

Aus dem Zentrum für Kinder-und
Jugendmedizin der Universität zu Köln,
Klinik und Poliklinik für Kinder-und
Jugendmedizin
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. J. Dötsch

**Vergleich der bakteriellen gramnegativen
Kolonisation bei Frühgeborenen mit einem
Gestationsalter von ≤ 29 SSW und einem
Geburtsgewicht von < 1500 g vor und nach
Einführung der Muttermilchpasteurisierung
(bei CMV-IgG seropositiven Müttern)**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Universität zu Köln

vorgelegt von
Eva Flügel
aus Herdecke

promoviert am 21. Januar 2025

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln

Druckjahr 2024

Dekanin/Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. G. R. Fink
1. Gutachterin: Privatdozentin Dr. med. K. Mehler
2. Gutachterin: Privatdozentin Dr. med. V. di Cristanziano

Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten:

Frau PD Dr. Katrin Mehler
Frau PD Dr. Angela Kribs
Herr Prof. Dr. Axel Hamprecht
Herr Dr. Roberto Lorbeer

Weitere Personen waren an der Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Der dieser Arbeit zugrunde liegenden Datensatz wurde mir von der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin (Bereich Neonatologie) von Frau PD Dr. Katrin Mehler, sowie aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene von Herr Prof. Dr. Axel Hamprecht zur Verfügung gestellt. Die Aufarbeitung der Daten führte ich eigenständig durch. Die statischen Analysen wurden in Zusammenarbeit mit Dr. Roberto Lorbeer (Ludwig Maximilian-Universität München) unter Verwendung der Stata Software Version 16.1. (Stata Corporation, College Station, TX, USA) erarbeitet.

Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 132/2020) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den 08.07.2024

Danksagung

Der größte Dank gilt meinen geliebten Eltern: ihre Unterstützung hat mich weit getragen, es ist wunderschön sie immer an meiner Seite zu wissen. Sie sind unersetzlich.

Ebenso möchte ich meinem Ehemann Felix, meinem Bruder Hendrik und meiner mittlerweile verstorbenen Oma Trudi danken, auch Sie haben mich intensiv durchs Studium begleitet, immer an mich geglaubt und mich bekräftigt die Dissertation nach so vielen Jahren zu vollenden.

Besonders viel Kraft und Durchhaltevermögen hat mir mein Sohn Caspar geschenkt: er hat bereits mit mir im Mutterleib viele wissenschaftliche Arbeiten durchforstet und blickt nun mit wachen großen Augen ins wundervolle Leben.

Danke für so viel Liebe und Unterstützung.

Für meinen Sohn Caspar und für meine Tochter Ava

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	8
1. ZUSAMMENFASSUNG	10
2. EINLEITUNG	11
2.1. Das humane Cytomegalievirus	11
2.2. Die postnatale Cytomegalievirus-Infektion des Früh- und Reifgeborenen	11
2.3. Präventionsmaßnahmen einer Cytomegalievirus-Transmission durch den Vektor Muttermilch	13
14	
2.3.1. Pasteurisierung der Muttermilch mittels Holder-Methode	13
2.3.2. Empfehlungen zum Umgang mit Muttermilch bei Frühgeborenen von CMV-seropositiven Müttern (zum Zeitpunkt der Studie)	14
2.3.3. Empfehlung der neonatologischen Abteilung der Universitätsklinik Köln bei Frühgeborenen (Gestationsalter ≤ 28 SSW, Geburtsgewicht < 1500 g) zur Prävention einer postnatalen Cytomegalievirus-Infektion (zum Zeitpunkt der Studie)	14
2.4. Zusammensetzung und Eigenschaften der nicht-pasteurisierten Muttermilch sowie deren Einfluss auf die Entstehung des kindlichen gastrointestinalen Mikrobioms	15
2.5. Die Muttermilch für Frühgeborene	16
2.6. Das Mikrobiom des Frühgeborenen	17
2.7. Bakterielle Infektionen des Frühgeborenen	18
2.8. Gramnegative Bakterien	20
2.8.1. Die vier häufigsten gramnegativen Bakteriengattungen der Studie	21
2.8.2. Enterobacter Spezies (spp.)	21
2.8.3. Klebsiella Spezies (spp.)	22
2.8.4. Escherichia Spezies (spp.) (E. coli)	22
2.8.5. Acinetobacter Spezies (spp.)	23
2.8.6. Weitere gramnegative Bakteriengattungen der Studie	24
2.9. Zielsetzung und Fragestellung der Studie	25
3. MATERIAL UND METHODEN	27
3.1. Patientenkollektiv	27

3.2. Material zur Erhebung des Kolonisationsstatus	27
3.3. Art der Studie und Datensatz	28
3.4. Gemessene Variablen	28
3.5. Berechnete Variablen	28
3.6. Statistische Analysen	29
4. ERGEBNISSE	30
4.1. Beschreibung der Studienpopulation	30
4.2. Erregernachweise, nach Individuen und Kohorten	31
4.3. Nachweis gramnegativer Bakterien, nach Individuen und Kohorten	32
4.4. Prävalenz gramnegativer Bakteriengattungen in Kohorte 1 und 2	33
4.5. Anzahl der nachgewiesenen gramnegativen Bakteriengattungen und relative Kolonisationsdauer im Gesamtkollektiv und nach Kohorten	34
4.6. Univariater Zusammenhang zwischen dem Risikofaktor Muttermilchpasteurisierung, weiteren Risikofaktoren und dem Auftreten von gramnegativen Bakteriengattungen, deren Anzahl und Kolonisationsdauer	35
4.7. Anteil gramnegativer Bakteriengattungen im Zeitverlauf pro Woche	36
4.8. Vorhergesagter Anteil gramnegativer Bakteriengattungen im Zeitverlauf pro Woche	37
5. DISKUSSION	38
5.1. Die Muttermilchpasteurisierung - ein potentieller Risikofaktor für eine vermehrte bakterielle gramnegative Kolonisation der Frühgeborenen	38
5.2. Einordnung der Ergebnisse in den Kontext anderer Studien	40
5.3. Limitationen	46
5.4. Schlussfolgerung und Ausblick	47
6. LITERATURVERZEICHNIS	49

7. ANHANG	63
7.1. Abbildungsverzeichnis	63
7.2. Tabellenverzeichnis	63
7.3. Aufklärungsbogen zur Ernährung mit unpasteurisierter Muttermilch bei CMV-positiver Mutter	64

Abkürzungsverzeichnis

AK	Antikörper
AAP	Amerikanische Akademie für Pädiatrie (American Academy of Pediatrics)
CDC	Center for Disease Control
CI	Confidence interval
CMV	Cytomegalievirus
CPQCC	California Perinatal Quality Care Collaborative
CRP	C-reaktives Protein
DNA	Desoxyribonukleinsäure
E. coli	Escherichia coli
EOS	Early-onset-Sepsis
ESBL	Extended Spectrum Beta-Laktamase
ESKAPE	Enterokokkus faecium, Staphylokokkus areus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumanii, Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter Spezies)-Gruppe
GIT	Gastrointestinaltrakt
HCMV	Humanes Cytomegalievirus
HMO	Humane Muttermilch-Oligosaccharide
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
I/T-Quotient	Immature/Total- Quotient
KNS	Koagulase-negative Staphylokokken
KRINKO	Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention
LOS	Late-onset-Sepsis
MM	Muttermilch
NEC	Nekrotisierende Enterokolitis
OR	Odds ratio
pCMV	Postnataler Cytomegalievirus
PCR	Polymerase chain reaction
slgA	sekretorisches IgA
SPP.	Spezies (Plural)
SSW	Schwangerschaftswoche

STIKO
WHO

Ständige Impfkommission
Weltgesundheitsorganisation

1. Zusammenfassung

Das humane Cytomegalievirus (HCMV) ist Ursache häufiger Virusinfektionen des früh- und reifgeborenen Kindes in der Neonatologie. Die Muttermilch stellt bei positiver Cytomegalievirus (CMV)-Seroprävalenz der Stillenden, einen relevanten Transmissionsvektor des Virus auf das Neugeborene dar. Resultieren kann eine postnatale CMV-Infektion, welche bei Frühgeburten mit schweren Symptomen einhergehen kann.

Die Virustransmission durch den Vektor Muttermilch kann mit Hilfe eines konventionellen Erhitzungsprozesses (Holder-Pasteurisierung) verhindert werden, dieser birgt jedoch die Beeinträchtigung protektiver und immunitätsfördernder Bestandteile der Muttermilch.

Das Frühgeborene ist aufgrund seiner Immaturität einem erhöhten Risiko frühgeburtlicher Morbiditäten, unter anderem Infektionen, Sepsen und Entzündungsreaktionen, ausgesetzt; ein protektiver Faktor ist Muttermilch.

Gramnegative Bakterien können den Ursprung schwerer neonataler Infektionen und Sepsen darstellen. Ziel der durchgeführten retrospektiven klinischen Beobachtungsstudie war es, den Einfluss der Muttermilchpasteurisierung mittels Holder-Methode bei Frühgeborenen im Hinblick auf die Kolonisation mit gramnegativen Bakterien zu untersuchen.

Die Studienpopulation besteht aus 50 Frühgeborenen mit einem Gestationsalter ≤ 29 SSW und einem Geburtsgewicht < 1500 g. Eine Unterteilung erfolgte in zwei Kohorten, Differenz war das Merkmal nicht-pasteurisierte Muttermilch versus pasteurisierte Mutter- und/oder Spendermilch. Alle Frühgeborenen befanden sich in intensivmedizinischer Behandlung des Perinatalzentrums der Universitätsklinik Köln. Wöchentlich erhobene mikrobiologische Abstrichdaten wurden im Hinblick auf das Vorhandensein gramnegativer Bakterien aufgearbeitet, ausgewertet und miteinander verglichen. 80 % ($n=40/50$) aller Frühgeburten der gesamten Studienpopulation wiesen im Beobachtungszeitraum von 14 Wochen gramnegative Bakterien auf.

Eine nicht-signifikante Differenz zugunsten einer vermehrten bakteriellen gramnegativen Kolonisation nach Verabreichung pasteurisierter Mutter- und/oder Spendermilch ist dabei zu beobachten; in Kohorte 2 (Muttermilchpasteurisierung) zeigen sich 88 % ($n=22/25$), in Kohorte 1 (keine Muttermilchpasteurisierung) 72 % ($n=18/25$) aller Frühgeborenen kolonisiert. In unserer Studie korreliert die Verabreichung pasteurisierter Muttermilch mit einem Trend zum vermehrten Auftreten gramnegativer Bakterien ($OR= 2,85$ ($p=0,168$)). Weitere Studien mit einem größeren Patientenkollektiv sind notwendig um ein statistisches Signifikanzniveau zu erreichen, die klinischen Folgen der gramnegativen Bakterienkolonisation zu detektieren und dies in Relation zum Auftreten einer möglichen postnatalen CMV-Infektion des Frühgeborenen zu setzen.

2. Einleitung

2.1. Das humane Cytomegalievirus

Das humane Cytomegalievirus, Humanes Herpesvirus Typ fünf, zählt zur Gruppe der Herpesviren (DNA-Viren).¹

Die Seroprävalenz innerhalb der Bevölkerung differiert. M. Zuhair et al. wiesen in ihrem Review auf eine - den WHO-Regionen entsprechend - globale CMV-Seroprävalenz der Allgemeinbevölkerung von 83 % hin, diese lag bei Frauen im gebärfähigen Alter bei 86 %.

Die niedrigste Seroprävalenz war mit 66 % in der europäischen Region zu dokumentieren.²

Die CMV-Infektion verläuft horizontal von Mensch zu Mensch und vertikal vor der Geburt, Medien der Übertragung sind direkter (Schleimhaut-)Kontakt und CMV-haltige Körperflüssigkeiten (Urin, Speichel, Muttermilch (Stillprozess), Sperma und Zervixsekret (Geschlechtsverkehr).¹

Die Primärinfektion des immunkompetenten Erwachsenen zeigt in >90 % der Fälle einen asymptomatischen Krankheitsverlauf.³ Diagnostisch finden diverse Nachweismethoden Einsatz: die Bestimmung von HCMV-spezifischen IgM- und IgG-Antikörpern bzw. die Bestimmung von T-Zell-Antworten gegen HCMV, der direkte Virusnachweis mittels Zellkultur sowie der Nachweis von viralen Antigenen und HCMV-DNA.⁴ Laborchemisch zeigt sich bei einer Primärinfektion mit dem Cytomegalievirus eine Serokonversion der CMV-spezifischen Antikörper von CMV-IgM zu CMV-IgG, eine geringe Avidität der CMV-IgG-Antikörper, (hoch) positive und im Verlauf abfallende CMV-IgM-Antikörper und der fehlende Nachweis von Antikörpern gegen Glykoprotein B. Die Antikörper können mittels kommerziell verfügbaren Immunassays aus Serum oder Plasma bestimmt werden.⁵

2.2. Die postnatale Cytomegalievirus-Infektion des Früh- und Reifgeborenen

Die postnatale, nach der Geburt erworbene, Cytomegalievirus-Infektion stellt eine häufige virale Infektion der ersten Lebensmonate dar.⁶ Bei positiver maternaler CMV-Seroprävalenz erfolgt die Ausscheidung des Virus über den Speichel, Urin sowie Geburtskanal (perinatal) als Schmier- und Tröpfcheninfektion, begleitend ist eine Transmission über die Muttermilch möglich.^{3,7-11} Muttermilch definiert die häufigste Infektionsquelle eines Kindes während des ersten Lebensjahres.¹² CMV-seropositive Mütter zeigten in einer Studie von K. Hamprecht et al. in 96 % der Fälle eine Reaktivierung des Cytomegalievirus während des Stillprozesses, die kumulativen Transmissionsrate auf den Säugling lag hier bei 37 %.¹³ Die Inzidenz einer postnatalen durch die Muttermilch erworbenen CMV-Infektion differiert in der Literatur zwischen 5,7 – 60 %, abhängig vom Studiendesign und der möglichen Handhabung einer CMV-Inaktivierung.¹⁴⁻¹⁸

Eine Varianz ist ebenfalls in der Inkubationszeit der postnatalen CMV-Infektion zu beobachten, diese lag zwischen vier und zwölf Wochen.¹⁹

Das CMV-infizierte reifgeborene Kind zeigt sich in der Regel durch den Schutz der maternalen Antikörper (Transfer nach der 28. SSW) sowie durch protektive Bestandteile der Muttermilch asymptomatisch.²⁰ Die CMV-Infektion des Frühgeborenen hingegen kann mit schweren Symptomen einhergehen. Risikofaktoren sind niedrige IgG-Titer, im Falle der Übertragung via Muttermilch ein früher Transmissionszeitpunkt sowie ein geringes Gestationsalter und -Gewicht.²¹⁻²³

48 % (13/27) aller postnatal CMV-infizierten Frühgeborenen (Gestationsalter <32 SSW) weisen eine milde Klinik und 22 % (6/27) eine schwere Symptomatik auf. Dies zeigte eine prospektive Kohorten-Studie von P. Bimboese et al. Die CMV-Transmissionsrate via Muttermilch lag in dieser Studie bei 47 % und ist damit als hoch einzustufen.²⁴ Transmissionsraten sowie Inzidenzangaben bezüglich Klinik und Langzeitfolgen einer postnatalen CMV-Infektion bei Frühgeborenen unterscheiden sich von Studie zu Studie.^{24,25} Klinisch kann sich das Bild eines sepsis like syndroms einhergehend mit Apnoe, Bradykardie, grauem Hautkolorit, Hepatosplenomegalie, Hepatitis, Ikterus, distendierendem Abdomen, Lymphadenopathien, makulopapulösem Exanthem und Laborpathologien in Form von erhöhten Leberenzymen, Thrombozytopenien und Neutropenien zeigen.^{17,26,27} Ferner werden diverse Langzeitfolgen mit einer pCMV-Infektion in Verbindung gebracht.

A. Stark et al. beleuchteten in ihrem Review den derzeitigen Konsens möglicher pCMV Langzeitfolgen, Frühgeborene erfahren ein erhöhtes Risiko für neurologische und pulmonologische Komplikationen.²⁵

Die Diagnostik erfolgt nach Ausschluss einer konnatalen CMV-Infektion des Neugeborenen, nach den ersten 21 Lebenstagen. Ein Screening auf CMV-DNA mittels PCR kann aus den Medien Urin, Blut, Liquor, Speichel oder Atemsekret (bronchoalveolären Lavage) durchgeführt werden.^{3,28}

Weisen die Frühgeborenen eine schwere pCMV-Infektion mit Sepsis-ähnlichen Symptomen und/oder Organmanifestationen (z.B. Hepatitis, Pneumonitis) auf, sollte, neben einer symptomatischen Therapie, eine antivirale Therapie erwogen werden. Leitlinien sind nicht vorhanden. Die Therapie befindet sich im Off-label-Bereich. Der Therapieentschluss sollte interdisziplinär und interindividuell gefasst werden.⁶ Ganciclovir (6 mg/kg 2 x/Tag i.v.) oder Valganciclovir (16 mg/kg 2 x/Tag i.v.) finden hier Anwendung.^{6,29,30}

2.3. Präventionsmaßen einer Cytomegalievirus-Transmission durch den Vektor Muttermilch

Die Muttermilch stellt den häufigsten Transmissionsvektor einer postnatalen Cytomegalievirus-Infektion dar; diese kann bei Frühgeborenen mit schweren Symptomen einhergehen (siehe Kapitel 2.2. Die postnatale Cytomegalievirus-Infektion des Früh- und Reifgeborenen).

Als Präventionsmaßnahme der Transmission gelten unter anderem Erhitzungsprozesse der Muttermilch, welche zur Eliminierung des Virus beitragen.

2.3.1. Pasteurisierung der Muttermilch mittels Holder-Methode

Der konventionelle Pasteurisierungsprozess der Muttermilch mittels Holder-Methode zeichnet sich durch eine im Wasserbad durchgeführte, 30-minütige Erwärmung der Muttermilch bei 63 +/- 0,5 Grad Celsius aus.³¹

Die Holder-Pasteurisierung bietet in jedem Laktationsstadium eine komplette Inaktivierung des Cytomegalievirus, doch auch protektive und immunitätsfördernde Komponenten der Muttermilch werden durch den Erhitzungsprozess verändert.^{14,32}

Eine Reduktion relevanter Nährstoffe, sowie endokrinologischer und immunologischer Bestandteile wird hervorgerufen.^{14,18,33–35}

Im „Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition“ wurden die durch den Pasteurisierungsprozess mittels Holder-Methode hervorgerufenen Änderungen der Muttermilchkompositionen aus diversen Studien zusammengetragen. Resultat des Pasteurisierungsprozesses sind Beeinträchtigungen und/oder geringere Konzentrationen an Lysozym, Lactoferrin, Wachstumsfaktoren, Hormonen, Lipase, Leukozyten und Immunglobulinen (IgM, IgG, IgA, sIgA). Zytokine variieren in ihren Anteilen. Humane Muttermilch-Oligosaccharide (HMOs), der epidermale Wachstumsfaktor und weitere Nährstoffe der Muttermilch hingegen werden nicht beeinträchtigt.³⁶

Ferner werden potenziell probiotische Bakterien durch den Pasteurisierungsprozess eliminiert. Sporen-bildende Bakterien wie *Bacillus cereus* können überleben.³⁴ Eine antibakterielle Aktivität der Muttermilch gegen *Escherichia coli* bleibt jedoch bestehen.³⁶ L. Christen et al. dokumentierten in ihrer Studie zusätzlich eine signifikant höhere bakterielle Wachstumsrate in mittels Holder-Methode pasteurisierter Muttermilch im Vergleich zu unbehandelter Muttermilch.³⁷ Grundlage ist die Zerstörung des bakteriellen Gleichgewichtes der Muttermilch. Durch den Pasteurisierungsprozess erworbene, mögliche Kontaminationserreger können sich schneller vermehren.³⁴

2.3.2. Empfehlungen zum Umgang mit Muttermilch bei Frühgeborenen von CMV-seropositiven Müttern (zum Zeitpunkt der Studie)

Bei fehlenden Leitlinien zum Vorgehen der Ernährung des frühgeborenen Kindes einer CMVseropositiven Mutter erfolgte im Klinikalltag zum Zeitpunkt unserer Studie eine Orientierung an den Empfehlungen der Ernährungskommission der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde & K. Zwiauer aus dem Jahre 2008. Diese stützen sich auf die empfohlene Vorgehensweise des California Perinatal Quality Care Collaborative (CPQCC) (2008)³⁸, welche auf der damaligen, wissenschaftlichen Datenlage fußt. Die Empfehlung richtet sich an Frühgeborene (Gestationsalter <32+ 0 SSW, Geburtsgewicht <1500 g) von CMV-seropositiven Müttern und Frühgeborene von Müttern mit unbekanntem CMVserostatus. Das Kolostrum und die Muttermilch im Folgenden sollen bei -20 Grad für 12 bis

24 Stunden eingefroren und anschließend verfüttert werden. Das Risiko einer pCMV-Infektion des Frühgeborenen soll so minimiert werden. Eine komplette Eliminierung des Cytomegalievirus wird mit dieser Methode nicht erzielt.³⁹ Das Einfrieren der Muttermilch vor Verabreichung soll bis zur Vollendung der 32. Gestationswoche erfolgen.⁴⁰

Das CPQCC spricht sich neben der Nutzung von eingefrorener Muttermilch, für die alternative Verwendung pasteurisierter Muttermilch aus.³⁸

Im März 2012 veröffentlichte die American Academy of pediatrics (AAP) eine neue Bekundung zum Umgang mit Muttermilch bei Frühgeborenen (Geburtsgewicht <1500 g) von CMV-seropositiven Müttern. Bei, zum damaligen Zeitpunkt, fehlendem Hinweis auf mit einer pCMV-Infektion assoziierten neurologischen Langzeitfolgen¹⁷, einer inkompletten Eliminierung des Virus durch das Einfrieren der Muttermilch³⁹ und einer Beschädigung protektiver Bestandteile durch den Erhitzungsprozess (siehe Kapitel 2.3.1. Pasteurisierung der Muttermilch mittels Holder-Methode), wurde die Empfehlung zur Verfütterung unbehandelter Muttermilch bei Frühgeborenen von CMV-seropositiven Müttern ausgesprochen.

