

Aus der
Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen
Abteilung Kinderheilkunde IV

**Der Effekt oraler Probiotikaeinnahme zur Vermeidung
bakterieller Vaginosen bei Schwangeren. EFFPRO -
eine randomisierte, kontrollierte Studie**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

**Speidel, Sarah
geb. Nagel**

2023

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. C. Gille

2. Berichterstatter: Professor Dr. O. Kagan

Tag der Disputation: 27.01.2023

Für meine Eltern

*"Ihr seid mein Ursprung, mein Vertrauen, meine Insel und mein Schatz.
Mein Mund formt euer Lachen, mein Herz schlägt euren Takt."*

Julia Engelmann

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	7
Tabellenverzeichnis	8
Abkürzungsverzeichnis	9
1 Einleitung	10
1.1 Hintergrund	10
1.2 Bakterielle Vaginosen als Ursache von Frühgeburtlichkeit.....	10
1.3 Früherkennung und Behandlung bakterieller Vaginosen zur Reduktion von Frühgeburtlichkeit	11
1.4 Orale Probiotika zur Vermeidung bakterieller Vaginosen	12
1.5 <i>Laktobazillus rhamnosus GR-1</i> und <i>Laktobacillus reuteri RC-14</i>	13
1.6 Hypothese der Studie.....	13
2 Material und Methoden	14
2.1 Studiendesign	14
2.2 Ethikvotum	14
2.3 Studienziel.....	14
2.4 Studienpopulation.....	14
2.5 Rekrutierung.....	15
2.6 Studienintervention und -ablauf.....	16
2.7 Mikroskopische und kulturelle Analyse der Vaginalabstriche	32
2.8 Begründete Fallzahlschätzung	35
2.9 Angaben zur statistischen Auswertung	35
2.10 Definition der Zielkriterien.....	36
2.11 Abbruchkriterien	36
3 Ergebnisse	37
3.1 Studieneinschluss	37

3.2	Studienpopulation.....	39
3.3	Auswirkung probiotischer Ernährung auf die Vaginalflora vor der Intervention	40
3.4	Auswirkungen oraler Probiotika auf die Vaginalflora	42
3.5	Nebenwirkungen der Probiotikaeinnahme.....	43
3.6	Auswirkung oraler Probiotika auf Frühgeburten-, Fehlgeburten- und Fehlbildungsrate.....	43
3.7	Einfluss von Bildungsniveau, Alkohol- und Nikotinkonsum auf die Rate bakterieller Vaginosen.....	44
3.8	Infektionen während der Schwangerschaft	50
4	Diskussion	51
4.1	Einfluss von Probiotika auf die Vaginalflora	51
4.2	Einfluss auf Früh- und- Fehlgeburtenrate.....	52
4.3	Einfluss probiotischer Ernährung auf Frühgeburtenrate und Bakterielle Vaginose	54
4.4	Unerwünschte Nebenwirkungen und Akzeptanz.....	54
4.5	Niedrige Rate bakterieller Vaginosen und Assoziation mit sozioökonomischem Status.....	54
4.6	Auswahl und Dosis der Probiotika.....	55
4.7	Startzeitpunkt der Intervention	55
4.8	Dauer der Intervention.....	55
4.9	Oraler Applikationsweg der Probiotika	56
4.10	Stärken und Schwächen der Studie	57
4.11	Schlussfolgerungen und Ausblick.....	59
5	Zusammenfassung.....	60
6	Literaturverzeichnis	62
7	Erklärungen zum Eigenanteil	67

8	Veröffentlichungen.....	68
9	Danksagung.....	69
10	Anhang.....	70

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Terminplaner EFFPRO-Studie.....	17
Abbildung 2: Fragebogen 1, Teil 1	18
Abbildung 3: Fragebogen 2, Teil 1	25
Abbildung 4: Fragebogen 3, Teil 1	28
Abbildung 5: Grampräparat Nugent Score 0 (Normalbefund).....	33
Abbildung 6: Grampräparat Nugent Score 8 (Bakterielle Vaginose)	33
Abbildung 7: Nugent Score	34
Abbildung 8: Flussdiagramm gemäß CONSORT Kriterien.....	38
Abbildung 9: Nugentscoreverteilung [%] mit bzw. ohne probiotische Ernährung vor Intervention.	41
Abbildung 10: Schulbildung der Mütter in % angegeben	45
Abbildung 11: Schulbildung der Väter in % angegeben	46
Abbildung 12: Berufsausbildung der Mütter in % angegeben.....	47
Abbildung 13: Berufsausbildung der Väter in % angegeben	48
Abbildung 14: Alkoholgenuss im Patientenkollektiv in %	49

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Basischarakteristika der Studienpopulation	39
Tabelle 2: Nugent Score Verteilung mit präinterventioneller probiotischer Ernährung.....	41
Tabelle 3: Nugent Score Verteilung ohne präinterventionelle probiotische Ernährung.....	41
Tabelle 4: Nugent Score vor und nach Intervention	42
Tabelle 5: Sekundäre Endpunkte	44
Tabelle 6: Schulbildung der Mütter.....	45
Tabelle 7: Schulbildung der Väter	46
Tabelle 8: Berufsausbildung der Mütter.....	47
Tabelle 9: Berufsausbildung der Väter	48
Tabelle 10: Alkoholkonsum	49
Tabelle 11: Infektionen in der Schwangerschaft im Patientenkollektiv	50

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
bzw.	Beziehungsweise
BV	Bakterielle Vaginose/n
ca.	circa
d.h.	das heißt
FG	Frühgeburt
GA	Gestationsalter
KbE	Kolonie bildende Einheiten
L.	Laktobazillus
n.a.	Nicht angegeben
OR	Odds Ratio
PB	Probiotika
RR	Risk Ratio
SSW	Schwangerschaftswochen
z.B.	Zum Beispiel

1 Einleitung

1.1 Hintergrund

Frühgeburtlichkeit, d.h. die Geburt vor der vollendeten 37. Schwangerschaftswoche, ist die Hauptursache für neonatale Mortalität (Goldenberg et al., 2008) und kann zu lebenslangen Beeinträchtigungen wie mentaler Retardierung, Zerebralparese, Seh- und Hörverlust sowie Lungenproblemen und gastrointestinalen Problemen führen (Organization, 2005). Die Lebensqualität ist sowohl bei den Säuglingen (Jotzo and Poets, 2006) als auch bei ihren Müttern beeinträchtigt (Hill and Aldag, 2007).

Im Jahr 2019 wurden in Deutschland mehr als 62.000 Kinder zu früh geboren. 2020 waren es knapp 59.000, entsprechend einer Frühgeburtenrate zwischen 7 und 8% (IQTIG, 2021). Während die Frühgeburtenrate in Deutschland seit 2009 konstant hoch bei 8-9% geblieben ist (Berger et al., 2019) steigt sie weltweit weiter an (Blencowe et al., 2012).

Komplikationen aufgrund von Frühgeburtlichkeit waren im Jahr 2015 eine der Haupttodesursachen bei Kindern unter 5 Jahren und für etwa 1,1 Millionen verstorbener Kinder weltweit verantwortlich (Liu et al., 2016).

Frühgeburtlichkeit ist somit nicht nur in Deutschland ein häufiges und ernstzunehmendes, sowie auch kostspieliges Problem, dessen Vermeidung einen hohen Stellenwert besitzt.

1.2 Bakterielle Vaginosen als Ursache von Frühgeburtlichkeit

Eine häufige Ursache vorzeitiger Wehentätigkeit, die wiederum zur Frühgeburt führt, ist eine Chorioamnionitis aufgrund aufsteigender bakterieller Vaginosen (Hillier et al., 1988, Manns-James, 2011). Bakterielle Vaginosen (BV) sind mit vorzeitigem Blasensprung (Gravett et al., 1986, Kurki et al., 1992), Infektion von Chorion und Amnion und histologisch nachweisbarer Chorioamnionitis (Hillier et al., 1988) sowie Infektion der Amnionflüssigkeit assoziiert (Silver et al., 1989) und bereits mehrfach als wichtiger Risikofaktor für Frühgeburtlichkeit beschrieben (Hillier et al., 1995, Leitich et al., 2003).

Bakterielle Vaginosen sind durch eine Überwucherung der sonst physiologisch vorkommenden, lactobazillen-dominierenden Vaginalflora mit potentiell pathogenen Keimen wie z.B. *Bacteroides*, *Gardnerella vaginalis*, Mykoplasmen und anderen Anaerobiern gekennzeichnet (Hillier et al., 1988, Hillier et al., 1993, Muzny et al., 2019).

1.3 Früherkennung und Behandlung bakterieller Vaginosen zur Reduktion von Frühgeburtslichkeit

Laut Sangkomkamhang et al. (2015) konnte mittels Screeningmaßnahmen zur Früherkennung bakterieller Vaginosen und deren antibiotischer Therapie vor der 20. Schwangerschaftswoche eine Reduktion der Frühgeburtsrate und des Anteils an Frühgeborenen mit niedrigem Geburtsgewicht erreicht werden.

In einer Studie von Hoyme and Saling (2004) konnte mittels Selbsttestung des vaginalen pH-Wertes bei Schwangeren, eine deutlich niedrigere Prozentzahl an Frühgeburten im Vergleich zur Kontrollgruppe (8,1% vs. 12,3%, $p < 0,05$, Reduktion um 34%) gesehen werden. In der Gruppe der Frühgeburten < 32 . Schwangerschaftswochen war die Reduktion noch eindeutiger (0,3% vs. 3,3%, Reduktion um 90%, $p < 0,001$). Jedoch war diese Studie weder randomisiert, noch konnte die Intervention verblindet werden. Daher könnten auch Selektions- und/oder Messverzerrungen für einige Unterschiede zwischen den Gruppen verantwortlich sein. Letztendlich bleibt die Wirksamkeit solcher Screen-and-Treat Programme ungewiss und die Datenlage teils widersprüchlich, so dass sichere und effektivere Alternativen in Betracht gezogen werden sollten.

Bestrebungen, durch antibiotische Therapie bakterieller Vaginosen Schwangerer auch das Risiko für Frühgeburten zu senken, zeigten bisher keinen durchschlagenden Erfolg (Brocklehurst et al., 2013). Die antibiotische Behandlung bakterieller Vaginosen vor der 28. Schwangerschaftswoche mit oralem Metronidazol oder vaginalem Clindamycin führt nicht zur Reduktion von Frühgeburtslichkeit (Rebouças et al., 2019).

Der unklare Nutzen von Screening und antibiotischer Behandlung wurde aktuell und sehr umfassend in einem US-Qualitätsbericht dargestellt (Kahwati et al., 2020).

Eine Erklärung für die fehlende Wirksamkeit frühzeitiger antibiotischer Therapie bei bakterieller Vaginose zur Reduktion von Frühgeburtlichkeit könnte sein, dass der Ablauf der Ereigniskaskade, die letztendlich zur Frühgeburt führt, lange vor der klinisch nachweislichen Diagnose einer bakteriellen Vaginose beginnt und die medikamentöse Therapie somit zu spät eingreift. Strategien zur Prävention von bakteriellen Vaginosen stellen somit einen sinnvolleren Ansatz dar. Der Anstieg des vaginalen pH-Wertes scheint außerdem ein eher spätes Ereignis in der Kette der Ereignisse zu sein, die zur bakteriellen Vaginose und somit zur Frühgeburt führen. Maßnahmen zur Prävention bakterieller Vaginosen könnten also effektiver sein als Maßnahmen, die eine bakterielle Vaginose diagnostizieren, um erst nachfolgend zu intervenieren.

1.4 Orale Probiotika zur Vermeidung bakterieller Vaginosen

Der Darm stellt ein wichtiges Reservoir für die vaginale Bakterienbesiedlung dar. Bei der Analyse von vaginalen und rektalen Abstrichen von 132 Schwangeren konnte eine hohe Übereinstimmung zwischen der vaginalen und rektalen Mikroflora nachgewiesen werden (El Aila et al., 2009).

Die orale Verabreichung von Laktobazillen über 60 Tage führte in einer randomisierten, placebokontrollierten Studie an 64 gesunden, nicht schwangeren Frauen zu einer Verbesserung der Vaginalflora. 37% der Frauen der Behandlungsgruppe mit initialem Nachweis einer bakteriellen Vaginose hatten nach Intervention eine normale, physiologische Laktobazillenbesiedlung im Vergleich zu nur 13% in der Placebogruppe ($p=0,02$), (Reid et al., 2003).

Für Laktobazillen wurde außerdem nachgewiesen, dass sie Krankheitserreger verdrängen und abtöten können und modulierend auf die Immunantwort wirken, indem sie in die Entzündungskaskade eingreifen, die zu vorzeitigen Wehen und Frühgeburtlichkeit führt (Reid and Bocking, 2003).

In Bezug auf die orale Verabreichung von Laktobazillen ergaben mehrere kleine Studien und ein Review der Cochrane Collaboration keine Hinweise auf Nebenwirkungen für Mutter und Fötus während der Schwangerschaft (Othman et al., 2007, Reid et al., 2003, Reid and Bocking, 2003).

1.5 *Laktobazillus rhamnosus GR-1* und *Laktobacillus reuteri RC-14*

Die Gattung *Laktobazillus* gehört zur Abteilung der Firmicutes. Es handelt sich um grampositive Stäbchen, die Katalase- und Oxidase-negativ sind, vorwiegend anaerob wachsen und sich unter anderem durch die Produktion von Milchsäure auszeichnen. In vitro hemmt *L. rhamnosus GR-1* Wachstum, Adhäsion und Biofilmbildung von Gram-negativen Bakterien und *Candida albicans* (Reid, 2008, McGroarty and Reid, 1988, Köhler et al., 2012). *L. reuteri RC-14* ist aktiv gegen Gram-positive Bakterien (*Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp.) (Velraeds et al., 1998).

Laut Reid (2007) wurde *L. rhamnosus GR-1* ursprünglich im Jahr 1980 aus der distalen Harnröhre einer gesunden Frau isoliert während *L. reuteri RC-14* ursprünglich 1985 aus der Vagina einer gesunden Frau isoliert wurde. *L. reuteri RC-14* wurde zunächst als *L. acidophilus RC-14* klassifiziert und dann in *L. fermentum RC-14* umbenannt. Da sich die Klassifizierung von Bakterien mit der Zeit ändert, wurde der Stamm in den letzten Jahren in *L. reuteri* umbenannt. Alle Veröffentlichungen mit diesem Organismus RC-14 wurden mit demselben Bakterium durchgeführt (Reid, 2007).

1.6 Hypothese der Studie

In der vorliegenden Studie sollte die Hypothese überprüft werden, ob die tägliche orale Einnahme von Laktobazillen-enthaltenden Probiotika (*L. rhamnosus GR-1* und *L. reuteri RC-14*) einen positiven Einfluss auf die Vaginalflora Schwangerer hat, indem sie zu einer Reduktion pathologischer Vaginalkeime und einem Anstieg der physiologischen Laktobazillenflora führt.

2 Material und Methoden¹

2.1 Studiendesign¹

Durchführung einer randomisierten, placebokontrollierten, dreifach verblindeten Studie im Parallelgruppen-Design. Die Randomisierung erfolgte mittels computergenerierter Zufallszahlenliste. Die Probanden wurden den Studienarmen mit einfacher Blockrandomisierung zugeteilt. Die Gruppenzuordnung war nur dem Studienstatistiker und dem Mitarbeiter der Apotheke bekannt, so dass eine verdeckte Zuordnung gewährleistet war. Die rekrutierenden Gynäkologen, die Probanden und das Personal des Studienzentrums wurden bis zum Abschluss der Studie und der endgültigen Analyse hinsichtlich der Gruppenzuordnung verblindet.

2.2 Ethikvotum¹

Das Studienprotokoll wurde der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universitätsklinik Tübingen zur Begutachtung vorgelegt und genehmigt (Aktenzeichen des Ethikvotums: 238/2010BO1).

2.3 Studienziel

Die tägliche orale Einnahme von probiotischen Laktobazillenstämmen (*L. rhamnosus GR-1* und *L. reuteri RC-14*) führt zu einer Reduktion der pathologischen vaginalen Mikroflora und einer erhöhten Anzahl von Laktobazillen in der Vaginalflora von Schwangeren.

2.4 Studienpopulation¹

Teilnehmerinnen waren schwangere Frauen mit Wohnsitz in und um Tübingen, die zur Routine-Schwangerenvorsorge in einer von zehn Praxen im

¹ Die im Folgenden unter Abschnitt 2 Material und Methoden beschriebenen Methoden wurden bereits publiziert in GILLE, C., BÖER, B., MARSCHAL, M., URSCHITZ, M. S., HEINECKE, V., HUND, V., SPEIDEL, S., TARNOW, I., MYLONAS, I., FRANZ, A., ENGEL, C. & POETS, C. F. 2016. Effect of probiotics on vaginal health in pregnancy. EFFPRO, a randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol*, 215, 608.e1-608.e7. In den entsprechend markierten Unterkapiteln wurde zur besseren Lesbarkeit auf erneute Selbstzitate verzichtet.

