

**Aus der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen
Abteilung Kinderheilkunde III mit Poliklinik
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. C.F. Poets**

**Hochsensitive Messung des C-reaktiven Proteins (hsCRP):
Wertigkeit in der Diagnostik von bakteriellen
early-onset Infektionen (EOBI)**

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

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

**vorgelegt von
Melanie Münzenmaier
aus
Nürtingen**

2006

Dekan: Professor Dr. C.D. Claussen

1. Berichterstatter: Privatdozent Dr. T. Orlikowsky

2. Berichterstatter: Privatdozentin Dr. U. Schumacher

INHALTSVERZEICHNIS

1.EINLEITUNG	1
1.1 Bakterielle Infektionen bei Neugeborenen	1
1.1.1 Probleme und Risiken.....	1
1.1.2 Early-onset Infektion: Definition und Entstehung	2
1.1.3 Leitsymptome	3
1.1.4 Therapie.....	3
1.2 Immunität	4
1.2.1 Angeborene und erworbene Immunität.....	4
1.2.2 Besonderheiten des Immunsystems Neugeborener	5
1.3 Pathophysiologie einer bakteriellen Infektion	6
1.3.1 Die Akut-Phase-Reaktion.....	7
1.4 Diagnostik einer bakteriellen Infektion.....	9
1.4.1 Etablierte Infektionsparameter	10
1.5 C-reaktives Protein (CRP).....	13
1.5.1 Entstehung und Funktion	13
1.5.2 CRP-Kinetik bei Neugeborenen ohne bakterielle Infektion	13
1.5.3 CRP-Kinetik bei Neugeborenen mit bakterieller Infektion	14
1.5.4 Eine neue Messmethode: das hochsensitive CRP (hsCRP).....	15
1.6 Zielsetzung der Arbeit.....	16
2. MATERIAL UND METHODEN.....	19
2.1 Patienten	19
2.1.1 Patientenkollektiv und Parameter	19
2.1.2 Diagnosestellung der neonatalen bakteriellen Infektion (EOBI).....	22
2.1.3 Early-onset Infektion: Definition	22
2.1.4 Risikofaktoren für das Entstehen einer neonatalen bakteriellen Infektion (EOBI).....	23

2.2 Messverfahren	23
2.2.1 Messgerät und Reagenzien	23
2.2.2 Benötigtes Probenmaterial und Reagenzien zur Bestimmung von hsCRP	23
2.2.3 Messverfahren für hochsensitives C-reaktives Protein	24
2.2.4 Messung der Vergleichsparameter	25
2.3 Statistische Auswertung	26
2.3.1 hsCRP-Referenzwerte	26
2.3.2 Prüfung auf Abhängigkeit der hsCRP-Werte von Einflussfaktoren und Vergleich mit anderen diagnostischen Parametern	28
2.3.3 Sensitivität, Spezifität, Positiver Prädiktiver Wert (PPW), Negativer Prädiktiver Wert (NPW).....	28
2.3.4 Receiver operator characteristic (ROC) -Kurven	29
3. ERGEBNISSE	30
3.1 Gesunde Reifgeborene	30
3.1.1 Gruppenzusammensetzung	30
3.1.2 hsCRP-Konzentration im Serum gesunder Reifgeborener abhängig vom Lebensalter	33
3.1.3 Einflußfaktoren auf die hsCRP- Konzentration im Serum gesunder Reifgeborener	34
3.1.4 Referenzwerte für die hsCRP-Konzentration im Serum gesunder Reifgeborener	40
3.1.5 hsCRP und etablierte Parameter in der Infektionsdiagnostik: Vergleich der Kinetiken bei gesunden Reifgeborenen	41
3.1.6 Zusammenfassung	45
3.2 Reife Neugeborene mit early-onset Infektion (EOBI)	46
3.2.1 Gruppenzusammensetzung	46
3.2.2 hsCRP Konzentration im Serum von Reifgeborenen mit early-onset Infektion abhängig vom Lebensalter	46
3.2.3 Einflussfaktoren auf die hsCRP-Konzentration im Serum bei Reifgeborenen mit early-onset Infektion	48
3.2.4 hsCRP-Konzentrationen bei gesunden Reifgeborenen und Reifgeborenen mit early-onset Infektion	50
3.2.5 hsCRP und etablierte Parameter in der Infektionsdiagnostik: Vergleich der Kinetiken bei Reifgeborenen mit early-onset Infektion.....	51
3.3 Receiver operator characteristic (ROC)-Kurven	56

3.4 Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer prädiktiver Wert der einzelnen Parameter	59
4. DISKUSSION	61
4.1 Determinanten des hsCRP-Verlaufes bei gesunden Neugeborenen ...	61
4.2 Die hsCRP-Konzentration bei Neugeborenen mit Infektion	63
4.3 Wertstellung des hsCRP als diagnostischer Parameter	65
4.4 Das hsCRP als Verlaufsparemeter	68
4.5 Ausblick: Anwendung des hsCRP als diagnostischer Parameter	69
5. ZUSAMMENFASSUNG	71
LITERATURVERZEICHNIS.....	74
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	81

1. Einleitung

1.1 Bakterielle Infektionen bei Neugeborenen

Die bakterielle Infektion ist die häufigste Erkrankung in der Neugeborenenperiode (Buck et al., 1994). Ohne eine effiziente antimikrobielle Therapie trägt sie in hohem Maße zur Mortalität bei Neugeborenen bei (Franz et al., 2001, Da Silva et al., 1995).

Eine frühe Entdeckung ist jedoch schwierig aufgrund von unspezifischer oder nicht vorhandener klinischer Symptomatik, häufig uncharakteristischen Laborergebnissen sowie der langen Dauer, bis eine Blutkultur zur Verfügung steht.

Zusätzlich wird eine erhöhte peri- und postnatale Anfälligkeit für Infektionen bei Neugeborenen beobachtet, die in deren unausgereiften Immunsystem begründet liegt.

1.1.1 Probleme und Risiken

a) Besonderheiten des Immunsystems Neugeborener:

Aufgrund des noch unreifen Abwehrsystems besitzen Neugeborene eine mangelnde Immunabwehr. Daraus resultiert eine erhöhte Anfälligkeit für bakterielle Infektionen (Berner et al., 1998).

Außerdem kommt es bei bestehender Infektion zur raschen Progredienz und Verschlechterung des Zustandes. Zu verhindern ist dies nur durch eine frühe Diagnosestellung und Behandlung.

b) Unspezifische Symptomatik:

Die klinischen Zeichen einer beginnenden Infektion sind oft diskret und vor allem unspezifisch (Buck et al., 1994, Jaye et al., 1997).

Im Gegensatz zu älteren Kindern und Erwachsenen, bei denen ein Temperaturanstieg Kennzeichen einer Infektion ist, fehlt dieser häufig bei Neu- und besonders bei den Frühgeborenen (Jaye et al., 1997).

c) Frühzeitiger Übergang in eine Sepsis (Bartels et al., 1997)

Eine Sepsis ist eine systemische Streuung eines Erregers, ausgehend von einer lokalen Infektion. Sie ist nach wie vor eine der Hauptursachen der Morbidität und Mortalität Neugeborener. Schuchat et al. geben 3,5 Fälle auf 1000 Lebendgeburten an, von denen 16% an den Komplikationen versterben. Laut Stoll et al. liegt die Inzidenz für eine Sepsis bei Neugeborenen bei 1 - 8 Fällen auf 1000 Lebendgeburten, bei Frühgeborenen sogar bei 13 - 27 Fällen auf 1000 Lebendgeburten.

Aufgrund dieser Probleme und Risiken der neonatalen bakteriellen Infektion ist eine frühzeitige Diagnose und eine korrekte Therapie indiziert (Berger et al., 1995, Franz et al., 2001).

1.1.2 Early-onset Infektion: Definition und Entstehung

Die early-onset Infektion wird definiert als eine bakterielle Infektion des Neugeborenen, die innerhalb der ersten 48 - 96 Stunden auftritt (Chiesa et al., 2001, Stoll et al., 1996, Franz et al., 2001, Klein und Marcy, 1995, Berner et al., 1998). Sie entsteht durch aufsteigende Infektionen um den Geburtstermin, verursacht durch die mütterliche vaginale und rektale Keimbesiedelung, durch eine Chorioamnionitis oder seltener über den Blutweg (Krueger et al., 2001, Berner et al., 1998).

Als häufigste Erreger werden Streptokokken der Gruppe B, E. coli und Staphylokokken genannt (Stoll et al., 1996, Berger et al., 1995, Franz et al., 2001).

Im Gegensatz zu der early-onset Infektion steht die nosokomiale oder late-onset Infektion, welche nach den ersten 96 Lebensstunden auftritt.

1.1.3 Leitsymptome

Hinweise auf eine eventuell bestehende Infektion können sein:

- Vorhandene Risikofaktoren wie vorzeitiger Blasensprung > 12 Stunden (Cisse et al., 2001, Galanakis et al., 2002), Fieber und Bakteriämie oder ein Amnioninfektionssyndrom der Mutter (Franz et al., 1999).
- Klinische Zeichen, z. B. Temperaturinstabilität (Hypo- oder Hyperthermie), Tachypnoe, Dyspnoe, Einziehungen, graues Hautkolorit, Trinkschwäche, verlängerte Rekapillarisierungszeit, Hyperexzitabilität, Lethargie, muskuläre Hypo- oder Hypertonie.
- Labor: Entzündungsparameter (erhöhtes CRP, Leukozytopenie, erhöhtes IL-8) (Franz et al., 2001).
- Erregernachweis aus Ohren, Nase, Rachen, Augen oder aus einer Blutkultur.

1.1.4 Therapie

Entscheidend ist eine unverzügliche Therapie zur Verhinderung einer Sepsis und von Komplikationen. Als geeignet haben sich eine Kombination aus einem Penicillin und einem Aminoglykosid erwiesen, beispielsweise Ampicillin und Gentamicin (Levy et al., 2000). Die Dauer einer Therapie richtet sich nach dem klinischen Bild und dem Rückgang der Infektionsparameter und beträgt etwa 5 - 7 Tage, bei einer Sepsis sollte sie 10 - 14 Tage betragen. Ergebnisse neuerer Studien (Philip und Mills, 2000, Ehl et al., 1997), bei denen jeweils nur so lange therapiert wurde, bis der CRP Wert unter 1 mg/dl lag (mittlere Behandlungszeit 3,1 Tage), zeigten gute Erfolge.

Unnötige Therapien sollten vermieden werden, da diese zur Entwicklung und Ausbreitung von Antibiotika-resistenten Erregern führen, zu unnötigen

Schmerzen für das Neugeborene durch die Infusionszugänge, zu eventuellen Nebenwirkungen, zu Kosten und zur Trennung von der Mutter.

1.2 Immunität

1.2.1 Angeborene und erworbene Immunität

Das Immunsystem kann in zwei Hauptklassen aufgeteilt werden. Die angeborene Abwehr wird auch als unspezifische Abwehr bezeichnet, die erworbene als spezifische Abwehr.

a) Die angeborene oder unspezifische Immunität

Sie fungiert als erste Verteidigung gegen eine Infektion und verwendet einfache, unspezifische Erkennungsmechanismen. Durch diese können eine Vielzahl von mikrobiellen Produkten gebunden und beseitigt werden.

Die wichtigsten Zellgruppen der angeborenen Immunität sind die Phagozyten, wozu die Makrophagen und die neutrophilen, polymorphkernigen Granulozyten gehören. Sie binden an Mikroorganismen, phagozytieren und zerstören sie. Außerdem zählen zur unspezifischen Abwehr das Komplementsystem und die natürlichen Killerzellen (Roitt et al., 1995).

b) Die erworbene oder spezifische Immunität

Hier können Pathogene spezifisch erkannt werden. Die bedeutendsten Zellen sind die Lymphozyten. Die T-Lymphozyten stimulieren und kontrollieren die Antikörperproduktion der B-Lymphozyten, unterstützen Phagozyten bei der Pathogenvernichtung und sind auch selbst in der Lage, von Viren befallene Zellen zu erkennen und zu zerstören.

Die B-Lymphozyten produzieren Antikörper, nachdem sie ein bestimmtes Antigen erkannt haben und bekämpfen so die Pathogene und ihre Produkte (Roitt et al., 1995).

1.2.2 Besonderheiten des Immunsystems Neugeborener

Neugeborene besitzen eine mangelnde Immunabwehr. Die humorale Abwehr ist relativ intakt durch den Nestschutz der Mutter, die zelluläre Abwehr dagegen muss erst durch primäre Sensibilisierung gebahnt werden und ist unmittelbar nach der Geburt noch nicht kompetent (Berner et al., 1999).

Funktionstüchtigkeit der einzelnen Zellsysteme:

- Neugeborene besitzen deutlich eingeschränkte Knochenmarksreserven für neutrophile Granulozyten. Es besteht somit eine quantitative Defizienz an Phagozyten.
- Zusätzlich besitzen die Neutrophilen eine verminderte Adhärenz und Verformbarkeit sowie eine eingeschränkte Chemotaxis. Dies führt zu einer qualitativen Defizienz der Phagozyten Neugeborener; lokale Entzündungen können leicht zum Ausgangspunkt einer Sepsis werden.
- Nach der Geburt haben Kinder einen Mangel an spezifischen IgG-Antikörpern, die vorhandenen sind ausschließlich mütterlichen Ursprungs (IgG-Antikörper sind plazentagängig, dies wird auch als Nestschutz bezeichnet). Dadurch ist die opsoninabhängige Phagozytose beeinträchtigt. Besonders betrifft dies die Frühgeborenen, da das Immunglobulin erst ab der 30. Schwangerschaftswoche (SSW) plazentagängig ist. Neugeborenen < 30. SSW fehlt also der Nestschutz durch das mütterliche IgG ganz.
- Die klassische und alternative Komplement-Kaskade zeigt im Neugeborenenalter eine verminderte Aktivität auf. Dies führt ebenfalls zu einer Beeinträchtigung der opsoninabhängigen Phagozytose.
- Die T-Lymphozyten besitzen eine eingeschränkte Zytotoxizität.

- Wegen einer verminderten Synthese von Gamma-Interferon, IL-1- β , IL-6, IL-8 und IL-12 kann die Makrophagenfunktion und –aktivierung nur in geringem Maße stattfinden.

(Berner et al., 1999, Von Harnak und Koletzko, 1997).

Aufgrund dieser Besonderheiten des noch unausgereiften Immunsystems Neugeborener kommt es zu einer erhöhten Anfälligkeit für bakterielle Infektionen (Berner et al., 1999).

1.3 Pathophysiologie einer bakteriellen Infektion

Das Eindringen eines infektiösen Erregers in den Körper löst eine Chemotaxis von Leukozyten aus. Bereits nach wenigen Stunden wandern polymorphkernige neutrophile Granulozyten ein, gefolgt von einem Einstrom von Monozyten und Makrophagen. Diese Zellen dienen als erste Abwehr, indem sie an die Mikroorganismen binden und sie zerstören. Außerdem werden verschiedene Mediatoren wie Zytokine freigesetzt.

Beim Beginn der Entzündung werden das Gerinnungssystem und das fibrinolytische System aktiviert. Durch bestimmte Oberflächenstrukturen der Erreger erfolgt die Aktivierung des Komplementsystems, hauptsächlich über den alternativen Weg. Das Komplementsystem bewirkt eine weitere Förderung der Chemotaxis der Phagozyten sowie eine Opsonierung. Die Oberfläche der Erreger wird umhüllt, diese können nun besser von Makrophagen und Granulozyten erkannt und phagozytiert werden.

Durch die Produktion von verschiedenen Zytokinen (IL-8, IL-1, IL-6, TNF- α) durch Makrophagen, Endothelzellen und B- und T-Zellen wird ebenfalls die Chemotaxis gefördert und die Entzündungsreaktion aufrechterhalten (Bartels et al., 1997, Roitt et al., 1995). Wichtigste Funktion der Zytokine ist jedoch die Aktivierung der Akut-Phase-Reaktion in der Leber (Franz et al., 2001, Marchini et al., 2000) (siehe Abb. 1).

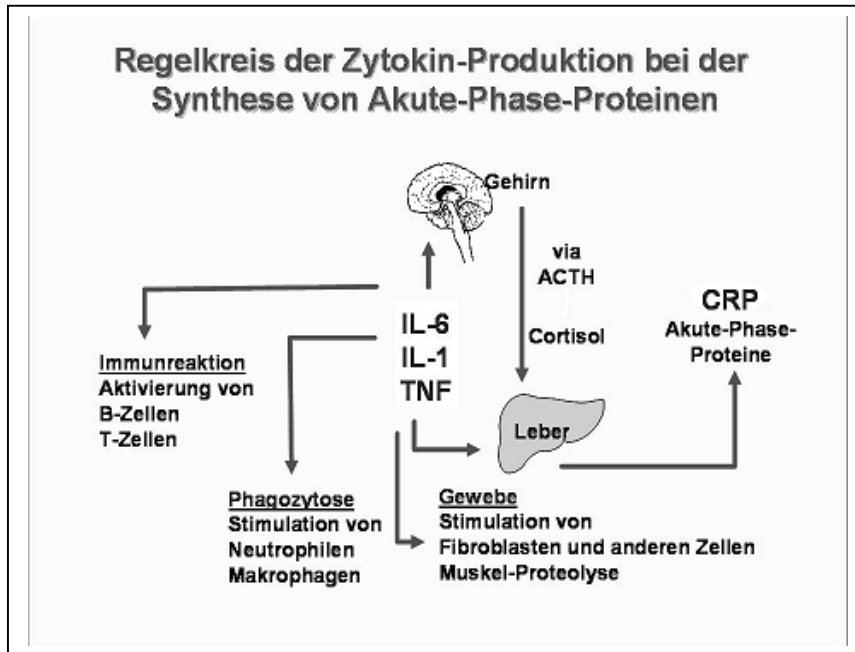


Abb. 1: Aktivierung der Akute-Phase-Proteine durch Zytokine (Quelle: DPC Biermann)

1.3.1 Die Akute-Phase-Reaktion

Die Akute-Phase-Reaktion ist Ausdruck eines entzündlichen Geschehens aufgrund lokaler oder generalisierter Gewebsschädigung, ausgelöst durch infektiöse, chemische oder physikalische Ursachen, ischämische Nekrosen, maligne Neubildungen, immunologische oder allergische Reaktionen (Pepys, 1989, Szczepanek et al., 1997). Sie ist somit ein unspezifisches Geschehen und findet in vielen körperlichen Situationen statt.

Der Sinn der Akute-Phase-Reaktion ist es, einerseits eine Gewebsschädigung vor Ort durch eine lokale Reaktion zu begrenzen, und andererseits den Organismus auf eine Ausweitung der Schädigung durch eine generalisierte Reaktion vorzubereiten.

Initiiert wird die Akute-Phase-Reaktion hauptsächlich durch IL-6, in geringerem Maße auch durch TNF- α und IL-1. Innerhalb eines Tages nach Eintritt der akuten Entzündung werden die Akute-Phase-Proteine in der Leber gebildet, zu

denen alle Plasmaproteine zählen, deren Konzentration während der Akut-Phase-Reaktion um mehr als 25% zunehmen. Diese Proteine werden als positive Reaktanten bezeichnet (Thompson et al., 1992).

Im Einzelnen sind dies: CRP, Serum-Amyloid A, Alpha1-Antichymotrypsin, saures Alpha1-Glycoprotein, Alpha1-Antitrypsin, Haptoglobin, Fibrinogen, C3, C4 und Coeruloplasmin. Von allen Akut-Phase-Proteinen steigen das CRP und Serum-Amyloid A bei einer Aktivierung der Akut-Phase-Reaktion am stärksten an (Jaye et al., 1997) (siehe Abb. 2).

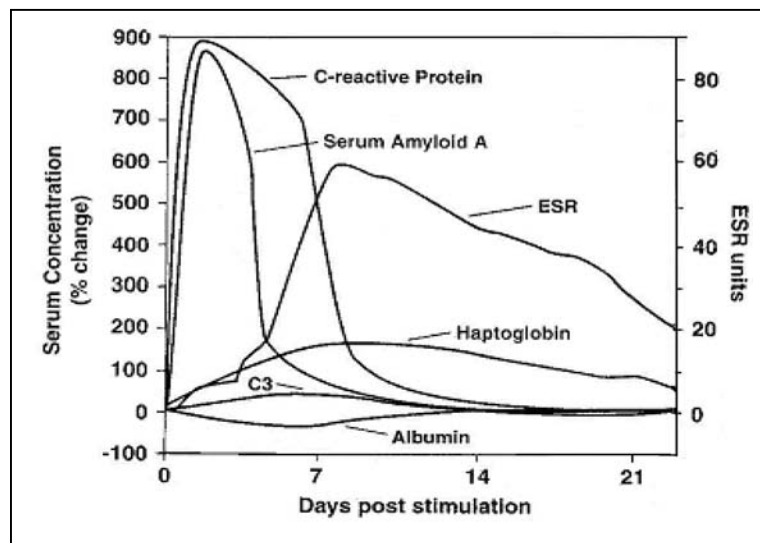


Abb. 2: Änderung der Serumkonzentrationen der Akut-Phase-Proteine nach Stimulation (ESR: Erythrozyten-Sedimentationsrate, Quelle: Jaye et al., 1997)

Die Akut-Phase-Reaktion drückt sich aus in Fieber, Leukozytose, Erhöhung der Akut-Phase-Proteine und Aktivierung der Blutgerinnung.

Die Höhe des Anstiegs der Proteine ist abhängig von der Art der entzündlichen Reaktion und der Entzündungsaktivität. Zum Beispiel zeigen bakterielle Infektionen höhere Anstiege auf als sterile nekrotisierende Entzündungen wie ein Herzinfarkt.

Als negative Reaktanten werden die Proteine bezeichnet, die während der Akut-Phase-Reaktion abnehmen, dazu zählen Transferrin, Präalbumin und Albumin.

Bei Neugeborenen wird durch den Geburtsprozess bei einer Spontangeburt ebenfalls eine Akut-Phase-Reaktion ausgelöst. Dies macht sich bemerkbar in erhöhten Serumlevels der Akut-Phase-Proteine (CRP, Serum-Amyloid A und Präalbumin). Der physiologische Stress durch die Geburt und die schnelle Kolonisation der Haut und Schleimhautoberflächen mit Keimen triggern eine Erhöhung von IL-6, welches als Hauptaktivator der Akut-Phase-Reaktion eine Erhöhung der Proteine initiiert (Marchini et al., 2000).

