

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR FRAUENHEILKUNDE UND GEBURTSHILFE
PROF. DR. BIRGIT SEELBACH-GÖBEL
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

***DIE NICHTINVASIVE ZYTOKINBESTIMMUNG
AUS FRUCHTWASSER NACH FRÜHEM VORZEITIGEN
BLASENSPRUNG – KORRELATION VON ZYTOKINWERTEN
UND MÜTTERLICHEN PARAMETERN***

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Franziska Aigner

2020

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR FRAUENHEILKUNDE UND GEBURTSHILFE
PROF. DR. BIRGIT SEELBACH-GÖBEL
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

***DIE NICHTINVASIVE ZYTOKINBESTIMMUNG
AUS FRUCHTWASSER NACH FRÜHEM VORZEITIGEN
BLASENSPRUNG – KORRELATION VON ZYTOKINWERTEN
UND MÜTTERLICHEN PARAMETERN***

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Franziska Aigner

2020

| | |
|-----------------------------|---------------------------------|
| Dekan: | Prof. Dr. Dirk Hellwig |
| 1. Berichterstatterin: | Prof. Dr. Birgit Seelbach-Göbel |
| 2. Berichterstatter: | PD Dr. Ludwig Deml |
| Tag der mündlichen Prüfung: | 06.08.2020 |

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|---------|---|----|
| 1 | Einleitung | 1 |
| 1.1 | Frühgeburt..... | 1 |
| 1.2 | Früher vorzeitiger Blasensprung | 1 |
| 1.2.1 | Bedeutung, Definition und Epidemiologie | 1 |
| 1.2.2 | Intrauterine Entzündung..... | 2 |
| 1.2.2.1 | Aszendierende Infektionen | 3 |
| 1.2.2.2 | Mikrobielle Besiedlung und sterile Entzündung der Amnionhöhle | 4 |
| 1.2.2.3 | Chorioamnionitis..... | 4 |
| 1.3 | Nichtinvasive Fruchtwassergewinnung..... | 5 |
| 1.4 | Parameter für die Beurteilung von Entzündungen in der Geburtshilfe..... | 6 |
| 1.4.1 | Klinisches Erscheinungsbild der Mutter | 6 |
| 1.4.2 | CRP und Leukozyten | 6 |
| 1.4.3 | Zytokine | 6 |
| 2 | Fragestellung | 8 |
| 3 | Material und Methoden | 9 |
| 3.1 | Studiendesign..... | 9 |
| 3.2 | Management der Patientinnen | 9 |
| 3.3 | Geräte und Utensilien..... | 10 |
| 3.4 | Material..... | 11 |
| 3.5 | Gewinnung des Probenmaterials | 12 |
| 3.6 | Analyse des Probenmaterials | 12 |
| 3.6.1 | Zytokinbestimmung mit ELISA..... | 12 |
| 3.6.2 | Zytokinbestimmung mit Point-of-Care Test..... | 15 |
| 3.7 | Statistische Auswertung der Daten | 16 |
| 4 | Ergebnisse | 17 |
| 4.1 | Demografische und klinische Charakteristika der Studienpopulation | 17 |

| | | |
|--------|---|----|
| 4.2 | Nichtinvasive Fruchtwassergewinnung..... | 18 |
| 4.3 | Messung von IL-6 mit Point-of-Care Test und ELISA..... | 19 |
| 4.3.1 | Korrelation der IL-6 Werte..... | 19 |
| 4.3.2 | IL-6 Konzentrationen im Fruchtwasser | 20 |
| 4.3.3 | IL-6 Konzentrationen bei blutig tingierten Fruchtwasserproben | 21 |
| 4.4 | Zytokinmessung mit ELISA | 22 |
| 4.4.1 | Konzentrationen von IL-6, IL-8 und TNF α | 22 |
| 4.4.2 | Verlauf von IL-6, IL-8 und TNF α über zwei Wochen | 23 |
| 4.5 | Maternale Entzündungsparameter im Verlauf sowie Kasuistik..... | 25 |
| 4.5.1 | Entzündungsprofil (IL-6 und CRP) Patientin Nr.2..... | 26 |
| 4.5.2 | Entzündungsprofil (IL-6 und CRP) Patientin Nr.4..... | 28 |
| 4.5.3 | Entzündungsprofil (IL-6 und CRP) Patientin Nr.5..... | 29 |
| 4.5.4 | Entzündungsprofil (IL-6 und CRP) Patientin Nr.6..... | 32 |
| 4.5.5 | Entzündungsprofil (IL-6 und CRP) Patientin Nr.7..... | 35 |
| 4.5.6 | Entzündungsprofil (IL-6 und CRP) Patientin Nr.8..... | 37 |
| 4.5.7 | Entzündungsprofil (IL-6 und CRP) Patientin Nr.9..... | 39 |
| 4.5.8 | Entzündungsprofil (IL-6 und CRP) Patientin Nr.10..... | 40 |
| 4.5.9 | Entzündungsprofil (IL-6 und CRP) Patientin Nr.11..... | 43 |
| 4.5.10 | Entzündungsprofil (IL-6 und CRP) Patientin Nr.12..... | 46 |
| 4.6 | Zusammenhang von IL-6 Konzentrationen im Fruchtwasser und maternalen Parametern | 48 |
| 4.6.1 | IL-6 und CRP Wert im maternalen Serum | 48 |
| 4.6.2 | IL-6 und Leukozyten im maternalen Serum | 50 |
| 4.6.3 | IL-6 und die Dauer vom Blasensprung bis zur Geburt | 51 |
| 4.6.4 | IL-6 und die vaginale Keimbesiedlung | 52 |
| 4.6.5 | IL-6 und Geburtsmodus | 53 |
| 4.6.6 | IL-6 und die Histologie der Plazenta | 54 |

| | | |
|-------|--|-----|
| 4.7 | Keimbesiedlung beim PPRM | 55 |
| 5 | Diskussion..... | 57 |
| 5.1 | Tägliche nichtinvasive Fruchtwassergewinnung..... | 58 |
| 5.2 | Konzentrationsbestimmung der Zytokine mit zwei Methoden..... | 59 |
| 5.2.1 | Messung von IL-6 mit Point-of-Care Test und ELISA im Vergleich..... | 60 |
| 5.2.2 | Messung von IL-6, IL-8 und TNF α mit ELISA | 61 |
| 5.2.3 | Zusammenschau von maternalen Entzündungsparametern und Kasuistik..... | 64 |
| 5.3 | Zusammenhang von IL-6 und maternalen Parametern | 65 |
| 5.3.1 | CRP und Leukozyten | 65 |
| 5.3.2 | Dauer vom Blasensprung bis zur Geburt | 67 |
| 5.3.3 | Vaginale Keimbesiedlung | 68 |
| 5.3.4 | Geburtsmodus | 70 |
| 5.3.5 | Histologie | 70 |
| 5.4 | Stärken und Limitationen der Studie..... | 71 |
| 6 | Zusammenfassung..... | 72 |
| | Abkürzungsverzeichnis..... | 74 |
| | Literaturverzeichnis | 75 |
| | Abbildungs- und Tabellenverzeichnis | 86 |
| | Danksagung | I |
| | Erklärung | II |
| | Lebenslauf..... | III |

1 Einleitung

1.1 Frühgeburt

Eine Frühgeburt ist die Geburt eines Kindes vor der vollendeten 37. Schwangerschaftswoche (SSW) (1–4). Im Laufe der letzten 50 Jahre sind die Überlebenschancen von Frühgeborenen durch neue Behandlungsoptionen gestiegen (3, 5–7). Zu diesen zählen die antenatale Lungenreifebehandlung mit Steroiden, die Wehenhemmung mit Tokolytika sowie die verbesserte Versorgung der Frühgeborenen postnatal durch die präpartale Verlegung von gefährdeten Schwangeren in Perinatalzentren Level I (5). Nichtsdestotrotz hat die Frühgeburt nach wie vor den größten Anteil an der Säuglingsmorbidity und – mortalität (5, 8).

Romero et al. beschrieben die Frühgeburt 2014 als ein Syndrom (1). Ein Zusammenspiel aus unterschiedlichen Risikofaktoren und Ursachen, wie die verminderte Aktivität von Progesteron, Überdehnung des Uterus, Störung der fetalen-maternalen Toleranz, Stress, deziduale Seneszenz, Infektion, pathologische Veränderung der Zervix oder Gefäßpathologien, führt schlussendlich zu drei klinischen Erscheinungsbildern: Der spontanen Frühgeburt mit intakter Fruchtblase (vorzeitige Wehentätigkeit), der spontanen Frühgeburt mit frühem vorzeitigem Blasensprung und der indizierten Frühgeburt aus mütterlicher und/oder fetaler Indikation (3, 9).

1.2 Früher vorzeitiger Blasensprung

1.2.1 Bedeutung, Definition und Epidemiologie

Rund 3% aller Geburten und 33% aller Frühgeburten finden nach einem frühen vorzeitigem Blasensprung (Preterm Prelabor Rupture Of Membranes, PPRM) statt (10, 11). Von PPRM spricht man, wenn sich die Ruptur der Eihäute vor einsetzender Wehentätigkeit und vor Vollendung der 37. SSW ereignet (10–15). Durch diesen Umstand ergeben sich neben den negativen Folgen der Unreife weitere Bedrohungen für den Feten (13). Dazu zählen die gesteigerte Infektionsgefahr und das durch den Fruchtwasserverlust mögliche Oligohydramnion (10, 14). Die geringen Fruchtwasserdepots können eine vorzeitige Plazentalösung, einen Nabelschnurvorfal (im Falle eines bereits geöffneten Muttermundes), eine

Einleitung

pulmonale Hypoplasie, Gesichtsdeformitäten oder orthopädische Fehlbildungen begünstigen (10, 14). Nicht nur der Fet, sondern auch die werdende Mutter ist beim PPROM von einem erhöhten Infektionsrisiko betroffen (10). In annähernd einem Drittel der Fälle kommt es zu einer Infektion der Schwangeren (10). Da die Überlebenschancen des Ungeborenen jedoch bis zur 34. SSW täglich um etwa 2% steigen, gilt es die Schwangerschaft möglichst lange aufrechtzuerhalten (11). Die konservative Therapie, das „expectant Management“, ist deshalb Mittel der Wahl beim PPROM (16). Die Verabreichung einer Breitspektrumantibiose und die antenatale Gabe von Corticosteroiden zur Beschleunigung der Lungenreifung sowie die Überwachung von Fet und Mutter gehören dazu (17). Dabei wird ein besonderes Augenmerk auf klinische Zeichen einer Infektion z.B. erhöhte Körpertemperatur der Schwangeren, fetale und maternale Tachykardie, Schmerzhaftigkeit des Uterus sowie Veränderungen der Entzündungsparameter gelegt (10).

1.2.2 Intrauterine Entzündung

Die fetalen Membranen bestehen aus dem Amnion mit direktem Kontakt zum Fruchtwasser und dem Chorion (15). Das Amnion lässt sich in fünf Schichten unterteilen: Die Epithelschicht, die Basalmembran aufgebaut aus Kollagen Typ III, Typ IV und Glykoproteinen (Laminin, Nidogen und Fibronectin), die kompakte Schicht (Kollagen Typ I und III) als Fasergrundgerüst für Stabilität, die massive Fibroblastenschicht mit Mesenchymalzellen, Makrophagen sowie lockeren Kollagenbündeln und die letzte Schicht, die Zona spongiosa (15). Das dickere Chorion ist epithelartig aufgebaut und wird durch Retikularschicht, Basalmembran und Throphoblastenschicht gebildet (15). Dieser Aufbau macht deutlich, dass die fetalen Membranen zum Großteil aus Kollagen bestehen (15). Kommt es durch eine Infektion zum Eindringen von Bakterien in den Choriodezidualraum, produzieren diese dort Exo- und Endotoxine (7). Infolgedessen sezernieren die fetalen Membranen und die Dezidua Zytokine wie Tumornekrosefaktor α (TNF α), Interleukin(IL)-6, IL-8, IL-1 α , IL-1 β und den Granulozyten-Kolonien-stimulierenden Faktor (G-CSF) (7). Der weitere Weg führt über die Prostaglandinbildung und Chemotaxis von Neutrophilen zur Aktivierung von Matrix-Metalloproteasen (MMPs) (7). MMPs sind Enzyme, die das Bindegewebe der fetalen Membranen u.a. durch die Zersetzung von Kollagen schwächen und zur Ruptur führen können (7, 15).

Dieser Pathomechanismus veranschaulicht, dass dem PPROM eine Infektion

vorausgehen und diesen auslösen kann (7, 18). Die Destruktion der Membranen fördert die Entstehung von Infektionen als Folge des PPRM (7, 19). Die physiologisch sterile Amnionhöhle wird durch die Ruptur der Eihäute nicht mehr geschützt (18, 20). Als mögliche Varianten der Infektionsausbreitung gaben Romero et al. vier Wege an: Aufsteigend vom unteren Genitaltrakt, hämatogen gestreut über die Plazenta, retrograd über die Tuben und über invasive Maßnahmen wie die Amniozentese (20, 21).

1.2.2.1 Aszendierende Infektionen

Die aszendierende Infektion ist die häufigste Ursache der intrauterinen Infektion (18, 20, 21). Sie entwickelt sich über mehrere Stadien (18, 20). Die Vaginose, eine bakterielle Dysbiose des unteren Genitaltrakts, steht am Beginn der Aszension (Stadium I) (18, 20). Als nächstes findet, wie in Abbildung 1 dargestellt, die Besiedlung der Dezidua statt, es kommt zu deren Entzündung (18, 20). Durch die lokale Nähe wird das Chorion ebenfalls in Mitleidenschaft gezogen (Stadium II) (18, 20). Stadium III ist die intraamniale Entzündung durch Streuung der Mikroorganismen über Blutgefäße oder das Amnion (18, 20). Den Gipfel stellt die mikrobielle Besiedlung des Feten (Stadium IV) dar (18, 20).

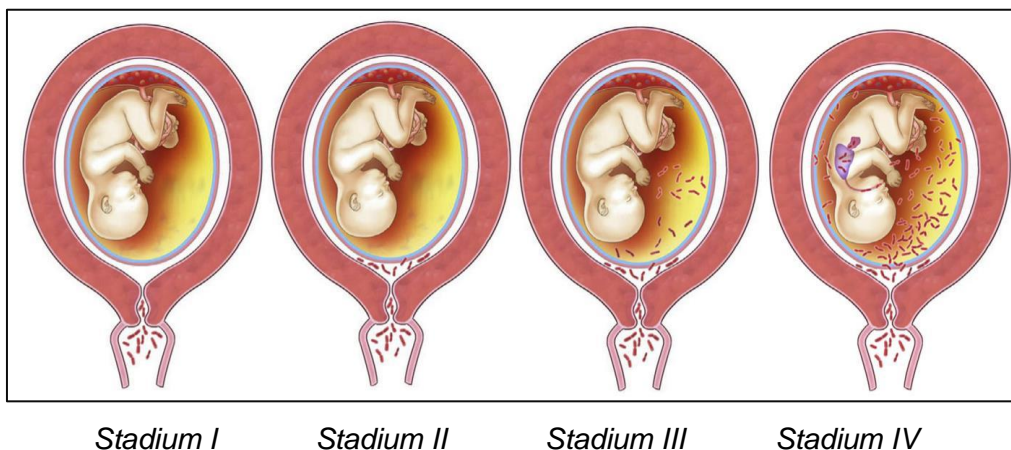


Abbildung 1: Stadium I-IV der aszendierenden Infektion nach Kim, Romero et al (20)

Die Aszension erklärt die große Übereinstimmung zwischen den in der Vagina und den im Fruchtwasser vorgefundenen Mikroorganismen (1, 7). Die bakterielle Vaginose ist ein Risikofaktor für das Auftreten der intraamnialen Infektion und der spontanen Frühgeburt (1, 6). Ihre Pathophysiologie ist durch ein Ungleichgewicht des Vaginalmilieus erklärbar (7). Das Gleichgewicht ist von *Lactobacillus* hin zu anderen

Organismen wie *Gardnerella vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Bakteroides* und *Mobiluncus* verschoben (7).

1.2.2.2 Mikrobielle Besiedlung und sterile Entzündung der Amnionhöhle

Die mikrobielle Besiedlung der Amnionhöhle, auch Microbial Invasion of the Amnion Cavity (MIAC) genannt, ist als Keimnachweis im Fruchtwasser definiert (21). Die Amnionhöhle stellt in der Regel eine sterile Umgebung für den Feten dar (18, 20). Die MIAC gilt deshalb als pathologisch (21). Die klassische, langwierige Methode zum Nachweis von Mikroorganismen ist das Kultivieren (22). Es sind jedoch moderne Methoden verfügbar (18, 23, 24). Die bakterielle DNA der verschiedensten Spezies lässt sich mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR), durch die Detektion des in Bakterien vorhandenen 16S rRNA Gens, nachweisen (18, 23, 24). Es ist davon auszugehen, dass durch die herkömmliche Methode der Kultivierung, welche Limitationen bei der Identifikation von Mikroorganismen aufweist, die Rate der MIAC beim PPRM unterbewertet wurde (21, 24). Frauen mit PPRM weisen mit einer weit gestreuten Rate von 17% bis etwa 58% eine MIAC auf (18, 20, 22, 24–28). Die Ruptur der Membranen macht den Weg für Mikroorganismen in die Amnionhöhle einfacher zugänglich (21). Dies erklärt den Anstieg des MIAC-Anteils von ca. 32% direkt nach PPRM auf 75% bis zum Geburtsbeginn (21). Je früher dabei der PPRM stattfindet, desto häufiger ist die MIAC (21, 22, 25). Eine intrauterine Entzündung kann ebenso ohne Hinweise auf Mikroorganismen im Fruchtwasser vorhanden sein (29). Es wird dann von einer sterilen intraamniotischen Entzündung (Intraamniotic Inflammation, IAI) gesprochen (1). Die Eihäute stellen einen möglichen Entzündungsherd dar (7). Ist dort eine Inflammation vorhanden, kommt es zur Zytokinantwort, die durch eine erhöhte IL-6 Konzentration im Fruchtwasser detektierbar ist (7, 21, 22). Ausgelöst wird diese Reaktion durch die Anhäufung von freien Radikalen oder den Zelltod (20). Es besteht die Möglichkeit, dass eine IAI vorliegt, herkömmliche Maßnahmen zur Detektion von Bakterien im Fruchtwasser aber wegen der Absenz der Mikroorganismen im untersuchten Medium nicht für deren Aufdeckung ausreichen (25). Deswegen sollte die Zytokinmessung des Fruchtwassers eine zukünftige, klinische Option zur Diagnosestellung sein (22).

1.2.2.3 Chorioamnionitis

Klinische und histologische Chorioamnionitis (HCA) sind gebräuchliche Begriffe, sie betreffen aber völlig unterschiedliche Erscheinungsbilder (19, 20). Die klinische ist

durch Fieber, mütterliche und fetale Tachykardie, Unterbauchschmerzen und übelriechenden Ausfluss erkennbar (19, 20). Die histologische ist eine vom Pathologen erkannte, vermehrte neutrophile Infiltration (19, 20). Im Folgenden ist von der HCA die Rede. Romero, Miranda et al. veröffentlichten 2015 Daten zur HCA (22). Sie gaben an, dass 93% der Patientinnen mit Inflammation plus MIAC und 38% der Patientinnen mit steriler Inflammation eine Chorioamnionitis aufwiesen (22). Eindrücklich ist, wie auch bei MIAC und IAI, die Prävalenz im Bezug auf das Gestationsalter: Von der 21. SSW bis zur 24. SSW waren 94% und bei Geburten von der 37. SSW bis zur 40. SSW nur ca. 4% von einer HCA betroffen (20). Am häufigsten vorgefundene Mikroorganismen bei der Chorioamnionitis sind mit Abstand genitale Mykoplasmen (19–21, 30). *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, B-Streptokokken und *Escherichia coli* treten ebenfalls auf (7).