Die AAP verwies auf die Vorteile unbehandelter Muttermilch für das frühgeborene Kind.⁴¹

2.3.3. Empfehlung der neonatologischen Abteilung der Universitätsklinik Köln bei Frühgeborenen (Gestationsalter \leq 28 SSW, Geburtsgewicht <1500 g) zur Prävention einer postnatalen Cytomegalievirus-Infektion (zum Zeitpunkt der Studie)

In der neonatologischen Abteilung der Universitätsklinik Köln wurde innerhalb der ersten sechs Monate des Studienzeitraumes ein Vorgehen mit Anlehnung an die Empfehlung der AAP (siehe Kapitel 2.3.2. Empfehlungen zum Umgang mit Muttermilch bei Frühgeborenen von CMV-seropositiven Müttern (zum Zeitpunkt der Studie)) verfolgt. Frühgeborene mit einem Gestationsalter \leq 28 SSW, einem Geburtsgewicht <1500 g und positiven CMVserostatus

(IgG-seropositiv) der Mutter, erhielten in einem sechsmonatigen Zeitraum (08.08.2012 bis 08.02.2013) unpasteurisierte Muttermilch. Dieser Zeitraum umschließt die Frühgeborenen der ersten Kohorte unserer Studie. Das Vorgehen definiert den damaligen Standard der neonatologischen Abteilung der Universitätsklinik Köln.

Nachdem 2012 mehrere Fälle schwerer CMV-Infektionen bei extrem unreifen Frühgeborenen auftraten, erfolgte am 09.02.2013 eine Umstellung des oben erwähnten Vorgehens, dem Beginn des Zeitraumes der 2. Kohorte. Die Pasteurisierung der Muttermilch bei Frühgeborenen, den oben genannten Kriterien entsprechend, definierte nun das empfohlene Vorgehen in der Klinik.

Bei positivem CMV-Serostatus der Mutter wurden die Eltern hinsichtlich des CMV-Transmissionsrisikos über die Muttermilch mit der eventuellen Folge einer postnatalen Cytomegalievirus-Infektion aufgeklärt. Mögliche Kurz- und Langzeitsymptome, sowie Folgen bei bestehender Frühgeburt wurden dargelegt.

Die praktizierte Präventionsmaßnahme in der Klinik war die Holder-Pasteurisierung der Muttermilch (siehe Kapitel 2.3.1. Pasteurisierung der Muttermilch mittels Holder-Methode). Diese Methode wurde den Eltern, mit Beleuchtung der Vor- und Nachteile, durch das ärztliche Personal mittels eines Vordrucks erläutert (siehe Anhang).

Wurde die Pasteurisierung bei CMV-positivem-Serostatus der Mutter abgelehnt und die Ernährung mit unbehandelter Muttermilch bevorzugt, war eine Unterschrift seitens der Eltern erforderlich. Eine Pasteurisierung des Kolostrums wurde nicht durchgeführt, dieses wurde immer unbehandelt verabreicht.

2.4. Zusammensetzung und Eigenschaften der nicht-pasteurisierten Muttermilch sowie deren Einfluss auf die Entstehung des kindlichen gastrointestinalen Mikrobioms

Die Muttermilch stellt einen möglichen Transmissionsvektor für pathogene Viren - wie das Cytomegalievirus - und für schädliche Bakterien dar. Die Vorteile der Ernährung des reif- sowie des frühgeborenen Kindes mit Muttermilch sind jedoch zahlreich.⁴²⁻⁴⁴

Muttermilch werden positive Effekte auf die Entwicklung und Reifung des Immunsystems zugeschrieben, das Risiko frühkindlicher Infektionen und das Auftreten bestimmter chronischer Erkrankungen (z.B. Diabetes Mellitus, Fettleibigkeit) werden minimiert.⁴⁵⁻⁴⁷

Kohlenhydrate, Fette, Proteine, Mineralstoffe, Vitamine, Wachstumsfaktoren, Immunglobuline sowie eine Vielzahl an vorteilhaften, potenziell probiotischen Bakterien sind Bestandteile der Muttermilch.⁴⁸⁻⁵³

Die bakterielle Komposition der Muttermilch, sprich das Mikrobiom der Muttermilch, stellt unter anderem einen Ausgangspunkt für die Entstehung des kindlichen gastrointestinalen

Mikrobioms dar.^{54,55} Diese mikrobielle Grundlage übt einen Einfluss auf die weitere bakterielle Kolonisation des Gastrointestinaltraktes (GIT) aus.⁵⁶

Laut K. E. Lyons et al. differieren die dominierenden Bakterien-Spezies des Mikrobioms der Muttermilch je nach Studie. Mit Verweis auf eine Studie von Chen et al. stellen Staphylokokken, Streptokokken, Enterokokken, Enhydrobakter und Rothia die fünf häufigsten Bakteriengattungen dar.^{50,57} Ursprung der Zusammensetzung des Mikrobioms der Muttermilch bergen unter anderem die bakterielle Kolonisation der Mundhöhle und Haut von Mutter und Kind, passend zum vermehrten Auftreten der von Chen et al. gelisteten Staphylokokken- und Streptokokken-Gattungen. Diese stellen typische Vertreter der Haut- sowie der oralen Schleimhautflora dar und wurden ebenfalls in anderen Studien detektiert und aufgeführt.^{58,59}

Eine weitere Bakterienquelle der Muttermilch stellt der maternale Gastrointestinaltrakt dar. Bakterien der mütterlichen Darmflora gelangen über einen entero-mammären Weg in die Brustdrüsen und werden so Bestandteil des Muttermilchmikrobioms.⁶⁰ In der Literatur wurde auf den Transfer von Probiotika, wie z.B. Bifidobakterien über den entero-mammären Weg, hingewiesen.^{61,62} Protektive Bifidobakterien repräsentieren 90 % der Standardflora des Gastrointestinaltraktes. Ihr Wachstum wird durch HMOs gefördert, während des Stillprozesses wächst der Reichtum an Bifidobakterien stetig weiter.⁶³

Bifidobakterium und Lactobacillus sind die dominanten Bakteriengattungen des gastrointestinalen Mikrobioms eines mit Muttermilch ernährten Kindes.⁶⁴

Die Ernährung des neugeborenen Kindes mit Formulanahrung hingegen führt zu einer vermehrten Kolonisation des GITs mit weniger erwünschten Bakterien wie z.B. Clostridium difficile.⁶⁵

2.5. Die Muttermilch für Frühgeborene

Die vielfältige Zusammensetzung der Muttermilch wirkt durch ihre gesundheitsfördernden Eigenschaften der Unreife eines frühgeborenen Kindes schützend entgegen, sodass auch bei einer Frühgeburt, wie auch beim reifgeborenen Säugling, die Ernährung mit Muttermilch empfohlen wird.⁴³

Die Anteile der Muttermilchkomponenten eines Frühgeborenen unterscheiden sich von denen eines reifgeborenen Kindes.⁵⁰

In der Muttermilch des Frühchens sind höhere Konzentrationen an Proteinen, Fetten, freien Aminosäuren, immunmodulierenden Faktoren wie dem epidermalen Wachstumsfaktor, sekretorisches IgA (sIgA), HMO sowie Natrium, Zink und Kupfer zu finden.

Lactoferrin und Lysozyme sind ebenfalls in den ersten Lebenstagen in erhöhter Konzentration vorhanden.^{50,66-72} Muttermilch ist für frühe Frühgeburten häufig die einzige Quelle des Erwerbs von Immunglobulinen, aufgrund des fehlenden transplazentaren Transfers dieser im letzten Trimenon der Schwangerschaft.⁷³

Immunmodulierende Effekte der Muttermilch im Sinne einer Protektion der bereits bestehenden Immunität und einer Förderung der Immunitätsreife führen zur Risikoreduktion bestimmter, mit der Frühgeburt assoziierter, Erkrankungen.⁷⁴

Häufige Morbiditäten der Frühgeborenen sind Erkrankungen des atopischen Formenkreises, die Bronchopulmonale Dysplasie, die Nekrotisierende Enterocolitis (NEC) sowie die Retinopathie der Frühgeburt.

E. D. Lewis et al. verwiesen in ihrem Artikel auf eine Inzidenzreduktion dieser Erkrankungen durch die Ernährung des Frühgeborenen mit Mutter- oder Spendermilch.⁷⁴⁻⁸¹

Frühgeburtliche Infektionen, wie z.B. infektionsbedingte Diarrhoen, Infektionen des oberen Respirationstraktes, Late-onset-Sepsen (LOS) und Harnwegsinfektionen werden ebenfalls durch die Gabe von Muttermilch reduziert.⁸² Ferner ist eine Abnahme der pathogenen fäkalen Bakterienflora des Frühgeborenen zu beobachten.⁸³

Begleitend verwies die AAP auf eine verbesserte und schnellere enterale Nahrungsaufnahme, sowie eine verbesserte neurologische Entwicklung und ein zügigeres Wachstum des frühgeborenen Kindes.⁴¹

2.6. Das Mikrobiom des Frühgeborenen

Das Mikrobiom, die Gesamtheit aller Bakterien, Viren und Pilze umfassend, welche den menschlichen Körper kolonisieren⁸⁴, beeinflusst die Gesundheit eines jeden Individuums ein Leben lang.⁸⁵

Den größten Anteil des menschlichen Mikrobioms repräsentiert der GIT.⁸⁶ Einen relevanten Einflussfaktor und somit eine Grundlage für die Entstehung des intestinalen Mikrobioms stellt die Muttermilch dar.⁵⁵

Die Ernährung des frühgeborenen Kindes mit Muttermilch gewährleistet einen stetigen Transfer von Bakterien zwischen Mutter und Kind.⁸⁷

Eine große Variabilität an Mikroorganismen gilt als protektiv. Sie verhindert die Überpopulation einzelner pathogener Organismen, welche in einer negativ assoziierten Dysbiose mit dem erhöhten Risiko von Krankheiten resultiert.⁸⁸

Im Vergleich zu reifen Neugeborenen weisen Frühgeborene eine geringere Variabilität des gesamten Mikrobioms auf.⁸⁹ Olm et al. beschrieben in ihrer Studie die gleichen bakteriellen Populationen bei Frühgeborenen bezogen auf das Mikrobiom der Haut, des Mundraumes, sowie des GIT; Resultat ist eine geringere Diversität der mikrobiellen Gesamtheit.⁹⁰

Eine Geburt des frühgeborenen Kindes mittels Kaiserschnitt^{91,92}, eine Ernährung mit Formulanahrung⁶⁵, eine antibiotische Behandlung der Mutter während der Schwangerschaft und des Kindes nach der Geburt^{92,93} sowie ein Krankenhausaufenthalt auf einer neonatologischen Intensivstation mit resultierenden Behandlungsinterventionen⁹⁴ - häufige

Begleitumstände, die das Leben eines frühgeborenen Kindes prägen - bergen die Risiken einer reduzierten bakteriellen Vielfalt, das Auftreten von pathogenen Organismen und der Entstehung einer Dysbiose.⁹⁵

Das intestinale Mikrobiom ist Bestandteil metabolischer, nutritiver, immunologischer, sowie protektiver Prozesse und ist entscheidende Grundlage einer intakten Immunabwehr.⁹⁶ Frühgeborene weisen auch hier eine geringere mikrobielle und somit bakterielle Vielfalt auf, eine Instabilität resultiert. Es zeigen sich vermehrt pathogene Erreger wie Proteobakterien und Enterobacteriaceae, gesundheitsfördernde Bakterien (z.B. Bifidobakterien) sind in reduziertem Umfang vorhanden.⁹⁷

2.7. Bakterielle Infektionen des Frühgeborenen

Bakterielle Infektionen und Sepsen des Frühgeborenen sind ein häufiges Akutgeschehen post partum; Langzeitfolgen gelten als mögliches Resultat.⁹⁸ Klinisch kann sich das Bild einer Early-onset-Sepsis (EOS) zeigen. Symptome treten hier primär in den ersten 24 Stunden des Lebens auf, sind jedoch bis zu 72 Stunden nach Geburt möglich. Eine B-Streptokokkeninfektion im Zeitraum von sieben Tagen nach Entbindung gilt ebenfalls als EOS. Differenziert wird eine Late-onset-Sepsis (LOS), welche nach oben genannten Zeitangaben auftritt und auf der Grundlage eines anderen Erregerspektrums basiert.⁹⁹

Des Weiteren erlangt die nosokomiale Sepsis einen bedeutenden Stellenwert in der Neonatologie. Per Definition gelten Hospitalkeime, Erreger des Patienten oder der Angehörigen meist als Ursprung dieser Infektion. Eintrittspforten können Behandlungsmaßnahmen, wie z.B. die Anlage eines Katheters, darstellen. Definitionsgemäß zeigt sich drei Tage nach Krankenseintritt eine entsprechende Symptomatik.^{100,101} Das AWMF-Leitlinien-Register beschreibt in den Leitlinien zu „bakteriellen Infektionen bei Neugeborenen“ auf der Grundlage des Neo-KISS (Surveillance System nosokomialer Infektionen für Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht <1500 g auf der neonatologischen Intensivstation), welches sich auf die Sepsis-Kriterien des „Center for Disease Control“ (CDC) bezieht, drei Kategorien der nosokomialen Sepsis. Je nach Kategorie müssen Kriterien hinsichtlich Erregernachweis und Klinik des Frühgeborenen erfüllt sein. Unterschieden wird zwischen einer klinischen Sepsis ohne Erregernachweis, einer Sepsis mit Erregernachweis (nicht-Koagulase-negative Staphylokokken) und einer mikrobiologisch bestätigten Sepsis mit Koagulase-negativen Staphylokokken (KNS).¹⁰²⁻¹⁰⁴ Als Ursache einer EOS und einer LOS werden diverse Bakterien bei Frühgeborenen beobachtet. Das Erregerspektrum ist mit den perinatalen Gegebenheiten (invasive medizinische Prozeduren, Antibiotika-Behandlungen von Kind und/oder Mutter, vorzeitigem Blasensprung) und dem Gestationsalter assoziiert. Primärer Ursprung bakterieller Variationen einer EOS stellt die Kolonisation der maternalen Vagina dar. Die zwei häufigsten Erreger einer EOS des Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht <1500

g sind, in absteigender Reihenfolge, E. coli und Streptokokken der Gruppe B. Eine geringere Inzidenz zeigen Haemophilus influenzae, KNS, Listerien, Candida, Enterobakterien und Anaerobier (absteigende Reihenfolge).^{105,106} Enterobacter spp., Klebsiella spp. Pseudomonas spp. oder Ampicillin-resistenter E. coli sind bei Frühgeborenen, deren Mütter vor der Geburt über einen Zeitraum von mindestens zwei Tagen eine antibiotische Therapie erhielten, nachzuweisen.¹⁰⁷ Das Erregerspektrum der LOS wird geprägt durch medizinische Interventionen, wie z.B. die Nutzung von Beatmungstuben. Bei Frühgeborenen sind primär KNS, Staphylokokkus aureus und Enterobakterien mittels bakteriologischer Diagnostik nachzuweisen. 20 % aller LOS bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht <1500 g werden durch gramnegative Bakterien verursacht.^{108,109} Nicht bakterielle Erreger im Sinne von Virus- und Pilzinfektion zeigen sich nur vereinzelt.^{110–113} Risiken und Ursachen bakterieller Infektionen des Neu-/Frühgeborenen stellen klinische Symptome einer maternalen Infektion (Körpertemperatur >38,0 Grad Celsius axillär, CRP >20 mg/dl), ein vorzeitiger Blasensprung (>18 Stunden vor Geburt) und verfrühte Wehen dar.^{114–116} Ferner birgt die Unreife des Frühgeborenen, mit Bezug auf die Immunität, einen wesentlichen Risikofaktor.⁹⁸

Klinisch präsentiert das Neugeborene unspezifische Symptome. Auf eine Sepsis hinweisend können eine Temperaturinstabilität sowie eine steigende zentral-periphere Temperaturdifferenz sein. Veränderungen des Hautkolorits (grün-ikterisch, blass-grau), Pathologien des Kreislaufes (Tachykardie, Hypotonie, Zentralisierung) und der Atmung (Apnoe, progredienter Sauerstoffbedarf, Sättigungsabfälle) sowie neurologische Symptome (muskuläre Apathie, Hypotonie) sind möglich. Neurologische und respiratorische Symptomkomplexe mit begleitenden abdominellen Pathologien und Hyperglykämien stehen im Vordergrund einer bakteriellen Infektion des Frühgeborenen. Folgen können ein septischer Schock sowie eine bakterielle Meningitis darstellen.^{102,103} Diagnostisch sind Laboruntersuchungen bei Verdacht auf eine Infektion essenziell, vor allem mit zunehmender Unreife des Neugeborenen. In den Leitlinien zu „bakteriellen Infektionen bei Neugeborenen“ werden die Bestimmung des CRPs, von Interleukin-6 oder Interleukin-8, und eine Abnahme des Differenzialblutbildes (I/T-Quotient) empfohlen.^{102,117–121} Der Erregernachweis mittels bakteriologischer Diagnostik gilt als Grundlage des therapeutischen Managements. Die konventionelle Erregeranzucht mit folgendem Antibiotogramm findet, laut Leitlinien der „bakteriellen Infektionen bei Neugeborenen“, in der Neonatologie bevorzugt Verwendung.¹⁰² Empfohlen wird die Abnahme einer aeroben Blutkultur des betroffenen Früh-/Reifgeborenen vor Beginn und/oder Umstellung der antibiotischen Behandlung.^{102,122,123} Des Weiteren verweisen die Leitlinien auf ein wöchentliches Screening zur Status-Erhebung der Kolonisation bei intensivmedizinisch behandelten Früh- und Reifgeborenen. Klinisch sollte eine Differenzierung zwischen Kolonisation und Infektion erfolgen. Dies sind Empfehlungen der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO).^{102,124} Bei klinischer Indikation kann ergänzend eine Urindiagnostik oder Lumbalpunktion des Kindes durchgeführt

werden.¹⁰² Weist das Neugeborene eine Symptomatik auf und besteht der Verdacht einer bakteriellen Infektion, so sollte, nach erfolgter Erreger-Diagnostik, schnellstmöglich eine empirische Antibiotika-Therapie eingeleitet werden. Die Epidemiologie der neonatologischen Intensivstation (multiresistente Erregerkolonisation der Neugeborenen, Erreger- und Resistenzstatistik) sowie die Anamnese des betroffenen Kindes sollten als Grundlage der kalkulierten, antibiotischen Therapie fungieren und regelmäßig überprüft sowie angepasst werden. Eine kombinierte, antibiotische Therapie kann ein breites Erregerspektrum erfassen, verbindliche Vorgaben zum Therapieregime sind jedoch nicht vorhanden. Therapieumstellungen und ggf. Deeskalationen sollten bei vorhandenem Resistogramm eines Sepsis- oder Meningitiserregers erfolgen. Neben der antibiotischen Therapie sollte begleitend eine supportive symptomatische Therapie erfolgen. Als Präventionsmaßnahme einer LOS wird auch in den Leitlinien unter anderem auf das Stillen des Neugeborenen zur Reduktion der Infektionsinzidenz verwiesen.¹⁰²

2.8. Gramnegative Bakterien

Bakterien sind Bestandteil der physiologischen Kolonisation des menschlichen Körpers, stellen jedoch auch häufig die Ursache von Infektionserkrankungen dar. Ein wichtiger Bestandteil in der medizinischen Diagnostik zur Differenzierung der verschiedenen Bakterien ist die Gramfärbung. Es gelingt eine Einteilung in grampositive, blau gefärbte Bakterien, und gramnegative, unter dem Lichtmikroskop rot erscheinende, Bakterien. Entscheidend für die Differenzierung ist die Peptidoglykanschicht der Zellhülle.¹²⁵

Differenzen weisen gramnegative und grampositive Bakterien jedoch nicht nur im Färbeverhalten, sondern auch hinsichtlich ihrer Virulenzeigenschaften und Antibiotikaempfindlichkeit auf.¹²⁶

Gramnegative Bakterien zeichnen sich durch einen mehrschichtigen Aufbau der Zellhülle aus. Die Peptidoglykanschicht besteht aus einer dünnen, oligomolekularen Schicht, welche von einer äußeren Membran umgeben ist. Letztere ist bei grampositiven Bakterien, inklusive ihrer Funktionen, nicht vorhanden.

Die äußere Membran der gramnegativen Bakterien setzt sich aus einer Doppelschicht zusammen. Phospholipide bilden den inneren Anteil der Membran. Die äußere Schicht besteht aus Lipopolysacchariden. Hier werden, von außen nach innen, drei makromolekulare Anteile differenziert: O-Antigene, Kernpolysaccharide und das Lipid A, auch Endotoxin genannt.

Lipopolysaccharide besitzen die Eigenschaft zur Aktivierung der Gerinnung und der Fibrinolyse, zur Aktivierung des Bradykinin- sowie des Komplementsystems. Klinische Folgen sind eine Verbrauchskoagulopathie, Vasodilatation und Entzündungsreaktion. Fieber und die Akute-Phase-Reaktion können durch die Stimulation von Makrophagen resultieren. Möglicher Ausgang ist ein septischer Schock. Weitere Bestandteile der äußeren Membran stellen Porine,

Proteine mit Porenfunktion, welche bedeutend für die selektive Permeabilität der Membran sind und Proteine sowie Lipoproteine dar. Letztere bilden Brückenstrukturen zwischen der Peptidoglykanschicht und der äußeren Membran. Auch sie können eine Aktivierung des Immunsystems induzieren.¹²⁶

Eine durch gramnegative Bakterien angeführte Dysbiose bei Frühgeborenen gilt als Risikofaktor intestinaler Erkrankungen.¹²⁷

2.8.1. Die vier häufigsten gramnegativen Bakteriengattungen der Studie

Erwähnung finden hier die vier häufigsten gramnegativen Bakteriengattungen, welche innerhalb des Studienzeitraumes im Gesamtkollektiv beobachtet werden konnten. Inzidenzangaben zu den jeweiligen Bakteriengattungen finden sich im Ergebnisteil (siehe Kapitel 4. Ergebnisse).

2.8.2. Enterobacter Spezies (spp.)

Die Gattung Enterobacter wird zur Familie der Enterobakterien gezählt. Enterobakterien umfassen diverse Gattungen gramnegativer pathogener Erreger.