1.4 Diagnostik einer bakteriellen Infektion

Die Diagnosestellung bei Neugeborenen mit Verdacht auf Infektion ist eine der häufigsten, schwierigsten und wichtigsten Fragestellungen des Neonatologen (Kaftan und Kinney, 1998). Die Verzögerung der Diagnose einer Infektion ist jedoch assoziiert mit erhöhter Mortalität (Russel et al., 1992).

Für die Diagnosestellung werden neben den klinischen Anzeichen des Kindes auch die Risikofaktoren der Mutter verwendet. Dennoch sind diese Symptome oftmals nicht eindeutig und es wird eine aussagekräftige Labordiagnostik benötigt. Die in der Infektionsdiagnostik etablierten Parameter (CRP, IL-8, IL-6, Leukozytenzahl, Bestimmung des Anteils der unreifen neutrophilen Granulocyten, I/T-Quotient) weisen aber diagnostische Lücken auf. Ist das CRP bereits erhöht (> 1 mg/dl), kann dies ein weiterer Hinweis auf eine Infektion sein. Es kann sich aber auch um einen nach der Geburt physiologisch erhöhten Wert handeln. Ist das CRP noch im Normbereich, schließt dies eine Infektion aber auch nicht aus, da ein Anstieg erst 12 – 36 Stunden nach dem Infektionsbeginn zu erwarten ist (Kunz und Kohse, 2002, Franz et al, 2001).

Das Ergebnis einer Blutkultur dauert meist mehrere Tage und ist oft negativ (Franz et al., 2001, Pourcyrus et al., 1993). Zusätzlich stehen häufig nur geringe Blutmengen zur Verfügung. Außerdem wird der Kostendruck bei Laboranforderungen immer größer.

Deshalb besteht der dringende Bedarf an aussagekräftigen Laborparametern, die schnell und zuverlässig die Verdachtsdiagnose einer neonatalen Infektion bestätigen oder ausschließen.

1.4.1 Etablierte Infektionsparameter

Die in der Diagnostik verwendeten Infektionsparameter sind das CRP, IL-8, die Leukozytenzahl und der I/T-Quotient. Diese Parameter können, wenn sie alle zusammen betrachtet werden, einen guten Beitrag zur Diagnosestellung leisten, weisen aber dennoch Lücken in verschiedenen Krankheitsstadien auf. Die etablierten Referenzwerte sind in Tabelle 1 aufgelistet.

Tab. 1: Referenzwerte der etablierten Infektionsparameter

¹ Mathers und Pohlandt (1987)

² Orlikowsky et al. (2004)

³ Gerdes et al. (1987), Da Silva et al. (1995)

⁴ Franz et al. (1999)

Parameter	Referenzwert
CRP	> 1,0 mg/dl ¹
IL-8	> 60 pg/ml ²
Leukozytenzahl	< 5000/mm ³ , > 30000/mm ³ (1. Lebenstag), > 20000/mm ³ (ab 2. Lebenstag) ³
I/T-Quotient	> 0,2 ⁴

I. C-reaktives Protein (CRP)

Bei der Diagnostik einer Infektion hat das CRP eine große Bedeutung (siehe Kapitel 1.5.3).

II. IL-8

Das Interleukin-8 zählt zu der Gruppe der Zytokine, welche regulatorische Wirkungen auf Immun- und Entzündungszellen besitzen.

Es wird gebildet von Makrophagen, Endothelzellen und Fibroblasten und besitzt eine starke chemotaktische Wirkung auf T-Zellen und Granulozyten. Letztere werden zur Phagozytose und Adhärenz aktiviert und es kommt zur Enzymausschüttung.

IL-8 stieg bei einer Studie 1 – 2 Stunden nach Lipopolysaccharidininjektion an. Es kann also schon sehr früh nach Infektionsbeginn im Serum erhöht gefunden werden (Franz et al., 2001). Es steigt 12 – 24 Stunden früher an als das CRP und ist meist schon erhöht beim ersten Verdacht auf eine Infektion. Zu diesem Zeitpunkt beträgt seine Sensitivität 80%, die Spezifität 76% (Franz et al, 1999, Franz et al., 2001).

Der Level des IL-8 sinkt jedoch rasch wieder und ist bereits nach wenigen Stunden wieder im Normbereich. Dies und die Tatsache, dass IL-8 auch bei Kindern ohne Neugeboreneninfektion erhöht gefunden werden kann (z. B. bei Atemnotsyndrom), macht diesen Parameter zwar hilfreich im Anfangsstadium einer Infektion, er besitzt aber zu späteren Zeitpunkten oder bei der Verlaufsdagnostik nur einen geringen Stellenwert. Neuere Studien weisen auf eine Überlegenheit des im lysierten Vollblut gemessenen IL-8 gegenüber des im Plasma bestimmten Anteils des IL-8 hin (Orlikowsky et al., 2004).

III. Leukozytenzahl

Zu den Leukozyten zählen die Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten. Ihre Funktionen bestehen in der Erkennung (Lympho- und Monozyten) und Elimination (Phagozyten) von körperfremden Stoffen. Sie gehören zum angeborenen Immunsystem und stellen somit die erste Linie zur Verteidigung gegen Krankheitserreger dar.

Im Gegensatz zu Erwachsenen, die bei einer akuten Entzündung eine Leukozytose entwickeln, reagieren Neugeborene mit early-onset Infektion meist mit einer Leukozytopenie, Neugeborene mit late-onset Infektion dagegen mit Erhöhung der Leukozytenzahlen.

Die Beurteilung dieses Entzündungsparameters in der Diagnostik ist oft schwierig. Die physiologische Kinetik der Leukozyten nach der Geburt zeigt einen Anstieg mit Maximum am 2. Lebenstag. Danach fällt der Level wieder ab. Zusätzlich ist es schwierig, die physiologischerweise vorhandenen Normoblasten von den Leukozyten abzugrenzen. Das Mitzählen dieser kernhaltigen erythrozytären Vorstufen kann eine Leukozytose vortäuschen (Kunz und Kohse, 2002).

IV. I/T-Quotient

Der I/T-Quotient ist der quantitative Ausdruck einer Linksverschiebung im Differentialblutbild. Er entsteht durch die Division der Summe der unreifen neutrophilen Granulozyten durch die Summe aus reifen und unreifen neutrophilen Granulozyten.

Als Infektionsparameter zeigt der I/T-Quotient eine gute Sensitivität als früher Parameter (81%), die Spezifität beträgt jedoch nur 42%, da die Granulozyten von nicht infektiösen Ereignissen ebenso beeinflusst werden, z.B. mütterliche Hypertonie, konnatale Virusinfektionen oder intrauterine Dystrophie (Franz et al., 2001, Russell et al., 1992, Berner et al., 1998).

Das Ergebnis des Differentialblutbildes ist von der Definition des „Stabkernigen“ und der Erfahrung der Labormitarbeiter abhängig und die Reproduzierbarkeit ist deshalb nicht immer gegeben.

1.5 C-reaktives Protein (CRP)

1.5.1 Entstehung und Funktion

Das C-reaktive Protein ist ein Akut-Phase-Protein und wird, induziert hauptsächlich durch IL-6 und IL-1, in den Hepatozyten der Leber gebildet.

Es ist ein kohlenhydratfreies Protein und besteht aus einem fünfgliedrigen Ring aus 5 identischen Untereinheiten mit einer Molmasse von 105500 Dalton.

Die Funktion des CRP ist vergleichbar mit derjenigen der Immunglobuline. Durch Bindung an Mikroorganismen oder die Trümmer eigener Zellen werden diese durch Abräumsysteme der Immunabwehr markiert und erkannt und somit beseitigt. CRP agiert also als Opsonin, aktiviert aber auch das Komplementsystem und stimuliert B- und T-Lymphozyten (Jaye et al., 1997, Volanakis, 2001).

Das CRP passiert nicht die Plazenta. Gemessene Werte aus neonatalem Serum entstammen ausschließlich aus der kindlichen Eigenproduktion (Chiesa et al., 2001).

1.5.2 CRP-Kinetik bei Neugeborenen ohne bakterielle Infektion

Die CRP-Kinetik folgt innerhalb des ersten Lebenstages einem Anstieg, der nicht durch Infektionen hervorgerufen wird. Dies führt häufig zu Irritationen hinsichtlich des Ausschlusses einer bakteriellen Infektion.

Der Grund dieses physiologischen Anstieges des Akut-Phasen-Proteins liegt im Geburtsstress sowie der raschen Schleimhautbesiedelung durch verschiedene Keime. Das Maximum wird nach 24 Stunden erreicht, danach sinken die Werte wieder ab (Marchini et al., 2000, Jaye et al., 1997 Chiesa et al., 2001).

Ebenfalls erhöhte CRP-Level können bei Neugeborenen mit vorzeitigem Blasensprung in der Anamnese gefunden werden. Ainbender et al. fanden bei 40% dieser Kinder CRP-Werte > 1 mg/dl, die jedoch keine Infektion aufzeigten. Auch bei Neugeborenen mit Mekoniumaspiration, fetaler Hypoxie,

Atemnotsyndrom oder mütterlichem Fieber können Werte bis zu 2 mg/dl auftreten (Jaye et al., 1997, Chiesa et al., 2001, Ainbender et al., 1982).

1.5.3 CRP-Kinetik bei Neugeborenen mit bakterieller Infektion

Obwohl viele Komponenten des neonatalen Immunsystems noch unreif sind, zeigt die hepatische Synthese von CRP eine Reaktion auf akute Entzündungen. Ein Anstieg des C-reaktiven Proteins erfolgt neben dem physiologischen Anstieg durch den Geburtsstress bei verschiedenen Ereignissen: bei akuten bakteriellen oder viralen Infektionen und bei nichtinfektiösen Erkrankungen wie akuter Myokardinfarkt, rheumatische oder maligne Erkrankungen sowie nach Operationen (Jaye et al., 1997, Roberts et al., 2001). Jedoch gilt bei Neugeborenen die akute bakterielle Infektion als der wahrscheinlichste Grund von Entzündungsgeschehen (Da Silva et al., 1995).

Nach dem Infektionsbeginn wird in der Leber innerhalb von 4 – 6 Stunden mit der CRP-Synthese begonnen und danach jede 8 Stunden verdoppelt. Der Produktionshöhepunkt wird 36 – 50 Stunden nach dem akuten Entzündungsgeschehen erreicht (Jaye et al., 1997). Der Grad der CRP-Erhöhung spiegelt die Aktivität und das Ausmaß des Entzündungsprozesses wieder (Ballou und Kushner, 1992).

Der Level des C-reaktiven Proteins bleibt erhöht bei anhaltender Infektion, sinkt aber nach Therapiebeginn relativ rasch ab aufgrund der kurzen Halbwertszeit von 21 Stunden (Ehl et al., 1999).

Als alleiniger Parameter ist das CRP mit mehreren aufeinander folgenden Messungen signifikant besser geeignet für die Entdeckung einer bakteriellen Infektion als die I/T-Ratio oder die Leukozytenzahl und hat 24 bis 48 Stunden nach dem ersten Infektionsverdacht den besten positiven Vorhersagewert (Russel et al., 1992, Chiesa et al., 2001).

Trotz der Tatsache, dass das CRP mit einer Spezifität von 95% ein exzellenter Marker für die Diagnose einer bakteriellen Infektion ist (Franz et al., 2001,

Pourcyrus et al., 1993, Russell et al., 1992, Chiesa et al., 2001, Benitz et al., 1998), sowie der beste alleinige Test zur Diagnostik (Da Silva et al., 1995, Jaye et al., 1997), lässt die Sensitivität in den ersten Stunden nach Infektionsbeginn zu wünschen übrig.

Die Meßmethoden in der Routinediagnostik besitzen eine untere Messgrenze von 0,3 – 0,8 mg/dl (Roberts et al., 2001). Diese untere Messgrenze muss verbessert werden, um eventuelle frühe Veränderungen des CRP-Levels zu bemerken. Dies ist besonders wichtig bei Neugeborenen, welche Risikofaktoren in der Anamnese aufweisen (Russell et al., 1992).

Aufgrund des späten nachweisbaren Anstieges von CRP nach Infektionsbeginn entsteht in der Infektionsdiagnostik bei early-onset Infektionen eine Lücke im Bereich zwischen 12 und 24 Lebensstunden, wenn das IL-8 wieder abgesunken ist und der CRP- Wert noch im nicht messbaren Bereich liegt (siehe Abb. 3).

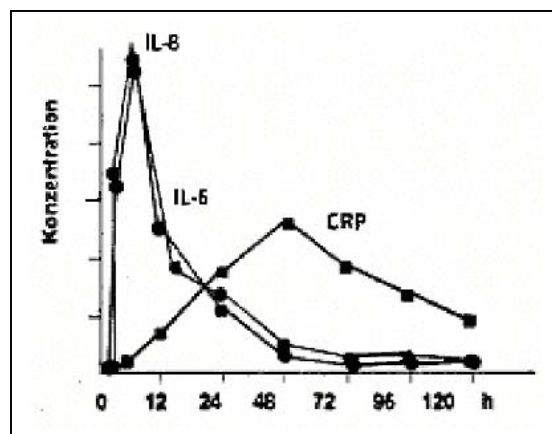


Abb. 3: Konzentrationsanstieg von Interleukinen und CRP postpartal bei EOBI (Quelle: DPC Biermann)

1.5.4 Eine neue Messmethode: das hochsensitive CRP (hsCRP)

In der bisherigen Infektionsdiagnostik galten CRP-Werte $< 1,0$ mg/dl als unauffällig (Kunz und Kohse, 2002, Franz et al., 2001).

Seit der Entwicklung der hochsensitiven Messmethoden, basierend auf einem immunologischen Trübungstest mit turbidimetrischer Messung (Macy et al., 1997, Eda et al., 1998, Ledue et al., 1998, Wilkins et al., 1998, Rifai et al., 1999, Borque et al., 2000, Tarkkinen et al., 2002), können Konzentrationen für CRP bereits ab 0,001 mg/dl bestimmt werden (Roberts et al., 2001). Diese Messmethode wird bereits bei der Erkennung des Risikos für kardiovaskuläre Ereignisse bei gesunden Erwachsenen eingesetzt (Takahashi, 2002). Auch können Referenzwerte genauer bestimmt werden: der obere Referenzwert für gesunde Neugeborene beträgt 0,41 mg/dl (95% Perzentile) und der Median 0,08 mg/dl (50% Perzentile) (Schlebusch et al., 2002).

Bisher wurden noch keine Verläufe der hsCRP-Kinetik der Neugeborenen in Abhängigkeit des Lebensalters veröffentlicht. Da das CRP jedoch einer lebensaltersabhängigen Kinetik unterliegt (Marchini et al., 2000, Chiesa et al., 2001), sollten die Referenzwerte in Abhängigkeit des Lebensalters separat bestimmt werden.

1.6 Zielsetzung der Arbeit

Aufgrund bisheriger Studien und Erfahrungen eignet sich das C-reaktive Protein sehr gut als Bestimmungsgröße bei der Diagnostik einer bakteriellen Infektion und hat eine höhere Sensitivität und Spezifität bei wiederholten Messungen nach 24 und 48 Stunden als die Leukozytenanzahl oder der I/T-Quotient (Da Silva et al., 1995, Hengst, 2003). Der zuverlässige Anstieg im Falle einer Infektion, der sich in der hohen Sensitivität widerspiegelt, lässt bei vorhandener Klinik die Diagnose häufig allein auf dem CRP basieren.

Allerdings zeigen die Erfahrungswerte auch, dass diese hohe Sensitivität erst 18 Stunden nach Infektionsbeginn erreicht wird, wodurch in der Neonatologie wichtige Stunden verloren gehen, in denen bereits therapiert werden könnte. Bisher wurde der Verlauf der Konzentrationen des CRP mit einer Methode gemessen, die nur Werte $> 0,7$ mg/dl linear bestimmen konnte. Welchen Verlauf zeigt das CRP, wenn es mit der normalsensitiven

Bestimmungsmethode noch $< 0,7$ mg/dl liegt? Haben in diesem hochsensitiven Bereich die Neugeborenen mit beginnender Infektion bereits eine höhere CRP-Konzentration als die gesunden Neugeborenen mit demselben Lebensalter?

Basierend auf Beobachtungen, dass in der Leber bereits innerhalb der ersten 6 Stunden mit der CRP-Produktion begonnen wird, nachdem der Organismus einem infektiösen Prozess ausgesetzt wurde (Roberts et al., 2001, Ng, 2004, Messer et al., 1996, Escobar, 2003), spekulieren wir, dass mit der hochsensitiven Analyse des CRP eine Infektion früher entdeckt werden kann als mit der normalsensitiven Messmethode und den anderen gebräuchlichen Infektionsparametern.

Damit könnte eine Erkrankung früher erkannt werden und mit einer Antibiotikatherapie früher begonnen werden. Aufgrund der Tatsache, dass die Diagnostik einer EOBI immer noch eine der größten Herausforderungen in der Neonatologie ist, die Infektion mit einer hohen Mortalität und ernsthafter Morbidität assoziiert ist und außerdem vollständig heilbar ist bei frühzeitigem Erkennen, wäre dies ein wichtiger Schritt für die Behandlung Neugeborener.

Die Lücke zwischen dem IL-8-Abfall und des Anstieges des normalsensitiven CRP könnte geschlossen werden.

Da für diese Methode unserem Wissen nach noch keine Referenzwerte für die ersten Lebensstunden und -tage eines Neugeborenen vorliegen, sollen diese anhand einer Kontrollgruppe mit gesunden, reifen Neugeborenen ermittelt werden.

Außerdem soll untersucht werden, welche Einflussgrößen (Geschlecht, Geburtsgewicht, Frühgeburtlichkeit, das Vorhandensein von Risikofaktoren in der Anamnese) die hsCRP-Konzentrationen verändern können. Dazu werden Kontrollgruppen gebildet und die Referenzwerte auf Abweichungen geprüft.

Weiterhin soll die hsCRP-Kinetik bei Vorhandensein einer bakteriellen Infektion ermittelt werden.

Ziel ist es, die Sensitivität und Spezifität des hochsensitiven CRP zu bestimmen und es eventuell in die bisherige Vorgehensweise zur Diagnostik einer bakteriellen Infektion einzugliedern.

Dazu werden die etablierten Infektionsparameter bei jedem Proband ebenfalls dokumentiert und die Kinetiken mit denen des hsCRP verglichen.

Diese Studie soll helfen, eine Aussage über die Nützlichkeit des hochsensitiven CRP bei der Diagnostik der bakteriellen Infektion bei Neugeborenen (EOBI) zu machen.

2. Material und Methoden

2.1 Patienten

2.1.1 Patientenkollektiv und Parameter

Die prospektive Studie mit Bestimmungen des hochsensitiven C-reaktiven Proteins (hsCRP) in den Seren von Neugeborenen wurde geprüft und genehmigt von der Ethik-Kommission Tübingen (K 004/2002).

Die Studie verlief prospektiv über ein Jahr und fand im Zeitraum von Juli 2002 bis Juli 2003 statt.

Die 350 Messwerte des hsCRP stammten von 295 verschiedenen Neugeborenen, die im Verlauf der Studienzeit auf die Stationen der neonatologischen Abteilung der Kinderklinik Tübingen oder auf die Geburtshilfestationen der Frauenklinik Tübingen aufgenommen wurden. Hier erhielten die Neugeborenen, die in der Anamnese Risikofaktoren (siehe Kapitel 2.1.4) oder aber klinische Anzeichen einer neonatalen Infektion (siehe Kapitel 2.1.2) aufzeigten, wiederholte Blutabnahmen und eine engmaschige Kontrolle von Pulsfrequenz, Atemfrequenz und Temperatur.

Die Messungen des hsCRP wurden mit Restblut aus diesen Blutabnahmen durchgeführt, alle Daten wurden anonymisiert.

Das Gestationsalter der Neugeborenen umfasste eine Breite von 26 1/7- 43 1/7 Schwangerschaftswochen.

16 Patienten wurden retrospektiv von der Studie ausgeschlossen aufgrund von variablen Missbildungen oder anderen ernsthaften Erkrankungen (Meningo-Myelozele, Arnold-Chiari-Syndrom, Fallot-Tetralogie, Lippen-Kiefer-Gaumen-Spalten).

Zusätzlich zu den hsCRP-Bestimmungen wurden folgende Parameter von den Patienten erfasst (siehe Tabelle 2):

Tabelle 2: Erfasste Parameter des Patientenkollektives

<u>1. Patientendaten</u>	-Geschlecht
	-Gestationsalter: Frühgeburt < 37. Schwangerschaftswoche Reifgeburt > 37. Schwangerschaftswoche
	-Geburtsmodus
	-Risikofaktoren für eine neonatale bakterielle Infektion
	-Infektionszeitpunkt
	-Trophie
<u>2. Mikrobiologische Ergebnisse</u>	-Abstriche aus Rachen, Ohr, Nase, Augen
	-Blutkultur
<u>3. Labor</u>	-hsCRP im Serum
	-CRP im Serum
	-IL-8 im Serum
	-Leukozytenzahl
	-Differentialblutbild

Die 279 Neugeborenen wurden in drei Gruppen unterteilt.

Die erste Gruppe umfasste 134 gesunde Reifgeborene und sollte als Kontrollgruppe zur Erstellung der Referenzwerte dienen. Diese Neugeborenen erhielten bei vorhandenen Risikofaktoren zum Ausschluss einer Infektion drei Blutentnahmen in einem Intervall zwischen 6 bis 60 Stunden sowie eine engmaschige klinische Kontrolle. Bei klinischer Unauffälligkeit und fehlendem

Anstieg der Entzündungswerte im Labor wurden die Patienten als nicht infiziert eingestuft.

Die zweite Gruppe ist die Gruppe der Neugeborenen mit early-onset Infektion (EOBI) mit 106 Reifgeborenen. Alle Patienten mit EOBI erhielten eine antibiotische Therapie entsprechend des Standards der Abteilung.

In die dritte Gruppe flossen die Werte der Frühgeborenen ohne bakterielle Infektion ein. Die hsCRP-Werte dieser Gruppe sollten mit den Ergebnissen der Kontrollgruppe verglichen werden, um eine Beeinflussung der Messergebnisse des hochsensitiven CRP durch das Gestationsalter zu prüfen.

