustierung für die Variable *Start der antibiotischen Therapie direkt nach Geburt* die stärkste Annäherung an den Signifikanzbereich ($p=0,058$), (Tabelle 10 und 11, Seite 55).

Tabelle 10: Modifiziertes Confounder-Model, welches die Ko-Variable *Start der antibiotischen Therapie direkt postnatal* beinhaltet

| | Estimate. | Standard Error | z-Wert | p-Wert |
|---|------------------|-----------------------|---------------|---------------|
| (intercept) | 22.4478 | 7,8924 | 2,844 | 0,0045** |
| Gestationsalter (Tage) | -0,1007 | 0,0456 | -2,208 | 0,0272* |
| Geburtsgewicht (g) | -0,0068 | 0,0027 | -2,524 | 0,0116* |
| SGA | 2,4235 | 1,4029 | 1,728 | 0,0841 |
| Männl. Geschlecht | 1,3853 | 0,6866 | 2,018 | 0,0436* |
| Mehrlingsgeburt | 0,5009 | 0,3889 | 1,288 | 0,1977 |
| Antenatale Steroide (Tage vor Geburt) | -0,667 | 0,0413 | -1,617 | 0,1059 |
| Start der antibiot. Therapie direkt postnatal | -1,6629 | 0,8801 | -1,889 | 0,0588 |

Die Schwere der BPD wurde als eine binäre Antwort in keine/milde BPD (0) und moderate/schwere BPD (1) unterteilt. Ko-Variablen sind das Gestationsalter, das Geburtsgewicht, SGA (1=ja; 0=nein), Geschlecht (1=männlich; 0=weiblich), Mehrlingsgeburt (die Nummern der Mehrlinge: 1, 2, 3 und 4), antenatale Steroide (angegeben in Anzahl der Tage vor Geburt) und Start der antibiotischen Therapie direkt postnatal (ja/nein), *p<0,05, **p<0,01.

Tabelle 11: Modifiziertes Confounder-Model, welches die Ko-Variable *jede antibiotische Therapie innerhalb der ersten 6 Lebenswochen* beinhaltet

| | Estimate | Standard Error | z-Wert | p-Wert |
|--|-----------------|-----------------------|---------------|---------------|
| (intercept) | 10,5035 | 5,8628 | 1,792 | 0,0732 |
| Gestationsalter (Tage) | -0,0361 | 0,0338 | -1,071 | 0,2841 |
| Geburtsgewicht (g) | -0,0085 | 0,0027 | -3,110 | 0,0019** |
| SGA | 2,1268 | 1,3412 | 1,586 | 0,0887 |
| Männl. Geschlecht | 1,7519 | 0,6869 | 2,550 | 0,0108* |
| Mehrlingsgeburt | 0,4434 | 0,3746 | 1,184 | 0,2366 |
| Antenatale Steroide (Tage vor Geburt) | -0,0698 | 0,0400 | -1,746 | 0,0807 |
| Antibiot. Therapie (ja/nein) Innerhalb der ersten sechs Lebenswochen | 0,6543 | 1,1178 | 0,585 | 0,5583 |

Die Schwere der BPD wurde als eine binäre Antwort in keine/milde BPD (0) und moderate/schwere BPD (1) unterteilt. Ko-Variablen sind das Gestationsalter, das Geburtsgewicht, SGA (1=ja; 0=nein), Geschlecht (1=männlich; 0=weiblich), Mehrlingsgeburt (die Nummern der Mehrlinge: 1, 2, 3 und 4), antenatale Steroide (angegeben in Anzahl der Tage vor Geburt) und jede antibiotische Therapie innerhalb der ersten sechs Lebenswochen (Beobachtungszeitraum) unabhängig von der Dauer der Gabe, *p<0,05, **p<0,01.

Um das Ergebnis aus Tabelle 9 auf Seite 53 und somit die Standhaftigkeit der Signifikanz des Einflusses der bakteriellen Besiedelung der oberen Atemwege mit pathogenen Keimen auf den BPD-Schweregrad nochmals zu bestärken, wurde eine erneute Devianz-Analyse mit den drei unterschiedlichen Varianten der Ko-Variablen der antibiotischen Therapie wiederholt. In Abhängigkeit aller drei Varianten der Ko-Variablen *antibiotische Therapie* blieb der Effekt signifikant auf vergleichbar hohem Signifikanzniveau (Tabelle 12, Seite 56) und die Aussage, dass eine Besiedelung der oberen Atemwege mit

pathogenen Keimen einen Einfluss auf das Auftreten einer moderaten/schweren BPD hat, konnte erneut bestätigt werden.

Tabelle 12: Der Einfluss der unterschiedlichen Definition der Ko-Variable *antibiotische Therapie* auf die Ergebnisse der Besiedelung mit oralen pathogenen Bakterien und das Auftreten einer moderaten/schweren BPD

| | Residual Degrees. of Freedom | Residual Deviance | Degrees of Freedom | Deviance | p-Wert |
|---|---|------------------------------|-------------------------------|-----------------|---------------|
| Dauer der antibiot. Therapie (Tage) | 87 | 63,662 | 5 | 17,110 | 0,0043** |
| Start antibiot. Therapie direkt postnatal | 87 | 61,739 | 5 | 17,199 | 0,0041** |
| antibiot. Therapie innerhalb der ersten sechs Lebenswochen | 87 | 64,477 | 5 | 17,912 | 0,0031** |

Für alle drei Definitionen der antibiotischen Therapie war der Effekt weiterhin signifikant auf den 5% Level nach Adjustierung des p-Wertes nach Anwendung der Bonferroni Korrektur, **p<0,01.

Einfluss der Ko-Variable *Erhalt von Muttermilch* auf die Keimbesiedelung der oberen Atemwege und das Auftreten einer moderaten/schweren BPD

Da bekanntermaßen die Versorgung mit Muttermilch von Frühgeborenen und Säuglingen im Allgemeinen eine positive Auswirkung auf die Entwicklung des Mikrobioms haben kann, wurde diese für unsere Kohorte ebenfalls gesondert analysiert. Hierfür wurde die Ko-Variable *Erhalt von Muttermilch* nachträglich zusätzlich risikoadjustiert und in das Confounder-Modell der Störfaktoren mit aufgenommen (Tabelle 13, Seite 57). Hier zeigte sich kein signifikanter Einfluss.

Tabelle 13: Modifiziertes Confounder-Modell zur Detektierung/Berücksichtigung zusätzlicher Risikofaktoren für BPD, welches zusätzlich die Ko-Variable *Erhalt von Muttermilch* beinhaltet

| | Estimate. | Standard Error | z-Wert | p-Wert |
|---------------------------------------|-----------|----------------|--------|----------|
| (intercept) | 8,8503 | 5,5831 | 1,585 | 0,1129 |
| Gestationsalter (Tage) | -0,0289 | 0,0332 | -0,872 | 0,3831 |
| Geburtsgewicht (g) | -0,0079 | 0,0027 | -2,938 | 0,0033** |
| SGA | 2,1364 | 1,3606 | 1,570 | 0,1164 |
| Männl. Geschlecht | 1,4648 | 0,6667 | 2,197 | 0,0280* |
| Mehrlingsgeburt | 0,4619 | 0,3944 | 1,171 | 0,2416 |
| Antenatale Steroide (Tage vor Geburt) | -0,0694 | 0,0399 | -1,739 | 0,0820 |
| Dauer der antibiot. Therapie (Tage) | 0,0654 | 0,0498 | 1,313 | 0,1893 |
| Erhalt von Muttermilch | 0,1018 | 1,0353 | 0,098 | 0,9216 |

Die Schwere der BPD wurde als eine binäre Antwort in keine/milde BPD (0) und moderate/schwere BPD (1) unterteilt. Ko-Variablen sind das Gestationsalter, das Geburtsgewicht, SGA (1=ja; 0=nein), Geschlecht (1=männlich; 0=weiblich), Mehrlingsgeburt (die Nummern der Mehrlinge: 1, 2, 3 und 4), antenatale Steroide (angegeben in Anzahl der Tage vor Geburt), Dauer der antibiotischen Therapie in Tagen und der Erhalt von Muttermilch, *p<0,05, **p<0,01.

Nach Anpassung des Confounder-Modells um die Ko-Variable *Erhalt von Muttermilch* (Tabelle 13, Seite 57) wurde erneut eine Devianz-Analyse zwischen dem erweiterten Confounder-Modell und dem Modell, welche die Lokalisation oberer Atemweg und die Keimkategorisierung potentiell pathogen beinhaltet, durchgeführt. Hier zeigte sich, dass die Ko-Variable *Erhalt von Muttermilch* die statistische Signifikanz des Einflusses der bakteriellen Besiedelung der oberen Atemwege mit pathogenen Keimen auf das Auftreten einer moderaten/schweren BPD nicht verändert (Tabelle 14, Seite 57).

Tabelle 14: Der Einfluss des Hinzufügens der zusätzlichen Ko-Variable *Erhalt von Muttermilch* auf die Ergebnisse der Besiedelung mit oralen pathogenen Bakterien und das Auftreten einer moderaten/schweren BPD

| | Residual Degrees of Freedom | Residual Deviance | Degrees of Freedom | Deviance | p-Wert |
|------------------------------|-----------------------------|-------------------|--------------------|----------|----------|
| Analyse ohne die Ko-Variable | | | | | |
| Erhalt von Muttermilch | 87 | 63,662 | 5 | 17,110 | 0,0043** |
| Analyse mit der Ko-Variable | | | | | |
| Erhalt von Muttermilch | 86 | 62,369 | 5 | 18,393 | 0,0025** |

Der Effekt blieb statistisch signifikant auf dem 5%-Niveau nach Adjustierung des p-Wertes unter der Verwendung der Bonferroni Korrektur signifikant, **p<0,01.