Eine klinische Differenzierung erfolgt in fakultativ und obligat pathogene Bakteriengattungen. Viele Enterobakterien-Gattungen sind Bestandteil der physiologischen Darmflora und gelten somit als fakultativ pathogen. Pathogene Eigenschaften erlangen sie nur, wenn eine Delokalisation stattfindet. Nicht zur physiologischen Darmflora gehörende Enterobakterien gelten als obligat pathogen. Sie können Enteritiden und folgend systemische Infektionen hervorrufen.¹²⁸

Die Gattung Enterobacter gilt als fakultativ pathogen. Ihr Habitat ist die menschliche Darmflora, ebenso wie das Wasser, die Erde und Pflanzen.^{128,129}

Enterobacter spp. sind Bestandteil der ESKAPE-Gruppe (Enterokokkus faecium, Staphylokokkus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acintebacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter Spezies). Diese gelten als führende Erreger resistenter nosokomialer Infektionen, welche primär auf den Intensivstationen vorzufinden sind. Vorrangig immuninkompetente Patienten, wie z.B. Früh- und Reifgeborene, mit multiplen Komorbiditäten und langer Liegedauer sind betroffen.¹³⁰ Häufig diagnostizierte Spezies der Gattung Enterobacter im Rahmen nosokomialer Infektionen sind Enterobacter cloacea und Enterobacter aerogenes. Das klinische Spektrum der nosokomialen Infektionen zeigt sich breit. Bakteriämien, Infektionen der unteren Atemwege, Harnwegs-, Haut- und Weichteilinfektionen, intraabdominelle Infektionen, septische Arthritiden, Osteomyelitiden sowie Endokarditiden können auftreten.^{128,131,132} Die Krankheitsbilder einer Sepsis, Meningitis und NEC bei Frühgeborenen können häufig durch die Spezies Cronobacter (Enterobacter) sakazakii beobachtet werden. Kontaminierte Säuglingsnahrung kann zur Übertragung und folgender

Infektion führen.¹²⁸ Die antibiotische Therapie nosokomialer Enterobacter-Infektion zeigt sich erschwert. Die meisten Enterobacter spp. weisen eine breite Resistenz gegen Penicilline, Chinolone und Cephalosporine der dritten Generation auf, welche auf vorangegangenen Therapien und Resistenzverhalten infizierten Patienten begründet liegen. Effektive Verwendung finden Cephalosporine der vierten Generation, Carbapeneme und Aminoglykoside.¹³⁰

2.8.3. Klebsiella Spezies (spp.)

Bakterien der Gattung Klebsiella sind ebenfalls der Familie der Enterobakterien zugehörig und somit als gramnegative Stäbchen zu klassifizieren. Wasser, Erde und Pflanzen sind auch hier Habitat der Bakterien. Ferner gelten Sie als Bestandteil des physiologischen Darmmikrobioms und besitzen fakultativ pathogene Eigenschaften. Klebsiella pneumoniae gilt als die relevanteste Spezies dieser Gattung. Ein häufiges Krankheitsbild stellt die Pneumonie dar. Primär immuninkompetente Patienten sind risikobehaftet. Ambulant erworbene oder nosokomial Formen sind möglich. Weitere Klebsiella pneumoniae-assoziierte Krankheitsbilder sind Exazerbationen chronischer Bronchitiden, Harnwegs- und Weichteilinfektionen bis hin zur Sepsis. Als Quelle können durch das Krankenhauspersonal kontaminierte Materialien sowie pflanzliche Lebensmittel in Betracht gezogen werden.^{126,128} In einer Studie von Y. Qing Lee et al., durchgeführt auf einer neonatologischen Intensivstation, wurde über Ausbrüche multi-drug-resistenter Bakterien bei Frühgeborenen berichtet. ESBL-produzierende (Extended Spectrum Beta-Laktamase) Klebsiella pneumoniae, ein multiresistenter und schwer zu therapierender Stamm, stellte in der Studie die dominierende Spezies dar.^{128,133} Y. Chen et al. publizierten in ihrer Studie ebenfalls den Nachweis von Klebsiella pneumoniae als dominanteste Spezies bei Frühgeborenen. Weitere in der Studie isolierte Spezies der Klebsiellen waren K. grimontii und K. michiganensis. Diese aus dem Darm der Frühgeborenen gewonnenen gramnegativen Bakterien zeigten ein Resistenzverhalten gegenüber Makrophagen und somit eine Standhaftigkeit gegenüber dem Immunsystem.¹³⁴ Klebsiella spp. besitzen, neben häufigen Antibiotika-Resistenzen, diverse Virulenzfaktoren. Eine übermäßige Kolonisation des Darms mit der Gattung Klebsiella beim Frühgeborenen, ist mit dem Auftreten einer LOS, einer nosokomialen Infektion sowie einer NEC assoziiert.^{134,135}

2.8.4. Escherichia Spezies (spp.) (E. coli)

Die gramnegative Bakteriengattung E. coli ist ebenfalls der Familie der Enterobakterien zugehörig. Die Gattung differenziert zwischen obligat pathogenen und fakultativ pathogenen Stämmen, welche Bestandteil der physiologischen Darmflora sind. Insgesamt werden fünf Pathovaren klassifiziert.

Fakultativ pathogene E. coli-Stämme können extraintestinale Infektionen als Opportunisten hervorrufen, Voraussetzung hierfür sind spezifische Pathogenitätsfaktoren (z.B. P-Fimbrien).

Entzündungen des Bauchraumes (Appendizitis, Peritonitis, Cholezystitis/Cholangitis), Wund- und Harnwegsinfektionen sowie nosokomiale Pneumonien können die Folge sein. Sepsen und Meningitiden werden bei Neugeborenen am häufigsten durch *E. Coli* verursacht.¹²⁸

D. D. Flannery et. al. zeigten in ihrer Studie *E. coli* als häufigsten Erreger einer EOS bei sehr frühen Frühgeburten und Frühgeburten an der Grenze zur Lebensfähigkeit; Mortalität und Morbidität waren dabei, im Vergleich zu nicht infizierten Frühgeburten, erhöht.¹³⁶

Obligat pathogene *E. coli*-Stämme sind nicht Bestandteil der physiologischen Darmflora. Eine Übertragung erfolgt durch kontaminierte Nahrungsmittel oder Schmierinfektionen, das Resultat sind Enteritiden mit Diarrhoen.

Symptomatische Therapien werden empfohlen und Antibiotika nur in Ausnahmefällen verabreicht. Verbesserte Hygienestandards gelten als effektive Präventionsmaßnahmen.¹²⁸ *E. coli*, sowie weitere gramnegative Bakteriengattungen zeigen eine progrediente Resistenz gegen Ampicillin und seinen Derivaten, Piperacillin und Mezlocillin, begleitend können Aminoglykosid-Resistenzen auftreten.^{137,138}

2.8.5. Acinetobacter Spezies (spp.)

Die Gattung *Acinetobacter* sind zugehörig zur Familie der Moraxellaceae. Die Spezies zeigen sich omnipräsent, ihr Nachweis ist im Wasser, in der Erde, aus Nahrungsmitteln, tierischen Ausscheidungen sowie in Kliniken möglich. Hier sind sie häufig als Kolonist auf der Haut des Krankenhauspersonals zu finden, eine Kontamination medizinischer Materialien sowie Besiedlungen der Patienten können die Folge sein. Neben der Haut ist ein temporärer Nachweis der Gattung *Acinetobacter* auf den Konjunktiven, im Pharynx und Gastrointestinaltrakt sowie in der Vagina möglich. *Acinetobacter* spp. gelten als opportunistischer Erreger, Infektionen können bei vorliegendem Immundefizit auftreten. Differenziert wird zwischen einer ambulant und der häufiger nosokomial erworbenen Infektion. Das Risiko einer nosokomialen Infektion durch *Acinetobacter* spp. steigt durch eine lange Hospitalisierung, eine intensivmedizinische Behandlung, die Einnahme von Breitspektrumantibiotika sowie durch eine maschinelle Beatmung und parenterale Ernährung. Klinisch dominiert die beatmungsassoziierte Pneumonie, Bakteriämien und ein septischer Schock können folgen. Weitere Infektionsherde können in Wunden, Haut- und Weichteilen, sowie an den Harnwegen auftreten. Ein Großteil der Infektionen wird durch die Spezies *Acinetobacter baumannii* verursacht.^{139,140}

Reif- und vor allem Frühgeborene zeigen ein erhöhtes Risiko für ein Infektionsgeschehen. A. S. De et al. publizierten in ihrer Studie eine Inzidenz der durch *Acinetobacter* spp. erworbene neonatalen Sepsis von 9,18 %, die Mortalität lag in ihrer Studie bei 20 %. Hauptrisikofaktoren, welche die Studie darlegt, waren eine Frühgeburt und ein niedriges Geburtsgewicht der Patienten. Auch hier zeigt sich *Acinetobacter baumannii* als führende

Spezies mit erhöhtem Mortalitätspotential, verglichen mit anderen *Acinetobacter* Spezies.¹⁴¹ Die Therapie einer durch *Acinetobacter* spp. induzierten Infektion ist aufgrund der hochgradigen Antibiotika-Resistenzen erschwert und sollte Antibiotogramm-gerecht erfolgen.¹³⁹

2.8.6. Weitere gramnegative Bakteriengattungen der Studie

Erwähnung finden hier alle weiteren gramnegativen Bakteriengattungen, welche innerhalb des Studienzeitraumes in beiden Kohorten beobachtet werden konnten.

Inzidenzangaben zu den jeweiligen Bakteriengattungen sind im Ergebnisteil zu finden (siehe Kapitel 4. Ergebnisse).

Serratia, *Proteus* und *Citrobacter* sind weitere Bakteriengattungen gramnegativer Stäbchen, welche zur Familie der Enterobakterien gehören.

Serratia spp. sind in der Erde, im Wasser, auf Pflanzen sowie im menschlichen Darm- und Respirationstrakt zu finden. Immuninkompetente Patienten können Infektionen des Respirationstraktes und der Harnwege, Wundinfektionen und Endokarditiden bis hin zur Sepsis erleiden.¹²⁸ Auf den neonatologischen Intensivstationen gilt die Spezies *Serratia marcescens* zunehmend als relevanter Erreger nosokomialer Infektionen; neurologische Krankheitsbilder im Sinne einer Meningitis können Folge sein.¹⁴²

Habitat der Gattung *Proteus* sind ebenfalls Erde, Wasser und die menschliche Darmflora. *Proteus* spp. gelten als opportunistische Erreger. Harnwegsinfektionen sind häufig, weitere Infektionen können Meningitiden und Endokarditiden sowie Sepsen darstellen. *Proteus vulgaris* und *mirabilis* sind die beim Menschen primär isolierten Spezies.

Citrobacter gilt ebenfalls als fakultativ pathogene Bakteriengattung. Spezies dieser Gattung sind Bestandteil der physiologischen Darmflora. Nosokomiale Infektionen können vor allem bei immuninkompetenten Patienten hervorgerufen werden.¹²⁸ Die Gattung *Aeromonas* ist Bestandteil der Familie *Aeromonadaceae*.¹⁴³⁻¹⁴⁵ Natürliches Habitat sind Gewässer.¹⁴³ Primär immuninkompetente Patienten können, durch für den Menschen pathogene Spezies, an Gastroenteritiden, Wundinfektionen, Bakteriämien und Sepsen erkranken.¹⁴⁶

Neisseria spp. gehören der Familie *Neisseriaceae* an. Gonokokken (*Neisseria gonorrhoeae*) und Meningokokken (*Neisseria meningitidis*) sind bekannte humanpathogene Spezies, sie kommen nur beim Menschen vor. Eine vaginale Gonokokkeninfektion mit dem klinischen Bild einer Gonorrhoe kann sub partum eine gonorrhoeische Pharyngitis und Konjunktivitis des Neugeborenen hervorrufen. Erwachsene zeigen primär eine genitale Krankheitsmanifestation.

Eine Infektion durch Meningokokken kann einen schwer kranken Patienten präsentieren, eine eitrige Meningokokkenmeningitis mit Hautveränderungen und neurologischen Spätfolgen bis hin zum Tod sind möglich.¹⁴⁷

Die Ständige Impfkommission (STIKO) empfiehlt eine Impfung für alle Kinder im zweiten Lebensjahr gegen Meningokokken der Serogruppe C mit einem Meningokokken-CKonjugatimpfstoff. Bei erhöhtem Risiko sollte zusätzlich eine Impfung mit einem Meningokokken-ACWY-Konjugatimpfstoff, sowie mit einem Meningokokken-B-Impfstoff erfolgen¹⁴⁸. Weitere apathogene, kommensalische Neisserienarten sind bekannt.¹⁴⁷

Die Gattung *Pseudomonas* gehören zur Familie der Pseudomonadaceae.^{139,149}

Relevanteste Spezies ist *Pseudomonas aeruginosa*, sie zeichnet sich durch eine hohe Umweltresistenz aus. Als Feuchtkoim ist *Pseudomonas aeruginosa* im Wasser, in der Erde sowie in Pflanzen vorzufinden, eine geringe Kolonisation der Bevölkerung ist zu beobachten. Als opportunistischer Infektionserreger verursacht die Spezies führend nosokomiale Pneumonien bei beatmeten Patienten sowie Wund- und Harnwegsinfektionen. Haut- und Nagelinfektionen durch Feuchtarbeit im ambulanten Rahmen können ebenfalls resultieren.¹³⁹

Xanthomonadaceae ist die zugehörige Familie der Gattung *Stenotrophomonas*.^{139,150}

Stenotrophomonas maltophilia gilt als relevanteste humanpathogene Spezies. Habitat sind Wasser, Erde und Pflanzen, zudem ist die Spezies auf Klinikmaterialien vorzufinden. Eine Übertragung von Patient zu Patient ist möglich. Nosokomiale Pneumonien, Harnwegs- und Hautinfektionen sowie Bakteriämie sind Folge des opportunistischen Erregers. Charakteristisch für *Pseudomonas aeruginosa* und *Stenotrophomonas maltophilia* ist eine hohe Antibiotikaresistenz.¹³⁹

2.9. Zielsetzung und Fragestellung der Studie

Die Frage nach der Verabreichung pasteurisierter Muttermilch bei Frühgeborenen von CMV-IgG-seropositiven Müttern ist noch immer Gegenstand wissenschaftlicher Diskussionen. Leitlinien sowie einheitliche, internationale Empfehlungen sind nicht vorhanden.

Die mittels unbehandelter Muttermilch übertragene pCMV-Infektion des Frühgeborenen kann mit schweren akuten Symptomen, dem klinischen Bild einer Sepsis entsprechend, und neurologischen sowie pulmonologischen Komplikationen als Langzeitfolgen einhergehen (siehe Kapitel 2.2. Die postnatale Cytomegalievirus-Infektion des Früh- und Reifgeborenen). Durch den Pasteurisierungsprozess der Muttermilch wird eine Übertragung des Cytomegalievirus verhindert, jedoch werden für das Frühgeborene und dessen Entwicklung relevante protektive und immunitätsfördernde Bestandteile beschädigt. Es besteht eine Assoziation zum Auftreten bestimmter Erkrankungen, Infektionen, Sepsen und möglichen Langzeitfolgen. Sowohl die Unreife und die kritischen Kompositionen der Frühgeburt als auch die bakterielle Kolonisation des Kindes stellen Prädispositionsfaktoren dar.

Um eine Reduktion der Inzidenz nosokomialer Infektionen bei Frühgeborenen zu erreichen, hat die KRINKO Empfehlungen zur „Prävention nosokomialer Infektionen bei neonatologischen Intensivpflegepatienten mit einem Geburtsgewicht unter 1500 g“ aus dem

Jahre 2007 im Januar 2012 neu formuliert. Bestandteil der neuformulierten Empfehlungen ist die wöchentliche Durchführung eines klinisch-mikrobiologischen Screenings zur Dokumentation des Kolonisationsstatus bei intensivmedizinisch behandelten Frühgeborenen.¹²⁴ Multiresistente Erreger, die den GIT und den Nasopharynx besiedeln, sollen mittels Anal- und Rachenabstrich frühzeitig detektiert werden. Kasusabhängig sollen ergänzend Abstriche aus weiteren Fokusherden erfolgen. Bei klinischem Verdacht auf eine Infektion kann so zeitnah eine kalkulierte antibiotische Therapie eingeleitet werden.¹⁵¹⁻¹⁵⁷

Zielsetzung der vorliegenden retrospektiven klinischen Beobachtungsstudie war es, den Einfluss des Pasteurisierungsprozesses der Muttermilch nach Holder-Methode auf den Kolonisationsstatus der Frühgeborenen (Gestationsalter \leq 29 SSW, Geburtsgewicht <1500 g) mit gramnegativen Bakterien zu untersuchen und einen eventuell bestehenden Zusammenhang zu detektieren.

Stellt die Muttermilchpasteurisierung (bei CMV-positivem Serostatus der Mutter) einen Risikofaktor für eine vermehrte bakterielle gramnegative Kolonisation und somit eine gramnegative geführte Dysbiose mit möglichen klinischen Folgen für das Frühgeborenen dar?

Grundlage der Studie war der Vergleich der bakteriellen gramnegativen Kolonisation zweier Kohorten mit Frühgeborenen der Neonatologischen Abteilung der Universitätsklinik Köln vor und nach Wiedereinführung der Muttermilchpasteurisierung bei CMV-IgG positiven Müttern. Es erfolgte die Betrachtung und Gegenüberstellung der bakteriellen gramnegativen Kolonisation individuen- und kohortenbezogen.

3. Material und Methoden

3.1. Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv schließt männliche und weibliche Frühgeborene ≤ 29 SSW mit Geburtsdatum im Zeitraum vom 08.08.2012 bis zum 06.08.2014 sowie einem Geburtsgewicht < 1500 g ein und lässt sich bezüglich des Kriteriums der Muttermilchpasteurisierung in zwei Kohorten untergliedern.

Alle Frühgeborenen befanden sich in neonatologisch intensivmedizinischer Behandlung an der Universitätsklinik Köln.

Die erste Kohorte, bestehend aus 25 Frühgeborenen, erhielt nicht pasteurisierte, rohe (zum Teil vorab eingefrorene, zum Teil nichteingefrorene) Muttermilch und bezog sich auf einen sechsmonatigen Zeitraum vom 08.08.2012 bis zum 08.02.2013.

Die zweite Kohorte umfasst ebenfalls ein Kollektiv von 25 Frühgeborenen und schloss den Zeitraum vom 09.02.2013 bis zum 06.08.2014 ein.

Ziel war es, jeweils 25 Frühgeborene für beide Kohorten zu akkreditieren, in der zweiten Kohorte war hierfür ein längerer Zeitraum von über 6 Monaten erforderlich.

Für das Patientenkollektiv der zweiten Kohorte galt die Ernährung mit pasteurisierter Muttermilch als Voraussetzung. Das Vorliegen eines CMV-IgG positiven Serostatus der Mutter als Einschlusskriterium stellte die Indikation zur Muttermilchpasteurisierung dar. Die Frühgeborenen der zweiten Kohorte erhielten pasteurisierte Muttermilch und/oder pasteurisierte Spendermilch. Beide Ernährungsformen wurden in der Studie gleichgesetzt. In beiden Kohorten erfolgte teilweise eine Supplementierung weiterer Nährstoffe inklusive Vitamin D, Eisen und Eiweiß durch die Verabreichung von Nestle Beba FM85 Frauenmilchsupplement Pulver.

Die Sectio definierte in beiden Kohorten den primären Geburtsmodus. In Kohorte 1 waren $n=20$ und in Kohorte 2 $n=22$ Kaiserschnitte zu verzeichnen, $n=5$ Spontangeburt und $n=3$ Spontangeburt erfolgten in Kohorte 1 und 2.

Es liegen zwei Kohorten vor, die sich bezüglich des Kriteriums der Muttermilchpasteurisierung unterscheiden. Im Hinblick auf dieses Kriterium wurde die Kolonisation der Frühgeborenen mit gramnegativen Bakteriengattungen aufgeführt, verglichen und ausgewertet.

3.2. Material zur Erhebung des Kolonisationsstatus

Orientierend an den Empfehlungen der KRINKO zur „Prävention nosokomialer Infektionen bei neonatologischen Intensivpflegepatienten mit einem Geburtsgewicht unter 1500 g“ aus dem Jahre 2012 wurden einmal wöchentlich Routineabstriche mittels eines Abstrichtupfers (Firma SARSTEDT) aus dem Ohr, aus dem Magensaft sowie anal/rektal gewonnen. Eine Differenzierung der Entnahmelokalisationen erfolgte in der vorliegenden Studie nicht.

Ebenso wurde nicht zwischen der Gewinnung eines routinemäßig durchgeführten Screeningabstriches und der Ausführung bei vorliegendem Infektionsverdacht differenziert. Pro Woche wurde nur ein Abstrichdatum eines jeweiligen Frühgeborenen in die Auswertung mit aufgenommen.

Dokumentiert wurde, ob eine Bakteriengattung an dem jeweiligen Datum vorhanden war. Die Materialgewinnung wurde durch das Pflegepersonal der neonatologischen Intensivstation durchgeführt und die Daten anschließend in das mikrobiologische Labor der Universität Köln eingepflegt. Ergänzend wurden die Daten im NEO-Kiss (SurveillanceSystem nosokomialer Infektionen für Frühgeborene auf Intensivstationen) dokumentiert.

3.3. Art der Studie und Datensatz

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine retrospektive klinische Beobachtungsstudie, welche auf der neonatologischen Intensivstation der Universitätsklinik Köln durchgeführt wurde. Die erforderlichen Daten zur Studie wurden aus den digitalisierten Krankenakten der Patienten des Universitätsklinikums Köln gewonnen und anhand eines tabellarischen Verfahrens mit Excel verarbeitet, welches als Fundament der statistischen Auswertung diente. Die Datenerhebung erfolgte vom 08.08.2012 bis zum 09.05.2014.

3.4. Gemessene Variablen

Gemessene Variablen der Studie sind das Geschlecht (männlich/weiblich), das Gestationsalter (Tage), das Geburtsgewicht (kg), die Muttermilchpasteurisierung (ja/nein) sowie die Bestimmung der gramnegativen Erreger.

3.5. Berechnete Variablen

Die individuelle Beobachtungszeit wurde als die Summe der Wochen mit Durchführung eines relevanten Abstriches über die gesamte Studienzeit (14 Wochen) berechnet. Der Anteil gramnegativer Bakterien wurde pro Gruppe (Muttermilchpasteurisierung), bezogen auf die Gesamtstudienzeit für alle gramnegativen Bakterien zusammen und für jedes einzelnen gramnegative Bakterium ermittelt.