1.3 Nichtinvasive Fruchtwassergewinnung

Um Informationen über den intrauterinen Entzündungsstatus und die mikrobielle Besiedlung des Fruchtwassers zu erhalten, stehen beim PPRM neben der Amniozentese als invasive (31) auch nichtinvasive Untersuchungen (32, 33) zur Verfügung. Im Laufe der Zeit haben sich einige vielversprechende Methoden zur nichtinvasiven Fruchtwassergewinnung herauskristallisiert (32–34). Cotton et al. beschrieben für diesen Zweck schon im Jahre 1984 die Aspiration von Fruchtwasser aus dem vaginalen Fornix bei rupturierten Membranen (35). Auch Musilova et al. gewannen 2016 durch Ansaugen des Fruchtwassers in Urinröhrchen aus dem Scheidengewölbe auf ähnlichem Wege Proben (36). Das im Vaginalsekret enthaltene Fruchtwasser beim PPRM kann somit ohne großen zeitlichen oder finanziellen Aufwand gesammelt werden und gleicht in seiner Aussagekraft dem invasiv Gewonnenen (36). Neben einem eigens entworfenen Fruchtwasserkollektor (33), Tupfern (26, 37) und Urinröhrchen (36) wurde von Kunze et al. 2016 auch eine herkömmliche Knoblauchpresse (34) erfolgreich als Instrument zur Fruchtwassergewinnung benutzt. Die Verwendung der Presse macht das tägliche Monitoring des Fruchtwassers, gewonnen aus Hygienevorlagen, ohne jegliche Manipulation an der Zervix mit Gefahr der Keimverschleppung oder Stimulation von Kontraktionen möglich (34).

1.4 Parameter für die Beurteilung von Entzündungen in der Geburtshilfe

Der Ort des Entzündungsgeschehens in der Geburtshilfe ist präpartal meist nicht ohne invasive Maßnahmen erreichbar. Entzündungsmediatoren fachen lokal im Gewebe oder in Blutgefäßen eine Entzündung an und sind im Zuge dessen oftmals in Fruchtwasser, Blut, vaginalen oder zervikalen Sekreten als Frühzeichen einer Infektion vorzufinden (38).

1.4.1 Klinisches Erscheinungsbild der Mutter

Das klinische Erscheinungsbild der Mutter ist wohl am einfachsten zugänglich. Es lässt sich jedoch des Öfteren nicht exakt einordnen. Einem Fieber können vielfältige Ursachen zugrunde liegen (39). Es muss sich dabei nicht um Gründe, die in utero zu finden sind, handeln (39). Lokalisationen wie Lunge, Niere oder Nasennebenhöhlen sind ebenso vorstellbar wie eine Dehydratation, Analgesie oder Hyperthyreose (39). Das klinisch manifeste Erscheinungsbild einer intrauterinen Entzündung bildet sich erst sehr spät aus (40). Dabei ist alleine durch die Klinik nicht beurteilbar, ob es sich um eine Inflammation mit Mikroorganismen oder gar eine Chorioamnionitis handelt (39).

1.4.2 CRP und Leukozyten

Die Bestimmung des C-reaktiven Proteins (CRP) und der Leukozytenzahl im maternalen Blut zählen beim stationären Aufenthalt einer Schwangeren mit PPROM zu den Standarduntersuchungen (11, 14). Das Akut-Phase-Protein CRP ist eine Reaktion der Leber auf proinflammatorische Zytokine (38). Es ist nicht spezifisch, aber als diagnostisches Mittel zur Erkennung von Infektion und Entzündung weit verbreitet (40). Bei der Beurteilung von Entzündungen beim PPROM gibt es Berichte über einen Zusammenhang zwischen CRP im Serum der Mutter und Infektionen (40). Letztlich wurde das maternale CRP jedoch weder als Marker für eine MIAC (41), HCA (41), klinische Chorioamnionitis (42), noch für die Chorioamnionitis im Frühstadium (40) empfohlen.

1.4.3 Zytokine

Durch das Wissen über die Rolle der Zytokine bei der Entzündung, sowohl bei der termingerechten als auch der vorzeitigen Geburt und dem PPROM, sind sie zum Interesse der Forschung in der Geburtsmedizin geworden (26, 32, 34, 36, 37, 43–59). Beim pathologischen Prozess der Frühgeburt und des PPROM spielen Zytokine

Einleitung

und deren Imbalance eine wichtige Rolle (60). Sie sind im Vergleich zum physiologischen Vorgang erhöht (7). Mikroorganismen können durch eine Aszension aus dem Genitaltrakt die Dezidua, die Eihäute und die Amnionhöhle erreichen, oder sogar bis zum Feten vordringen (21, 61). Dort werden sie oder ihre Bestandteile von Pattern Recognition Receptors (PRRs) erkannt (Intrauterin v.a. Toll-Like Receptor[TLR]-2 und TLR-4) (21, 61). Eine lokale Entzündung wird in Gang gesetzt und durch die Bindung an PPRs oder Alarmsignale aufgrund von Gewebeverletzungen kommt es zur Initiierung der Zytokinsynthese durch Fibroblasten, Epithelzellen und Makrophagen (21, 61). Die inflammatorischen Veränderungen haben die Aktivierung anderer Zellen und die Sezernierung weiterer Zytokine sowie Prostaglandine zur Folge (21, 61). Besonders häufig sind IL-6 (37, 49, 50, 54), TNF α (53) und IL-8 (51) vorzufinden. IL-6 ist der hauptverantwortliche Mediator der Akut-Phase-Antwort auf Gewebeschäden und Infektionen (20, 62). Infektionen als häufige Ursache der Frühgeburt und der PPROM, eine Gewebeläsion, gehen somit mit erhöhtem IL-6 einher (54). Im Fruchtwasser zählt es zum besten prädiktiven Marker einer drohenden Infektion beim PPROM (63). Verglichen mit den Kontrollen sind die IL-6 Werte beim PPROM ohne Infektion etwa 1,2-fach und mit Infektion sogar 24,7-fach erhöht (64). Zu den Entzündungen mit einem Anstieg des IL-6 Levels zählen die MIAC (46), die IAI (46) und die Chorioamnionitis (50). Beim PPROM findet sich IL-6 unter anderem im Fruchtwasser (54), Vaginal- (36) und Zervixsekret (46). Dabei korrelieren die IL-6 Werte von Fruchtwasser und Zervixsekret (37). Im mütterlichen Serum ist die Aussagekraft gering (64). Neben dem Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (22, 34, 54, 57, 58) hat sich inzwischen der Lateral Flow Immunoassay als Point-of-Care (POC) Test (19, 23, 32, 34, 36, 57, 58) zur IL-6 Messung bewährt. Dieser besitzt Charakteristika, die ihn für die klinische Anwendung auszeichnen (57). Er ist einfach durchzuführen, kostengünstig, benötigt wenig Platz, ist unabhängig von der durchführenden Person und liefert innerhalb von 20 Minuten Ergebnisse (57).

2 Fragestellung

Studieninhalt dieser Arbeit war die tägliche, nichtinvasive Gewinnung von im Vaginalsekret enthaltenem Fruchtwasser. Dies wurde durch das Ausdrücken von Hygienevorlagen mit einer Presse bei Frauen mit PPROM gewonnen. Die IL-6 Konzentrationen im Fruchtwasser wurden mit ELISA und POC Test bestimmt. Die IL-8 und TNF α Konzentrationen wurden mit ELISA gemessen. Folgende Fragestellungen wurden bearbeitet:

1. Kann mit oben genannter Methode die tägliche Fruchtwassergewinnung vom PPROM bis zur Geburt durchgeführt werden? Welche Probleme ergeben sich im klinischen Alltag?
2. Sind sowohl der ELISA als auch der POC Test für die IL-6 Messungen in nichtinvasiv gewonnenem Fruchtwasser geeignet? Liegt eine Korrelation der IL-6 Werte beider Tests vor? Bestehen Einschränkungen bei der Verwendung von ELISA und POC Test?
3. Ist eine Erstellung von Entzündungsprofilen für IL-6, IL-8 und TNF α durch die Zytokinbestimmung nach je 24 Stunden möglich? Welche Unterschiede ergeben sich bei der Betrachtung der Zytokine?
4. Bilden Entzündungsparameter im Fruchtwasser (IL-6) oder im maternalen Serum (CRP) das klinische Erscheinungsbild der Mutter ab? Zeigt sich ein Schema im Verlauf der Entzündungsparameter?
5. Zeigen maternale Parameter (maternale Entzündungsparameter, Zeitpunkt des Blasensprungs, vaginale Keimbesiedlung, Geburtsmodus oder Histologie der Plazenta) einen Zusammenhang mit signifikant erhöhten IL-6 Werten?

Die unter diesen Leitfragen durchgeführten Untersuchungen werden nachfolgend beschrieben, ihre Ergebnisse dargestellt und deren Standpunkt im wissenschaftlichen Kontext erörtert.

3 Material und Methoden

3.1 Studiendesign

Bei der vorliegenden prospektiven Studie wurde nichtinvasiv Fruchtwasser für den Zytokinnachweis mit ELISA und POC Test gewonnen. Die Probengewinnung fand von Anfang Januar 2017 bis Ende November 2017 an der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe der Universität Regensburg - St. Hedwig - statt. Die experimentelle Auswertung des Probenmaterials wurde im Laborkomplex H1 des gleichnamigen Lehrstuhls für Gynäkologie und Geburtshilfe, Schwerpunkt Geburtshilfe, der Universität Regensburg durchgeführt. Der Ethikantrag der Studie (Nr. 06-098, Amendment 4) vom 25.10.2016 wurde durch die Ethikkommission der Universität Regensburg genehmigt. Nach Aufklärung und schriftlicher Einverständniserklärung wurden 20 konservativ behandelte Frauen mit Einlings- oder Mehrlingsschwangerschaften und PPROM von SSW 23+0 bis SSW 33+6 eingeschlossen. Bei Mehrlingsschwangerschaften wurde nur der Fet mit rupturierten Membranen in die Forschungsarbeit einbezogen. Ausschlusskriterien waren Komplikationen des PPROM (wie vorzeitige Plazentalösung oder Nabelschnurvorfälle), Feten mit schweren Fehlbildungen sowie ein zervixwirksamer Geburtsbeginn.

3.2 Management der Patientinnen

Der PPROM wurde durch eine anamnestische „Fruchtwasser-Leckage“, eine pH-Testung des Zervixsekrets mit Nitrazinpapier, ein sonographisch festgestelltes vermindertes Fruchtwasserdepot oder den Actim PROM-Test diagnostiziert. Die Patientinnen wurden stationär mit Bettruhe behandelt. Die tägliche Überwachung der Vital- und Entzündungsparameter und die wöchentliche Abnahme eines Gesamtlabors sowie eine abdominale Sonographie zur Kontrolle (alle 2 - 3 Tage) und Biometrie (alle 2 Wochen) des Feten zählten zum Monitoring der Schwangeren während des stationären Aufenthalts. Zur Überwachung wurde die Herzfrequenz des Feten im CTG bis 26+0 SSW kurz angeschrieben und ab 26+1 SSW vollständig abgeleitet. Zunächst wurden die Probandinnen prophylaktisch durch ein Breitspektrumantibiotikum, Ampicillin drei Mal täglich 2 g intravenös, abgedeckt. Mit Erhalt des Antibiotogramms nach etwa 24 bis 48 Stunden wurde die antibiotische

Material und Methoden

Therapie gegebenenfalls auf ein anderes, gegen den festgestellten Erreger wirksames, Antibiotikum umgestellt. Vaginalabstriche zum Keimnachweis wurden bei Feststellung und im Verlauf des PPRM abgenommen und durch ein externes Labor bearbeitet. Zur Lungenreifeinduktion der Feten erfolgte die zweimalige intramuskuläre Gabe von 12 mg des Betamethasons Celestan im Abstand von 24 Stunden bzw. 12 Stunden zur „Schnellreife“ bei vorliegender Notfallsituation. Um diese durchzuführen wurde in manchen Fällen eine Bolustokolyse mit einem β -Sympathomimetikum (Fenoterol, Handelsname Partusisten) durchgeführt. Postnatal wurden die Frühgeborenen auf die Kinderintensivstation im Haus aufgenommen und die Plazenta wurde i.d.R. einer histologischen Untersuchung auf eine vorhandene Chorioamnionitis und/oder Funisitis unterzogen.

3.3 Geräte und Utensilien

Folgende Geräte und Utensilien wurden für die Durchführung der Studie verwendet:

Tabelle 1: Utensilien für die Durchführung der Studie

| Produkt | Bezugsquelle |
|--|---|
| Abdeckfolien für Mikrotiterplatten „Plate Sealers“ | Corning, Inc., New York, USA |
| Edelstahl Knoblauchpresse | Precision Kitchenware |
| Einfrierbox „Cryo King“ | Biologix Group Limited, Development Zone Jinan, Shandong, China |
| Einkanal-Pipette „Research Plus“ 100 μ l | Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland |
| Einkanal-Pipette „Research Plus“ 200 μ l | Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland |
| Einkanal-Pipette „Research Plus“ 1000 μ l | Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland |
| Eisschrank (- 80 °C) | Thermo Fisher Scientific, Inc., Massachusetts, USA |
| ELISA-Auswertungsprogramm „Microsoft Excel 2007“ | Microsoft Corporation, Washington, USA |
| ELISA-Reader „E Max“ | MWG-Biotech AG, Ebersberg, Deutschland |
| Falcon-Röhrchen „Polypropylene Conical Tube“ 50 ml | Corning, Inc., New York, USA |
| Gefrierschrank „Comfort“ (- 20 °C) | Liebherr-International AG, Bulle, Schweiz |
| Kühlschrank „Premium“ (5 °C) | Liebherr-International AG, Bulle, Schweiz |
| Mehrfachdispenser „HandyStep“ | Brand GmbH & Co KG, Wertheim, Deutschland |
| Milenia POCScan Reader | Milenia Biotec, Gießen, Deutschland |

Material und Methoden

| | |
|--|--|
| Petrischale „Tissue culture dish“ 100mm x 20mm | Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland |
| Pipettenspitzen „TipStackPack“ 200µl | Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland |
| Pipettenspitzen 1000µl | Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland |
| Präzisionsdispenser Tips 5ml | Brand GmbH & Co KG, Wertheim, Deutschland |
| Präzisionsdispenser Tips 10ml | Brand GmbH & Co KG, Wertheim, Deutschland |
| Tubes „SafeSeal“ 1,5ml | Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland |
| Vortexgerät „Vortex Genie“ | Scientific Industries, New York, USA |
| Ziplock Beutel blau 400mm x 500mm | neoLab Migge GmbH, Heidelberg, Deutschland |
| 8-Kanalpipettiereinheit | Brand GmbH & Co KG, Wertheim, Deutschland |
| 96-Well-Mikrotiterplatten „CostarAssayPlate“ | Corning, Inc., New York, USA |

3.4 Material

Die benutzten ELISA- und POCScan-Kits zur Zytokinbestimmung sowie Materialien für die Durchführung der Arbeitsschritte sind nachfolgend aufgeführt:

Tabelle 2: Reagenzien und Kits für die Zytokinbestimmung

| Produkt | Bezugsquelle |
|--|--|
| BSA „1% Bovine Serum Albumin“ | Sigma-Aldrich Corporation, Missouri, USA |
| Human IL-6/IL-8/TNFα DuoSet ELISA | R&D Systems, Minneapolis, USA |
| Incidin Plus 0,5 % | Hauseigene Apotheke, Universität Regensburg, Deutschland |
| Milenia QuickLine IL-6 | Milenia Biotec, Gießen, Deutschland |
| Millipore Wasser | Hauseigenes Aufbereitungssystem, Universität Regensburg, Deutschland |
| PBS „Dulbecco’s Phosphate Buffered Saline“ | Sigma-Aldrich Corporation, Missouri, USA |
| Schwefelsäure | Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland |
| Substratlösung „Substrate Reagent Pack“ | R&D Systems, Minneapolis, USA |
| Tween 20 | Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland |

3.5 Gewinnung des Probenmaterials

Die Studienteilnehmerinnen sammelten ihre Hygienevorlagen über 24 Stunden in wiederverschließbaren Plastikbeuteln. Diese wurden täglich um 8:00 Uhr zum Laborkomplex H1 transportiert. Dort wurden die von Vaginalsekret durchnässten Anteile des Saugkerns der Hygienebinden mit Hilfe einer herkömmlichen Knoblauchpresse in Petrischalen ausgedrückt und somit das Fruchtwasser aus dem Vaginalsekret gewonnen (Abb. 2). Bis zu 1,0 ml des Probenmaterials wurde mit 1000 μ l- und 200 μ l-Eppendorf Pipetten aliquotiert und in 1,5ml-SafeSeal-Tubes pipettiert. Die mit Datum, Inhaltsmenge und pseudonymisiertem Patientenkürzel beschrifteten Tubes wurden bei -80°C bis zur Konzentrationsmessung der Zytokine eingefroren. Die Knoblauchpresse wurde 15 Minuten in Incidin desinfiziert und anschließend luftgetrocknet.

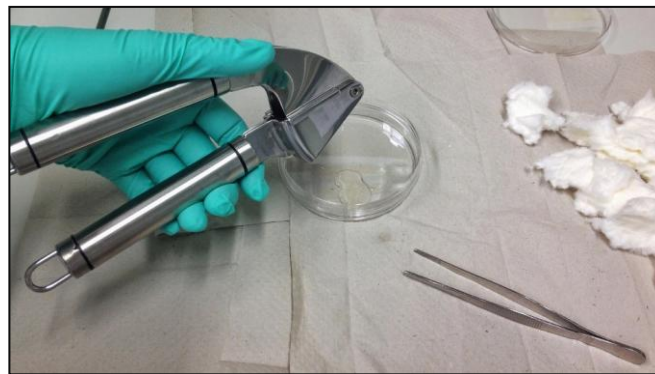


Abbildung 2: Die nichtinvasive Fruchtwassergewinnung mit einer Presse

3.6 Analyse des Probenmaterials

3.6.1 Zytokinbestimmung mit ELISA

In dieser Arbeit wurde der Sandwich-ELISA, Human IL-6/IL-8/TNF α DuoSet ELISA, der Firma R&D Systems, Minneapolis, USA, zur Bestimmung der Zytokin-konzentrationen angewendet. Das im Fruchtwasser enthaltene Antigen IL-6/IL-8 oder TNF α wird dabei durch eine Antigen-Antikörper-Reaktion gebunden. An diesen Antikörper-Antigen-Komplex bindet ein zweiter zugegebener konjugierter Antikörper und es entsteht ein Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex. Durch das Hinzufügen eines chromogenen Substrates kommt es mit der Bildung des Enzym-Substrat-Komplexes zu einem Farbumschlag (Abb.3). Die optische Dichte (OD) des Farbumschlags lässt sich durch ein Photometer bestimmen.

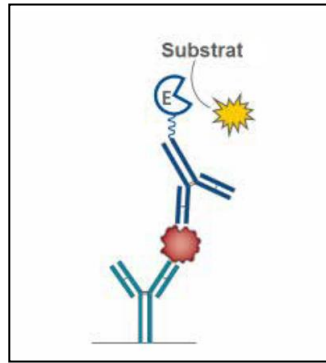


Abbildung 3: Der schematische Aufbau eines Sandwich-ELISAs (65)

Die benötigten Reagenzien für die Durchführung des ELISAs sind nachfolgend aufgelistet und die Durchführung wird exemplarisch für IL-6 beschrieben:

Tabelle 3: Reagenzien für die Durchführung des ELISAs

| Reagenz | Eigenschaften |
|--|---|
| PBS „Dulbecco’s Phosphate Buffered Saline“ | 137 mM NaCl; 2,7 mM KCl; 8,1 Na ₂ HPO ₄ ; 1,5 mM KH ₂ PO ₄ ; pH 7,2 – 7,4; 0,2 µm gefiltert |
| Waschpuffer | 0,05% Tween 20 in PBS; pH 7,2 – 7,4 |
| Reagenzdiluent | 1% BSA in PBS; pH 7,2 – 7,4; 0,2 µm gefiltert |
| Humanes IL-6 Capture-Antikörper | 2 µg/ml Konzentration (gelöst in PBS) |
| Humanes IL-6 Detection-Antikörper | 50 ng/ml Konzentration (gelöst in Reagenzdiluent) |
| Humanes IL-6 Standard | 2,45 – 600 pg/ml Konzentrationen (gelöst in Millipore Wasser, verdünnt mit Reagenzdiluent) |
| Streptavidin-HRP | 40-fach verdünnt (mit Reagenzdiluent) |
| Substratlösung | 1:1-Mischung aus Farbreagenz A (H ₂ O ₂) und Farbreagenz B (Tetramethylbenzidine) |
| Stopplösung | 2N H ₂ SO ₄ |

Für die Herstellung der Verdünnungsreihe des humanen IL-6 Standards wurden acht 1,5ml-SafeSeal-Tubes von 1 bis 8 nummeriert. 4,61 µl der Standardlösung mit einer Konzentration von 130 ng/ml wurden in SafeSeal-Tube Nr.1 zusammen mit 1000 µl Reagenzdiluent pipettiert. Es wurde in 1:2,5-Verdünnungsschritten verfahren, sodass eine Standardverdünnungsreihe mit den Konzentrationen 600 pg/ml – 240 pg/ml – 96 pg/ml – 38,4 pg/ml – 15,4 pg/ml – 6,14 pg/ml – 2,45 pg/ml entstand. Tube Nr.8, der „Blank“, enthielt ausschließlich Pufferlösung (0 pg/ml).