Einzugsgebiet der Studie angebunden waren. Untersuchungsgebiet war der städtische, vorstädtische und ländliche Raum Tübingens.

Einschlusskriterien für die Teilnehmer waren Alter über 18 Jahre, weniger als 12 vollendete Schwangerschaftswochen und eine schriftliche Einverständniserklärung. Ausgeschlossen wurden Frauen mit aktiver chronisch-entzündlicher Darmerkrankung (Morbus Crohn, Colitis ulcerosa), sowie Frauen mit Immundefekt. Es gab keine weiteren Ausschlusskriterien wie zum Beispiel die Einnahme von Probiotika oder Antibiotika vor der Intervention.

2.5 Rekrutierung¹

Die Rekrutierung erfolgte in zehn kooperierenden gynäkologischen Praxen zwischen Oktober 2010 und Mai 2012. Schwangere Frauen wurden von ihrem Gynäkologen² bzw. ihrer Gynäkologin während einer Routineuntersuchung zur Schwangerenvorsorge angesprochen und über die Studie informiert. Die Gynäkologen stellten hierbei allgemeine Informationen zur Studie und die Option zur Teilnahme in Bezug auf das ausgehändigte Informationsblatt zur Verfügung (Siehe 10). Die endgültige Rekrutierung erfolgte nach Übermittlung der Kontaktdaten durch die Praxen und dem Erhalt der schriftlichen Einverständniserklärung telefonisch durch Mitarbeiter der Studienzentrale in der Neonatologie Tübingen.

In Deutschland findet die Routine-Schwangerenvorsorge normalerweise regulär alle vier Wochen statt. Die Routine-Schwangerenvorsorge wurde nicht durch die Studienprozeduren verändert oder beeinträchtigt.

Bevor eine Praxis mit der Rekrutierung von Patientinnen begann, wurde ein Initialisierungsaudit durchgeführt, um die Verfügbarkeit und Vollständigkeit aller Studienmaterialien und eine adäquate Schulung der rekrutierenden Gynäkologen sicherzustellen. Die Berichte über die Audits wurden den Versuchsleitern anschließend zur Verfügung gestellt. Ein zufälliger Auswahlprozess der Praxen gewährleistete ein gemischtes und somit repräsentatives Studienkollektiv und sicherte damit die externe Validität.

² Gemeint sind hier gleichberechtigt beide Geschlechter. Zur besseren Lesbarkeit ist im gesamten Dokument, wenn nötig die männliche Form gewählt.

2.6 Studienintervention und -ablauf¹

Nach der Rekrutierung erfolgte durch die Apotheke eine zufällige Zuordnung der Teilnehmerinnen zur Kontroll- bzw. Behandlungsgruppe. Die Kapseln (Verum oder Placebo) wurden durch die Studienzentrale per Post an die Teilnehmerinnen verschickt. Die Teilnehmerinnen wurden angewiesen, erst nach ihrem nächsten Routinevorsorgetermin mit der Einnahme des Studienmedikaments zu beginnen.

Ein erstes fragebogenbasiertes Telefoninterview das demografische und klinische Variablen sowie Informationen über die Einhaltung des Studienprotokolls durch die Teilnehmer umfasste, wurde durchgeführt (siehe Abbildung 2).

Der Beginn der Einnahme erfolgte nach Abnahme eines ersten Vaginalabstriches (= präinterventionelle A-Probe) mittels CultureSwab Plus collection tubes (Firma Becton Dickinson, Heidelberg) während des ersten Routinevorsorgetermins nach erfolgtem Studieneinschluss und Randomisierung im Zeitraum zwischen der 12. und 14. Schwangerschaftswoche (siehe Abbildung 1). Der Abstrich wurde anschließend im Mikrobiologischen Institut Tübingen analysiert (siehe 2.7). Anschließend erfolgte die tägliche, orale Einnahme entweder einer Kapsel Verum (je 1×10^9 Kolonie-bildende Einheiten *L. rhamnosus* GR-1 und *L. reuteri* RC-14 pro Stamm) oder dem Placebo (Lactose) über insgesamt 8 Wochen.

Verum und Placebo wurden uns durch Chr. Hansen A/S (DK-2970 Hørsholm, Dänemark) bereitgestellt. Das Verumprodukt wird in Europa als Nahrungsergänzungsmittel unter dem Namen Probio-Tec® UREX-cap-5 (Europa) bzw. Femibion® Flor Intim (Deutschland) vertrieben. Die Qualität des Produkts wurde regelmäßig vom Hersteller kontrolliert und für die Studienmedikationscharge verifiziert. Verum- und Placebokapseln waren in Geschmack, Farbe und Größe nicht zu unterscheiden.

Kurz nach Ende des Interventionszeitraums wurde ein zweites Telefoninterview durchgeführt, das die Einhaltung des Studienprotokolls und das Auftreten von Nebenwirkungen zum Gegenstand hatte (siehe Abbildung 3).

Ein zweiter vaginaler Abstrich (= postinterventionelle B-Probe) wurde bei der nächsten routinemäßigen Schwangerenvorsorgeuntersuchung nach der Intervention entnommen (Zeitraum 20. - 22.Schwangerschaftswoche) und erneut zur Beurteilung an das Mikrobiologische Institut der Universitätsklinik Tübingen geschickt (siehe 2.7).

Kurz nach Entbindung erfolgte ein erneutes, drittes Telefonat zur Eruiierung von Schwangerschaftsdauer, -komplikationen, Entbindungsmodus, Nebenwirkungen und Suchtmittelanamnese (siehe Abbildung 4).

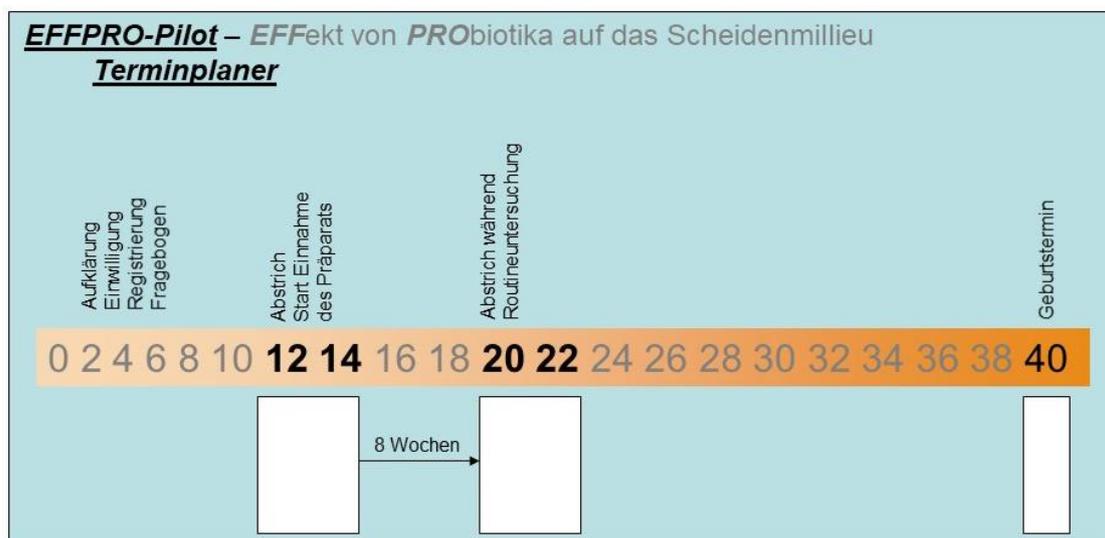


Abbildung 1: Terminplaner EFFPRO-Studie

EFFPro-Pilotstudie

Fragebogen Teil 1

Vielen Dank für Ihre Teilnahme an der EFFPRO-Pilot-Studie!

Sie haben sich bereit erklärt, an der Pilot-Studie EFFPRO zur Stärkung des Scheidenmilieus teilzunehmen. Bitte füllen Sie den anschließenden Fragebogen aus – zur Beantwortung der Fragen benötigen Sie ca. 10 Minuten.

Dieser Fragebogen wird anonym behandelt, d.h. keiner der Sie betreuenden Personen und insbesondere auch nicht ihr Frauenarzt/ Ärztin kann Einblick in diesen Fragebogen nehmen.

1. **Name:** _____
2. **Vorname:** _____
3. **Geburtsdatum:** _____
4. **Adresse:** _____
5. **Email-Adresse:** _____
6. **Wer ist ihr Frauenarzt/Ärztin?** _____
7. **Wann haben Sie den nächsten Termin beim Frauenarzt?** _____
8. **Wann ist der errechnete Entbindungstermin? (ET)** _____
9. **Körpergröße:** _____
10. **Gewicht vor der Schwangerschaft:** _____

11. Familienstand:

- Verheiratet/ festen Partner..... ₁
wechselnde Partner..... ₂
Single ₃
Geschieden/ verwitwet ₄

12. In welchem Land sind Sie geboren?

- a. Sie: in Deutschland..... ₁
In einem anderen Land..... ₂
in welchem? _____

Abbildung 2: Fragebogen 1, Teil 1

EFFPro-Pilotstudie Fragebogen Teil 1

b. Ihr Partner: in Deutschland..... ₁
 In einem anderen Land..... ₂
 in welchem? _____

13. Welche Staatsangehörigkeit haben Sie?

a. Sie: Deutsch..... ₁
 andere Staatsangehörigkeit..... ₂
 welche? _____

b. Ihr Partner: Deutsch..... ₁
 andere Staatsangehörigkeit..... ₂
 welche? _____

14. Welche Sprachen werden bei Ihnen zuhause gesprochen?

Deutsch ₁
 Andere Sprachen ₂
 Welche? _____

15. Welchen höchsten Schulabschluss haben Sie?
 (Nennen Sie bitte nur den höchsten Abschluss. Bitte für Sie und Ihren Partner angeben!)

	<u>Sie</u>	<u>Partner</u>
Grundschul-/Hauptschulabschluss.....	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₁
Realschulabschluss (Mittlere Reife).....	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₂
Abschluss Polytechnische Oberschule (POS).....	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₃
Fachhochschulreife (Abschluss einer Fachoberschule)...	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₄
Abitur (Gymnasium bzw. EOS).....	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₅
Anderer Schulabschluss.....	<input type="checkbox"/> ₆	<input type="checkbox"/> ₆
Noch keinen Schulabschluss.....	<input type="checkbox"/> ₇	<input type="checkbox"/> ₇
Schule beendet ohne Schulabschluss.....	<input type="checkbox"/> ₈	<input type="checkbox"/> ₈

16. Haben Sie eine abgeschlossene Berufsausbildung? Wenn ja, welche?
 (Nennen Sie bitte nur den höchsten Abschluss. Bitte für Sie und Ihren Partner angeben!)

	<u>Sie</u>	<u>Partner</u>
Lehre (beruflich-betriebliche Ausbildung).....	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₁
Berufsschule, Handelsschule	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₂

2

Abbildung 2: Fragebogen 1, Teil 2

EFFPro-Pilotstudie Fragebogen Teil 1

Fachschule ₃ ₃

Fachhochschule, Ingenieurschule..... ₄ ₄

Universität, Hochschule..... ₅ ₅

Anderer Ausbildungsabschluss..... ₆ ₆

Noch in beruflicher Ausbildung (Azubi, Student)..... ₇ ₇

Kein beruflicher Abschluss ₈ ₈

17. Welche Vorerkrankungen haben Sie?

entzündliche Magen-Darm-Erkrankungen ₁

Diabetes mellitus (Zuckerkrankheit) ₂

Autoimmunerkrankungen (z.B. Lupus erythematodes) ₃

Gerinnungsstörungen ₄

Nierenerkrankungen ₅

Bluthochdruck ₆

Schilddrüsenerkrankungen ₇

Asthma ₈

Depression ₉

anderes: _____ ₁₀

keine ₁₁

18. Haben oder hatten Sie irgendwelche Fehlbildungen oder Veränderungen im Gebärmutter-/Scheidenbereich (z.B. Septum/ Scheiden- bzw. Gebärmuttertrennwand, Myome)?

Nein ₁

Ja ₂

Welche? _____

19. Hatten Sie bereits Operationen (z.B. Konisation, Kaiserschnitt,...)?

Nein ₁

Ja ₂

Jahr der Operation	Operation	Komplikation

3

Abbildung 2: Fragebogen 1, Teil 3

EFFPro-Pilotstudie

Fragebogen Teil 1

20. Haben Sie Allergien?

Nein ₁

Ja ₂

Welche? _____

21. Wie häufig leiden Sie an Scheideninfektionen? (z.B. Pilzinfektion)

sehr häufig (d.h. mindestens 3x/ Jahr) ₁

häufig (d.h. mindestens 1x/ Jahr) ₂

selten (d.h. < 1x/ Jahr) ₃

nur während der Schwangerschaft(en)..... ₄

nie ₅

22. Wie oft haben Sie eine Blasenentzündung/ Harnwegsinfekt?

> 3x/ Jahr ₁

≤ 3x/ Jahr ₂

Selten ₃

Nie ₄

23. Mussten Sie in den letzten vier Wochen ein Antibiotikum einnehmen?

Nein ₁

Ja ₂

Vaginal ₃

Systemisch (Tablette/ Infusion) ₄

Welches Antibiotikum? _____

Warum? _____

Wie lange? _____

24. Nehmen Sie sonst regelmäßig Medikamente ein?

Nein ₁

Ja ₂

Folgende: _____

Abbildung 2: Fragebogen 1, Teil 4

EFFPro-Pilotstudie Fragebogen Teil 1

25. Haben Sie vor Eintritt der Schwangerschaft schon irgendeine Art von Probiotika (Actimel, Lacto Bifido, ...) zu sich genommen?

nein..... ₁

Ja..... ₂

Welches? _____

Wie oft? _____

26. Nehmen Sie aktuell Nahrungsergänzungsmittel (Vitamine, Folsäure, Probiotika) ein?

Nein..... ₁

Ja ₂

Welche? _____

Wie oft? _____

27. Ist das Ihre 1. Schwangerschaft?

Nein ₁

ja (bitte gehen Sie dann direkt weiter zur Frage 32) ₂

28. Wann und wie kam(en) ihr(e) bisherigen Kind(er) auf die Welt?

Geburtsjahr	Gewicht	Schwanger- schaftswoche	Geschlecht (w/m)	Wie kam ihr Kind auf die Welt? Normal/spontan, Saugglocke, Zange, Kaiserschnitt

5

Abbildung 2: Fragebogen 1, Teil 5

EFFPro-Pilotstudie

Fragebogen Teil 1

34. Gibt es in Ihrer Familie (Großeltern, Eltern, Geschwister...)

a. Frühgeburten? (d.h. vor der 37.Schwangerschaftswoche)

- nein ₁
 ja ₂

Wer wurde zu früh geboren? (Cousine, Schwester,...)	Welche Schwangerschaftswoche?

b. Fehlbildungen/ Syndrome? (z.B. Trisomie 21)

- Nein ₁
 ja ₂

Bei Wem? (Cousine, Schwester,...)	Welches Erkrankungsbild/ Fehlbildung?

Vielen Dank für die Beantwortung der Fragen! Bitte prüfen Sie Ihre Angaben noch einmal auf Vollständigkeit. Bitte geben Sie den ausgefüllten Fragebogen zusammen den Einverständniserklärungen in den vorfrankierten Umschlag, und geben ihn zur Post.

Vielen Dank!