Die Anzahl der Bakterien gibt die Häufigkeit des Auftretens verschiedener Bakteriengattungen wieder. Für die unterschiedlichen Gruppen wird ebenfalls die mittlere Anzahl verschiedener Bakteriengattungen angegeben. Die relative bakterielle Kolonisationsdauer ist das Verhältnis der Wochen mit einer gramnegativen Bakteriengattung zu der gesamten individuellen Beobachtungszeit. Der Anteil gramnegativer Bakteriengattungen wurde zusätzlich über die Zeit pro Woche berechnet. Dafür wurden jeweils nur die Frühgeborenen berücksichtigt, die in der jeweiligen Woche über einen relevanten Abstrich verfügten.

3.6. Statistische Analysen

Für die Beschreibung der Studienpopulation wurden die kontinuierlichen Daten mit dem arithmetischen Mittelwert und der Standardabweichung sowie die kategorialen Daten mit der Anzahl und dem prozentualen Anteil zusammengefasst. Die Hauptmerkmale wie Alter, Geschlecht und Gewicht wurden separat für die beiden Kohorten angegeben und mit dem tTest oder dem Chi-Quadrat Test entsprechend verglichen.

Der Anteil der gramnegativen Bakteriengattungen zwischen den beiden Kohorten wurde mit dem Exakten Test nach Fisher verglichen. Für den Vergleich der mittleren Anzahl an Bakteriengattungen und der Kolonisationsdauer zwischen den Gruppen wurde wieder der tTest verwendet. Die Normalverteilung der Merkmale wurde mit dem Shapiro-Francia W' Test und graphisch geprüft. Bei einer möglichen Ablehnung der Nullhypothese (nur bei Anzahl der Bakterien in Kohorte 2) wurde zusätzlich der Unterschied der Mediane der beiden Gruppen mit dem Wilcoxon-Mann-Whitney-Test geprüft. Dabei änderte sich das Ergebnis jedoch nicht.

Der Zusammenhang zwischen den Risikofaktoren Pasteurisierung, Alter, Geschlecht sowie Gewicht mit den Outcome-Variablen Vorhandensein einer gramnegativen Bakteriengattung (ja/nein), Bakterienanzahl (0, 1, 2, 3, >3) und Kolonisationsdauer wurde im Querschnitt in univariaten Modellen der binomialen logistischen Regression, der geordneten logistischen Regression, sowie der linearen Regression untersucht. Dabei wurden Odds Ratios (OR) und β -Koeffizienten zusammen mit den 95 % Konfidenzintervallen (KI) geschätzt.

Ein p-Wert kleiner als 0.05 wurde als statistisch signifikant betrachtet.

Die statistischen Analysen wurden mit der Stata Software Version 16.1. (Stata Corporation, College Station, TX, USA) durchgeführt.

4. Ergebnisse

Im Folgenden werden die Ergebnisse der statistischen Analysen tabellarisch und mittels Abbildungen präsentiert.

4.1. Beschreibung der Studienpopulation

Tabelle 1: Beschreibung der Studienpopulation

Kohorten	Studienpopulation Kohorte 1		Kohorte 2	p
	(keine Pasteurisierung)	MM- (MM- Pasteurisierung)	(MM- Pasteurisierung)	
	n= 50	n= 25	n= 25	
Geschlecht				0.569
Weiblich	22 (44 %)	12 (48 %)	10 (40 %)	
Männlich	28 (56 %)	13 (52 %)	15 (60 %)	
Gestationsalter (Wochen)				0.031
	25.2 (± 1.55)	24.8 (± 1.43)	25.7 (± 1.59)	
Geburtsgewicht (kg)	0.745 (± 0.233)	0.664 (±0. 219)	0.825 (± 0.222)	0.006
Beobachtungszeitraum (Wochen)	8.0 (± 3.3)	8.3 (± 3.2)	7.7 (± 3.5)	0.251

pWerte ergeben sich durch den t-Test oder χ^2 -Test

In **Tabelle 1** werden die charakteristischen Merkmale der Studienpopulation präsentiert.

Die Studienpopulation umschließt 50 Frühgeborene. Es wurden 25 Frühgeborene der ersten Kohorte (keine Muttermilchpasteurisierung) und 25 Frühgeborene der zweiten Kohorte (Muttermilchpasteurisierung) zugeordnet. Eine signifikante Differenz beider Kohorten zeigt sich beim Gestationsalter ($p=0,031$) und Geburtsgewicht ($p=0,006$). Die Frühgeborenen der ersten Kohorte waren im Durchschnitt jünger und leichter als die Frühgeborenen der zweiten Kohorte.

Der mittlere Beobachtungszeitraum des Gesamtkollektivs beider Kohorten beträgt 8,0 (±3.3) Wochen bei einem maximalen Studienzeitraum von 14 Wochen.

4.2. Erregernachweise, nach Individuen und Kohorten

Abbildung 1 a: Beobachtungszeitraum in Wochen (grau) mit stattgefundenen Schleimhautabstrichen, nach Individuen und Kohorten mittels Balkendiagramm, Woche (x-Achse, Kind (y-Achse))

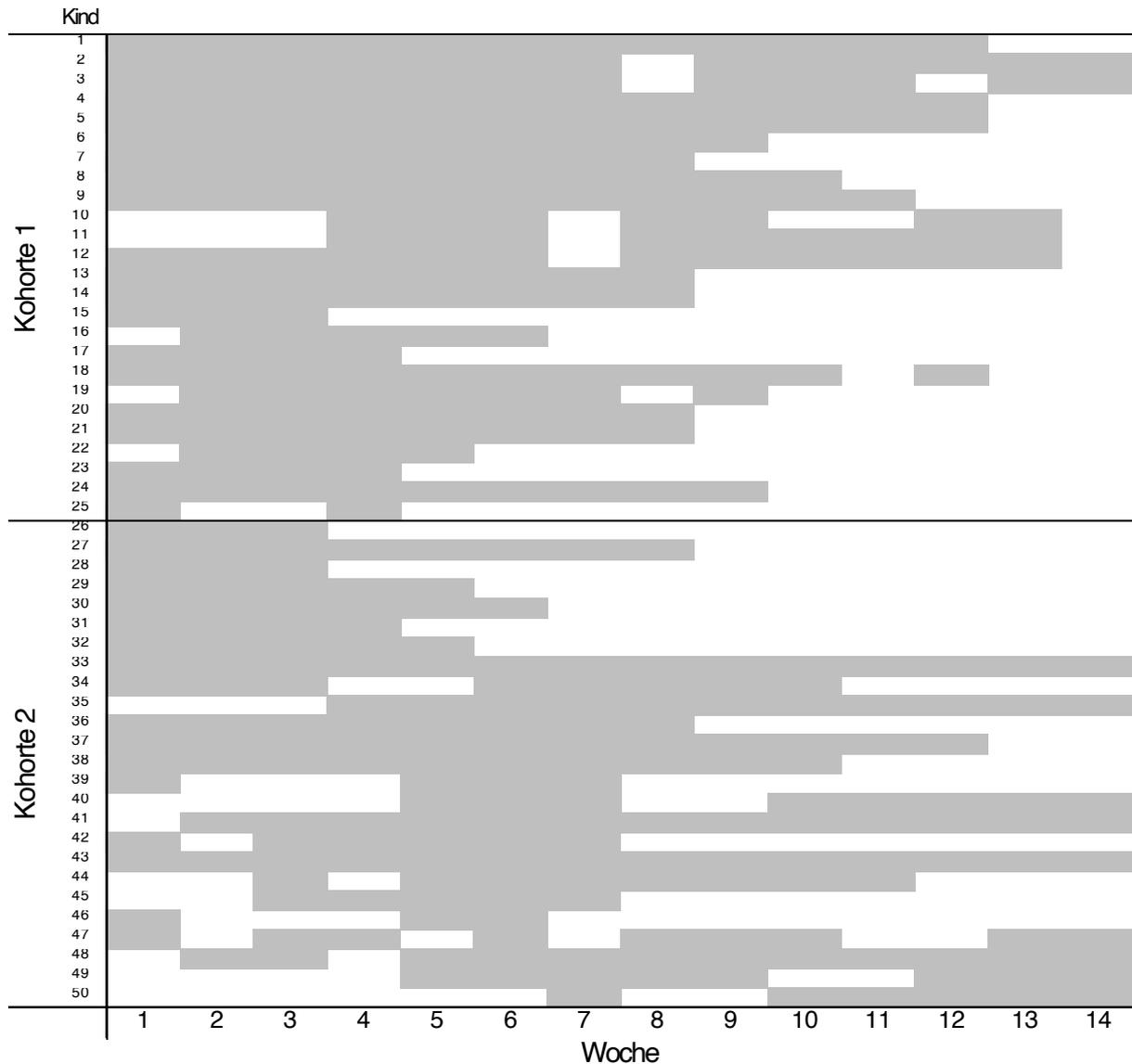


Abbildung 1 a zeigt den Beobachtungszeitraum für jedes einzelne Kind beider Kohorten (grau). In jeder grau markierten Woche wurde ein Schleimhautabstrich durchgeführt mit einem erfolgten Nachweis eines Erregers (grampositive und/oder gramnegative Bakteriengattungen, Pilze). Ein Nachweis ohne Erreger-Besiedelung wurde in beiden Kohorte nicht festgestellt. Tritt fortan keine grau hinterlegte Woche mehr auf, kann dies, neben einem fehlenden Abstrichergebnis, auf einen stattgefundenen Abbruch der medizinischen Versorgung des Kindes hinweisen (z.B. Verlegung, Versterben).

4.3. Nachweis gramnegativer Bakterien, nach Individuen und Kohorten

Abbildung 1 b: Positiver Nachweis gramnegativer Bakterien (dunkelgrau) im Vergleich zu negativem Nachweis gramnegativer Bakterien (hellgrau) pro Woche nach Individuen und Kohorten im Beobachtungszeitraum mit stattgefundenen Schleimhautabstrichen mittels Balkendiagramm, Woche (x-Achse), Kind (y-Achse)

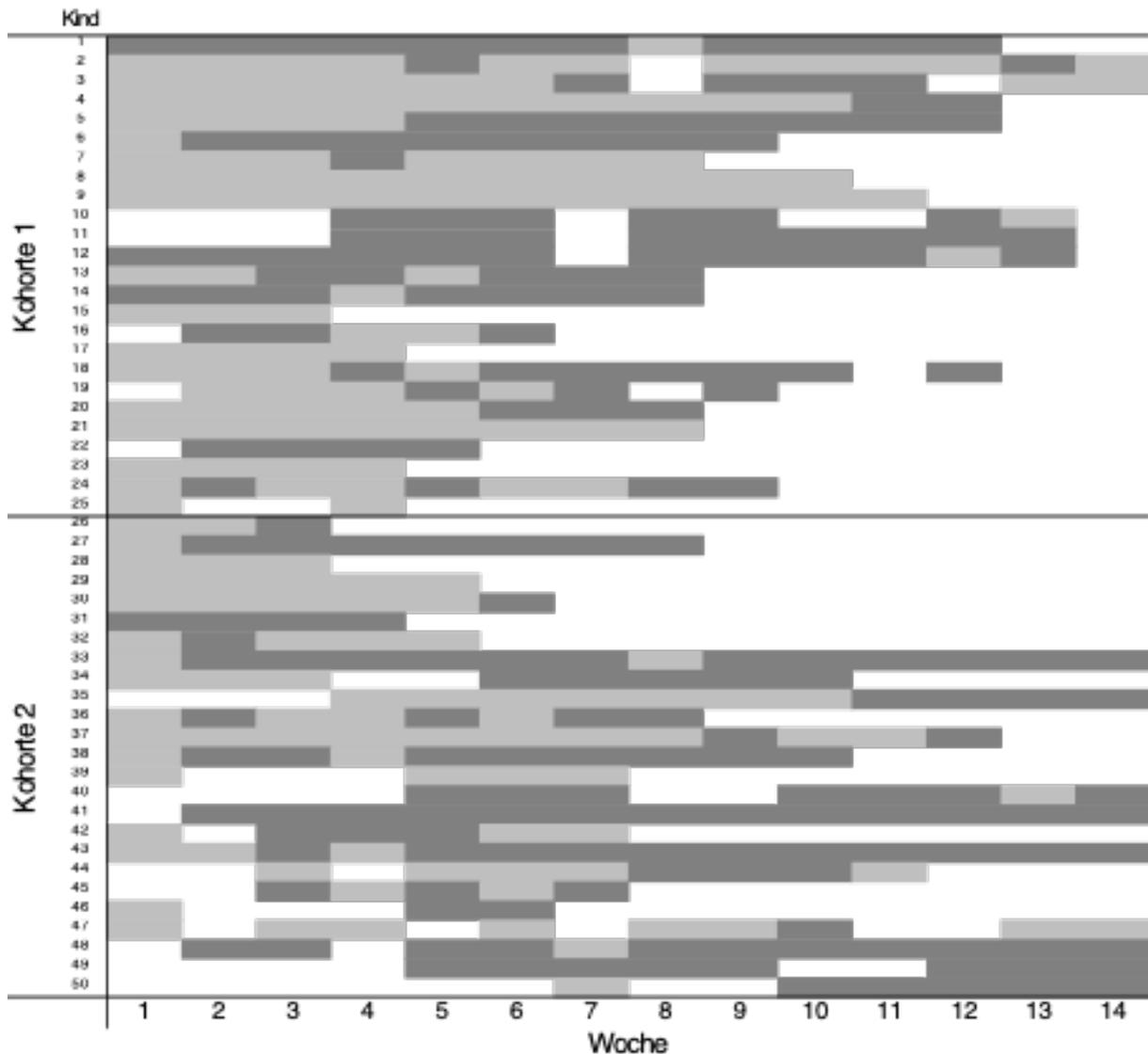


Abbildung 1 b zeigt, in welchen Wochen des Beobachtungszeitraumes mit relevanter Abstrichuntersuchung bei den Frühgeborenen eine bakteriologische gramnegative Kolonisation nachgewiesen werden konnte (dunkelgraue Balken). In der entsprechenden Woche können zeitgleich andere Erreger aufgetreten sein. Ein hellgrauer Balken gibt den Nachweis grampositiver und/oder mykologischer Erreger wieder, gramnegative Bakterien sind in diesen Wochen nicht zu beobachten gewesen. Weder hell- noch dunkelgrau hinterlegte Wochen der x-Achse zeigen, in Anlehnung an Abbildung 1 a, ein fehlendes Abstrichergebnis in der betroffenen Woche.

4.4. Prävalenz gramnegativer Bakteriengattungen in Kohorte 1 und 2

Tabelle 2: Prävalenz gramnegativer Bakteriengattungen in Kohorte 1 und 2 im Beobachtungszeitraum von 14 Wochen

Kohorten	Studienpopulation n= 50	Kohorte 1		Kohorte 2		p
		Keine Pasteurisierung	MM - Pasteurisierung	MM - Pasteurisierung	-	
Gramnegative gesamt	Bakterien40 (80 %)	18 (72 %)		22 (88 %)		0.145
Acinetobacter spp.	11 (22 %)	11 (44 %)		0 (0 %)		<0.001
Aeromonas spp.	1 (2 %)	0 (0 %)		1 (4 %)		0.500
Citrobacter spp.	7 (14 %)	1 (4 %)		6 (24 %)		0.049
Enterobacter spp.	29 (58 %)	10 (40 %)		19 (76 %)		0.010
Escherichia (E.coli)	15 (30 %)	8 (32 %)		7 (28 %)		0.500
Klebsiella spp.	16 (32 %)	7 (28 %)		9 (36 %)		0.381
Neisseria spp.	1 (2 %)	0 (0 %)		1 (4 %)		0.500
Proteus spp.	3 (6 %)	1 (4 %)		2 (8 %)		0.500
Pseudomonas spp.	2 (4 %)	1 (4 %)		1 (4 %)		0.755
Serratia spp.	1 (2 %)	0 (0 %)		1 (4 %)		0.500
Stenotrophomonas spp.	2 (4 %)	1 (4 %)		1 (4 %)		0.755

Daten sind als Anzahl (Prozent) angegeben; p-Werte durch Exakten Test nach Fisher

Tabelle 2 zeigt die Prävalenz gramnegativer Bakteriengattungen in Kohorte 1 und 2. Aufgeführt werden alle gramnegativen Bakteriengattungen, die im Beobachtungszeitraum von 14 Wochen im Rahmen des wöchentlichen Kolonisations-Screenings auftraten.

In Kohorte 2 lässt sich eine vermehrte Kolonisation mit gramnegativen Bakterien beobachten, diese blieb jedoch ohne statistische Signifikanz ($p=0,145$). In Kohorte 2 weisen 88% ($n=22$), in Kohorte 1 72 % ($n=18$) der Frühgeborenen eine Besiedlung mit mindestens einem gramnegativen Bakterium auf.

Eine signifikante Differenz zum vermehrten Auftreten in Kohorte 2 zeigen lediglich die Bakteriengattungen Citrobacter spp. und Enterobacter spp.

Acinetobacter spp. hingegen sind nur in Kohorte 1 zu beobachten, sodass sich auch hier ein signifikanter p-Wert zeigt.

In Tabelle 2 finden sich ferner die im Gesamtkollektiv observierten Bakteriengattungen.

4.5. Anzahl der nachgewiesenen gramnegativen Bakteriengattungen und relative Kolonisationsdauer im Gesamtkollektiv und nach Kohorten

Tabelle 3: Anzahl der nachgewiesenen gramnegativen Bakteriengattungen und relative Kolonisationsdauer im Gesamtkollektiv und nach Kohorten im Beobachtungszeitraum von 14 Wochen

Kohorten	Studienpopulation n= 50	Kohorte 1		Kohorte 2		p
		Keine Pasteurisierung	MM Pasteurisierung	- Pasteurisierung	MM -	
Anzahl Bakterien						0.740
0	10 (20 %)	7 (28 %)		3 (12 %)		
1	11 (22 %)	4 (16 %)		7 (28 %)		
2	19 (38 %)	9 (36 %)		10 (40 %)		
3	5 (10 %)	3 (12 %)		2 (8 %)		
4	2 (4 %)	1 (4 %)		1 (4 %)		
5	2 (4 %)	1 (4 %)		1 (4 %)		
6	0 (0 %)	0 (0 %)		0 (0 %)		
7	1 (2 %)	0 (0 %)		1 (4 %)		
Mittel	1.78 (± 1.46)	1.60 (± 1.35)		1.96 (± 1.57)		0.195
Relative	49.1 (± 36.2)	44 (± 37.8)		54.1 (± 34.7)		0.165
Kolonisationsdauer(%)						

pWerte ergeben sich durch exakten Test nach Fisher oder den t-Test

Tabelle 3 führt die Anzahl der verschiedenen mittels mikrobiologischem Abstrich nachgewiesenen gramnegativen Bakteriengattungen sowie die relative Kolonisationsdauer im Gesamtkollektiv und nach Kohorten auf.

Weder der Mittelwert der Anzahl an gramnegativen Bakterien noch die relative Kolonisationsdauer weisen eine signifikante Differenz zwischen Kohorte 1 und 2 auf.

4.6. Univariater Zusammenhang zwischen dem Risikofaktor Muttermilchpasteurisierung, weiteren Risikofaktoren und dem Auftreten von gramnegativen Bakteriengattungen, deren Anzahl und Kolonisationsdauer

Tabelle 4 Univariater Zusammenhang zwischen den Risikofaktoren Muttermilchpasteurisierung, Gestationsalter und Geburtsgewicht und den Outcome-

Variablen Anzahl	Auftreten von gramnegativen Bakteriengattungen, deren Anzahl und Kolonisationsdauer		Outcome-Variablen			
	Gramnegatives Bakterium vorhanden	Anzahl gramnegativer Bakteriengattungen (0,1,2,3,>3)	Kolonisationsdauer			
Risikofaktoren	OR (95 % CI)	p	OR [#] (95 % CI)	p	β (95 % CI)	p
Keine MM-Pasteurisierung	Ref		Ref		Ref	
Pasteurisierung	2.85 (0.64; 12.64)	0.168	1.40 (0.51; 3.81)	0.514	10.1 (-10.53; 30.72)	0.33
Gestationsalter	0.97 (0.91; 1.04)	0.369	0.99 (0.95; 1.04)	0.768	-0.62 (-1.58; 0.33)	0.192
Geburtsgewicht	0.49 (0.02; 9.78)	0.642	0.63 (0.07; 5.34)	0.674	-9.12 (-54.19; 35.95)	0.686

Odds Ratios (OR) wurden ermittelt durch (#geordnete) logistische Regressionsmodelle; β-Koeffizienten wurden berechnet durch lineare Regressionsmodelle; CI–Konfidenzintervalle

In **Tabelle 4** wird der univariate Zusammenhang zwischen den möglichen einzelnen Risikofaktoren der Muttermilchpasteurisierung (nein/ja), des Geschlechtes (weiblich/männlich), des Gestationsalters und des Geburtsgewichtes im Hinblick auf die Outcome-Variablen des Vorhandenseins und somit der Besiedlung mit gramnegativen Bakterien, der vorliegenden Anzahl der nachgewiesenen gramnegativen Bakteriengattungen und der Kolonisationsdauer betrachtet. Die Ergebnisse blieben ohne statistische Signifikanz. In unserer Studie zeigt pasteurisierte Muttermilch einen nicht-signifikanten Effekt mit einem OR=2,85 (p=0,168) auf das Vorhandensein eines gramnegativen Bakteriums. Eine mögliche Assoziation kann aufgrund der geringen statistischen Power nicht nachgewiesen werden.