Diskussion

Die bronchopulmonale Dysplasie stellt noch immer eine der häufigsten schweren Komplikationen nach extremer Frühgeburt dar (Jobe & Bancalari, 2001), deren vollständige Pathogenese bis heute nicht vollständig verstanden und somit weiterhin Schwerpunkt der Forschung in der Neonatologie ist. Das Mikrobiom der Frühgeborenen und dessen Auswirkung auf die Entstehung der BPD rückte in den vergangenen Jahren verstärkt in den Fokus der wissenschaftlichen Untersuchungen. Während die Assoziation zwischen pathologischen Veränderungen des Mikrobioms/der mikrobiellen Besiedelung des Frühgeborenen und dem Auftreten der NEC, einer nosokomialen Sepsis oder dem Risiko für das Versterben des Frühgeborenen mittlerweile wissenschaftlich auf hohem Evidenzniveau fundiert ist und sich die enterale Probiotikagabe als effektiv erwiesen hat, das Risiko für das Auftreten einer dieser Komplikationen der Frühgeburt zu reduzieren, konnte dieser Zusammenhang für das Auftreten der BPD bisher nicht bestätigt werden. Bisherige Ergebnisse diesbezüglich liegen hauptsächlich aus Untersuchungen von Trachealsekreten von maschinell invasiv-beatmungspflichtigen extremen Frühgeborenen vor und zeigen einen Zusammenhang zwischen Veränderungen des Mikrobioms der unteren Atemwege mit Dysbiosen und den Schweregrad der BPD sowie eine Assoziation zu Veränderungen des Lungenmetaboloms und damit einhergehendem erhöhten Risiko für das Auftreten der BPD (Pammi et al., 2019), (Lal et al., 2018), (Gentle & Lal, 2019), (Dolma et al., 2020). Die vorliegende Arbeit erweitert die wissenschaftliche Datenlage zu diesem wichtigen Aspekt auf die Einflüsse mikrobieller Veränderungen im Hinblick auf die Entstehung der BPD. Da maschinelle Beatmung weiterhin als einer der zentralen Risikofaktoren für die BPD gilt, haben sich inzwischen vermehrt alternative non-invasive Beatmungsstrategien auch bei der Versorgung von extremen Frühgeborenen durchgesetzt. Daher ist die Gewinnung von Trachealsekret immer seltener in der klinischen Routine möglich. Jedoch verhindert die Vermeidung invasiver Beatmung nur bei einem kleineren Teil der Frühgeborenen die Entstehung der BPD, was auf die multifaktorielle Pathogenese zurückzuführen ist. Deshalb müssen gerade auch diese Kinder bei der weiteren Strategieentwicklung zur frühzeitigen Prädiktion eines Risikos bzw. für mögliche therapeutische Interventionen berücksichtigt werden. Aus diesem Grund befasst sich diese Arbeit mit dem Ansatz der Beurteilung des Mikrobioms und dessen Auswirkung auf die BPD aus den routinemäßig nasopharyngeal (obere Atemwege) und anal entnommenen Hygieneabstrichen nach den Empfehlungen der

Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention des Robert-Koch-Instituts (KRINKO, 2013) und erweitert damit die Daten und das Wissen um die gesamte Kohorte gefährdeter Frühgeborener und Säuglinge mit einem Gestationsalter <32. SSW und einem Geburtsgewicht <1000g.

Die Schlüsselaussagen der vorgelegten Arbeit werden nun in Kürze dargestellt und im weiteren Verlauf ausführlich diskutiert sowie mit Hilfe von bereits in der Literatur etablierten Daten bezüglich Methodik, Limitationen und Perspektiven bewertet. Eine Besonderheit der vorliegenden Arbeit ist die Methodik der Screening-Abstriche zur Detektierung des Mikrobioms. In vorherigen Studien stammen die Daten fast ausschließlich aus Trachealsekretan bei invasiv-beatmeten Frühgeborenen. Diese neue Methodik ermöglicht das Screening auch nicht invasiv-beatmeter Frühgeborener und erweitert somit die möglichen Patientenkohorten ohne das Risiko invasiver Maßnahmen. Die erhobenen Ergebnisse belegen, dass die mikrobielle Besiedelung der oberen Atemwege mit pathogenen Keimen eine Auswirkung auf den BPD-Schweregrad haben. Für gram-negative Keime war dies nicht zu belegen, obwohl gram-negative Keime wie Klebsiellen oder E. coli als hoch pro-inflammatorisch angesehen werden. Diese Eigenschaften werden jedoch auch gram-positiven Keimen und Ureaplasmen zugeschrieben (Glaser et al., 2017). Somit scheint die Differenzierung zwischen pathogen und kommensal der nach der Gram-Färbung überlegen zu sein. Entgegen den Erwartungen hatte der Einsatz von Antibiotika keine signifikant negativen Einflüsse auf die Besiedelung der oberen Atemwege und den BPD-Schweregrad. Diese sind jedoch für die NEC und nosokomiale Infektionen gut bekannt (KRINKO, 2007), (Millar et al., 1992), (Pammi et al., 2017), (Warner et al., 2016). Des Weiteren konnte in der vorliegenden Arbeit ein positiver Einfluss der Muttermilch auf die mikrobielle Besiedelung und den BPD-Schweregrad nicht nachgewiesen werden.

Beurteilung der Keimnachweise innerhalb der Kohorte

Die Annahme, dass es innerhalb der ersten Wochen postnatal zu einem raschen Anstieg der Keimbesiedelung innerhalb der unteren Atemwege kommt, welche durch Untersuchungen von Trachealsekretproben maschinell invasiv-beatmeter Frühgeborener stammen (Pammi et al., 2019), konnte in dieser Arbeit für die oberen Atemwege und den Analbereich ebenfalls bekräftigt werden (Abb. 21 und 22, Seite 48). Es zeigt sich eine Zunahme der Besiedelung von 9,8% auf 74,5% im nasopharyngealen Raum und von

4,9% auf 72,5% im Analbereich innerhalb der ersten zwei Lebenswochen. Die niedrigen Nachweiswerte vor allem in den oberen Atemwegen postnatal trotz seit einiger Zeit bekannter und bestätigter These, dass auch die mikrobielle Besiedelung der Lunge bereits intrauterin stattfindet (Staudé et al., 2018), können zum einen auf die verschiedenen Methoden der Probengewinnung zurückzuführen sein. Während z.B. in den Arbeiten von Pammi et al. und Lal et al. der Keimnachweis aus Trachealsekret und somit aus den unteren Atemwegen mittels PCR- und Gen-Sequenzierung erfolgte, wurden für die vorliegende Arbeit die Proben mittels mikrobiologischer Abstriche aus den oberen Atemwegen (nasopharyngeal) zur mikrobiologischen Kultivierung gewonnen. Letztgenannte könnten eine niedrigere Sensitivität des Keimnachweises bedeuten, bedingt durch eine pränatale maternale antibiotische Therapie, die die Keimzahl reduzieren und die mikrobiologische Kultivierung mittels Screening-Abstrichen inhibieren könnte. Zum anderen ist bei der Bewertung der vorliegenden Ergebnisse zu berücksichtigen, dass es sich bei der Kultivierung nicht um ein speziell designtes Studiensetting handelt, sondern um eine im klinischen Alltag einfach durchzuführende mikrobiologische Screeninguntersuchung. Dadurch ist jedoch auch die Miterfassung nicht invasiv-beatmeter extrem frühgeborener Kinder, ohne diese einem Risiko invasiver Interventionen auszusetzen, möglich. Diese Art von Probengewinnung kann daher routinemäßig sowohl im Screeningbereich zur Detektierung pathologischer und isolationspflichtiger Keime sowie zur Früherkennung besonders gefährdeter Kinder als auch im Forschungsbereich zur Generierung von Daten mit wirtschaftlich vertretbarem und laborchemisch umsetzbarem Analyseaufwand einer großen Anzahl an Proben und Probanden eingesetzt werden.

Beurteilung BPD-Häufigkeit und Schweregrad-Verteilung der Kohorte

Die bronchopulmonale Dysplasie gilt als die häufigste schwerwiegende chronische Lungenerkrankung bei Frühgeborenen. Ihre Inzidenz bei Kindern <30. SSW liegt noch immer bei über 30% (Gortner et al., 2011). In der untersuchten Kohorte dieser Arbeit weisen insgesamt 82,4% der Kinder eine BPD auf. Die hohe Anzahl an betroffenen Kindern korreliert in dieser Arbeit mit dem extrem niedrigen Geburtsgewicht, welches im Mittel bei 779g lag. Dieses niedrige Geburtsgewicht erklärt auch den hohen Anteil an Kindern mit einer schweren Ausprägung der BPD in der vorliegenden Kohorte mit 29,4%, welche insgesamt im Vergleich zu anderen Studien, wie die der Arbeitsgruppe

von Stoll et al., die eine Inzidenz von 42-68% in den USA angibt, noch als vergleichsweise niedrig anzusehen ist (Stoll et al., 2010).

Auswirkungen der Grunddaten auf den BPD-Schweregrad

Die Grunddaten des Gestationsalters in vollendeten Schwangerschaftswochen und Tagen, das Geburtsgewicht, das männliche Geschlecht, Mehrlingsschwangerschaften, antenatale Steroide und der SGA-Status der Frühgeborenen sind im Hinblick auf deren Auswirkung auf den BPD-Schweregrad untersucht worden. Die Schweregrad-Gruppen keine/milde BPD und moderate/schwere BPD sind diesbezüglich miteinander verglichen worden. Bei den antenatalen Steroiden und den Mehrlingsschwangerschaften zeigen sich keine signifikanten Unterschiede. Bezüglich des Gestationsalters, des Gewichts und des SGA-Status zeigt sich im Vergleich der Gruppen ein signifikanter Unterschied mit einem Signifikanzlevel von $p \leq 0,001$. So sind die Kinder, welche eine moderate/schwere BPD entwickelten, im Durchschnitt eine Woche früher und 190g leichter zur Welt gekommen. Zusätzlich weisen sie 8,5-fach häufiger einen SGA-Status auf als die Kinder ohne/mit milder BPD (Tabelle 6, Seite 44). Diese Ergebnisse bestätigen die Annahme, dass das Ausmaß der Schwere einer BPD abhängig von der Unreife der Frühgeborenen und somit von der Lungenentwicklung ist (Lignelli et al., 2019).

Die Geschlechterverteilung betreffend überwiegt in der untersuchten Kohorte leicht das weibliche Geschlecht mit 55,8%. Da das weibliche Geschlecht mit einer positiven Prognose nach extremer Frühgeburtslichkeit vergesellschaftet ist, ist dieses Ergebnis nicht überraschend. Auch im Vergleich der Ausprägung einer BPD zeigen die weiblichen Frühgeborenen sowohl häufiger keine/milde BPD (w=43/ m=24) als auch seltener eine moderate/schwere BPD (w=14/ m=21). Somit bestätigt sich das männliche Geschlecht als ein Risikofaktor für eine moderate/schwere BPD. All diese Ergebnisse bekräftigen die bekannte These, dass weibliche extreme Frühgeborene eine bessere Prognose hinsichtlich des Überlebens und des pulmonalen Outcomes haben (Berger et al., 2017).

Einteilung der nachgewiesenen Bakterien nach der potentiellen Pathogenität und der Differenzierung nach der Gram-Färbung

Die erhobenen mikrobiologischen Daten ermöglichen aufgrund der erwarteten hohen Variabilität keine Betrachtung der einzelnen Bakterienstämme. Jedoch entspricht das in der Kohorte der vorliegenden Arbeit nachgewiesene Keimspektrum der oberen

Atemwege und des Analbereiches, welches beispielsweise *Enterobacter* spp., *E. coli*, Klebsiellen, Streptokokken und *Citrobacter* spp. umfasst, dem anderer Arbeiten aus den tiefen Atemwegen (Staudé et al., 2018), (Pammi et al., 2019) und dem Magen-Darm-Trakt (Boccia et al., 2001), (Millar et al., 1992), (Pammi et al., 2017), (Warner et al., 2016). Dies lässt zum einen die Annahme zu, dass sich die Keimspektren der oberen und unteren Atemwege zumindest teilweise decken, was durch die mukoziliäre Clearance der Lunge über den nasopharyngealen Raum erklärbar scheint. Zum anderen spricht dies für eine repräsentative Keimlage und schließt einen systematischen Fehler durch lokale Intensivstation-spezifische Strukturen oder Behandlungspfade aus. Da, wie bereits erwähnt, eine Betrachtung der einzelnen Bakterienstämme durch eine zu geringe Variation für einzelne Erreger sowie multiresistente Bakterien nicht möglich war, erfolgte die Differenzierung der nachgewiesenen Keime nach ihrer potentiellen Pathogenität sowie nach deren Eigenschaften in der Gram-Färbung (Tabelle 8, Seite 49). Auch nach der Unterteilung in pathogen/apathogen und gram-negativ/gram-positiv zeigte sich für beide Vergleichsgruppen eine geringe Besiedelung postnatal mit Anstieg der Keimnachweise ab der zweiten Lebenswoche. Diese Ergebnisse untermauern ebenfalls die These der raschen Besiedelung postnatal (Pammi et al., 2019) und weisen auf eine möglicherweise reduziertere Sensitivität der Nachweismethode hin. Im Anschluss folgte die Untersuchung bezüglich der Auswirkung der jeweiligen Gruppen auf das Auftreten einer moderaten/schweren BPD.