Abbildung 2: Fragebogen 1, Teil 7

EFFPro-Pilotstudie Fragebogen Teil 2

Datum des Interviews:

Interviewer:

Name der Probandin: Randomisierungsnummer:

1. Wie haben Sie die Kapseln eingenommen?

täglich ₁

ein paar Mal vergessen ₂

sehr unregelmäßig ₃

Nie ₄

Warum? _____

2. Wann haben Sie die Kapseln eingenommen?

mit dem Essen ₁

nach dem Essen..... ₂

unabhängig vom Essen/ unterschiedlich... ₃

3. Sind bei Ihnen Nebenwirkungen aufgetreten?

Nein..... ₁

Ja..... ₂

Welche? _____

4. Haben Sie folgende Veränderungen bemerkt? (bitte zutreffendes ankreuzen)

geringere Reizung der Scheide ... <input type="checkbox"/> ₁	vermehrte Reizung der Scheide <input type="checkbox"/> ₂
weniger vaginaler Geruch <input type="checkbox"/> ₃	vermehrter vaginaler Geruch <input type="checkbox"/> ₄
weniger Schmerzen <input type="checkbox"/> ₅	mehr Schmerzen <input type="checkbox"/> ₆
weniger vaginaler Ausfluss/ Fluor.. <input type="checkbox"/> ₇	mehr vaginaler Ausfluss/ Fluor <input type="checkbox"/> ₈
weniger sexuelles Verlangen..... <input type="checkbox"/> ₉	mehr sexuelles Verlangen..... <input type="checkbox"/> ₁₀
keine Veränderungen..... <input type="checkbox"/> ₁₁	

5. Hat sich Ihr Stuhl während der Kapselinnahme verändert?

Nein..... ₁

Ja..... ₂

Inwiefern? _____

6. Hatten Sie während oder kurz nach der Einnahme Erbrechen?

Nein..... ₁

Ja..... ₂

1

Abbildung 3: Fragebogen 2, Teil 1

EFFPro-Pilotstudie Fragebogen Teil 2

Wenn ja: einmalig 3
häufiger 4
immer 5

7. Haben Sie Scheidenspülungen gemacht?
Nein 1
ja 2
Wie oft? _____
Was verwenden Sie? (Intimwaschlösungen/ Antiseptika)

8. Haben Sie in den letzten 8 Wochen (d.h. während der Kapsleinnahme) eines der folgenden Präparate regelmäßig verwendet?
Ja, folgendes:
Vagiflor 1
Vagi-C 2
Vagihex 3
Femibion flor intim 4
Relactagel..... 5
Vagisan 6
Actimel 7
proBio probiotische Kapseln..... 8
sonstiges..... 9

Nein..... 10

9. Haben Sie sonst noch irgendwelche Nahrungsergänzungsmittel (Vitamine, ...) eingenommen?
Nein..... 1
Ja 2
welche? _____
Wie oft? _____

2

Abbildung 3: Fragebogen 2, Teil 2

EFFPro-Pilotstudie

Fragebogen Teil 2

10. Mussten Sie in den letzten vier Wochen ein Antibiotikum einnehmen?

Nein ₁

Ja ₂

Vaginal ₃

Systemisch (Tablette/ Infusion) ₄

Welches Antibiotikum? _____

Warum? _____

Wie lange? _____

11. Wie war Ihr Alltag in den letzten vier Wochen?

(1 = überhaupt nicht anstrengend, 10 = sehr stressig/ anstrengend)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

Abbildung 3: Fragebogen 2, Teil 3

EFFPro-Pilotstudie

Fragebogen Teil 3

5. Hatten Sie folgende Erkrankungen/ Beschwerden/ Eingriffe während der Schwangerschaft?

- Gestationsdiabetes (Zuckerkrankheit, die erst während der Schwangerschaft auftrat) ₁
- Nierenbeckenentzündung (Pyelonephritis)..... ₂
- Harnwegsinfekt/ Blasenentzündung..... ₃
- Vaginales Brennen/ Juckreiz oder verstärkten Ausfluss ₄
- Vaginale Blutung nach der 12. Schwangerschaftswochen ₅
- Ein Polyhydramnion (d.h. übermäßig viel Fruchtwasser um ihr Kind) ... ₆
- Hohen Blutdruck (Präeklampsie)..... ₇
- sexuell übertragbare Erkrankungen (z.B. Chlamydien, Ghonorrhö, Herpes, Syphilis,...) ₈
- vorzeitige Wehentätigkeit d.h. regelmäßiges Hartwerden des Bauches.. ₉
- einen vorzeitigen Blasensprung, d.h. vor Auftreten der Wehentätigkeit... ₁₀
- eine Fruchtwasseruntersuchung/ Chorionzottenbiopsie..... ₁₁
- eine Operation am Bauch ₁₂
- eine Anämie (Blutarmut, d.h. Hb < 11g/dl)..... ₁₃
- keine Beschwerden ₁₄
- andere Probleme/ Beschwerden: _____

6. Mussten Sie während der Schwangerschaft stationär in ein Krankenhaus aufgenommen werden?

- Nein ₁
- Ja ₂

Warum? _____

7. Wie war Ihr Alltag in den letzten vier Wochen vor Entbindung?

(1 = überhaupt nicht anstrengend, 10 = sehr stressig/ anstrengend)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

Abbildung 4: Fragebogen 3, Teil 2

EFFPro-Pilotstudie Fragebogen Teil 3

13. Haben Sie den Monat bevor Sie schwanger wurden geraucht?

Nein ₁

Ja ₂

14. Haben Sie geraucht, nachdem Sie wussten, dass Sie schwanger sind?

Nein ₁

Ja ₂

Anzahl an Zigaretten pro Tag? _____

15. Wird bei Ihnen zu Hause geraucht?

Nein ₁

Ja ₂

16. Haben Sie in dieser Schwangerschaft Marihuana, Hashish, Cannabis, LSD, Kokain, Heroin oder andere Drogen eingenommen?

Nein ₁

Ja ₂

Welche? _____

Wie oft? _____

4

Abbildung 4: Fragebogen 3, Teil 4

2.7 Mikroskopische und kulturelle Analyse der Vaginalabstriche¹

Die Auswertung der Abstriche erfolgte durch das Institut für medizinische Mikrobiologie der Universitätsklinik Tübingen. Mittels Standard-Gramfärbung erfolgte die Bestimmung des Nugent Scores gemäß Nugent et al. (1991) (siehe Abbildung 5 und Abbildung 6).

Um den Nugent Score zu bestimmen wurde der Vaginalabstrich hierbei hinsichtlich Menge und Vorhandensein von Laktobazillen sowie Anaerobiern und *Gardnerella vaginalis* untersucht (siehe Abbildung 7).

Ein Score von 0-3 wurde als normale, gesunde Vaginalflora eingestuft. Ein Score von 4-6 entspricht einer intermediären Vaginalflora und ein Score von 7-10 wird als bakterielle Vaginose definiert. Bei einer bakteriellen Vaginose zeigt sich typischerweise eine verminderte Anzahl an Laktobazillen und vermehrt anaerobe Keime und *Gardnerella vaginalis*.

Für die weitere Analyse wurden intermediäre Vaginalflora und bakterielle Vaginose unter abnormaler Vaginalflora zusammengefasst (siehe 2.9). Die Auswertung erfolgte durch zwei unterschiedliche Untersucher an unterschiedlichen Instituten, die weder Kenntnis über die andere Person noch über die ermittelten Ergebnisse hatten. Bei abweichenden Scores, die innerhalb der gleichen Bewertungsgruppe lagen, wurde der Mittelwert gebildet. Scores, die in unterschiedlichen Bewertungsgruppen lagen, wurden vom ersten Untersucher nochmals befundet.

Um zwischen bakterieller Vaginose und anderer abnormaler Vaginalflora (z.B. im Rahmen einer aeroben Vaginitis) zu unterscheiden, wurden die Abstriche auf vier verschiedenen Medien kultiviert und auf die Anwesenheit von pathogenen Bakterien bzw. auf Bakterien, die mit bakterieller Vaginose assoziiert sind, analysiert.

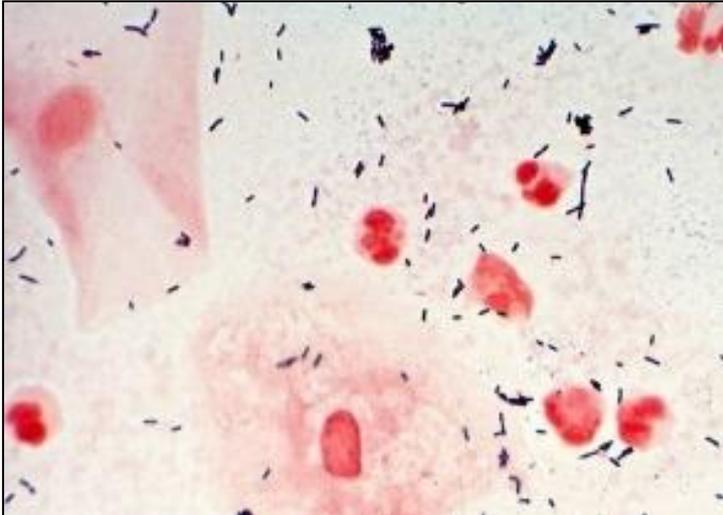


Abbildung 5: Grampräparat Nugent Score 0 (Normalbefund)

Bildquelle: Matthias Marschall, Institut für Mikrobiologie Tübingen

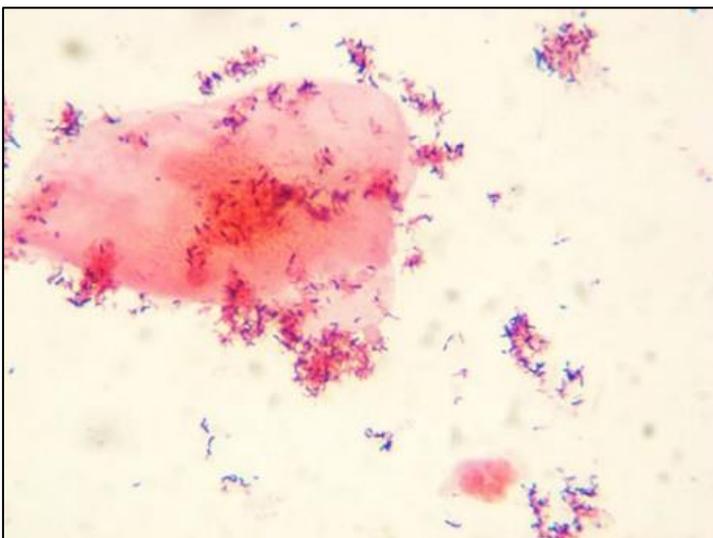


Abbildung 6: Grampräparat Nugent Score 8 (Bakterielle Vaginose)

Bildquelle: Matthias Marschall, Institut für Mikrobiologie Tübingen

grampositive Stäbe (Laktobazillen)	Nugent-Score
4+ (>30/Gesichtsfeld)	0
3+ (5–30/Gesichtsfeld)	1
2+ (1–4/Gesichtsfeld)	2
1+ (<1/Gesichtsfeld)	3
0 (keine in 5 Gesichtsfeldern)	4
gramnegative bzw. gramlabile Stäbe (z. B. Gardnerella, Prevotella, Bacteroides)	
4+ (>30/Gesichtsfeld)	4
3+ (5–30/Gesichtsfeld)	3
2+ (1–4/Gesichtsfeld)	2
1+ (<1/Gesichtsfeld)	1
0 (keine in 5 Gesichtsfeldern)	0
gramlabile gebogene Stäbe (Mobiluncus)	
4+ (>30/Gesichtsfeld)	2
3+ (5–30/Gesichtsfeld)	2
2+ (1–4/Gesichtsfeld)	1
1+ (<1/Gesichtsfeld)	1
0 (keine in 5 Gesichtsfeldern)	0

Abbildung 7: Nugent Score

Nugent Score 0-3 (negativ): kein Anhalt für bakterielle Vaginose

Nugent Score 4-6 (intermediär): Ergebnis in Zusammenschau mit klinischer Symptomatik zu beurteilen

Nugent Score 7-10 (positiv): Vom Vorliegen einer bakteriellen Vaginose ist auszugehen.

Übernommen aus LADR Ausgabe 221- 02/2019 (LADR, 2019)

2.8 Begründete Fallzahlschätzung¹

Die Fallzahlberechnung basierte auf einer randomisierten, placebokontrollierten Studie an gesunden, nicht schwangeren Frauen, die 60 Tage lang oral mit *L. rhamnosus* GR-1 und *L. fermentum*³ RC-14 behandelt wurden. Hierbei zeigte sich an Tag 90 ein Anstieg des Anteils an Frauen mit normaler Vaginalflora von 28% auf 42% (Nugent Score <4), sowie ein signifikanter Anstieg der Laktobazillen und eine Reduktion der pathogenen Bakterien in der Vaginalflora (Reid et al., 2003).

In dieser Studie wollten wir eine Zunahme der normalen vaginalen Mikrobiota um (mindestens) 50 % nachweisen. Bei einem Basisrisiko von 25% für bakterielle Vaginosen in Deutschland (Reid et al., 2003), gingen wir auch von einem Basisrisiko von 25% in unserer Kontrollgruppe aus.

Wir wählten ein Bezugsverhältnis von 1:1 und einen einseitigen exakten Fisher-Test für zwei unabhängige Gruppen und ungleiche Anteile als bevorzugte Analyse. Auf Basis dieser Annahmen, eines Typ-I-Fehlers von 0,05 und eines Typ-II-Fehlers von 0,2 (d.h. einer Power von 80%) ergab sich ein Stichprobenumfang von 320 schwangeren Frauen.

2.9 Angaben zur statistischen Auswertung¹

Es wurde eine Intention-to-treat-Analyse durchgeführt (d.h. die Analyse der Fälle und Kontrollen erfolgte wie ursprünglich zugeteilt, unabhängig davon, ob sie Placebo oder Verum tatsächlich eingenommen haben). Wenn das Ergebnis nicht bewertet werden konnte, wurden Techniken zur Imputation fehlender Daten und eine Sensitivitätsanalyse durchgeführt. Somit wurde kein Proband aufgrund fehlender Daten von der endgültigen Analyse ausgeschlossen. Die Nugent-Daten wurden mit dem exakten Fisher-Test analysiert.

³ Ältere Bezeichnung von *L. reuteri* RC-14, siehe auch 1.5

Die demographischen und klinischen Charakteristika der Teilnehmer wurden mit Hilfe von deskriptiven Statistiken wie Anzahl und Prozentsatz oder Median, Minimum und Maximum ausgewertet.

Der Nugent-Score als primärer Endpunkt wurde dichotomisiert in normal (Score 0-3) und abnormal (d.h. intermediäre/pathologische Vaginalflora, Score 4-10).

Häufigkeiten wurden nach der Intervention mit Hilfe des exakten Fischer-Tests verglichen. Für diesen Vergleich wurde ein Wahrscheinlichkeitswert von $<0,05$ als statistisch signifikant angesehen.

Risikoverhältnisse und 95%-Konfidenzintervalle wurden mittels Cochran-Mantel-Haenszel-Statistik unter Verwendung der SAS-Software berechnet (SAS Insitut Heidelberg). Für alle dargestellten sekundären Endpunkte haben die Wahrscheinlichkeitswerte nur beschreibenden Charakter. Die Berechnung der Wahrscheinlichkeitswerte erfolgte mit SPSS (Version 20, IBM Inc., Ehingen), (Gille et al., 2016).

2.10 Definition der Zielkriterien¹

Primärer Endpunkt war der Anteil normaler Vaginalflora, definiert als Nugent Score <4 nach 8-wöchiger Einnahme der Studienmedikation. Sekundäre Endpunkte waren die Nugent-Score-Verteilung im Studienkollektiv sowie interventionsassoziierte Beschwerden, die nicht zu einem Abbruch der Einnahme führten. Hierzu zählten Juckreiz, vermehrter vaginaler Ausfluss, abdominelle Beschwerden, Änderungen der Stuhlkonsistenz, Schwangerschaftsdauer, der Anteil an Frühgeburten (Entbindung zwischen 22+0 und 36+6 SSW) sowie der Anteil an Fehlgeburten (Entbindung vor 22+0 SSW) und angeborenen Fehlbildungen.

2.11 Abbruchkriterien¹

Klinische Studien sowie Tierversuche legen nahe, dass die in unserer Studie verwendeten probiotischen Stämme gefahrlos in der Schwangerschaft angewendet werden können (Reid and Kirjaivanen, 2005, Anukam et al., 2005). Somit wurden keine Abbruchkriterien für Teilnehmer oder Studie festgelegt.

3 Ergebnisse⁴

3.1 Studieneinschluss⁴

Es wurden 445 schwangere Frauen auf entsprechende Voraussetzungen für einen Studieneinschluss geprüft. Hiervon entsprachen 33 Frauen nicht den Einschlusskriterien, 54 entschieden sich gegen eine Teilnahme und bei 38 waren andere Gründe Ursache der Nichtteilnahme.

320 Frauen konnten in die Studie eingeschlossen werden und wurden eins zu eins in die Behandlungs- und Kontrollgruppe randomisiert. Aus der Behandlungsgruppe konnten 144 prä- und 135 postinterventionelle Proben und aus der Kontrollgruppe 148 prä- und 136 postinterventionelle Proben analysiert werden. Hauptursachen fehlender Proben waren Spontanaborte und logistische Probleme. Außerdem mussten einige Probanden die Studienteilnahme wegen Erbrechens vorzeitig beenden. In seltenen Fällen war ein Schwangerschaftsabbruch Grund für das Ausscheiden aus der Studie.

In der Behandlungsgruppe konnten 96% und in der Kontrollgruppe 94% der postinterventionellen Fragebögen analysiert werden (siehe Abbildung 8).