4.7. Anteil gramnegativer Bakteriengattungen im Zeitverlauf pro Woche

Tabelle 5: Anteil gramnegativer Bakteriengattungen im Zeitverlauf pro Woche

Woche	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Kohorte (n)	37	37	41	39	40	39	33	29	25	22	17	17	14	10
Alle (%)	10.8	40.5	41.5	35.9	57.5	56.4	57.6	65.5	76.0	72.7	76.5	88.2	71.4	70.0
Kohorte 1 (%)	15.0	31.8	31.8	37.5	52.4	55.0	56.3	62.5	71.4	60.0	75.0	75.0	60.0	0.0
Kohorte 2 (%)	5.9	53.3	52.6	33.3	63.2	57.9	58.8	69.2	81.8	83.3	77.8	100.0	77.8	87.5

Kohorte 1=Keine MM-Pasteurisierung, Kohorte 2=Muttermilchpasteurisierung

Abbildung 2: Anteil gramnegativer Bakteriengattungen im Zeitverlauf pro Woche

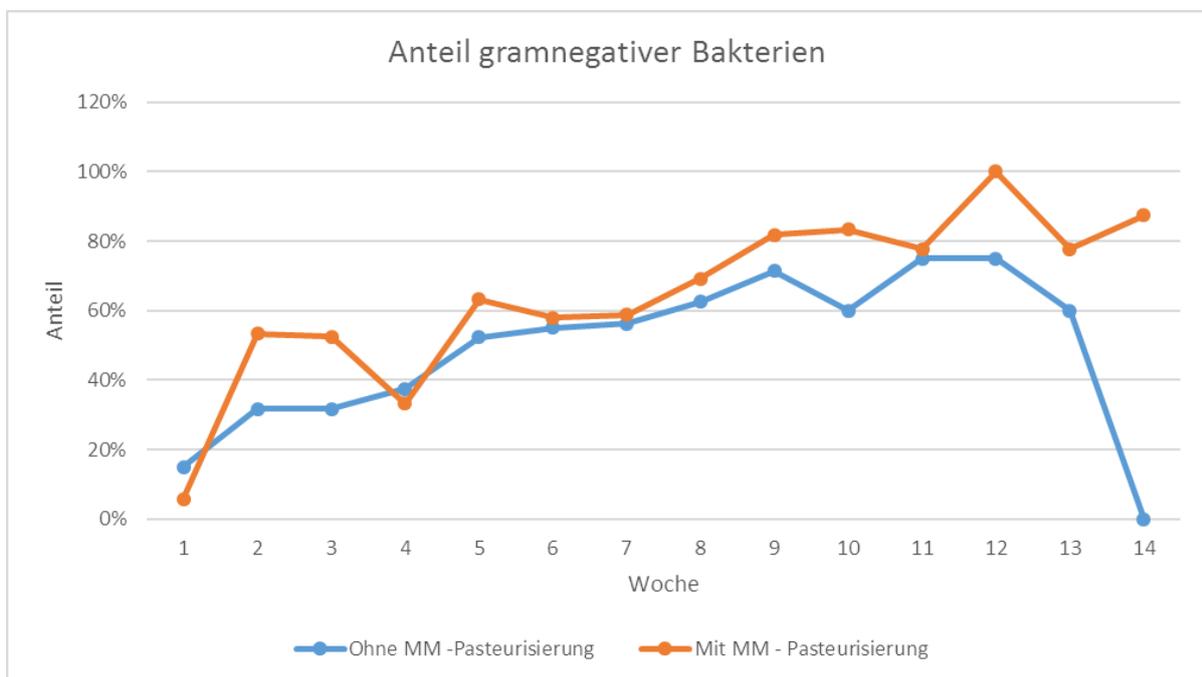


Tabelle 5 und **Abbildung 2** geben den prozentualen Anteil nachgewiesener gramnegativer Bakterien im wöchentlichen Verlauf des Beobachtungszeitraumes von 14 Wochen wieder.

In Tabelle 5 erfolgte eine differenzierte Gegenüberstellung der gesamten Studienpopulation, von Kohorte 1 und Kohorte 2. Deutlich wird, dass der Nachweis gramnegativer Bakteriengattungen mit fortschreitendem Gestationsalter im Gesamtkollektiv und somit in

beiden Kohorten anstieg. Des Weiteren verdeutlicht Abbildung 2 mittels Grafik den prozentual steigenden und höheren Anteil gramnegativer Bakteriengattungen in der Kohorte mit Muttermilchpasteurisierung ab der zweiten Gestationswoche. Eine Ausnahme stellt die vierte Woche dar. Hier zeigt sich in Kohorte 1 eine bakterielle gramnegative Kolonisation von 37,5 %, in Kohorte 2 liegt die Besiedlung in dieser Woche bei 33,3 % (Studienpopulation n=39).

4.8. Vorhergesagter Anteil gramnegativer Bakteriengattungen im Zeitverlauf pro Woche

Abbildung 3: Vorhergesagter Anteil gramnegativer Bakteriengattungen im Zeitverlauf pro Woche

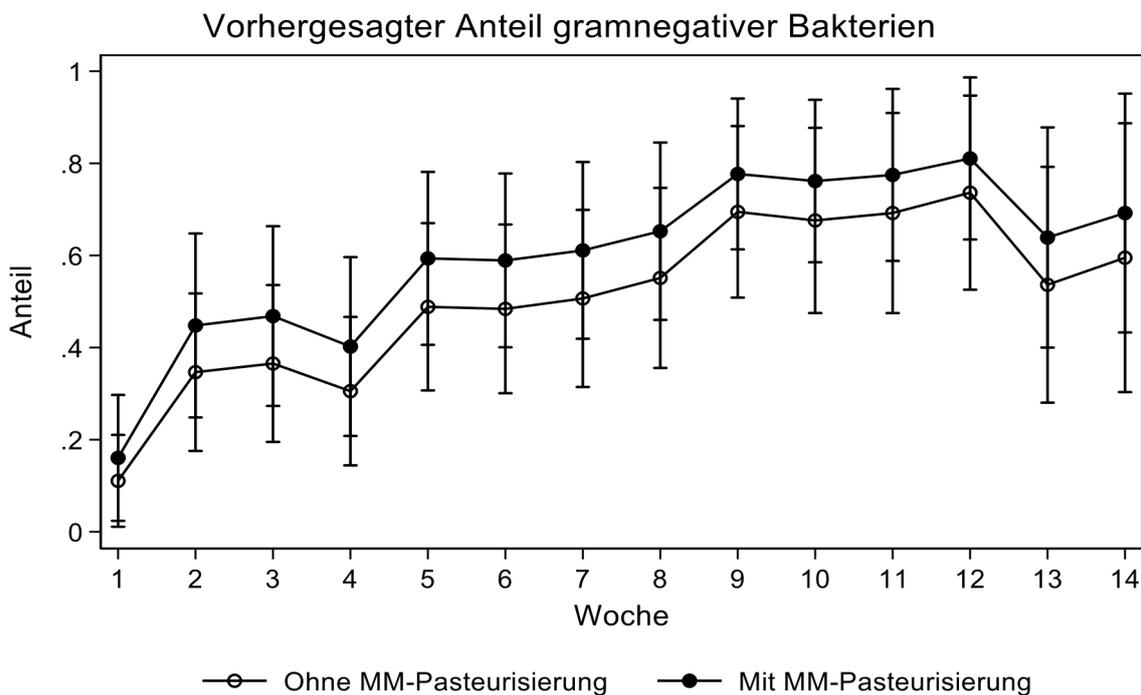


Abbildung 3 gibt den geschätzten Modellverlauf des Nachweises gramnegativer Bakteriengattungen im Beobachtungszeitraum von 14 Wochen für die Gruppen ohne und mit MM-Pasteurisierung wieder. Der Anteil gramnegativer Bakteriengattungen (y-Achse) stellt dabei die Zielgröße dar, welche durch den Faktor Beobachtungszeitraum (x-Achse) erklärt wird. Dieses Modell ist adjustiert für Gestationsalter, Geburtsgewicht und Geschlecht. Die Darstellung gilt für den Gesamtmittelwert dieser Größen.

Die Konfidenzbänder überschneiden sich. Die Größe der Studienpopulation und die prozentuale Differenz der Anteile sind nicht ausreichend, um einen signifikanten Unterschied zwischen Kohorte 1 und Kohorte 2 hervorzuheben.

5. Diskussion

Bakterielle Infektionen und Sepsen (EOS, LOS) stellen häufige Morbiditäten der Frühgeburt dar, Langzeitfolgen (z.B. neurologische Entwicklungsverzögerungen) können resultieren.^{98,158} Gramnegative Bakterien sind gängige Infektionserreger des Frühgeborenen. Eine vermehrte Kolonisation des Gastrointestinaltraktes, mit dem Resultat einer bakteriellen Dysbiose, setzt die Immunitätsbarriere herab und Infektionen können folgen. Gramnegative Bakterien sind führender Ursprung einer EOS und in 20 % einer LOS nachzuweisen, hier sind sie mit einer hohen Mortalität assoziiert.^{108,109,151,159} Ferner gilt eine bakterielle Dysbiose des frühgeborenen Kindes als Prädispositionsfaktor für Entzündungsreaktionen wie eine NEC.⁹⁵ Einen Schutz gegenüber der frühgeburtlichen Immaturität birgt die dem Bedarf des Kindes angepasste Muttermilch.^{43,50} Derzeit wird jedoch, bei einer Frühgeburt mit einem entsprechendem Gestationsalter von <28 + 0 SSW oder einem Geburtsgewicht von <1000 g und positivem (IgM-seronegativ, IgG-seropositiv) oder unbekanntem CMV-Serostatus der Mutter, die Muttermilchpasteurisierung ab dem vierten Lebenstag bis zur Vollendung der 31. Gestationswoche empfohlen. Ziel ist die Prävention einer symptomatischen, für das Frühgeborene potenziell lebensbedrohlichen, pCMV-Infektion. Es handelt sich hierbei um Empfehlungen der österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde (Ernährungskommission), einheitliche Leitlinien sind nicht existent.⁴⁴ Der klassische Prozess der Holder-Pasteurisierung erzielt eine vollständige CMV-Elimination, doch auch protektive und immunitätsfördernde Bestandteile der Muttermilch werden beeinträchtigt.^{14,32} Ferner resultiert eine Zerstörung des bakteriellen Gleichgewichtes der Muttermilch. Potenziell probiotische Bakterien werden durch den Pasteurisierungsprozess eliminiert und mögliche Kontaminationserreger können sich schneller vermehren.³⁴ Die hier vorliegende retrospektive klinische Beobachtungsstudie widmet sich dem Einfluss der Muttermilchpasteurisierung nach Holder-Methode auf die Kolonisation des Frühgeborenen mit gramnegativen Bakterien.

5.1. Die Muttermilchpasteurisierung - ein potentieller Risikofaktor für eine vermehrte bakterielle gramnegative Kolonisation der Frühgeborenen

Die Muttermilchpasteurisierung nach Holder-Methode: führt sie zur vermehrten Kolonisation der Frühgeborenen mit gramnegativen Bakterien?

Pasteurisierte Mutter- und/oder Spendermilch zeigen in unserer Studie einen nicht signifikanten Effekt auf das Vorhandensein eines gramnegativen Bakteriums (OR=2,85, p=0,168) (Tabelle 4).

Ein Nachweis bakterieller gramnegativer Kolonisationen wird in beiden Kohorten der Studie (Abbildung 1 b, Tabelle 2) beobachtet. In den ersten Lebenswochen überwog dabei im gesamten Patientenkollektiv eine Kolonisation mit grampositiven Erregern (Abbildung 1 b).

Jedoch weisen insgesamt 80 % (n=40/50) aller Frühgeburten im Studienzeitraum von 14 Wochen gramnegative Bakterien auf (Tabelle 2). In Kohorte 2 (Muttermilchpasteurisierung) zeigen sich 88 % (n=22/25), in Kohorte 1 (keine Muttermilchpasteurisierung) 72 % (n=18/25) aller Frühgeborenen kolonisiert; eine nicht-signifikante Differenz zugunsten einer prozentual höheren bakteriellen gramnegativen Kolonisation nach Verabreichung pasteurisierter Mutter- und/oder Spendermilch.

Auch die Betrachtung der prozentualen Anteile einer bakteriellen gramnegativen Kolonisation im Wochen-Intervall des Studienzeitraumes verdeutlicht die bestehende Differenz zwischen beiden Kohorten. Ab der zweiten Lebenswoche wiesen die Frühgeborenen der Kohorte 2 im Vergleich zu den Frühgeborenen der Kohorte 1 eine vermehrte Kolonisation mit gramnegativen Bakterien auf (Tabelle 5, Abbildung 2). In Woche vier waren in Kohorte 1 bei 37,5 % und in Kohorte 2 bei 33,3 % der Frühgeborenen gramnegative Bakterien nachzuweisen. Dieser Befund ist in der Gesamtheit, bei einer permanent höheren prozentualen Kolonisation der Frühgeborenen der zweiten Kohorte, eher als Zufall zu werten.

Der geschätzte Modellverlauf zum vorhergesagten Anteil gramnegativer Bakteriengattungen im Zeitverlauf pro Woche hebt einen konstanten Unterschied der bakteriellen gramnegativen Kolonisation beider Kohorten hervor (Abbildung 3).

Im Studienzeitraum von 14 Wochen konnten insgesamt 11 gramnegative Bakteriengattungen nachgewiesen werden. Enterobacter (58 %, n=29), Klebsiella (32 %, n=16), Escherichia (30 %, n=15) und Acinetobacter (22%, n=11) stellen die vier häufigsten Bakteriengattungen innerhalb der Studienpopulation dar. Enterobacter- und Klebsiella spp. zeigen vermehrte Präsenz in Kohorte 2 (Muttermilchpasteurisierung). Die Bakteriengattung Escherichia ist mit einer geringen Differenz vermehrt in Kohorte 1 zu beobachten, Acinetobacter spp. kommen lediglich in Kohorte 1 vor (Tabelle 2). Ein Frühgeborenes der Kohorte 2 weist im Studienzeitraum von 14 Wochen sieben verschiedene Bakteriengattungen auf, die maximale Anzahl in Kohorte 1 beträgt fünf Bakteriengattungen. Passend zeigt sich ebenfalls die mittlere Bakterienanzahl in Kohorte 2 mit 1,96 im Vergleich zu Kohorte 1 mit 1,60 erhöht. Eine statistische Signifikanz der Ergebnisse blieb aus. Auch die relative Kolonisationsdauer mit einer Differenz von 10,1 % zugunsten der Kohorte mit Muttermilchpasteurisierung und einer bestehenden relativen Kolonisationsdauer von 54,1 % in Kohorte 2 und 44 % in Kohorte 1 zeigt sich statistisch als nicht signifikant (Tabelle 3, Tabelle 4).

Die Frage, warum trotz nachgewiesenem Effekt der Muttermilchpasteurisierung auf die bakterielle gramnegative Kolonisation eine Signifikanz der Ergebnisse ausblieb, soll folgend diskutiert werden.

Primär lässt sich dies sicherlich durch die geringe Größe des Patientenkollektives erklären, die Anzahl der für die Studienpopulation akkreditierten Frühgeborenen (n=50) ist zu gering, um einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Kohorten hervorzuheben. Ferner gilt es, die Zusammensetzung des Patientenkollektives genauer zu betrachten. So sind die

Frühgeborenen der ersten Kohorte signifikant jünger und leichter als die Frühgeborenen der Kohorte mit Muttermilchpasteurisierung (Tabelle 1).

Stellen die Merkmale Gestationsalter und Geburtsgewicht weitere mögliche Risikofaktoren oder Einflussfaktoren hinsichtlich einer bakteriellen gramnegativen Kolonisation der Frühgeborenen dar?

Mittels Berechnungen eines univariaten Modelles wird nicht nur der Zusammenhang zwischen dem Risikofaktor Muttermilchpasteurisierung und den Outcome-Variablen „Auftreten von gramnegativen Bakteriengattungen“, deren „Anzahl“ und „Kolonisationsdauer“ dargestellt, sondern auch das Gestationsalter sowie das Geburtsgewicht als mögliche Risikofaktoren betrachtet (Tabelle 4).

Ein höheres Gestationsalter und ein höheres Geburtsgewicht scheinen jeweils mit einem geringeren „Auftreten von gramnegativen Bakterien“, einer geringeren „Anzahl an“ sowie einer kürzeren „Kolonisationsdauer“ mit gramnegativen Bakterien einherzugehen. Im Umkehrschluss sind ein niedriges Gestationsalter und ein geringes Geburtsgewicht mit dem Auftreten von gramnegativen Bakterien, einer vermehrten „Anzahl an gramnegativen Bakterien“, sowie einer längeren „Kolonisationsdauer“ assoziiert. Die Effektstärke der möglichen Risikofaktoren eines geringen Gestationsalters und niedrigen Geburtsgewichts auf die obigen Outcome-Variablen zeigen sich jedoch klein und auch hier bleibt eine statistische Signifikanz aus.

Zusammenfassend bleibt jedoch festzuhalten, dass neben der Muttermilchpasteurisierung (Kohorte 2) ein geringes Gestationsalter sowie ein niedriges Geburtsgewicht (Kohorte 1) einen positiven Effekt auf die Kolonisation mit gramnegativen Bakterien ausüben.

Weitere mögliche Risiko- und Einflussfaktoren auf die bakterielle gramnegative Besiedlung der Frühgeborenen finden in unserer Studie keine Betrachtung: die Erregerkolonisation der Krankenhausumgebung während der jeweiligen Beobachtungszeiträume, eine mögliche antibiotische Therapie pränatal und intra- oder postpartal der Mutter und/oder des Kindes, der Geburtsmodus sowie die Nutzung und Durchführung medizinischer Interventionen. Auch die Menge reiner, nicht pasteurisierter Muttermilch, welche die Frühgeborenen der Kohorte 1 erhielt, wurde nicht dokumentiert. Eine genauere Ausführung und kritische Auseinandersetzung mit den oben genannten Aspekten ist im Kapitel 5.3 Limitationen zu finden.

5.2. Einordnung der Ergebnisse in den Kontext anderer Studien

Viele Studien postulierten die Vorteile der Ernährung des frühgeborenen Kindes mit reiner Muttermilch. Sie führt zur Reduktion frühgeburtlicher Morbiditäten, das postnatale Infektionsrisiko, unter anderem einer LOS, sinkt. Ebenso untersuchten diverse Studien Risikofaktoren, Inzidenzen und klinische Folgen der frühgeburtlichen LOS auf dem Boden einer bakteriellen gramnegativen Kolonisation (Kapitel 2.5. Die Muttermilch für Frühgeborene).

Den Einfluss der Ernährung des Frühgeborenen mit reiner Muttermilch im Vergleich zu pasteurisierter Spendermilch und/oder frühgeborenen Formulanahrung, bezogen auf die Outcome-Variable einer LOS und den Nachweis gramnegativer Bakterien mittels Blutkultur, legten Schanler et al. in ihrer Studie dar. Frühgeborene wiesen nach Erhalt reiner Muttermilch eine signifikante Reduktion pathogener, vor allem gramnegativer Erreger in Blutkulturen auf, zudem zeigte sich eine signifikante Reduktion der LOS-Inzidenz.¹⁵⁹

Eine Studie, welche die Faktoren Muttermilch und pasteurisierte Mutter- und/oder Spendermilch im Hinblick auf die alleinige Kolonisation der Frühgeborenen mit gramnegativen Bakterien, deren Anzahl und Kolonisationsdauer sowie die beobachteten Bakteriengattungen aufführt, ist uns, neben der unseren, nicht bekannt. Die Teilergebnisse unserer Studie können jedoch ähnlichen Studien gegenübergestellt werden.

In unserer Studie sind in den ersten Lebenswochen primär grampositive Bakterien im gesamten Patientenkollektiv zu beobachten gewesen, nur 10,8 % der Studienpopulation (n=37) wiesen eine bakterielle gramnegative Kolonisation in der ersten Lebenswoche auf (Tabelle 5).

I. H. Gewolb et al. stützten diese Beobachtung durch ihre Studie. Sie beschrieben postpartal einen stetigen Anstieg der Relation von gramnegativen zu grampositiven Bakterien. Am Tag zehn nach der Geburt war ein Verhältnis von 0,36:1 (gramnegativ:grampositiv) zu beobachten, dieses stieg bis Tag 30 postpartal auf 0,87:1 an.¹⁶⁰

Die Tendenz eines Prävalenzanstieges gramnegativer Bakterien ist auch in unserer Studie zu beobachten. In der zweiten Lebenswoche zeigen sich 40,5 % (n=37), in der dritten 41,5 % (n=41), in der vierten 35,9 % (n=39), in der fünften 57,5 % (n=40) und in der sechsten Lebenswoche 56,4 % (n=39) der Frühgeborenen kolonisiert. In Woche 14, der letzten Woche des Studienzeitraumes, ist eine bakterielle gramnegative Kolonisation bei 70 % (n=10) des Gesamtkollektives zu beobachten (Tabelle 5).

Eine in den Vereinigten Staaten durchgeführte prospektive Kohortenstudie mit 698 Frühgeborenen präsentierte ebenfalls einen wöchentlichen Anstieg der bakteriellen gramnegativen Kolonisation mit steigendem Alter, jedoch waren hier höhere Prävalenzen zu beobachten. Eine positive mikrobiologische Kultur des Gastrointestinaltraktes war in der ersten Lebenswoche bei 25 %, in der zweiten bereits bei 56 % und in der sechsten Lebenswoche bei 79 % zu verzeichnen. 7,3 % der Frühgeborenen entwickelten eine Sepsis durch gramnegative Erreger. Überwiegend handelte es sich bei den mittels Blutkultur nachgewiesenen Sepsiserregern um bereits im Rahmen der Routine-Untersuchungen nachgewiesene Erreger des GIT. Als Risikofaktoren einer vermehrten Kolonisation mit gramnegativen Bakterien führten die Autoren eine vaginale Geburt, eine lange Behandlung mit Carbapenemen und ein Geburtsgewicht >1000 g auf, der Faktor

Muttermilchpasteurisierung fand in der Studie keine Betrachtung.¹⁵³

Nochmals höhere Prävalenzen einer bakteriellen gramnegativen Kolonisation wies die prospektive Observationsstudie von A. Smith et al. an einem Krankenhaus der Maximalversorgung in Südindien auf. Bereits zum Zeitpunkt der Geburt war bei 71 % aller Frühgeborenen (n=72/101) eine bakterielle gramnegative Kolonisation in den Stuhlproben nachzuweisen, 100 % zeigten sich am Ende der ersten und fortbestehend 97 % in der dritten Lebenswoche kolonisiert. Der Faktor Muttermilchpasteurisierung wurde auch in dieser Studie nicht untersucht.¹⁶¹

Die deutlich höheren Prävalenzen im Vergleich zu unserer Studie könnten unter anderem auf einer differierenden medizinischen Versorgung, einer differierenden Umgebungskolonisation des Krankenhauses, einem hier vorliegenden höheren mittleren Gestationsalter (31,6 +/- 2,2 Wochen) und Geburtsgewicht (1272.4 ± 176 g) sowie weiteren, die Frühgeborenen betreffenden, in unserer Studie außer Acht gelassenen Einfluss- und Risikofaktoren basieren (Kapitel 5.3. Limitationen).