Die Referenzwerte der Kontrollgruppe wurden mit den erhobenen Werten der Neugeborenen mit early-onset Infektion verglichen. Es sollte untersucht werden, ob sich die hochsensitive Bestimmungsmethode des C-reaktiven Proteins als früher, sensitiver Parameter in der Infektionsdiagnostik im Neugeborenenalter eignet.

Des Weiteren erfolgte eine Prüfung auf Beeinflussung der hsCRP-Konzentrationen durch verschiedene Einflussgrößen bei den gesunden Reifgeborenen sowie bei den Reifgeborenen mit early-onset Infektion.

Einflussgrößen:

- Frühgeburtlichkeit (< 37. Schwangerschaftswoche)
- Geschlecht
- Geburtsmodus: Spontangeburt, Sectio caesarea, Vakuumextraktion, Forcepsentbindung
- Trophie (Korrelation des Geburtsgewichts mit dem Gestationsalter):
 - Hypotrophie: Geburtsgewicht < 10. Perzentile
 - Hypertrophie: Geburtsgewicht > 90. Perzentile
- Risikofaktoren in der Anamnese (siehe Kapitel 2.1.4)

Die Kinetik des hsCRP wurde in der Gruppe der Neugeborenen mit bzw. ohne EOBI mit den Kinetiken der in der Infektionsdiagnostik bereits etablierten Parameter verglichen.

2.1.2 Diagnosestellung der neonatalen bakteriellen Infektion (EOBI)

Die Diagnose einer EOBI wurde durch den jeweiligen behandelnden Stationsarzt gestellt, wenn innerhalb der ersten 72 Lebensstunden mindestens eines der beiden folgenden Kriterien erfüllt wurde:

1. Positive Blutkultur und mindestens ein klinisches Zeichen, das auf eine bakterielle Infektion hinweist
2. CRP-Erhöhung im Serum > 1 mg/dl und mindestens ein klinisches Zeichen, das auf eine bakterielle Infektion hinweist

Diese Diagnosestellung steht im Einklang mit Franz et al. und eigenen Untersuchungen (Orlikowsky et al., 2004), analog hierzu wurden auch die klinischen Anzeichen einer neonatalen Infektion definiert:

Blässe, graues Munddreieck, graue Hautfarbe, schlechte Perfusion mit einer Rekapillarisierungszeit > 2 Sekunden, arterielle Hypotension, Tachypnoe (> 60 /min), Dyspnoe (Stöhnen, Nasenflügeln, Einziehungen), Apnoe, muskuläre Hypotonie oder Hypertonie, Hyperexzitabilität und Lethargie.

Als Infektionszeitpunkt wurde das Lebensalter bezeichnet, an dem die Patienten mit Hilfe der herkömmlichen Infektionsparameter als krank erkannt wurden und mit der Antibiotikatherapie begonnen wurde.

2.1.3 Early-onset Infektion: Definition

In dieser Studie wurde ein Auftreten einer Infektion bis zum Alter von 72 Stunden als early-onset Infektion bezeichnet in Analogie zu Franz et al., 2001.

2.1.4 Risikofaktoren für das Entstehen einer neonatalen bakteriellen Infektion (EOBI)

In der vorliegenden Studie wurden folgende Risikofaktoren für das Entstehen einer EOBI erfasst: vorzeitiger Blasensprung > 12 Stunden, Chorioamnionitis, mütterliche Besiedelung mit Streptokokken der Gruppe B, mütterliches Fieber >38,0°C analog zu Galanakis et al., 2002, Cisse et al., 2001, Jeffrey et al., 1987, Stoll et al., 1996, Franz et al., 1999, Korbage de Araujo et al., 1999.

2.2 Messverfahren

2.2.1 Messgerät und Reagenzien

Die quantitative Bestimmung des hochsensitiven C-reaktiven Proteins erfolgte vollautomatisch mit dem Reagenz Tina-quant CRP HS am Hitachi 902 der Firma La Roche, Mannheim, Deutschland und basiert auf einem immunologischen Trübungstest mit Reaktionsverstärkung durch Latex (zur genauen Durchführung siehe Kapitel 2.2.3).

Die benötigten Reagenzien und Küvetten wurden von der Firma La Roche, Mannheim, Deutschland zur Verfügung gestellt.

2.2.2 Benötigtes Probenmaterial und Reagenzien zur Bestimmung von hsCRP

- 50 Mikroliter Serum
- Reagenz 1: Trishydroxymethyl-aminomethan-hydrochlorid (TRIS)-Puffer; Konservierungsmittel
- Reagenz 2: Latex-Partikel beschichtet mit monoklonalen CRP-Antikörpern (Maus); Konservierungsmittel

2.2.3 Messverfahren für hochsensitives C-reaktives Protein

Zur Bestimmung von hsCRP wurden zunächst jeweils 50 Mikroliter Serum in eine Küvette pipettiert, dann wurde das Messgerät mit den Küvetten mit den zu messenden Proben und den benötigten Reagenzien bestückt.

Die folgenden Schritte liefen vollautomatisch ab.

Zuerst wurde das in den Proben befindliche CRP-Antigen mit dem Puffer der Reagenz 1 vermengt. Nach Zugabe des Reagenz 2 wurde die Reaktion gestartet. Das Antigen reagierte mit den CRP Antikörpern, die an Latex-Mikropartikel gebunden sind und aus dem Reagenz 2 stammten. Der nun entstandene Antigen-Antikörper-Komplex agglutinierte und konnte turbidimetrisch gemessen werden (siehe Abb. 4).

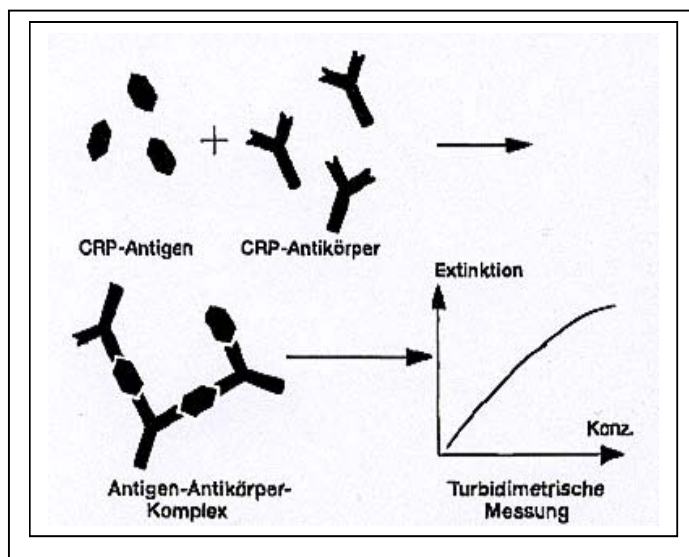


Abb. 4: Messmethode des hochsensitiven CRP,
(Quelle: La Roche, Mannheim)

2.2.4 Messung der Vergleichsparameter

Die Bestimmung des normalsensitiven C-reaktiven Proteins erfolgte mit den Vitros CRP Analyseplättchen von Ortho-Clinical Diagnostics, Neckargmünd, Deutschland. Diese Methode basierte auf einem heterogenen Sandwich-Enzymimmunoassay-Format. Der Messbereich betrug 0,7 - 11 mg/dl. Ein CRP-Wert > 1 mg/dl wurde als pathologisch definiert, analog zu Mathers und Pohlandt, 1987.

IL-8 wurde bestimmt mittels eines Festphasen-Chemilumineszenz-Enzymimmunoassay-Verfahrens (Immulite, DPC Biermann, Bad Nauheim, Deutschland). Die untere Messgrenze betrug 10 pg/ml. Als erhöht wurden IL-8-Werte definiert, die > 60 pg/ml lagen.

Die Leukozytenzahl aus EDTA-Blut wurde ermittelt mit einer Fluoreszenz-Durchflusszytometrie (XE-2100, Sysmex Deutschland GmbH) und differenziert von erfahrenen medizinisch-technischen Assistentinnen des Laboratoriums der Frauenklinik Tübingen. Die I/T-Ratio (immature to total neutrophils) gibt das Verhältnis von unreifen neutrophilen Granulozyten (nicht-segmentierten) zu der Summe aller Granulozyten an. Ein segmentierter Granulozyt wurde definiert durch mindestens eine Einschnürung des Kernes. Eine I/T-Ratio $> 0,2$ wurde als erhöht angesehen in Analogie zu Franz et al., 1999.

2.3 Statistische Auswertung

2.3.1 hsCRP-Referenzwerte

Die Erstellung der Referenzwerte für das hochsensitive CRP erfolgte mit den 152 hsCRP-Messungen der gesunden reifen Neugeborenen.

Jedes Messergebnis eines einzelnen Probanden erhielt eine Gewichtung, so dass die Summe der Gewichtungen eines Probanden jeweils 1 ergab. Dies sollte eine zu große Beeinflussung der einzelnen Kinder auf das Gesamtergebnis verhindern.

Die Referenzwerte wurden definiert als der Bereich zwischen dem 5%- und dem 95%-Quantil.

a) Erstellung eines Modells

Mit der Annahme, dass die hsCRP-Werte nach einer Lognormalverteilung streuen und dass sich die Standardabweichung der Logarithmen über das Lebensalter nicht verändert, wurde ein statistisches Modell erstellt.

Es wurde außerdem angenommen, dass sich die hsCRP-Werte mit dem Lebensalter (LA) und dem Gewicht gemäß folgender Formel verändern:

$$a + (b - a) \times (1 - e^{-\alpha \times LA}) + \frac{\text{Gewicht} \times \beta}{1000}$$

Formel zur Berechnung der lebensalters -
(LA) und gewichtsabhängigen
Referenzwerte der gesunden
Reifgeborenen

Mit Hilfe dieser Formel wurden die Referenzwerte der Kontrollgruppe berechnet.

b) Erstellung der Referenzwerte

Aufgrund der Abhängigkeit der hsCRP-Werte der gesunden Neugeborenen vom Gewicht wurden einmal Referenzwerte für leichtere Patienten (< 3500 g) berechnet sowie Referenzwerte für Neugeborene mit höherem Geburtsgewicht (> 3500 g).

Außerdem wurden die Patienten in verschiedene Altersgruppen aufgeteilt, um eine Abhängigkeit der Messdaten vom Lebensalter zu prüfen. Dazu wurden die Daten gepoolt; wenn nicht anders angegeben, wurden die Ergebnisse der 0 - 6 Stunden alten Neugeborenen zusammengefasst und als Messwert 6 Stunden postpartal angegeben, die Ergebnisse der 6,25 - 12 Stunden alten Neugeborenen als 12 Stunden postpartal, usw.

Da sich auch eine Abhängigkeit der hsCRP-Werte vom Lebensalter zeigte, wurden zusätzlich zu den unterschiedlichen gewichtsabhängigen Referenzwerten die Daten für die einzelnen Altersgruppen berechnet. So entstanden die Referenzwerte für gesunde Neugeborene in Abhängigkeit vom Geburtsgewicht und vom Lebensalter.

Die hsCRP-Konzentrationen wurden in Box-Whisker-Plots dargestellt. Zur Analyse der Daten wurde der Wilcoxon-Test benutzt. Eine Wahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurde als signifikant definiert.

Bei den Box-Whisker-Plots entsprechen die durch den Kasten vorgegebenen Grenzen der 25. bzw. 75. Perzentile. Der Strich im Kasten, der als Box bezeichnet wird, entspricht dem Median. Somit beinhaltet der Kasten 50% aller Werte. Die restlichen 50% werden durch die „Whiskers“ (= Katzenhaare) markiert, hier liegt die 75. - 100. Perzentile über dem Kasten, die unteren 25 Perzentilen entsprechend unter dem Kasten. Ausreißer außerhalb der „Whiskers“ werden durch Punkte dargestellt.

2.3.2 Prüfung auf Abhängigkeit der hsCRP-Werte von Einflussfaktoren und Vergleich mit anderen diagnostischen Parametern

Die Messergebnisse wurden jeweils in Box-Whisker-Plots dargestellt. Die Analyse der Daten wurde mit Hilfe des Student-t-Test durchgeführt. Eine Wahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurde als statistisch signifikant gewertet.

Um zu prüfen, ob die hochsensitiven mit den normalsensitiven CRP-Werten korrelierten, wurde eine Rangkorrelation durchgeführt und der Spearman-Korrelationskoeffizient für beliebig kleine p-Werte bestimmt.

2.3.3 Sensitivität, Spezifität, Positiver Prädiktiver Wert (PPW), Negativer Prädiktiver Wert (NPW)

Für das hochsensitive CRP, das normalsensitive CRP, IL-8 und I/T-Ratio wurden jeweils die Sensitivität, Spezifität, PPW und NPW für unterschiedliche Zeiten (6, 12, 18, 24 Stunden nach Infektionsbeginn) berechnet. Die prädiktiven Werte wurden in Abhängigkeit der Prävalenz berechnet.

Unter der Prävalenz einer Erkrankung versteht man ihre relative Häufigkeit.

$$\text{Sensitivität} = \frac{\text{Anzahl der Testpositiven}}{\text{Anzahl der Kranken}} \times 100$$

$$\text{Spezifität} = \frac{\text{Anzahl der Testnegativen}}{\text{Anzahl der Gesunden}} \times 100$$

$$\text{Positiver prädiktiver Wert} = \frac{\text{Pr ävalenz} \times \text{Sensitivität}}{\text{Pr ävalenz} \times \text{Sensitivität} + (1 - \text{Spezifität}) \times (1 - \text{Pr ävalenz})}$$

$$\text{Negativer prädiktiver Wert} = \frac{\text{Spezifität} \times (1 - \text{Pr ävalenz})}{\text{Spezifität} \times (1 - \text{Pr ävalenz}) + (1 - \text{Sensitivität}) \times \text{Pr ävalenz}}$$

Außerdem wurden die exakten 95% Konfidenzintervalle anhand von Binomialtabellen bestimmt.

2.3.4 Receiver operator characteristic (ROC) -Kurven

Um den optimalen cut-off Wert zu bestimmen, wurden ROC-Kurven für hsCRP, nsCRP, IL-8 und I/T-Ratio erstellt. Dazu wurde die Sensitivität auf der y-Achse gegen die Rate der falsch-positiven Testergebnisse (1 - Spezifität) auf der x-Achse aufgetragen. Dem optimalen cut-off Wert entspricht der Punkt der entstandenen Kurve, der am nächsten der linken oberen Ecke des Schaubildes liegt. Bei diesem Wert sollten die meisten Testpositiven entdeckt werden (hohe Sensitivität) mit einem Minimum an falsch-positiven Testergebnissen (hohe Spezifität).

Bei den im Ergebnisteil aufgeführten Werten handelte es sich um Mediane. Alle Daten und Schaubilder wurden mit Hilfe von Software erstellt (Sigmaplot 2000, SPSS, Chicago, IL, USA).

3. Ergebnisse

Das Kollektiv der Studie umfasste 295 Patienten, insgesamt wurden 350 Messwerte bestimmt und ausgewertet.

Die Probanden wurden in Gruppen unterteilt, zur Gruppeneinteilung siehe Kapitel 2.1.1.

Das Alter wurde in Stunden angegeben.

3.1 Gesunde Reifgeborene

3.1.1 Gruppenzusammensetzung

In diese Gruppe gingen 152 Messwerte von 134 gesunden Reifgeborenen (Gestationsalter > 37 SSW) im Alter von 0 - 120 Stunden ein. 81 der Neugeborenen waren männlichen Geschlechts.

Das mittlere Gestationsalter der gesunden Reifgeborenen lag bei 40 0/7 SSW (range: 37 1/7 – 43 1/7 SSW, 280 Tage, range: 260 - 302 Tage).

Das mittlere Geburtsgewicht betrug 3380 g (range: 1890 – 4560 g).

23,9% der Neugeborenen zeigten in der Anamnese Risikofaktoren auf.

52,2% der Kinder kamen spontan zur Welt, 9,7% mit Vakuumextraktion und 38,1% durch eine Sectio caesarea.

Die Erreger, die bei den Neugeborenen in Rachen, Ohr, Augen oder Nase bzw. in einer Blutkultur nachgewiesen werden konnten, wurden in Tabelle 6 aufgelistet. In dieser Patientengruppe wurden Streptokokken und Staphylokokken gefunden.

Bei allen Kindern dieser Gruppe konnte eine bakterielle Infektion klinisch und serologisch ausgeschlossen werden. 3,7% (5 von 134) der Neugeborenen wurden aufgrund eines Infektionsverdachts mit Antibiotika behandelt. Nach 2 Tagen wurden die Medikamente wieder abgesetzt, da sich der Verdacht nicht

bestätigt hatte. Keiner der Patienten musste innerhalb der nächsten 4 Wochen wieder aufgenommen werden.

Tabelle 3: Patientendaten

	Gesund > 37+0 (n)	(%)	Gesund < 37+0 (n)	(%)	EOBI > 37+0 (n)	(%)
Anzahl	134		39		106	
männlich	81	60,4	26	66,7	67	63,2
weiblich	53	39,6	13	33,3	39	36,8
Gestations- alter (SSW)	40+0		34+2		40+0	
Median (d) (range)	280 (260-302)		240 (183-258)		280 (259-294)	
Geburts- gewicht (g) (range)	3380 (1890- 4560)		2100 (630- 3300)		3400 (1580- 4750)	

Tabelle 4: Pränatales Risiko

	Gesund > 37+0 (n)	(%)	Gesund < 37+0 (n)	(%)	EOBI > 37+0 (n)	(%)
Ohne Risiko- faktoren	102	76,1	14	35,9	41	38,7
Risikofaktoren vorhanden	32	23,9	25	64,1	65	61,3

Tabelle 5: Geburtsmodus

	Gesund > 37+0 (n)	(%)	Gesund < 37+0 (n)	(%)	EOBI > 37+0 (n)	(%)
Spontan	70	52,2	14	35,9	67	63,2
Sectio caesarea	51	38,1	23	59,0	19	17,9
Vakuum- extraktion	13	9,7	2	5,1	15	14,2
Forceps- extraktion					5	4,7

Tabelle 6: Erregerspektrum bei Abstrichen aus Mund, Rachen, Ohren

	Gesund > 37+0 (n)	(%)	EOBI > 37+0 (n)	(%)
Staph. epidermidis	2	1,5	6	5,7
β-hämol. Streptokokken	2	1,5	3	2,8
Grampositive Kokken			1	0,9
E. coli			4	3,8
Candida albicans			1	0,9
Koagulase neg. Staphylokokken	2	1,5		

Tabelle 7: Ergebnisse der Blutkulturen (4 positive Blutkulturen von 106 Patienten der EOBI-Gruppe, 3,8%)

	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4
Erreger	E. coli	Streptokokken der Gruppe B	Streptokokken der Gruppe B	Streptokokken der Gruppe B

3.1.2 hsCRP-Konzentration im Serum gesunder Reifgeborener abhängig vom Lebensalter

Die Konzentration des hsCRP im Serum der Gruppe der gesunden Neugeborenen zeigte einen lebensaltersabhängigen Verlauf. Während der ersten 120 Lebensstunden wurden Konzentrationen von 0,0 mg/dl bis 1,4 mg/dl bestimmt.

Der mittlere Wert in den ersten 6 Stunden nach der Geburt betrug 0,03 mg/dl (range: 0,0 - 0,9 mg/dl), nach 24 Stunden 0,255 mg/dl (range: 0,0 - 1,1 mg/dl, $p = 0,001$ vs. 6 Stunden). Das Maximum dieses Wertes wurde nach 72 Stunden erreicht, es betrug 0,3 mg/dl (range: 0,03 - 1,0 mg/dl, $p = 0,002$ vs. 24 Stunden).

Es konnte somit ein Anstieg der hsCRP-Konzentration über die ersten drei Lebenstage beobachtet werden (siehe Abb. 5a und 5b). Danach blieben die Werte auf einem Plateau.

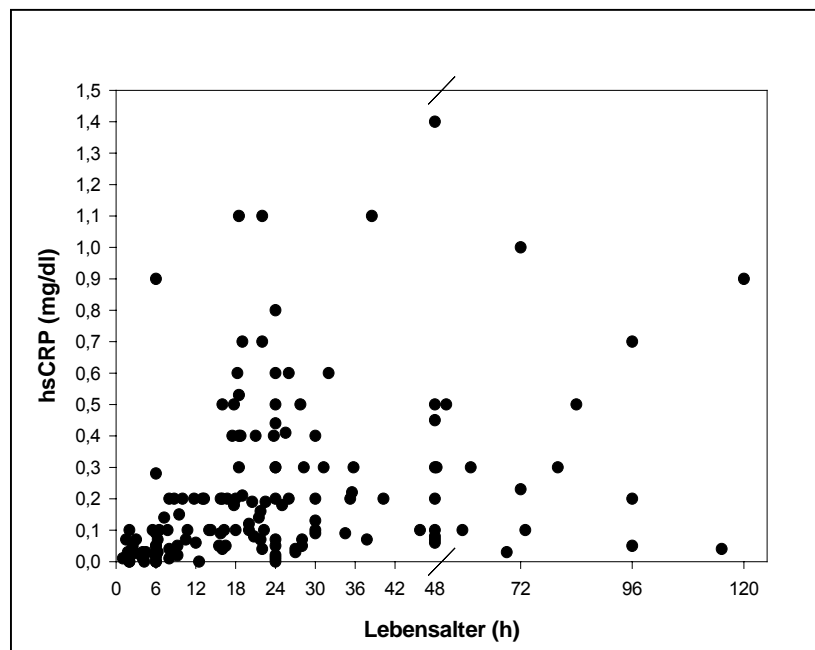


Abb. 5a

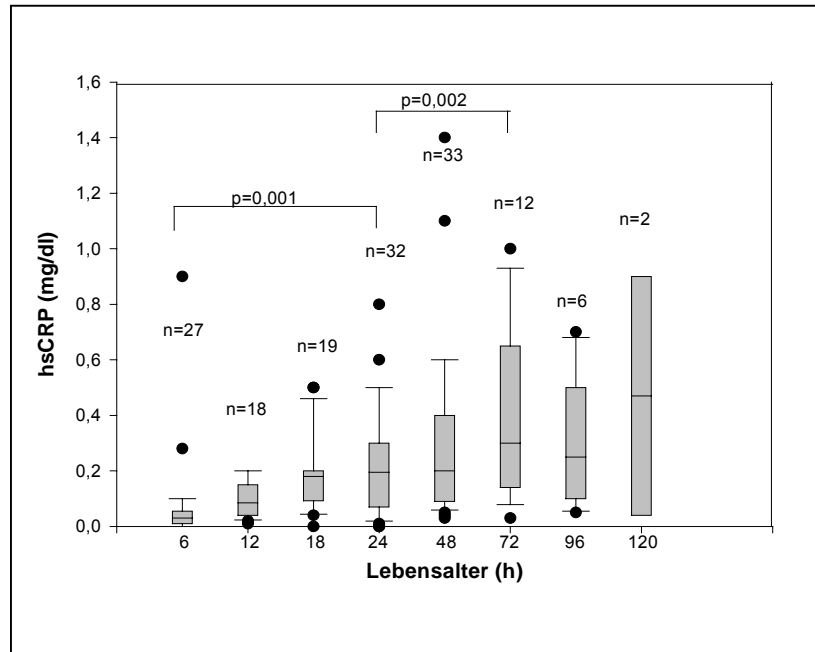


Abb. 5b

Abb. 5a und 5b: hsCRP-Konzentrationen der gesunden, reifen Neugeborenen in Abhängigkeit vom Lebensalter (n = Patientenzahl)

Daraus folgt:

- Das hsCRP zeigte bei den gesunden, reifen Neugeborenen einen lebensaltersabhängigen Verlauf, die maximale Konzentration wurde 72 Stunden postnatal erreicht.