⁴ Die im Folgenden unter Kapitel 3 beschriebenen Ergebnisse wurden bereits teilweise publiziert in GILLE, C., BÖER, B., MARSCHAL, M., URSCHITZ, M. S., HEINECKE, V., HUND, V., SPEIDEL, S., TARNOW, I., MYLONAS, I., FRANZ, A., ENGEL, C. & POETS, C. F. 2016. Effect of probiotics on vaginal health in pregnancy. EFFPRO, a randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol*, 215, 608.e1-608.e7. In den entsprechend markierten Unterkapiteln wurde zur besseren Lesbarkeit auf erneute Selbstzitate verzichtet.

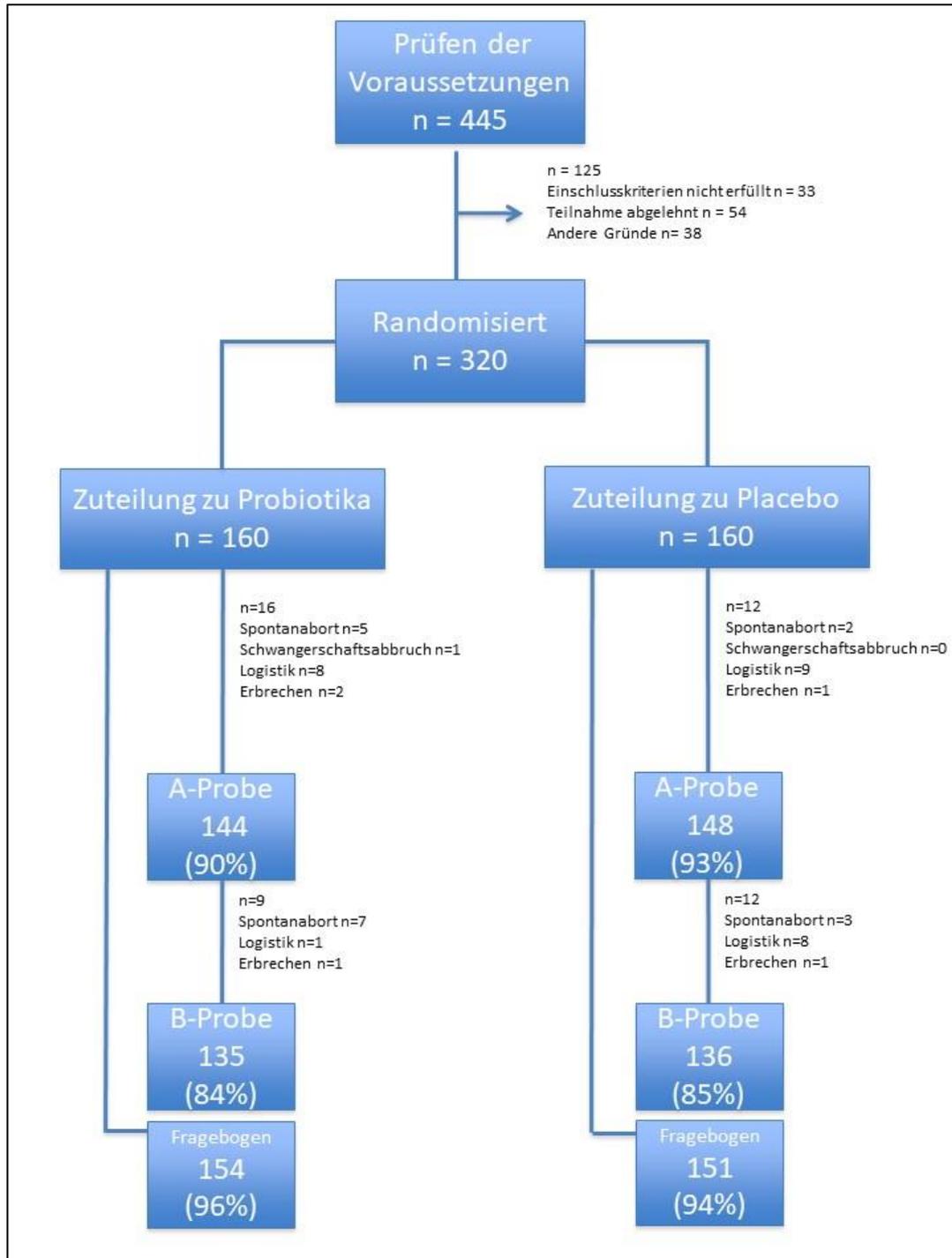


Abbildung 8: Flussdiagramm gemäß CONSORT Kriterien

Die Anzahl der A- und B-Proben und der erfolgreichen Telefoninterviews sind angegeben. A- und B-Proben, die für die mikroskopische Analyse nicht verfügbar waren, sind nach dem Grund ihrer Nichtverfügbarkeit aufgelistet. Spontanabort wurde als ungewollte Beendigung der Schwangerschaft definiert. Schwangerschaftsabbruch war definiert als medizinisch induziertes Ende der Schwangerschaft. Logistik beschreibt, dass der vom Gynäkologen asservierte Abstrich das Labor nicht erreicht hat. Erbrechen gibt an, dass die Testperson aufgrund von Krankheit nicht zum Routinetermin beim Gynäkologen erschienen ist. CONSORT = Consolidation Standard of Reporting Trials

Diagramm modifiziert nach Gille et al. (2016)

3.2 Studienpopulation⁴

Um die Verteilung des Basisrisikos für eine abnormale Vaginalflora und Frühgeburtlichkeit in der Behandlungs- und Kontrollgruppe zu ermitteln, wurden mütterliches Alter, Familienstand, Parität, Frühgeburtlichkeit oder rezidivierende urogenitale Infektionen in der Vorgeschichte, sowie die Einnahme von Antibiotika vor Beginn der Intervention ermittelt. Auch Fehlbildungen oder gynäkologische Operationen in der Vorgeschichte wurden abgefragt. Nach Auswertung der Fragebögen zeigte sich eine gleichmäßige Verteilung in beiden Gruppen. Auch die Compliance bei der Kapseleinnahme und das Schwangerschaftsalter bei Interventionsbeginn unterschied sich nicht zwischen den Gruppen (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Basischarakteristika der Studienpopulation

Basischarakteristika der Studienpopulation	Gesamt (n=320)	Verum (n=160)	Placebo (n=160)
Medianes mütterliches Alter, in Jahren (Spannweite)	33 (21-45)	33 (21-45)	33 (24-44)
Verheiratet, n (%)	286 (90)	141 (88)	145 (91)
Erstgebärend, n (%)	122 (38)	61 (38)	61 (38)
Mehrgebärend, n (%)	15 (5)	10 (6)	5 (3)
Frühgeburt in der Vorgeschichte, n (%)	23 (7)	13 (8)	10 (6)
Rezidivierende vaginale Infektionen, n (%)	50 (16)	21 (13)	29 (18)
Uterusfehlbildung/Operationen, n (%)	35 (11)	19 (12)	16 (10)
Antibiotikaeinnahme 4 Wochen vor Intervention, n (%)	13 (4)	5 (3)	8 (5)
SSW bei Interventionsstart, Wochen+Tage	12+2	12+1	12+2
Compliance bei der Kapseleinnahme, n (%)	275 (86)	133 (83)	142 (89)

Parameter, die das Basisrisiko für Veränderungen der Vaginalflora und für Frühgeburtlichkeit beeinflussen, sowie die Compliance und die Verwendung von Antibiotika in der Studienpopulation, sind wie beschrieben angegeben.

Modifiziert nach Gille et al. (2016).

3.3 Auswirkung probiotischer Ernährung auf die Vaginalflora vor der Intervention

Von 259 Patientinnen gaben 48 (=18,5%) an sich bereits vor der Intervention regelmäßig oder auch nur gelegentlich probiotisch ernährt zu haben. Davon waren 24 Patientinnen in der Behandlungsgruppe und auch 24 Patientinnen in der Kontrollgruppe. Vergleicht man die Gruppen untereinander waren 19,4% (24 von 124) in der Behandlungsgruppe und 17,8% (24 von 135) in der Kontrollgruppe. Es gab zwischen den Gruppen somit keinen Unterschied im Anteil der Frauen, die sich bereits vor Intervention probiotisch ernährt haben. Es handelte sich hier in den meisten Fällen um Actimel® (fermentierte Milch mit den klassischen Joghurtkulturen *L. bulgaricus* und *Streptococcus thermophilus* und Zusatz von speziellen *L. casei* Kulturen und Vitamin D und B6).

Präinterventionell hatten die Frauen, die eine probiotische Ernährung angaben, einen höheren Anteil an normaler Vaginalflora im Vergleich zu Frauen, die sich nicht probiotisch ernährt hatten (86% vs. 80%). Knapp 15% der Probandinnen ohne vorherige probiotische Ernährung zeigten einen intermediären Nugentscore (siehe Tabelle 2). Mit probiotischer Ernährung konnte in 9,3% ein intermediärer Score ermittelt werden (siehe Tabelle 3). Diese Unterschiede waren jedoch nicht signifikant ($p=0,48$).

Es ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede im Anteil der Probandinnen mit bakterieller Vaginose. So waren sowohl mit als auch ohne präinterventionelle probiotische Ernährung nur 4,6-4,7% bakterielle Vaginosen in unserem Patientenkollektiv zu finden (siehe Tabelle 2, Tabelle 3, Abbildung 9).

Ergebnisse

Tabelle 2: Nugent Score Verteilung ohne präinterventionelle probiotische Ernährung.

Normal				Intermediär			Bakterielle Vaginose	
0	1	2	3	4	5	6	7	8
N=58	N=51	N=27	N=20	N=15	N=7	N=7	N=5	N=4
29,9%	26,3%	13,9%	10,3%	7,7%	3,6%	3,6%	2,6%	2,1%
80,4%				14,9%			4,6%	

N=194

Tabelle 3: Nugent Score Verteilung mit präinterventioneller probiotischer Ernährung.

Normal				Intermediär		Bakterielle Vaginose	
0	1	2	3	5	6	7	8
N=16	N=10	N=5	N=6	N=3	N=1	N=1	N=1
37,2%	23,3%	11,6%	14,0%	7,0%	2,3%	2,3%	2,3%
86,0%				9,3%		4,7%	

N=43

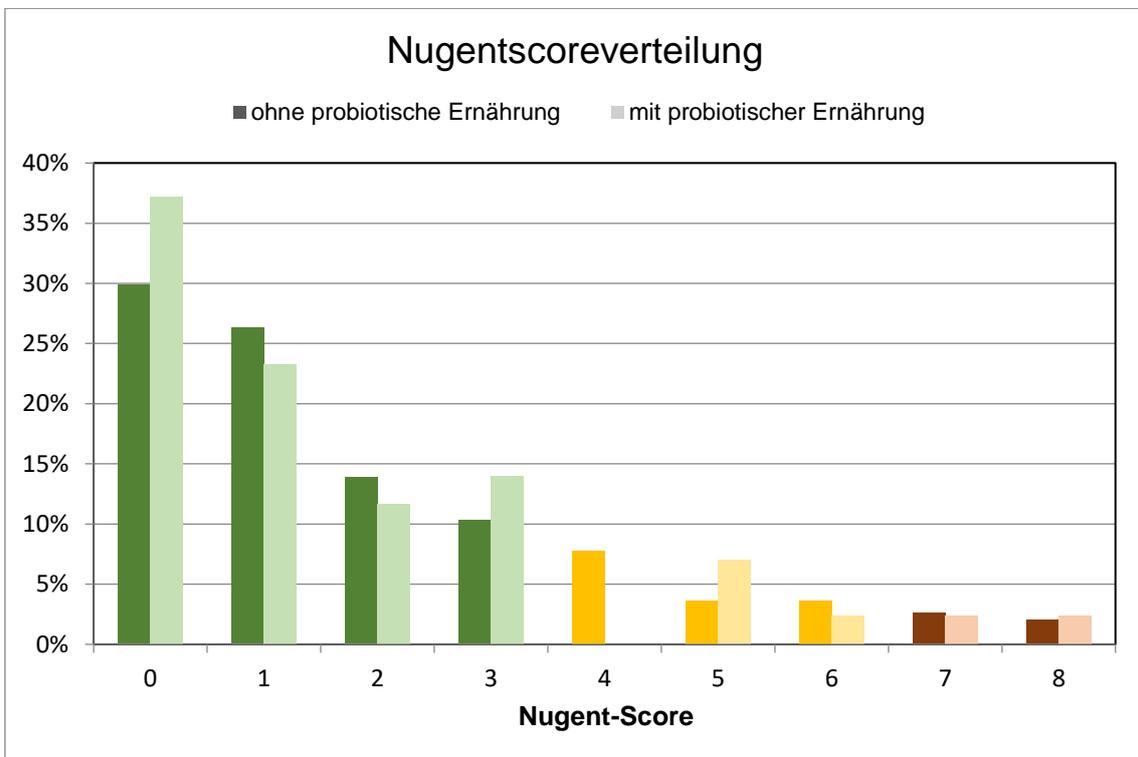


Abbildung 9: Nugent Scoreverteilung [%] mit bzw. ohne probiotische Ernährung vor Intervention.

Nugent score 0-3 normal, 4-6 intermediär, 7-10 Bakterielle Vaginose

3.4 Auswirkungen oraler Probiotika auf die Vaginalflora⁴

In der Behandlungsgruppe sank nach Intervention der Anteil der Frauen mit normaler Vaginalflora von 82,6% auf 77,8%, was eine Abnahme um 4,8% bedeutet. Der Anteil der Frauen mit normaler Vaginalflora in der Kontrollgruppe ging von 79,1% vor Intervention auf 74,3% nach Intervention zurück, was auch einer Abnahme um 4,8% entspricht.

Der Vergleich der postinterventionellen Proben in der Behandlungs- und Kontrollgruppe ergab keinen signifikanten Unterschied im Auftreten von abnormaler Vaginalflora nach Intervention ($p=0,497$) (siehe Tabelle 4).

Insgesamt war in der Studienpopulation die Rate an bakteriellen Vaginosen niedrig. Nur bei 2,8 bis 5,4% der Teilnehmerinnen ließ sich vor Beginn der Intervention eine bakterielle Vaginose nachweisen (definiert als Nugent Score 7-10). Nach der Intervention konnte bei 1,5% der Frauen in der Kontrollgruppe bzw. 2,2% der Frauen in der Behandlungsgruppe eine bakterielle Vaginose diagnostiziert werden.

Tabelle 4: Nugent Score vor und nach Intervention

Nugent Score	Verum, n (%)	Placebo, n (%)	p-Wert	
			Einseitiger Test	Zweiseitiger Test
Probe mit normaler Flora (0-3)				
A-Probe	119 (82,6)	117 (79,1)	0,265	0,460
B-Probe	105 (77,8)	101 (74,3)	0,297	0,560
Probe mit bakterieller Vaginose (7-10)				
A-Probe	4 (2,8)	8 (5,4)	0,202	0,376
B-Probe	3 (2,2)	2 (1,5)	0,497	1,000

Häufigkeit normaler Vaginalflora (Nugent Score, <4) und bakterieller Vaginose (Nugent Score, 7-10) in der Behandlungs- bzw. Kontrollgruppe vor (A-Probe) und nach Intervention (B-Probe). Für die statistische Analyse wurden die Werte mit Hilfe des exakten Fischer-Tests verglichen.

Übernommen aus Gille et al. (2016).

3.5 Nebenwirkungen der Probiotikaeinnahme⁴

Die Einnahme der Probiotika wurde insgesamt gut vertragen. Beschwerden, die im Zusammenhang mit der Einnahme der Kapseln auftraten, die aber nicht zum Studienabbruch führten und als unangenehm einzustufen waren, traten etwas vermehrt in der Behandlungsgruppe auf (8,3% in der Behandlungsgruppe bzw. 3,1% in der Kontrollgruppe) (siehe Tabelle 5).

Die häufigsten interventionsassoziierten Beschwerden waren vermehrter vaginaler Ausfluss (6 bzw. 2 Fälle) sowie die Veränderung der Stuhlkonsistenz (5 bzw. 1 Fall).

3.6 Auswirkung oraler Probiotika auf Frühgeburten-, Fehlgeburten- und Fehlbildungsrate⁴

Die Frühgeburtenrate war im Studienkollektiv niedrig (siehe Tabelle 5). Nur 6 von 160 Schwangerschaften (3,8%) in der Behandlungsgruppe bzw. 8 von 160 Schwangerschaften (5,0%) in der Kontrollgruppe führten zu einer Frühgeburt. Das Risiko für eine Frühgeburt wurde durch die Intervention nicht beeinflusst (RR 1,3 (0,5-3,8); $p=0,59$).