Auswirkung der beiden Bakterienkategorisierungen auf das Auftreten einer moderaten/schweren BPD

Die weiteren Ergebnisse dieser Arbeit zeigen einen hoch signifikanten Einfluss einer Besiedelung der oberen Atemwege mit potentiell pathogenen Bakterien auf das Auftreten einer moderaten/schweren BPD (Tabelle 9, Seite 53). Da die vorliegenden Keime häufiger Auslöser auch schwerer systemischer Infektionen und Inflammationsreaktionen bei Früh- und Neugeborenen sind (Deutsche Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie e.V., 2018), bekräftigen diese Ergebnisse die These, dass pro-inflammatorische Prozesse in der Pathogenese der BPD eine große Rolle spielen. Unter Berücksichtigung der Annahme, dass die Genese der PBD multifaktoriell bedingt ist, überrascht jedoch die hohe Signifikanz dieser Ergebnisse trotz Risikoadjustierung der für die Patientenkohorte erhobenen Grunddaten (Tabelle 6, Seite 44). Hierfür könnte die Unreife des

Immunsystems und die unzureichenden Abwehrmechanismen mitsamt der Unfähigkeit zur bakteriellen Clearance der Frühgeborenen in einer Umgebung wie der Intensivstation mit deren unphysiologischem Bakterienmilieu verantwortlich sein (Hartz et al., 2015). Ebenfalls unerwartet waren die Ergebnisse nach der Differenzierung in die Untergruppe der gram-negativen Bakterien, die für eine Besiedelung der oberen Atemwege mit dieser Untergruppe keine signifikanten Auswirkungen auf das Auftreten einer moderaten/schweren BPD zeigen (Tabelle 9, Seite 53). Dies überrascht, da in dieser Gruppe auch Bakterien wie E. coli und Klebsiellen, die für ihre hohe pro-inflammatorische Komponente bekannt sind, vertreten waren und im Hinblick auf zum Beispiel Sepsis bei Frühgeborenen eine hohe Pathogenität aufweisen. Diese Eigenschaften weisen jedoch auch andere Erreger auf, wie beispielsweise Ureaplasmen, die ebenfalls vermehrt bei Frühgeborenen nachweisbar sind (Glaser et al., 2017), aber nicht in die Kategorie der gram-negativen Erreger fallen. Dies könnte zu der Schlussfolgerung führen, dass die Kategorisierung nach der Pathogenität der Keime der Differenzierung nach der Gram-Färbung überlegen ist, was in nachfolgenden Arbeiten berücksichtigt werden sollte.

Beurteilung des Auftretens bestimmter Komorbiditäten und deren Auswirkung auf den BPD-Schweregrad

Bestimmte schwere Komorbiditäten, welche verlängerte Beatmungszeiten nach sich ziehen und den BPD-Schweregrad erheblich beeinflussen können, sind aus der Untersuchung ausgeschlossen worden (Seite 21).

Ein Drittel (33,3 %) der Kohorte weist keine der folgenden typischen Morbiditäten von Frühgeborenen, wie bakterielle Infektionen, intraventrikuläre Hämorrhagien oder eine Retinopathia praematurorum, auf. Bei 68 Kindern konnte eine der Komorbiditäten nachgewiesen werden, meistens sind sie in Kombination aufgetreten. Lediglich die Retinopathia praematurorum tritt in 41 Fällen isoliert auf und ist die, mit dem höchsten Vorkommen in der Kohorte, denn 66 von 68 Kinder sind betroffen (Abb. 16, Seite 40). Auch in Korrelation mit dem Schweregrad der BPD zeigte sich ein signifikanter Unterschied im Vergleich der Schweregrad-Gruppen, sowohl die totale Inzidenz als auch die Assoziation mit einem hohen Grad ≥ 3 der ROP betreffend. Diese Ergebnisse hängen mit der Entstehung beider Krankheitsbilder und zumindest teilweise identischen Pathomechanismen zusammen. Da die ROP und auch die BPD mit einer langen

Beatmungszeit, Schwankungen der peripheren Sauerstoffsättigungswerte und Sauerstoffgaben assoziiert sind (Akkoyun et al., 2006), (Niedermaier & Hilgendorff, 2015), entsprechen diese Ergebnisse den Erwartungen.

17,6% der Kinder in der vorliegenden Kohorte weisen innerhalb der ersten 6 Lebenswochen Infektionen und 14,7% eine IVH, (9,8% IVH \geq III°) auf. Die Werte sind vergleichbar mit den Referenzzahlen des Nationalen Referenzzentrums für Surveillance von nosokomialen Infektionen (NRZ, 2021) sowie der Arbeit von Egesa et al. aus dem Jahr 2021. Die im Vergleich zum Auftreten der ROP niedrigeren Zahlen dieser Komorbiditäten können mit den zunehmenden Präventionsmaßnahmen zusammenhängen, welche sowohl im Hygiene- als auch im direkten Versorgungsbereich stetig optimiert werden. Ein signifikanter Unterschied zwischen den BPD-Schweregrad-Gruppen im Hinblick auf das Auftreten einer IVH konnte in dieser Kohorte nicht nachgewiesen werden. Dies könnte durch das stets frühe Auftreten nach Geburt und die Lokalisation der IVH in der germinalen Matrix erklärbar sein. Das Atemzentrum liegt im Hirnstamm, sodass eine IVH im Allgemeinen, zumindest wenn sie nicht höhergradig ist oder zu einem Hydrocephalus führt, nicht mit einer schwerwiegenden Atemsymptomatik und Beatmungspflichtigkeit assoziiert sein und somit auch das Risiko einer BPD nicht beeinflussen muss.

Auswirkungen von Versorgungsmaßnahmen mit nachgewiesenem Effekt auf die mikrobielle Besiedelung und das Auftreten einer moderaten/schweren BPD

Die Auswirkungen von Versorgungsmaßnahmen der extremen Frühgeborenen wie eine antibiotische Therapie oder die Versorgung mit Probiotika und Muttermilch auf die mikrobielle Besiedelung ist bereits mehrfach untersucht und belegt worden. Das Antibiotikagaben zu Dysbiosen sowie bakterieller Fehlkolonisierung führen und somit Einfluss auf die Entstehung und das Fortschreiten unterschiedlicher Erkrankungen haben können, ist vornehmlich für den Magen-Darm-Trakt beispielsweise in Form der nekrotisierenden Enterokolitis bekannt. Auch Interventionsstudien mit Probiotika waren diesbezüglich bereits erfolgreich. Auf die Entstehung und den Schweregrad der BPD zeigten diese Ansätze jedoch keine positiven Einflüsse (Dermyshe et al. 2017), (Villamor-Martinez et al. 2017). Dennoch zeigt in der vorliegenden Arbeit der Erhalt einer antibiotischen Therapie auch keine negative Auswirkung auf den Schweregrad der BPD.

In der vorliegenden Kohorte erhielten 88,2% der Kinder eine antibiotische Therapie, die Differenz zwischen den beiden Vergleichsgruppen liegt lediglich bei 4,8%, sodass möglicherweise eine zu geringe Variation der Kohorte oder eine zu geringe Fallzahl ursächlich hierfür sein könnte. Auch die Aufschlüsselung der antibiotischen Therapie in *generellen Erhalt, die Dauer der Gabe* in Tagen und der *Start der Therapie direkt postnatal* ergeben keine signifikanten Werte für eine Einflussnahme auf den Schweregrad der BPD. Lediglich bei der Ko-Variable *Start der Therapie direkt postnatal* liegt das Ergebnis nahe am Signifikanzniveau mit $p=0,0588$ (Tabelle 10, Seite 55). Dies könnte Rückschlüsse auf die unterschiedliche mikrobielle Vulnerabilität der unreifen Lunge und deren hohe Empfindlichkeit gegenüber einer frühen Fehlkolonisierung im Hinblick auf eine ordnungsgemäße Entwicklung zulassen. Diesbezüglich sollte der frühe Einsatz einer antibiotischen Therapie direkt postnatal nochmals besonders kritisch hinterfragt und die Indikation geprüft werden. Gerade vor dem Hintergrund, dass die kurz postnatal durch Sauerstoff und mechanische Beatmung induzierte pro-inflammatorische Entzündungsreaktion in der unreifen Lunge den hauptsächlichen krankheitsverursachenden Pathomechanismus darstellt, könnte die mikrobielle Besiedelung in dieser besonders vulnerablen Phase entscheidend Einfluss auf die Ausprägung der Inflammationsreaktion nehmen.

Einen positiven Einfluss auf die mikrobielle Besiedelung und somit gegen Dysbiosen wird hingegen der Muttermilchversorgung zugesprochen. Deren Entgegenwirken in Bezug auf die Entstehung und das Ausmaß von Infektionen, NEC und ROP ist bereits mehrfach belegt (Altobelli et al., 2020), (Zhou et al., 2015). Auch diese Untersuchungen zielten bis dato vor allem auf Untersuchungen bezüglich der Besiedelung des Magen-Darm-Traktes ab. In den letzten Jahren wurde jedoch zunehmend auch der Einfluss auf die Entstehung der BPD untersucht und bereits in mehreren, auch großen Meta-Analysen und systemischen Arbeiten, eine protektive Wirkung aufgezeigt, wobei detaillierte Analysen zum Lungenmikrobiom im Kontext der Muttermilchversorgung bisher nicht vorliegen (Villamor-Martínez et al., 2019), (Huang et al., 2019).

In der vorliegenden Arbeit erhielten 93 der 102 Kinder Muttermilch innerhalb der ersten 6 Lebenswochen. In beiden Schweregradvergleichsgruppen sind dies 92,5% und 88,6%, sodass sich hier kein signifikanter Unterschied entgegen bereits bekannten Ergebnissen zeigt (Tabelle 6, Seite 44).