Als Nächstes wurde der Capture-Antikörper (mouse anti-human IL-6 Antikörper) in

Material und Methoden

Phosphate Buffered Saline (PBS) gelöst und eine Arbeitskonzentration von 2 µg/ml erzeugt. Für die Detection-Antikörper-Lösung wurde eine Lösung mit 50 ng/ml-Arbeitskonzentration hergestellt, indem biotinylierter goat anti-human IL-6 Antikörper in Reagenzdiluent gelöst wurde. Das Streptavidin-HRP wurde 40-fach mit Reagenzdiluent verdünnt.

Die aliquotierten Fruchtwasserproben wurden vor dem Versuchsbeginn auf Raumtemperatur erwärmt und gevortext. Die Verdünnung der Fruchtwasserproben richtete sich nach zu erwartender Zytokinkonzentration und erfolgte vor der Durchführung des ELISAs. Für die Konzentrationsbestimmung von IL-6 wurden die Proben 1:100 und 1:1000 verdünnt. Bei nicht zufriedenstellenden Testergebnissen wurde für einzelne Proben mit ausreichend Material ein weiterer ELISA mit anderen Verdünnungsverhältnissen durchgeführt.

Die Vorbereitung der 96-Well-Platte erfolgte wie vorgegeben. Bei der Durchführung des human IL-6 DuoSet ELISAs wurde nach den zuvor beschriebenen Vorbereitungen aller Reagenzien mit der Titration der Standards und der Proben begonnen. In die ersten 16 Mikroküvetten wurde die Standardlösung der Standardverdünnungsreihe in Duplikaten und in die verbliebenen 80 Wells 100 µl der IL-6 Probenlösungen je Verdünnung in Duplikaten pipettiert. Im Anschluss wurde der ELISA abgeschlossen und die optische Dichte eines jeden Wells mit dem ELISA-Reader „E Max“ gemessen. Die Auswertung der IL-6 Konzentrationen erfolgte mit Hilfe von Microsoft „Excel 2007“. Die gemessenen ODs der Standardverdünnungsreihen für die unterschiedlichen Verdünnungen dienten zur Definition von Referenzwerten und zur Erstellung einer Standardkurve. Die Ergebnisse der Standard-Messungen, die Blankwerte sowie die Zytokinwerte wurden in ein Excel-Worksheet transferiert. Die durch das Worksheet berechneten Ergebnisse wurden mit der jeweiligen Verdünnung der Probe multipliziert, um die finale Zytokinkonzentration zu erhalten.

Für die Bestimmung von IL-8 und TNFα wurden andere Standardverdünnungsreihen (IL-8: 2000 pg/ml-800 pg/ml-320 pg/ml-128 pg/ml-51,2 pg/ml-20,48 pg/ml-8,19 pg/ml, TNFα: 1000 pg/ml-400 pg/ml-160 pg/ml-64 pg/ml-25,6 pg/ml-10,24 pg/ml-4,096 pg/ml) hergestellt, das Verdünnungsverhältnis der Proben nach erwarteten Ergebnissen angepasst und nach demselben Schema verfahren.

3.6.2 Zytokinbestimmung mit Point-of-Care Test

Für den POC Test wurden der „Milenia QuickLine IL-6“, ein Lateralfuss-Immunoassay zur quantitativen Bestimmung von humanem IL-6, sowie der Milenia POCScan Reader von der Firma Milenia Biotec GmbH, Gießen, Germany, bezogen. Die Testeinheiten sind aus einer Membran beschichtet mit monoklonalen anti-IL-6 Antikörpern und Goldkonjugat mit enthaltenem monoklonalen anti-hIL-6 Antikörper aufgebaut, sodass Antigen-Antikörper-Komplexe in Form von IL-6 beladenen Goldpartikeln entstehen. Diese werden an der Testlinie durch einen zweiten monoklonalen IL-6-spezifischen Antikörper gebunden und als Linie sichtbar. Die Farbintensität nimmt während der Inkubationszeit zu und ist direkt proportional zur IL-6 Konzentration der Probe. Die Farbintensität wird durch den POCScan Reader abgelesen und quantitativ angegeben.

Für die Testdurchführung sind neben dem „Milenia QuickLine“-Kit (Abb.4) und dem POCScan Reader (Abb.5) eine 100µl-Pipette und 100µl-Pipettenspitzen nötig. Das aliquotierte und bei – 80 °C eingefrorene Fruchtwasser wurde auf Raumtemperatur erwärmt und kurz gevortext. Zur quantitativen Zytokinbestimmung wurden 100 µl unverdünntes Fruchtwasser in den Probenauftrag der Testeinheit pipettiert. Nach 20 Minuten wurde die Testeinheit in die Schublade des Milenia POCScan Readers eingelegt und die Messung gestartet. Die Zytokinkonzentrationen konnten auf dem Bildschirm des POCScan Readers abgelesen werden. Der Messbereich des POCScan Readers liegt bei 50 bis 10000 pg/ml und die Sensitivität des Tests beträgt ± 50 pg/ml.



Abbildung 4: Testeinheit des Milenia QuickLines (67)



Abbildung 5: POCScan Reader (66)

3.7 Statistische Auswertung der Daten

Für die statistische Auswertung standen eigens ausgewertete Messergebnisse sowie aus Patientenakten und Archivunterlagen gewonnene Daten zur Verfügung. Die Daten wurden in Microsoft Office Excel 2007 mit pseudonymisierten Patientenkürzeln zusammengetragen und kategorisiert. Die graphische Darstellung der Zytokin-konzentrationen, die Korrelationsanalyse nach Spearman und der Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben bei fehlender Normalverteilung des IL-6 gemessen im Vaginalsekret wurden mit GraphPad Prism vorgenommen. Unterschiede wurden als statistisch signifikant bezeichnet, wenn sie eine P-Value $p \leq .05$ vorwiesen.

4 Ergebnisse

4.1 Demografische und klinische Charakteristika der Studienpopulation

20 Patientinnen erfüllten die Ein- und Ausschlusskriterien und nahmen an der prospektiven Fruchtwasserstudie teil. Dem Patientenarchiv wurden demografische und gynäkologische Informationen entnommen, welche nachfolgend tabellarisch dargestellt sind (Tab.4).

Tabelle 4: Charakteristika des Patientenkollektivs

| Charakteristika der Frauen mit PPRM | Verteilung | | |
|---|--|---|---------------------------------------|
| Erstgebärende | 11/20 | | |
| Alter [Jahre] | < 25: 1/20 35 - < 40: 5/20 | 25 - < 30: 5/20 ≥ 40: 3/20 | 30 - < 35: 6/20 |
| Anamnestische gynäkologisch- geburtshilfliche Risikofaktoren | Vorzeitiger Blasensprung: 1/20 Rasche Schwangerschaftsfolge: 1/20 Sterilitätsbehandlung: 4/20 HELLP-Syndrom: 1/20 Operative Eingriffe an der Zervix: 3/20 Polyzystisches Ovar-Syndrom: 2/20 | Uterus subseptus: 1/20 Mehrlingsgravidität: 3/20 Alter >35 Jahre: 6/20 Abort: 5/20 Sectio: 3/20 Frühgeburt: 1/20 | |
| Komplikationen während der aktuellen Schwangerschaft | Vorzeitige Wehentätigkeit: 8/20 Zervixinsuffizienz: 4/20 Fruchtblasenprolaps: 2/20 Gestationsdiabetes: 2/20 Schwangerschaftscholestase: 1/20 Polyhydramnion: 1/20 | V.a. makrosomen Fet: 1/20 Placenta praevia: 2/20 Cerclage: 1/20 Blutung: 4/20 Kolpitis: 1/20 IUGR*1: 2/20 | |
| SSW bei PPRM | < 23+0: 2/20 32+0 bis 36+6: 2/20 | 23+0 bis 27+6: 6/20 | 28+0 bis 31+6: 10/20 |
| Oligohydramnion | 5/20 | | |
| Positiver Nachweis von Ureaplasmen | 8/20 | | |
| Pathologischer Keimnachweis der Vagina | 20/20 | | |
| Dauer vom PPRM bis zur Geburt [h] | < 100: 4/19*2 500 - < 700: 3/19*2 | 100 - < 300: 6/19*2 700 - < 1000: 3/19*2 | 300 - < 500: 2/19*2 > 1000: 1/19*2 |
| SSW bei Geburt | < 28+0: 4/20 | 28+0 - 31+6: 8/20 | 32+0 - 36+6: 8/20 |
| Geburtseinleitung | 3/20 | | |
| Vaginale Geburt | 7/20 | | |

Ergebnisse

| | | | |
|---|--|--|----------------------|
| Sectio | 13/20 | | |
| Komplikationen während des Geburtsverlaufs | Nabelschnurumschlingung: 2/20 Beginnendes HELLP-Syndrom: 1/20 Amnioninfektionssyndrom: 2/20 Pathologisches CTG: 5/20 Intrauteriner Fruchttod: 1/20 Postpartale Sepsis: 2/20 | Geburtsstillstand: 2/20 Insertio velamentosa: 1/20 Plazentaretention: 3/20 Fieber sub partu: 1/20 Fußvorfall: 1/20 | |
| Geburtsgewicht des Säuglings [g] | < 1000: 2/20 | > 1000 - 1500: 7/20 | > 1500 - 2500: 10/20 |
| | > 2500: 1/20 | | |
| 1-min APGAR-Score des Säuglings <7 | 10/20 | | |
| Entzündliche Histologie der Plazenta | 3/9*3 | | |

*1 Intrauterine growth restriction

*2 Fehlende Angabe zum Zeitpunkt des Blasensprungs

*3 Anzahl der Patientinnen mit histologischem Befund der Plazenta

4.2 Nichtinvasive Fruchtwassergewinnung

Es wurden 20 Frauen mit frühem vorzeitigem Blasensprung in die Studie eingeschlossen, bei 65% (n=13) konnte nichtinvasiv Fruchtwasser gewonnen werden. In 35% der Fälle (n=7) war die Probengewinnung inadäquat. Bei 71,4% (n=5) war der Grund hierfür ein unzureichender Fruchtwasserabgang, wohingegen bei 28,6% (n=2) eine nicht ausreichend lange Probengewinnung ursächlich war. Dies ist in Abbildung 6 dargestellt.

Bei geringem Fruchtwasserabgang stellte der Kraftaufwand beim Auspressen der Vorlagen eine Limitation dar. Bei viel Fruchtwasserabgang oder einer großen Anzahl an Vorlagen war hingegen der Zeitaufwand für die nichtinvasive Probengewinnung ein limitierender Faktor, der im klinischen Alltag Probleme verursachen könnte.

Ergebnisse

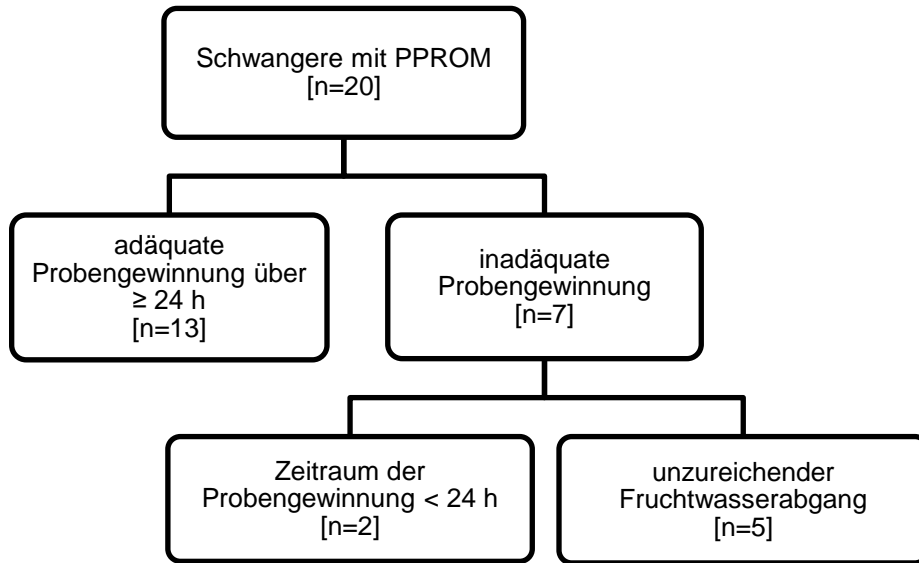


Abbildung 6: Probengewinnung beim PPRM

4.3 Messung von IL-6 mit Point-of-Care Test und ELISA

Die IL-6 Konzentrationen im nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser von 13 Frauen mit PPRM wurden mit zwei Methoden ermittelt. Dargestellt ist eine Übersicht der IL-6 Ergebnisse bestimmt mit ELISA und POC Test (Tab.5).

Tabelle 5: Übersicht der IL-6 Konzentrationen bestimmt mit ELISA und POC Test

| IL6 | ELISA | POC Test |
|---------------------------|-------------|------------------|
| Anzahl Messungen | 176 | 169 |
| Mittelwert [pg/ml] | 7909 | 2160 |
| Median [pg/ml] | 1212 | 439 |
| Range [pg/ml] | 58 - 132114 | 1. 49 - 10001 |

4.3.1 Korrelation der IL-6 Werte

Die Korrelationsanalyse nach Spearman, siehe Abbildung 7, ergab eine statistisch signifikante, sehr stark positive Korrelation der IL-6 Konzentrationen bestimmt mit ELISA und POC Test ($r=0.88$, $p \leq .0001$). Der POC Test besitzt eine Range von 50 pg/ml bis 10000 pg/ml. Werte darunter oder darüber werden als <50 pg/ml oder >10000 pg/ml angezeigt. Nachfolgend werden Konzentrationen <50 pg/ml als 49 pg/ml und Konzentrationen >10000 pg/ml als 10001 pg/ml angegeben.

Ergebnisse

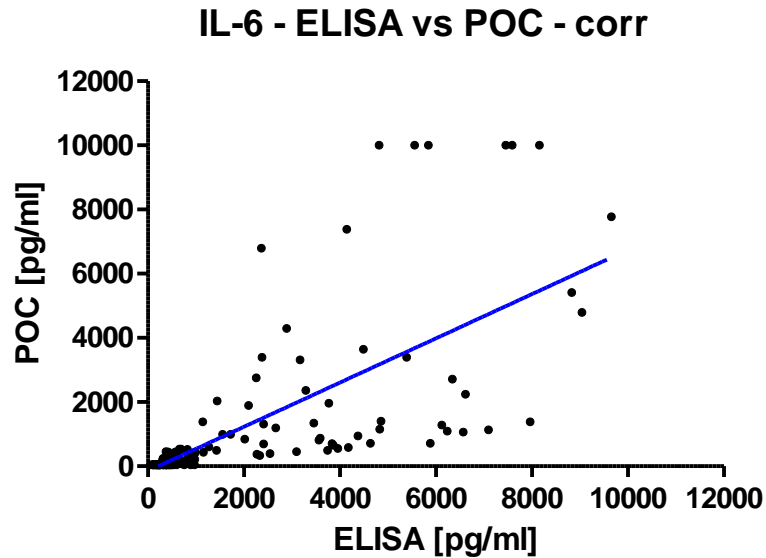


Abbildung 7: Korrelation der mit ELISA und POC Test bestimmten IL-6 Konzentrationen im Fruchtwasser

4.3.2 IL-6 Konzentrationen im Fruchtwasser

Sowohl mit ELISA als auch mit POC Test konnten die IL-6 Konzentrationen im nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser gemessen werden. Es bestand ein statistisch signifikanter Unterschied der IL-6 Werte beider Bestimmungsmethoden ($p \leq .001$). Die Ergebnisse des POC Tests lieferten niedrigere Werte (Abb.8).

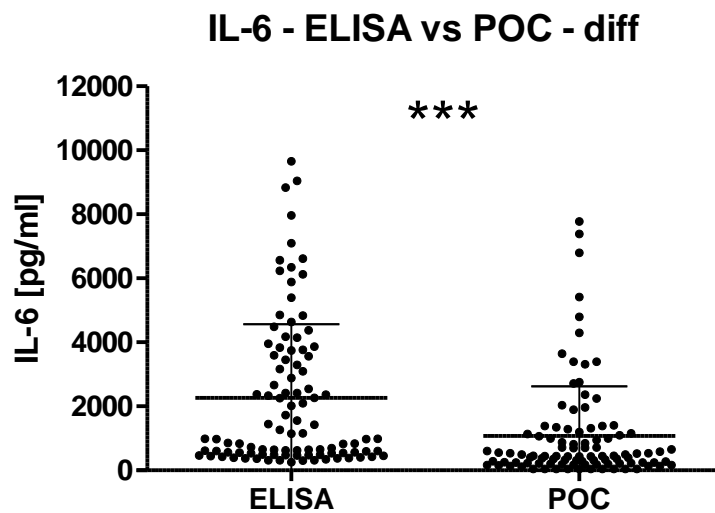


Abbildung 8: IL-6 für die Stichproben ‚Bestimmung mit ELISA‘ und ‚Bestimmung mit POC Test‘, *** = $p \leq .001$

4.3.3 IL-6 Konzentrationen bei blutig tingierten Fruchtwasserproben

Bei der Betrachtung der IL-6 Werte von blutig tingierten Fruchtwasserproben fiel eine stärkere Diskrepanz der Ergebnisse von ELISA und POC Test auf als bei nicht blutigen Proben. Die statistische Analyse nach Spearman ergab sowohl bei blutigen (Abb.10) als auch bei nicht blutigen (Abb.9) Proben eine signifikante positive Korrelation der IL-6 Konzentrationen bestimmt mit ELISA und POC Test. Bei den nicht blutigen Proben war diese jedoch stärker als bei blutigen Proben ($r=0.89$, $p \leq .0001$ vs. $r=0.38$, $p \leq .05$).