Das mittlere Gestationsalter der Frühgeborenen bei Geburt war in der Behandlungsgruppe mit 35,1 SSW (29,3 – 36,9 SSW) im Vergleich zur Kontrollgruppe mit 31,6 SSW (23 – 36,6 SSW) etwa 4 Wochen älter ($p=0,22$).

Die Anzahl an Fehlgeburten (siehe Tabelle 5) war in der Behandlungsgruppe geringfügig höher (12 von 154 Fällen = 7,8%) als in der Kontrollgruppe (5 von 151 Fällen = 3,3%; RR 2,2 (0,78-6,19; $p=0,08$).

Angeborene Fehlbildungen wurden in 9 von 142 Schwangerschaften der Behandlungsgruppe (6,3%) bzw. 12 von 146 Schwangerschaften der Kontrollgruppe (8,2%) gesehen.

Keine der untersuchten Endpunkte zeigte statistische signifikante Unterschiede zwischen der Behandlungs- und der Kontrollgruppe (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5: Sekundäre Endpunkte

Sekundäre Endpunkte	Verum	Placebo	p-Wert zweiseitiger Test
Interventions-assoziierte Beschwerden, n (%)	13 (8,3)	5 (3,1)	0,06
Frühgeburtlichkeit <37+0 SSW, n (%)	6 (3,8)	8 (5,0)	0,59
Mediane Schwangerschaftsdauer (Geburt <37+0 SSW), Wochen (Spannweite)	35,1 (29,3-36,9)	31,6 (23-36,6)	0,22
Fehlgeburt (Geburt <22+0 SSW), n (%)	12 (7,8)	5 (3,3)	0,08
Angeborene Fehlbildungen, n (%)	9 (6,3)	12 (8,2)	0,65

Sekundäre Endpunkte in der Behandlungs- bzw. Kontrollgruppe, n (%) falls nicht anders angegeben. Für die statistische Analyse wurden die Werte mit dem exakten Test von Fisher verglichen.

Übernommen aus Gille et al. (2016).

3.7 Einfluss von Bildungsniveau, Alkohol- und Nikotinkonsum auf die Rate bakterieller Vaginosen

Im Studienkollektiv war die Rate an Frauen mit bakterieller Vaginose niedriger als erwartet. Daher wurden prädisponierende Faktoren für das Auftreten einer bakteriellen Vaginose analysiert, insbesondere Bildungsniveau, Alkohol- und Nikotinkonsum.

Sowohl Mütter als auch Väter des Studienkollektivs gaben ein insgesamt hohes Bildungsniveau an (siehe Tabelle 6, Tabelle 7, Tabelle 8, Tabelle 9, Abbildung 10, Abbildung 11, Abbildung 12, Abbildung 13).

Im Gesamtkollektiv zeigt sich eine hohe Anzahl an Abiturientinnen (42,9%) entsprechend einem insgesamt hohen Schulbildungsniveau bei den Probandinnen (siehe Tabelle 6, Abbildung 10). Vergleicht man die Gruppen untereinander gaben Mütter der Kontrollgruppe etwas häufiger einen Abiturabschluss an als Mütter der Behandlungsgruppe ($p=0,317$) und hatten umgekehrt etwas weniger Grund- und Hauptschulabschlüsse ($p=0,266$). Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind allerdings nicht signifikant (siehe Tabelle 6).

Ergebnisse

Tabelle 6: Schulbildung der Mütter

Schulbildung Mütter, n (%)	Gesamt (n=259)	Verum (n=124)	Placebo (n=135)	p-Wert
Grund- und Hauptschule	33 (12,7)	19 (15,3)	14 (10,4)	0,27
Mittlere Reife	92 (35,5)	45 (36,3)	47 (34,8)	0,90
Polytechnische Oberschule	1 (0,4)	1 (0,8)	0	n.a.
Fachhochschulreife	22 (8,5)	10 (8,1)	12 (8,9)	0,83
Abitur	111 (42,9)	49 (39,5)	62 (45,9)	0,32
Anderer Abschluss	0	0	0	n.a.
Noch kein Abschluss	0	0	0	n.a.
Kein Abschluss	0	0	0	n.a.

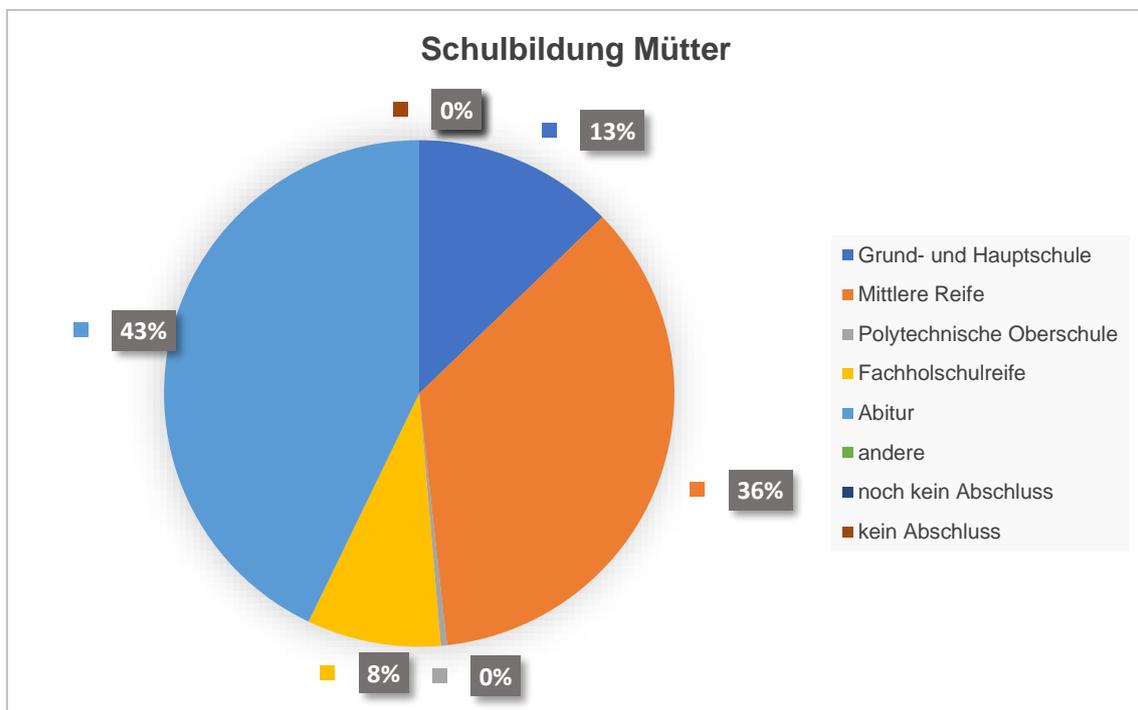


Abbildung 10: Schulbildung der Mütter in % angegeben

Ergebnisse

Tabelle 7: Schulbildung der Väter

Schulbildung Väter, n (%)	Gesamt (n=255)	Verum (n=120)	Placebo (n=135)
Grund- und Hauptschule	51 (20)	22 (18,4)	29 (21,5)
Mittlere Reife	58 (22,7)	35 (29,2)	23 (17,0)
Polytechnische Oberschule	2 (0,8)	2 (1,7)	0
Fachhochschulreife	33 (12,9)	14 (11,6)	19 (14,1)
Abitur	107 (42)	45 (37,5)	62 (45,9)
Anderer Abschluss	4 (1,6)	2 (1,7)	2 (1,5)
Noch kein Abschluss	0	0	0
Kein Abschluss	0	0	0

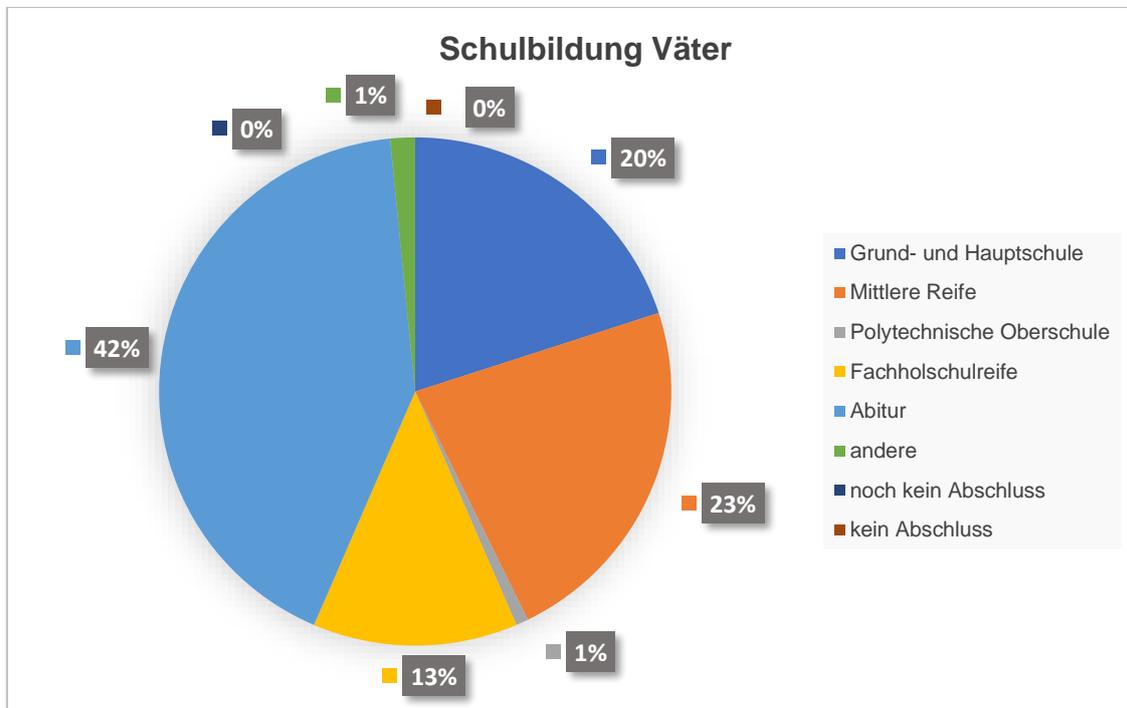


Abbildung 11: Schulbildung der Väter in % angegeben

Ergebnisse

Tabelle 8: Berufsausbildung der Mütter

Berufsausbildung Mütter, n (%)	Gesamt (n=264)	Verum (n=126)	Placebo (n=138)	p-Wert
Lehre	99 (37,5)	49 (38,9)	50 (36,2)	0,83
Berufsschule	24 (9,1)	10 (7,9)	14 (10,1)	0,63
Fachschule	24 (9,1)	12 (9,5)	12 (8,7)	0,92
Fachhochschule, Ingenieur	18 (6,8)	6 (4,8)	12 (8,7)	0,08
Universität	64 (24,2)	29 (23,0)	35 (25,4)	0,54
Andere	5 (1,9)	3 (2,4)	2 (1,4)	0,98
Noch in Ausbildung	10 (3,8)	3 (2,4)	7 (5,1)	0,54
Kein Abschluss	20 (7,6)	14 (11,1)	6 (4,3)	0,14

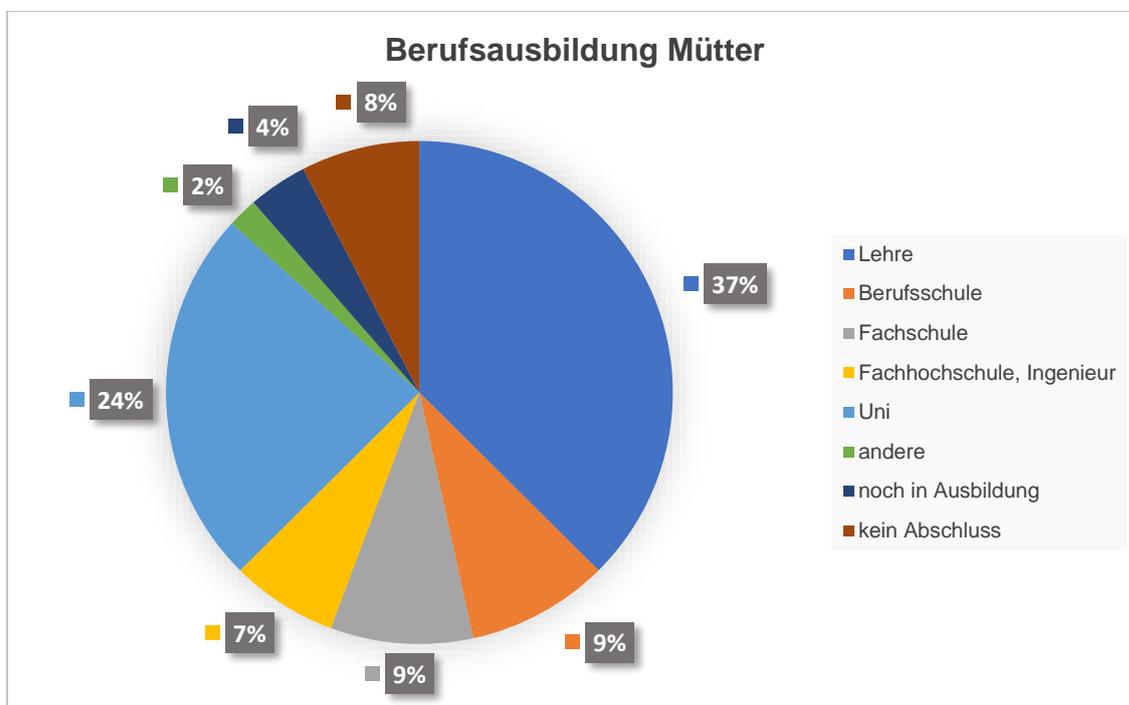


Abbildung 12: Berufsausbildung der Mütter in % angegeben

Ergebnisse

Tabelle 9: Berufsausbildung der Väter

Berufsausbildung Väter, n (%)	Gesamt (n=255)	Verum (n=120)	Placebo (n=135)	p-Wert
Lehre	91 (35,7)	48 (40,0)	43 (31,9)	0,76
Berufsschule	16 (6,3)	10 (8,3)	6 (4,4)	0,37
Fachschule	20 (7,8)	8 (6,7)	12 (8,9)	0,75
Fachhochschule, Ingenieur	33 (12,9)	15 (12,5)	18 (13,3)	0,60
Universität	76 (29,8)	29 (24,2)	47 (34,8)	0,29
Andere	5 (2)	3 (2,5)	2 (1,5)	0,98
Noch in Ausbildung	6 (2,4)	3 (2,5)	3 (2,2)	n.a.
Kein Abschluss	8 (3,1)	4 (3,3)	4 (3,0)	n.a.

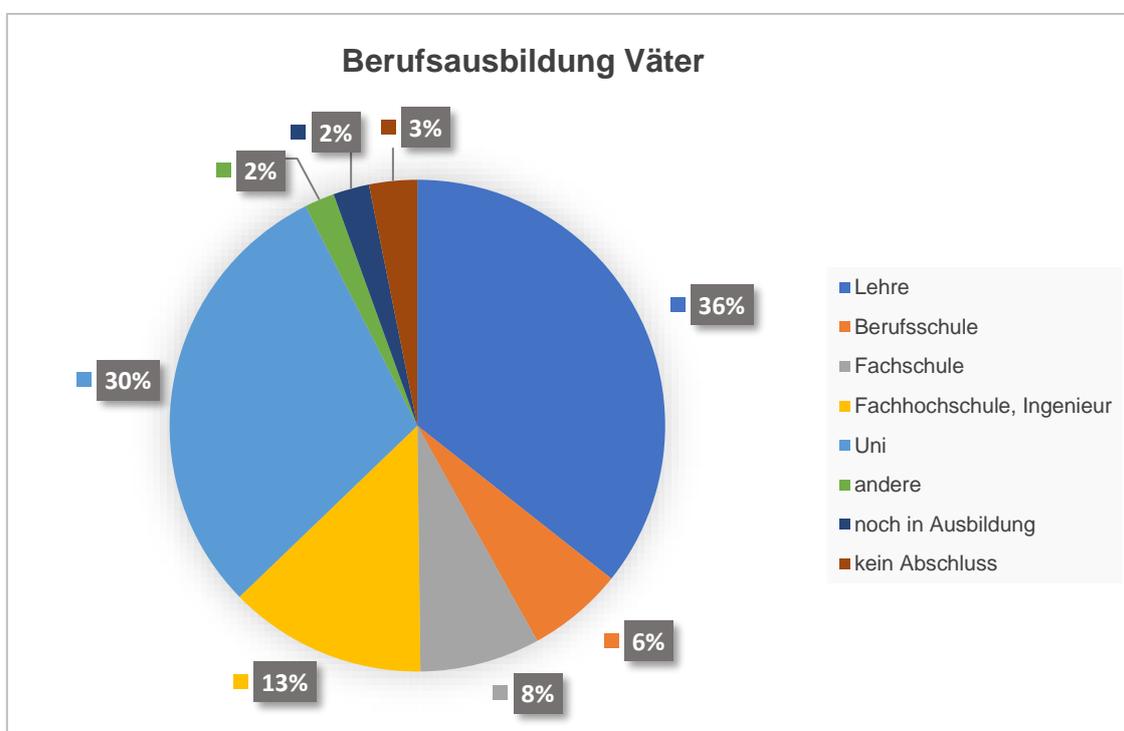


Abbildung 13: Berufsausbildung der Väter in % angegeben

Nur eine Patientin gab an, täglich Alkohol während der Schwangerschaft getrunken zu haben. 11 Teilnehmerinnen gaben an, mehr als einmal pro Monat Alkohol getrunken zu haben, eine Teilnehmerin mehr als einmal pro Woche und 224 Frauen (94,5%) tranken gar keinen Alkohol während der Schwangerschaft (siehe Tabelle 10 und Abbildung 14).