80 % des Gesamtkollektives unserer Studienpopulation zeigten sich im Beobachtungszeitraum von 14 Wochen mindestens einmalig mit einem gramnegativen Bakterium kolonisiert (Tabelle 2). In der bereits aufgeführten prospektiven Kohortenstudie aus den Vereinigten Staaten, welche ein deutlich größeres Patientenkollektiv umschloss, wiesen 90 % der Frühgeborenen mindestens einmalig eine bakterielle gramnegative Kolonisation auf (Beobachtungszeitraum 18 Wochen).¹⁵³

Unsere Studie verzeichnete eine nicht signifikante Differenz der Prävalenzen zwischen beiden Kohorten: in Kohorte 2 (Muttermilchpasteurisierung) sind 88 % (n=22/25), in Kohorte 1 72 % (n=18/25) aller Frühgeborenen mit gramnegativen Bakterien kolonisiert.

Gramnegative Bakterien stellen mit ihren pathogenen Eigenschaften gängige Infektionserreger des frühgeborenen Kindes dar. Sie gelten als führende Ursache einer EOS, in 20 % als Ursprung einer LOS und weisen hier eine erhöhte Mortalität im Vergleich zu grampositiven Erregern auf (Kapitel 5. Diskussion). K. Stock et al. betrachteten in ihrer Studie das Outcome einer LOS und einer NEC bei 323 Frühgeborenen mit einem Gestationsalter <32 SSW im Hinblick auf eine Ernährung mit unpasteurisierter versus pasteurisierter Muttermilch. Signifikante Prävalenzunterschiede einer LOS waren zwischen den beiden Kohorten nicht zu beobachten. Allerdings zeichnete sich ein nicht signifikanter Trend zur Reduktion des Auftretens einer NEC nach Erhalt von nicht pasteurisierter Muttermilch ab (2,4 % unpasteurisierte Muttermilch, 4,4 % pasteurisierte Muttermilch).¹⁶²

Schanler et al. hingegen postulierten in ihrer Studie nicht nur eine signifikante Reduktion des Auftretens einer NEC, sondern begleitend eine signifikante Reduktion der LOS-Prävalenzen nach Erhalt von Muttermilch. Bei der Studie handelt es sich um eine randomisiert verblindete Studie mit 243 Frühgeborenen (Gestationsalter <30 SSW) und einem Beobachtungszeitraum von 90 Tagen. Die Ernährung mit Muttermilch wurde hier mit pasteurisierter Spendermilch und/oder Frühgeborenen-Formulanahrung verglichen. Muttermilch wurde teilweise in allen

Kohorten verabreicht, in den Kohorten Spendermilch und/oder FrühgeborenenFormulanahrung jedoch in signifikant reduzierten Mengen. Begleitend präsentiert die Studie einen signifikant geringeren Nachweis an pathogenen Erregern, vor allem an gramnegativen Bakterien in Blutkulturen, nach Erhalt von Muttermilch. 6 % aller Blutkulturen der Muttermilch-Kohorte weisen hier gramnegative Bakterien auf, in der Kohorte mit pasteurisierter Spendermilch sind 14 % und in der Kohorte mit FrühgeborenenFormulanahrung sogar 22 % mit gramnegativen Bakterien kolonisiert. Sechs gramnegative Bakteriengattungen sind in der Studie von Schanler et al. zu beobachten, führend zeigen sich die Spezies *Escherichia coli* und *Klebsiella pneumoniae*.¹⁵⁹

Die Studie aus den Vereinigten Staaten von A. Smith et al. führt ebenfalls *E. coli*, *Klebsiella oxytoca* und *Klebsiella pneumoniae* als die drei häufigsten gramnegativen Spezies im Rahmen der Routineuntersuchung (mikrobiologischer Abstrich des Gastrointestinaltrakts) und in Blutkulturen auf.¹⁵³

Bereits in älteren Studien wird *Escherichia coli* als die primär präsenzte fakultativ anaerobe, gramnegative Bakterienspezies der Frühgeborenen innerhalb der ersten Lebenswoche beschrieben.^{163,164} K. Korpela et al. analysierten in ihrer Studie Stuhlproben von 45 Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von <1500 g. Die Ernährung erfolgte mit Muttermilch. In Assoziation zum postmenstruellen Alter waren zu Beginn Staphylokokken, Enterokokken, folgend als einzige gramnegative Bakteriengattung *Enterobacter* und abschließend Bifidobakterien nachzuweisen. Es zeigte sich jeweils eine >50 % Präsenz der Bakteriengattungen in den Stuhlproben. *Enterobacter* Spezies dominierten in der 35. sowie in der 45. bis 50. Woche des postmenstruellen Alters. Begleitend wurde die Kohorte mit einer holländischen Studienpopulation reifgeborener Kinder (n=187) verglichen.¹⁶⁵ Die Autoren wiesen anhand ihrer Ergebnisse auf eine an das (postmenstruelle) Alter des Kindes angepasste Entwicklung der Mikroflora des Darms hin. Sie entsprach mit steigendem Alter der des reifgeborenen Kindes. Muttermilch wurde auch hier als positiver Einflussfaktor postuliert.¹⁶⁶

Mit einer Prävalenz von 58 % in der gesamten Studienpopulation stellt *Enterobacter* ebenfalls die dominanteste gramnegative Bakteriengattung in unserer Studie dar. Eine signifikante Differenz zwischen beiden Studienpopulationen ist zu beobachten. In Kohorte 1 zeigen sich 40 % und in Kohorte 2 sogar 76 % kolonisiert (p=0,010) (Tabelle 2). *Klebsiella* (32 %) und *Escherichia (E. coli)* (30 %) gehören ebenfalls zu den präsentesten Bakteriengattungen in unserer Studie. *Acinetobacter* Spezies (22 %) sind weitere häufige Vertreter, in unserer Studie jedoch nur in Kohorte 1 nachzuweisen, hier weisen 44 % der Frühgeborenen ohne pasteurisierte Muttermilch eine Kolonisation auf.

Ob die in unserer Studie vorliegende alleinige Kolonisation der Frühgeborenen aus Kohorte 1 mit der Gattung *Acinetobacter* als Zufallsbefund zu werten ist oder aus einer möglichen

Umgebungskolonisation, bestehend zum damaligen Zeitpunkt, resultiert konnte nicht beantwortet werden.

Die hier genannten vier häufigsten gramnegativen Bakteriengattungen unserer Studie beinhalten fakultativ pathogene Spezies (Kapitel 2.8. Gramnegative Bakterien).

Eine Dysbiose mit Dominanz potenziell pathogener Erreger und reduzierter Anzahl an Bifidobakterien, Bakteroides und Atopobium, gilt unter anderem als Unterschied in der bakteriellen Kolonisation zwischen einem reif- und einem frühgeborenen Kind.¹⁶⁷

Einige Studien postulierten bei Abwesenheit von Bifidobakterien und bei vermehrter Präsenz von Proteobakterien, wie *Enterobacter* spp. eine Risikoassoziation zum Auftreten von Sepsen und NEC bei frühgeborenen Kindern.^{88,168–170}

Bifidobakterien werden mit Hilfe des entero-mammären Weges über die Muttermilch übertragen (siehe Kapitel 2.4. Zusammensetzung und Eigenschaften der nichtpasteurisierten Muttermilch sowie deren Einfluss auf die Entstehung des kindlichen gastrointestinalen Mikrobioms).

Eine Transmission gramnegativer Bakterien über die Muttermilch auf das frühgeborene Kind fand in einer estländischen Studie von Ü. Parm et al. nur selten statt.¹⁷¹ Stuhlproben und Hautabstriche von 49 Frühgeborenen mit einem Gestationsalter <37 SSW, sowie Milchproben der Mütter wurden mikrobiologisch untersucht und miteinander verglichen. Die Ergebnisse zeigten eine geringe und flüchtige gramnegative Kolonisation der Muttermilch, eine Transmission auf das Frühgeborene erfolgte in weniger als 1/10 aller Fälle. Auch in dieser Studie wurde eine hohe bakterielle gramnegative Kolonisation des Gastrointestinaltraktes der frühgeborenen Kinder von 89,9 % (95 % CI 77.8– 96.7 %) beschrieben. Dominierende Spezies waren *Klebsiella oxytoca* und *Enterobacter cloacae*. Eine bakterielle gramnegative Hautkolonisation war in 26,5 % (95 % CI 14.9–41.1%) zu beobachten. Die Studie wies keine Assoziation zwischen dem Vorkommen gramnegativer Bakterien in der Muttermilch und dem Auftreten einer durch gramnegative Bakterien induzierte LOS nach.

Weitere Einflussfaktoren der mikrobiellen und somit einer möglichen bakteriellen gramnegativen Kolonisation der Frühgeborenen stellen die Haut der Eltern sowie des medizinischen Personals, die Anwendung von Antibiotika und vor allem die Krankenhausumgebung, medizinische Geräte und Behandlungsinterventionen dar.¹⁷²

Diverse Studien verwiesen auf eine differente Kolonisation des gastrointestinalen Mikrobioms, abhängig von den mikrobiellen Gegebenheiten der neonatologischen Intensivstation.^{89,173–175}

Als Ursprung bakterieller gramnegativer Kolonisationen der Frühgeborenen gelten beispielsweise enterale Ernährungssonden sowie das teilweise feucht-kalte Milieu der Inkubatoren.^{176–178}

Welche Rolle spielt nun die Ernährung mit pasteurisierter Mutter- und/oder Spendermilch im Hinblick auf die bakterielle gramnegative Kolonisation des frühgeborenen Kindes? Wie lässt sich der Trend zum vermehrten Auftreten von gramnegativen Bakterien nach Erhalt von pasteurisierter Mutter- und/oder Spendermilch erklären?

Zusammenfassend ist ein Fokus auf die geringe Variabilität des frühgeburtlichen Mikrobioms zu legen.⁸⁹ Diese reduzierte Erregervielfalt wird durch die Begleitumstände der Frühgeburt geprägt, die Ernährung des frühgeborenen Kindes gilt hier als ein Einflussfaktor von vielen. Eine Überpopulation pathogener Organismen mit folgender Dysbiose kann resultieren.⁹⁵

Durch den Pasteurisierungsprozess der Muttermilch werden potenziell probiotische Bakterien, welche schützend wirken und zur großen Variabilität des Mikrobioms beitragen, eliminiert.^{34,63}

Das bakterielle Gleichgewicht der Muttermilch wird beschädigt. Es zeigt sich eine signifikant höhere bakterielle Wachstumsrate in mittels Holder-Methode pasteurisierter Muttermilch. Auch durch den Pasteurisierungsprozess erworbene Kontaminationserreger können sich schneller vermehren.³⁴ Gramnegative Bakterien könnten somit einen Vorteil in der Kolonisation eines mit pasteurisierter Muttermilch ernährten Kindes erfahren.

Neben der in unserer Studie im Vordergrund stehenden Muttermilchpasteurisierung im Hinblick auf eine bakterielle gramnegative Kolonisation der Frühgeborenen, üben hier ebenfalls ein geringes Gestationsalter sowie ein niedriges Geburtsgewicht einen positiven Effekt auf das Vorliegen von gramnegativen Bakterien aus.

In der bereits zitierten Studie aus den Vereinigten Staaten von A. Smith et al. galt ein Geburtsgewicht von >1000 g als Risikofaktor für eine bakterielle gramnegative Kolonisation (HR (CI95)=1,56 (1,21-2,00); p=<0,001).¹⁵³ Hingegen sich in der Studie von P.L.Graham die Prävalenz einer durch gramnegative Bakterien ausgelösten Sepsis mit einem niedrigeren Geburtsgewicht erhöhte (Geburtsgewicht <750 g = 16,9 % (n=22/130), 1250-1499 g = 3,9 % (n=6/155)).¹⁵¹

Die Ergebnisse unserer Studie reihen sich in den Kontext der Forschung ein. Es bleibt festzuhalten, dass die Muttermilchpasteurisierung nicht nur in unserer Studie einen Trend zum Vorhandensein gramnegativer Bakterien bei Frühgeborenen birgt; sie gilt als potentieller Risikofaktor einer vermehrten bakteriellen gramnegativen Kolonisation und folgend als möglicher Risikofaktor einer LOS und anderen mit der Frühgeburt assoziierten Morbiditäten.¹⁵⁹

Doch ist die Indikation der Muttermilchpasteurisierung, die Prävention einer pCMV-Infektion bei Frühgeborenen, nicht außer Acht zu lassen. K. Stock et al. präsentierten in ihrer Studie eine signifikant höhere Prävalenz postnataler CMV-Infektionen nach Erhalt von unpasteurisierter Muttermilch (p=0,008). Eine symptomatische pCMV-Infektion wurde in der Studie jedoch nicht beschrieben.¹⁶² Bei in der Literatur stark schwankenden Angaben

hinsichtlich Inzidenz und Symptomatik einer pCMV-Infektion, beschrieben P. Bimboese et al. hingegen in ihrer Studie bei 22 % der pCMV-infizierten Frühgeborenen (Gestationsalter <32 SSW) eine schwere Symptomatik.²⁴

Es gilt, das Merkmal Muttermilchpasteurisierung bei Frühgeborenen im Hinblick auf eine bakterielle gramnegative Kolonisation, das eventuelle Auftreten einer durch gramnegative Bakterien induzierten Sepsis mit möglichen Spätfolgen und die Risikoreduktion einer ebenfalls potenziell für das Frühgeborene lebensbedrohlichen pCMV-Infektion in Relation zu setzen.

5.3. Limitationen

Eine Reihe von Limitationen verleihen unserer Studie eine relativierte Aussagekraft. Primär steht die geringe Fallzahl des Gesamtkollektives und somit der beiden Kohorten im Vordergrund. Ein Trend ist zu beobachten, jedoch ohne statistische Signifikanz.

Ferner wurde pro Woche nur ein mikrobiologisches Abstrichergebnis eines jeden Frühgeborenen betrachtet, obwohl teilweise mehrere Kolonisations-Screenings innerhalb einer Woche erfolgten. Es ist somit anzunehmen, dass nicht immer alle Erreger und somit nicht immer alle gramnegativen Bakteriengattungen eines jeden Frühgeborenen detektiert wurden. Ergänzend muss darauf hingewiesen werden, dass die mikrobiologischen Untersuchungen durch die Empfehlungen der KRINKO als klinisch-mikrobiologisches Screening zur Dokumentation des Kolonisationsstatus bei intensiv medizinisch behandelten Frühgeborenen veranlasst wurden. Eine retrospektive Datenerhebung der mikrobiologischen Befunde erfolgte; begleitende Informationen über die Klinik des entsprechenden Frühgeborenen, ob, wo und wann ein Infektionsverdacht vorlag wurden nicht berücksichtigt. Inzidenzangaben über nachfolgende Erkrankungen durch gramnegative Bakterien, vor allem im Verhältnis zur bakteriellen gramnegativen Kolonisation, bietet unsere retrospektive Studie nicht.

Innerhalb der jeweiligen Kohorten vorliegende frühgeburtliche Komorbiditäten und eine damit verbundene mögliche Reduktion des Allgemeinzustandes, medizinische Interventionen (z.B. Beatmung) und Prozeduren (z.B. chirurgische Eingriffe), welche ebenfalls eine potentielle Kolonisationsquelle bergen, waren uns nicht bekannt.

Als weitere Limitation ist die fehlende Differenzierung der Abstrichorte (Ohr, Magensaft, anal/rektal). zu werten. Viele gramnegative Bakterien gelten als fakultativ pathogene Erreger. Erst durch Delokalisationen an andere, atypische Körperregionen erlangen Sie pathogene Eigenschaften.

Neben dem primär zu untersuchenden Risikofaktor Muttermilchpasteurisierung fanden in unseren Modellen die Merkmale Gestationsalter und Geburtsgewicht Beachtung. Weitere, bereits in der Studie aus den Vereinigten Staaten von A. Smith et al. beschriebene Risikofaktoren mit der Outcome-Variablen einer vermehrten bakteriellen gramnegativen Kolonisation, wie beispielsweise der Geburtsvorgang (vaginale Geburt), eine lange

antibiotische Therapie (Carbapeneme)¹⁵³ und eine pränatale antibiotische Therapie der Mutter wurden in unsere Studie nicht miteingeschlossen.

Die fehlende Kenntnis über die bakterielle Kolonisation der Krankenhausumgebung (Station) während des jeweiligen Studienzeitraumes ist ebenfalls als Limitation zu bezeichnen. Die Krankenhausumgebung gilt als potentielle Quelle gramnegativer Bakterien (siehe Kapitel 5.2. Einordnung der Ergebnisse in den Kontext anderer Studien).

Ferner wurden das Resistenzverhalten der Bakterien und die damit verbundene Einstufung der Therapiemöglichkeiten nicht berücksichtigt.

Entscheidendes Charakteristikum und Grundlage unserer Studie ist die Ernährung der Frühgeborenen mit nicht pasteurisierter bzw. pasteurisierter Mutter- und/oder Spendermilch.

Die Aussagekraft der Ergebnisse wird jedoch durch die fehlenden Mengenangaben der Muttermilch, den nicht dokumentierten Zeitraum der Muttermilchzufuhr und durch eine fehlende Differenzierung zwischen pasteurisierter Mutter- und/oder Spendermilch reduziert. Als abschließende Limitation ist die fehlende Kenntnis über die Inzidenz einer möglichen pCMV-Infektion nach Erhalt von nicht pasteurisierter Muttermilch im Vergleich zu pasteurisierter Mutter- und/oder Spendermilch zu werten.

5.4. Schlussfolgerung und Ausblick

Zusammenfassend präsentiert die Studie auf der Basis retrospektiv erfasster mikrobiologischer Daten die bakterielle gramnegative Kolonisation nach Erhalt nicht pasteurisierter versus pasteurisierter Mutter- und/oder Spendermilch bei einem Patientenkollektiv von 50 Frühgeborenen (Gestationsalter ≤ 29 SSW, Geburtsgewicht < 1500 g). Es erfolgte eine differenzierte Betrachtung zweier Kohorten. Die Ergebnisse zeigten einen Trend zum vermehrten Nachweis gramnegativer Bakterien nach Erhalt pasteurisierter Mutter- und/oder Spendermilch. Ferner barg die Muttermilchpasteurisierung das mögliche Risiko einer vermehrten Anzahl an und eine längere Kolonisationsdauer mit gramnegativen Bakterien.

Eine statistische Signifikanz der Ergebnisse ist nicht vorhanden; jedoch galt die Muttermilchpasteurisierung auch im Kontext anderer Studien als potentieller Risikofaktor für die Kolonisation mit gramnegativen Bakterien sowie unter anderem als Risikofaktor einer LOS. Interessanterweise stellten in unserer Studie neben der Pasteurisierung ein geringes Gestationsalter und ein niedriges Geburtsgewicht ebenfalls einen potentiellen Risikofaktor für das Auftreten gramnegativer Bakterien dar.

Die vorliegende retrospektiv klinische Beobachtungsstudie soll als Grundlage für weitere mögliche Studien dienen.

Um den Trend der gewonnenen Ergebnisse zu stützen und ein statistisches Signifikanzniveau zu erzielen, gilt es in einer neuen Studie ein größeres Patientenkollektiv zu wählen.

Ferner sollten alle mikrobiologischen Abstrichdaten verwendet, deren Entnahmelokalisation dokumentiert und in die Auswertung miteingeschlossen werden.

Die Betrachtung möglicher weiterer, mit der Frühgeburt assoziierter Risikofaktoren hinsichtlich des Auftretens gramnegativer Bakterien ist ebenfalls von Relevanz.

Welche weiteren Risikofaktoren bestehen und können durch eine größere Studie bestätigt werden? Üben diese Risikofaktoren Einfluss auf die gramnegative Kolonisation aus?

Zudem stellt sich die Frage: Welche Konsequenz birgt die sich in dieser Studie abzeichnende vermehrte bakterielle gramnegative Kolonisation der Frühgeborenen mit folgender Dysbiose? Führen die nachgewiesenen Erreger zu steigenden Inzidenzen frühgeburtlicher Infektionen, Sepsen und Entzündungsreaktionen?

Inzidenzangaben bezüglich des Auftretens von Infektionen und Sepsen sollten in Relation zur Kolonisation mit gramnegativen Bakterien gesetzt werden. Für die folgenden Therapieoptionen wäre auch das Resistenzverhalten der Bakterien von Relevanz.

Ein weiterer Aspekt wäre die Betrachtung der Muttermilchmenge: welche Menge an Muttermilch ist notwendig um eine Differenz der bakteriellen gramnegativen Kolonisation hervorzurufen?

W. Corpeleijn et al. postulierten beispielsweise in ihrer Studie eine signifikante Risikoreduktion des Auftretens einer Sepsis bei Frühgeborenen (Geburtsgewicht <1500 g) nach einer Ernährung mit >50 % Muttermilch in den ersten fünf Lebenstagen¹⁷⁹. Gilt dies möglicherweise ebenfalls für die Kolonisation mit gramnegativen Bakterien?

Zuletzt sollten weitere Studien ebenfalls die Inzidenzen eventueller pCMV-Infektionen und die damit verbundene Klinik der Frühgeborenen dokumentieren. Denn das Risiko einer möglichen pCMV-Infektion bei Frühgeborenen rechtfertigt die Indikation zur Muttermilchpasteurisierung.

Es gilt, die bakterielle gramnegative Kolonisation, in der Folge auftretende Infektionen und Sepsen sowie pCMV-Infektionen und deren Folgen für das frühgeborene Kind in Bezug auf die Muttermilchpasteurisierung zu untersuchen.

Die Muttermilch birgt unzählige, auch nachhaltig positive Effekte für das früh- und reifgeborene Kind, diese Annahme wird in unserer Studie durch eine Reduktion gramnegativer Bakterien nach Erhalt von unpasteurisierter Muttermilch untermauert.

Hieraus ergibt sich ein fortbestehender Anreiz nach weiteren möglichen Präventionsmaßnahmen einer pCMV-Infektion zu suchen; denn es gilt die protektiven, immunitätsfördernden, an den Bedarf des Kindes angepassten Bestandteile der unpasteurisierten Muttermilch zu bewahren und eine für das frühgeborene potentiell gefährliche pCMV-Infektion zu vermeiden.