Ebenfalls hat die Ko-Variable *Erhalt von Muttermilch* keine Auswirkung auf den in dieser Arbeit nachgewiesenen signifikanten Einfluss der pathogenen Keimbeseidlung

der oberen Atemwege auf die BPD (Tabelle 14, Seite 57). Diese Ergebnisse könnten mit dem hohen Nachweis von Muttermilchversorgung in der vorliegenden Kohorte zusammenhängen. Da über 90% der Kinder Muttermilch erhielten, ist ein Vergleich gegenüber dem Einfluss bei fehlender Muttermilchversorgung und somit auch eine endgültige Aussage über einen protektiven Wert der Muttermilch in dieser Arbeit nicht möglich. Hierfür wäre in Folgearbeiten auf eine größere Variation im Bereich dieser Variable zu achten. Insgesamt sollte die Einflussnahme von Versorgungsmaßnahmen sowohl im positiven als auch im negativen Hinblick auf die Genese der BPD vermehrt beachtet und erforscht werden, da diese in der täglichen Versorgung der Frühgeborenen einen großen Stellenwert einnehmen und somit einfache und kleine Änderungen gegebenenfalls ähnlich wie bei Infektionen und der NEC bedeutsame Ergebnisse erzielen könnten.

Limitierungen und Stärken der Arbeit

Die größten Limitierungen der vorliegenden Arbeit liegen am monozentrischen Ansatz, mit sowohl einer begrenzten Kohortengröße als auch den Gefahren von standortspezifischen Störfaktoren, wie Behandlungspfade und spezielle Keimvorkommen, die Einfluss auf die mikrobielle Besiedlung und die BPD-Rate haben könnten. Unsere Ergebnisse liegen jedoch in erwarteten Bereichen, auch die vorliegende Dominanz von koagulase-negativen Staphylokokken, *E. coli*, *Enterobacter* und *Klebsiella* spp. betreffend, wenn man diese mit aktuellen Literaturreferenzen vergleicht (Parm et al., 2011), (Christoph et al., 2013). Die niedrigere Kohorten-Fallzahl hat trotz der vorhandenen erhaltenen Vielfalt das Keimspektrum betreffend eine eindeutige Keimidentifizierung nicht möglich gemacht, was Bestandteil weiterer Studien mit größeren Fallzahlen sein sollte. Die Schwäche des monozentrischen Ansatzes werden jedoch zum einen durch festgelegte standardisierte Leitlinien die Beatmung, antibiotische Therapien, die Ernährung und die Screeningabstrichentnahme betreffend und zum anderen durch die breite Risikoadjustierung zur Vermeidung von Störfaktoren aufgewogen. Des Weiteren zeigt sich trotz retrospektiver Datenerhebung eine gute Datenqualität, da wie im Methodenteil auf Seite 21 beschrieben 70% und somit alle im Studienzeitraum entbundenen Kinder in die Analysen eingeschlossen werden konnten, sofern keine Ausschlusskriterien vorlagen und sich für die 102 Kinder keine fehlenden Daten zeigten.

Ausblick

Die vorgelegte Arbeit belegt die enge Assoziation der mikrobiellen Besiedelung des oberen Respirationstraktes von Frühgeborenen mit pathogenen Keimen und dem Auftreten einer moderaten/schweren BPD, die ein besonders hohes Risiko für langfristige relevante Lungenfunktionseinschränkungen darstellt. Eine genauere Eingrenzung der pathogenen Bakterienstämme oder gar besonders pathogenen Erregern war aufgrund des monozentrischen Ansatzes mit einer geringen Kohortengröße nicht möglich. Zur weiteren Bestätigung der Ergebnisse ist im Anschluss an diese Arbeit eine Multicenter-Studie zunächst in Kooperation mit der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Schwerpunkt Neonatologie am Universitätsklinikum Frankfurt geplant, die im Verlauf auf weitere Zentren ausgedehnt werden soll. Hierdurch sollen unsere Daten in unabhängigen größeren Kohorten bestätigt und eine genauere Differenzierung der pathogenen Keime ermöglicht werden. Die nachfolgende Arbeit wird um die Analysen bezüglich eines Probiotikaeinsatzes ergänzt werden, um den Einfluss einer exogen zugeführten physiologischen Bakterienbesiedelung bei extremen Frühgeborenen auf die Lungenentwicklung und die Entstehung der BPD besser beurteilen zu können. Diesbezüglich soll auch das im Rahmen dieser Arbeit etablierte Screeningverfahren erneut reevaluiert sowie optimiert und die Eignung als Parameterscreening zum Therapieeffizienz- und Entscheidungsmonitoring geprüft werden.

Zusammenfassung

Die BPD ist eine der häufigsten pulmonalen Morbiditäten der Pädiatrie mit teils schwerwiegenden Langzeitfolgen. Daher liegt ein hohes Augenmerk auf der Forschung zu Präventionsmaßnahmen und der frühzeitigen Detektierung von Risikofaktoren auf die Lungenentwicklung extremer Frühgeborener.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, welche Muster der bakteriellen Besiedlung als ein weiterer Aspekt der multifaktoriellen Genese der BPD identifiziert werden können und ob nicht-invasive Screening-Maßnahmen diesbezüglich geeignet sind. Diese wurden mit Hilfe von Abstrichen im nasopharyngealen Raum und dem Analbereich der Kohorte nicht-invasiv und invasiv beatmeter Frühgeborener durchgeführt und lieferten vergleichbare Ergebnisse, wie zuvor für die mikrobielle Besiedelung der Lunge bei invasiv beatmeten Kindern beschrieben. Des Weiteren wurde erstmals die negative Auswirkung der Besiedelung eines Spektrums potentiell pathogener Keime in den oberen Atemwegen auf das Auftreten einer moderaten/schweren BPD nachgewiesen. Eine negative Auswirkung der Besiedelung mit gram-negativen Keimen auf die BPD wurde nicht detektiert. Der bereits mehrfach beschriebene protektive Wert von Muttermilch im Hinblick auf die Keimbesiedelung und die BPD konnte in dieser Arbeit nicht belegt werden, was jedoch mit der hohen Muttermilchversorgung in der Kohorte von über 90% zu erklären ist. Auch die Anwendung einer antibiotischen Therapie beeinflusste die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit nicht signifikant. Nach genauerer Betrachtung des Therapiebeginns lassen die Ergebnisse der Arbeit jedoch die Vermutung zu, dass vor allem eine antibiotische Therapie direkt postnatal einen negativen Einfluss auf das Mikrobiom mit einer folgenden Dysbiose und somit auch auf den BPD-Schweregrad haben könnte. Die Arbeit liefert vor allem für den klinischen Alltag relevante Erkenntnisse, da das angewandte Abstrichverfahren ein schonendes Monitoring der bakteriellen Kolonisation unabhängig von der Beatmungssituation ermöglicht. Es kann in der routinemäßigen Anwendung frühzeitig vulnerable Phasen detektieren und Ansatzpunkte für eine mögliche Therapie zum Ausgleich der Fehlbesiedelung liefern. Ein neuer Ansatzpunkt zur Bekräftigung der hier getroffenen Aussagen könnte eine Ausweitung der Kohorte auf eine multizentrische Studie und um Patienten mit Einnahme von Probiotika sein, um deren Auswirkung auf die Besiedelung der oberen Atemwege und auch auf das BPD-Risiko zu verdeutlichen.

Summary

BPD is one of the most common pulmonary morbidities in pediatrics, often associated with serious long-term consequences. Therefore, a lot of attention is paid to research preventive measures and the early detection of risk factors for the lung development of extremely premature babies.

In the present work it was investigated whether the bacterial colonization of the upper respiratory tract and the anal area can be confirmed as another aspect of the multifactorial genesis of BPD and whether non-invasive screening measures are suitable in this regard. With the help of screening swabs in the nasopharyngeal space and the anal area of the cohort, this screening method could be confirmed as a comparable applicable examination method in non-invasively ventilated premature babies compared to examination methods from invasively obtained tracheal secretions. Furthermore, the negative effect of colonization with potentially pathogenic germs in the upper respiratory tract on the occurrence of moderate/severe BPD could also be demonstrated. A negative effect of colonization with gram-negative germs on BPD was not detected.

In this work, the protective value of breast milk with regard to BPD, which has been described several times, could not be proven. However, this can be explained by the high breast milk supply in the cohort of over 90%.

The use of antibiotic therapy did not affect the results of the present work either. After a closer look at the start of therapy, the results of the work allow the assumption that antibiotic therapy directly postnatally could have a negative impact on the microbiome with a subsequent dysbiosis and thus also impact the severity of BPD.

The work provides insights relevant to everyday clinical practice. The used screening method shows the possibility of gentle monitoring of bacterial colonization regardless of the ventilation situation of the patient. In routine use, it can detect vulnerable phases at an early stage and provide starting points for possible therapy to compensate the miscolonization.

A new starting point to support the statements made in this present work could be to expand the cohort by include a multicenter study and patients taking probiotics to clarify their impact on upper respiratory tract colonization and also on BPD risk.

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|------------------------|---|
| SSW | Schwangerschaftswoche |
| GG | Geburtsgewicht |
| SS | Schwangerschaft |
| FG | Frühgeborene |
| ELBW | Kinder mit extrem niedrigem Geburtsgewicht (extremely low birth weight infants) |
| VLBW | Kinder mit sehr niedrigem Geburtsgewicht (very low birth weight infants) |
| g | Gramm |
| WHO | Weltgesundheitsorganisation/ World Health Organization |
| USA | United States of America |
| IQTIG | Institut für Qualitätssicherung und Transparenz im Gesundheitssystem |
| ANS | Atemnotsyndrom |
| O ₂ -Bedarf | Sauerstoffbedarf |
| BPD | Bronchopulmonale Dysplasie |
| CPAP | non-invasive Atemunterstützung/ Continuous Positive Airway Pressure |
| O ₂ | Sauerstoff |
| IL- | Interleukin |
| TNF- | Tumornekrosefaktor |
| PHT | Pulmonale Hypertonie |
| COPD | Chronisch obstruktive Lungenerkrankung |
| FEV ₁ | Einsekundenkapazität/ Forced Expiratory Volume in 1 Second |
| RSV | Respiratory-Syncytial-Virus |
| TORCH | Toxoplasmose, Others, Röteln, Cytomegalie, Herpes simplex |
| NRZ | Nationales Referenzzentrum für Surveillance |
| MRSA | Methicillin resistenter Staphylococcus aureus |
| VRE | Vancomycin- resistente Enterokokken |
| KRINKO | Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention |
| NEC | nekrotisierende Enterokolitis |
| IFN- | Interferon- |

| | |
|-------------------|---|
| ROP | Retinopathia praematurorum |
| RCT | randomisiert-kontrollierte Studien |
| UKGM | Universitätsklinikum Gießen und Marburg |
| FIP | fokale intestinale Perforation |
| RKI | Robert-Koch-Institut |
| GI-Komplikationen | Gastrointestinale Komplikationen |
| Abb. | Abbildung |
| ID | Identifikationsnummer |
| IVH | intraventriculäre Hämorrhagie |
| SGA | small for gestational age |
| ESBL | Extended-Spectrum-Betalaktamasen |
| CO ₂ | Kohlendioxid |
| MHK | minimale Hemmkonzentration |
| EUCAST | Europäisches Komitee für antimikrobielle Empfindlichkeitstestung |
| D | Deutschland |
| USA | United states of America |
| AKAD | Abteilung für Klinische und Administrative Datenverarbeitung |
| AG | Arbeitsgemeinschaft |
| CA | Kalifornien |
| AIC | Akaike-Information-Criterion |
| KNS | Koagulase-negative Staphylococcus |
| bzw. | beziehungsweise |

Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1: Darstellung der Patientenkohorte mit ein- und ausgeschlossenen Patienten,
Seite 22
- Abb.2a-e: Agar-Platten (Blut, MacConkey, Kochblut, Sabouraud, Resistenztestung),
Seite 25
- Abb. 3: Schematische Darstellung des verdünnenden Ausstreichens der Agarplatten,
Seite 25
- Abb. 4a-d: Agarplatten mit positivem Keimnachweis,
Seite 26
- Abb. 5: Beimpfung der Target- Platten des *Vitek MS*,
Seite 27
- Abb. 6: Software *Vitek MS Prep Station* zur Belegung der Target-Platten und Carrier,
Seite 27
- Abb. 7: Beispiel-Spektrum eines *Enterobacter cloacae* mittels *Vitek MS*,
Seite 27
- Abb. 8: Vorbereiteter Carrier des *Vitek 2* mit 2 angesetzten Keim-Suspensionen und
Antibiotika- Resistenztestungs-Karten,
Seite 28
- Abb. 9: Beispiel- Resistogramm des *Vitek 2* eines *Enterococcus faecalis*,
Seite 28
- Abb. 10: Geschlechterverteilung nach weiblichen und männlichen Frühgeborenen,
Seite 36
- Abb. 11: Abhängigkeit des symmetrischen SGA-Status vom Geschlecht,
Seite 36
- Abb. 12: Verteilung der Einlinge und Mehrlinge in der Kohorte,
Seite 37
- Abb. 13: Übersicht der Applikationszeitpunkte der antenatalen Steroide vor der Geburt,
Seite 38
- Abb. 14: Darstellung des Erhalts einer antibiotischen Therapie innerhalb der ersten 6
Lebenswochen mit Differenzierung nach dem Startzeitpunkt postnatal,
Seite 38
- Abb. 15: Infektionshäufigkeit je nach vorhandener Muttermilchversorgung,
Seite 39

- Abb. 16: Übersicht der aufgetretenen Komorbiditäten,
Seite 40
- Abb. 17: Einteilung der Kohorte nach dem BPD-Schweregrad,
Seite 41
- Abb. 18: Einteilung der Kohorte nach dem BPD-Schweregrad in keine/milde und moderate/schwere BPD,
Seite 41
- Abb. 19: Abhängigkeit des BPD-Schweregrades nach Geschlechterverteilung,
Seite 42
- Abb. 20: Abhängigkeit des BPD-Schweregrades von der vorliegenden vollendeten Schwangerschaftswoche,
Seite 43
- Abb. 21: Besiedlungszeitpunkt mit dem ersten nasopharyngealen Keim in Lebenswochen separiert nach den Vergleichsgruppen keine/milde und moderate/schwere BPD,
Seite 48
- Abb. 22: Besiedlungszeitpunkt mit dem ersten analen Keim in Lebenswochen separiert nach den Vergleichsgruppen keine/milde und moderate/schwere BPD,
Seite 48
- Abb. 23: Besiedlungszeitpunkt mit dem ersten nasopharyngealen pathogenem Keim in Lebenswochen separiert nach den Vergleichsgruppen keine/milde und moderate/schwere BPD,
Seite 50
- Abb. 24: Besiedlungszeitpunkt mit dem ersten analen pathogenem Keim in Lebenswochen separiert nach den Vergleichsgruppen keine/milde und moderate/schwere BPD,
Seite 51
- Abb. 25: Besiedlungszeitpunkt mit dem ersten nasopharyngealem gram-negativem Keim in Lebenswochen separiert nach den Vergleichsgruppen keine/milde und moderate/ schwere BPD,
Seite 52
- Abb. 26: Besiedlungszeitpunkt mit dem ersten analen gram-negativem Keim in Lebenswochen separiert nach den Vergleichsgruppen keine/milde und moderate/schwere BPD,
Seite 52

Tabellenverzeichnis

- Tab. 1: Modifizierte Tabelle zu Übersicht der BPD-Einteilung nach Jobe/Bancalari 2001,
Seite 5
- Tab. 2: Ausgewählte Studienübersicht bzgl. der Auswirkung von Mikrobiomveränderungen auf die BPD-Entwicklung sowie deren Nachweismethoden,
Seite 15
- Tab. 3: Auflistung potentiell pathogener Keime für Frühgeborene,
Seite 32
- Tab. 4: Verteilung des Gestationsalters und des Geburtsgewichtes,
Seite 35
- Tab. 5: Übersicht über die Dauer der antibiotischen Therapie,
Seite 39
- Tab. 6: Charakteristika der Patientenkohorte,
Seite 44
- Tab. 7: Confounder-Modell zur Detektierung/Berücksichtigung zusätzlicher Risikofaktoren für BPD,
Seite 46
- Tab. 8: Nachgewiesene potentiell pathogene Bakterien separiert nach der jeweiligen Gramfärbung in alphabetischer Reihenfolge,
Seite 49
- Tab. 9: Einfluss der Lokalisation und der Kategorie der bakteriellen Besiedlung innerhalb der ersten 6 Lebenswochen auf das Auftreten einer moderaten/schweren BPD,
Seite 53
- Tab. 10: Modifiziertes Confounder-Modell, welches die Ko-Variable *Start der antibiotischen Therapie direkt postnatal* beinhaltet,
Seite 55
- Tab. 11: Modifiziertes Confounder-Modell, welches die Ko-Variable *jede antibiotische Therapie innerhalb der ersten 6 Lebenswochen* beinhaltet,
Seite 55
- Tab. 12: Der Einfluss der unterschiedlichen Definition der Ko-Variable *antibiotische Therapie* auf die Ergebnisse der Besiedelung mit oralen pathogenen Bakterien und das Auftreten einer moderaten/schweren BPD,
Seite 56

Tab. 13: Modifiziertes Confounder-Modell zur Detektierung/Berücksichtigung zusätzlicher Risikofaktoren für BPD, welches zusätzlich die Ko-Variable *Erhalt von Muttermilch* beinhaltet,

Seite 57

Tab. 14: Der Einfluss des Hinzufügens der zusätzlichen Ko-Variable *Erhalt von Muttermilch* auf die Ergebnisse der Besiedelung mit oralen pathogenen Bakterien und das Auftreten einer moderaten/schweren BPD,

Seite 57

Literaturverzeichnis

- Akkoyun, I., Oto, S., Yilmaz, G., Anuk, D., Akgun, S., & Akova, Y. A. (2006). "Risk Factors in the Development of Mild and Severe Retinopathy of Prematurity." *Journal for the American Association for Pediatrics Ophthalmology and Strabismus*, 10(5), 449-53. doi: 10.1016/j.jaapos.2006.05.007
- Altobelli, E., Angeletti, P. M., Verrotti, A., & Petrocelli, R. (2020). "The Impact of Human Milk on Necrotizing Enterocolitis: A Systematic Review and Meta-Analysis." *Nutrients*, 12(5), 1322. doi: 10.3390/nu12051322
- An, H., Bae, E.J., Kim, G.B., Kwon, B.S., Beak, J.S., Kim, E.K., Kim, H.S., Choi, J.H., Noh, C.I. & Yun, Y.S. (2010). "Pulmonary hypertension in preterm infants with bronchopulmonary dysplasia." *Korean circulation journal*, 40(3), 131-136. doi: 10.4070/kcj.2010.40.3.131
- Araki, S., Keto, S., Namba, F. & Ota, E. (2018). "Vitamin A to prevent bronchopulmonary dysplasia in extremely low birth weight infants: a systemic review and meta-analysis." *PLoS One*, 13:e0207730. doi:10.1371/journal.pone.0207730
- Bancalari, E. & Jain, D. (2019). "Bronchopulmonary Dysplasia: 50 Years after the Original Description." *Neonatology*, 115(4), 384-391. doi: 10.1159/000497422
- Baraldi, E., Filippone, M., Trevisanuto, D., Zanardo, V. & Zacchello, F. (1997). "Pulmonary function until two years of life in infants with bronchopulmonary dysplasia." *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 155:149-55. doi: 10.1164/ajrccm.155.1.9001304
- Beeton, M.L., Maxwell, N.C., Davies, P.L., Nuttall, D., McGreal, E., Chakraborty, M., Spiller, O.B. & Kotecha, S. (2011). "Role of pulmonary infection in the development of chronic lung disease of prematurity." *European Respiratory journal*, 37, 1424-1430. doi: 10.1183/09031936.00037810
- Berger, A., Kiechl-Kohlendorfer, U., Berger, J., Dilch, A., Kletecka-Pulker, M., Urlesberger, B., Wald, M., Weissensteiner, M., & Salzer, H. (2017). "Erstversorgung von Frühgeborenen an der Grenze der Lebensfähigkeit." *Monatsschrift Kinderheilkunde*, 165, 139-147. doi: 10.1007/s00112-016-0149-0
- Berger, R., Abele, H., Bahlmann, F., Bedei, I., Doubek, K., Felderhoff-Müser, U., Fluhr, H., Garnier, Y., Grylka-Baeschlin, S., Helmer, H., Herting, E., Hoonmann, M., Hösli, I., Hoyme, U., Jendreizeck, A., Krentel, H., Kuon, R., Lütje, W., Mader, S.,

- Maul, H., Mendling, W., Mitschdörfer, B., Nicin, T., Nothacker, M., Olbertz, D., Rath, W., Roll, C., Schlembach, D., Schleußner, E., Schütz, F., Seifert-Klauss, V., Steppat, S. & Surbek, D. (2019). "Prävention und Therapie der Frühgeburt." *Leitlinie der DGGG, OEGGG und SGGG (S2k-Niveau, AWMF Registernummer 015/025, Februar 2019)*. website; <https://register.awmf.org/de/leitlinien/detail/015-025> (letzter Aufruf 02.10.2023)
- Berkelhammer, S.K., Mestan, K.K. & Steinborn, R.H. (2013). "Pulmonary hypertension in bronchopulmonary dysplasia." *Seminars in perinatology*, 37(2), 124–131. doi: 10.1053/j.semperi.2013.01.009
- Berner R., et al. (2018). "Deutsche Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie e.V.. DGPI Handbuch: Infektionen bei Kindern und Jugendlichen." *Thieme Verlag*, 687-701, ISBN: 978-313-240-790-9
- Bhat, R., Salas, A. A., Foster, C., Carlo, W. A. & Ambalavanan, N. (2012). "Prospective analysis of pulmonary hypertension in extremely low birth weight infants." *Pediatrics*, 129(3), e682–e689. doi: 10.1542/peds.2011-1827
- Blencowe, H., Cousens, S., Oestergaard, M. Z., Chou, D., Moller, A. B., Narwal, R., Adler, A., Garcia, C. V., Rohde, S., Say, L., & Lawn, J.E. (2012). "National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: A systematic analysis and implications." *The Lancet*, 379(9832): 2162-72. doi: 10.1016/S0140-6736(12)60820-4
- Boccia, D., Stolfi, I., Lana, S. & Moro, M.L. (2001). "Nosocomial necrotising enterocolitis outbreaks: epidemiology and control measures." *European journal of pediatrics* 160, 6, 385-91. doi: 10.1007/s004310100749
- Brewer, M.R., Maffei, D., Cerise, J., Ahn, S., DeVoti, J., Codipilly, C., Lee, A. & Weinberger, B. (2021). "Determinants of the lung microbiome in intubated premature infants at risk for bronchopulmonary dysplasia." *Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 34(19):3220-3226. doi: 10.1080/14767058.2019.1681961
- Cantey, J.B., Huffman, L. W., Subramanian, A., Marshall, A.S., Ballard, A.R., Lefevre, C., Sagar, M., Pruszynski, J.E. & Mallett, L.H. (2017). "Antibiotic Exposure and Risk for Death or Bronchopulmonary Dysplasia in Very Low Birth Weight Infants." *The Journal of Pediatrics*, 181, 289-293.e1. doi: 10.1016/j.jpeds.2016.11.002
- Choi, Y., Rekers, L., Dong, Y., Holzfurtner, L., Goetz, M.J., Shahzad, T., Zimmer, K.-P., Behnke, J., Behnke, J., Bellusci, S. & Ehrhardt, H. (2021). "Oxygen Toxicity to

the Immature Lung- Part I: Pathomechanistic Understanding and Preclinical Perspectives." *International Journal of Molecular Sciences* 22(20):11006. doi: 10.3390/ijms222011006