Tabelle 10: Alkoholkonsum

Alkoholkonsum, n (%)	Gesamt (n=237)	Verum (n=111)	Placebo (n=126)
nie	224 (94,5)	105 (94,6)	119 (94,4)
>1x/Monat	11 (4,6)	6 (5,4)	5 (4,0)
>1x/Woche	1 (0,4)	0	1 (0,8)
täglich	1 (0,4)	0	1 (0,8)



Abbildung 14: Alkoholgenuss im Patientenkollektiv in %

Außerdem gaben 70 von 238 (29,4%) der Frauen an, vor der Schwangerschaft geraucht zu haben, davon rauchten 52 Patientinnen auch im Monat vor der Schwangerschaft. 25 Patientinnen gaben an weiterhin zu Rauchen nachdem die Schwangerschaft bereits bekannt war.

3.8 Infektionen während der Schwangerschaft

Von 154 Patientinnen klagten 30 über vaginalen Juckreiz, Brennen bzw. vermehrten vaginalen Ausfluss während der Schwangerschaft. Zwei Patientinnen hatten eine Pyelonephritis und sechs Patientinnen hatten einen Harnwegsinfekt.

Tabelle 11: Infektionen in der Schwangerschaft im Patientenkollektiv

	Gesamt (n=154)	Probiotika	Placebo
Pyelonephritis, n (%)	2 (1,3)	1 (50)	1 (50)
Harnwegsinfekt, n (%)	6 (3,9)	2 (33,3)	4 (66,7)
Vaginale Infektion, n (%)	30 (19,5)	13 (43,3)	17 (56,7)

4 Diskussion⁵

4.1 Einfluss von Probiotika auf die Vaginalflora⁵

In der vorliegenden Studie sollte der Einfluss von oral verabreichten Probiotika auf die Vaginalflora während der Schwangerschaft untersucht werden. Die Hypothese, dass unter regelmäßiger oraler Einnahme des Probiotikums mit *L. rhamnosus GR-1* und *L. reuteri RC-14* der Anteil Schwangerer mit normaler Vaginalflora, definiert als Nugent Score <4, im Verlauf der Schwangerschaft zunimmt, konnte nicht bestätigt werden.

Die bisher veröffentlichten Ergebnisse hinsichtlich des positiven Einflusses von *L. rhamnosus GR-1* und *L. reuteri RC-14* auf die Vaginalflora von Nichtschwangeren zeigten eine Verbesserung des Nugent-Scores und eine Reduktion potentiell pathogener Bakterien und Pilze in der Vaginalflora (Reid et al., 2003). Dieser Effekt konnte in der hier beschriebenen Studie bei schwangeren Frauen nicht nachgewiesen werden.

Bei immunkompetenten, nicht schwangeren Frauen mit manifesten klinischen Symptomen einer bakteriellen Vaginose führte die kombinierte Gabe von *L. rhamnosus GR-1*, *L. reuteri RC-14* und antibiotischer Therapie zur klinischen Besserung und niedrigeren Nugent-Scores im Vergleich zur alleinigen Gabe des Antibiotikums (Anukam et al., 2006, Martinez et al., 2009). Bei HIV-Infizierten Patientinnen mit bakterieller Vaginose hingegen führte die kombinierte Gabe des Antibiotikums Metronidazol plus Probiotika nicht zu einer höheren Heilungsrate der bakteriellen Vaginose im Vergleich zur alleinigen Gabe des Antibiotikums. Bei der Gruppe mit intermediärem Nugentscore erhöhte die Probiotikagabe aber tendenziell die Wahrscheinlichkeit einer normalen Vaginalflora (OR 2,4; p=0,1) (Hummelen et al., 2010).

Die bisher aktuellste Metaanalyse der Cochrane-Collaboration zeigt, dass das Risiko einer vaginalen Infektion durch die Einnahme unterschiedlicher Probiotika deutlich reduziert werden kann (RR 0,19; 95% CI 0,08-0,48) (Othman et al.,

⁵ Die im Folgenden unter Kapitel 4 beschriebene Diskussion wurde bereits teilweise publiziert in *ibid.* In den entsprechend markierten Unterkapiteln wurde zur besseren Lesbarkeit auf erneute Selbstzitate verzichtet.

2007). Allerdings beinhaltete die Analyse lediglich zwei Studien mit insgesamt 88 Patientinnen, was die Aussagekraft mindert.

Ein weiteres Review analysierte 13 randomisierte, kontrollierte Studien mit insgesamt 1258 Patienten, die die Probiotikamonotherapie versus Placebo bzw. Probiotikamonotherapie versus kombinierte Therapie von Probiotika und Antibiotika bei bakterieller Vaginose miteinander verglichen. Auch wegen der hohen Heterogenität der gepoolten Analyse konnte kein eindeutiger Effekt von Probiotika bei der Behandlung der bakteriellen Vaginose gezeigt werden (Li et al., 2019).

Damit zeigt sich in der Literatur ein insgesamt heterogenes Bild hinsichtlich des Einflusses von oral verabreichten Probiotika auf die bakterielle Vaginose. Ein Faktor, der möglicherweise einen Einfluss auf die Wirkung von Probiotika bei bakterieller Vaginose hat, könnte die Immunkompetenz des Wirtes sein. Für die Schwangerschaft ist gut beschrieben, dass es zur Verringerung der Immunabwehr gegen Pathogene kommt (Deshmukh and Way, 2019).

4.2 Einfluss auf Früh- und- Fehlgeburtenrate⁵

Die Prävention oder Behandlung der bakteriellen Vaginose während der Schwangerschaft ist insbesondere deswegen von Interesse, da die bakterielle Vaginose als ein Risikofaktor für Frühgeburtlichkeit vielfach beschrieben wurde (Manns-James, 2011).

Die Frühgeburtenrate zeigte in unserem Kollektiv keinen signifikanten Unterschied zwischen Behandlungs- und Kontrollgruppe. Allerdings konnte im Falle einer Frühgeburt <37. SSW ein im Mittel vier Wochen längeres Gestationsalter in der Behandlungsgruppe nachgewiesen werden. Diese Befunde sind lediglich deskriptiv und sollten aufgrund der kleinen Fallzahl entsprechend zurückhaltend interpretiert werden, da die Studie primär nicht dafür konzipiert war, Änderungen der Frühgeburtenrate zu detektieren.

Unterstützt werden unsere Resultate allerdings durch die Studie von Myhre et al. (2011), die eine Reduktion des Frühgeburtenrisikos durch probiotische Ernährung nachweisen konnten.

Eine randomisierte kontrollierte Studie analysierte den Effekt von Probiotika hinsichtlich des Auftretens von Frühgeburten und konnte aufgrund zu niedriger Fallzahlen keinen Einfluss eruieren (Krauss-Silva et al., 2011).

Daten aus randomisierten Studien, mechanistische Daten aus mikrobiologischen Studien und Registerdaten wurden in den letzten Jahren mehrfach zusammengefasst, um die Bedeutung von Probiotika für die Beeinflussung des Schwangerschaftsverlaufes und auch die Verhinderung von Frühgeburten zu ermitteln. Die jetzige Datenlage lässt keine endgültige Aussage über den Einfluss von Probiotika in der Prävention von Frühgeburten zu (Jarde et al., 2018, Samuel et al., 2019, Ansari et al., 2021).

In der Behandlungsgruppe konnte eine geringfügig höhere Zahl an Aborten nachgewiesen werden. Das Intervall zwischen Interventionsbeginn und Spontanabort variierte zwischen 2 und 10 Tagen (im Median 6 Tage). Diese Schwankungsbreite macht einen kausalen Zusammenhang zwischen Intervention und Abort unwahrscheinlich, sollte aber trotzdem bei ähnlichen Interventionen beachtet werden.

Eine randomisierte, kontrollierte single-center Studie aus Finnland berichtet über eine sehr niedrige Frühgeburtenrate <37+0 SSW (2%) und einen fehlenden Effekt oraler Einnahme von Probiotika in Kombination mit Ernährungsberatung auf das Frühgeburtenrisiko (Luoto et al., 2010). Interessanterweise war deren Fehlgeburtenrate in der Behandlungsgruppe ebenfalls geringfügig höher im Vergleich zur Placebogruppe. Mit unseren Daten war es allerdings nicht möglich zwischen den beiden Endpunkten Fehl- oder Frühgeburt zu unterscheiden.

Es ist möglich, dass das höhere Gestationsalter, das von Frauen mit Lebendgeburt in der Behandlungsgruppe erreicht wurde, auf Fehlgeburten zurückzuführen ist, die ohne Behandlung zu einer Lebendgeburt geführt hätten.

4.3 Einfluss probiotischer Ernährung auf Frühgeburtenrate und Bakterielle Vaginose

Myhre et al. (2011) konnten zeigen, dass der Verzehr probiotischer Milchprodukte das Risiko eine Frühgeburt zu erleiden, senkt.

Unsererseits wurde festgestellt, dass Schwangere, die bereits vor der Intervention probiotische Nahrung zu sich nahmen (z.B. In Form von Actimel) vermehrt einen normalen Nugentscore aufwiesen. Eine Verringerung der Rate an bakteriellen Vaginosen konnte durch probiotische Ernährung bisher allerdings nicht eindeutig nachgewiesen werden (Hantoushzadeh et al., 2012, He et al., 2020).

4.4 Unerwünschte Nebenwirkungen und Akzeptanz

Erfreulicherweise zeigte die regelmäßige Verabreichung von Probiotika keine eindeutigen unerwünschten Nebenwirkungen. Leichte Änderungen in Stuhlkonsistenz und vermehrter vaginaler Fluor wurden gut toleriert. Insgesamt zeigte sich eine gute Compliance bei der Einnahme und eine generell gute Akzeptanz der Schwangeren gegenüber der Intervention.

4.5 Niedrige Rate bakterieller Vaginosen und Assoziation mit sozioökonomischem Status

Die Prävalenz der bakteriellen Vaginose variiert stark je nach Land und ist auch abhängig von der ethnischen Herkunft. So ist sie bei der afroamerikanischen Bevölkerung Nordamerikas und in Afrika mit über 30% am höchsten und am niedrigsten bei der kaukasischen und asiatischen Bevölkerung. Im internationalen Vergleich ist die Prävalenz in Westeuropa eher niedrig, innerhalb Westeuropas aber sehr heterogen (Kenyon et al., 2013). Reid et al. konnten in London eine BV Rate von 25% nachweisen (Reid et al., 2003). Unser Studienkollektiv rund um Tübingen zeigte mit knapp 5 % eine sehr niedrige Rate an bakteriellen Vaginosen. Unsere Klientel hatte außerdem insgesamt ein eher hohes Bildungsniveau und einen hohen sozialen Status. Frauen mit bakterieller Vaginose gehören laut Meis et al. (1995) vermehrt der afroamerikanischen Ethnie

an, sind unverheiratet und haben ein niedrigeres Einkommen und Bildungsniveau aufzuweisen. Dies unterstützt die Hypothese, dass unsere niedrige BV Rate eventuell auf den hohen sozioökonomischen Status der Probanden zurückzuführen ist. Ob dies wiederum der Grund für den ausbleibenden Effekt der oralen Probiotikaeinnahme sein könnte, lässt sich nicht abschließend klären, so dass multizentrische Studien mit breiterem Kollektiv erstrebenswert sind.

4.6 Auswahl und Dosis der Probiotika⁵

Die Kombination aus *Laktobazillus rhamnosus GR-1* und *Laktobazillus reuteri RC-14* ist eine allgemein verbreitete, gut verträgliche und oft verwendete Probiotikakombination und wurde von der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit als unbedenklich eingestuft, weshalb wir dieses Präparat für unsere Studie auswählten (Authority, 2008).

Bei der Dosis der Probiotikastämme orientierten wir uns an der erfolgreichen Studie von Reid et al., die eine Dosierung von mindestens 8×10^8 koloniebildende Einheiten (KbE) empfehlen, um den gewünschten Effekt zu erreichen (Reid et al., 2001).

4.7 Startzeitpunkt der Intervention

Als Startzeitpunkt der Intervention wurde der Zeitraum 12. bis 14. Schwangerschaftswoche gewählt. Ein früherer Beginn bereits im 1. Trimenon, hätte zu Schwierigkeiten bei der Rekrutierung z.B. bei verspäteter Schwangerschaftsdiagnose mit verzögertem Interventionsbeginn und vermehrten Dropouts aufgrund höherer Abortrate in der Frühschwangerschaft führen können. Ob eine gezielte Intervention noch vor der vollendeten 12. Schwangerschaftswoche zum gewünschten Effekt geführt hätte, ist nur zu mutmaßen.

4.8 Dauer der Intervention

Die Kulturergebnisse von Reid et al. (2003) konnten zeigen, dass die orale Therapie mit Laktobazillen innerhalb von vier Wochen zu einem signifikanten

Anstieg der vaginalen Laktobazillen führte. Von uns wurde hierauf aufbauend eine ausreichend lange Interventionszeit von 8 Wochen gewählt.

In einer Studie von Morelli et al. (2004) waren *L. rhamnosus GR-1* und *L. fermentum RC-14* andererseits schon eine Woche nach Absetzen der Probiotikaeinnahme bereits nicht mehr im Vaginalabstrich bzw. der Stuhlprobe nachweisbar und das obwohl zwischen 7 und 14 Tagen eine Kolonisation von Stuhl und Vagina nachgewiesen wurde.

Die Behandlungsdauer sollte somit relativ lang gewählt werden, da der Effekt auf die Vaginalflora auch nur vorübergehend sein könnte (Reid et al., 2003). Außerdem ist auf eine regelmäßige Einnahme zu achten.

4.9 Oraler Applikationsweg der Probiotika

El Aila et al. (2009) konnten in ihrer Studie an 132 Schwangeren zwischen der 35. und 37. Schwangerschaftswoche eine 68%ige genetische Übereinstimmung zwischen dem rektalen und vaginalen Mikrobiom nachweisen. Ergänzt werden diese Ergebnisse durch eine weitere Studie an schwangeren Mäusen, Ratten und Schweinen, denen über mindestens sieben Tage präpartal *L. acidophilus* oder *Bifidobakterium lactis* gefüttert wurde. 14 Tage postpartal waren bei 22-75% *L. acidophilus* bzw. 30-80% *Bifidobakterium lactis* im Gastrointestinaltrakt der Neonaten nachweisbar. Das Mikrobiom des Gastrointestinaltraktes der Nachkommen wurde also nachweislich durch die Fütterung der Probiotika an das Muttertier geprägt und die probiotischen Stämme während der vaginalen Geburt auf die Neonaten transferiert (Buddington et al., 2010).

Morelli et al. (2004) konnten an einer kleinen Studie zeigen, dass *L. rhamnosus GR-1* und *L. fermentum*³ *RC-14* nach oraler Einnahme im Vaginalabstrich nachweisbar waren.

Somit ist davon auszugehen, dass oral verabreichte Probiotika, die den Gastrointestinaltrakt passieren und verändern, auch sekundär die Vaginalflora besiedeln. Aufgrund dieser Studien entschieden wir uns für die orale Verabreichung der Probiotika.

Weiterer Grund für die Wahl der oralen Applikation war die deutlich verbesserte Compliance bei der oralen Einnahme im Vergleich zur vaginalen

Applikationsroute, sowie die Möglichkeit der standardisierten Dosierung und die Sicherung einer hohen Produktqualität, die in Kapselform gewährleistet ist.

4.10 Stärken und Schwächen der Studie⁵

Eine Stärke dieser Studie ist, dass wir über Veränderungen der Vaginalflora durch Einnahme von Probiotika in einer relativ großen Kohorte Schwangerer berichten können.

Unsere Ergebnisse zum Nugent Score müssen insgesamt mit Vorsicht betrachtet werden, da unsere Studie mehrere wichtige Einschränkungen aufwies. Obwohl unsere Stichprobengröße auf früheren Studien basierte, die den Einfluss von Probiotika auf die Vaginalflora untersuchten, war die Stichprobengröße im Vergleich zur gemessenen Prävalenz der abnormalen Vaginalflora und insbesondere des pathologischen Nugent-Scores eher gering.