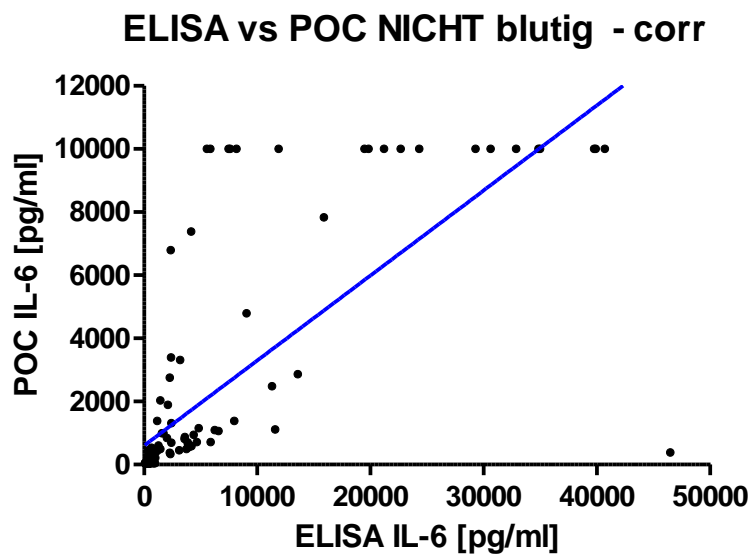


Abbildung 9: Korrelation der IL-6 Konzentrationen bestimmt mit ELISA und POC Test bei nicht blutigen Proben

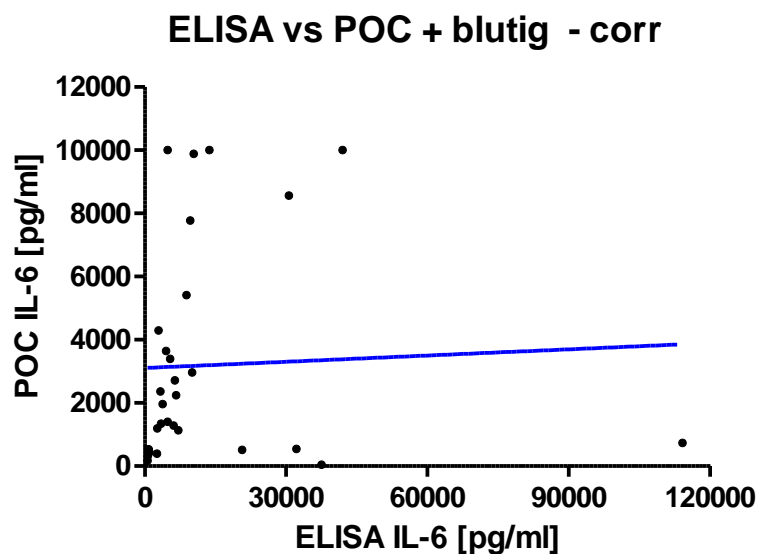


Abbildung 10: Korrelation der IL-6 Konzentrationen bestimmt mit ELISA und POC Test bei blutigen Proben

4.4 Zytokinmessung mit ELISA

4.4.1 Konzentrationen von IL-6, IL-8 und TNF α

IL-6, IL-8 und TNF α Konzentrationen im nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser von 13 Frauen mit PPROM wurden untersucht. Eine Übersicht der mit ELISA gemessenen IL-6, IL-8 und TNF α Werte ist in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Übersicht der Zytokinkonzentrationen gemessen mit ELISA

| Zytokin | IL-6 | IL-8 | TNF |
|--------------------|-------------|-------------|----------|
| Anzahl Messungen | 176 | 171 | 176 |
| Mittelwert [pg/ml] | 7909 | 11500 | 261 |
| Median [pg/ml] | 1212 | 1989 | 107 |
| Range [pg/ml] | 58 - 132114 | 59 - 231184 | 0 - 4370 |

IL-6 und IL-8 zeigten einen signifikanten, stark positiven Zusammenhang (Abb.11). TNF α und IL-6 wiesen ebenfalls eine statistisch signifikante Korrelation auf (Abb.12). Diese war jedoch weniger stark ($r=0.88, p \leq .0001$ vs. $r=0.5, p \leq .0001$).

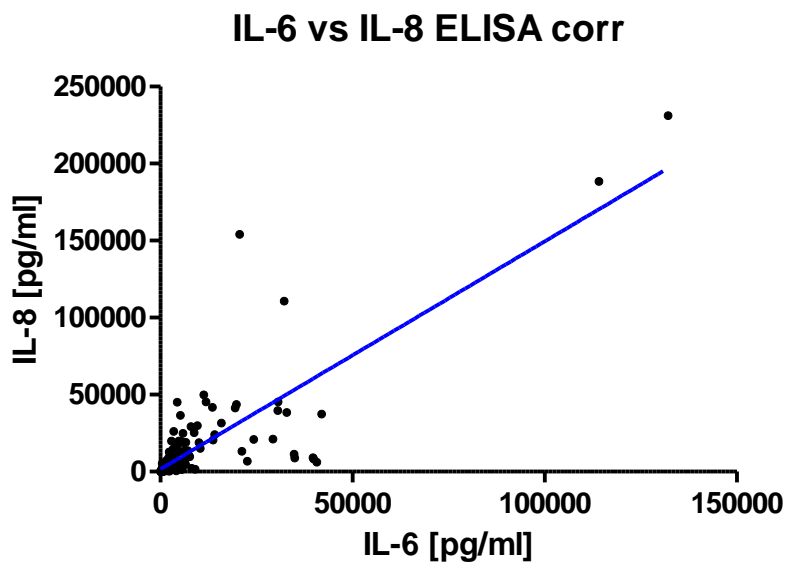


Abbildung 11: Korrelation von IL-6 und IL-8 im nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser

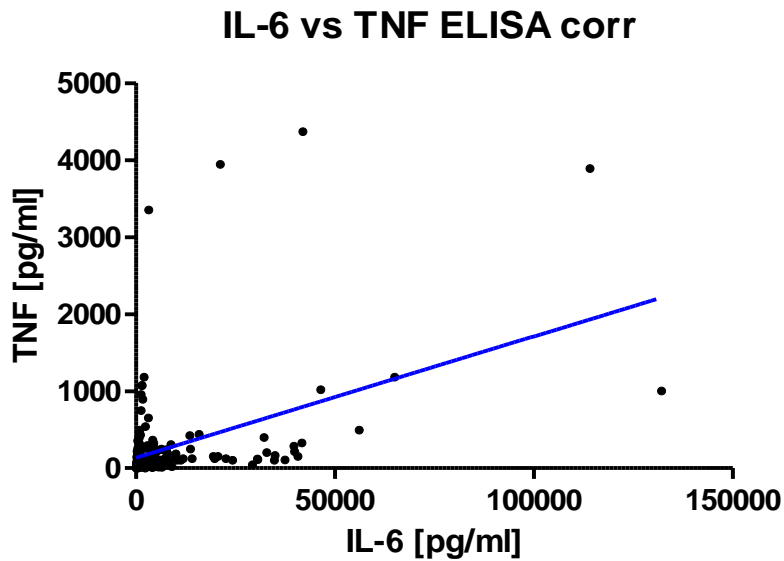


Abbildung 12: Korrelation von IL-6 und TNF α im nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser

4.4.2 Verlauf von IL-6, IL-8 und TNF α über zwei Wochen

Die Konzentrationsverläufe konnten durch die sequenzielle, nichtinvasive Fruchtwassergewinnung über 24 Stunden und die anschließende Messung mit ELISA ermittelt werden. Dargestellt werden die Zytokinverläufe von IL-6, IL-8 und TNF α für Fälle mit Werten über 14 Tage hinweg (Abb.13-15). Die Tage bis zur Geburt werden als days to birth (dtb) bzw. nach Geburt als days post partum (dpp) bezeichnet. Die Anzahl der Tage wird zugunsten der Übersichtlichkeit numerisch ausgedrückt.

Beim IL-6 Verlauf zeigten sich sehr unterschiedliche IL-6 Konzentrationen der Fälle, dabei bewegte sich der überwiegende Anteil (Graph 6, 10, 11, 12) über zwei Wochen hinweg in gleichbleibenden Konzentrationsbereichen. Die Werte bewegten sich im Bereich von 103 bis 114113 pg/ml. Bei zwei Frauen fielen ab vier (Graph 5) bzw. zehn (Graph 2) Tagen vor Geburt IL-6 Anstiege auf. Insgesamt ließ sich ein Trend von höheren Zytokinwerten am Tag der Geburt als an Tag 13 vor Geburt erkennen (im Mittel 27806 pg/ml vs. 2486 pg/ml). In Abbildung 13 ist dies graphisch dargestellt.

Ergebnisse

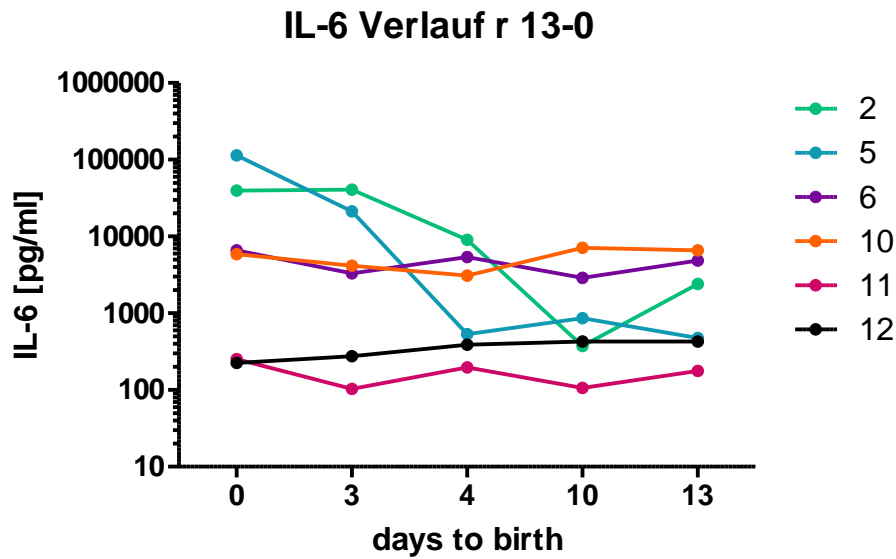


Abbildung 13: IL-6 Verläufe über zwei Wochen (ELISA)

IL-8 wies ähnliche Verläufe wie IL-6 auf. Vier von sechs Graphen zeigten einen weitgehend konstanten Verlauf in jeweils unterschiedlichen IL-8 Konzentrationsniveaus (Graph 6, 10, 11, 12). IL-8 stieg, wie auch IL-6, in zwei Fällen (Graph 2, 5) zum Tag der Geburt hin deutlich stärker an als bei den anderen Probandinnen. IL-8 lieferte Werte von 100 pg/ml bis 188355 pg/ml. Am Tag der Geburt wurden im Mittel höhere Zytokinkonzentrationen als an Tag 13 vor Geburt gemessen (36714 pg/ml vs. 3200 pg/ml) (Abb. 14).

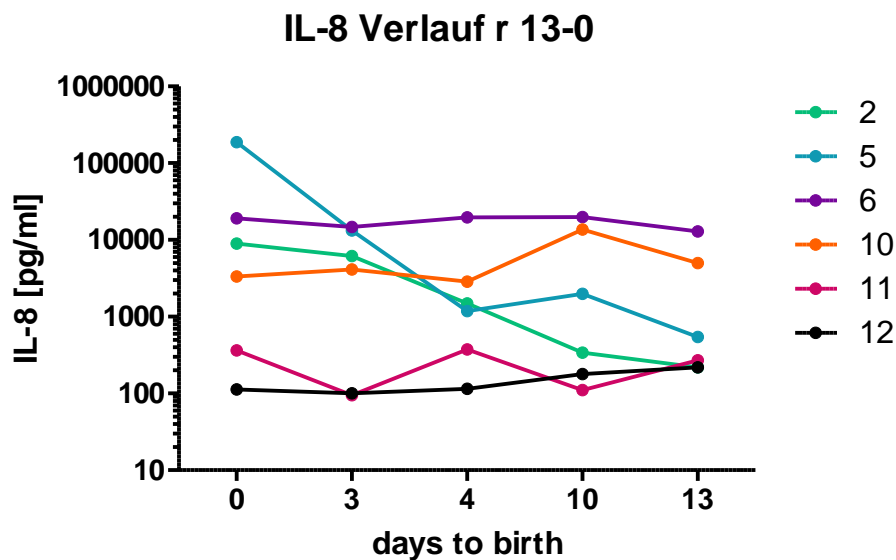


Abbildung 14: IL-8 Verläufe über zwei Wochen (ELISA)

Ergebnisse

TNF α bewegte sich in weitaus niedrigeren sowie engeren Picogramm-Bereichen pro Milliliter als die bisher aufgeführten Zytokine. Die Konzentrationen reichten von 0 bis 3945 pg/ml. Die TNF α Verläufe über zwei Wochen, dargestellt in Abbildung 15, lieferten von IL-6 und IL-8 abweichende, weniger konstante Graphen. Von 3 dtb bis 0 dtb stieg die TNF α Konzentration in vier (Graph 2, 6, 11, 12) von sechs Fällen an. Insgesamt ließ sich eine Tendenz zu höheren Zytokinwerten am Tag der Geburt als 13 Tage vor Geburt erkennen (im Mittel 758 pg/ml vs. 66 pg/ml).

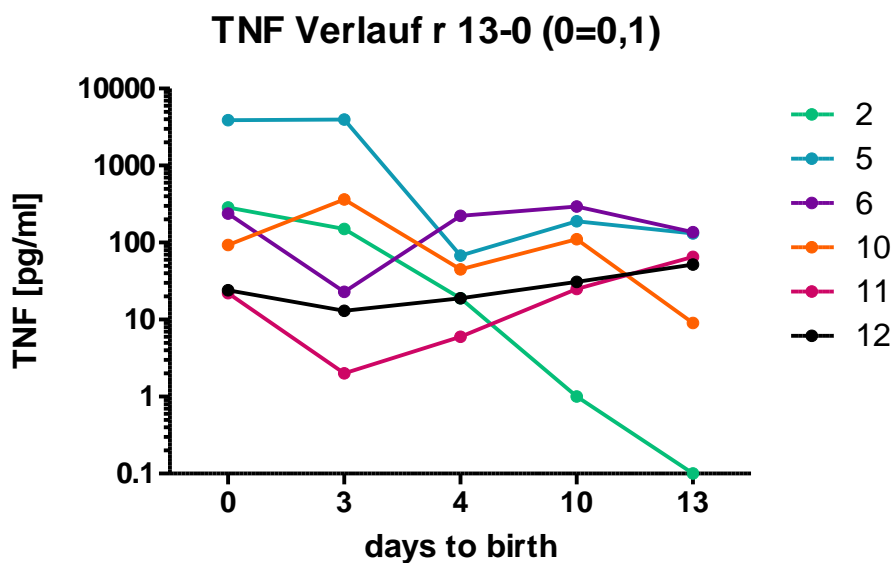


Abbildung 15: TNF α Verläufe über zwei Wochen (ELISA)

Es zeigten sich sowohl bei jeder Patientin als auch bei jedem Parameter unterschiedliche Werte. Über den Zeitraum von zwei Wochen ließ sich keine absolute Systematik der Zytokinverläufe erkennen (Abb.13-15).

4.5 Maternale Entzündungsparameter im Verlauf sowie Kasuistik

Die individuelle Kasuistik in Zusammenschau mit der graphischen Darstellung der Entzündungsparameter lieferte Aufschluss über die Ursachen der unterschiedlichen ZytokinKonzentrationen. Für Fälle mit einer Fruchtwassergewinnung über mehr als drei Tage wurden nachfolgend die IL-6 Konzentration im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie die Konzentration des CRPs (Normwert Serum ≤ 5 mg/L) im maternalen Serum als Entzündungsparameter im zeitlichen Verlauf graphisch dargestellt. Die antibiotische Therapie ist als farbiger Balken im Diagramm enthalten.

Ergebnisse

Die Patientinnen werden nachfolgend vorgestellt, der Verlauf der Entzündungsparameter wird erläutert und eine Zusammenschau von Klinik und Behandlungsmaßnahmen erfolgt. Nach der Beschreibung von Geburt und Histologie der Plazenta werden potenzielle Zusammenhänge dargelegt.

4.5.1 Entzündungsprofil (IL-6 und CRP) Patientin Nr.2

Patientin Nr. 2 war eine 37-jährige Zweitgravida, Nullipara mit polyzystischem Ovar-Syndrom (PCOS), Hypothyreose und Insulinresistenz. Sie war im Zustand nach (Z.n.) Spontanabort 2015, Bandscheibenprolaps 2012 und Konisation 2010. Grund der stationären Aufnahme war ein PPROM mit 25+2 SSW, der Zeitraum vom Blasensprung bis zur Geburt betrug 15 Tage. Bei Aufnahme zeigte sich ein Oligohydramnion in der Abdomensonographie.

Das IL-6 im Fruchtwasser zeigte zu Beginn des Aufenthalts von 13 dtb auf 12 dtb einen Abfall. Von 10 dtb auf 9 dtb und 9 dtb auf 8 dtb fiel ein sprunghafter Anstieg des IL-6 (POC 10001 pg/ml und ELISA 8156 pg/ml) auf. Die Werte blieben auf einem hohen Niveau und erreichten 3 dtb ein Maximum, das sich plateauartig bis zur Geburt fortsetzte. Auch das CRP im maternalen Serum zeigte erhöhte Werte. Von 11 dtb bis 7 dtb zeigten sich Anstiege von 7 mg/L bis 10 mg/L. Fünf Tage zeitversetzt zum IL-6 Anstieg fielen erneut erhöhte CRP-Konzentrationen (3 dtb, 7 mg/L) auf. Diese erreichten an den darauffolgenden Tagen Werte von 13 mg/L (2 dtb), 11 mg/L (1dtb) und 20 mg/L (0 dtb). Den Verlauf und die Werte zeigen Abb.16 und Tab.7.

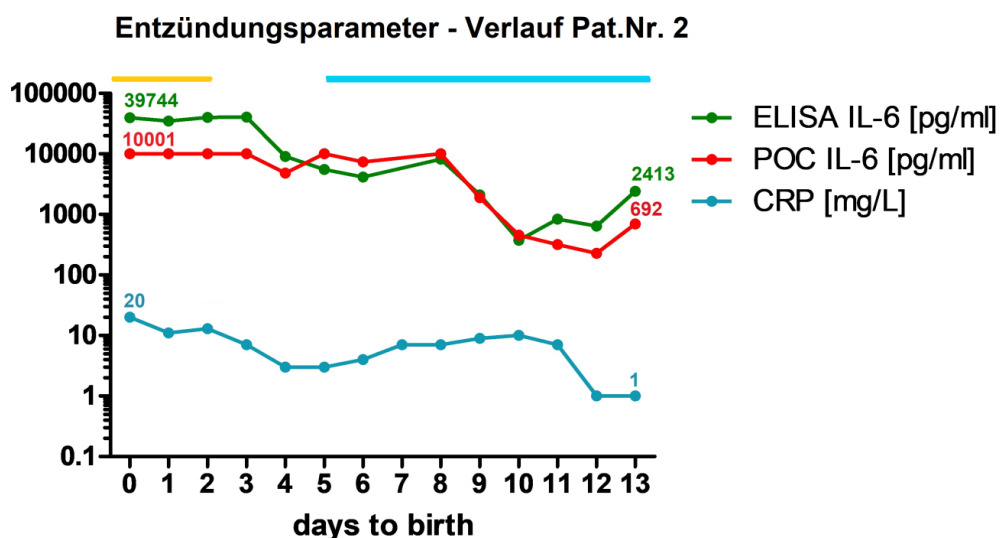


Abbildung 16: Darstellung von IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.2, Ampicillin —, Cefuroxim —

Ergebnisse

Tabelle 7: IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.2

| Pat.Nr. | Probentag | ELISA IL-6 [pg/ml] | POC IL-6 [pg/ml] | CRP [mg/L] |
|---------|--------------------|-----------------------|---------------------|------------|
| 2 | 13 Tage vor Geburt | 2413 | 692 | 1 |
| | 12 Tage vor Geburt | 643 | 229 | 1 |
| | 11 Tage vor Geburt | 837 | 318 | 7 |
| | 10 Tage vor Geburt | 374 | 454 | 10 |
| | 9 Tage vor Geburt | 2098 | 1897 | 9 |
| | 8 Tage vor Geburt | 8156 | 10001 | 7 |
| | 7 Tage vor Geburt | / | / | 7 |
| | 6 Tage vor Geburt | 4143 | 7383 | 4 |
| | 5 Tage vor Geburt | 5554 | 10001 | 3 |
| | 4 Tage vor Geburt | 9043 | 4795 | 3 |
| | 3 Tage vor Geburt | 40676 | 10001 | 7 |
| | 2 Tage vor Geburt | 39877 | 10001 | 13 |
| | 1 Tag vor Geburt | 34963 | 10001 | 11 |
| | Tag der Geburt | 39744 | 10001 | 20 |

Eine intermittierende Bolustokolyse erfolgte von 15 dtb bis 11 dtb und die Lungenreifebehandlung wurde 14 dtb abgeschlossen. Eine antibiotische Behandlung mit Ampicillin (—) wurde 15 dtb begonnen. Der Abstrich bei Aufnahme zeigte eine vaginale Keimbefestigung mit reichlich *Enterococcus faecalis* und mäßig *Staphylococcus epidermidis*. Bei normwertigem CRP wurde die antibiotische Therapie mit Ampicillin (—) 5 dtb beendet. Unter ansteigenden Entzündungsparametern im Serum wurde von 2 dtb bis 6 dpp Cefuroxim (—) verabreicht. Im CTG fielen 2 dtb späte Dezelerationen auf, sodass eine CTG-Dauerüberwachung erfolgte. Bei Anhydramnion, zunehmend späten Dezelerationen und Fieber sub partu wurde mit 27+3 SSW eine Sectio in Vollnarkose durchgeführt und ein 1270 g schwerer Junge mit einem APGAR von 7/8/9 und Nabelarterien-pH von 7,4 entbunden. Ein Vaginalabstrich am Tag der Geburt zeigte massenhaft *Streptococcus agalactiae*, mäßig *Enterococcus faecalis* sowie spärlich *Corynebacterium amycolatum*. Die Plazenta war mit reichlich *Streptococcus agalactiae* sowie mäßig *Prevotella bivia* besiedelt und wies eine Funisitis sowie Amnionitis im Sinne eines Amnioninfektionssyndromes bei vorzeitigem Blasensprung auf. Bei weiterhin ansteigenden CRP Werten wurde ab 1 dpp Piperacillin/Tazobactam verabreicht. Es kam 5 dpp zu Fieber, Schüttelfrost, Tachykardie und Dyspnoe der Patientin. Die Blutkultur 5 dpp enthielt, wie der Abstrich von Plazenta und Vagina, *Streptococcus*

Ergebnisse

agalactiae, sodass von einer Sepsis infolge einer Vaginitis sowie Amnionitis mit Streptococcus agalactiae auszugehen ist.