- Christoph, J., Dame, C., Eckmanns, T., Gärtner, B., Geffers, C., Gille, C., Haertel, C., Haller, S., Hartl, D., Kraus-Haas, M., Marschal, M., Müller, A. & von Müller, A. (2013). "Risikocharakterisierung intensivmedizinisch behandelter Früh- und Neugeborener und Daten zur Ist-Situation in deutschen neonatologischen Intensivpflegestationen 2013 - Fachliche Erläuterungen zu folgender Empfehlung: Praktische Umsetzung sowie krankenhaushygienische und infektionspräventive Konsequenzen des mikrobiellen Kolonisationscreenings bei intensivmedizinisch behandelten Früh- und Neugeborenen Ergänzende Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut, Berlin zur Implementierung der Empfehlungen zur Prävention nosokomialer Infektionen bei neonatologischen Intensivpflegepatienten mit einem Geburtsgewicht unter 1.500 g aus dem Jahr 2007 und 2012." *Epidemiologisches Bulletin* 42, 1-52.
- Combs, C. A., Gravett, M., Garite, T. J., Hickok, D. E., Lapidus, J., Porreco, R., Rael, J., Grove, T., Morgan, T. K., Clewell, W., et al. (2014). "Amniotic fluid infection, inflammation, and colonization in preterm labor with intact membranes." *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 210(2): 125.e1-125.e15. doi:10.1016/j.ajog.2013.11.032
- Cordero, L., Ayers, L.W., Davis, K., (1997). "Neonatal airway colonization with gram-negativ bacilli: association with severity of bronchopulmonary dysplasia." *The Pediatric Infectious Disease journal*, 1, 18-23. doi: 10.1097/00006454-199701000-00005
- Cuna, A., Sampath, V. & Khashu, M. (2021). "Racial Disparities in Necrotizing Enterocolitis." *Frontiers in Pediatrics* 9:633088. doi: 10.3389/fped.2021.633088
- Darlow, B.A. & Graham, P.J. (2011). "Vitamin A Supplementation to prevent mortality and short- and long term morbidity in very low birthweight infants." *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue 10. Art. No.: DC000501. doi: 10.1002/14651858.CD000501.pub3
- Dermyshe, E., Wang, Y., Yan, C., Hong, W., Qiu, G., Gong, X., & Zhang, T. (2017). "The "Golden Age" of Probiotics: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized and Observational Studies in Preterm Infants." *Neonatology*, 112, 9–23. doi:10.1159/000454668

- Dolma, K., Freeman, A.E., Rezonzew, G., Payne, G.A., Xu, X., Jilling, T., Blalock, J.E., Gaggar, A., Ambalavanan, N. & Lal, C.V. (2020). "Effects of hyperoxia on alveolar and pulmonary vascular development in germ-free mice." *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 318.2, L421-28. doi: 10.1152/ajplung.00316.2019
- Egesa, W.I., Odoch, S., Odong, R.J., Nakalema, G., Asimwe, D., Ekuk, E., Twesigemukama, S., Turyasiima, M., Lokengama, R.K., Waibi, W.M., Abdirashid, S., Kajoba, D. & Kumbakulu, P.K. (2021). "Germinal matrix-intraventricular hemorrhage: A Tale of preterm Infants." *International journal of pediatrics*, 6622598. doi: 10.1155/2021/6622598
- EUCAST (2019). The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. "Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters." Version 9.0. website: <http://www.eucast.org>. (letzter Aufruf 02.10.2023)
- Fawke, J., Lum, S., Kirkby, J., Hennessy, E., Marlow, N., Rowell, V. Thomas, S. & Stocks, J. (2010). "Lung function and respiratory symptoms at 11 years in children born extremely preterm: the EPICure study." *American journal of respiratory and critical care medicine* 182(2), 237-245. doi: 10.1164/rccm.200912-1806OC
- Ford-Jones, E.L., Mindorff, C.M., Langley, J.M., Allen, U., Navas, L., Patrick, M.I., Milner, R., & Gold, R. (1989). "Epidemiologic study of 4684 hospital-acquired infections in pediatric patients." *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 8(10): 668-75. doi: 10.1097/00006454-198910000-00002
- Garbe, W. (2011). "Das Frühchen-Buch." *Georg Thieme Verlag* (6. Auflage). ISBN: 313-104-566-3
- Gentle, S. J., & Lal, C. V. (2019). "Predicting BPD : Lessons Learned From the Airway Microbiome of Preterm Infants." *Frontiers in Pediatrics*, 7, 564. doi:10.3389/Fped.2019.00564
- Glaser, K., Silwedel, C., Fehrholz, M., Waaga-gasser, A. M., Henrich, B., Claus, H., & Speer, C. P.. (2017). "Ureaplasma Species Differentially Modulate Pro- and Anti-Inflammatory Cytokine Responses in Newborn and Adult Human Monocytes Pushing the State Toward Pro-Inflammation." *Front Cell Infect Microbiol.*, 7:484.. doi:10.3389/fcimb.2017.00484
- Gortner, L., Misselwitz, B., Milligan, D., Zeitlin, J., Boerch, K., Kollée, L., Agostino, R., Van Reempts, P., Chabernaude, J.-L., Breart, G., Papiernik, E. Jarreau, P.-H., Carrapato, M., Gadzinowski, J., & Draper, E. (2011). "Rates of Bronchopulmonary

- Dysplasia in Very Preterm Neonates in Europe: Results from the MOSAIC Cohort.. *Neonatology*. 99, 112-117. doi: 10.1159/000313024
- Gough, A., Linden, M., Spence, D., Patterson, C.C., Halliday, H.L. & McGarvey, L.P. (2014). "Impaired lung function and health status in adult survivors of bronchopulmonary dysplasia." *European Respiratory Journal*. 43:808-16. doi: 10.1183/09031936.00039513
- Gray, P.H., O'Callaghan, M.J. & Rogers, Y.M. (2004). "Psychoeducational outcome at school age of preterm infants with bronchopulmonary dysplasia." *Journal of Pediatrics and Child Health*, 40:114-120. doi: 10.1111/j.1440-1754.2004.00310.x
- Greenough, A. (2012). "Long term respiratory outcomes of very premature birth (<32 weeks)." *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, 17(2),73-6. doi: 10.1016/j.siny.2012.01.009
- Greenough, A., Alexander, J., Boit, P., Boorman, J., Burgess, S., Burke, A., Chetcuti, P. A., Cliff, I., Lenney, W., Lytle, T., Morgan, C., Raiman, C., Shaw, N.J., Sylvester, K.P., Turner, J. (2009). "School age outcome of hospitalisation with respiratory syncytial virus infection of prematurely born infants." *Thorax*, 64(6),490-5. doi: 10.1136/thx.2008.095547
- Hartling, L., Liang, Y., & Lacaze-Masmonteil, T. (2012). "Chorioamnionitis as a risk factor for bronchopulmonary dysplasia : A systematic review and meta-analysis." *ADC Fetal and Neonatal*, 97, F8-F17, doi:10.1136/adc.2010.210187
- Hartz, L. E., Bradshaw, W., & Brandon, D. H. (2015). "Potential NICU Environmental Influences on the Neonate ' s Microbiome : A Systematic Review. *Adv Neonatal Care: Off. J. Natl. Assoc. Neonatal Nurses*. 15, 324-335. doi:10.1097/ANC.0000000000000220
- Hislop, A.A. & Haworth, S.G. (1990). "Pulmonary vascular damage and the development of cor pulmonale following hyaline membrane disease." *Pediatric Pulmonology*, 9(3),152-61. doi: 10.1002/ppul.1950090306
- Howson, C., Kinney, M., & Lawn, J.E., (2012). "Born too soon: the global action report on preterm birth." March of Dimes, PMNCH, Save the Children WHO.website: https://www.efcni.org/wpcontent/uploads/2018/03/BornTooSoonExecSummary_v05.pdf (letzter Aufruf: 02.10.2023).
- Huang, J., Zhang, L., Tang, J., Shi, J., Qu, Y., Xiong, T., & Mu, D. (2019). "Human milk as a protective factor for bronchopulmonary dysplasia : A systematic review and meta-analysis." *ADC Fetal and Neonatal*, 104(2), F128-F136, doi:

10.1136/archdischild-2017-314205

- IQTIG. (2016). "Bundesauswertung zum Erfassungsjahr 2015, Geburtshilfe". *Institut für Qualitätssicherung und Transparenz im Gesundheitswesen*. website: https://iqtig.org/downloads/auswertung/2015/16n1gebh/QSKH_16n1-GEBH_2015_BUAW_V02_2016-07-07.pdf (letzter Aufruf 02.10.2023)
- IQTIG. (2020). "Bundesauswertung zum Erfassungsjahr 2019, Geburtshilfe." *Institut für Qualitätssicherung und Transparenz im Gesundheitswesen*. website: https://iqtig.org/downloads/auswertung/2019/16n1gebh/QSKH_16n1-GEBH_2019_BUAW_V02_2020-07-14.pdf (letzter Aufruf: 02.10.2023)
- Jackel, J., Baumann, N. & Wolke, D. (2013). "Effects of Gestational Age at Birth on Cognitive Performance: A Function of Cognitive Workload Demands." *PLoS ONE* 8(5):e65219. doi: 10.1371/journal.pone.0065219
- Jobe, A. H. & Bancalari E. (2001). "Bronchopulmonary Dysplasia." *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 163, 1723-1729. doi:10.1164/ajrccm.163.7.2011060
- Johnson, S., Fawke, J., Hennessy, E., Rowell, V., Thomas, S., Wolke, D. & Marlow, N. (2009). "Neurodevelopmental disability through 11 years of age in children born before 26 weeks of gestation." *Pediatrics*, Aug;124(2):e249-57. doi: 10.1542/peds.2008-3743
- Joshi, S., & Kotecha, S. (2007). "Lung growth and development." *Early Human Development*, 83(12): 789-94. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2007.09.007
- Kayser, F.H., Böttger, E.C., Zinkernagel, R.M., Haller, O., Eckert, J. & Deplazes, P. (2010). "Medizinische Mikrobiologie." *Georg Thieme Verlag*. Seite 28-29. ISBN: 978-3-13-444812-2
- Khemani, E., McElhinney, D.B., Rhein, L., Andrade, O., Lacro, R.V., Thomas, K.C. & Mullen, M.P. (2007). " Pulmonary artery hypertension in formerly premature infants with bronchopulmonary dysplasia: clinical features and outcomes in the surfactant era." *Pediatrics*, 120(6),1260-9. doi: 10.1542/peds.2007-0971
- Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) (2007). „Empfehlung zur Prävention nosokomialer Infektionen bei neonatologischen Intensivpflegepatienten mit einem Geburtsgewicht unter 1500 g- Mitteilung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut." *Bundesgesundheitsblatt* 50, 1265-1303. doi: 10.1007/s00103-007-0337-0
- Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) (2013).