6. Literaturverzeichnis

- 1 Sodeik B, Messerle M, Schulz T. Herpesviren, In: Suerbaum S, Burchard G-D, Kaufmann SHE, Schulz TF. Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. In 8_ Berlin, Heidelberg, Springer Verlag, 2016.
- 2 Zuhair M, Smit GSA, Wallis G, et al. Estimation of the worldwide seroprevalence of cytomegalovirus: A systematic review and meta-analysis. *Rev Med Virol.* 2019; 29: e2034.
- 3 Herold G, und Mitarbeiter. Innere Medizin, Eine vorlesungsorientierte Darstellung. Köln , 2015.
- 4 Mertens T, Haller OA, Klenk H-D. Diagnostik und Therapie von Viruskrankheiten. Leitlinien der Gesellschaft für Virologie. In 2: München: Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH, 2004.
- 5 Epidemiologisches Bulletin, RKI Ratgeber für Ärzte, Zytomegalievirusinfektion. Robert Koch Institut. https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2014/Ausgaben/03_14.pdf?__blob=publicationFile (Zuletzt abgerufen am 15.06.2022).
- 6 Kadambari S, Whittaker E, Lyall H. Postnatally acquired cytomegalovirus infection in extremely premature infants: how best to manage? *Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal Edition* 2020; 105: 334–9.
- 7 Richardson BA, John-Stewart G, Atkinson C, et al. Vertical Cytomegalovirus Transmission From HIV-Infected Women Randomized to Formula-Feed or Breastfeed Their Infants. *Journal of Infectious Diseases* 2016; 213: 992–8.
- 8 Stagno S, Pass RF, Dworsky ME, et al. Congenital cytomegalovirus infection: the relative importance of primary and recurrent maternal infection. *New England Journal of Medicine* 1982; 306: 945–9.
- 9 Reynolds DW, Stagno S, Hosty TS, Tiller M, Alford CA. Maternal cytomegalovirus excretion and perinatal infection. *New England Journal of Medicine* 1973; 289: 1–5.
- 10 Hayes K, Danks DM, Gibas H, Jack I. Cytomegalovirus in human milk. *New England Journal of Medicine* 1972; 287: 177–8.
- 11 Kumar ML, Nankervis GA, Cooper AR, Gold E. Postnatally acquired cytomegalovirus infections in infants of CMV-excreting mothers. *J Pediatr* 1984; 104: 669–73.
- 12 Stagno S, Reynolds DW, Pass RF, Alford CA. Breast milk and the risk of cytomegalovirus infection. *New England Journal of Medicine* 1980; 302: 1073–6.
- 13 Hamprecht K, Maschmann J, Vochem M, Dietz K, Speer CP, Jahn G. Epidemiology of transmission of cytomegalovirus from mother to preterm infant by breastfeeding. *The Lancet* 2001; 357: 513–8.

- 14 Bardanzellu F, Fanos V, Reali A. Human breast milk-acquired cytomegalovirus infection: certainties, doubts and perspectives. *Curr Pediatr Rev* 2018; 15: 30–41.
- 15 Lee HC, Enright A, Benitz WE, Madan A. Postnatal cytomegalovirus infection from frozen breast milk in preterm, low birth weight infants. *Pediatric Infectious Disease Journal* 2007; 26: 276.
- 16 Chiavarini M, Bragetti P, Sensini A, et al. Breastfeeding and transmission of cytomegalovirus to preterm infants. Case report and kinetic of CMV-DNA in breast milk. *Ital J Pediatr* 2011; 37: 6.
- 17 Kurath S, Halwachs-Baumann G, Müller W, Resch B. Transmission of cytomegalovirus via breast milk to the prematurely born infant: a systematic review. *Clinical Microbiology and Infection* 2010; 16: 1172–8.
- 18 Pilar R-GM, Marta C, María Teresa M-B, et al. Evaluation of cytomegalovirus infection in low-birth weight children by breast milk using a real-time polymerase chain reaction assay. *J Med Virol* 2015; 87: 845–50.
- 19 Stagno S, Pass RF, Dworsky ME, Alford CA. Congenital and perinatal cytomegalovirus infections. *Semin Perinatol* 1983; 7: 31–42.
- 20 Bryant P, Morley C, Garland S, Curtis N. Cytomegalovirus transmission from breast milk in premature babies: does it matter? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2002; 87: F75-7.
- 21 Nijman J, van Loon AM, Krediet TG, Verboon-Maciolek MA. Maternal and neonatal anti-cytomegalovirus IgG level and risk of postnatal cytomegalovirus transmission in preterm infants. *J Med Virol* 2013; 85: 689–95.
- 22 Mehler K, Oberthuer A, Lang-Roth R, Kribs A. High rate of symptomatic cytomegalovirus infection in extremely low gestational age preterm infants of 22-24 Weeks' gestation after transmission via breast milk. *Neonatology* 2014; 105: 27–32.
- 23 Maschmann J, Hamprecht K, Dietz K, Jahn G, Speer CP. Cytomegalovirus infection of extremely low-birth weight infants via breast milk. *Clinical Infectious Diseases* 2001; 33: 1998–2003.
- 24 Bimboese P, Kadambari S, Tabrizi SN, et al. Postnatal cytomegalovirus infection of preterm and very-low-birth-weight infants through maternal breast milk: does It matter? *The Pediatric Infectious Disease Journal* • 2022; 41: 343–51.
- 25 Stark A, Cantrell S, Greenberg RG, Permar SR, Weimer KED. Long-term outcomes after postnatal cytomegalovirus infection in low birthweight preterm infants: a systematic review. *Pediatric Infectious Disease Journal*. 2021; 40: 571–81.
- 26 Yeager AS, Palumbo PE, Malachowski N, Ariagno RL, Stevenson DK. Sequelae of maternally derived cytomegalovirus infections in premature infants. *J Pediatr* 1983; 102: 918–22.

- 27 Vochem M, Md ;, Hamprecht K, Md G, Speer CP, Md. Transmission of cytomegalovirus to preterm infants through breast milk. *Pediatr Infect Dis J* 1998; 17: 53–8.
- 28 Faure-Bardon V, Magny J-F, Parodi M, et al. Sequelae of congenital cytomegalovirus following maternal primary infections are limited to those acquired in the first trimester of pregnancy. *Clinical Infectious Diseases* 2019; 69: 1526–32.
- 29 Rawlinson WD, Boppana SB, Fowler KB, et al. Congenital cytomegalovirus infection in pregnancy and the neonate: consensus recommendations for prevention, diagnosis, and therapy. *Lancet Infect Dis.* 2017; 17: e177–88.
- 30 DGPI - Deutsche Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie e.V., Berner R, Bialek R, et al. Zytomegalie, In: Deutsche Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie DGPI, DGPI Handbuch, Infektionen bei Kindern und Jugendlichen. Stuttgart, New York: Thieme (Verlag) , 2018.
- 31 Klotz D, Joellenbeck M, Winkler K, Kunze M, Huzly D, Hentschel R. High-temperature short-time pasteurisation of human breastmilk is efficient in retaining protein and reducing the bacterial count. *Acta Paediatr* 2017; 106: 763–7.
- 32 Hamprecht K, Maschmann J, Müller D, et al. Cytomegalovirus (CMV) inactivation in breast milk: reassessment of pasteurization and freeze-thawing. *Pediatr Res* 2004; 56: 529–35.
- 33 Balcells C, Botet F, Gayete S, et al. Vertically transmitted cytomegalovirus infection in newborn preterm infants. *J Perinat Med* 2016; 44: 485–90.
- 34 Ford JE, Law BA, Marshall VME, Reiter B. Influence of the heat treatment of human milk on some of its protective constituents. *J Pediatr* 1977; 90: 29–35.
- 35 Evans TJ, Ryley HC, Neale LM, Dodge JA, Lewarne VM. Effect of storage and heat on antimicrobial proteins in human milk. *Arch Dis Child* 1978; 53: 239–41.
- 36 Arslanoglu S, Corpeleijn W, Moro G, et al. Donor Human Milk for Preterm Infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013; 57: 535–42.
- 37 Christen L, Lai CT, Hartmann B, Hartmann PE, Geddes DT. The Effect of UV-C pasteurization on bacteriostatic properties and immunological proteins of donor human milk. *PLoS One* 2013; 8: e85867.
- 38 California perinatal quality care collaborative. California Perinatal Quality Care Collaborative (CPQCC) (2008) NICU nutrition toolkit II – nutritional support of the VLBW infant: Appendix. CPQCC, Palo Alto, https://www.cpqcc.org/sites/default/files/NUTRITIONAL_SUPPORT_OF_THE_VLBW_INFANT_-_REVISED_2008EntireToolkit.pdf (zuletzt abgerufen am 07.02.2023).
- 39 Hamprecht K, Maschmann J, Jahn G, Poets CF, Goelz R. Cytomegalovirus transmission to preterm infants during lactation. *Journal of Clinical Virology* 2008; 41: 198–205.
- 40 Zwiauer K. Prävention von CMV-Infektionen bei Frühgeborenen durch Muttermilch.

- Monatsschrift Kinderheilkunde 2009; 157: 795–7.
- 41 Eidelman AI, Schanler RJ, Johnston M, et al. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics* 2012; 129: e827–41.
- 42 Tudehope DI. Human milk and the nutritional needs of preterm infants. *J Pediatr* 2013; 162: S17–25.
- 43 Boquien C-Y. Human milk: an ideal food for nutrition of preterm newborn. *Front Pediatr* 2018; 6: 295.
- 44 Haiden N, Wald M, Berger A. Prävention von CMV-Infektionen bei Frühgeborenen (<28 + 0 SSW oder einem Geburtsgewicht <1000 g) durch Muttermilch – Update 2018. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 2019; 167: 323–8.
- 45 Gargano LM, Hughes JM. Microbial origins of chronic diseases. *Annu Rev Public Health* 2014; 35: 65–82.
- 46 Houghteling PD, Walker WA. Why is initial bacterial colonization of the intestine important to infants' and children's health? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2015; 60: 294–307.
- 47 Victora CG, Bahl R, Barros AJD, et al. Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *The Lancet* 2016; 387: 475–90.
- 48 Castellote C, Casillas R, Ramírez-Santana C, et al. Premature delivery influences the immunological composition of colostrum and transitional and mature human milk. *J Nutr* 2011; 141: 1181–7.
- 49 Karall D, Nindl G, Zittera I, et al. Stillen und Stillberatung. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 2020; 168: 547–60.
- 50 Lyons KE, Ryan CA, Dempsey EM, Ross RP, Stanton C. Breast milk, a source of beneficial microbes and associated benefits for infant health. *Nutrients*. 2020; 12: 1039.
- 51 Jenness R. The composition of human milk. *Semin Perinatol* 1979; 3: 225–39.
- 52 Martín R, Langa S, Reviriego C, et al. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J Pediatr* 2003; 143: 754–8.
- 53 Martín R, Jiménez E, Olivares M, et al. *Lactobacillus salivarius* CECT 5713, a potential probiotic strain isolated from infant feces and breast milk of a mother–child pair. *Int J Food Microbiol* 2006; 112: 35–43.
- 54 Fernández L, Langa S, Martín V, et al. The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol Res* 2013; 69: 1–10.
- 55 Milani C, Duranti S, Bottacini F, et al. The first microbial colonizers of the human gut: composition, activities, and health implications of the infant gut microbiota. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 2017; 81: e00036-17.
- 56 Ding T, Schloss PD. Dynamics and associations of microbial community types across the human body. *Nature* 2014; 509: 357–60.

- 57 Chen P-W, Lin Y-L, Huang M-S. Profiles of commensal and opportunistic bacteria in human milk from healthy donors in Taiwan. *J Food Drug Anal* 2018; 26: 1235–44.
- 58 Ramsay DT, Kent JC, Owens RA, Hartmann PE. Ultrasound imaging of milk ejection in the breast of lactating women. *Pediatrics* 2004; 113: 361–7.
- 59 Ramsay DT, Mitoulas LR, Kent JC, Larsson M, Hartmann PE. The use of ultrasound to characterize milk ejection in women using an electric breast pump. *Journal of Human Lactation* 2005; 21: 421–8.
- 60 Rodríguez JM. The origin of human milk bacteria: is there a bacterial entero-mammary pathway during late pregnancy and lactation? *Advances in Nutrition* 2014; 5: 779–84.
- 61 Kordy K, Gaufin T, Mwangi M, et al. Contributions to human breast milk microbiome and enteromammary transfer of *Bifidobacterium breve*. *PLOS ONE* 2020; 15: e0219633.
- 62 Jost T, Lacroix C, Braegger CP, Rochat F, Chassard C. Vertical mother-neonate transfer of maternal gut bacteria via breastfeeding. *Environ Microbiol* 2014; 16: 2891– 904.
- 63 Sakanaka M, Gotoh A, Yoshida K, et al. Varied Pathways of Infant Gut-Associated *Bifidobacterium* to Assimilate Human Milk Oligosaccharides: Prevalence of the Gene Set and Its Correlation with *Bifidobacteria*-Rich Microbiota Formation. *Nutrients* 2019; 12: 71.
- 64 Berrington JE, Stewart CJ, Cummings SP, Embleton ND. The neonatal bowel microbiome in health and infection. *Curr Opin Infect Dis* 2014; 27: 236–43.
- 65 Azad MB, Konya T, Maughan H, et al. Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months. *Can Med Assoc J* 2013; 185: 385–94.
- 66 Saarela T, Kokkonen J, Koivisto M. Macronutrient and energy contents of human milk fractions during the first six months of lactation. *Acta Paediatr* 2007; 94: 1176–81.
- 67 de Figueiredo CSM, Palhares DB, Melnikov P, da Cruz Montes Moura AJ, dos Santos SC. Zinc and copper Concentrations in human preterm milk. *Biol Trace Elem Res* 2010; 136: 1–7.
- 68 O'Brien CE, Krebs NF, Westcott JL, Fang Dong. Relationships among plasma zinc, plasma prolactin, milk transfer, and milk zinc in lactating women. *Journal of Human Lactation* 2007; 23: 179–83.
- 69 Dvorak B, Fituch CC, Williams CS, Hurst NM, Schanler RJ. Increased Epidermal Growth Factor Levels in Human Milk of Mothers with Extremely Premature Infants. *Pediatr Res* 2003; 54: 15–9.
- 70 Gross SJ, Buckley RH, Wakil SS, McAllister DC, David RJ, Faix RG. Elevated IgA concentration in milk produced by mothers delivered of preterm infants. *J Pediatr* 1981; 99: 389–93.
- 71 Moreno FJ, Sanz ML. *Food Oligosaccharides: Production, Analysis and Bioactivity* . Hoboken, New Jersey, Vereinigte Staaten: Wiley-Blackwell, 2014.

- 72 Montagne P, Cuillière ML, Molé C, Béné MC, Faure G. Immunological and nutritional composition of human milk in relation to prematurity and mother's parity during the first 2 weeks of lactation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 29: 75–80.
- 73 Gopalakrishna KP, Hand TW. Influence of Maternal Milk on the Neonatal Intestinal Microbiome. *Nutrients* 2020; 12: 823.
- 74 Lewis ED, Richard C, Larsen BM, Field CJ. The importance of human milk for immunity in preterm Infants. *Clin Perinatol*. 2017; 44: 23–47.
- 75 Bharwani SK, Green BF, Pezzullo JC, Bharwani SS, Bharwani SS, Dhanireddy R. Systematic review and meta-analysis of human milk intake and retinopathy of prematurity: a significant update. *Journal of Perinatology* 2016; 36: 913–20.
- 76 Spiegler J, Preuß M, Gebauer C, et al. Does breastmilk influence the development of bronchopulmonary dysplasia? *J Pediatr* 2016; 169: 76-80.
- 77 Dogaru CM, Nyffenegger D, Pescatore AM, Spycher BD, Kuehni CE. Breastfeeding and childhood asthma: systematic review and meta-analysis. *Am J Epidemiol* 2014; 179: 1153–67.
- 78 Odijk J, Kull I, Borres MP, et al. Breastfeeding and allergic disease: a multidisciplinary review of the literature (1966-2001) on the mode of early feeding in infancy and its impact on later atopic manifestations. *Allergy* 2003; 58: 833–43.
- 79 Quigley M, Henderson G, Anthony MY, McGuire W. Formula milk versus donor breast milk for feeding preterm or low birth weight infants. In: Quigley M, ed. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2007: CD002971.
- 80 Sullivan S, Schanler RJ, Kim JH, et al. An exclusively human milk-based diet is associated with a lower rate of necrotizing enterocolitis than a diet of human milk and bovine milk-based products. *J Pediatr* 2010; 156: 562-567.e1.
- 81 Herrmann K, Carroll K. An exclusively human milk diet reduces necrotizing enterocolitis. *Breastfeeding Medicine* 2014; 9: 184–90.
- 82 Narayanan I, Bala S, Prakash K, Verma RK, Gujral VV. Partial supplementation with expressed breast-milk for prevention of infection in low-birth-weight infants. *The Lancet* 1980; 2: 561–3.
- 83 Contreras-Lemus J, Flores-Huerta S, Cisneros-Silva I, et al. Morbidity reduction in preterm newborns fed with milk of their own mothers. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1992; 49: 671–7.
- 84 Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW, Knight R. Defining the human microbiome. *Nutr Rev* 2012; 70: S38–44.
- 85 Mueller NT, Bakacs E, Combellick J, Grigoryan Z, Dominguez-Bello MG. The infant microbiome development: mom matters. *Trends Mol Med* 2015; 21: 109–17.

- 86 Neu J, Rushing J. Cesarean Versus Vaginal Delivery: Long-term Infant Outcomes and the Hygiene Hypothesis. *Clin Perinatol* 2011; 38: 321–31.
- 87 Granger CL, Embleton ND, Palmer JM, Lamb CA, Berrington JE, Stewart CJ. Maternal breastmilk, infant gut microbiome and the impact on preterm infant health. *Acta Paediatr* 2021; 110: 450–7.
- 88 Wang Y, Hoenig JD, Malin KJ, et al. 16S rRNA gene-based analysis of fecal microbiota from preterm infants with and without necrotizing enterocolitis. *ISME J* 2009; 3: 944–54.
- 89 Costello EK, Carlisle EM, Bik EM, Morowitz MJ, Relman DA. Microbiome Assembly across Multiple Body Sites in Low-Birthweight Infants. *mBio* 2013; 4.
- 90 Olm MR, Brown CT, Brooks B, et al. Identical bacterial populations colonize premature infant gut, skin, and oral microbiomes and exhibit different in situ growth rates. *Genome Res* 2017; 27: 601–12.
- 91 Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, et al. Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell Host Microbe* 2015; 17: 852.
- 92 Yassour M, Vatanen T, Siljander H, et al. Natural history of the infant gut microbiome and impact of antibiotic treatment on bacterial strain diversity and stability. *Sci Transl Med* 2016; 8.
- 93 Aloisio I, Mazzola G, Corvaglia LT, et al. Influence of intrapartum antibiotic prophylaxis against group B Streptococcus on the early newborn gut composition and evaluation of the anti-Streptococcus activity of Bifidobacterium strains. *Appl Microbiol Biotechnol* 2014.
- 94 Brooks B, Firek BA, Miller CS, et al. Microbes in the neonatal intensive care unit resemble those found in the gut of premature infants. *Microbiome* 2014; 2: 1.
- 95 Baranowski JR, Claud EC. Necrotizing Enterocolitis and the Preterm Infant Microbiome. 2019: 25–36.
- 96 Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R. The Impact of the Gut Microbiota on Human Health: An Integrative View. *Cell* 2012; 148: 1258–70.
- 97 Stewart CJ, Embleton ND, Marrs ECL, et al. Longitudinal development of the gut microbiome and metabolome in preterm neonates with late onset sepsis and healthy controls. *Microbiome* 2017; 5: 75.
- 98 Collins A, Weitkamp J-H, Wynn JL. Why are preterm newborns at increased risk of infection? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2018; 103: F391–4.
- 99 Sepsis bei Neugeborenen-frühe Form-durch Streptokokken der Gruppe B, Prophylaxe. AWMF online, das Portal der wissenschaftlichen Medizin. https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/024-020I_S2k_Prophylaxe_Neugeborenensepsis_Streptokokken_2016-04-abgelaufen.pdf (Zuletzt abgerufen am 21.06.2022).

- 100 Schwab F, Zibell R, Piening B, Geffers C, Gastmeier P. Mortality due to bloodstream infections and necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatric Infectious Disease Journal* 2015; 34: 235–40.
- 101 Definition nosokomialer Infektionen für die Surveillance im Krankenhaus-InfektionsSurveillance-System (KISS-Definitionen). Nationales Referenzzentrum für Surveillance von nosokomialen Infektionen. Robert-Koch-Intstitut. https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Nosokomiale_Infektionen/Downloads/RKI_Definitionen_nosokomialer_Infektionen_E-Book.pdf?__blob=publicationFile (Zuletzt abgerufen am 21.06.2022).
- 102 Zemlin M, Berger A, Franz A et al. Bakterielle Infektionen bei Neugeborenen, AWMF online, das Portal der wissenschaftlichen Medizin. https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/024-008I_S2k_Bakterielle_Infektionen_Neugeborene_2021-03.pdf (Zuletzt abgerufen am 21.06.2022).
- 103 Ussat M, Vogtmann C, Gebauer C, Pulzer F, Thome U, Knüpfer M. The role of elevated central-peripheral temperature difference in early detection of late-onset sepsis in preterm infants. *Early Hum Dev* 2015; 91: 677–81.
- 104 NEO-Kiss (Surveillance System nosokomialer Infektionen für Frühgeborene auf Intensivstationen). Nationales Referenzzentrum für Surveillance von nosokomialen Infektionen. <https://www.nrz-hygiene.de/surveillance/kiss/neo-kiss/> (Zuletzt abgerufen am 21.06.2022).
- 105 Zaidi AKM, Knaut AL, Mirrett S, Reller LB. Value of routine anaerobic blood cultures for pediatric patients. *J Pediatr* 1995; 127: 263–8.
- 106 Hornik CP, Fort P, Clark RH, et al. Early and late onset sepsis in very-low-birth-weight infants from a large group of neonatal intensive care units. *Early Hum Dev* 2012; 88: 69–74.
- 107 Moore MR, Schrag SJ, Schuchat A. Effects of intrapartum antimicrobial prophylaxis for prevention of group-B-streptococcal disease on the incidence and ecology of earlyonset neonatal sepsis. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 201–13.
- 108 Cordero L, Rau R, Taylor D, Ayers LW. Enteric gram-negative bacilli bloodstream infections: 17 years' experience in a neonatal intensive care unit. *Am J Infect Control* 2004; 32: 189–95.
- 109 Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, et al. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD neonatal research network. *Pediatrics* 2002; 110: 285–91.
- 110 KISS (Surveillance System nosokomialer Infektionen). Nationales Referenzzentrum für Surveillance von nosokomialen Infektionen. <https://www.nrzhygiene.de/surveillance/kiss/> (Zuletzt abgerufen am 21.06.2022).