3.1.3 Einflußfaktoren auf die hsCRP- Konzentration im Serum gesunder Reifgeborener

a) Geschlecht

Es erfolgte eine Unterteilung der gesunden Kinder mit einem Lebensalter von 0 - 48 Stunden nach dem Geschlecht. Hier gingen die Werte von 64 männlichen und 52 weiblichen Neugeborenen ein.

Die hsCRP-Konzentrationen der beiden Geschlechter wurden in den verschiedenen Altersgruppen (6 Lebensstunden, 12, 18, 24, 48 Lebensstunden) miteinander verglichen.

Zu keinem Zeitpunkt in den ersten beiden Lebenstagen konnte ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Somit unterschieden sich die Werte der männlichen Neugeborenen nicht von denen der weiblichen (siehe Abb. 6).

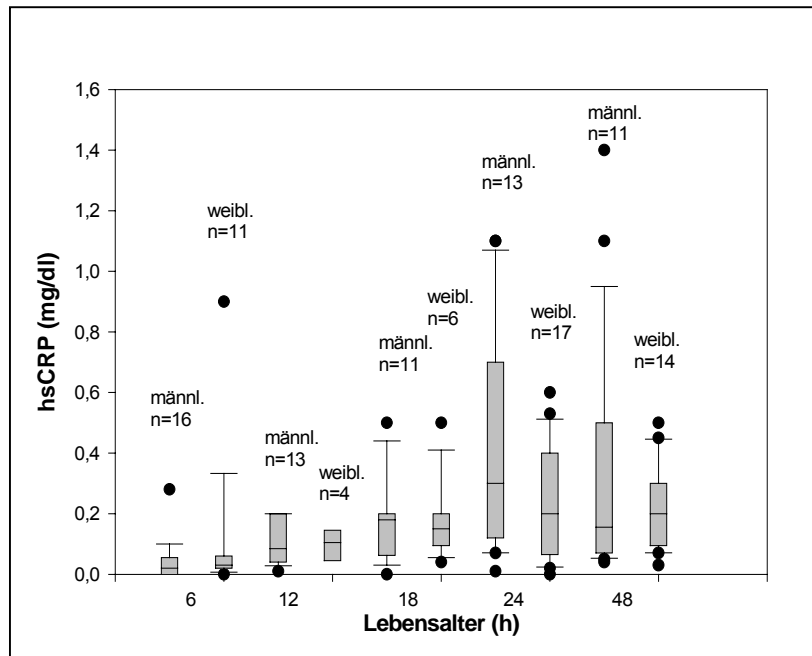


Abb. 6: hsCRP-Konzentrationen der männlichen gesunden Reifgeborenen im Vergleich zu denen der weiblichen, aufgeteilt in Altersgruppen (n = Anzahl der Patienten)

Daraus folgt:

- Beim Vergleich der hsCRP-Konzentrationen der männlichen und weiblichen gesunden Reifgeborenen in den ersten 2 Lebenstagen wurde kein signifikanter Unterschied festgestellt.
- Der Verlauf der hsCRP-Konzentrationen folgte dem der gesamten Einheit der gesunden, reifen Neugeborenen.

b) Risikofaktoren

Die Gruppe der gesunden Neugeborenen im Alter von 0 - 24 Lebensstunden wurde nach dem Vorhandensein von Risikofaktoren in der Anamnese getrennt. Es wurden die Werte von 67 Kindern ohne Risikofaktoren mit denen von 21 Kindern mit Risikofaktoren, getrennt nach dem Lebensalter, verglichen.

Die hsCRP-Konzentrationen ergaben in der Altersgruppe der 0 - 12 Stunden alten Kinder keinen Unterschied, der mittlere Wert betrug bei beiden Gruppen 0,04 mg/dl.

In der Gruppe der 12,25 - 24 Lebensstunden alten Neugeborenen hatten die Kinder mit Risikofaktoren einen mittleren Wert von 0,3 mg/dl (range: 0,0 - 1,1 mg/dl), die Kinder ohne Risikofaktoren 0,19 mg/dl (range: 0,0 - 0,8 mg/dl, $p = 0,07$ vs. Gruppe mit Risikofaktoren). Es wurde auch hier kein signifikanter Unterschied festgestellt.

Daraus folgt:

- Beim Vergleich der hsCRP-Konzentrationen der gesunden Reifgeborenen mit und ohne Risikofaktoren wurde beobachtet, dass sich die Werte nicht unterschieden und somit nicht beeinflusst wurden ob der Tatsache, ob Risikofaktoren vorhanden waren oder nicht.
- Insgesamt folgte der Verlauf der hsCRP-Konzentration in beiden Gruppen dem des Gesamtkollektives der gesunden, reifen Neugeborenen.

c) Geburtsmodus

Um beurteilen zu können, ob die Art der Geburt eine Auswirkung auf die hsCRP-Konzentration zeigte, wurden die gesunden Kinder mit unterschiedlichem Geburtsmodus getrennt. Die Werte der 55 Neugeborenen mit Spontangeburt, 38 mit Sectio und 12 mit Vakuumextraktion wurden in den verschiedenen Altersgruppen (12, 24, 48 Stunden) verglichen (siehe Abb. 7).

In den Gruppen der 12 Stunden alten Neugeborenen lagen die mittleren Werte der Neugeborenen mit Spontangeburt bei 0,04 mg/dl, die der Neugeborenen mit Sectio bei 0,03 mg/dl und die der Neugeborenen mit Vakuumentzug bei 0,09 mg/dl. Dies ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen (siehe Abb. 7).

Nach 24 Stunden lag der mittlere Wert der spontan geborenen Kinder bei 0,2 mg/dl und der der Kinder, die per Sectio zur Welt kamen bei 0,09 mg/dl, es konnte auch hier kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Aufgrund der geringen Patientenzahl mit Vakuumentzug 24 bzw. 48 Stunden postnatal konnten diese Werte nicht berücksichtigt werden.

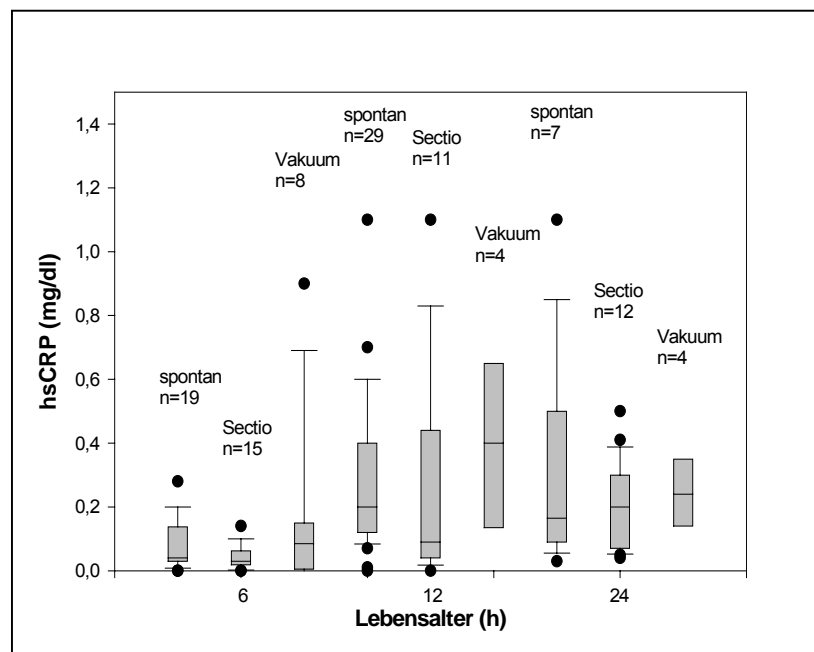


Abb. 7: hsCRP-Konzentrationen im Serum von gesunden Reifgeborenen in Abhängigkeit des Geburtsmodus und des Lebensalters (n = Anzahl der Patienten)

Daraus folgt:

- Der Geburtsmodus zeigte keinen Einfluss auf die hsCRP-Konzentrationen.
- Der Verlauf der hsCRP-Konzentrationen verlief bei allen Gruppen entsprechend dem der gesamten Einheit der gesunden Reifgeborenen.

d) Geburtsgewicht

Es sollte geprüft werden, ob das Geburtsgewicht einen Einfluss auf die Konzentration des hsCRP besaß.

Die hsCRP-Konzentration wurde gegen das Geburtsgewicht aufgetragen und eine Regressionsgerade gesetzt. Der Korrelationskoeffizient betrug $r^2 = 0,011$

Wie die Abbildung 8 zeigt, waren die hsCRP-Konzentrationen umso geringer, je niedriger das Geburtsgewicht war.

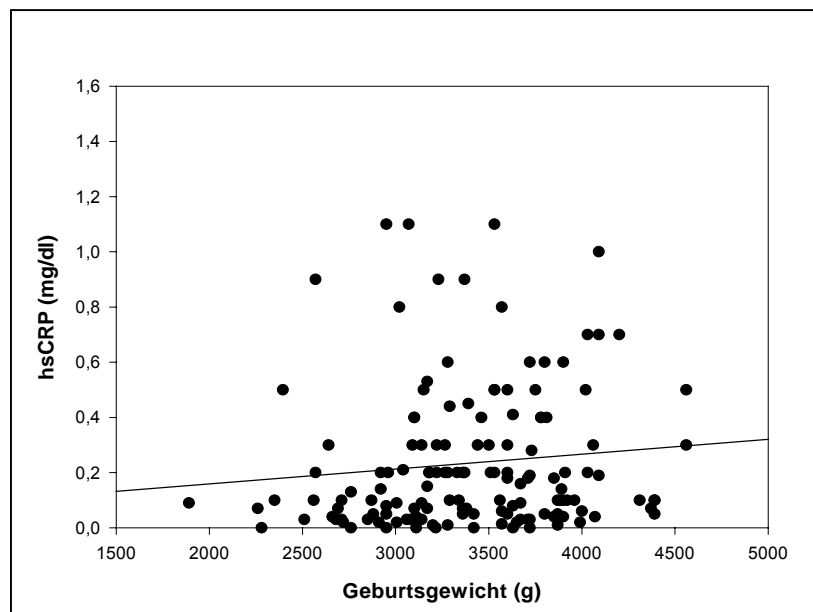


Abb. 8: Korrelation des Geburtsgewichtes mit der hsCRP-Konzentration bei gesunden Reifgeborenen

Daraus folgt:

- Die hsCRP-Konzentrationen waren abhängig vom Geburtsgewicht. Je geringer das Gewicht, desto niedrigere Werte wurden gemessen.

e) Gestationsalter

Es sollte geprüft werden, ob sich die Werte des hsCRP der Frühgeborenen von denen der Reifgeborenen unterscheiden.

Der Vergleich der hsCRP-Konzentrationen der gesunden Früh- und Reifgeborenen ergab einen altersabhängigen Verlauf. In beiden Gruppen stiegen die Werte bis zum dritten Lebenstag an.

Die mittleren hsCRP-Werte der Kinder, die vor der 37. Schwangerschaftswoche geboren wurden, waren im Alter von 72 Stunden signifikant niedriger als die der Kontrollgruppe der gesunden, reifen Neugeborenen (siehe Abb. 9).

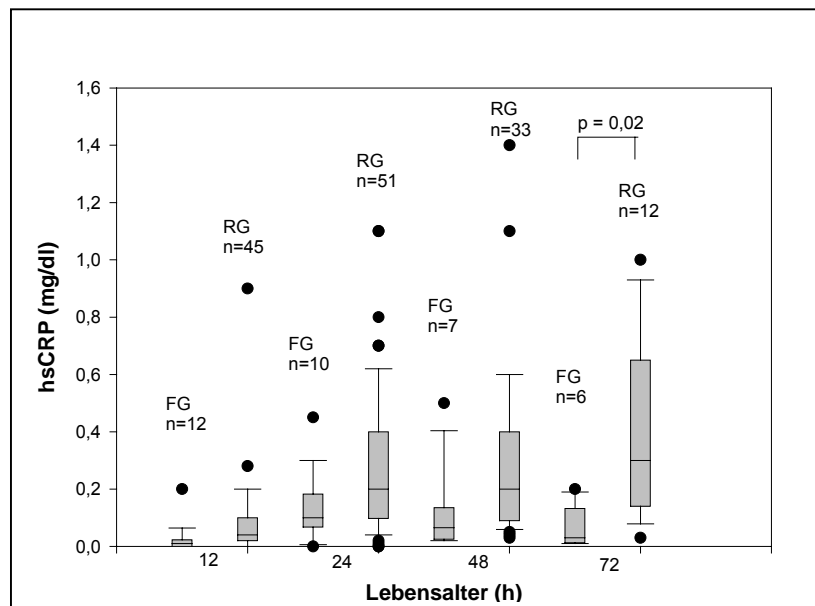


Abb. 9: Vergleich der hsCRP-Konzentration von gesunden Frühgeborenen (FG) und Reifgeborenen (RG) abhängig vom Lebensalter (n = Anzahl der Patienten)

Daraus folgt:

- Die Kinetik des hsCRP verlief bei den gesunden Früh- und Reifgeborenen parallel.
Die Werte stiegen jeweils bis zum dritten Lebenstag an.
- Die hsCRP-Konzentrationen der Frühgeborenen waren am 3. Lebenstag signifikant niedriger als die der Reifgeborenen.

3.1.4 Referenzwerte für die hsCRP-Konzentration im Serum gesunder Reifgeborener

Die hsCRP-Konzentrationen der gesunden Neugeborenen zeigten einen lebensalters- und geburtsgewichtsabhängigen Verlauf. Die Referenzwerte mussten somit für die leichteren Kinder (< 3500 g) und die Kinder mit höherem Geburtsgewicht (> 3500 g) getrennt nach dem jeweiligen Lebensalter ermittelt werden.

Kurz nach der Geburt betrug der mittlere Wert der Neugeborenen mit niedrigem Geburtsgewicht 0,03 mg/dl (5%-Quantil: 0,002 mg/dl, 95%-Quantil: 0,1 mg/dl), der der Neugeborenen mit hohem Geburtsgewicht 0,06 mg/dl (5%-Quantil: 0,006 mg/dl, 95%-Quantil: 0,3 mg/dl).

Nach einem halben Lebenstag lag der hsCRP-Wert der leichteren Kinder bei 0,06 mg/dl (5%-Quantil: 0,009 mg/dl, 95%-Quantil: 0,08 mg/dl), bei den schwereren Kinder betrug er 0,1 mg/dl (5%-Quantil: 0,02 mg/dl, 95%-Quantil: 1,2 mg/dl).

Die mittlere hsCRP-Konzentration 24 Stunden postnatal lag bei den leichteren Neugeborenen bei 0,1 mg/dl (5%-Quantil: 0,02 mg/dl, 95%-Quantil: 0,7 mg/dl) und bei den schwereren Neugeborenen bei 0,2 mg/dl (5%-Quantil: 0,04 mg/dl, 95%-Quantil: 1,9 mg/dl).

Nach 72 Stunden wurde das Maximum der hsCRP-Konzentration mit 0,2 mg/dl bzw. 0,4 mg/dl (5%-Quantil: 0,02 mg/dl, 95%-Quantil: 0,82 mg/dl, bzw. 0,05 mg/dl und 2,24 mg/dl) erreicht, die Werte waren auf das 7-fache gegenüber dem Ausgangswert angestiegen.

Daraus folgt:

- Die hsCRP-Konzentrationen stiegen bei den gesunden Neugeborenen mit zunehmendem Alter an.
- Das Maximum wurde 72 Stunden nach der Geburt erreicht.

- Die hsCRP-Konzentrationen waren außerdem abhängig vom Geburtsgewicht. Neugeborene mit niedrigerem Gewicht (< 3500 g) hatten geringere Werte als Neugeborene mit höherem Gewicht (> 3500 g).

3.1.5 hsCRP und etablierte Parameter in der Infektionsdiagnostik: Vergleich der Kinetiken bei gesunden Reifgeborenen

a) hsCRP und normalsensitives CRP (nsCRP)

Die gemessenen Konzentrationen des hochsensitiven CRP korrelierten hochsignifikant mit denen des normalsensitiven CRP. Der Spearman-Korrelationskoeffizient betrug 0,936. Das nsCRP umfasste bei den gesunden Probanden Werte von < 0,7 mg/dl - 1,9 mg/dl. Zu jedem Zeitpunkt nach der Geburt lagen die mittleren Konzentrationen < 0,7 mg/dl.

In den ersten 18 Lebensstunden lagen die meisten Werte (61 von 65) < 0,7 mg/dl (= untere Messgrenze, da die Werte darunter aufgrund der Messmethode nicht linear bestimmt werden konnten), danach stiegen die Konzentrationen an. Im Alter von 24 Stunden postnatal lagen 12 von 34 nsCRP-Werten zwischen 0,7 mg/dl und 1,5 mg/dl.

Daraus folgt:

- Die hochsensitiven CRP-Konzentrationen korrelierten hochsignifikant mit den normalsensitiven CRP-Konzentrationen.
- Die nsCRP-Konzentration folgte bei den gesunden Neugeborenen ebenfalls einem altersabhängigen Verlauf. Während die Werte in den ersten 18 Stunden postnatal hauptsächlich unter der unteren Messgrenze (< 0,7 mg/dl) lagen, ließen sich 18 Stunden nach der Geburt und während des zweiten Lebenstages vermehrt Werte > 0,7 mg/dl messen.

b) hsCRP und IL-8

Die IL-8-Werte der gesunden Reifgeborenen in den ersten zwei Lebenstagen reichten von < 10 pg/ml - 100 pg/ml.

Die mittleren Werte aller Altersgruppen lagen zwischen 24 pg/ml und 32 pg/ml und es ließ sich somit kein altersabhängiger Verlauf der IL-8-Werte feststellen.

Daraus folgt:

- Die IL-8-Werte der gesunden, reifen Neugeborenen unterlagen keinem altersabhängigen Verlauf.

c) hsCRP und Leukozytenzahl

Im Verlauf von 72 Stunden nach der Geburt konnten bei den reifen Neugeborenen ohne Infektion Leukozytenzahlen von $6,8 - 30,4 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ gemessen werden.

Der Vergleich der Werte in den verschiedenen Lebensaltersgruppen ergab konstante Leukozytenzahlen während des ersten Lebenstages, die mittleren Werte lagen kurz nach der Geburt bei $20,25 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ (range: $9,8 - 30,1 \cdot 10^3/\mu\text{l}$) und nach 24 Stunden bei $20,2 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ (range: $10,1 - 28,2 \cdot 10^3/\mu\text{l}$).

Im Verlauf des zweiten und dritten Lebenstages sanken die Leukozytenzahlen ab (siehe Abb. 10). Der mittlere Wert betrug $15,2 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ (range: $10,1 - 30,1 \cdot 10^3/\mu\text{l}$) bzw. $9,3 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ (range: $7,0 - 14,0 \cdot 10^3/\mu\text{l}$).

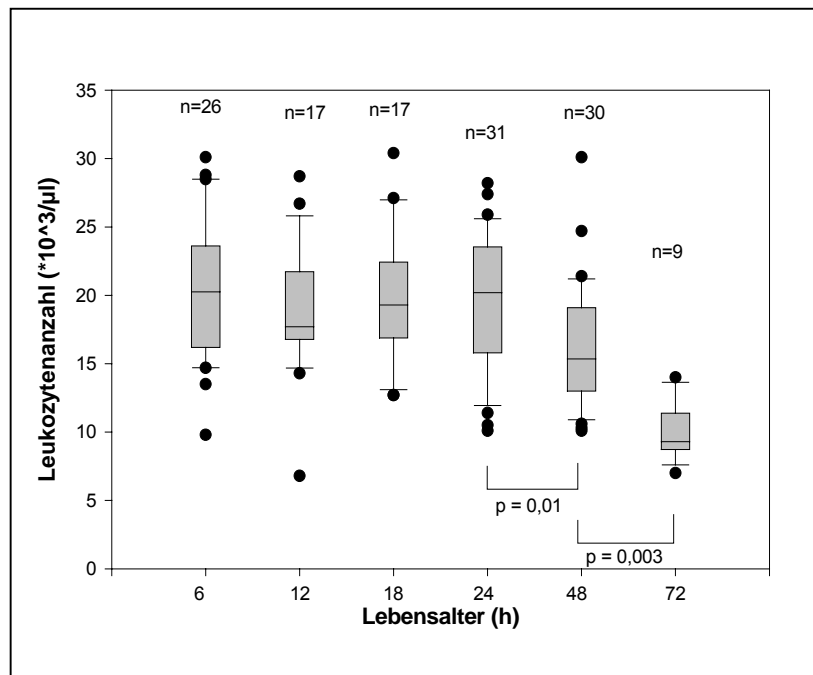


Abb. 10: Leukozytenzahl der gesunden Reifgeborenen abhängig vom Lebensalter (n = Anzahl der Patienten)

Daraus folgt:

- Die Leukozytenzahlen lagen während des ersten Lebenstages auf einem Plateau.
- Im Verlauf des zweiten und dritten Lebenstages fielen die Werte ab.

d) hsCRP und I/T-Quotient

Der I/T-Quotient der gesunden Probanden erreichte kurz nach der Geburt bis 72 Stunden postnatal Werte von 0,0 - 0,45. Die mittleren Werte lagen immer unter 0,1.