In früheren Studien wurde die Rate an abnormaler Vaginalflora einschließlich bakterieller Vaginosen auf bis zu 20% der Schwangerschaften geschätzt (Hoyme and Huebner, 2010). Die Datenlage ist aber insgesamt sehr widersprüchlich.

In unserer Studie jedenfalls war die Prävalenz abnormaler Vaginalflora deutlich niedriger (2,8% in der Behandlungsgruppe bzw. 5,4% in der Kontrollgruppe) im Vergleich zu anderen Studien, was mit der überwiegenden Ansiedlung der rekrutierenden Praxen im ländlichen Raum zusammenhängen könnte.

Demzufolge müssen die von uns präsentierten Ergebnisse in größeren Kohorten bestätigt werden, um repräsentativ zu sein.

Von Vorteil wäre eine multizentrische Studie gewesen um auszuschließen, dass ein Selektionbias entstehen kann. Bei unseren Probanden in und um Tübingen könnte die sehr niedrige basale Rate an bakteriellen Vaginosen dazu geführt haben, dass die Intervention eventuell nicht den gewünschten Effekt entfalten konnte im Sinne eines „zu gesunden“ Kollektivs.

In Anbetracht der niedrigen Prävalenz der bakteriellen Vaginose in unserer Studienpopulation, sollte der potenzielle Nutzen einer probiotischen Behandlung

im Rahmen der Primärprävention während der Schwangerschaft gegen eine mögliche Überbehandlung nicht betroffener Frauen abgewogen werden.

Wir wollten einen einfach zu handhabenden Ansatz zur Primärprävention während der routinemäßigen Schwangerenvorsorge testen. Weitere Tests oder Untersuchungen sollten vermieden werden. Ein Studiendesign mit einer Vorauswahl von Frauen mit abnormer Flora schien daher nicht sinnvoll zu sein.

Darüber hinaus war die Annahme, dass die normale Vaginalflora um 50 % zunimmt, möglicherweise unangemessen und muss angepasst werden.

Außerdem muss berücksichtigt werden, dass eine einzige Probenentnahme den Status der Vaginalflora einer Frau möglicherweise nicht richtig widerspiegelt, da die Vaginalflora Schwankungen ausgesetzt sein könnte (Priestley et al., 1997, Schwebke et al., 1997, Verstraelen et al., 2009), z.B. abhängig vom Menstruationszyklus (Priestley et al., 1997).

Darüber hinaus ist der Nugent-Score möglicherweise nicht die ideale Methode, um das Vorhandensein von pathologischen Bakterien adäquat darzustellen, da keine Aussage über die besiedelnden Bakterien auf Speziesebene getroffen werden. Der Nugent-Score hat sich jedoch als in der Klinik praktikabler Parameter etabliert. Möglicherweise könnte er durch neuere Verfahren, die zum Beispiel auf Hochdurchsatzsequenzierung basieren, abgelöst oder ergänzt werden (van den Munckhof et al., 2019).

Zusätzlich haben wir die Einhaltung der Medikamenteneinnahme und andere Verhaltensweisen, die die Vaginalflora beeinflussen, wie z.B. die Einnahme anderer Probiotika oder die Einnahme von Antibiotika, nur durch telefonische Befragung und nicht durch Einsichtnahme in die Patientenakte oder persönlichen Kontakt überwacht, was das Risiko der Nichteinhaltung birgt.

4.11 Schlussfolgerungen und Ausblick

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass orale Probiotika eine leicht zu etablierende und gut akzeptierte Intervention in der primären Schwangerschaftsvorsorge darstellen. Ihr Nutzen für die Prävention von bakteriellen Vaginosen und Frühgeburtlichkeit bleibt jedoch weiterhin unklar. Um Veränderungen der Frühgeburtenrate zu detektieren war diese Studie zudem nicht ausgelegt. Hierzu sind multizentrische Studien mit größeren Fallzahlen von Nöten.

In weiteren Studien könnte versucht werden ob eine lokale, vaginale statt einer oralen Probiotikaadministration eher zum gewünschten Effekt führt. Außerdem kann die Auswahl der Probiotikastämme und auch die Dosis noch einmal überdacht werden.

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden randomisierten, placebokontrollierten, dreifach verblindeten Studie wurde untersucht, wie sich die tägliche orale Einnahme von Laktobazillen-enthaltenden Probiotika über einen Zeitraum von 8 Wochen, beginnend am Ende des ersten Trimesters, auf die Vaginalflora Schwangerer auswirkt.

Sowohl vor als auch nach der Intervention (tägliche orale Einnahme von *L. rhamnosus GR-1* und *L. reuteri RC-14* bzw. Placebo) wurden während der routinemäßigen Schwangerschaftsvorsorge vaginale Abstriche entnommen. Mittels Standard-Gramfärbung erfolgte die Bestimmung des Nugent Scores (Normal 0-3, intermediär 4-6, Bakterielle Vaginose 7-10).

Vor und nach Intervention sowie nach Geburt erfolgten fragebogenbasierte Telefoninterviews zur Eruiierung demografischer und klinischer Variablen, Nebenwirkungen, Compliance, Entbindungsmodus, Suchtmittelkonsum und etwaiger (Geburts-) Komplikationen.

Primärer Endpunkt war der Anteil normaler Vaginalflora, definiert als Nugent Score <4 nach 8-wöchiger Einnahme der Studienmedikation. Sekundäre Endpunkte waren die Nugent-Score Verteilung im Studienkollektiv, die Schwangerschaftsdauer, der Anteil an Früh- und Fehlgeburten sowie Fehlbildungen und interventionsassoziierte Beschwerden, die nicht zu einem Abbruch der Einnahme führten.

Entgegen unserer Hypothese sank der Anteil der Probandinnen mit normalem Nugent-Score unter Einnahme des Probiotikums aber auch des Placebos sogar ab. In unserem Patientenkollektiv zeigte sich ein insgesamt hohes Bildungsniveau sowie eine insgesamt niedrige Rate an bakteriellen Vaginosen. Die Rate an bakteriellen Vaginosen war sowohl mit als auch ohne präinterventionelle probiotische Ernährung gleich niedrig. Insgesamt zeigte sich bei probiotischer Ernährung aber vermehrt ein normaler Nugent-Score.

Die Frühgeburtenrate war im Kollektiv niedrig und das Risiko für eine Frühgeburt wurde durch die Intervention nicht beeinflusst. In der Gruppe der Frühgeburten

zeigte sich in der Behandlungsgruppe ein im Mittel vier 4 Wochen längeres Gestationsalter im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Die Anzahl an Fehlgeburten war in der Behandlungsgruppe geringfügig höher als in der Kontrollgruppe. Keine der untersuchten Endpunkte zeigte statistische signifikante Unterschiede zwischen der Behandlungs- und der Kontrollgruppe.

Leichte unerwünschte Nebenwirkungen während der Einnahme der oralen Probiotika traten etwas vermehrt in der Behandlungsgruppe auf. Insgesamt zeigte sich eine sehr gute Verträglichkeit und somit auch eine gute Compliance bei der Einnahme.

Bisher beschriebene positive Effekte oraler Probiotika auf die Vaginalflora nichtschwangerer Frauen konnten unsererseits im schwangeren Kollektiv so nicht bestätigt werden. Die Datenlage in Bezug auf den Effekt oraler Probiotika zur Prävention und Behandlung bakterieller Vaginosen und somit auch bezogen auf die Prävention von Frühgeburtlichkeit, ist und bleibt somit weiterhin unklar.

Positiv festzuhalten in unserer Studie sind die nachweislich gute Akzeptanz und Verträglichkeit oraler Probiotika auch bei Schwangeren.

Aufgrund der Assoziation der bakteriellen Vaginose mit Probanden mit niedrigerem Einkommen und Bildungsniveau kann nicht ausgeschlossen werden, dass die nachweislich eher niedrige Rate bakterieller Vaginosen in unserem Kollektiv ein Grund für das Ausbleiben des gewünschten Probiotikum-Effekts sein könnte.

Zukünftig wären große multizentrische Studien mit breiterem Kollektiv und größerem Stichprobenumfang erstrebenswert, um den Effekt oraler Probiotika auf die Vaginalflora Schwangerer endgültig zu klären.

6 Literaturverzeichnis

- ANSARI, A., BOSE, S., YOU, Y., PARK, S. & KIM, Y. 2021. Molecular Mechanism of Microbiota Metabolites in Preterm Birth: Pathological and Therapeutic Insights. *Int J Mol Sci*, 22.
- ANUKAM, K., OSAZUWA, E., AHONKHAI, I., NGWU, M., OSEMENE, G., BRUCE, A. W. & REID, G. 2006. Augmentation of antimicrobial metronidazole therapy of bacterial vaginosis with oral probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14: randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Microbes Infect*, 8, 1450-4.
- ANUKAM, K. C., OSAZUWA, E. O. & REID, G. 2005. Improved appetite of pregnant rats and increased birth weight of newborns following feeding with probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *L. fermentum* RC-14. *J Appl Res*, 5, 46-52.
- AUTHORITY, E. F. S. 2008. The maintenance of the list of QPS microorganisms intentionally added to food or feed - Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards. *EFSA Journal*, 6, 923.
- BERGER, R., RATH, W., ABELE, H., GARNIER, Y., KUON, R. J. & MAUL, H. 2019. Reducing the Risk of Preterm Birth by Ambulatory Risk Factor Management. *Dtsch Arztebl Int*, 116, 858-864.
- BLENCOWE, H., COUSENS, S., OESTERGAARD, M. Z., CHOU, D., MOLLER, A. B., NARWAL, R., ADLER, A., VERA GARCIA, C., ROHDE, S., SAY, L. & LAWN, J. E. 2012. National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications. *Lancet*, 379, 2162-72.
- BROCKLEHURST, P., GORDON, A., HEATLEY, E. & MILAN, S. J. 2013. Antibiotics for treating bacterial vaginosis in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*, Cd000262.
- BUDDINGTON, R. K., WILLIAMS, C. H., KOSTEK, B. M., BUDDINGTON, K. K. & KULLEN, M. J. 2010. Maternal-to-infant transmission of probiotics: concept validation in mice, rats, and pigs. *Neonatology*, 97, 250-6.
- DESHMUKH, H. & WAY, S. S. 2019. Immunological Basis for Recurrent Fetal Loss and Pregnancy Complications. *Annu Rev Pathol*, 14, 185-210.
- EL AILA, N. A., TENCY, I., CLAEYS, G., VERSTRAELEN, H., SAERENS, B., SANTIAGO, G. L., DE BACKER, E., COOLS, P., TEMMERMAN, M., VERHELST, R. & VANEECHOUTTE, M. 2009. Identification and genotyping of bacteria from paired vaginal and rectal samples from pregnant women indicates similarity between vaginal and rectal microflora. *BMC Infect Dis*, 9, 167.
- GILLE, C., BÖER, B., MARSCHAL, M., URSCHITZ, M. S., HEINECKE, V., HUND, V., SPEIDEL, S., TARNOW, I., MYLONAS, I., FRANZ, A., ENGEL, C. & POETS, C. F. 2016. Effect of probiotics on vaginal health in pregnancy. EFFPRO, a randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol*, 215, 608.e1-608.e7.
- GOLDENBERG, R. L., CULHANE, J. F., IAMS, J. D. & ROMERO, R. 2008. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet*, 371, 75-84.

- GRAVETT, M. G., NELSON, H. P., DEROUEN, T., CRITCHLOW, C.,
 ESCHENBACH, D. A. & HOLMES, K. K. 1986. Independent associations
 of bacterial vaginosis and Chlamydia trachomatis infection with adverse
 pregnancy outcome. *Jama*, 256, 1899-903.
- HANTOUSHZADEH, S., GOLSHAHI, F., JAVADIAN, P., KHAZARDOOST, S.,
 ARAM, S., HASHEMI, S., MIRARMANDEHI, B. & BORNA, S. 2012.
 Comparative efficacy of probiotic yoghurt and clindamycin in treatment of
 bacterial vaginosis in pregnant women: a randomized clinical trial. *J
 Matern Fetal Neonatal Med*, 25, 1021-4.
- HE, A., CHIN, J. & LOMIGUEN, C. M. 2020. Benefits of Probiotic Yogurt
 Consumption on Maternal Health and Pregnancy Outcomes: A
 Systematic Review. *Cureus*, 12, e9408.
- HILL, P. D. & ALDAG, J. C. 2007. Maternal perceived quality of life following
 childbirth. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs*, 36, 328-34.
- HILLIER, S. L., KROHN, M. A., RABE, L. K., KLEBANOFF, S. J. &
 ESCHENBACH, D. A. 1993. The normal vaginal flora, H₂O₂-producing
 lactobacilli, and bacterial vaginosis in pregnant women. *Clin Infect Dis*,
 16 Suppl 4, S273-81.
- HILLIER, S. L., MARTIUS, J., KROHN, M., KIVIAT, N., HOLMES, K. K. &
 ESCHENBACH, D. A. 1988. A case-control study of chorioamnionic
 infection and histologic chorioamnionitis in prematurity. *N Engl J Med*,
 319, 972-8.
- HILLIER, S. L., NUGENT, R. P., ESCHENBACH, D. A., KROHN, M. A., GIBBS,
 R. S., MARTIN, D. H., COTCH, M. F., EDELMAN, R., PASTOREK, J. G.,
 2ND, RAO, A. V. & ET AL. 1995. Association between bacterial
 vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. The Vaginal
 Infections and Prematurity Study Group. *N Engl J Med*, 333, 1737-42.
- HOYME, U. B. & HUEBNER, J. 2010. Prevention of preterm birth is possible by
 vaginal pH screening, early diagnosis of bacterial vaginosis or abnormal
 vaginal flora and treatment. *Gynecol Obstet Invest*, 70, 286-90.
- HOYME, U. B. & SALING, E. 2004. Efficient prematurity prevention is possible
 by pH-self measurement and immediate therapy of threatening
 ascending infection. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 115, 148-53.
- HUMMELEN, R., CHANGALUCHA, J., BUTAMANYA, N. L., COOK, A.,
 HABBEMA, J. D. & REID, G. 2010. Lactobacillus rhamnosus GR-1 and
 L. reuteri RC-14 to prevent or cure bacterial vaginosis among women
 with HIV. *Int J Gynaecol Obstet*, 111, 245-8.
- IQTIG 2021. Bundesauswertung nach QSKH-RL 2020.pdf. Seite 84.
- JARDE, A., LEWIS-MIKHAEL, A. M., MOAYYEDI, P., STEARNS, J. C.,
 COLLINS, S. M., BEYENE, J. & MCDONALD, S. D. 2018. Pregnancy
 outcomes in women taking probiotics or prebiotics: a systematic review
 and meta-analysis. *BMC Pregnancy Childbirth*, 18, 14.
- JOTZO, M. & POETS, C. 2006. Wenn Leben mit Leid beginnt. *Monatsschrift
 Kinderheilkunde*, 154, 630-638.
- KAHWATI, L. C., CLARK, R., BERKMAN, N. D., URRUTIA, R., PATEL, S. V.,
 ZENG, J. & VISWANATHAN, M. 2020. U.S. Preventive Services Task
 Force Evidence Syntheses, formerly Systematic Evidence Reviews.
Screening for Bacterial Vaginosis in Pregnant Adolescents and Women

- to Prevent Preterm Delivery. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US).
- KENYON, C., COLEBUNDERS, R. & CRUCITTI, T. 2013. The global epidemiology of bacterial vaginosis: a systematic review. *Am J Obstet Gynecol*, 209, 505-23.
- KÖHLER, G. A., ASSEFA, S. & REID, G. 2012. Probiotic interference of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14 with the opportunistic fungal pathogen *Candida albicans*. *Infect Dis Obstet Gynecol*, 2012, 636474.
- KRAUSS-SILVA, L., MOREIRA, M. E., ALVES, M. B., BRAGA, A., CAMACHO, K. G., BATISTA, M. R., ALMADA-HORTA, A., REBELLO, M. R. & GUERRA, F. 2011. A randomised controlled trial of probiotics for the prevention of spontaneous preterm delivery associated with bacterial vaginosis: preliminary results. *Trials*, 12, 239.
- KURKI, T., SIVONEN, A., RENKONEN, O. V., SAVIA, E. & YLIKORKALA, O. 1992. Bacterial vaginosis in early pregnancy and pregnancy outcome. *Obstet Gynecol*, 80, 173-7.
- LADR 2019. LADR_Info_221_Nugent Score.pdf. Ausgabe 221.
- LEITICH, H., BODNER-ADLER, B., BRUNBAUER, M., KAIDER, A., EGARTER, C. & HUSSLEIN, P. 2003. Bacterial vaginosis as a risk factor for preterm delivery: a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol*, 189, 139-47.
- LI, C., WANG, T., LI, Y., ZHANG, T., WANG, Q., HE, J., WANG, L., LI, L., YANG, N. & FANG, Y. 2019. Probiotics for the treatment of women with bacterial vaginosis: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Eur J Pharmacol*, 864, 172660.
- LIU, L., OZA, S., HOGAN, D., CHU, Y., PERIN, J., ZHU, J., LAWN, J. E., COUSENS, S., MATHERS, C. & BLACK, R. E. 2016. Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000-15: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals. *Lancet*, 388, 3027-3035.
- LUOTO, R., LAITINEN, K., NERMES, M. & ISOLAURI, E. 2010. Impact of maternal probiotic-supplemented dietary counselling on pregnancy outcome and prenatal and postnatal growth: a double-blind, placebo-controlled study. *Br J Nutr*, 103, 1792-9.
- MANNS-JAMES, L. 2011. Bacterial vaginosis and preterm birth. *J Midwifery Womens Health*, 56, 575-83.
- MARTINEZ, R. C., FRANCESCHINI, S. A., PATTA, M. C., QUINTANA, S. M., GOMES, B. C., DE MARTINIS, E. C. & REID, G. 2009. Improved cure of bacterial vaginosis with single dose of tinidazole (2 g), *Lactobacillus rhamnosus* GR-1, and *Lactobacillus reuteri* RC-14: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Can J Microbiol*, 55, 133-8.
- MCGROARTY, J. A. & REID, G. 1988. Detection of a *Lactobacillus* substance that inhibits *Escherichia coli*. *Can J Microbiol*, 34, 974-8.
- MEIS, P. J., GOLDENBERG, R. L., MERCER, B., MOAWAD, A., DAS, A., MCNELLIS, D., JOHNSON, F., IAMS, J. D., THOM, E. & ANDREWS, W. W. 1995. The preterm prediction study: significance of vaginal infections. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. *Am J Obstet Gynecol*, 173, 1231-5.