"Praktische Umsetzung sowie krankenhaushygienische und infektionspräventive Konsequenzen des mikrobillen Kolonisationscreening bei intensivmedizinisch behandelten Früh- und Neugeborenen." *Epidemiologisches Bulletin*, Nr.42. website: https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2013/Ausgaben/42_13.pdf?__blob=publicationFile (letzter Aufruf 02.10.2023)

Kotecha, S.J., Edwards, M.O., Watkins, W.J., Henderson, A.J., Paranjothy, S., Dunstan, F.D. & Kotecha, S. (2013) "Effect of preterm birth on later FEV1: a systematic review and meta-analysis." *Thorax*. 68(8),760-6. doi: 10.1136/thoraxjnl-2012-203079

Kotecha, S.J., Gibbons, J.T.D., Course, C.W., Evans, E.E., Simpson, S.J., Watkins, W.J. & Kotecha, S. (2022). "Geographical Differences and Temporal Improvements in Forced Expiratory Volume in 1 Second of Preterm-Born Children. A Systematic Review and Meta-analysis" *JAMA Pediatrics*. doi: 10.1001/jamapediatrics.2022.1990

Lal, C. V., Kandasamy, J., & Dolma, K., Ramani, M., Kumar, R., Wilson, L., Aghai, Z., Barnes, S., Blalock, J.E., Gaggar, A., et al. (2018). "Early airway microbial metagenomic and metabolomic signatures are associated with development of severe bronchopulmonary dysplasia." *American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology*. 315, L810-L815. doi: 10.1152/ajplung.00085.2018

Lal, C.V., Travers, C., Aghai, Z.H., Eipers, P., Jilling, T., Halloran, B., Carlo, W.A., Keeley, J., Rezonzew, G., Kumar, R., Morrow, C., Bhandari, V. & Ambalavanan, N. (2016). "The airway microbiome at birth." *Scientific reports*, 6, 31023. doi: 10.1038/srep31023

Lignelli, E., Palumbo, F., Myti, D., & Morty, R. E. (2019). "Recent advances in our understanding of the mechanisms of lung alveolarization and bronchopulmonary dysplasia." *American Journal of Physiology Lung Cell. Mol. Physiol.*, 317, L832-L887. doi:10.1152/ajplung.00369.2019

Liu, L., Oza, S., Hogan, D., Chu, Y., Perin, J., Zhu, J., Lawn, J.E., Cousens, S., Mathers, C., & Black, R. E. (2016). "Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000–15: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals." *The Lancet*, 388(10063): 3027-3035. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31593-8

Lohmann, P., Luna, R., Hollister, E., Devaraj, S., Mistretta, T.-A., Welty, S.E. & Versalovic, J.. (2014). "The airway microbiome of intubated premature infants:

- characteristics and changes that predict the development of bronchopulmonary dysplasia." *Pediatric Research* 76, 294-301. doi: 10.1038/pr.2014.85
- Man, W. H., de Steenhuijsen Piters, W. A. & Bogaert, D. (2017). "The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health." *Nature Reviews Microbiology* 15(5):259-270. doi: 10.1038/nrmicro.2017.14
- McGrath-Morrow, S. A., Collaco, J. M. (2019). "Bronchopulmonary dysplasia: what are its links to COPD?" *Therapeutic advances in respiratory disease*, 13, doi: 1753466619892492.
- Millar, M. R., Mackay, P., Levene, M., Langdale, V., & Martin, C. (1992). "Enterobacteriaceae and neonatal necrotising enterocolitis." *Archives of Diseases in Childhood*, 67, 53–56. doi:10.1136/adc.67.1_spec_no.53
- Mourani, P.M., Harris, J.K., Sontag, M.K., Robertson, C.E. & Abman, S.H. (2011). "Molecular Identification of Bacteria in Tracheal Aspirate Fluid from MEchanically Ventilated Preterm Infants." *PLoS ONE* 6(10):e25959. doi: 10.1371/Journal.pone.0025959
- Nationales Referenzzentrum für Surveillance von nosokomialen Infektionen (NRZ), Robert Koch-Institut. (2017). "Definitionen nosokomialer Infektionen für die Surveillance im Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System (KISS-Definitionen)." doi: 10.17886/rkipubl-2016-013.2.
- Nationales Referenzzentrum für Surveillance von nosokomialen Infektionen (2021). "KISS-Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System. Modul NEO-KISS, Berechnungszeitraum: Januar2017 bis Dezember 2020." website: https://www.nrz-hygiene.de/fileadmin/nrz/module/neo/201701_202012_NEORef.pdf (letzter Aufruf 02.10.2023)
- Neumeister, B., Geiss, H.K., Braun, R.W., & Kimmig, P. (2009). "Mikrobiologische Diagnostik: Teil I Allgemeiner Teil" (2. Auflage). *Georg Thieme Verlag*, ISBN: 978-313-743-602-7. doi: 10.1055/b-002-19462
- Neumeister, B., Geiss, H.K., Braun, R. W., & Kimmig, P. (2009). "Mikrobiologische Diagnostik: Teil II Mikrobiologische Untersuchungsmethoden". (2. Auflage). *Georg Thieme Verlag*. ISBN: 978-313-743-602-7. doi: 10.1055/b-002-19462
- Niedermaier, S. & Hilgendorff, A. (2015). "Bronchopulmonary dysplasia - an overview about pathophysiologic concepts." *Molecular and Cellular Pediatrics* 2(1):2. doi: 10.1186/s40348-015-0013-7
- Northway, W. H., Rosan, R. C., & Porter, D. Y. (1967). "Pulmonary disease following

- respirator therapy of hyaline-membrane disease. Bronchopulmonary dysplasia." *New England Journal of Medicine*, 276(7): 357-68. 19. doi: 10.1056/NEJM196702162760701
- Northway, W.H.Jr., Moss, R.B., Carlisle, K.B., Parker, B.R., Popp, R.L., Pitlick, P.T., Eichler, I., Lamm, R.L. & Brown, B.W., Jr. (1990) "Late pulmonary sequelae of bronchopulmonary dysplasia." *New England Journal of Medicine*, 27;323:1793-9. doi: 10.1056/NEJM199012273232603. PMID: 2247118
- Pammi, M., Cope, J., Tarr, P.I., Warner, B.B., Morrow, A.I., Mai, V., Gregory, K.E., Kroll, J.S., McMurtry, V., Ferris, M.J., Engstrand, L., Lilja, H.E., Hollister, E.B., Versalovic, J. & Neu, J. (2017). "Intestinal dysbiosis in preterm infants preceding necrotizing enterocolitis: a systematic review and meta-analysis." *Microbiome*. 5,1, 31. doi: 10.1186/s40168-017-0248-8
- Pammi, M., Lal, C. V., Wagner, B. D., Mourani, P. M., Lohmann, P., Luna, R. A., Sisson, A., Shiyanna, B., Hollister, E.B., Abman, S.H., et al., (2019). "Airway Microbiom and Development of Bronchopulmonary Dysplasia in Preterm Infants: A Systematic Review." *Journal of Pediatrics*, 204, 126-133.e2., doi: 10.1016/j.jpeds.2018.08.042
- Parm, U., Metsvaht, T., Sepp, E., Ilmoja, M.L., Pisarev, H., Pauskar, M. & Lutsar, I. (2011). "Risk factors associated with gut and nasopharyngeal colonization by common Gram-negative species and yeasts in neonatal intensive care units patients." *Early Human Development*, 87, 6, 391-9. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2011.02.007
- Payne, M.S., Goss, K.C.W., Connett, G.J., Kollamparambil, T., Legg, J.P., Thwaites, R., Ashton, M., Puddy, V., Peacock, J.L. & Bruce, K.D. (2010). "Molecular Microbiological Characterization of Preterm Neonates at Risk of Bronchopulmonary Dysplasia." *Pediatric Research*, Vol. 67, No 4. doi: 0031-3998/10/6704-0412
- Pérez Tarazona, S., Solano Galán, P., Bartoll Alguacil, E. & Alfonso Diego, J. (2018). "Bronchopulmonary dysplasia as a risk factor for asthma in school children and adolescents: A systemic review." *Allergologia et Immunopathologia*, 46(1),87-98. doi: 10.1016/j.aller.2017.02.004
- Romero, R., Dey, S.K., & Fisher, S.J. (2014). "Preterm Labor : One Syndrome, many causes." *Science*, 345(6198): 760-5. doi:10.1126/science.1251816
- Santulli, T.V., Schullinger, J.N., Heird, W.C., Gongaware, R.D., Wigger, J., Barlow, B., Blanc, W.A. & Berdon, W.E. (1975). "Acute necrotizing enterocolitis in infancy: A Review of 64 cases." *Pediatrics*, 55, 3, 376-87. doi: 10.1542/peds.55.3.376