Während des ersten Lebenstages wurde ein signifikantes Absinken des I/T-Quotienten beobachtet (siehe Abb. 11).

Der mittlere Wert betrug kurz nach der Geburt 0,05 (range: 0,0 - 0,22), nach 24 Stunden 0,035 (range: 0,0 - 0,15, $p = 0,03$ vs. 6 Stunden) und nach 48 Stunden 0,01 (range: 0,0 - 0,13, $p = 0,06$ vs. 24 Stunden). Im Verlauf des zweiten Lebensjahres wurden somit keine signifikanten Veränderungen der Kinetik des I/T-Quotienten gemessen.

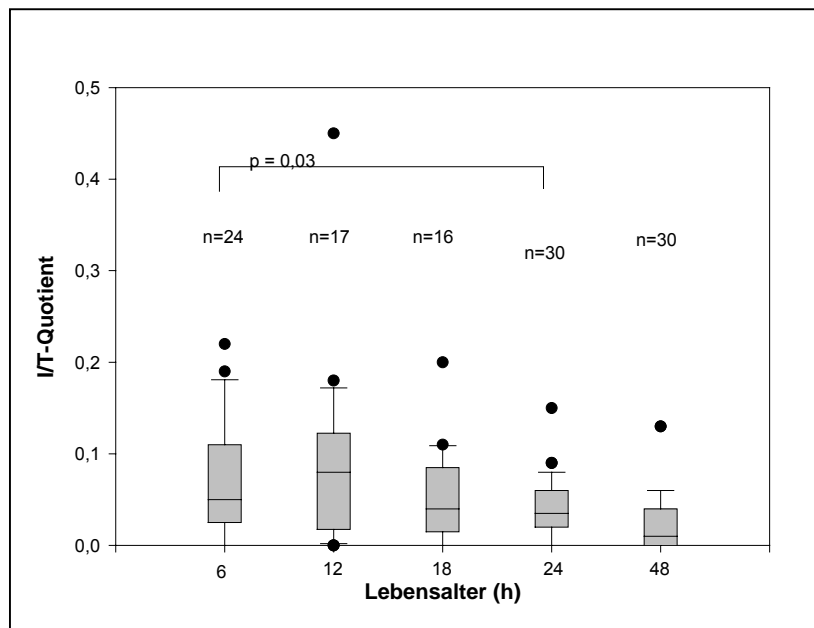


Abb. 11: Verlauf des I/T-Quotienten der gesunden Reifgeborenen während der ersten 2 Lebensstage in Abhängigkeit vom Lebensalter (n = Anzahl der Patienten)

Daraus folgt:

- Der I/T-Quotient unterlag bei gesunden Neugeborenen einem lebensaltersabhängigen Verlauf. Am ersten Lebenstag sanken die Werte signifikant ab.

3.1.6 Zusammenfassung

Bei den gesunden, reifen Neugeborenen zeigte sich ein lebensaltersabhängiger Verlauf der hsCRP-Konzentration. Die Werte stiegen ab der zweiten Hälfte des ersten Lebenstages an. Das Maximum wurde nach 72 Stunden erreicht. Danach verblieben die hsCRP-Konzentrationen auf einem Plateau.

Die Konzentrationen des hochsensitiven CRP wurden nicht beeinflusst durch das Geschlecht, die Art der Geburt oder der Tatsache, ob Risikofaktoren vorhanden waren oder nicht.

Das Geburtsgewicht zeigte einen Einfluss auf die hsCRP-Werte. Je leichter die Neugeborenen zur Welt kamen, desto niedrigere hsCRP-Werte wurden gemessen.

Außerdem hatten die frühgeborenen Kinder am 3. Lebenstag signifikant niedrigere Konzentrationen als die Kontrollgruppe mit den gesunden, reifen Neugeborenen.

Es konnten lebensalters- und gewichtsabhängige Referenzwerte für gesunde, reife Neugeborene erstellt werden.

Beim Vergleich des hochsensitiven CRP mit den etablierten Infektionsparametern zeigte sich, dass das hochsensitive CRP hochsignifikant mit dem normalsensitiven CRP korrelierte.

3.2 Reife Neugeborene mit early-onset Infektion (EOBI)

3.2.1 Gruppenzusammensetzung

Die Auswertung dieser Gruppe erfolgte mit 125 Werten von 106 reifen Neugeborenen, bei denen eine neonatale bakterielle Infektion diagnostiziert wurde. 67 der Patienten waren männliche Neugeborene. Das mittlere Gestationsalter lag in dieser Gruppe bei 40 0/7 Schwangerschaftswochen (range: 37 0/7 – 42 0/7 SSW, 280 Tage, range: 259 - 294 Tage). Das mittlere Geburtsgewicht betrug 3400 g (range: 1580 - 4750 g) (siehe Tabelle 3).

Von den Neugeborenen mit EOBI kamen 63,2% spontan zur Welt, 17,9% durch eine Sectio caesarea, 14,2% durch eine Vakuumextraktion und bei 4,7% erfolgte eine Forcepsentbindung.

Risikofaktoren in der Anamnese wurden bei 61,3% der Kinder dieser Gruppe festgestellt, 38,7% wurden ohne Risikofaktoren geboren.

Aus den Abstrichen aus Mund, Rachen, Augen, Ohren konnten verschiedene Keime nachgewiesen werden. Neben β -hämolysierenden Streptokokken, grampositiven Kokken und *Candida albicans* wurden hauptsächlich *Staphylokokkus epidermidis* und *E. coli* gefunden. Nur 4 Kinder mit Infektion hatten eine positive Blutkultur (4 von 106 Patienten, 3,8%, siehe Tabelle 7).

Der mittlere Wert des Infektionszeitpunktes betrug 17,5 Stunden (range: 9,5 – 50,0 Stunden).

3.2.2 hsCRP Konzentration im Serum von Reifgeborenen mit early-onset Infektion abhängig vom Lebensalter

Die Neugeborenen mit diagnostizierter EOBI wurden in verschiedene Altersgruppen aufgeteilt (0 - 6 Stunden, 6,25 - 12 Stunden, 12,25 - 18 Stunden, 18,25 - 24 Stunden, dann im 24-Stunden-Rhythmus).

Die hsCRP-Konzentration erreichte in den ersten 120 Lebensstunden Werte von 0,0 - 5,4 mg/dl.

Kurz nach der Geburt betrug der mittlere Wert 0,03 mg/dl (range: 0,0 - 1,1 mg/dl).

Bis zum Alter von 12 Stunden zeigte die Konzentration keine signifikanten Veränderungen, in den nächsten 6 Stunden stiegen die Werte jedoch signifikant an.

Der maximale Wert wurde im Alter von 24 Stunden beobachtet, er betrug 2,15 mg/dl (range: 0,44 - 5,4 mg/dl).

Im Verlauf des zweiten Lebenstages sanken die hsCRP-Konzentrationen ab und blieben dann bis 120 Stunden postnatal auf einem Plateau (siehe Abb. 12a und 12b).

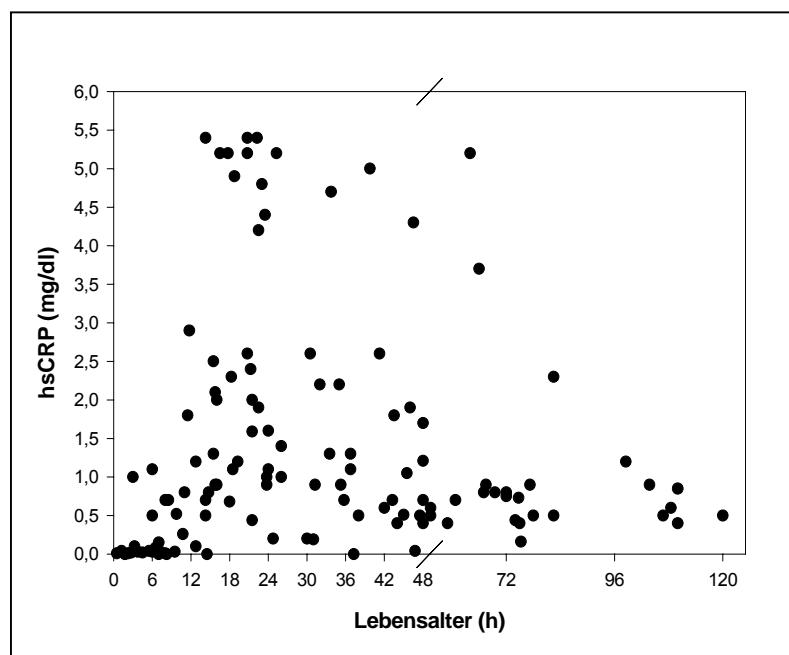


Abb. 12a

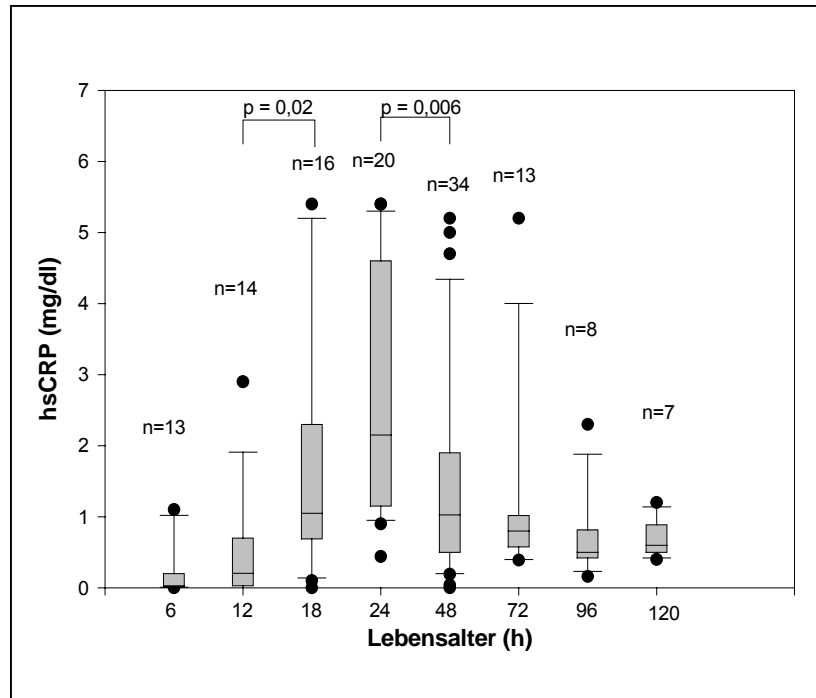


Abb. 12b

Abb. 12a und 12b: hsCRP-Konzentration im Serum von reifen Neugeborenen mit neonataler bakterieller Infektion in den ersten 120 Lebensstunden (n = Anzahl der Patienten)

Daraus folgt:

- Bei den Neugeborenen mit early-onset Infektion wurde ab dem Lebensalter von 12 Stunden ein signifikanter Anstieg der hsCRP-Konzentrationen gemessen.
- Ab dem zweiten Lebenstag fielen die Werte wieder ab.

3.2.3 Einflussfaktoren auf die hsCRP-Konzentration im Serum bei Reifgeborenen mit early-onset Infektion

a) Geschlecht

Es wurden die hsCRP-Werte der männlichen Reifgeborenen mit EOBi mit den Werten der weiblichen verglichen. In keiner der Altersgruppen unterschieden sich die Werte des hochsensitiven CRPs zwischen den Geschlechtern.

Die mittleren Konzentrationen umfassten Werte von 0,03 - 2,3 mg/dl.

Kurz nach der Geburt betrug die hsCRP-Konzentration der männlichen Neugeborenen 0,03 mg/dl (range: 0,0 - 1,1 mg/dl), die der weiblichen 0,08 mg/dl (range: 0,0 - 1,8 mg/dl). Nach 24 Stunden war sie bei den Jungen auf 1,6 mg/dl (range: 0,1 - 5,4 mg/dl) angestiegen, bei den Mädchen auf 2,3 mg/dl (range: 0,0 - 5,4 mg/dl). Im Laufe des zweiten Lebensstages fielen die Konzentrationen bei beiden Geschlechtern wieder ab.

Daraus folgt:

- Bei den reifen Neugeborenen mit diagnostizierter EOBI ergaben sich beim Vergleich der hsCRP-Konzentrationen der Geschlechter keine signifikanten Unterschiede.
- Der Verlauf der hsCRP-Konzentrationen folgte bei beiden Geschlechtern dem der gesamten Probanden mit early-onset Infektion.

b) Risikofaktoren

Die hsCRP-Konzentrationen der Neugeborenen, die an einer bakteriellen Infektion erkrankt waren und Risikofaktoren in der Anamnese aufwiesen, wurden mit denen der kranken Neugeborenen ohne Risikofaktoren verglichen. Zu keinem Zeitpunkt nach der Geburt konnten signifikante Unterschiede beobachtet werden.

Die mittleren Konzentrationen beliefen sich auf Werte von 0,03 - 1,9 mg/dl. Die Werte kurz nach der Geburt lagen am niedrigsten (0,03 mg/dl bei den Kinder ohne Risikofaktoren, 0,18 mg/dl bei den Kindern mit Risikofaktoren), nach 24 Stunden wurden die höchsten Konzentrationen gemessen (1,9 mg/dl bzw. 1,6 mg/dl).

Daraus folgt:

- Die hsCRP-Konzentrationen der kranken Neugeborenen ohne Risikofaktoren unterschieden sich nicht von denen der kranken Neugeborenen mit Risikofaktoren.

- Der Verlauf des hsCRP folgte dem der gesamten Einheit der reifen Neugeborenen mit EOBI.

3.2.4 hsCRP-Konzentrationen bei gesunden Reifgeborenen und Reifgeborenen mit early-onset Infektion

Die Konzentrationen des hsCRP im Serum der gesunden Reifgeborenen und den Reifgeborenen mit diagnostizierter EOBI wurden in den einzelnen Lebensaltersgruppen miteinander verglichen.

Ab 12 Stunden postnatal wiesen die Patienten mit EOBI signifikant höhere Konzentrationen auf als die gesunden Neugeborenen (siehe Abb. 13).

Die hsCRP-Werte unterschieden sich am deutlichsten im Alter von 24 Stunden. Hier lag die mittlere Konzentration bei den Neugeborenen mit EOBI (2,15 mg/dl) um das zehnfache höher als die der gesunden Neugeborenen mit 0,255 mg/dl.

Am zweiten Lebenstag sanken die Werte der Patienten mit Infektion, am dritten und vierten Tag näherten sie sich denen der gesunden Probanden an und nach 96 Stunden postnatal konnte kein Unterschied der Werte mehr beobachtet werden.

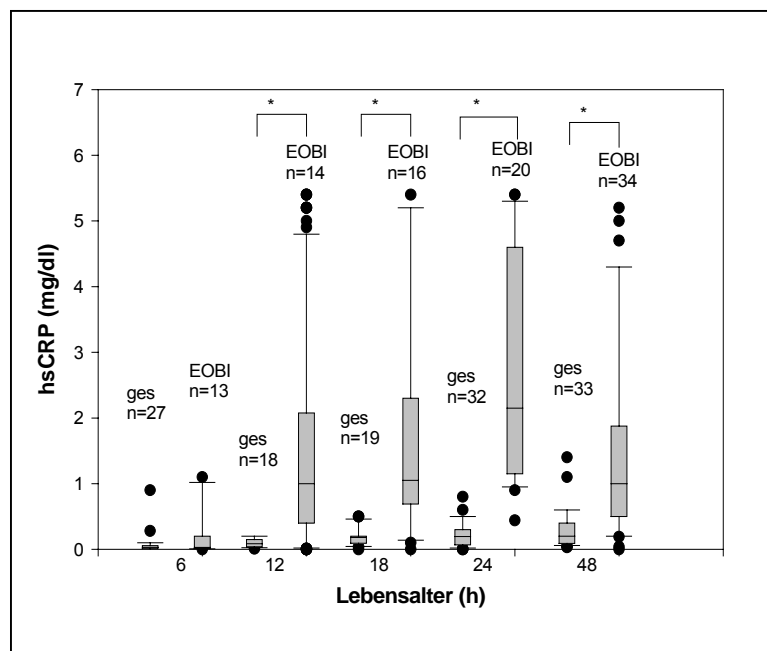


Abb. 13: Vergleich der hsCRP-Konzentrationen der gesunden Reifgeborenen (ges) und der Reifgeborenen mit EOBI abhängig vom Lebensalter (n = Anzahl der Patienten, * : p < 0,05)

Daraus folgt:

- Ab dem Lebensalter von 12 Stunden hatten die kranken Neugeborenen signifikant höhere hsCRP-Konzentrationen als die gesunden. Der Unterschied der Konzentrationen konnte über 60 Stunden nach der Geburt festgestellt werden, er war 24 Stunden postnatal am größten.
- Ab dem dritten Lebenstag näherten sich die hsCRP-Konzentrationen der gesunden und kranken Neugeborenen an, nach 96 Lebensstunden konnte kein Unterschied mehr festgestellt werden.

3.2.5 hsCRP und etablierte Parameter in der Infektionsdiagnostik: Vergleich der Kinetiken bei Reifgeborenen mit early-onset Infektion

a) hsCRP und normalsensitives CRP

Die normalsensitiven CRP- (nsCRP) Werte der gesunden Reifgeborenen und die der Reifgeborenen mit Infektion wurden miteinander verglichen.

Die nsCRP-Konzentration der Neugeborenen mit Infektion zeigte einen lebensaltersabhängigen Verlauf. Der mittlere Wert in den ersten 12 Lebensstunden lag < 0,7 mg/dl (range: < 0,7 mg/dl - 2,9 mg/dl).

Die meisten CRP-Werte lagen unter der unteren Bestimmungsgrenze von 0,7 mg/dl.

Ab dem Alter von 12 Stunden post partum stiegen die CRP-Konzentrationen. Nach 18 Stunden wurden 1,65 mg/dl (range: < 0,7 mg/dl - 7,1 mg/dl) erreicht und 2,35 mg/dl (range: 0,7 - 8,6 mg/dl) nach 24 Stunden, was der maximalen Konzentration entsprach (siehe Abb. 14).

Ab dem zweiten Lebenstag konnte ein Abfall der Werte beobachtet werden.

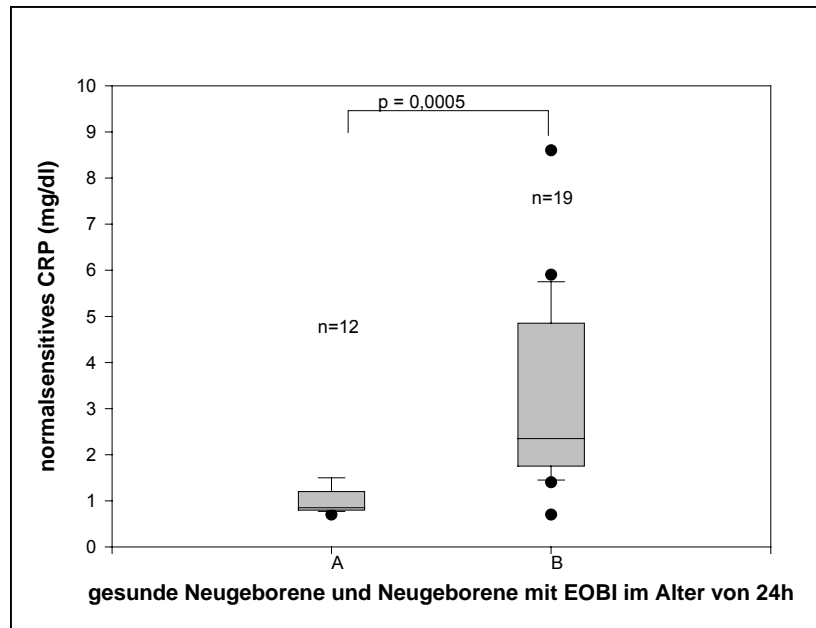


Abb. 14: Vergleich der CRP-Konzentration der gesunden Reifgeborenen (A) und der Reifgeborenen mit EOB (B) im Alter von 24 Stunden (n = Anzahl der Patienten)

Bei den Kindern mit EOB konnte bei der normalsensitiven Betrachtung der CRP-Konzentration sowie bei der Betrachtung der hochsensitiven CRP-Konzentration ab dem Alter von 12 Stunden ein Anstieg der Konzentrationen beobachtet werden. Das Maximum wurde jeweils nach 24 Stunden erreicht, wonach die Werte bei beiden Messgrößen wieder abfielen.

Um feststellen zu können, ob bei den Neugeborenen mit EOB in den ersten Lebensstunden die CRP-Werte, die mit der normalsensitiven Messmethode < 1,0 mg/dl lagen, im hochsensitiven Bereich schon erhöht waren, wurde das hsCRP sowie das normalsensitive CRP jedes Probanden aufgetragen.

Wie in der Abbildung 15 zu erkennen ist, lagen die hsCRP-Werte, für die ein normalsensitives CRP < 0,7 mg/dl gemessen wurde (diese Werte wurden in der Abbildung = 0,69 mg/dl gesetzt), alle im Bereich unter 0,1 mg/dl und unterscheiden sich nicht von den hsCRP-Konzentrationen der gesunden, gleichaltrigen Neugeborenen (siehe Kapitel 3.2.4).