Der Zytokinabfall 12 dtb ist am ehesten mit einer Wirkung der tokolytischen Behandlung oder der antibiotischen Therapie in Einklang zu bringen. Der drastische Anstieg der IL-6 Konzentrationen 8 dtb und die hohen Zytokinwerte 3 bis 0 dtb wären mit der Infektion infolge einer Besiedlung durch Streptococcus agalactiae vereinbar. Die mikrobiologische und histologische Untersuchung der Plazenta sprechen ebenfalls für diese Annahme.

4.5.2 Entzündungsprofil (IL-6 und CRP) Patientin Nr.4

Patientin Nr. 4, eine 31-jährige Erstgravida, Nullipara mit Tierhaar- und Hausstauballergie, war im Z.n. zweimaliger Konisation mit verstärkter Nachblutung. Mit 20+0 SSW wurde eine isthmozervikale Insuffizienz festgestellt, welche mit der Verordnung von Progesteron, Magnesium sowie körperlicher Schonung einherging und mit 32+0 SSW letztlich Ursache für die stationäre Aufnahme war. Drei Tage später fanden ein PPROM und 12 Tage nach diesem die Geburt statt.

10 dtb zeigten sich (Abb.17, Tab.8) hohe IL-6 Konzentrationen (POC 10001 pg/ml, ELISA 32843 pg/ml). Innerhalb von fünf Tagen fielen die Zytokine auf Werte um die 2000 pg/ml und bewegten sich, bis auf einen Ausreißer (POC 3 dtb, 6798 pg/ml), von 5 dtb bis 1 dtb auf Werte um die 1000 pg/ml zu. CRP zeigte 10 dtb ebenfalls hohe Konzentrationen (38 mg/L), welche innerhalb von fünf Tagen auf 6 mg/L sanken. Ab 5 dtb normalisierten sich die CRP Werte (2-4 mg/L).

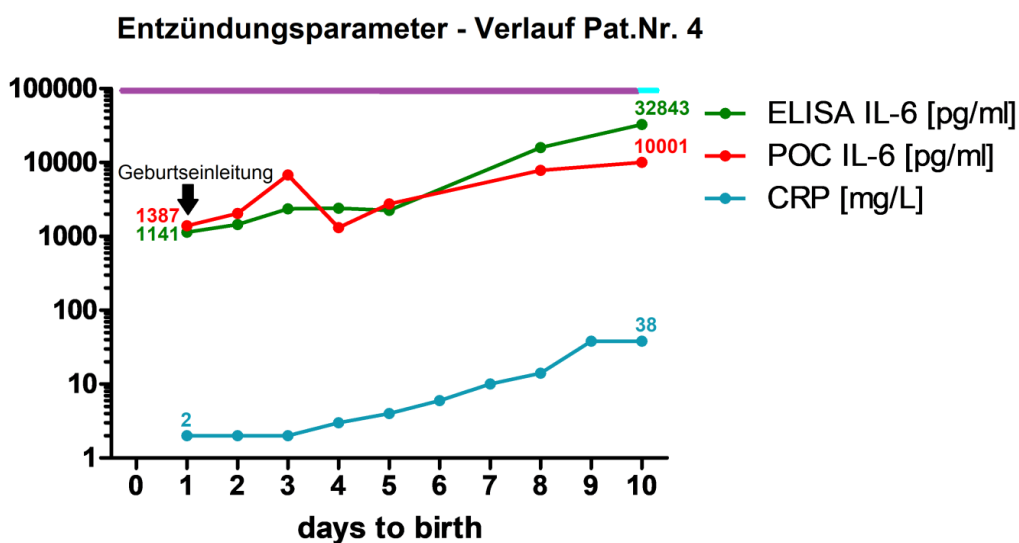


Abbildung 17: Darstellung von IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.4, Ampicillin —, Ampicillin/Sulbactam —

Ergebnisse

Tabelle 8: IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.4

| Pat.Nr. | Probentag | ELISA IL-6 [pg/ml] | POC IL-6 [pg/ml] | CRP [mg/L] |
|---------|--------------------|--------------------|------------------|------------|
| 4 | 10 Tage vor Geburt | 32843 | 10001 | 38 |
| | 9 Tage vor Geburt | / | / | 38 |
| | 8 Tage vor Geburt | 15880 | 7837 | 14 |
| | 7 Tage vor Geburt | / | / | 10 |
| | 6 Tage vor Geburt | / | / | 6 |
| | 5 Tage vor Geburt | 2255 | 2757 | 4 |
| | 4 Tage vor Geburt | 2413 | 1315 | 3 |
| | 3 Tage vor Geburt | 2360 | 6798 | 2 |
| | 2 Tage vor Geburt | 1442 | 2038 | 2 |
| | 1 Tag vor Geburt | 1141 | 1387 | 2 |

Die letzte Lungenreifebehandlung wurde 14 dtb durchgeführt. Die anfängliche antibiotische Therapie mit Ampicillin (—) wurde nach Erhalt des mikrobiologischen Befundes des Vaginalabstrichs 15 dtb mit massenhaft *Enterococcus faecalis*, mäßig *Streptococcus mitis/oralis*, mäßig *Lactobacillus* und spärlich *Staphylococcus hominis* von 10 dtb bis 0 dtb auf Ampicillin/Sulbactam (—) umgestellt. Die vaginale Untersuchung in Zusammenschau mit dem mikrobiologischen Befund lieferte die Diagnose Kolpitis.

Mit 34+0 SSW wurde die Geburt bei normwertigem CRP und unauffälliger Klinik eingeleitet. Am darauffolgenden Tag wurde wegen einem Geburtsstillstand in der Eröffnungsperiode eine Sectio durchgeführt und ein Junge mit 2300 g, einem APGAR-Score von 6/8/10 und Nabelarterien-pH von 7,29 entbunden.

Die mikrobiologische Untersuchung der Plazenta ergab eine mäßige Besiedlung mit *Escherichia coli*.

Der Abfall der zu Beginn des stationären Aufenthalts hohen IL-6 Werte stand im zeitlichen Zusammenhang mit der Umstellung von Ampicillin (—) auf Ampicillin/Sulbactam (—) 10 dtb. Die Graphen zeigen eindrücklich wie sich in diesem Fall der Verlauf von CRP und IL-6 gleicht.

4.5.3 Entzündungsprofil (IL-6 und CRP) Patientin Nr.5

Bei Patientin Nr. 5 handelte es sich um eine 41-jährige Zweitgravida, Primipara mit einer trichorialen Drillingsgravidität bei initialer Quadrupletanlage nach Insemination. Die Schwangere war heterozygote Faktor-II-Trägerin und gab als Vorerkrankungen

Ergebnisse

Migräne, Osteoporose sowie eine MCP- und Propofolallergie an. Im Schwangerschaftsverlauf manifestierte sich ein Gestationsdiabetes und mit 15+0 SSW wurde eine Cerclage durchgeführt. Mit 17+6 SSW erfolgte die stationäre Aufnahme bei Unterbauchschmerzen und vaginalen Blutungen. Auf Station ereignete sich mit 18+2 SSW der PPROM von Fet I. Die Dauer vom Blasensprung bis zur Geburt betrug 52 Tage. Sonographisch zeigte sich ein Oligohydramnion.

IL-6 zeigte über einen Verlauf von sechs Wochen durchwegs niedrige Konzentrationen. An 45/44/40/35/34/33/32/19 dtb waren leichte IL-6 Anstiege vorhanden, dabei fiel 45 dtb ein Ausreißer auf (ELISA 11561 pg/ml). Von 4 dtb auf 3 dtb kam es zu einem starken Anstieg der Zytokinkonzentration im Fruchtwasser (ELISA 533 pg/ml auf 21185 pg/ml, POC 213 pg/ml auf 10001 pg/ml). 1 dtb maß der ELISA ein IL-6 von 132114 pg/ml. Bei blutiger Probe 0 dtb (●) lieferte der ELISA 114113 pg/ml und der POC Test wies einen paradoxen IL-6 Wert von 736 pg/ml auf. Der CRP Verlauf im Serum der Mutter zeigte - wie auch der IL-6 Verlauf im Fruchtwasser - über sechs Wochen durchwegs niedrige Werte von 1 mg/L und 2 mg/L. Von 4 dtb auf 3 dtb stieg das CRP ebenfalls sprunghaft an (2 mg/L auf 22 mg/L). Von 3 dtb auf 2 dtb erhöhte sich der Wert nochmals auf das 4-fache (89 mg/L) und blieb bis 0 dtb ähnlich hoch. Abbildung 18 und Tabelle 9 veranschaulichen dies.

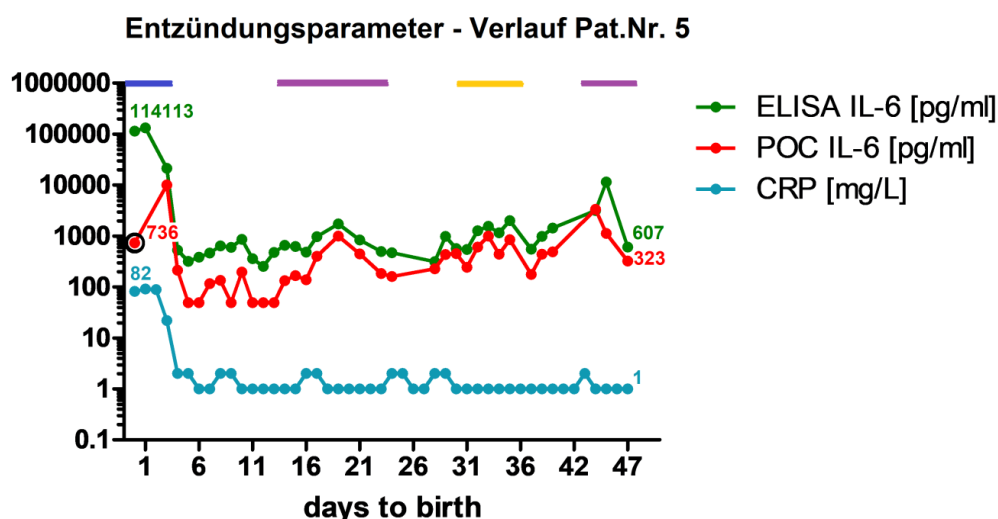


Abbildung 18: Darstellung von IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.5, Ampicillin/Sulbactam —, Cefuroxim —, Meropenem —, blutige Probe O

Ergebnisse

Tabelle 9: IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.5

| Pat.Nr. | Probentag | ELISA IL-6 [pg/ml] | POC IL-6 [pg/ml] | CRP [mg/L] |
|---------|--------------------|-----------------------|---------------------|------------|
| 5 | 47 Tage vor Geburt | 607 | 323 | 1 |
| | 46 Tage vor Geburt | / | / | 1 |
| | 45 Tage vor Geburt | 11561 | 1118 | 1 |
| | 44 Tage vor Geburt | 3167 | 3318 | 1 |
| | 43 Tage vor Geburt | / | / | 2 |
| | 42 Tage vor Geburt | / | / | 1 |
| | 41 Tage vor Geburt | / | / | 1 |
| | 40 Tage vor Geburt | 1428 | 490 | 1 |
| | 39 Tage vor Geburt | 985 | 439 | 1 |
| | 38 Tage vor Geburt | 554 | 176 | 1 |
| | 36 Tage vor Geburt | / | / | 1 |
| | 35 Tage vor Geburt | 2016 | 845 | 1 |
| | 34 Tage vor Geburt | 1155 | 438 | 1 |
| | 33 Tage vor Geburt | 1558 | 998 | 1 |
| | 32 Tage vor Geburt | 1268 | 609 | 1 |
| | 31 Tage vor Geburt | 546 | 242 | 1 |
| | 30 Tage vor Geburt | 568 | 449 | 1 |
| | 29 Tage vor Geburt | 985 | 435 | 2 |
| | 28 Tage vor Geburt | 314 | 228 | 2 |
| | 27 Tage vor Geburt | / | / | 1 |
| | 26 Tage vor Geburt | / | / | 1 |
| | 25 Tage vor Geburt | / | / | 2 |
| | 24 Tage vor Geburt | 473 | 161 | 2 |
| | 23 Tage vor Geburt | 497 | 184 | 1 |
| | 22 Tage vor Geburt | / | / | 1 |
| | 21 Tage vor Geburt | 832 | 443 | 1 |
| | 20 Tage vor Geburt | / | / | 1 |
| | 19 Tage vor Geburt | 1720 | 996 | 1 |
| | 18 Tage vor Geburt | / | / | 1 |
| | 17 Tage vor Geburt | 976 | 400 | 2 |
| | 16 Tage vor Geburt | 480 | 138 | 2 |
| | 15 Tage vor Geburt | 619 | 167 | 1 |
| | 14 Tage vor Geburt | 658 | 133 | 1 |
| | 13 Tage vor Geburt | 475 | 49 | 1 |
| | 12 Tage vor Geburt | 253 | 49 | 1 |
| | 11 Tage vor Geburt | 361 | 49 | 1 |
| | 10 Tage vor Geburt | 858 | 196 | 1 |
| | 9 Tage vor Geburt | 595 | 49 | 2 |
| | 8 Tage vor Geburt | 643 | 134 | 2 |
| | 7 Tage vor Geburt | 466 | 117 | 1 |
| | 6 Tage vor Geburt | 385 | 49 | 1 |
| | 5 Tage vor Geburt | 319 | 49 | 2 |
| | 4 Tage vor Geburt | 533 | 213 | 2 |
| | 3 Tage vor Geburt | 21185 | 10001 | 22 |
| | 2 Tage vor Geburt | / | / | 89 |
| | 1 Tag vor Geburt | 132114 | | 91 |
| | Tag der Geburt | 114113 | 736 | 82 |

Ergebnisse

Die letzte Lungenreifebehandlung wurde 13 dtb durchgeführt. Antibiotisch wurde die Patientin zunächst mit Ampicillin und nachfolgend bis 43 dtb mit Ampicillin/Sulbactam (—) abgedeckt. Der erste Vaginalabstrich 56 dtb ergab eine Besiedlung mit vereinzelt *Klebsiella pneumoniae*, massenhaft *Streptococcus agalactiae* und massenhaft *Enterococcus faecalis*. Der Folgeabstrich (37 dtb) wies reichlich *Klebsiella pneumoniae* nach. Eine antibiotische Therapie mit Cefuroxim (—) von 36 dtb bis 30 dtb wurde angesetzt. Als nächstes folgten 27 dtb erneut ein Nachweis von reichlich *Klebsiella pneumoniae* und die Gabe von Ampicillin/Sulbactam (—, 23 dtb bis 13 dtb). 9 dtb wurde der vorerst letzte Abstrich entnommen und lieferte eine vaginale Besiedlung mit massenhaft *Escherichia coli*, mäßig *Klebsiella pneumoniae* und spärlich *Lactobacillus*. 3 dtb bis 5 dpp erfolgte die Verabreichung von Meropenem (—). Eine Tokolyse wurde ab 4 dtb bei regelmäßiger Wehentätigkeit durchgeführt. Bei einem unaufhaltsamen Geburtsbeginn wegen therapierefraktärer Wehentätigkeit und beginnendem Amnioninfektionssyndrom mit CRP Werten von 82 mg/L kam es mit 25+5 SSW zur spontanen Geburt von Fet I (männlich, 900 g, APGAR 6/6/6, Nabelarterien-pH 7,26). Fet II (männlich, 870 g, APGAR 7/8/8, Nabelarterien-pH 7,4) und Fet III (weiblich, 771 g, APGAR 6/7/7, Nabelarterien-pH 7,26) wurden per Sectio entbunden.

Die histologische Diagnose der Plazenta war eine generalisierte Funisitis und fokale Amnionitis bei frühem vorzeitigem Blasensprung.

Dies lieferte die Begründung für den plötzlichen Anstieg der Entzündungsparameter im Fruchtwasser und im maternalen Serum 3 dtb, der lokale Infektionsbeginn war wohl Ursache des regelmäßigen Wehenbeginns 4 dtb.

4.5.4 Entzündungsprofil (IL-6 und CRP) Patientin Nr.6

Bei Patientin Nr. 6 handelte es sich um eine 40-jährige Fünftgravida, Drittpara im Z.n. Abortcurettage, Ovar-/Append- und Cholezystektomie. Anamnestisch wurde eine Rhinitis allergica und eine Eisenmangelanämie angegeben.

Mit 18+0 SSW litt die Patientin mit einer Plazenta praevia marginalis unter Blutungen und mit 24+6 SSW ereignete sich ein PPRM, welcher Grund der stationären Aufnahme war. Die Geburt erfolgte 23 Tage später. Sonographisch fielen 25 dtb ein Oligohydramnion und bei einer Kontrolle 19 dtb und 0 dtb je ein Anhydramnion auf.

IL-6 im überwiegend blutig tingierten Fruchtwasser (●) wies über drei Wochen sowohl mit ELISA als auch mit POC Test ein hohes Konzentrationsniveau auf,

Ergebnisse

welches jedoch für die zwei Messmethoden voneinander abweichende Werte zeigte. Zu Beginn (21 dtb bis 16 dtb) der Fruchtwassergewinnung hatten die Graphen von ELISA und POC Test ihr Maximum (POC 10001 pg/ml und ELISA 30551 pg/ml). 11 dtb erreichten der POC Test (1196 pg/ml) und der ELISA (2662 pg/ml) ihren niedrigsten Wert. Auch CRP zeigte 11 dtb mit 1 mg/L seine niedrigste Konzentration. Anders als IL-6 war CRP jedoch nicht durchwegs erhöht. Es zeigte lediglich zu Beginn (19 dtb bis 17 dtb) und am Ende (6 dtb bis 1 dtb) der Fruchtwassergewinnung erhöhte Werte. In Abbildung 19 und Tabelle 10 sind diese Ergebnisse dargestellt.