- Schmidt, B., Roberts, R.S., Davis, P.G., Doyle, L.W., Asztalos, E.V., Opie, G., Bairam, A., Solimano, A., Arnon, S., Sauve, R.S.. (2015). "Caffeine for Apnea of Prematurity (CAP) Trial Investigators; Caffeine for Apnea of Prematurity CAP Trial Investigators. Prediction of Late Death or Disability at Age 5 Years Using a Count of 3 Neonatal Morbidities in Very Low Birth Weight Infants." *Pediatrics*, 167:982-6.e2. doi: 10.1016/j.jpeds.2015.07.067
- Schmidt, B., Roberts, R.S., Davis, P., Doyle, L.W., Barrington, K.J., Ohlsson, A., Solimano, A. & Tin, W. (2006). "Caffeine for Apnea of Prematurity Trial Group. Caffeine therapy for apnea of prematurity." *New England Journal of Medicine*, 354:2112-21. doi: 10.1056/NEJMoa054065
- Schubert, S., & Wiesner, A. (2016). "Molekulare Speziesdifferenzierung MALDI-TOF-MS in der mikrobiologischen Diagnostik." *Biospektrum*, 16,7, 760-62 Springer-Verlag GmbH,
- Shahzad, T., Radajewski, S., Chao, C.-M., Bellusci, S., & Ehrhardt, H. (2016). "Pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia: when inflammation meets organ development." *Mol. and Cell. Pediatrics*. 3,23. doi:10.1186/s40348-016-0051-9
- Singer, L., Yamashita, T., Lilien, L., Collin, M. & Baley, J. (1997). " A longitudinal study of developmental outcome of infants with bronchopulmonary dysplasia and very low birth weight." *Pediatrics*, 100:987-993. doi:10.1542/peds.100.6.987
- Slattery, M. M., & Morrison, P. J. J. (2002). "Preterm delivery." *The Lancet*, 360(9344), P1489-1497. doi:10.1016/S0140-6736(02)11476-0
- Slaughter, J.L., Pakrashi, T., Jones, D.E., South, A.P. & Shah, T.A. (2011). " Echocardiographic detection of pulmonary hypertension in extremely low birth weight infants with bronchopulmonary dysplasia requiring prolonged positive pressure ventilation." *Journal of Perinatology*, 31(10),635-40. doi: 10.1038/jp.2010.213
- Speer, C P. (2006). "Pulmonary inflammation and bronchopulmonary dysplasia." *Journal of Perinatology*, 26, 1:S57-62. doi: 10.1038/sj.jp.7211476
- Speer, C.P. (2020). " Lungenkrankheiten bei Früh- und Neugeborenen." *e.Medpedia, SpringerMedizin*. website: https://www.springermedizin.de/emedpedia/paediatric/lungenkrankheiten-bei-frueh-und-neugeborenen?epediaDoi=10.1007%2F978-3-642-54671-6_57. (letzter Aufruf: 02.10.2023)
- Speer, C.P., Gahr, M., & Dötsch, J. (2019). Neonatologie. *SpringerVerlag*, 5. Auflage.. ISBN: 978-3-662-57294-8

- Staupe, B., Oehmke, F., Lauer, T., Behnke, J., Göpel, W., Schloter, M., Schulz, H., Krause-Etschmann, S., & Ehrhardt, H. (2018). "The Microbiome and Preterm Birth: A Change in Paradigm with Profound Implications for Pathophysiologic Concepts and Novel Therapeutic Strategies." *BioMed Research International*, 2018, 7218187, doi: 10.1155/2018/7218187
- Stoll, B.J., Hansen, N.I., Bell, E.F., Shankaran, S., Laptook, A.R., Walsh, M.C., Hale, E.C., Newman, N.S., Schibler, K., Carlo, W. A., Kennedy, K. A., Poindexter, B. B., Finer, N. N., Ehrenkranz, R. A., Duara, S., Sánchez, P. J., O'Shea, T. M., Goldberg, R. N., Van Meurs, K. P., Faix, R. G., Phelps, D.L., Frantz, I.D., Watterberg, K.L., Saha, S., Das, A. & Higgins, R.D., for Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, (2010). "Neonatal outcomes of extremely preterm infants from the NICHD Neonatal Research Network." *Pediatrics*, 126, 3, 443–456. doi: 10.1542/peds.2009-2959
- Stressmann, F.A, Connett, G.J., Goss, K., Kollamparambil, T.G., Patel, N., Payne, M.S., Puddy, V., Legg, J., Bruce, K.D. & Rogers, G.B. (2010). "The use of culture-independent tools to characterize bacteria in endo-tracheal aspirates from preterm infants at risk of bronchopulmonary dysplasia." *Journal of Perinatal Medicine*, 38(3):333-7. doi: 10.1515/jpm.2010.026
- Thekkevedu, R. K., Guaman, M. C., & Shivanna, B. (2017). "Bronchopulmonary dysplasia: A Review of Pathogenesis and Pathophysiology." *Respiratory Medicine*, 132:170-177. doi:10.1016/j.rmed.2017.10.014
- Thiess, T., Lauer, T., Woesler, A., Neusius, J., Stehle, S., Zimmer, K.-P., Eckert, G.P. & Ehrhardt, H. (2021). „Correlation of Early Nutritional Supply and Development of Bronchopulmonary Dysplasia in Perterm Infants <1000g.” *Frontiers in Pediatrics*. doi: 10.3389/fped.2021.741365
- Villamor-Martinez, E., Pierro, M., Cavallaro, G., Mosca, F., Kramer, B., & Villamor, E. (2017). "Probiotic Supplementation in Preterm Infants Does Not Affect the Risk of Bronchopulmonary Dysplasia: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutrients*. 9, 1197. doi: 10.3390/nu9111197
- Villamor-Martínez, E., Pierro, M., Cavallaro, G., Mosca, F., & Villamor, E. (2019). "Mother ' s Own Milk and Bronchopulmonary Dysplasia : A Systematic Review and Meta- Analysis." *Frontiers in Pediatrics*, 7, 224, doi: 10.3389/fped.2019.00224
- Vohr, B., Wright, L., Poole, W. & McDonald, S. (2005). "Neurodevelopmental Outcomes of Extremely Low Birth Weight Infants <32 Weeks' Gestation between

- 1993 und 1998." *Pediatrics*, 116, 635-43. doi:10.1542/peds.2004-2247.
- Voigt, M., Schneider, K.T. & Jährig, K. (1996). "Analyse der Geburtsgutes des Jahrgangs 1992 der Bundesrepublik Deutschland. Teil 1: Neue Perzentilenwerte für Körpermasse von Neugeborenen." *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*, 56, 550-558. doi:10.1055/s-2007-1023283.
- Vom Hove, M., Prenzel, F., Uhlig, H. & Robel-Tillig, E. (2014). "Pulmonary outcome in former preterm, very low birth weight children with bronchopulmonary dysplasia: a case-control follow-up at school age." *Pediatrics*, 164:40-45. doi: 10.1016/j.jpeds.2013.07.045.
- Vrijlandt, E.J., Gerritsen, J., Boezen, H.M., Duiverman, E.J., Dutch POPS-19 Collaborative study group. (2005). "Gender differences in respiratory symptoms in 19- year-old adults born preterm." *Respiratory Research*, 6:117. doi:10.1186/1465-9921-6-117
- Warner, B.B., Deych, E., Zhou, Y., Hall-Moore, C., Weinstock, G.M., Sodergren, E., Shaikh, N., Hoffmann, J.A., Linnemann, L.A., Hamvas, A., Khanna, G., Rougly-Nickless, L.C., Ndao, I.M., Shands, B.A., Escobedo, M., Sullivan, J.E., Radmacher, P.G., Shannon, W.D. & Tarr, P.I. (2016). " Gut bacteria dysbiosis an necrotizing enterocolitis in very low birthweight infants: a prospective case-control study. *Lancet*, 387, 1928-1936. doi: 10.1016/S0140-6736(16)00081-7
- Whiteside, S. A., McGinniss J. E. & Collman, R. G. (2021). "The lung microbiome: progress and promise." *Journal of Clinical Investigation* 131(15):e150473. doi: 10.1172/JCI150473
- Wypych, T. P., Wickramasinghe, L. C. & Marsland, B. J. (2019). "The influence of the microbiome on respiratory health." *Nature Immunology* 20(10):1279-1290. doi: 10.1038/s41590-019-0451-9
- Zhou, J., Shukla, V.V., John, D., & Chen, C. (2015). "Human Milk Feeding as a Protective Factor for Retinopathy of Prematurity: A Meta-analysis" *Pediatrics*, 136(6):e1576-86. doi.:10.1542/peds.2015-2372

Publikationsverzeichnis

Article in Journal of Clinical Medicine

Received: 30 May 2020; Accepted: 8 July 2020; Published: 15 July 2020

Bacterial Colonization within the First Six Weeks of Life and Pulmonary Outcome in Preterm Infants <1000 g

Tina Lauer¹, Judith Behnke¹, Frank Oehmke², Johanna Baecker¹, Katrin Gentil³, Trinad Chakraborty³, Michael Schloter⁴, Jan Gertheiss⁵, and Harald Ehrhardt^{1,*}

¹ Department of General Pediatrics and Neonatology, Justus-Liebig-University, Universities of Gießen and Marburg Lung Center (UGMLC), German Center for Lung Research (DZL), Feulgenstrasse 12, D-35392 Gießen, Germany; tina.lauer@paediat.med.uni-giessen.de (T.L.); judith.behnke@paediat.med.uni-giessen.de (J.B.); johanna.baecker@paediat.med.uni-giessen.de (J.B.)

² Department of Obstetrics and Gynecology, Justus-Liebig-University, Feulgenstrasse 12, D-35392 Gießen, Germany; Frank.Oehmke@gyn.med.uni-giessen.de

³ Institute of Medical Microbiology, Justus-Liebig-University, German Center for Infection Research (DZIF), Schubertstrasse 81, D-35392 Gießen, Germany; katrin.gentil@mikrobio.med.uni-giessen.de (K.G.); Trinad.Chakraborty@mikrobio.med.uni-giessen.de (T.C.)

⁴ Research Unit for Comparative Microbiome Analysis, Helmholtz Zentrum München GmbH, Ingolstädter Landstrasse 1, D-85764 Neuherberg, Germany; schloter@helmholtz-muenchen.de

⁵ Department of Economics and Social Sciences, Statistics and Data Science Group, Helmut Schmidt University, Holstenhofweg 85, D-22043 Hamburg, Germany; jan.gertheiss@hsu-hh.de

* Correspondence: harald.ehrhardt@paediat.med.uni-giessen.de; Tel.: +49-9854-3400

Ehrenwörtliche Erklärung

"Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der "Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis" niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden."

Tina Frodermann

Gender Erklärung

In dieser wissenschaftlichen Arbeit wurde aufgrund der besseren Lesbarkeit bewusst auf eine geschlechtsneutrale Formulierung verzichtet. Sämtliche männliche Schreibweisen beziehen sich dabei gleichermaßen auf alle Geschlechter.

Danksagung

Mein herzlichster Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Harald Ehrhardt für die Bereitstellung des Themas sowie die hervorragende Betreuung. Er stand mir stets zuverlässig mit viel Geduld und Rat zur Seite, was wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beitrug. Vielen Dank für jegliche Hilfestellung, Motivation und Unterstützung in den letzten Jahren auch im Rahmen meiner Weiterbildung zur Fachärztin.

Des Weiteren möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Jan Gertheiss für die tatkräftige Unterstützung bei der Erstellung der statistischen Auswertung bedanken.

Dem gesamten pflegerischen Team der Neonatologischen Intensivstation und der Station Moro möchte ich für die äußerst zuverlässige Durchführung der wöchentlichen Routine-Screening-Abstriche und den großen Einsatz in der gemeinsamen Versorgung unserer kleinsten Patienten sowie die immer kollegiale und freudige Zusammenarbeit danken.

Ein ganz besonderer Dank gilt Tim, der mich stets zum Lachen bringt, mich antreibt und immer an meiner Seite ist. Ich freue mich auf alles, was vor unserer kleinen Familie liegt. Danke, dass du in meinem Leben bist, ich möchte es mit niemand anderem teilen.

Auch meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, und meinen Freunden möchte ich für die Unterstützung, Ermutigung und die unvergesslichen Momente in all den Jahren danken. Danke, dass ihr mir ermöglicht meine Träume zu verwirklichen, sie mit mir gemeinsam lebt und mir immer ein Zuhause seid.