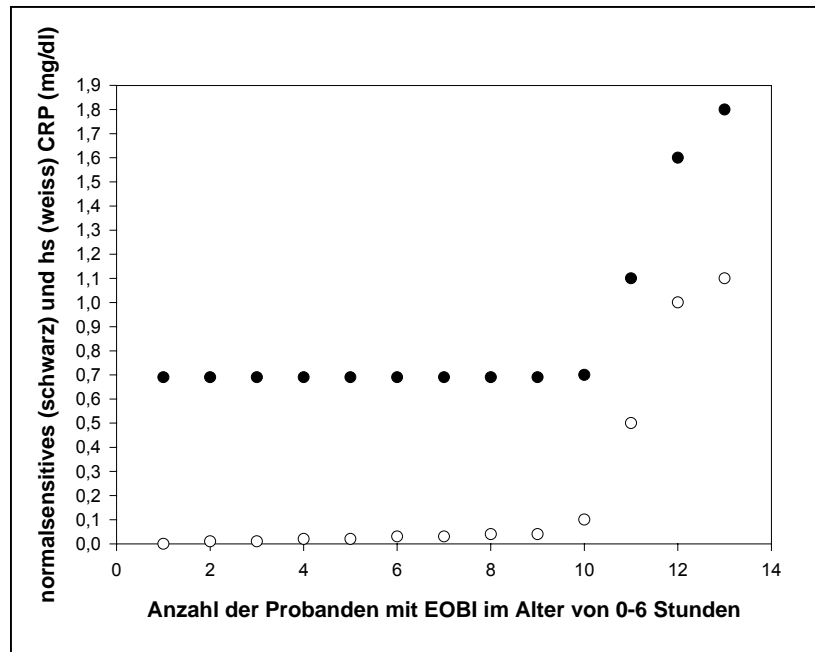


Abb. 15: Vergleich der normalsensitiven und hochsensitiven CRP-Konzentrationen der Neugeborenen mit EOBi 6 Stunden postnatal (die CRP-Werte < 0,7 mg/dl wurden für die Abbildung = 0,69 mg/dl gesetzt)

Daraus folgt:

- Die normalsensitiven CRP-Konzentrationen der Neugeborenen mit EOBi unterlagen einem lebensaltersabhängigen Verlauf.
- Ab dem Lebensalter von 12 Stunden stiegen die CRP-Werte über die cut-off Linie.
- Beim Vergleich der normalsensitiven und hochsensitiven Messmethode ergab die neue Methode keinen Vorteil, da sich die Konzentrationen im hochsensitiven Bereich nicht von denen der gesunden Kinder unterschieden.

b) hsCRP und IL-8

Die gemessenen IL-8-Konzentrationen wurden in den verschiedenen Altersgruppen der gesunden Reifgeborenen und der Reifgeborenen, bei denen eine EOBi diagnostiziert wurde, verglichen.

Die Neugeborenen mit Infektion hatten 6 und 12 Stunden nach der Geburt mit mittleren Werten von 72,5 pg/ml (range: 28 - 137 pg/ml) und 40,0 pg/ml (range: 21 - 168 pg/ml) signifikant höhere Werte als die gesunden Neugeborenen mit mittleren Werten von 28 pg/ml (range: 10 - 100 pg/ml) bzw. 32 pg/ml (range: 10 - 86 pg/ml) (siehe Abb. 16).

Im Alter 18 und 24 Stunden ließ sich kein Unterschied feststellen.

Bei einem cut-off Wert von 60 pg/ml lag nur der Wert kurz nach der Geburt darüber.

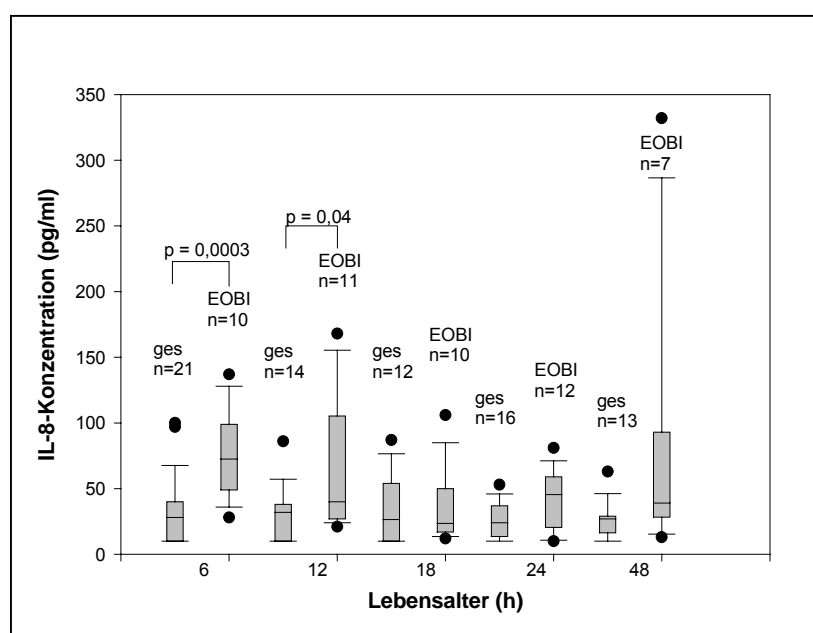


Abb. 16: Vergleich der IL-8-Konzentrationen der gesunden (ges) und kranken (EOBI) Neugeborenen in den ersten 48 Lebensstunden (n = Anzahl der Patienten)

Daraus folgt:

- Obwohl die Neugeborenen mit EOBI in der ersten Hälfte des ersten Lebensstages signifikant höhere Werte für IL-8 hatten als die gesunden, lag der mittlere Wert nur 6 Stunden postnatal über der cut-off Grenze.
- Der Anstieg der IL-8-Konzentration bei den Neugeborenen mit bakterieller Infektion lag 12 Stunden vor dem Anstieg der hsCRP-Konzentration.

c) hsCRP und Leukozytenzahl

Die Leukozytenzahl wurde in den Seren der Neugeborenen ohne und mit EOBI, getrennt nach dem Lebensalter, verglichen.

In keiner der Altersgruppen konnte ein signifikanter Unterschied der Anzahl der weißen Blutkörperchen bestimmt werden.

Daraus folgt:

- Die Leukozytenzahlen der Neugeborenen mit EOBI unterschieden sich nicht von denen der gesunden Neugeborenen.

d) hsCRP und I/T-Quotient

Der I/T-Quotient der Neugeborenen mit diagnostizierter EOBI erreichte in den ersten 2 Lebenstagen Werte von 0,0 - 0,4. Die mittleren Werte blieben in jeder der Altersgruppen unter der cut-off Grenze von 0,2. Kurz nach der Geburt betrug der I/T-Quotient 0,08 (range: 0,01 - 0,3), nach 24 Stunden 0,07 (range: 0,0 - 0,3) und nach 48 Stunden 0,02 (range: 0,0 - 0,3).

Beim Vergleich mit den Werten der gesunden Neugeborenen konnte nur im Alter von 24 Stunden postnatal ein signifikanter Unterschied beobachtet werden.

Daraus folgt:

- Bei nur 5,6% der Neugeborenen mit Infektion lag der I/T-Quotient über der cut-off Grenze.
- Der mittlere Wert des I/T-Quotienten der kranken Kinder unterschied sich im Alter von 24 Stunden postnatal signifikant von dem der gesunden Kinder. Der I/T-Quotient stieg somit 6 Stunden später als das hsCRP an.

3.3 Receiver operator characteristic (ROC)-Kurven

Zur Bestimmung des optimalen cut-off-Wertes und zur besseren Anschaulichkeit der Sensitivitäten der einzelnen Parameter wurden ROC-Kurven erstellt und ausgewertet.

Dazu wurde die Sensitivität auf der y-Achse gegen die falsch-positiven Ergebnisse (1-Spezifität) auf der x-Achse für verschiedene cut-off-Werte aufgetragen. Dem optimalen cut-off-Wert entspricht der Punkt der entstandenen Kurve, der am nächsten der linken oberen Ecke der Abbildung liegt. Bei diesem Wert liegt ein Minimum der falsch-positiven und falsch-negativen Ergebnisse vor.

a) hsCRP

Abhängig vom Infektionsalter wurden unterschiedliche Sensitivitäten und Spezifitäten für das hochsensitive CRP bestimmt und somit auch unterschiedliche cut-off-Werte.

6 Stunden nach Infektionsbeginn lag die Sensitivität bei einem cut-off-Wert von 0,03 mg/dl bei 46%, die Spezifität betrug 66%.

Nach 12 Stunden und bei einem cut-off-Wert von 0,15 mg/dl wurde eine Sensitivität von 50% erreicht mit einer Spezifität von 78%.

Nach 24 Stunden betrug die Sensitivität 95%, die Spezifität 91%. Der ermittelte cut-off-Wert lag bei 0,7 mg/dl (siehe Abb. 17).

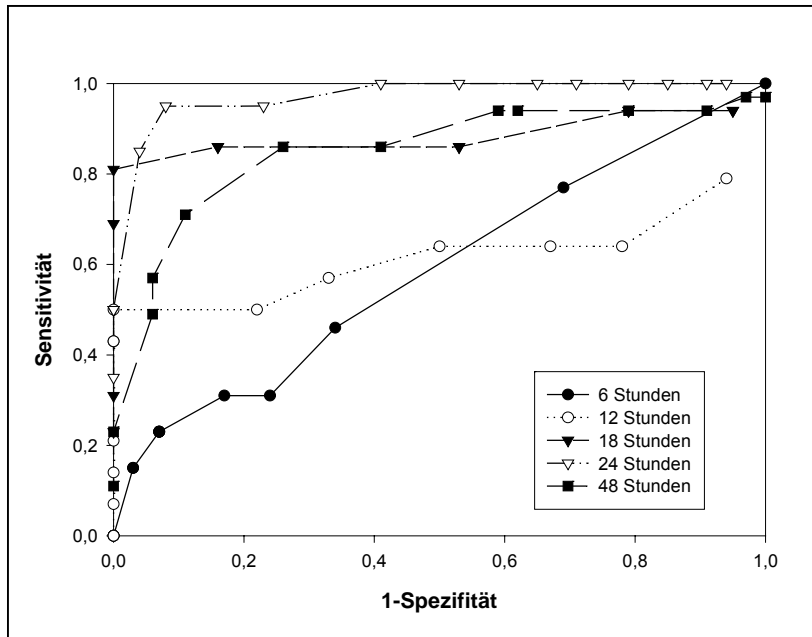


Abb. 17: ROC-Kurven für hsCRP (0,01 mg/dl – 3,0 mg/dl) bei Neugeborenen mit dem Infektionsalter von 6, 12, 18, 24 und 48 Stunden.

b) ROC-Kurven für hsCRP im Vergleich mit den ROC-Kurven der etablierten Parameter

Die ROC-Kurven der verschiedenen Parameter wurden in Abhängigkeit zum Infektionszeitpunkt verglichen.

6 Stunden nach Infektionsbeginn erreichte IL-8 bei einem cut-off Wert von 60 pg/ml die höchste Sensitivität von 60% bei erhaltener Spezifität. Die Sensitivitäten von hsCRP (46%), CRP (23%) und dem I/T-Quotient (8%) lagen darunter (siehe Abb. 18).

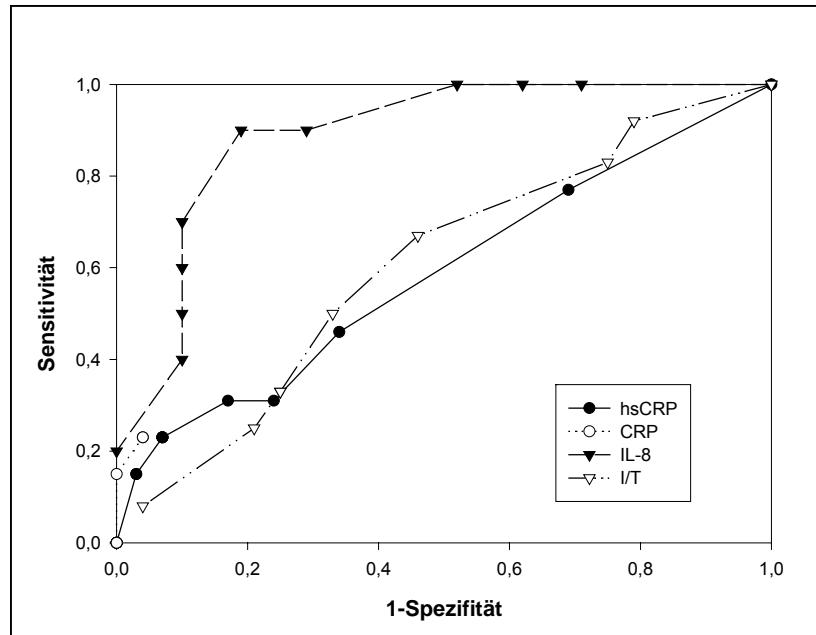


Abb. 18: ROC-Kurven für hsCRP (0,01 mg/dl – 3,0 mg/dl), CRP (0,7 mg/dl – 5,0 mg/dl), IL-8 (10 pg/ml – 100 pg/ml) und I/T-Quotient (0,01 – 0,2) bei Neugeborenen 6 Stunden nach Infektionsbeginn. Für CRP wurden nur 4 Werte über der unteren Messgrenze gemessen, deshalb konnte die Kurve nicht erweitert werden.

24 Stunden nach Infektionsbeginn betrug die Sensitivität für das hsCRP und für das normalsensitive CRP 95% bei Spezifitäten von 92% bzw. 88%. Die Sensitivitäten für IL-8 und I/T-Quotient lagen jeweils darunter (siehe Abb. 19).

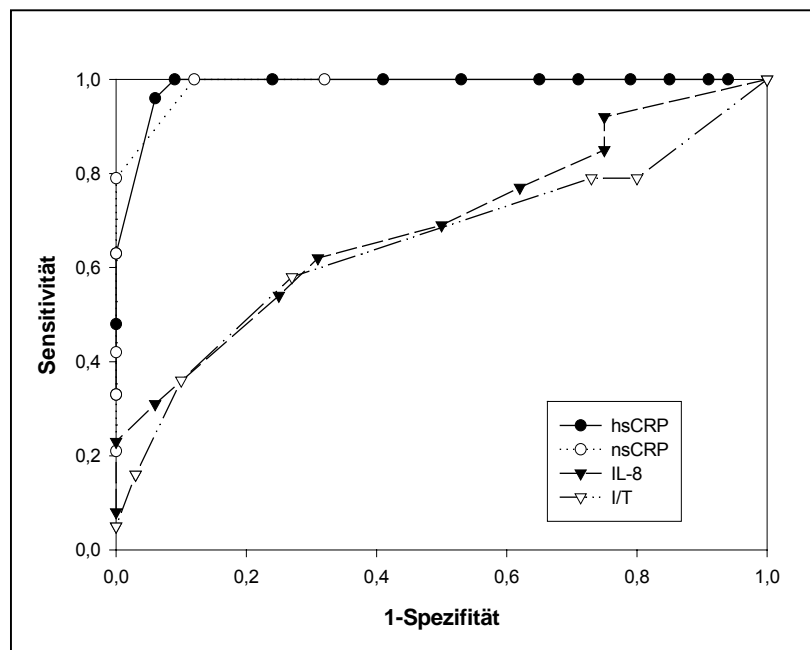


Abb. 19: ROC-Kurven für hsCRP (0,01 mg/dl – 3,0 mg/dl), CRP (0,7 mg/dl – 5,0 mg/dl), IL-8 (10 pg/ml – 100 pg/ml) und I/T-Quotient (0,01 – 0,2) bei Neugeborenen 24 Stunden nach Infektionsbeginn.

3.4 Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer prädiktiver Wert der einzelnen Parameter

Um die Wertigkeit der einzelnen diagnostischen Parameter hsCRP, nsCRP, IL-8 und I/T-Quotient bei der Diagnostik von Infektionen vergleichen zu können, wurden jeweils die Sensitivität, Spezifität sowie der positive und negative prädiktive Wert (PPW, NPW) für 6, 12, 18 und 24 Stunden nach Infektionsbeginn berechnet. Außerdem wurden die exakten 95%-Konfidenzintervalle anhand von binomialen Tabellen bestimmt (siehe Tabellen 8a - d).

Tabelle 8a; (): Exakte 95%-Konfidenzintervalle; *: Kein signifikanter Unterschied

6 Stunden	hsCRP > 0,03 mg/dl	nsCRP > 1,0 mg/dl	IL-8 > 60 pg/ml	I/T ratio ≥ 0,2
Sensitivität	0,46* (0,19 – 0,75)	0,23* (0,05 – 0,54)	0,60 (0,26 – 0,88)	0,08 (0,002 – 0,39)
Spezifität	0,66 (0,46 – 0,82)	0,96 (0,82 – 0,99)	0,90 (0,70 – 0,99)	0,96 (0,79 – 0,99)
PPW	0,25 (0,15 – 0,65)	0,59 (0,19 – 0,99)	0,60 (0,35 – 0,97)	0,50 (0,01 – 0,99)
NPW	0,83 (0,52 – 0,88)	0,83 (0,56 – 0,86)	0,90 (0,61 – 0,95)	0,68 (0,5 – 0,83)

Tabelle 8b

12 Stunden	hsCRP > 0.15 mg/ml	nsCRP > 1,0 mg/dl	IL-8 > 60 pg/ml	I/T ratio ≥ 0.2
Sensitivität	0.50 (0,23-0,77)	0.36 (0,13-0,65)	0.36 (0,09-0,61)	0.08 (0,002-0,36)
Spezifität	0.78 (0,52-0,94)	1.00 (0,82-1,0)	0.93 (0,66-1,0)	0.94 (0,71-1,0)
PPW	0.36 (0,31-0,89)	1.0 (0,48-1,0)	0.56 (0,28-0,85)	0.25 (0,01-0,99)
NPW	0.86 (0,43-0,85)	0.86 (0,46-0,84)	0.85 (0,41-0,85)	0.80 (0,37-0,76)

Tabelle 8c

18 Stunden	hsCRP > 0,70 mg/dl	nsCRP > 1,0 mg/dl	IL-8 > 60 pg/ml	I/T ratio ≥ 0,2
Sensitivität	0,81 (0,54 – 0,96)	0,75 (0,48 – 0,93)	0,20 (0,03 – 0,56)	0,07 (0,02 – 0,32)
Spezifität	1,0 (0,82 – 1,0)	0,95 (0,74 – 1,0)	0,75 (0,43 – 0,95)	1,0 (0,79 – 1,0)
PPW	1,0 (0,75 – 1,0)	0,79 (0,64 – 1,0)	0,17 (0,05 – 0,85)	1,0 (0,95 – 1,0)
NPW	0,95 (0,66 – 0,97)	0,94 (0,60 – 0,95)	0,79 (0,28 – 0,77)	0,81 (0,34 – 0,72)

Tabelle 8d

24 Stunden	HsCRP > 1,0 mg/dL	NsCRP > 10 mg/L	IL-8 > 60 pg/ml	I/T ratio ≥ 0,2
Sensitivität	0,96 (0,79 – 0,99)	1,0 (0,86 – 1,0)	0,23 (0,05 – 0,54)	0,05 (0,01 – 0,26)
Spezifität	0,94 (0,80 – 0,99)	0,88 (0,73 – 0,97)	1,0 (0,79 – 1,0)	1,0 (0,88 – 1,0)
PPW	0,80 (0,74 – 0,99)	0,68 (0,67 – 0,96)	1,0 (0,29 – 1,0)	1,0 (0,99 – 1,0)
NPW	0,99 (0,84 – 0,99)	0,94 (0,88 – 1,0)	0,84 (0,41 – 0,90)	0,63 (0,47 – 0,76)

Daraus folgt:

- 6 Stunden nach Infektionsbeginn zeigte IL-8 die höchste Sensitivität.
- 12 Stunden nach Infektionsbeginn zeigte keiner der Parameter eine zufrieden stellende Sensitivität zur Diagnostik einer EOBI.
- Nach 18 und 24 Stunden stiegen die Sensitivitäten von hsCRP sowie nsCRP bis 96% bzw. 100% bei erhaltener Spezifität.

→ Die diagnostische Lücke zwischen 6 - 18 Stunden nach Infektionsbeginn konnte durch das hochsensitive CRP nicht geschlossen werden.

4. Diskussion

4.1 Determinanten des hsCRP-Verlaufes bei gesunden Neugeborenen

Die Betrachtung der hochsensitiven CRP-Konzentration der gesunden Neugeborenen zeigte einen lebensaltersabhängigen Verlauf. Während die Konzentration kurz nach der Geburt bei 0,03 mg/dl lag, konnte ab der 12. Lebensstunde ein Anstieg beobachtet werden. Sie betrug nach 24 Stunden 0,255 mg/dl. Das Maximum wurde am Ende des dritten Lebenstages mit 0,3 mg/dl erreicht (siehe Abb. 5a und 5b).

Der lebensaltersabhängige Verlauf des CRP sowie die sehr niedrigen Konzentrationen < 1 mg/dl stimmen mit bereits publizierten nicht-hochsensitiven CRP-Kinetiken von gesunden Neugeborenen überein (Marchini et al., 2000, Chiesa et al., 2001, Forrest et al., 1986).

Das C-reaktive Protein ist nicht plazentagängig. Der Grund für den Anstieg des CRP bei gesunden Neugeborenen wird als Antwort auf die postnatale Besiedelung der Schleimhäute mit verschiedenen Keimen diskutiert, als Zeichen der postnatalen Reifung der hepatischen Funktion, sowie als Akut-Phase-Reaktion aufgrund des Geburtsstressses (Jaye et al., 1997, Marchini et al., 2000, Chiesa et al., 2001).

Weiterhin konnte anhand dieser Studie eine Abhängigkeit der hsCRP-Konzentration vom Geburtsgewicht festgestellt werden (siehe Abb. 8). Bei niedrigem Gewicht wurden niedrigere hsCRP-Werte gemessen als bei schwereren Neugeborenen ($p < 0,05$).

Bei hypotrophen Neugeborenen sind die Organe häufig noch nicht ausgereift (Takemura et al., 2003). Da das CRP in der Leber gebildet wird, lassen die

niedrigen hsCRP-Konzentrationen bei den leichten Neugeborenen auf eine geringere Produktion der unreifen Leber schließen (Takemura et al., 2003).

Bei gesunden Frühgeborenen (d. h. Frühgeborene ohne nachgewiesene bakterielle Infektion) lagen die Werte für das hochsensitive CRP unter denen der Reifgeborenen. Dies könnte auf ihr geringeres Geburtsgewicht zurückzuführen sein, sowie auf die Tatsache, dass bei Frühgeborenen die Leber noch nicht ganz ausgereift ist und somit auch nicht voll funktionstüchtig ist. Dies wird in weiteren Studien detaillierter zu untersuchen sein.