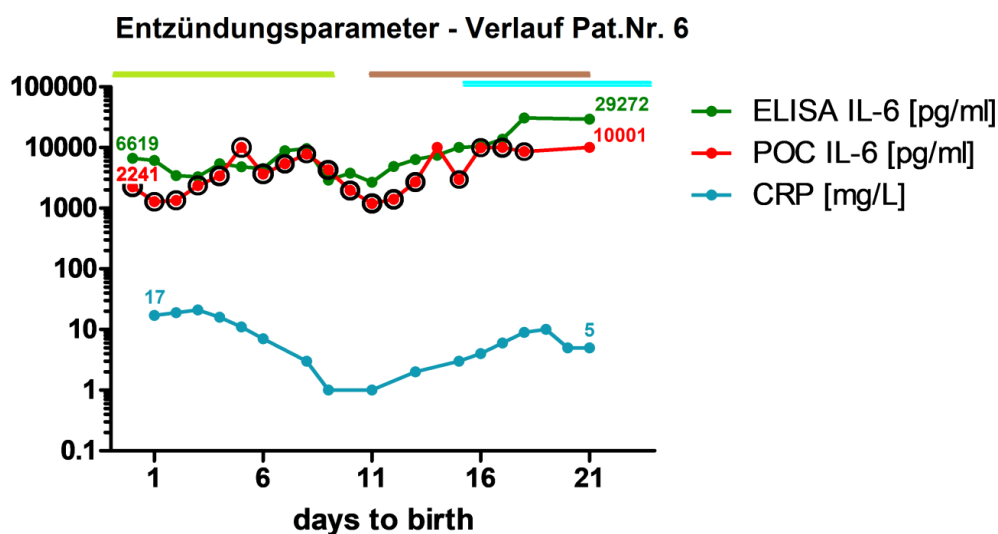


Abbildung 19: Darstellung von IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.6, Ampicillin —, Clarithromycin —, Ciprofloxazin —, blutige Probe O

Tabelle 10: IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.6

| Pat.Nr. | Probenstag | ELISA IL-6 [pg/ml] | POC IL-6 [pg/ml] | CRP [mg/L] |
|---------|--------------------|--------------------|------------------|------------|
| 6 | 21 Tage vor Geburt | 29272 | 10001 | 5 |
| | 20 Tage vor Geburt | / | / | 5 |
| | 19 Tage vor Geburt | / | / | 10 |
| | 18 Tage vor Geburt | 30551 | 8560 | 9 |
| | 17 Tage vor Geburt | 13701 | 10001 | 6 |
| | 16 Tage vor Geburt | 10378 | 9886 | 4 |
| | 15 Tage vor Geburt | 10028 | 2962 | 3 |
| | 14 Tage vor Geburt | 7458 | 10001 | / |
| | 13 Tage vor Geburt | 6342 | 2718 | 2 |

Ergebnisse

| | | | | |
|--|--------------------|------|-------|----|
| | 12 Tage vor Geburt | 4856 | 1402 | / |
| | 11 Tage vor Geburt | 2662 | 1196 | 1 |
| | 10 Tage vor Geburt | 3769 | 1963 | / |
| | 9 Tage vor Geburt | 2887 | 4294 | 1 |
| | 8 Tage vor Geburt | 9657 | 7774 | 3 |
| | 7 Tage vor Geburt | 8831 | 5419 | / |
| | 6 Tage vor Geburt | 4488 | 3648 | 7 |
| | 5 Tage vor Geburt | 4815 | 10001 | 11 |
| | 4 Tage vor Geburt | 5393 | 3391 | 16 |
| | 3 Tage vor Geburt | 3291 | 2363 | 21 |
| | 2 Tage vor Geburt | 3454 | 1340 | 19 |
| | 1 Tag vor Geburt | 6121 | 1286 | 17 |
| | Tag der Geburt | 6619 | 2241 | / |

Die Patientin erhielt von 25 dtb bis 1 dtb intermittierend eine Bolustokolyse. Die Lungenreifebehandlung wurde zuletzt 24 dtb durchgeführt. Wie beim PPROM üblich erhielt die Schwangere zunächst prophylaktisch Ampicillin (—) über zehn Tage. Dieses wurde bei blandem Vaginalabstrich (25 dtb, reichlich Staphylococcus epidermidis und mäßig Lactobacillus) und positivem Ureaplasmenachweis im Urin durch Clarithromycin (—, 21 dtb bis 11 dtb) ergänzt. In diesem Zeitraum fand 19 dtb ein zweiter Vaginalabstrich statt, der eine Besiedlung mit reichlich Enterobacter cloacae und mäßig Staphylococcus epidermidis ergab. Von 9 dtb bis 5 dpp erfolgte die Gabe von Ciprofloxazin (—).

Eine therapierefraktäre Wehentätigkeit und ein Fußvorfall führten 0 dtb zu einem eiligen Kaiserschnitt mit 28+2 SSW. Es wurde ein Mädchen mit 1140 g, einem APGAR-Score von 6/7/9 und Nabelarterien-pH von 7,31 entbunden.

Die mikrobiologische und histologische Untersuchung der Plazenta ergaben keine pathologische Keimbesiedlung und keine entzündliche Histologie, es handelte sich um eine hypertrophe Plazenta mit älteren Blutungsresiduen.

Es ist davon auszugehen, dass das bei 90% der Fruchtwasserproben enthaltene Blut (●) bei Plazenta praevia marginalis für die Variabilität zwischen den IL-6 Messungen von ELISA und POC Test ausschlaggebend war. Die hohen IL-6 Werte 21 dtb und 18 dtb mit anschließendem Abfall - ELISA von 30551 pg/ml 18 dtb auf 13701 pg/ml 17 dtb - standen im zeitlichen Zusammenhang mit der zusätzlichen Verabreichung von Clarithromycin (—) 21 dtb aufgrund des positiven Ureaplasmenachweises. Des Weiteren fiel auf, dass bei dieser Patientin die Bolustokolyse lange verabreicht wurde. Es bleibt offen, ob das hohe Konzentrationsniveau von IL-6 im Fruchtwasser auf die andauernde Blutung, die Wehentätigkeit oder eine eventuelle MIAC oder IAI zurückzuführen ist.

4.5.5 Entzündungsprofil (IL-6 und CRP) Patientin Nr.7

Patientin Nr. 7 war eine 36-jährige Erstgravida, Nullipara im Z.n. intrazytoplasmatischer Spermieninjektion (ICSI) sowie Laparoskopie und Chromopertubation 2016. Sie hatte eine Hypothyreose und eine Tierhaarallergie.

Mit 31+3 SSW fand ein früher vorzeitiger Blasensprung statt, welcher Grund der stationären Aufnahme war. 23 Tage darauf erfolgte die Geburt.

Der IL-6 Verlauf im Fruchtwasser zeigte über 19 Tage durchwegs niedrige Werte ohne auffällige Zytokinanstiege, die Werte bewegten sich beim ELISA im Bereich von 319 pg/ml bis 820 pg/ml und beim POC Test im Bereich von 49 pg/ml bis 532 pg/ml. CRP zeigte einmalig einen Wert > 5 mg/L (17 dtb, 9 mg/L) und war ansonsten unauffällig. In Abbildung 20 ist dies graphisch dargestellt, Tabelle 11 zeigt die Werte der Entzündungsparameter.

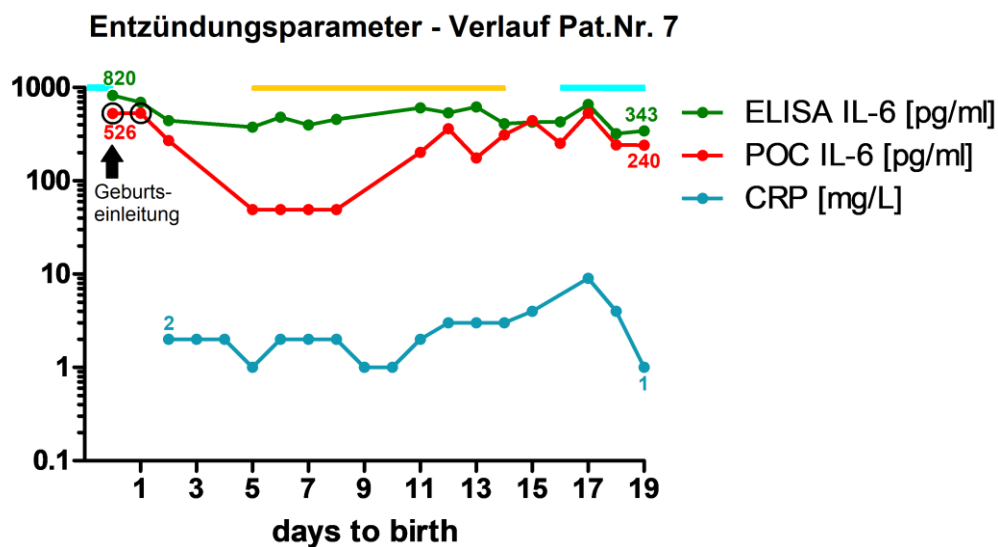


Abbildung 20: Darstellung von IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.7, Ampicillin —, Cefuroxim —, blutige Probe O

Ergebnisse

Tabelle 11: IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.7

| Pat.Nr. | Probentag | ELISA IL-6 [pg/ml] | POC IL-6 [pg/ml] | CRP [mg/L] |
|---------|--------------------|-----------------------|---------------------|------------|
| 7 | 19 Tage vor Geburt | 343 | 240 | 1 |
| | 18 Tage vor Geburt | 319 | 243 | 4 |
| | 17 Tage vor Geburt | 658 | 532 | 9 |
| | 16 Tage vor Geburt | 428 | 253 | / |
| | 15 Tage vor Geburt | 424 | 441 | 4 |
| | 14 Tage vor Geburt | 409 | 310 | 3 |
| | 13 Tage vor Geburt | 620 | 176 | 3 |
| | 12 Tage vor Geburt | 534 | 362 | 3 |
| | 11 Tage vor Geburt | 603 | 202 | 2 |
| | 10 Tage vor Geburt | / | / | 1 |
| | 9 Tage vor Geburt | / | / | 1 |
| | 8 Tage vor Geburt | 454 | 49 | 2 |
| | 7 Tage vor Geburt | 397 | 49 | 2 |
| | 6 Tage vor Geburt | 482 | 49 | 2 |
| | 5 Tage vor Geburt | 375 | 49 | 1 |
| | 4 Tage vor Geburt | / | / | 2 |
| | 3 Tage vor Geburt | / | / | 2 |
| | 2 Tage vor Geburt | 443 | 271 | 2 |
| | 1 Tag vor Geburt | 693 | 531 | / |
| | Tag der Geburt | 820 | 526 | / |

1 dtb und 0 dtb war das Fruchtwasser blutig tingiert (●). Die letzte Lungenreifebehandlung fand 22 dtb statt. Von 23 dtb bis 16 dtb wurde Ampicillin (→) verabreicht. Der Vaginalabstrich 22 dtb lieferte den Nachweis von massenhaft Escherichia coli. 14 dtb bis 5 dtb erfolgte die Verabreichung von Cefuroxim (→), um die Keimbesiedlung 14 dtb (mäßig Klebsiella pneumoniae, Citrobacter koseri und Enterococcus faecalis) antibiogrammgerichtet zu behandeln. 2 dtb konnten keine pathologischen Keime im Vaginalabstrich nachgewiesen werden. Nach der Geburt wurde von 0 dtb bis 3 dpp nochmals die antibiotische Therapie mit Ampicillin (→) verordnet.

Die Einleitung der Geburt erfolgte mit 34+4 SSW. Es wurde ein 1920 g schwerer Junge mit APGAR-Score von 6/7/8 und Nabelarterien-pH von 7,35 geboren.

Der Verlauf der Entzündungsparameter sowohl im Fruchtwasser als auch im Serum der Mutter legt die Vermutung nahe, dass die anfängliche vaginale Keimbesiedlung nicht aufsteigen konnte und ohne Infektion von Chorion oder Amnion vonstattenging.

Ergebnisse

Der blande Abstrich 2 dtb in Zusammenschau mit unauffälligem CRP sowie IL-6 stand wohl im Zusammenhang mit einer erfolgreichen antibiotischen Therapie.

4.5.6 Entzündungsprofil (IL-6 und CRP) Patientin Nr.8

Bei Patientin Nr. 8 handelte es sich um eine 32-jährige Drittgravida, Zweitpara mit rascher Schwangerschaftsfolge. Bei der dritten Schwangerschaft war eine Plazenta praevia partialis mit temporären, periodenstarken Blutungen bekannt.

Aufgrund eines PPROM mit 22+1 SSW wurde die Schwangere stationär aufgenommen. Die Dauer vom Blasensprung bis zur Geburt betrug 13 Tage. Bei Aufnahme zeigte sich ein Oligohydramnion im Ultraschall.

Der mit ELISA gemessene IL-6 Verlauf des teils blutig tingierten Fruchtwassers (○) zeigte 6 dtb (65076 pg/ml) bis 0 dtb (37494 pg/ml) hohe Werte. Im Kontrast dazu stehen IL-6 Konzentrationen bestimmt mit POC Test der meist blutigen Proben (●) von 383 pg/ml (3 dtb) und 49 pg/ml (0 dtb). 6 dtb bis 4 dtb lieferte der POC Test keine Ergebnisse, das Gerät zeigte den Hinweis ‚invalide‘ an.

Im Einklang mit den IL-6 Werten des ELISAs stehen hohe CRP Werte über den gesamten Zeitraum der Probengewinnung. Diese waren mit 74 mg/L ebenfalls 6 dtb höher als 0 dtb mit 18 mg/L (Abb.21, Tab.12).

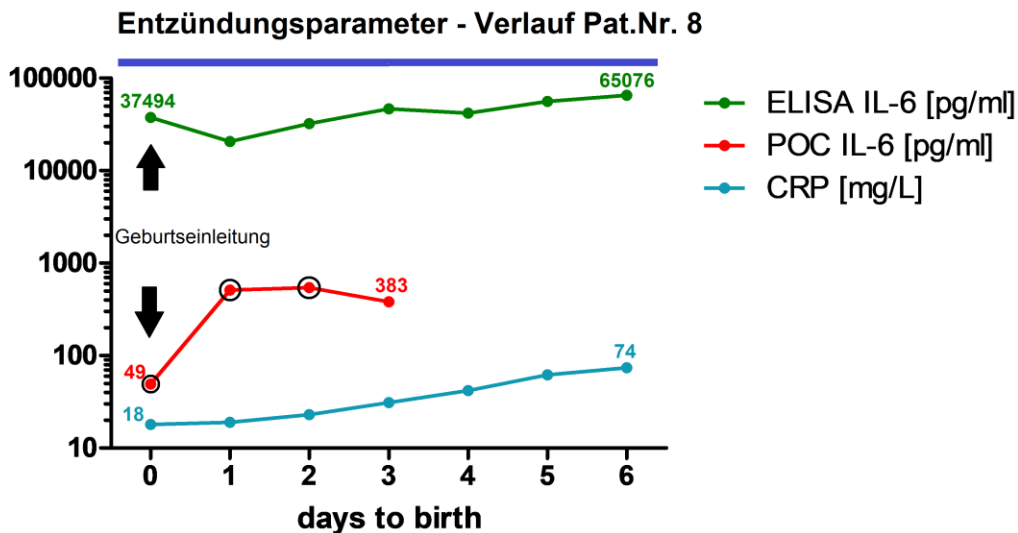


Abbildung 21: Darstellung von IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.8, Meropenem —, blutige Probe ○

Ergebnisse

Tabelle 12: IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.8

| Pat.Nr. | Probentag | ELISA IL-6 [pg/ml] | POC IL-6 [pg/ml] | CRP [mg/L] |
|---------|-------------------|-----------------------|---------------------|------------|
| 8 | 6 Tage vor Geburt | 65076 | / | 74 |
| | 5 Tage vor Geburt | 56155 | / | 62 |
| | 4 Tage vor Geburt | 41694 | / | 42 |
| | 3 Tage vor Geburt | 46459 | 383 | 31 |
| | 2 Tage vor Geburt | 32170 | 543 | 23 |
| | 1 Tag vor Geburt | 20600 | 511 | 19 |
| | Tag der Geburt | 37494 | 49 | 18 |

Die Schwangere erhielt während des stationären Aufenthalts durchgehend eine Tokolysebehandlung, 11 dtb bis 1 dtb eine Bolustokolyse mit Partusisten und zusätzlich 6 dtb bis 1 dtb mit Indometacin. 12 dtb wurde für zwei Tage Ampicillin verabreicht. Es wurde nach Erhalt des Antibiogramms zusammen mit dem Befund einer vaginalen Besiedlung durch mäßig *Candida tropicalis* und massenhaft *Streptococcus agalactiae* auf Meropenem (—) 11 dtb bis 3 dpp umgestellt. Außerdem wurde 10 dtb Econazol gegeben.

Zwölf Tage nach PPROM konnte sonographisch keine Herzaktion des Feten mehr nachgewiesen werden und die Geburt wurde mit 23+6 SSW wegen des intrauterinen Fruchttodes eingeleitet. Es wurde ein avitaler Fet mit 555 g geboren. Nachfolgend fanden eine manuelle Plazentalösung, eine Nachcurettage und eine operative Versorgung eines Zervixrisses statt.

Die histologische Untersuchung der Plazenta ergab ein Amnioninfektionssyndrom bei PPROM. Es lag eine hochgradig floride Chorioamnionitis mit Omphalovaskulitis und subchondrialer Plazentitis vor.

Die mit ELISA gemessenen IL-6 Konzentrationen von 20600 pg/ml bis 65076 pg/ml über eine Woche stehen im Einklang mit den CRP Werten, dem histologischen Befund der Plazenta sowie dem intrauterinen Fruchttod. Es ist davon auszugehen, dass die Infektion mit B-Streptokokken und *Candida* die Ursache für dieses akute infektiöse Geschehen war. Bei den niedrigen Werten des POC Tests handelte es sich sehr wahrscheinlich um Fehlmessungen der Zytokinkonzentrationen. Wegweisend sind die zu den IL-6 Ergebnissen des ELISAs passende Klinik der Patientin bzw. des Feten. Zudem gab das POCScan Gerät bei drei von sieben Messungen ‚invalide‘ an. Dies führt zu der Annahme, dass auch bei den

Ergebnisse

nachfolgenden Messungen Probleme aufgetreten sein könnten. Grund der Fehlmessungen könnte u.a. der Blutanteil der Proben (O) gewesen sein.

4.5.7 Entzündungsprofil (IL-6 und CRP) Patientin Nr.9

Patientin Nr. 9 war eine 27-jährige Zweitgravida, Primipara, welche aufgrund eines PPROM mit 28+3 SSW und unregelmäßiger Wehentätigkeit stationär aufgenommen wurde. 10 Tage nach diesem fand die Geburt statt. Sonographisch bestand bei Aufnahme der V.a. auf Makrosomie mit einem Schätzwert über der 97. Perzentile. Der IL-6 Verlauf über eine Woche zeigte hohe Konzentrationen. Die Messungen mit ELISA ergaben Werte, die von 14157 pg/ml bis 41965 pg/ml reichten. Außerdem fiel von 7 dtb auf 5 dtb ein Konzentrationsabfall von 41965 pg/ml auf 22645 pg/ml auf. Der POC Test lieferte immer Werte von > 10000 pg/ml.

Das CRP im maternalen Serum war, bis auf 6 dtb und 5 dtb, durchwegs erhöht. Am Tag der Geburt wurde ein Wert von 37 mg/L erreicht (Abb.22, Tab.13).

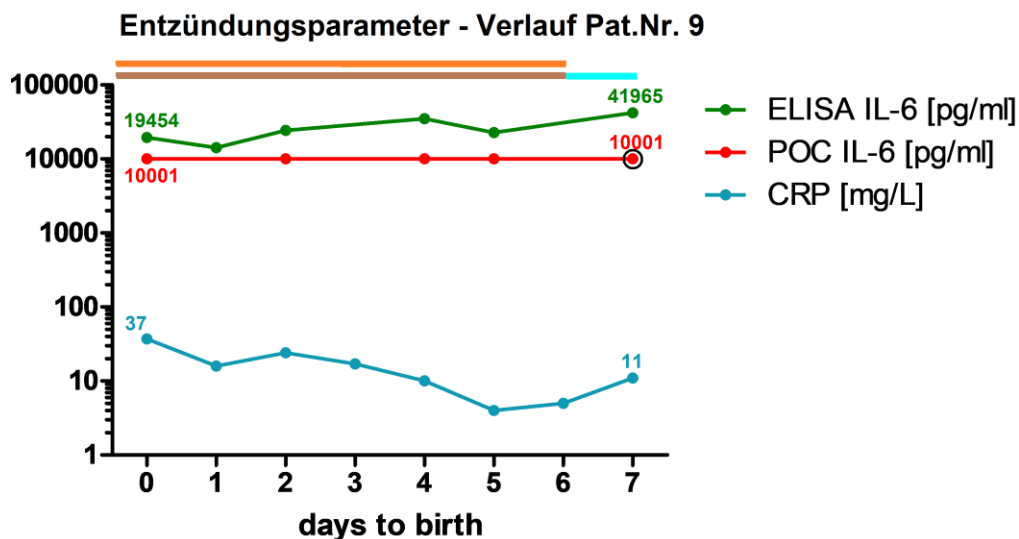


Abbildung 22: Darstellung von IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.9, Ampicillin —, Piperacillin/Tazobactam —, Clarithromycin —, blutige Probe O

Ergebnisse

Tabelle 13: IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.9

| Pat.Nr. | Probentag | ELISA IL-6 [pg/ml] | POC IL-6 [pg/ml] | CRP [mg/L] |
|---------|-------------------|--------------------|------------------|------------|
| 9 | 7 Tage vor Geburt | 41965 | 10001 | 11 |
| | 6 Tage vor Geburt | / | / | 5 |
| | 5 Tage vor Geburt | 22645 | 10001 | 4 |
| | 4 Tage vor Geburt | 34829 | 10001 | 10 |
| | 3 Tage vor Geburt | / | / | 17 |
| | 2 Tage vor Geburt | 24290 | 10001 | 24 |
| | 1 Tag vor Geburt | 14157 | / | 16 |
| | Tag der Geburt | 19454 | 10001 | 37 |

7 dtb war das Fruchtwasser einmalig mit Blut tingiert (○). Die letzte Lungenreifebehandlung wurde 8 dtb durchgeführt und von 9 dtb bis 7 dtb erfolgte eine Bolustokolyse bei unregelmäßiger Wehentätigkeit.