- 111 Härtel C, Faust K, Avenarius S, et al. Epidemic microclusters of blood-culture proven sepsis in very-low-birth weight infants: experience of the German neonatal network. *PLOS ONE* 2012; 7: e38304.
- 112 Tsai M-H, Chu S-M, Hsu J-F, et al. Risk factors and outcomes for multidrug-resistant gram-negative bacteremia in the NICU. *Pediatrics* 2014; 133: e322–9.
- 113 Dong Y, Speer CP. Late-onset neonatal sepsis: recent developments. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2015; 100: F257–63.
- 114 Kerste M, Corver J, Sonneveld MC, et al. Application of sepsis calculator in newborns with suspected infection. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 2016; 29: 3860–5.
- 115 Su H, Chang S-S, Han C-M, et al. Inflammatory markers in cord blood or maternal serum for early detection of neonatal sepsis-a systemic review and meta-analysis. *Journal of Perinatology* 2014; 34: 268–74.
- 116 van de Laar R, van der Ham DP, Oei SG, Willekes C, Weiner CP, Mol BWJ. Accuracy of c-reactive protein determination in predicting chorioamnionitis and neonatal infection in pregnant women with premature rupture of membranes: a systematic review. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2009; 147: 124–9.
- 117 Franz A, Sieber S, Pohlandt F, Kron M, Steinbach G. Whole blood interleukin 8 and plasma interleukin 8 levels in newborn infants with suspected bacterial infection. *Acta Paediatr* 2004; 93: 648–53.
- 118 Franz AR, Bauer K, Schalk A, et al. Measurement of interleukin 8 in combination with c-reactive protein reduced unnecessary antibiotic therapy in newborn infants: a multicenter, randomized, controlled trial. *Pediatrics* 2004; 114: 1–8.
- 119 Franz AR, Steinbach G, Kron M, Pohlandt F. Interleukin-8: a valuable tool to restrict antibiotic therapy in newborn infants. *Acta Paediatr* 2001; 90: 1025–32.
- 120 Franz AR, Steinbach G, Kron M, Pohlandt F. Reduction of unnecessary antibiotic therapy in newborn infants using interleukin-8 and c-reactive protein as markers of bacterial infections. *Pediatrics* 1999; 104: 447–53.
- 121 Franz AR, Kron M, Pohlandt F, Steinbach G. Comparison of procalcitonin with interleukin 8, c-reactive protein and differential white blood cell count for the early diagnosis of bacterial infections in newborn infants. *Pediatr Infect Dis J* 1999; 18: 666–71.
- 122 Polin RA, Watterberg K, Benitz W, Eichenwald E. The Conundrum of early-onset sepsis. *Pediatrics* 2014; 133: 1122–3.
- 123 National Collaborating Centre for Women’s and Children’s Health. Antibiotics for earlyonset neonatal infection: antibiotics for the prevention and treatment of early-onset neonatal infection. National institut for health and clinical excellence. Guidance.

- London: RCOG Press 2012.
- 124 Praktische Umsetzung sowie krankenhaushygienische und infektionspräventive Konsequenzen des mikrobiellen Kolonisationsscreenings bei intensivmedizinisch behandelten Früh- und Neugeborenen. *Epidemiologisches Bulletin*. Robert Koch Institut.
https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2013/Ausgaben/42_13.pdf?__blob=publicationFile (Zuletzt abgerufen am 21.06.2022).
- 125 Hof H, Grundlagen. In: Hof H, Dörris R, Medizinische Mikrobiologie (Duale Reihe), Thieme, 2014.
- 126 Josenhans C, Hahn H, Bakterien: Definition u. Aufbau, In: Suerbaum S, Burchard GD, Kaufmann SHE, Schulz TF, Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. In 8: Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, 2016.
- 127 Llerena A, Urmi S, Amin J, Cha B, Ho TT. Testing Epithelial Permeability in Fetal Tissue-Derived Enteroids. *Journal of Visualized Experiments* 2022; published online June 16. DOI:10.3791/64108.
- 128 Suerbaum S, Hornef M, Karch H, Enterobakterien, In: Suerbaum S, Burchard G-D, Kaufmann SHE, Schulz TF, Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, In 8: Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, 2016.
- 129 Mezzatesta ML, Gona F, Stefani S. Enterobacter cloacae complex: clinical impact and emerging antibiotic resistance. *Future Microbiol* 2012; 7: 887–902.
- 130 Davin-Regli A, Lavigne J-P, Pagès J-M. Enterobacter spp.: update on taxonomy, clinical aspects, and emerging antimicrobial resistance. *Clin Microbiol Rev* 2019; 32: e00002-19.
- 131 Chow JW. Enterobacter bacteremia: clinical features and emergence of antibiotic resistance during therapy. *Ann Intern Med* 1991; 115: 585–90.
- 132 Davin-Regli A, Pagès J-M. Enterobacter aerogenes and Enterobacter cloacae; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. *Front Microbiol* 2015; 6: 392.
- 133 Lee YQ, Ahmad Kamar A, Velayuthan RD, Chong CW, Teh CSJ. Clonal relatedness in the acquisition of intestinal carriage and transmission of multidrug resistant (MDR) Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli and its risk factors among preterm infants admitted to the neonatal intensive care unit (NICU). *Pediatr Neonatol* 2021; 62: 129–37.
- 134 Chen Y, Brook TC, Soe CZ, et al. Preterm infants harbour diverse Klebsiella populations, including atypical species that encode and produce an array of antimicrobial resistance- and virulence-associated factors. *Microb Genom* 2020; 6: e000377.

- 135 Olm MR, Bhattacharya N, Crits-Christoph A, et al. Necrotizing enterocolitis is preceded by increased gut bacterial replication, *Klebsiella*, and fimbriae-encoding bacteria. *Sci Adv* 2019; 5: eaax5727.
- 136 Flannery DD, Edwards EM, Puopolo KM, Horbar JD. Early-onset sepsis among very preterm infants. *Pediatrics* 2021; 148: e2021052456.
- 137 Friedman S. Neonatal *Escherichia coli* infections: concerns regarding resistance to current therapy. *Acta Paediatr* 2000; 89: 686–9.
- 138 Stoll BJ, Hansen NI, Sánchez PJ, et al. Early onset neonatal sepsis: the burden of group B Streptococcal and *E. coli* disease continues. *Pediatrics* 2011; 127: 817–26.
- 139 I. Steinmetz, Nichtfermentierende Bakterien (Nonfermenter): *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter*, In: Suerbaum S, Burchard G-D, Kaufmann SHE, Schulz TF. *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*, In 8: Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, 2016.
- 140 Bush L.M., Schmidt Ch. E., Vazquez-Pertejo M. T. *Acinetobacter*-Infektionen. MSD Manual, Ausgabe für Medizinische Fachkreise. <https://www.msmanuals.com/de/profi/infektionskrankheiten/gram-negative-cocci-undcoccobacilli/acinetobacter-infektionen> (Zuletzt abgerufen am 25.07.2022).
- 141 De AS, Rathi MR, Mathur MM. Mortality audit of neonatal sepsis secondary to *acinetobacter*. *J Glob Infect Dis* 2013; 5: 3–7.
- 142 Ivády B, Szabó D, Damjanova I, Pataki M, Szabó M, Kenesei É. Recurrent outbreaks of *Serratia marcescens* among neonates and infants at a pediatric department: an outbreak analysis. *Infection* 2014; 42: 891–8.
- 143 Hornef M, *Vibrionen, Aeromonas*, In: Suerbaum S, Burchard G-D, Kaufmann SHE, Schulz TF. *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. In 8: Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, 2016.
- 144 Martínez-Murcia A, Beaz-Hidalgo R, Navarro A, et al. *Aeromonas lusitana* sp. nov., isolated from untreated water and vegetables. *Curr Microbiol* 2016; 72: 795–803.
- 145 Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT, et al. Martin-Carnahan, A.; Joseph, S.W. Order XII. *Aeromonadales* ord. nov. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 556-578. Philadelphia, PA, USA, 2005.
- 146 Fernández-Bravo A, Figueras MJ. An update on the genus *aeromonas*: taxonomy, epidemiology, and pathogenicity. *Microorganisms* 2020; 8: 129.
- 147 Meyer TF, Elias J, *Neisserien*, In: Suerbaum S, Burchard G-D, Kaufmann SHE, Schulz TF. *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. In 8: Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, 2016.
- 148 Schutzzimpfung gegen Meningokokken: Häufig gestellte Fragen und Antworten.

- Robert-Koch-Institut, Infektionsschutz.
https://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/Impfen/Meningokokken/faq_ges.html
 (Zuletzt abgerufen am 25.07.2022).
- 149 Straube E., Psychrembel Redaktion. Pseudomonas. Psychrembel Online.
<https://www.psychrembel.de/Pseudomonas/K0HXQ> (Zuletzt abgerufen am 25.07.2022).
- 150 Seidler A., Psychrembel Redaktion. Stenotrophomonas. Psychrembel online.
<https://www.psychrembel.de/Stenotrophomonas/K0LJD> (Zuletzt abgerufen am 25.07.2022).
- 151 Graham PL, Begg MD, Larson E, Della-Latta P, Allen A, Saiman L. Risk factors for late onset gram-negative sepsis in low birth weight infants hospitalized in the neonatal intensive care unit. *Pediatric Infectious Disease Journal* 2006; 25: 113–7.
- 152 Graham 3rd PL, Della-Latta P, Wu F, Zhou J, Saiman L. The gastrointestinal tract serves as the reservoir for gram-negative pathogens in very low birth weight infants. *Pediatric Infectious Disease Journal* 2007; 26: 1153–6.
- 153 Smith A, Saiman L, Zhou J, Della-Latta P, Jia H, Graham PL. Concordance of gastrointestinal tract colonization and subsequent bloodstream infections with gramnegative bacilli in very low birth weight infants in the neonatal intensive care unit. *Pediatric Infectious Disease Journal* 2010; 29: 831–5.
- 154 Anderson B, Nicholas S, Sprague B, Campos J, Short B, Singh N. Molecular and descriptive epidemiology of multidrug-resistant Enterobacteriaceae in hospitalized infants. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008; 29: 250–5.
- 155 Das P, Singh AK, Pal T, Dasgupta S, Ramamurthy T, Basu S. Colonization of the gut with gram-negative bacilli, its association with neonatal sepsis and its clinical relevance in a developing country. *J Med Microbiol* 2011; 60: 1651–60.
- 156 Parm Ü, Metsvaht T, Sepp E, et al. Mucosal surveillance cultures in predicting gramnegative late-onset sepsis in neonatal intensive care units. *Journal of Hospital Infection* 2011; 78: 327–32.
- 157 Mitteilung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention: Ergänzende Empfehlung (2011) zur „Prävention nosokomialer Infektionen bei neonatologischen Intensivpflegepatienten mit einem Geburtsgewicht unter 1.500 g“ (2007). Robert Koch Institut, Epidemiologisches Bulletin.
https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2012/Ausgaben/02_12.pdf?__blob=publicationFile (Zuletzt abgerufen am 25.07.2022).
- 158 Shah DK, Doyle LW, Anderson PJ, et al. Adverse neurodevelopment in preterm infants with postnatal sepsis or necrotizing enterocolitis is mediated by white matter abnormalities on magnetic resonance imaging at term. *J Pediatr* 2008; 153: 170175.e1.

- 159 Schanler RJ, Lau C, Hurst NM, Smith EO. Randomized trial of donor human milk versus preterm formula as substitutes for mothers' own milk in the feeding of extremely premature infants. *Pediatrics* 2005; 116: 400–6.
- 160 Gewolb IH, Schwalbe RS, Taciak VL, Harrison TS, Panigrahi P. Stool microflora in extremely low birthweight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1999; 80: F167–73.
- 161 Smith A, Anandan S, Veeraraghavan B, Thomas N. Colonization of the preterm neonatal gut with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae and its association with neonatal sepsis and maternal gut flora. *J Glob Infect Dis* 2020; 12: 101–4.
- 162 Stock K, Griesmaier E, Brunner B, Neubauer V, Kiechl-Kohlendorfer U, Trawöger R. Pasteurization of breastmilk decreases the rate of postnatally acquired cytomegalovirus infections, but shows a nonsignificant trend to an increased rate of necrotizing enterocolitis in very preterm infants—a preliminary study. *Breastfeeding Medicine* 2015; 10: 113–7.
- 163 Rotimi VO, Olowe SA, Ahmed I. The development of bacterial flora of premature neonates. *Journal of Hygiene* 1985; 94: 309–18.
- 164 Blakey JL, Lubitz L, Barnes GL, Bishop RF, Campbell NT, Gillam GL. Development of gut colonisation in pre-term neonates. *J Med Microbiol* 1982; 15: 519–29.
- 165 Zijlmans MAC, Korpela K, Riksen-Walraven JM, de Vos WM, de Weerth C. Maternal prenatal stress is associated with the infant intestinal microbiota. *Psychoneuroendocrinology* 2015; 53: 233–45.
- 166 Korpela K, Blakstad EW, Moltu SJ, et al. Intestinal microbiota development and gestational age in preterm neonates. *Sci Rep* 2018; 8: 2453.
- 167 Arboleya S, Binetti A, Salazar N, et al. Establishment and development of intestinal microbiota in preterm neonates. *FEMS Microbiol Ecol* 2012; 79: 763–72.
- 168 Mai V, Torrazza RM, Ukhanova M, et al. Distortions in development of intestinal microbiota associated with late onset sepsis in preterm infants. *PLoS One* 2013; 8: e52876.
- 169 Stewart C, Marrs E, Magorrian S, et al. The preterm gut microbiota: changes associated with necrotizing enterocolitis and infection. *Acta Paediatr* 2012; 101: 1121–7.
- 170 Mai V, Young CM, Ukhanova M, et al. Fecal microbiota in premature infants prior to necrotizing enterocolitis. *PLoS One* 2011; 6: e20647.
- 171 Parm Ü, Štšepetova J, Eelmäe I, et al. Genetic relatedness of Gram-negative bacteria colonizing gut and skin of neonates and mother's own milk. *Journal of Perinatology* 2018; 38: 1503–11.
- 172 Hartz LE, Bradshaw W, Brandon DH. Potential NICU Environmental Influences on the Neonate's Microbiome. *Advances in Neonatal Care* 2015; 15: 324–35.

- 173 Claud EC, Keegan KP, Brulc JM, et al. Bacterial community structure and functional contributions to emergence of health or necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Microbiome* 2013; 1: 20.
- 174 Torrazza RM, Ukhanova M, Wang X, et al. Intestinal Microbial Ecology and Environmental Factors Affecting Necrotizing Enterocolitis. *PLoS One* 2013; 8: e83304.
- 175 Milisavljevic V, Garg M, Vuletic I, et al. Prospective assessment of the gastroesophageal microbiome in VLBW neonates. *BMC Pediatr* 2013; 13: 49.
- 176 Gómez M, Moles L, Melgar A, et al. Early Gut Colonization of Preterm Infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2016; 62: 893–900.
- 177 Brooks B, Olm MR, Firek BA, et al. Strain-resolved analysis of hospital rooms and infants reveals overlap between the human and room microbiome. *Nat Commun* 2017; 8: 1814.
- 178 de Goffau MC, Bergman KA, de Vries HJ, et al. Cold Spots in Neonatal Incubators Are Hot Spots for Microbial Contamination. *Appl Environ Microbiol* 2011; 77: 8568–72.
- 179 Corpeleijn WE, Kouwenhoven SMP, Paap MC, et al. Intake of own mother's milk during the first days of life is associated with decreased morbidity and mortality in very low birth weight infants during the first 60 days of life. *Neonatology* 2012; 102: 276–81.

7. Anhang

7.1. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 a: Beobachtungszeitraum in Wochen (grau) mit stattgefundenen Schleimhautabstrichen, nach Individuen und Kohorten mittels Balkendiagramm, Woche (x-Achse), Kind (y-Achse).....29

Abbildung 1 b: Positiver Nachweis gramnegativer Bakterien (dunkelgrau) im Vergleich zu negativem Nachweis gramnegativer Bakterien (hellgrau) pro Woche nach Individuen und Kohorten im Beobachtungszeitraum mit stattgefundenen Schleimhautabstrichen mittels Balkendiagramm, Woche (x-Achse), Kind (y-Achse).....30

Abbildung 2: Anteil gramnegativer Bakteriengattungen im Zeitverlauf pro Woche.....34

Abbildung 3: Vorhergesagter Anteil gramnegativer Bakteriengattungen im Zeitverlauf pro Woche.....35

7.2. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Beschreibung der Studienpopulation.....28

Tabelle 2: Prävalenz gramnegativer Bakteriengattungen in Kohorte 1 und 2 im Beobachtungszeitraum von 14 Wochen.....29

Tabelle 3: Anzahl der nachgewiesenen gramnegativen Bakteriengattungen und relative Kolonisationsdauer im Gesamtkollektiv und nach Kohorten im Beobachtungszeitraum von 14 Wochen.....32

Tabelle 4: Univariater Zusammenhang zwischen den Risikofaktoren Muttermilchpasteurisierung, Gestationsalter und Geburtsgewicht und den Outcome-Variablen Auftreten von gramnegativen Bakteriengattungen, deren Anzahl und Kolonisationsdauer.....33

Tabelle 5: Anteil gramnegativer Bakteriengattungen im Zeitverlauf pro Woche.....34

7.3. Aufklärungsbogen zur Ernährung mit unpasteurisierter Muttermilch bei CMV-positiver Mutter



**UNIKLINIK
KÖLN**

Klinik und Poliklinik
für Kinder- und
Jugendmedizin

Neonatologie

Uniklinik Köln Klinik für Kinder- und Jugendmedizin
Kerpener Str. 62, 50937 Köln

**Frühgeborenen-Station /
Perinatalzentrum
Ltd. OÄ PD Dr. A. Kribs**

Telefon: +49 221 478-5064
Telefax: +49 221 478-3618

Zeichen: pö

Köln, 08.04.16/ pö

Elterninformation zur Ernährung mit unpasteurisierter Muttermilch bei CMV-positiver Mutter

Liebe Eltern,

Sie haben sich entschlossen, Ihr kleines Frühgeborenes mit Muttermilch zu ernähren. Für diesen Entschluss danken wir Ihnen und möchten Sie dabei gerne unterstützen.

Muttermilch ist die beste Ernährung für Ihr Kind. Die Muttermilch schützt Ihr Kind vor schweren bakteriellen Infektionen und Entzündungen des Magen-Darm-Traktes.

Vor der Geburt wurde Ihnen Blut abgenommen, um zu testen, ob Sie Antikörper gegen das sog. Zytomegalievirus (CMV) haben. Etwa die Hälfte aller Erwachsenen hat Antikörper gegen dieses Virus und hat diese als kleines Kind erworben. Für Sie ist das Virus harmlos.

Allerdings bleibt CMV, ähnlich wie das Virus des Lippenherpes, ein Leben lang im Körper vorhanden und wird über die Muttermilch übertragen. Babys nehmen das Virus dann mit der Milch auf. Bei einem größeren Frühgeborenen oder einem reifen Neugeborenen führt die Virusübertragung nicht zu einer Erkrankung.

Bei einem sehr kleinen Frühgeborenen, wie Ihrem Kind, kann das Virus in seltenen Fällen zu einer Erkrankung führen, die einer Infektion ähnelt. Das Virus kann durch Pasteurisieren (Erhitzen) der Muttermilch abgetötet werden; damit besteht kein Risiko der Übertragung mehr. Allerdings verliert die Muttermilch durch das Pasteurisieren wertvolle Bestandteile, und die Muttermilch ist weniger gut in der Lage, Ihr Kind vor anderen Infektionen zu schützen.

Wir empfehlen aus diesen Gründen, trotz des (geringen) Risikos einer Erkrankung durch CMV, Ihrem Kind die Muttermilch unpasteurisiert zu geben, um die schützenden Bestandteile der Muttermilch nicht zu zerstören. Wir untersuchen in diesem Fall einmal wöchentlich den Urin Ihres Kindes, da im Urin eine eventuelle Ansteckung Ihres Kindes mit CMV frühzeitig zu erkennen ist.

Sollte sich Ihr Kind dann mit CMV angesteckt haben, besprechen wir die Therapieoptionen mit Ihnen. Bitte überlegen Sie sich, ob Sie mit der Gabe von unpasteurisierter Muttermilch einverstanden sind, und sprechen Sie uns an, wenn Sie weitere Fragen haben.

Vielen Dank!

Ihr Team der neonatologischen Intensivstation.

- Ja, ich bin mit der Gabe unpasteurisierter Muttermilch einverstanden.
 Nein, ich wünsche, dass meine Muttermilch vor der Gabe pasteurisiert wird.

Unterschrift Mutter

Unterschrift Vater

Unterschrift aufklärender Arzt

Kerpener Straße 62
50937 Köln
Telefon +49 221 478-0
Telefax +49 221 478-4095

www.uk-koeln.de

Universitätsklinikum Köln (AöR)

Vorstand: Prof. Dr. Edgar Schömig (Vorsitzender und Ärztlicher Direktor) • Dipl.-Kfm. Günter Zwilling (Kaufmännischer Direktor)
Prof. Dr. Dr. h. c. Thomas Krieg (Dekan) • Vera Lux (Pflegedirektorin) • Prof. Dr. Peer Eysel (stellv. Ärztlicher Direktor)
Bank für Sozialwirtschaft Köln • BLZ: 370 205 00 • Konto: 815 0000 • IBAN: DE04 3702 0500 0008 1500 00 • BIC: BFSWDE33XXX
Steuernummer: 223/5911/1092 • Ust-IdNr.: DE 215 420 431 • IK: 260 530 283

ÖPNV: Straßenbahn Linie 9 Hst. Lindenburg, Linie 13 Hst. Gleueler Str./Gürtel • Bus Linie 145 Hst. Lindenburg