- MORELLI, L., ZONENENSCHAIN, D., DEL PIANO, M. & COGNEIN, P. 2004. Utilization of the intestinal tract as a delivery system for urogenital probiotics. *J Clin Gastroenterol*, 38, S107-10.
- MUZNY, C. A., TAYLOR, C. M., SWORDS, W. E., TAMHANE, A., CHATTOPADHYAY, D., CERCA, N. & SCHWEBKE, J. R. 2019. An Updated Conceptual Model on the Pathogenesis of Bacterial Vaginosis. *J Infect Dis*, 220, 1399-1405.
- MYHRE, R., BRANTSÆTER, A. L., MYKING, S., GJESSING, H. K., SENGPIEL, V., MELTZER, H. M., HAUGEN, M. & JACOBSSON, B. 2011. Intake of probiotic food and risk of spontaneous preterm delivery. *Am J Clin Nutr*, 93, 151-7.
- NUGENT, R. P., KROHN, M. A. & HILLIER, S. L. 1991. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol*, 29, 297-301.
- ORGANIZATION, W. H. 2005. *The World health report: 2005: make every mother and child count*, World Health Organization.
- OTHMAN, M., NEILSON, J. P. & ALFIREVIC, Z. 2007. Probiotics for preventing preterm labour. *Cochrane Database Syst Rev*, Cd005941.
- PRIESTLEY, C. J., JONES, B. M., DHAR, J. & GOODWIN, L. 1997. What is normal vaginal flora? *Genitourin Med*, 73, 23-8.
- REBOUÇAS, K. F., ELEUTÉRIO, J., JR., PEIXOTO, R. C., COSTA, A. P. F., COBUCCI, R. N. & GONÇALVES, A. K. 2019. Treatment of bacterial vaginosis before 28 weeks of pregnancy to reduce the incidence of preterm labor. *Int J Gynaecol Obstet*, 146, 271-276.
- REID, G. 2007. *Probiotics for Women's Health: The Story of Lactobacillus Rhamnosus GR-1 and Lactobacillus Reuteri RC-14* [Online]. Available: <https://jarrow.com/blogs/articles-posts/probiotics-for-womens-health-the-story-of-lactobacillus-rhamnosus-gr-1-and-lactobacillus-reuteri-rc-14> [Accessed 23.02.2022].
- REID, G. 2008. Probiotic Lactobacilli for urogenital health in women. *J Clin Gastroenterol*, 42 Suppl 3 Pt 2, S234-6.
- REID, G., BEUERMAN, D., HEINEMANN, C. & BRUCE, A. W. 2001. Probiotic Lactobacillus dose required to restore and maintain a normal vaginal flora. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 32, 37-41.
- REID, G. & BOCKING, A. 2003. The potential for probiotics to prevent bacterial vaginosis and preterm labor. *Am J Obstet Gynecol*, 189, 1202-8.
- REID, G., CHARBONNEAU, D., ERB, J., KOCHANOWSKI, B., BEUERMAN, D., POEHNER, R. & BRUCE, A. W. 2003. Oral use of Lactobacillus rhamnosus GR-1 and L. fermentum RC-14 significantly alters vaginal flora: randomized, placebo-controlled trial in 64 healthy women. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 35, 131-4.
- REID, G. & KIRJAIVANEN, P. 2005. Taking probiotics during pregnancy. Are they useful therapy for mothers and newborns? *Can Fam Physician*, 51, 1477-9.
- SAMUEL, T. M., SAKWINSKA, O., MAKINEN, K., BURDGE, G. C., GODFREY, K. M. & SILVA-ZOLEZZI, I. 2019. Preterm Birth: A Narrative Review of the Current Evidence on Nutritional and Bioactive Solutions for Risk Reduction. *Nutrients*, 11.

- SANGKOMKAMHANG, U. S., LUMBIGANON, P., PRASERTCHAROENSUK, W. & LAOPAIBOON, M. 2015. Antenatal lower genital tract infection screening and treatment programs for preventing preterm delivery. *Cochrane Database Syst Rev*, Cd006178.
- SCHWEBKE, J. R., MORGAN, S. C. & WEISS, H. L. 1997. The use of sequential self-obtained vaginal smears for detecting changes in the vaginal flora. *Sex Transm Dis*, 24, 236-9.
- SILVER, H. M., SPERLING, R. S., ST CLAIR, P. J. & GIBBS, R. S. 1989. Evidence relating bacterial vaginosis to intraamniotic infection. *Am J Obstet Gynecol*, 161, 808-12.
- VAN DEN MUNCKHOF, E. H. A., VAN SITTER, R. L., BOERS, K. E., LAMONT, R. F., TE WITT, R., LE CESSIE, S., KNETSCH, C. W., VAN DOORN, L. J., QUINT, W. G. V., MOLIJN, A. & LEVERSTEIN-VAN HALL, M. A. 2019. Comparison of Amsel criteria, Nugent score, culture and two CE-IVD marked quantitative real-time PCRs with microbiota analysis for the diagnosis of bacterial vaginosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 38, 959-966.
- VELRAEDS, M. M., VAN DE BELT-GRITTER, B., VAN DER MEI, H. C., REID, G. & BUSSCHER, H. J. 1998. Interference in initial adhesion of uropathogenic bacteria and yeasts to silicone rubber by a *Lactobacillus acidophilus* biosurfactant. *J Med Microbiol*, 47, 1081-5.
- VERSTRAELEN, H., VERHELST, R., CLAEYS, G., DE BACKER, E., TEMMERMAN, M. & VANEECHOUTTE, M. 2009. Longitudinal analysis of the vaginal microflora in pregnancy suggests that *L. crispatus* promotes the stability of the normal vaginal microflora and that *L. gasseri* and/or *L. iners* are more conducive to the occurrence of abnormal vaginal microflora. *BMC Microbiol*, 9, 116.

7 Erklärungen zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde in der Kinderklinik des Universitätsklinikums Tübingen, Abteilung Neonatologie unter Betreuung von Prof. Dr. Christian Gille durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Prof. Christian Poets, Abteilung Neonatologie Tübingen, Prof. Dirk Bassler, Neonatologie Zürich, Prof. Michael Urschitz, Abteilung Pädiatrische Epidemiologie Mainz, Dr. Inge Tarnow, Firma Christian Hansen, Dänemark, Prof. Christian Gille, Neonatologie Tübingen, Prof. Diethelm Wallwiener, Universitätsfrauenklinik Tübingen und Dr. Bettina Böer, Fachärztin für Gynäkologie an der Universitätsfrauenklinik Tübingen.

Die Rekrutierung erfolgte in Zusammenarbeit mit den niedergelassenen Frauenärzten des Kreis Tübingen, Vorsitz Dr. Heinecke. Die mikrobiologische Analyse erfolgte in Zusammenarbeit mit Dr. Matthias Marschal, Institut für Medizinische Mikrobiologie Tübingen und Prof. Ioannis Mylonas, Universitätsfrauenklinik München.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Beratung durch das Zentrum für Klinische Studien in der Pädiatrie (CPCS) durch Dr. Corinna Engel und Prof. Axel Franz sowie durch Prof. Michael Urschitz.

Ich versichere, das Manuskript selbständig nach Anleitung durch Prof. Christian Gille verfasst und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, den 21.07.2022

8 Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Dissertationsschrift wurden bereits in der folgenden Publikation veröffentlicht:

Gille C, Böer B, Marschal M, Urschitz MS, Heinecke V, Hund V, Speidel S, Tarnow I, Mylonas I, Franz A, Engel C, Poets CF. Effect of probiotics on vaginal health in pregnancy. EFFPRO, a randomized controlled trial. Am J Obstet Gynecol. 2016 Nov;215(5):608.e1-608.e7.

9 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt zunächst Christian Gille, als Betreuer und Doktorvater, aber auch als Kollege, für seine fachliche und mentale Unterstützung, den Zuspruch und die Geduld über viele Jahre.

Meinem Mann und meinen Kindern danke ich für die vielen Stunden, Tage und Wochen, in denen sie mich entbehren mussten, ohne sich zu beschweren.

Meiner besten Freundin Renate Turan danke ich für die unaufhörlich motivierenden und klaren Worte und ihr stets offenes Ohr.

Tief verbunden und dankbar bin ich meinen Eltern und Schwiegereltern, ohne deren unglaublich hilfreiche moralische, aber auch zeitliche Unterstützung die Fertigstellung meiner Doktorarbeit nicht möglich gewesen wäre.

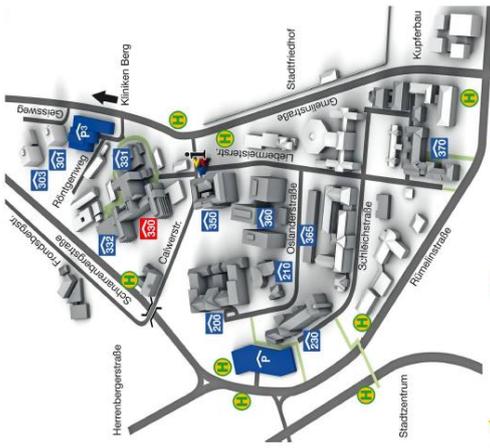
10 Anhang

Haben wir Ihr Interesse geweckt?

Dann sprechen Sie am besten gleich Ihre/n Frauenärztin/arzt an!

Als Dankeschön für eine Teilnahme an der **EFFPRO**-Pilot-Studie erhalten Sie einen kuscheligen Baby-Schlafsack, für den sicheren Schlaf ihres Kindes.





Mehr Informationen über:
 Dr. B. Böer/ Dr. C. Gille
 Universitäts-Frauenklinik und
 Neonatologie Tübingen
 Calwerstr. 7
 72076 Tübingen

Tel. 07071 – 29 – 8 22 11 (Pforte)
 Fax. 07071 – 29 – 49 47
 Mobil: 0172 – 62 68 33 1
Fruehgeburtsvermeidung@med.uni-tuebingen.de

Praxisstempel:

Universitätsklinikum Tübingen

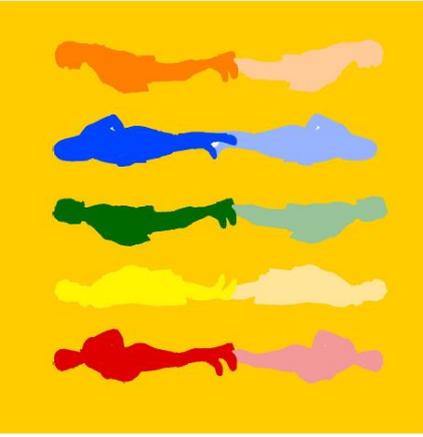


Ulmerstr. 27
 72076 Tübingen

Schwanger?

Investieren Sie schon jetzt
in die Zukunft Ihres Kindes!

EFFPRO-Pilot-Studie



Anhang 1: EFFPRO Flyer

Liebe Schwangere

Die Abteilung für Neugeborenenmedizin und die Frauenklinik am Universitätsklinikum Tübingen wünschen Ihnen für Ihre Schwangerschaft alles Gute.

In Zusammenarbeit mit Ihrem Frauenarzt wollen auch wir Sie auf diesem Weg optimal begleiten. In Ihrem Interesse möchten wir Sie daher über eine Studie zur Stärkung der gesunden Vagi-nalflora informieren, an der Sie teilnehmen können.

EFFPRO-Pilot möchte den Effekt von frei im Handel als Nahrungsergänzungsmittel erhältlichen, gesundheitsfördernden und lebende Bakterien (Probiotika) auf das Scheidenmilieu während der Schwangerschaft untersuchen. Die gewonnenen Erkenntnisse könnten in weiteren Untersuchungen genutzt werden, um damit vielleicht auch eine Frühgeburt zu verhindern.

Wir freuen uns, wenn Sie sich für eine Teilnahme interessieren!

Das Scheidenmilieu

Die normale Scheidenschleimhaut ist hauptsächlich durch verkapselte Milchsäurebakterien, sog. Laktobazillen, besiedelt.

Veränderung während der Schwangerschaft

- Erhöhte Anfälligkeit für die Verdrängung der normalen Milchsäurebakterien durch andere Bakterien
- Erhöhtes Risiko für die Entstehung von Infektionen und damit von Frühgeburt

Ansatz der EFFPRO-Pilot-Studie

Frühere Untersuchungen konnten zeigen, dass über den Magen-Darm-Trakt aufgenommene Präparate mit verkapselten Laktobazillen das Scheidenmilieu beeinflussen können und Infektionen der Scheide verhindert werden.

Ob dies auch während der Schwangerschaft funktioniert soll im Rahmen dieser Pilotstudie untersucht werden.

Verhinderung von Frühgeburtlichkeit

Ziel der EFFPRO-Pilot-Studie ist es, den Effekt eines im Handel frei erhältlichen Probiotikums auf das Scheidenmilieu während der Schwangerschaft zu untersuchen. Möglicherweise ist durch eine Stärkung der Vaginalflora eine Verringerung der Frühgeburtlichkeit zu erreichen, indem es seltener zu vaginalen Infektionen kommt.

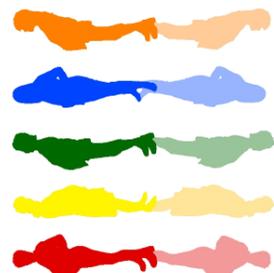
Ablauf der Studie

Die Teilnahme an der Studie bedeutet für Sie keinen wesentlichen Mehraufwand. In der EFFPRO-Pilotstudie erhalten Sie von uns kostenfrei für 8 Wochen Kapseln eines frei im Handel erhältliche Probiotikums oder ein Placebo (d.h. Kapsel mit Scheinpräparat).

Vor und nach der Studie wird während der Routinevorsorge bei Ihrem Frauenarzt ein Scheidenabstrich entnommen, um den Einfluss der Kapsel auf die Scheidenflora zu untersuchen. In einem Fragebogen werden wir versuchen, Ihr Risiko für eine Frühgeburt zu ermitteln. Das Ergebnis der Abstriche und der Befragung erhalten wir leider erst nach Abschluss der Studie.

An der normalen Vorsorge durch Ihren betreuenden Frauenarzt ändert sich nichts.

EFFekt von PRObiotika zur Vermeidung von Frühgeburtlichkeit



EFFPRO-Pilot - EFFekt von PRObiotika auf das Scheidenmilieu - Terminplaner

Abstrich während Routineuntersuchung

Abstrich des Präparats

Start Einnahme des Präparats

Abstrich während Routineuntersuchung

Geburtsstermin

8 Wochen

0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36 38 40

Einwilligung
Registrierung
Fragebogen

Start Einnahme des Präparats

Abstrich während Routineuntersuchung

Geburtsstermin

Anhang 1: EFFPRO Flyer (Fortsetzung)