Von 8 dtb bis 6 dtb wurde Ampicillin (—) verabreicht. Der Vaginalabstrich von 8 dtb wies massenhaft Streptococcus agalactiae und spärlich Pseudomonas aeruginosa auf. Außerdem war der Urin 8 dtb positiv auf Ureaplasmen. Die antibiotische Therapie wurde 6 dtb nach Erhalt des Erregernachweises auf Piperacillin/Tazobactam (—) bis 1 dpp und Clarithromycin (—) bis 3 dpp umgestellt.

Mit 29+5 SSW wurde ein Junge mit 1760 g, APGAR-Score von 4/8/8 und Nabelarterien-pH von 7,41 spontan geboren.

Die dauerhaft hohen IL-6 Konzentrationen im Fruchtwasser sind wahrscheinlich auf die Infektion mit Streptococcus agalactiae und Pseudomonas aeruginosa und/oder Ureaplasmen zurückzuführen. Der rapide IL-6 Abfall von 7 dtb auf 5 dtb stand im zeitlichen Zusammenhang mit dem Ausschleichen der Bolustokolyse und der Umstellung der antibiotischen Therapie. Das CRP im maternalen Serum zeigte in diesem Zeitraum (6 dtb und 5 dtb) zwei Mal normwertige Konzentrationen.

4.5.8 Entzündungsprofil (IL-6 und CRP) Patientin Nr.10

Patientin Nr. 10 war eine 37-jährige Erstgravida, Nullipara, die bei leichter Wehentätigkeit, PPRM sowie erhöhtem CRP und erhöhter Temperatur mit 27+4 SSW stationär aufgenommen wurde. 41 Tage nach Blasensprung folgte die Geburt. Zu Beginn lagen, bis auf einen Ausreißer (POC 2487 pg/ml, 30 dtb), hohe IL-6 Konzentrationen vor. Der erste mit ELISA gemessene IL-6 Wert betrug 30611 pg/ml und sank neun Tage später auf 4377 pg/ml. In der nachfolgenden Zeit schwankten

Ergebnisse

die Konzentrationen bis zur Geburt zwischen 2268 pg/ml (2 dtb) und 7966 pg/ml (25 dtb). Der POC Test lieferte nach anfänglich ebenfalls hohen Werten einen Abfall der Konzentration von 10001 pg/ml (28 dtb) auf 2867 pg/ml (27 dtb). Anschließend pendelten sich die Werte des POC Tests auf einem weitaus niedrigeren Niveau als die ELISA Werte ein. Die IL-6 Konzentrationen des POC Tests variierten von 330 pg/ml (6 dtb) bis 1385 pg/ml (25 dtb). Ein weiterer Ausreißer mit 10001 pg/ml fällt 16 dtb auf.

Auch das CRP im Serum wies bei Beginn der nichtinvasiven Fruchtwassergewinnung erhöhte Werte auf. Diese hielten jedoch, anders als das IL-6 im Fruchtwasser, nur bis 32 dtb (6 mg/L) an. Danach lagen die Werte bis zur Geburt im Normbereich (Abb.23, Tab.14).

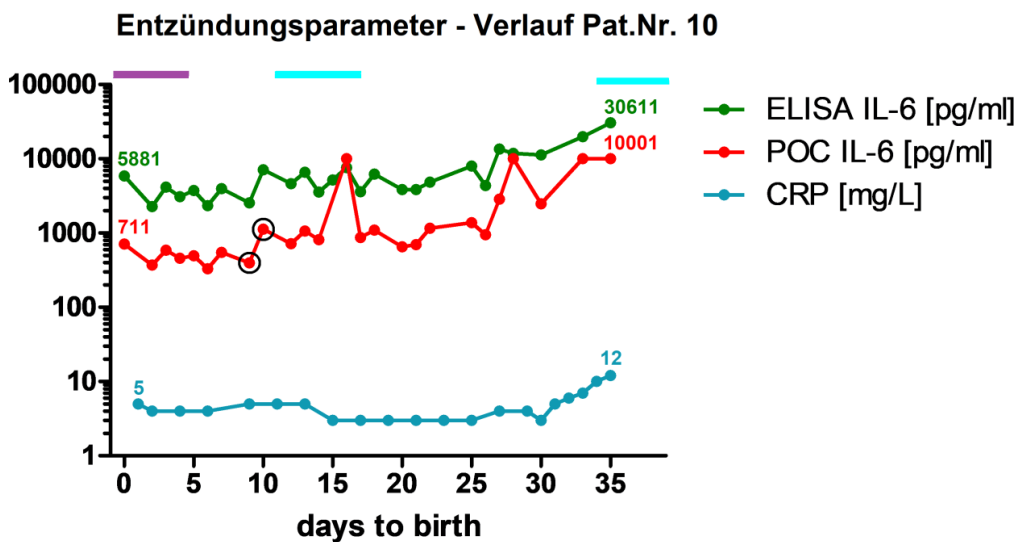


Abbildung 23: Darstellung von IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.10, Ampicillin —, Ampicillin/Sulbactam —, blutige Probe O

Tabelle 14: IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.10

| Pat.Nr. | Probenstag | ELISA IL-6 [pg/ml] | POC IL-6 [pg/ml] | CRP [mg/L] |
|---------|--------------------|--------------------|------------------|------------|
| 10 | 35 Tage vor Geburt | 30611 | 10001 | 12 |
| | 34 Tage vor Geburt | / | / | 10 |
| | 33 Tage vor Geburt | 19814 | 10001 | 7 |
| | 32 Tage vor Geburt | / | / | 6 |

Ergebnisse

| | | | | |
|--|--------------------|-------|-------|---|
| | 31 Tage vor Geburt | / | / | 5 |
| | 30 Tage vor Geburt | 11305 | 2487 | 3 |
| | 29 Tage vor Geburt | / | / | 4 |
| | 28 Tage vor Geburt | 11881 | 10001 | / |
| | 27 Tage vor Geburt | 13576 | 2867 | 4 |
| | 26 Tage vor Geburt | 4377 | 948 | / |
| | 25 Tage vor Geburt | 7966 | 1385 | 3 |
| | 24 Tage vor Geburt | / | / | / |
| | 23 Tage vor Geburt | / | / | 3 |
| | 22 Tage vor Geburt | 4832 | 1158 | / |
| | 21 Tage vor Geburt | 3834 | 701 | 3 |
| | 20 Tage vor Geburt | 3864 | 650 | / |
| | 19 Tage vor Geburt | / | / | 3 |
| | 18 Tage vor Geburt | 6236 | 1096 | / |
| | 17 Tage vor Geburt | 3593 | 873 | 3 |
| | 16 Tage vor Geburt | 7593 | 10001 | / |
| | 15 Tage vor Geburt | 5167 | / | 3 |
| | 14 Tage vor Geburt | 3563 | 811 | / |
| | 13 Tage vor Geburt | 6567 | 1066 | 5 |
| | 12 Tage vor Geburt | 4639 | 715 | / |
| | 11 Tage vor Geburt | / | / | 5 |
| | 10 Tage vor Geburt | 7099 | 1132 | / |
| | 9 Tage vor Geburt | 2544 | 397 | 5 |
| | 8 Tage vor Geburt | / | / | / |
| | 7 Tage vor Geburt | 3959 | 551 | / |
| | 6 Tage vor Geburt | 2330 | 330 | 4 |
| | 5 Tage vor Geburt | 3743 | 496 | / |
| | 4 Tage vor Geburt | 3097 | 457 | 4 |
| | 3 Tage vor Geburt | 4176 | 586 | / |
| | 2 Tage vor Geburt | 2268 | 371 | 4 |
| | 1 Tag vor Geburt | / | / | 5 |
| | Tag der Geburt | 5881 | 711 | / |

10 dtb und 9 dtb war das Fruchtwasser blutig tingiert (○). Die letzte Lungenreifebehandlung fand 40 dtb statt. Eine tokolytische Behandlung war von 41 dtb bis 38 dtb nötig.

Ein Vaginalabstrich 40 dtb ergab keine pathologische Keimbesiedlung, prophylaktisch wurde von 41 dtb bis 34 dtb mit Ampicillin (—) behandelt. Der Kontrollabstrich 30 dtb lieferte denselben Befund. Aufgrund eines Erregernachweises

Ergebnisse

von vereinzelt *Klebsiella pneumoniae* und mäßig *Enterococcus faecalis* bei mäßig *Lactobacillus* im dritten Abstrich (23 dtb) wurde 17 dtb bis 11 dtb erneut Ampicillin (—) eingesetzt. 7 dtb wurden vaginal vereinzelt *Klebsiella pneumoniae* sowie mäßig *Enterococcus faecalis* festgestellt und 4 dtb bis 3 dpp Ampicillin/Sulbactam (—) verabreicht.

Mit 33+3 SSW wurde wegen pathologischem CTG bei leichter vaginaler Blutung und leichter Wehentätigkeit eine Sectio durchgeführt. Ein Junge mit 2180 g, APGAR von 6/7/9 und Nabelarterien-pH von 7,33 wurde entbunden.

Der Abstrich der Plazenta lieferte keinen pathologischen Erregernachweis.

Bei blandem Vaginalabstrich zur Zeit des PPRM und hohen IL-6 Werten gemessen sowohl mit ELISA als auch mit POC Test bleibt die Überlegung, ob die Gewebeschädigung der rupturierten fetalen Membranen oder die anfängliche Wehentätigkeit Ursachen für die Ausschüttung des Interleukins waren. Auffällig ist weiterhin, dass eine starke Diskrepanz der von ELISA und POC Test gemessenen IL-6 Werte vorlag. Für die niedrigeren Werte des POC Tests spräche der CRP Verlauf, welcher ab 31 dtb unauffällig war. Der unauffällige Plazentaabstrich würde diese Überlegung bestärken. Ein Argument für die höheren Werte gemessen mit ELISA wäre der zweimalige Nachweis von *Klebsiella pneumoniae* und *Enterococcus faecalis* (23 dtb und 7 dtb).

4.5.9 Entzündungsprofil (IL-6 und CRP) Patientin Nr.11

Patientin Nr. 11 war 35 Jahre alt und eine Zweitgravida, Primipara. Sie war im Z.n. einer Notsectio bei HELLP-Syndrom in der 39. SSW 2014. Anamnestisch gab sie eine Allergie gegen Azithromycin an.

Mit 29+3 SSW hatte sie einen PPRM, welcher Grund der stationären Aufnahme war. 30 Tage nach dem Blasensprung fand die Geburt statt.

Über den Zeitraum der gesamten Probengewinnung zeigten sich niedrige IL-6 Werte, die beim ELISA von 58 pg/ml bis 888 pg/ml reichten und beim POC Test immer Werte <50 pg/ml, bezeichnet als 49 pg/ml, lieferten.

Das CRP zeigte 22 dtb bis 20 dtb erhöhte Werte (20 mg/L, 16 mg/L, 7 mg/L) und stieg von 2 dtb (8 mg/L) auf 0 dtb (50 mg/L) schnell an, siehe Abbildung 24 und Tabelle 15.

Ergebnisse

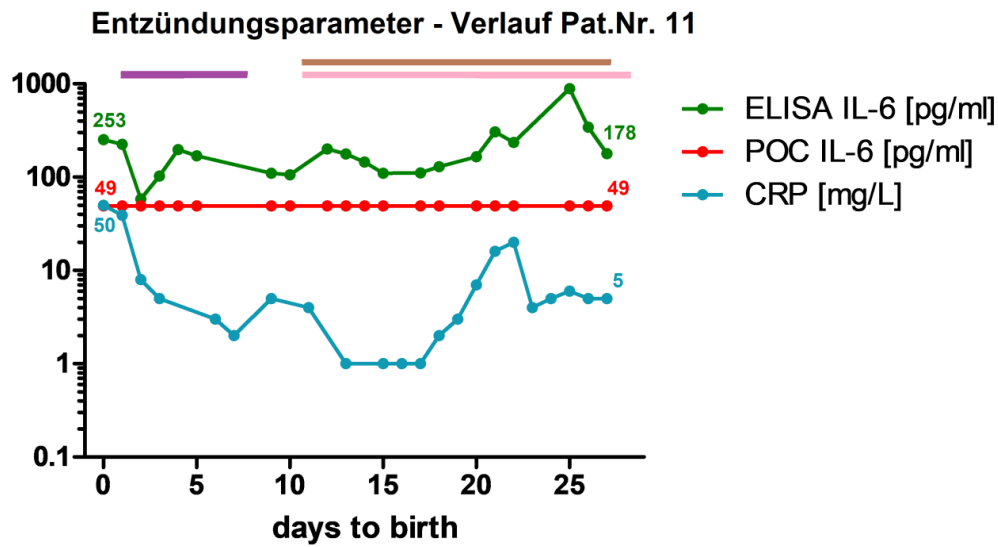


Abbildung 24: Darstellung von IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.11, Clindamycin —, Clarithromycin —, Ampicillin/Sulbactam —

Tabelle 15: IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.11

| Pat.Nr. | Probentag | ELISA IL-6 [pg/ml] | POC IL-6 [pg/ml] | CRP [mg/L] |
|---------|--------------------|--------------------|------------------|------------|
| 11 | 27 Tage vor Geburt | 178 | 49 | 5 |
| | 26 Tage vor Geburt | 343 | 49 | 5 |
| | 25 Tage vor Geburt | 888 | 49 | 6 |
| | 24 Tage vor Geburt | / | / | 5 |
| | 23 Tage vor Geburt | / | / | 4 |
| | 22 Tage vor Geburt | 235 | 49 | 20 |
| | 21 Tage vor Geburt | 305 | 49 | 16 |
| | 20 Tage vor Geburt | 165 | 49 | 7 |
| | 19 Tage vor Geburt | / | / | 3 |
| | 18 Tage vor Geburt | 129 | 49 | 2 |
| | 17 Tage vor Geburt | 111 | 49 | 1 |
| | 16 Tage vor Geburt | / | / | 1 |
| | 15 Tage vor Geburt | 110 | 49 | 1 |
| | 14 Tage vor Geburt | 145 | 49 | / |
| | 13 Tage vor Geburt | 177 | 49 | 1 |
| | 12 Tage vor Geburt | 200 | 49 | / |

Ergebnisse

| | | | | |
|--|--------------------|-----|----|----|
| | 11 Tage vor Geburt | / | / | 4 |
| | 10 Tage vor Geburt | 106 | 49 | / |
| | 9 Tage vor Geburt | 110 | 49 | 5 |
| | 8 Tage vor Geburt | / | / | / |
| | 7 Tage vor Geburt | / | / | 2 |
| | 6 Tage vor Geburt | / | / | 3 |
| | 5 Tage vor Geburt | 169 | 49 | / |
| | 4 Tage vor Geburt | 197 | 49 | / |
| | 3 Tage vor Geburt | 103 | 49 | 5 |
| | 2 Tage vor Geburt | 58 | 49 | 8 |
| | 1 Tag vor Geburt | 224 | 49 | 39 |
| | Tag der Geburt | 253 | 49 | 50 |

Eine Tokolyse wurde 31 dtb durchgeführt und dann ausgeschlichen. Die letzte Lungenreifebehandlung fand 29 dtb statt. Eine mikrobiologische Untersuchung des Urins (31 dtb) und des Vaginalabstrichs (30 dtb) erbrachte den Nachweis von Ureaplasmen, vereinzelt Staphylococcus epidermidis sowie spärlich Enterococcus faecalis. Es folgte die Gabe von Cefuroxim (31 dtb bis 28 dtb), Clindamycin (—, 28 dtb bis 11 dtb) und Clarithromycin (—, 27 dtb bis 11 dtb). Ein Kontrollabstrich 10 dtb erbrachte eine Besiedlung mit mäßig Enterococcus faecalis, mäßig Escherichia coli, reichlich Serratia marcescens und vereinzelt Staphylococcus epidermidis. Daraufhin wurde von 8 dtb bis 1 dtb Ampicillin/Sulbactam (—) verabreicht.

22 dtb und 21 dtb gab die Patientin eine grippale Symptomatik mit Halsschmerzen an. 3 dtb beklagte sie erstmals Oberbauchschmerzen, tags darauf zeigten sich eine Thrombozytopenie sowie ein Anstieg von GPT und GOT. Das beginnende HELLP-Syndrom wurde mit Dexamethason (1 dtb bis 2 dpp) therapiert und war Grund einer Sectio mit 33+6 SSW. Es wurde ein Junge mit 1792 g, APGAR von 8/9/10 und Nabelarterien-pH von 7,31 entbunden.

Bei der histologischen Untersuchung präsentierte sich eine für die 34. SSW hypoplastische Plazenta mit zahlreichen intervillösen Fibrinabscheidungen sowie synzytialen Knoten als Zeichen der Präeklampsie. Es war keine pathologische Trophoblastenproliferation vorzufinden. Ein Amnioninfektionssyndrom lag nicht vor.

Die niedrigen IL-6 Konzentrationen weisen auf ein gutes Ansprechen der antibiotischen Therapie und das Fehlen einer intrauterinen Infektion hin. Die Histologie unterstützt diese Annahme und legt nahe, dass es sich um eine lokale vaginale Keimbesiedlung ohne aufsteigende Infektion handelte. Die CRP Anstiege

Ergebnisse

stimmen mit der Klinik der Patientin überein. Im zeitlichen Zusammenhang mit dem ersten CRP Anstieg stand eine grippale Symptomatik der Patientin und der zweite CRP Anstieg korrelierte zeitlich mit dem Beginn des HELLP-Syndroms.

4.5.10 Entzündungsprofil (IL-6 und CRP) Patientin Nr.12

Patientin Nr. 12 war eine 32-jährige Primipara, Zweitgravida im Z.n. Sectio 2008. Die Schwangere hatte eine Hypothyreose, Adipositas (BMI 40 kg/m²) und ein Wurzelreizsyndrom L3/L4 links. Sie gab eine Allergie gegen Jod und Menthol an.

Mit 30+4 SSW fand ein PPROM statt. Dieser war Grund der stationären Aufnahme. Die Dauer vom Blasensprung bis zur Geburt betrug 29 Tage.

Im Abdominalschall stellte sich die Fruchtwassermenge an der unteren Norm dar und das Schätzwert des Feten lag bei bekannter IUGR an der dritten Perzentile.

Die IL-6 Konzentrationen bewegten sich durchwegs auf einem niedrigen Niveau. Die Messungen mit ELISA ergaben Werte von 203 pg/ml bis 978 pg/ml und mit POC Test von 49 pg/ml bis 214 pg/ml. Im Gegensatz dazu wies das CRP bis auf den ersten Tag der Fruchtwassergewinnung (25 dtb, 3 mg/L) stets erhöhte Werte von 9 mg/L (8 dtb) bis 31 mg/L (22 dtb) auf (Abb.25, Tab.16).