Eine Abhängigkeit der hsCRP-Konzentration von anderen Einflussfaktoren (Geschlecht, Risikofaktoren, Geburtsmodus) konnte nicht festgestellt werden (siehe Abb. 6; 7; 9). Andere Autoren beschrieben eine Abhängigkeit der CRP-Konzentrationen vom Zeitpunkt des Blasensprungs, Gestationshypertonie und geburtsbedingtem Stress für das Neugeborene (Ainbender et al., 1982, Chiesa et al., 2004). Diese Einflussfaktoren wurden in unserer Studie nicht systematisch untersucht, trotzdem könnten sie relevant sein bei der Definition von cut-off Werten für das CRP bei der Bestätigung einer EOBI (Chiesa et al., 2004).

CRP-Werte < 1 mg/dl konnten mittels der bisher genutzten Messmethoden nicht exakt bestimmt werden, die Messungen waren nicht linear. Dies hing eventuell damit zusammen, dass in diesem unteren Bereich die Interaktion mit anderen Proteinen zu hoch war (Russell et al., 1992). Wahrscheinlich entstanden aus diesem Grund die weite Spannbreite und die deutlich höheren Referenzwerte (Franz et al., 2001, Buck et al., 1994) für gesunde Reifgeborene als die Werte, die in unserer Studie ermittelt werden konnten. Ebenso wurden weit auseinander liegende Werte für die Sensitivität (47 - 100%) und Spezifität (6 - 97%) für CRP publiziert (Da Silva et al., 1995, Chiesa et al., 2004).

Die Kontrollgruppe dieser Studie repräsentierte keine ideale Population (Reifgeborene ohne Risikofaktoren), da es ethisch nicht zu rechtfertigen wäre, von reifen, unauffälligen Neugeborenen ohne Risikofaktoren in der Anamnese Blut zu wissenschaftlichen Zwecken zu entnehmen. Eine Infektion wurde jedoch

in jedem Fall ausgeschlossen, auch musste keines der Neugeborenen innerhalb der nächsten 4 Wochen mit einer late-onset Infektion wieder aufgenommen werden.

Trotz der nicht idealen Zusammensetzung der Kontrollgruppe könnten die Referenzwerte des hsCRP von gesunden Reifgeborenen, die mittels einer hochsensitiver Latex-Messmethode bestimmt wurden (siehe Kapitel 3.1.4), in der täglichen Routine bedeutsam sein, wenn dieselbe Messmethode angewandt wird.

Diese Methode wird bereits zur Diagnostik von Myokardinfarkten und als Risikomarker für Gefäß- und Herzerkrankungen mit großen Erfolgen eingesetzt (Yamashita et al., 2003, Takahashi, 2002, Ridker, 2001). Roberts et al. untersuchten 9 verschiedene automatische hochsensitive CRP-Messmethoden, darunter auch die in unserer Studie benutzte Latex-Methode der Firma La Roche. Es wurden die unteren Messgrenzen, die Linearität und Präzision und die Vergleichbarkeit untereinander beurteilt. Hierbei erzielten die einzelnen Methoden in allen Kriterien gute Ergebnisse, die Methode der Firma La Roche zeigte keine Ungenauigkeiten auf.

Der lebensaltersabhängige Anstieg des hochsensitiven CRP bedeutet für die Klinik Referenzwerte, die sich je nach Alter des Neugeborenen ändern. Zusätzlich gelten für die Neugeborenen je nach Geburtsgewicht andere Referenzwerte (siehe Kapitel 3.1.4). Diese Tatsachen sind für die tägliche Routine umständlich, da mehrere Faktoren bei der Auswertung der Laborergebnisse berücksichtigt werden müssen.

4.2 Die hsCRP-Konzentration bei Neugeborenen mit Infektion

Auch in dieser Studie ergab sich das Problem, eine early-onset Infektion zu definieren. Nur 4 Patienten hatten eine positive Blutkultur (4 von 106 Patienten, 3,8%, siehe Tabelle 7). Die Ursache hierfür könnten zum Beispiel mütterliche Antibiotikatherapien vor und während der Geburt sein, welche das Ergebnis

einer Blutkultur beim Neugeborenen verfälschen können. Außerdem wurden jeweils nur geringe Blutmengen bei den Kindern entnommen. Die Beobachtung, dass nur bei wenigen der Probanden eine positive Blutkultur gefunden werden konnte, steht im Einklang mit bereits veröffentlichten Studien (Pourcyrus et al., 1993, Gerdes et al., 1987, Buck et al., 1994). Die Sensitivität einer Blutkultur ist niedrig, sie hängt ab von der Anzahl der abgenommenen Kulturen, vom Zeitpunkt der Abnahme (da Neugeborene selten Fieber entwickeln, ist die Wahl des Abnahmezeitpunkts oft erschwert), sowie vom Blutvolumen, welches beim Neugeborenen meist gering ist.

Wie in zahlreichen anderen Studien (Franz et al., 1999, Ottolini et al., 2003, Buttery, 2002) wurden die meisten der Patienten in unserer EOBI-Gruppe durch den klinischen Aspekt als krank eingestuft, d. h. mindestens ein klinisches Symptom sowie erhöhte Infektionsparameter in den Laborergebnissen mussten vorhanden sein (siehe Kapitel 2.1.2). Trotz der Tatsache, dass diese klinische Entscheidung immer von erfahrenen Neonatologen getroffen wurde, sind wir uns bewusst, dass aufgrund dieser Methode der Vergleich der Ergebnisse mit anderen Studien eingeschränkt ist, wenn man die Heterogenität der Patienten bedenkt.

Die Neugeborenen mit neonataler bakterieller Infektion hatten kurz nach der Geburt sehr niedrige hsCRP-Konzentrationen (0,03 mg/dl). Diese stiegen jedoch ab einem Lebensalter von 12 Stunden an und erreichten nach 24 Stunden ein Maximum von 2,15 mg/dl.

Der Verlauf des hochsensitiven CRP entsprach dem der gesunden Neugeborenen, die Konzentrationen der kranken Kinder stiegen jedoch viel stärker an und waren ab 12 Stunden post partum signifikant höher.

Nach 24 Stunden erreichten die Kinder mit EOBI 10fach höhere Konzentrationen als die Kinder ohne EOBI.

Dieser Unterschied in der hsCRP-Konzentration konnte bis zum 3. Lebenstag beobachtet werden. Danach näherten sich die Werte der Neugeborenen mit Infektion denen der gesunden Neugeborenen an. Dies könnte in Anbetracht der

Halbwertszeit des CRP von 21 Stunden auf die antibiotische Therapie zurückzuführen sein (Ehl et al., 1999).

Die hsCRP-Konzentrationen waren nicht abhängig vom Geschlecht bzw. vom Vorhandensein von Risikofaktoren. Die Werte stiegen in allen Gruppen gleichermaßen an und wiesen somit auf eine Infektion hin.

In der Literatur wird darauf hingewiesen, dass Frühgeborene sowie hypotrophe Neugeborene aufgrund ihrer nicht ausgereiften Leber nur in geringem Maße CRP synthetisieren können (Takemura et al., 2003). Auch in unserer Studie hatten die Frühgeborenen ohne bakterielle Infektion niedrigere hsCRP-Konzentrationen als die gesunden Reifgeborenen. Diese Tatsache könnte dazu führen, dass unreife Neugeborene mit EOBI eventuell nur so wenig CRP produzieren können, dass sie auch 24 Stunden nach Infektionsbeginn ein falsch negatives nsCRP im Labor aufweisen. In der vorliegenden Arbeit wurden keine Werte von Frühgeborenen mit EOBI untersucht. Hier könnten anhand des hochsensitiven CRPs geringere Anstiege und Änderungen der CRP-Kinetik zu sehen sein. Dies wird in folgenden Studien zu prüfen sein.

4.3 Wertstellung des hsCRP als diagnostischer Parameter

Bei der Diagnosestellung einer EOBI wird unter den Laborparametern hauptsächlich auf das IL-8, den I/T-Quotienten, die Leukozytenzahl und das normalsensitive CRP vertraut. Diese Parameter weisen jedoch in ihrer Aussagekraft häufig Lücken auf.

Das Interleukin-8 als frühzeitiger Parameter zeigt sich meist schon beim ersten Infektionsverdacht erhöht und liegt mit seinem Anstieg somit 12 - 24 Stunden vor dem nsCRP (Franz et al., 2001). Diese Beobachtung konnte anhand dieser Studie bestätigt werden. Der IL-8-Peak lag 12 Stunden vor dem des hsCRP und zeigte 6 Stunden nach dem ersten Infektionsverdacht die höchste Sensitivität von 60% bei einer Spezifität von 90%. Das hochsensitive CRP erreichte ebenso

wie das nsCRP zu diesem Zeitpunkt eine schlechtere Sensitivität und hinkte dem IL-8 zeitlich hinterher.

Die bereits publizierten Studien weisen jedoch auf die kurze Halbwertszeit des IL-8 hin (Franz et al., 1995). Auch in der vorliegenden Untersuchung lag bei den Neugeborenen mit EOBI der IL-8-Wert nur in den ersten 6 Stunden nach Infektionsverdacht über der cut-off-Grenze, danach fielen die Werte rasch wieder ab. Bei Blutentnahmen zu einem späteren Zeitpunkt wurden somit falsch negative Werte gemessen. 12 bzw. 24 Stunden nach dem ersten Infektionsverdacht erreichte das IL-8 nur noch eine Sensitivität von 36% bzw. 20%. Eine deutliche Verbesserung hierzu zeigten Orlikowsky et al. 2004. In dieser Studie wurde das IL-8 in lysiertem Vollblut bestimmt, es erreichte bereits 6 Stunden nach Infektionsverdacht eine höhere Sensitivität gegenüber dem im Plasma bestimmten Anteil des IL-8 und blieb außerdem über 24 Stunden erhöht. In dieser Studie konnte somit anhand einer neuen Meßmethode des IL-8 die Lücke in der Infektionsdiagnostik geschlossen werden. Zur Verlaufskontrolle und um falsch negative Ergebnisse bei Messungen späteren Zeitpunktes zu vermeiden sollte jedoch auch dieser Parameter mit der CRP-Bestimmung gekoppelt werden.

Im Einklang mit bereits publizierten Studien (Messer et al., 1996) konnten in dieser Studie nur bei wenigen der erkrankten Neugeborenen erhöhte I/T-Quotienten gemessen werden. Lediglich 5,6% der Kinder hatten eine I/T-Ratio über der cut-off-Grenze von 0,2. Kurz nach Infektionsverdacht wurde eine Sensitivität von 8% bestimmt, nach 24 Stunden wurden nur noch 5% erreicht. Somit war dieser Laborwert bei der Diagnostik einer Infektion nicht hilfreich.

Bei einer early-onset Infektion kommt es oft zu einer Leukozytopenie (Berger et al., 1995). Die Interpretation der Leukozytenzahl bei der Diagnostik einer Infektion ist häufig schwierig, zusätzlich kann es zu Problemen bei der Differenzierung der Leukozyten kommen, welche mikroskopisch vonstatten geht (Kunz und Kohse, 2002).

Die Kinetik der Leukozyten zeigte in dieser Untersuchung keine Veränderung bei den Neugeborenen mit EOBI, es konnte keine Leukozytopenie beobachtet werden. Auch im Vergleich zu den gesunden Kindern unterschieden sich die Werte nicht, so dass auch dieser Parameter bei der Diagnostik einer Infektion nicht hilfreich war (siehe Kapitel 3.2.5).

Einer der zuverlässigsten und am häufigsten bestimmten Messgrößen in der Infektionsdiagnostik zur Bestätigung einer Infektion ist das C-reaktive Protein. Laut bereits publizierter Studien besitzt es eine hohe Spezifität, die Sensitivität steigt an von 40% bei Infektionsverdacht auf 92,9% nach 24 Stunden (Chiesa et al., 2001, Franz et al., 2001, Benitz et al., 1999). Aufgrund des verzögerten Anstieges 12 - 36 Stunden nach dem ersten Infektionsverdacht eignet sich das normalsensitive CRP nicht zur Früherkennung (Franz et al., 2001).

Die Ergebnisse dieser Untersuchung ergaben einen CRP-Anstieg ab 12 Stunden nach Infektionsverdacht, nach 18 Stunden wurde eine Sensitivität von 75% erreicht bei einer Spezifität von 95%, nach 24 Stunden 100% bzw. 88%. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den oben erwähnten publizierten Daten.

Für das hochsensitive C-reaktive Protein konnten mittels ROC-Kurven unterschiedliche cut-off Werte ermittelt werden (kurz nach Infektionsverdacht 0,03 mg/dl, nach 12 Stunden 0,15 mg/dl, nach 18 Stunden 0,7 mg/dl, nach 24 Stunden 1 mg/dl; siehe Abb. 17).

6 Stunden nach Infektionsverdacht betrug die Sensitivität des hsCRP 46% bei einer Spezifität von 66%. Nach 18 Stunden war die Sensitivität auf 81% angestiegen, nach 24 Stunden auf 96%. Die Spezifität lag bei 100% bzw. 94%. Eine hohe Aussagekraft für die Diagnose einer Infektion hat die Sensitivität. Bis 12 Stunden nach dem ersten Infektionsverdacht war diese nicht zufrieden stellend, stieg dann jedoch an und erreichte nach 18 Stunden 81% und nach 24 Stunden hervorragende 96%, bei immer erhaltener Spezifität (siehe Abb. 17; Tabellen 7a-d).

Somit eignete sich das hsCRP nicht zur Früherkennung einer bakteriellen Infektion bei Neugeborenen, jedoch sehr wohl zur Diagnosestellung ab 18 Infektionsstunden.

Der negative prädiktive Wert (die Wahrscheinlichkeit, dass keine Infektion vorliegt, wenn die hsCRP-Konzentration unter der cut-off-Grenze liegt) lag bereits in den ersten Stunden nach Infektionsverdacht bei 83% und stieg an, bis er nach 24 Stunden 99% erreichte. Diese Ergebnisse wurden bereits für das nsCRP in schon publizierten Werken aufgezeigt (Hengst, 2003, Ng et al., 2003). Die Beeinflussung des Geburtsgewichtes auf die hsCRP-Konzentration zeigte keine negativen Auswirkungen auf den Anstieg der Messgröße im Rahmen einer Infektion. Auch bei den leichteren Neugeborenen stieg das hsCRP bei Vorliegen einer Infektion an. Da keine Frühgeborenen mit bakterieller Infektion in die Studie aufgenommen wurden, wird in der Zukunft noch zu prüfen sein, ob hier eine negative Beeinflussung vorliegt.

Somit bleibt das IL-8 dem hsCRP für die frühe Diagnostik einer EOBI aufgrund höherer Sensitivität in den ersten Infektionsstunden überlegen. Auch gegenüber dem normalsensitiven CRP scheint das hsCRP trotz der niedrigeren cut-off-Werte keine zeitlichen Vorteile zu besitzen. Die für das hsCRP ermittelte Sensitivität stimmt mit der in der Literatur angegebenen Sensitivität für CRP überein.

Aufgrund seiner sehr hohen Spezifität und dem guten negativem Vorhersagewert kann das hsCRP jedoch bei erhöhter Konzentration schon kurz nach der Geburt für die Diagnose einer Infektion hilfreich sein.

4.4 Das hsCRP als Verlaufsparemeter

Im Laufe des zweiten Lebensstages konnte bei den Neugeborenen mit EOBI ein Absinken der hsCRP-Werte beobachtet werden, in den folgenden 72 Stunden verblieben sie dann auf einem Plateau.

Da mit der Antibiotikatherapie meist am Ende des ersten Lebensstages begonnen wurde (siehe Kapitel 3.2.1), könnte dieser Abfall der hsCRP-Konzentration auf eine erfolgreiche antibiotische Therapie zurückzuführen sein. Jaye et al. Berichten über ein rasches Absinken des CRP nach Therapiebeginn aufgrund der relativ kurzen Halbwertszeit von 4 - 7 Stunden. Dies stimmt mit unserer Beobachtung überein.

Deshalb bietet sich das hsCRP als Verlaufsparemeter an. Die Konzentrationen bleiben erhöht bei anhaltender Infektion und zeigen ein Anschlagen der Antibiotikatherapie durch rasches Absinken der Werte an.

4.5 Ausblick: Anwendung des hsCRP als diagnostischer Parameter

Die Diagnostik einer bakteriellen Infektion bei Neugeborenen wirft häufig Probleme auf.

Das Interleukin-8 ist ein sehr frühzeitig pathologischer „ad hoc“ Laborparameter (Franz et al., 1999 und 2001). Es ist bei Beginn der Infektion schon erhöht und sinkt sehr schnell wieder ab. Bei auffälliger Klinik eines Neugeborenen ist es meist schon wieder im Normbereich (Franz et al., 1995, Orlikowsky et al., 2004). Zu diesem Zeitpunkt ist das CRP noch nicht angestiegen, so dass sich mit Hilfe dieser zwei wichtigen Laborparameter eine diagnostische Lücke ergibt und es bei einer Blutentnahme in diesem Zeitraum zu einem falsch negativen Testergebnis kommt. Ein Ziel der Untersuchung war, zu überprüfen, ob diese Lücke anhand des hochsensitiven CRP geschlossen werden kann. Es wurde dargestellt, dass das CRP im hochsensitiven Bereich keine Vorteile gegenüber dem normalsensitiven CRP besaß. Erst wenn dieses auf pathologische Werte anstieg, konnten auch beim hsCRP erhöhten Werte gemessen werden. Die Sensitivität erreichte bis 18 Stunden nach Infektionsverdacht keine zufriedenstellenden Werte (siehe Abb. 17). Dies bedeutet, dass mittels des hochsensitiven CRP in den ersten 18 Stunden einer EOBI nur ein geringer Prozentsatz der Neugeborenen diagnostiziert werden konnte. Das Ziel, einen

frühen Marker einer bakteriellen Infektion zu finden, um möglichst früh mit einer antibiotischen Therapie beginnen zu können, konnte nicht erreicht werden.

Somit zeigte unsere Untersuchung, dass durch das hsCRP bei der Diagnosestellung einer EOBI keine Zeit zu gewinnen war, es eignete sich aber ab der zweiten Hälfte des ersten Lebensstages als diagnostischer Parameter.

Die hohe Spezifität und der hohe negative Vorhersagewert ließen bei schon kurz nach der Geburt erhöhten hsCRP-Konzentrationen die Aussage zu, dass eine Infektion vorliegen musste. Aufgrund der geringen Blutmenge, die zur hsCRP-Bestimmung benötigt wird und des kostengünstigen Verfahrens sollte über eine Eingliederung der hsCRP-Bestimmung in die Routinediagnostik nachgedacht werden.

5. Zusammenfassung

Das C-reaktive Protein (CRP) ist ein in der Leber gebildetes Akut-Phase-Protein. Es wird nach Stimulation durch IL-6, TNF- α und IL-1 gebildet. Der hauptsächliche Grund seiner Produktion beim Neugeborenen sind bakterielle Infektionen.

Die in der Routinediagnostik verwendete Messmethode für das CRP hat eine untere Messgrenze von 0,7 mg/dl.

Ziel der Arbeit war es, bei Neugeborenen mit einer early-onset Infektion mittels einer hochsensitiven Bestimmungsmethode die Kinetik des CRP im Bereich unter dieser Messgrenze zu untersuchen und die Wertstellung des hsCRP bei der Infektionsdiagnostik zu prüfen. Außerdem sollten detaillierte Referenzwerte mit Hilfe einer Kontrollgruppe (reife Neugeborene ohne Infektion) ermittelt werden. Eine etwaige Beeinflussung von verschiedenen Größen (Geschlecht, Vorhandensein von Risikofaktoren, Geburtsmodus, Gestationsalter und Geburtsgewicht) auf das hochsensitive CRP (hsCRP) sollte zusätzlich geprüft werden.

Die Bestimmung des hochsensitiven CRP erfolgte vollautomatisch mit einem immunologischen Trübungstest am Hitachi 902 der Firma La Roche, Mannheim, Deutschland.

Anhand der Kontrollgruppe mit den Neugeborenen ohne Infektion konnten alters- und geburtsgewichtsabhängige Referenzwerte erstellt werden. Das hsCRP zeigte einen lebensaltersabhängigen Verlauf, die Werte stiegen ab 12 Stunden postnatal an, erreichten am dritten Lebenstag ihr Maximum und verblieben dann auf einem Plateau. Es konnte eine Beeinflussung des Geburtsgewichtes auf die hsCRP-Konzentration festgestellt werden. Je niedriger das Gewicht war mit dem die Neugeborenen zur Welt kamen, desto niedrigere Werte wurden gemessen.

Bei den Frühgeborenen ohne bakterielle Infektion wurden am dritten Lebenstag signifikant niedrigere hsCRP-Konzentrationen gemessen als bei den Reifgeborenen. Die Begründung hierfür könnte in ihrem geringeren Geburtsgewicht liegen, sowie in der Tatsache, dass bei Frühgeborenen die Leber noch nicht ausgereift ist und somit weniger CRP produziert werden kann.

Geschlecht, Risikofaktoren und Geburtsmodus zeigten in der Kontrollgruppe keinen Einfluss auf die hsCRP-Konzentrationen.

Bei vorhandener neonataler Infektion lagen die Werte des hochsensitiven CRP in den ersten 12 Lebensstunden sehr niedrig ($\leq 0,2$ mg/dl). Der Anstieg erfolgte ab der 12. Stunde postnatal, am Ende des ersten Lebenstages wurde die höchste hsCRP-Konzentration gemessen, sie betrug das 10fache des Wertes der gesunden Kinder.

Am zweiten Lebenstag sanken die Werte wieder ab und verblieben dann über 72 Stunden auf einem Plateau. Die Ursache des Absinkens könnte der Beginn der Antibiotikatherapie gewesen sein, mit der meist am Ende des ersten Lebenstages begonnen worden war.

In Beziehung zum Infektionsbeginn lag der Anstieg des hochsensitiven CRP mit dem des normalsensitiven CRP zusammen. Bei beiden Parametern konnten erst 18 Stunden nach Infektionsbeginn erhöhte Levels gemessen werden.

Das IL-8 zeigte bei den erkrankten Kindern bereits kurz nach Infektionsbeginn erhöhte Werte. Dieser Parameter lag mit seinem Anstieg also zeitlich vor dem des hochsensitiven und normalsensitiven CRP.

Analog hierzu betrug die ermittelte Sensitivität für das hsCRP 12 Stunden nach Infektionsbeginn 50% (Spezifität 78%), stieg an auf 81% nach 18 Stunden (Spezifität 100%) und erreichte 96% nach 24 Stunden bei einer Spezifität von 94%.

Kurz nach Infektionsbeginn wurde für das IL-8 bei einer Spezifität von 90% eine Sensitivität von 60% bestimmt, während das hsCRP und das nsCRP nur eine Sensitivität von 46% bzw. 23% erreichten. Somit bleibt das IL-8 dem hsCRP in

der frühzeitigen Infektionsdiagnostik überlegen. Die diagnostische Lücke 12 Stunden nach Infektionsbeginn, die bei bereits erniedrigtem IL-8 und noch nicht erhöhtem normalsensitiven CRP entstand, konnte mit Hilfe des hochsensitiven CRP nicht geschlossen werden.

Das hsCRP erreichte ebenso wie das nsCRP zu jedem Zeitpunkt hohe negative prädiktive Werte (NPW) über 80%.

Aufgrund der guten Spezifität konnte bei erhöhten hsCRP-Konzentrationen über den cut-off point fast immer auf eine bakterielle Infektion geschlossen werden. Mit der hochsensitiven Bestimmungsmethode konnten trotz der niedrigeren cut-off Werte gegenüber dem normalen CRP keine besseren Sensitivitäten oder Spezifitäten ermittelt werden. Es ergaben sich keine Vorteile in der Infektionsdiagnostik, es konnten keine früheren CRP-Anstiege gemessen werden.

In der Verlaufsdagnostik könnte man das hsCRP einsetzen. Die Werte blieben bei anhaltender Infektion erhöht und sanken einige Stunden nach antibiotischem Therapiebeginn.

Das hochsensitive CRP bleibt in der Diagnostik einer EOBI dem IL-8 als frühzeitiger Parameter unterlegen. Gegenüber dem nsCRP zeigte es ebenfalls keine Vorteile. Die hsCRP-Werte blieben niedrig bis 18 Stunden nach Infektionsbeginn, als auch ein CRP-Anstieg mit der normalsensitiven Messmethode beobachtet werden konnte.

Literaturverzeichnis

- Ainbender, E., Cabatu, E.E., Guzman, D.M., Sweet, A.Y. (1982): Serum C-reactive protein and problems of newborn infants. *J. Pediatr.* 101, 438-440
- Ballou, S.P., Kushner, I. (1992): C-reactive protein and the acute phase response. *Adv. Int. Med.* 37, 313-336
- Bartels, H., Lust, F., Pfaundler, M. (1997): *Pädiatrische Diagnostik und Therapie*. 29. Aufl. Urban und Schwarzenberg, München
- Benitz, W.E., Han, M.Y., Madan, A., Ramachandra, P. (1998): Serial Serum C-Reactive Protein Levels in the Diagnosis of Neonatal Infection. *Pediatrics* 102, E41
- Berger, C., Uehlinger, J., Ghelfi, D., Blau, N., Fanconi, S. (1995): Comparison of C-reactive protein and white blood cell count with differential in neonates at risk for septicaemia. *Eur. J. Pediatr.* 154, 138-144
- Berner, R., Niemeyer, C. M., Leititis, J.U., Funke, A., Schwab, C., Rau, U., Richter, K., Tawfeek, M.S.K., Clad, A., Brandis, M. (1998): Plasma Levels and Gene Expression of Granulocyte Colony-Stimulating Factor, Tumor Necrosis Factor-alpha, Interleukin (IL)-1beta, IL-6, IL-8, and Soluble Intercellular Adhesion Molecule-1 in Neonatal Early Onset Sepsis. *Pediatr. Res.* 44, 469-477
- Bonac, B., Derganc, M., Wraber, B., Hojker, S. (2000): Interleukin-8 and procalcitonin in early diagnosis of early severe bacterial infection in critically ill neonates. *Pflügers Arch.* 440, 72-74
- Borque, L., Bellod, L., Rus, A., Seco, M.L., Galisteo-Gonzalez, F. (2000): Development and validation of an automated and ultrasensitive immunoturbidimetric assay for C-reactive protein. *Clin. Chem.* 46, 1839-1842
- Buck, C., Bundschu, J., Gallati, H., Bartmann, P., Pohlandt, F. (1994): Interleukin-6: A Sensitive Parameter for the Early Diagnosis of Neonatal Bacterial Infection. *Pediatrics* 93, 54-58
- Buttery, J.P. (2002): Blood cultures in newborn and children: optimising an everyday test. *Arch. Dis. Child. Fetal. Neonatal. Ed* 87, 25-28
- Cairo, M.S. (1991): Cytokines: a new immunotherapy. *Clin. Perinatol.* 18, 343-359
- Castell, J.V., Gomez-Lechon, M.J., David, M., Andus, T., Geiger, T., Trullenque, R., Fabra, R., Heinrich, P.C. (1989): Interleukin-6 is the major regulator of acute phase protein synthesis in adult human hepatocytes. *FEB* 242, 237-239

Castell, J.V., Gomez-Lechon, M.J., David, M., Hirano, T., Kishimoto, T., Heinrich, P.C. (1988): Recombinant human interleukin-6 regulates the synthesis of acute phase proteins in human hepatocytes. *FEBS Lett.* 232, 347-350

Chiesa, C., Panero, A., Osborn, J.F., Simonetti, A.F., Pacifico, L. (2004): Diagnosis of neonatal sepsis: a clinical and laboratory challenge. *Clin. Chem.* 50, 279-287

Chiesa, C., Signore, F., Assumma, M., Buffone, E., Tramontozzi, P., Osborn, J.F., Pacifico, L. (2001): Serial Measurements of C-Reactive Protein and Interleukin-6 in the Immediate Postnatal Period: Reference Intervals and Analysis of Maternal and Perinatal Confounders. *Clin. Chem* 47, 1016-1022

Christensen, R.D., Rothenstein G. (1980): Exhaustion of mature marrow neutrophils in neonates with sepsis. *J. Pediatr.* 96, 316-318

Da Silva, O., Ohlsson, A., Kenyon, C. (1995): Accuracy of leukocyte indices and C-reactive protein for diagnosis of neonatal sepsis: a critical review. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 14, 362-366

Eda, S., Kaufmann, J., Roos, W., Pohl, S. (1998): Development of a new microparticle- enhanced turbidimetric assay for C-reactive protein with superior features in analytical sensitivity and dynamic range. *J. Clin. Lab. Anal.* 12, 137-144

Ehl, S., Gering, B., Bartmann, P., Hogel, J., Pohlandt, F. (1997): C-reactive protein is a useful marker for guiding duration of antibiotic therapy in suspected neonatal bacterial infection. *Pediatrics* 99, 216-221

Ehl, S., Gehring, B., Pohlandt, F. (1999): A detailed analysis of changes in serum C-reactive protein levels in neonates treated for bacterial infections. *Eur. J. Pediatr.* 158(3): 238-242

Escobar, G.J. (2003): Effect of the systemic inflammatory response on biochemical markers of neonatal bacterial infection: a fresh look at old confounders. *Clin. Chem.* 49, 21-22

Forrest, J.C., Lariviere, R., Dolce, P., Masson, M., Nadeau, L. (1986): C-reactive protein as biochemical indicator of bacterial infection in neonates. *Clin. Biochem.* 19, 192-194

Franz, A.R., Kron, M., Pohlandt, F., Steinbach, G. (1999): Comparison of procalcitonin with interleukin 8, C-reactive protein and differential white blood cell count for the early diagnosis of bacterial infections in newborn infants. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 18, 666-671

Franz, A.R., Steinbach, G., Kron, M., Pohlandt, F. (1999): Reduction of Unnecessary Antibiotic Therapy in Newborn Infants Using Interleukin-8 and C-Reactive Protein as Markers of Bacterial Infections. *Pediatrics* 104, 447-452

Franz, A.R., Steinbach, G., Kron, M., Pohlandt, F. (2001): Interleukin-8: a valuable tool to restrict antibiotic therapy in newborn infants. *Acta Paediatr.* 90, 1025-1032

Freedman, R.M., Ingram, D.L., Gross, I. (1981): A half century of neonatal sepsis at Yale. *Am. J. Dis. Child.* 135, 140-144

Galanakis, E., Krallis, N., Levidiotou, S., Hotoura, E., Andronikou, S. (2002): Neonatal bacteraemia: a population-based study. *Scand. J. Infect. Dis.* 34, 598-601

Gerdes, J.S. (1991): Clinicopathologic approach to the diagnosis of neonatal sepsis. *Clin. Perinatol* 18, 361-381

Gerdes, J.S., Polin, R.A. (1987): Sepsis screen in neonates with evaluation of plasma fibronectin. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 6, 443-446

Greiling, H., Gressner, A.M. (1994): *Lehrbuch der Klinischen Chemie*. 3. Aufl. Schattauer, Stuttgart, New York

Hengst, J.M., (2003): The role of C-reactive protein in the evaluation and management of infants with suspected sepsis. *Adv Neonatal Care* 3, 3-13

Jaye, D.L., Waites, K.B. (1997): Clinical applications of C-reactive protein in pediatrics. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 16, 735-747

Jeffrey, H., Mitchinson, R., Wigglesworth, J.S., Davies, P.A. (1987): Early neonatal bacteraemia. 52, 683-686

Kaftan, H., Kinney, J.S. (1998): Early onset neonatal bacterial infections. *Semin. Perinatol.* 22, 15-24

Klein, J.O., Marcy, M.S. (1995): Bacterial sepsis and meningitis, 835-890 in: Remington, J.S., Klein, J.O.: *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*: 4. Aufl., Saunders, W.B., Philadelphia

Korbage de Araujo, M.C., Schultz, R., do Rosario Dias de Oliveira, L., Ramos, J.L., Vaz, F.A. (1999): A risk factor for early-onset infection in premature newborns: invasion of chorioamniotic tissues by leucocytes. *Early Hum. Dev.* 56, 1-15

Kotecha, S., Chan, B., Azam, N., Silverman, M., Shaw, R.J. (1995): Increase in interleukin-8 and soluble intercellular adhesion molecule-1 in bronchoalveolar lavage fluid from premature infants who develop chronic lung disease. *Arch. Dis. Child.* 72, F90-96

Krueger, M., Nauck, M., Sang, S., Hentschel, R., Wieland, H., Berner, R. (2001): Cord Blood Levels of Interleukin-6 and Interleukin-8 for the Immediate Diagnosis of Early-Onset Infection in Premature Infants. *Biol. Neonate* 80, 118-123

Kunz, D., Kohse, K.P. (2002): Entzündungsdiagnostik in der Pädiatrie. *J. Lab. Med.* 26, 335-340

Kushner, I., Swet, A.Y., Yen-Watson, B., Ribich, W.N., Merk, J. (1973): Significance of C-reactive protein (CRP) in cord blood. *Pediatr. Res.* 7, 403
Lagercrantz, H., Slotkin, T.A. (1986): The stress of being born. *Sci. Am.* 254, 100-107

Lapillone, A., Basson, E., Monneret, G., Bienvenu, J., Salle, B.S. (1998) : Lack of specificity of procalcitonin for sepsis diagnosis in premature infants. *Lancet* 351, 1211-1212

Ledue, T.B., Weiner, D.L., Sipe, J., Poulin, S.E., Collins, M.F., Rifai, N. (1998): Analytical evaluation of particle-enhanced immunonephelometric assays for C-reactive protein, serum amyloid A and mannose binding protein in human serum. *Ann. Clin. Biochem.* 35, 745-753

Levy, O., Sisson, R.B., Kenyon, J., Eichenwald, E., Maccone, A.B., Goldmann, D. (2000): Enhancement of neonatal innate defense: effects of adding an N-terminal recombinant fragment of bactericidal/permeability-increasing protein on growth and tumor necrosis factor-inducing activity of gram-negative bacteria tested in neonatal cord blood ex vivo. *Infect. Immun.* 68, 5120-5125

Lewis, D.B., Wilson C.B. (1995): Developmental immunology and role of host defenses in neonatal susceptibility to infection, 20-99 in: Remington J.S., Klein, J.O.: *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*; 4. Aufl., Saunders, W.B., Philadelphia

Macy, E.M., Hayes, T.E., Tracy, R.P. (1997): Variability in the measurement of C-reactive protein in healthy subjects: implications for reference intervals and epidemiological applications. *Clin. Chem.* 43, 52-58

Manroe, B.L., Weinberg, A.G., Rosenfield, C.R. Browne, R. (1979): The neonatal blood count in health and disease. 1. Reference values for neutrophilic cells. *J. Pediatr.* 95, 98-98

Marchini, G., Berggren, V., Djilali-Merzoug, R., Hansson, L.-O. (2000): The birth process initiates an acute phase reaction in the fetus-newborn infant. *Acta Paediatr.* 89, 1082-1086

Martich, G.D., Danner, R.L., Ceska, M., Suffredini, A.F. (1991): Detection of interleukin 8 and tumor necrosis factor in normal humans after intravenous endotoxin: the effect of anti-inflammatory agents. *J. Exp. Med.* 173, 1021-1024

Mathers, N.J., Pohlandt, F. (1987): Diagnostic audit of C-reactive protein in neonatal infection. *Eur. J. Pediatr.* 146, 147-151

Messer, J., Eyer, D., Donato, L., Gallati, H., Matis, J., Simeoni, U. (1996): Evaluation of interleukin-6 and soluble receptors of tumor necrosis factor for early diagnosis of neonatal infection. *J. Pediatr.* 129, 574-580

Ng, P.C. (2004): Diagnostic markers of infection in Neonates. *Arch. Dis. Child. Neonatol. ED* 89, 229-235

Ng, P.C., Li, K., Wong, R.P. (2003): Proinflammatory and antiinflammatory cytokine responses in preterm infants with systemic infections. *Arch. Dis. Child. Fetal. Neonatal. ED* 88, 209-213

Ohlsson, A., Vearncombe, M. (1987): Congenital and nosocomial sepsis in infants born in a regional perinatal unit: cause, outcome, and white blood cell response. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 156, 407-413

Orlikowsky, T.W., Neunhoeffler, F., Goelz, R., Eichner, M., Henkel, Ch., Zwirner, M., Poets, C.F. (2004): Evaluation of IL-8-concentrations in plasma and lysed EDTA-blood in healthy newborns and neonates with early onset bacterial infection. *Pediatr. Res.* 56, 804-809

Ottolini, M.C., Lundgren, K., Mirkinson, L.J., Cason, S., Ottolini, M.G. (2003): Utility of complete blood count and blood culture screening to diagnose neonatal sepsis in the asymptomatic at risk newborn. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 22, 430-434

Philip, A.G., Mills, P.C. (2000): Use of C-reactive protein in minimizing antibiotic exposure: experience with infants initially admitted to a well-baby nursery. *Pediatrics* 106, E4

Pourcyrous, M., Bada, H.S., Korones, S.B., Baselski, V., Wong, S.P. (1993): Significance of Serial C-Reactive Protein Responses in Neonatal Infection and Other Disorders. *Pediatrics* 92, 431-435

Rifai, N., Tracy, R.P., Ridker, P.M. (1999): Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. *Clin. Chem.* 45, 2136-2141

Ridker, P.M. (2001): High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation* 103, 1813-1818

Roberts, W.L., Moulton, L., Law, T.C., Farrow, G., Cooper-Anderson, M., Savory, J., Rifai, N. (2001): Evaluation of Nine Automated High-Sensitivity C-

Reactive Protein Methods: Implications for Clinical and Epidemiological Applications. Part 2. Clin. Chem. 47, 418-425

Roitt, I.M., Brostoff, J., Male, D.K. (1995): Kurzes Lehrbuch der Immunologie. 3. Aufl. Thieme, Stuttgart, New York

Russel, G.A.B., Smyth, A., Cooke, R.W.I. (1992): Receiver operating characteristic curves for comparison of serial neutrophil band forms and C reactive protein in neonates at risk of infection. Arch. Dis. Child. 67, 808-812

Schlebusch, H., Liappis, N., Kalina, E., Klein, C. (2002): High Sensitive CRP and Creatinine: Reference Intervals from Infancy to Childhood. J. Lab. Med. 26, 341-346

Schuchat, A., Zywicki, S.S., Dinsmoor, M.J., Mercer, B., Romaguera, J., O'Sullivan, M.J., Patel, D., Peters, M.T., Stoll, B., Levine, O.S. (2000): Risk factors and opportunities for prevention early-onset neonatal sepsis: a multicenter case-control study. Pediatrics 105, 21-26

Speer, C.H., Bruns, A., Gahr, N. (1983): Sequential determination of CRP, alpha1-antitrypsin and haptoglobin in neonatal septicemia. Acta Paediatr. Scand. 72, 679-683

Squire, E., Favara, B., Todd, J. (1979): Diagnosis of neonatal bacterial infection: hematologic and pathologic findings in fatal and nonfatal cases. Pediatrics 64, 60-64

Stoll, B.J., Gordon, T., Korones, S.B., Shankaran, S., Tyson, J.E., Bauer, C.R., Fanaroff, A.A., Lemons, J.A., Donovan, E.F., Oh, W., Stevenson, D.K., Ehrenkranz, R.A., Papile, L-A., Verter, J., Wright, L. (1996): Early-onset sepsis in very low birth weight neonates. J. Pediatr. 129, 72-80

Szczepanek, D., Czochra, M., Zderkiewicz, E., Mosiewicz, A., Harasimiuk, A. (1997): Biological and clinical significance of acute phase proteins with particular emphasis on the role of C-reactive protein. Wiad. Lek. 50, 112-116

Takahashi, H., Rionsho-Byori (2002): High-sensitivity C-reactive protein (CRP) assay- a novel method for assessment of risk ratios for atherosclerotic vascular diseases. Jap. Journal. Of clinic. Path. 50, 30-39

Tarkkinen, P., Palenius, T., Lövgren, T. (2002): Ultrarapid, ultrasensitive one-step kinetic immunoassay for C-reactive protein in whole blood samples: measurement of the entire CRP concentration range with a single sample dilution. Clin. Chem. 48, 269-277

Thompson, D., Milford-Ward, A., Whicher, J.T. (1992): The value of acute phase protein measurements in clinical practice. Ann. Clin. Biochem. 123-131

Volanakis, J.E. (2001): Human C-reactive protein: expression, structure and function. *Mol. Immunol.* 38, 189-197

Von Harnak, G.-A., Koletzko, B. (1997): *Kinderheilkunde*. 10. Aufl. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Budapest, Hong Kong, London, Mailand, Paris, Tokyo

Wagle, S., Graaug, A., Kohan, R., Evans, S.F. (1994): C-Reactive protein as a diagnostic tool of sepsis in very premature babies. *J. Pediatr. Child Health* 30, 40-44

Wilkins, J., Gallimore, J.R., Moore, E.G., Pepys, M.B. (1998): Rapid automated high sensitivity immunoassay of C-reactive protein. *Clin. Chem.* 44, 1358-1361

Wilson, C.B. (1989): Immunologic basis for increased susceptibility of the neonate to infection. *J. Pediatr.* 108, 1-12

Yamashita, H., Shimada, K., Seki, E., Mokuno, H., Daida, H. (2003): Concentrations of interleukins, interferon, and C-reactive protein in stable and unstable angina pectoris. *Am. J. Cardiol.* 91, 133–136

Zankovich, R., Diehl, V. (1998): Leukozytopenie und Leukozytose, 161-165 in: Classen, M., Diehl, V., Kochsiek, K.: *Innere Medizin*; 4. Aufl., Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
CRP	C-reaktives Protein
d	Tag
d. h.	Das heißt
E. coli	Escherichia coli
EDTA	Ethylene Diamine Tetra-Acetate
EOBI	Early-onset bacterial infection
ESR	Erythrozyten-Sedimentationsrate
et al.	Et alteri
FG	Frühgeborenes
g	Gramm
h	Stunde
hsCRP	Hochsensitives C-reaktives Protein
I/T	Immature to total neutrophils
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
LA	Lebensalter
NPW	Negativer Prädiktiver Wert
nsCRP	Normalsensitives C-reaktives Protein
PPW	Positiver Prädiktiver Wert
r	Korrelationskoeffizient
RG	Reifgeborenes
ROC	Receiver operator characteristic
SSW	Schwangerschaftswoche
Tab.	Tabelle
TNF-alpha	Tumornekrosefaktor-alpha
z. B.	Zum Beispiel

Danksagung

Diese Dissertationsarbeit entstand in der Abteilung Neonatologie der Universitäts-Kinderklinik Tübingen. Bedanken möchte ich mich bei allen Ärzten sowie dem Leiter der Abteilung, Herrn Professor Dr. med. Poets für die Annahme als Doktorandin.

Mein herzlicher Dank gilt Herrn PD Dr. med. Thorsten Orlikowsky, der das Thema dieser Arbeit vorschlug und zu Verfügung gestellt hat. Er betreute den Verlauf der gesamten Untersuchung und stand mir mit seiner Erfahrung und mit seinem Wissen hilfreich zur Seite.

Weiterhin möchte ich mich bei Frau M. Depperschmid ganz herzlich bedanken für die Mühe und Hilfe, sowie bei allen Mitarbeitern des Labors der Frauenklinik Tübingen, die bei der Datenerhebung mitgewirkt haben.

Bei Herrn Dr. M. Eichner bedanke ich mich für die Beratung und Hilfe bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

Der Firma La Roche, Mannheim danke ich für die zur Verfügung gestellten Reagenzien und Küvetten.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern sowie Nina Salzer und Andre Lichner. Danke für die Unterstützung, die Hilfe am Computer sowie das Korrigieren.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Münzenmaier
Vorname: Melanie
Geboren: 21.08.1978
In: Nürtingen
Eltern: Gerd Münzenmaier
Iris Münzenmaier, geb. Vogel
Geschwister: Jasmin Münzenmaier

Bildungsgang

1985 - 1989 Grundschule in Nürtingen-Neckarhausen
1989 -1995 Neckarrealschule in Nürtingen
1995 - 1998 Fritz-Ruoff-Gymnasium in Nürtingen

Studium

Ab Oktober 1998 Studium der Humanmedizin an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
August 2000 Ärztliche Vorprüfung
August 2001 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
März 2004 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
10.05.2005 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