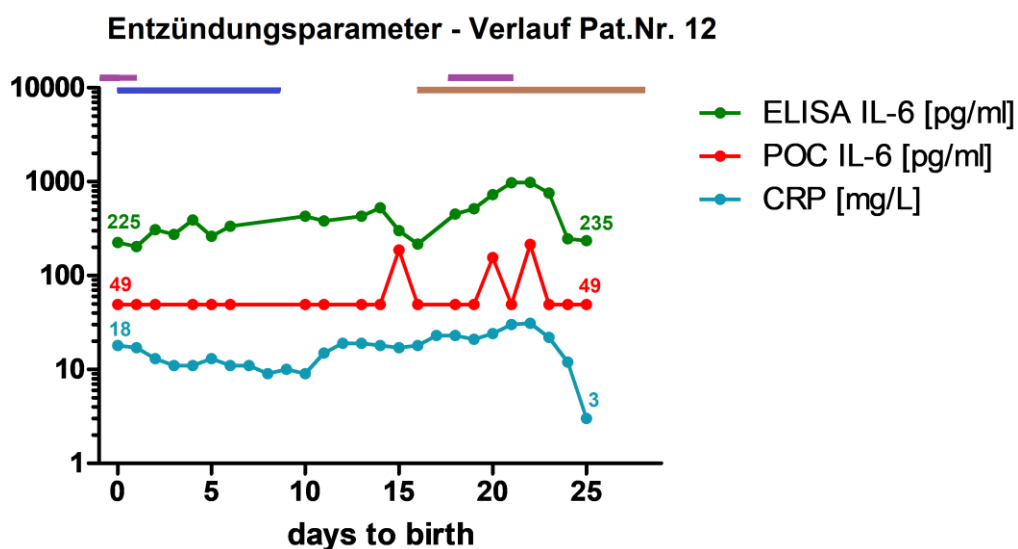


Abbildung 25: Darstellung von IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.12, Clarithromycin —, Ampicillin/Sulbactam —, Meropenem —

Ergebnisse

Tabelle 16: IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.12

| Pat.Nr. | Probentag | ELISA IL-6 [pg/ml] | POC IL-6 [pg/ml] | CRP [mg/L] |
|---------|--------------------|-----------------------|---------------------|------------|
| 12 | 25 Tage vor Geburt | 235 | 49 | 3 |
| | 24 Tage vor Geburt | 247 | 49 | 12 |
| | 23 Tage vor Geburt | 758 | 49 | 22 |
| | 22 Tage vor Geburt | 978 | 214 | 31 |
| | 21 Tage vor Geburt | 971 | 49 | 30 |
| | 20 Tage vor Geburt | 726 | 156 | 24 |
| | 19 Tage vor Geburt | 515 | 49 | 21 |
| | 18 Tage vor Geburt | 451 | 49 | 23 |
| | 17 Tage vor Geburt | / | / | 23 |
| | 16 Tage vor Geburt | 216 | 49 | 18 |
| | 15 Tage vor Geburt | 301 | 187 | 17 |
| | 14 Tage vor Geburt | 527 | 49 | 18 |
| | 13 Tage vor Geburt | 427 | 49 | 19 |
| | 12 Tage vor Geburt | / | / | 19 |
| | 11 Tage vor Geburt | 383 | 49 | 15 |
| | 10 Tage vor Geburt | 427 | 49 | 9 |
| | 9 Tage vor Geburt | / | / | 10 |
| | 8 Tage vor Geburt | / | / | 9 |
| | 7 Tage vor Geburt | / | / | 11 |
| | 6 Tage vor Geburt | 334 | 49 | 11 |
| | 5 Tage vor Geburt | 263 | 49 | 13 |
| | 4 Tage vor Geburt | 390 | 49 | 11 |
| | 3 Tage vor Geburt | 274 | / | 11 |
| | 2 Tage vor Geburt | 309 | 49 | 13 |
| | 1 Tag vor Geburt | 203 | 49 | 17 |
| | Tag der Geburt | 225 | 49 | 18 |

28 dtb erfolgte für einen Tag eine Tokolyse. Die letzte Lungenreifebehandlung fand 27 dtb statt. Die Patientin klagte mehrere Wochen (27 dtb bis 0 dtb) über Kopfschmerzen mit fluktuierender Schmerzintensität. Ein neurologisches Konsil 6 dtb ergab keinen hinweisenden Befund. Es wurde eine Schmerztherapie begonnen. Eine prophylaktische antibiotische Therapie mit Ampicillin wurde 27 dtb nach positivem Ureaplasmenachweis im Urin (28 dtb) auf Clarithromycin (—) umgestellt. Dieses wurde bis 16 dtb gegeben. 28 dtb wurde neben dem Urin auch ein Vaginalabstrich entnommen und ergab eine Besiedlung mit vereinzelt Enterococcus faecalis, spärlich Corynebacterium aurimucosum und vereinzelt Staphylococcus haemolyticus. Es wurde von 21 dtb bis 18 dtb zusätzlich Ampicillin/Sulbactam (—) angesetzt.

Ergebnisse

Angesichts eines Nachweises von reichlich *Enterococcus faecalis*, spärlich Streptokokken der Viridans-Gruppe, reichlich *Escherichia coli*, vereinzelt *Enterobacter cloacae* und reichlich *Klebsiella oxytoca* (13 dtb) wurde von 9 dtb bis 0 dtb Meropenem (—) verabreicht. Ein letzter Vaginalabstrich zwei Tage vor Geburt ergab eine Keimbesiedlung mit massenhaft *Enterococcus faecalis*, vereinzelt *Candida dubliniensis* und mäßig *Staphylococcus haemolyticus*. Es wurde nochmals Ampicillin/Sulbactam (—, 1 dtb bis 4 dpp) verabreicht.

Wegen steigenden Entzündungsparametern wurde mit 33+6 SSW eine Sectio durchgeführt und ein Mädchen mit 1610 g, APGAR-Score von 4/8/8 und Nabelarterien-pH von 7,34 entbunden. Am Tag der Geburt stellte sich eine Verschlechterung des Wurzelreizsyndroms ein, sodass 2 dpp ein Konsil stattfand. Der Befund lieferte ein Wurzelreizsyndrom L3/L4 links ohne Paresen. Es wurden die Intensivierung der Schmerztherapie, eine Physiotherapie und die Gewichtsabnahme empfohlen.

Die niedrigen IL-6 Konzentrationen im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test stehen im Kontrast zu den erhöhten CRP Werten über mehr als drei Wochen hinweg. Es bleibt offen, ob die Adipositas oder die andauernden Kopfschmerzen und damit verbundener Stress mögliche Ursachen für die erhöhten CRP Konzentrationen waren.

4.6 Zusammenhang von IL-6 Konzentrationen im Fruchtwasser und maternalen Parametern

4.6.1 IL-6 und CRP Wert im maternalen Serum

Zwischen CRP im maternalen Serum und IL-6 im nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser bestimmt mit ELISA wurde eine signifikante, positive Korrelation nachgewiesen ($r=0.24$, $p \leq .01$). Abb. 26.

Dagegen bestand zwischen dem CRP im maternalen Serum und der IL-6 Konzentration im nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser bestimmt mit POC Test keine Korrelation ($r=0.05$, $p > .05$). Abb. 27.

Der Messbereich des POC Tests von 50 bis 10000 pg/ml ist für die Korrelationsanalyse erschwerend.

Ergebnisse

ELISA - IL-6 vs CRP - corr

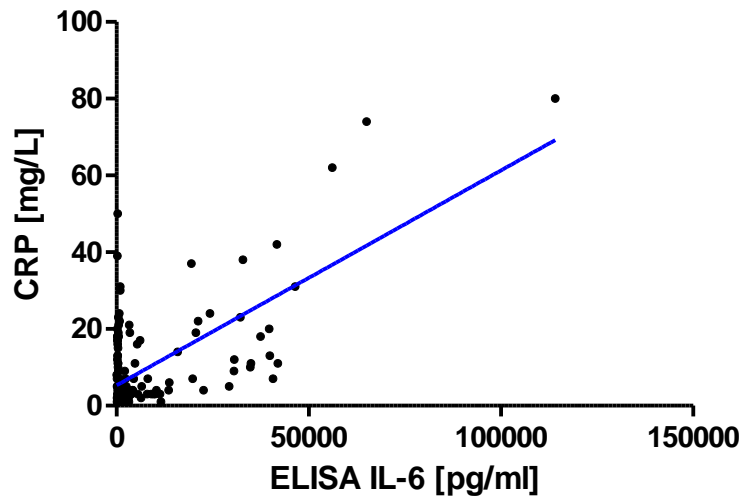


Abbildung 26: Korrelation von IL-6 (ELISA) im Fruchtwasser und CRP im maternalen Serum

POC - IL-6 vs CRP - corr

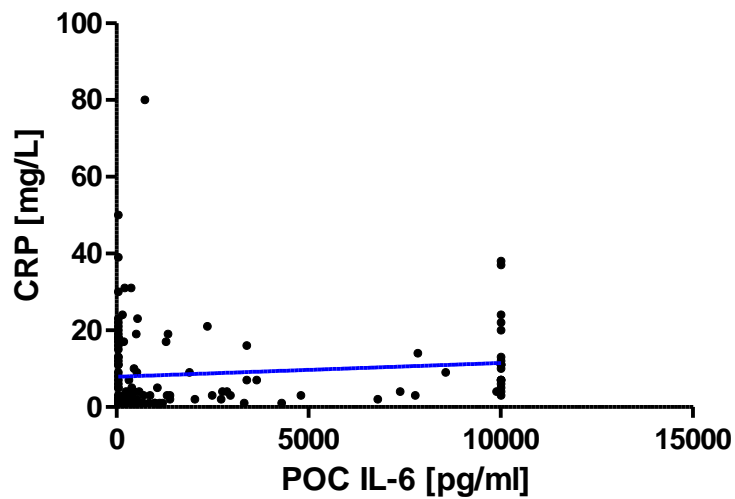


Abbildung 27: Korrelation von IL-6 (POC Test) im Fruchtwasser und CRP im maternalen Serum

4.6.2 IL-6 und Leukozyten im maternalen Serum

Zwischen der maternalen Leukozytenzahl und dem IL-6 im Fruchtwasser bestand keine signifikante Korrelation, weder bei der IL-6 Messung mit ELISA noch mit dem POC Test (*ELISA, $r = -0.14, p > .05$ und POC Test, $r = -0.09, p > .05$*). Abb. 28 und 29.

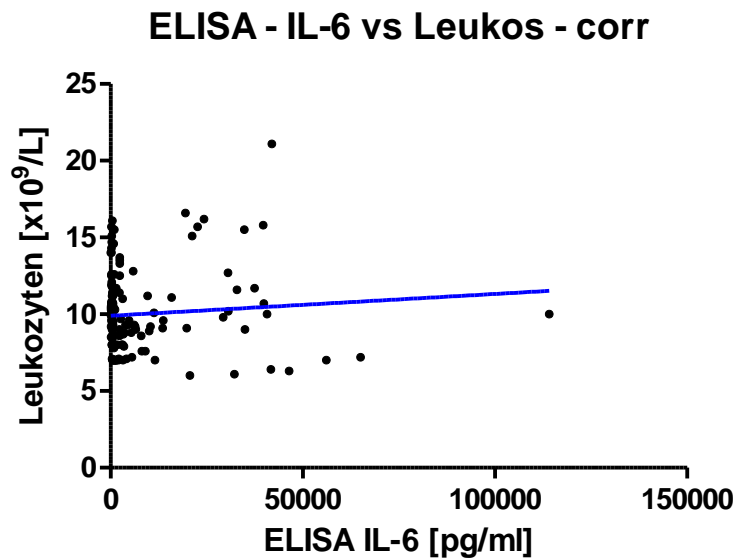


Abbildung 28: Korrelation von IL-6 (ELISA) im Fruchtwasser und Leukozyten im maternalen Serum

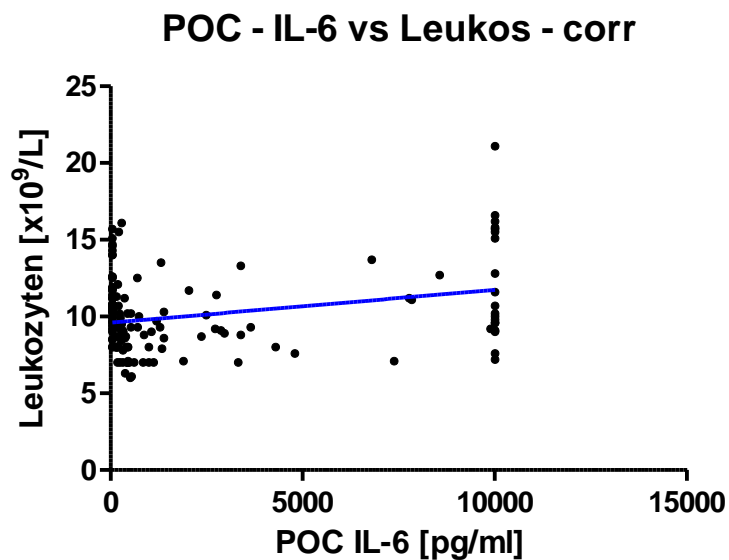


Abbildung 29: Korrelation von IL-6 (POC Test) im Fruchtwasser und Leukozyten im maternalen Serum

4.6.3 IL-6 und die Dauer vom Blasensprung bis zur Geburt

Sowohl die Messungen mit ELISA als auch mit POC Test zeigten, dass Schwangere mit einer Dauer vom Blasensprung bis zur Geburt von < 446 Stunden höhere IL-6 Mittelwerte aufwiesen als diejenigen mit einer längeren Zeit zwischen Blasensprung und Geburt (Median ELISA 11418 pg/ml vs. 3799 pg/ml, Median POC 5210 pg/ml vs. 493 pg/ml). Abb. 30 und Abb. 31. Die Unterschiede beider Gruppen erreichten keine statistische Signifikanz ($p > .05$). Die Dauer vom Blasensprung bis zur Geburt betrug bei dem untersuchten Kollektiv im Mittel 446 Stunden.

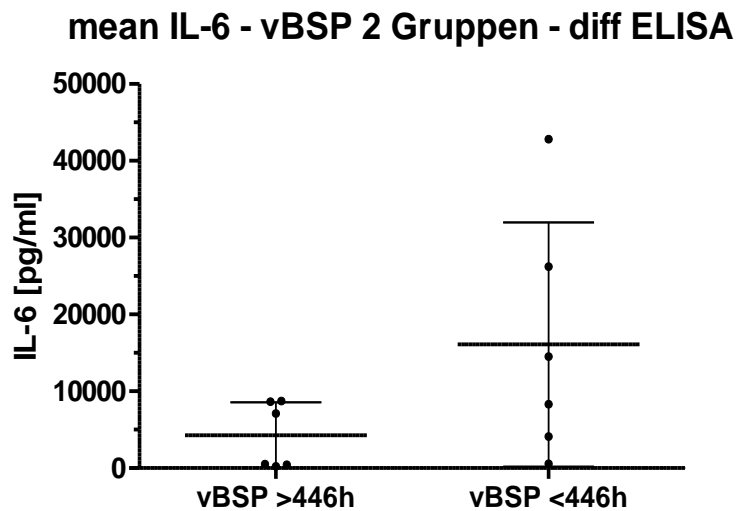


Abbildung 30: IL-6 Mittelwert (ELISA) im Fruchtwasser und die Dauer vom Blasensprung bis zur Geburt > 446 und < 446 Stunden

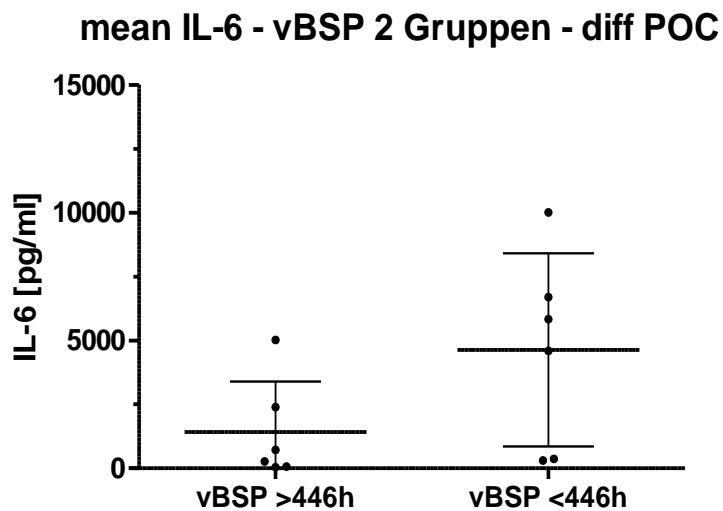


Abbildung 31: IL-6 Mittelwert (POC Test) im Fruchtwasser und die Dauer vom Blasensprung bis zur Geburt > 446 und < 446 Stunden

4.6.4 IL-6 und die vaginale Keimbesiedlung

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied im Mittelwert der IL-6 Werte bei den Gruppen mit und ohne ‚hohe Keimlast‘ im Vaginalabstrich, weder gemessen mit ELISA noch gemessen mit POC Test ($p > .05$). Als ‚hohe Keimlast‘ wurde das vom Labor semiquantitativ angegebene ‚massenhafte‘ Auftreten von pathologischen Mikroorganismen im Vaginalabstrich bezeichnet. Es handelte sich dabei um die Keime: Escherichia coli, Enterococcus faecalis oder Streptococcus agalactiae.

Die Scatter Plots (Abb.32, Abb.33) zeigen, dass der Median der IL-6 Werte bei der Gruppe ‚hohe Keimlast‘ höher liegt als bei der Gruppe ‚keine hohe Keimlast‘ (Median ELISA 8500 pg/ml vs. 3097 pg/ml, Median POC 2654 pg/ml vs. 2392 pg/ml).

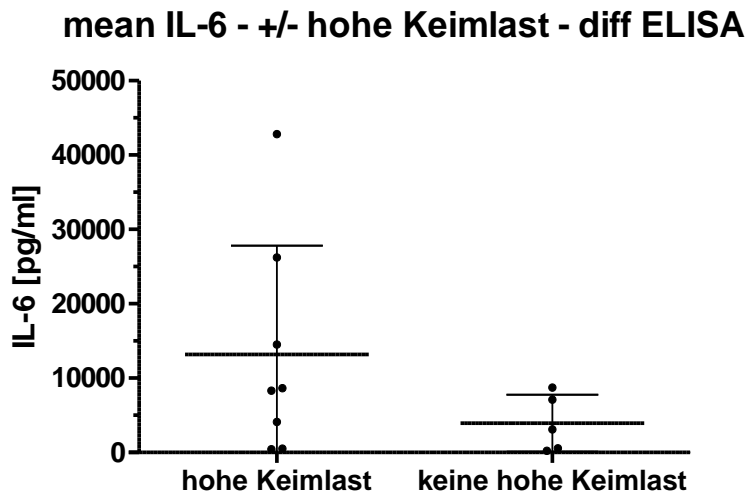


Abbildung 32: IL-6 Mittelwert (ELISA) im Fruchtwasser bei den Gruppen 'hohe Keimlast' und 'keine hohe Keimlast'

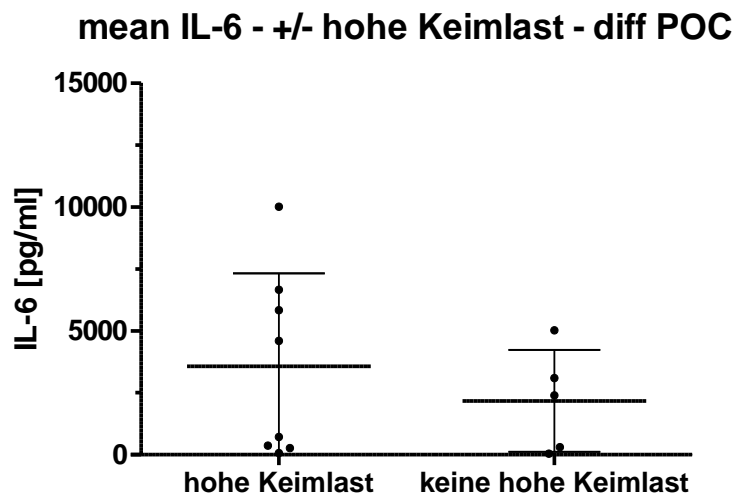


Abbildung 33: IL-6 Mittelwert (POC Test) im Fruchtwasser bei den Gruppen 'hohe Keimlast' und 'keine hohe Keimlast'

4.6.5 IL-6 und Geburtsmodus

Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied der IL-6 Werte im Fruchtwasser vor Geburt gemessen mit ELISA oder POC Test bei den Frauen, die ihre Kinder vaginal (35%, n=7) oder per Sectio (65%, n=13) zur Welt brachten ($p > .05$). Die Testung nach Mann-Whitney-U für die IL-6 Werte bei den Gruppen ‚vaginale Geburt‘ und ‚Sectio‘ liefert je nach Methode sogar gegensätzliche Tendenzen. Beim ELISA (Abb.34) sind die IL-6 Konzentrationen bei der Gruppe ‚vaginale Geburt‘ höher als bei der ‚Sectio‘-Gruppe (Median 19454 pg/ml vs. 5843 pg/ml). Beim POC Test (Abb.35) liefert die Gruppe ‚Sectio‘ höhere Werte als die Gruppe ‚vaginale Geburt‘ (Median 1387 pg/ml vs. 526 pg/ml).

vG IL-6 - vag vs Sec - diff ELISA

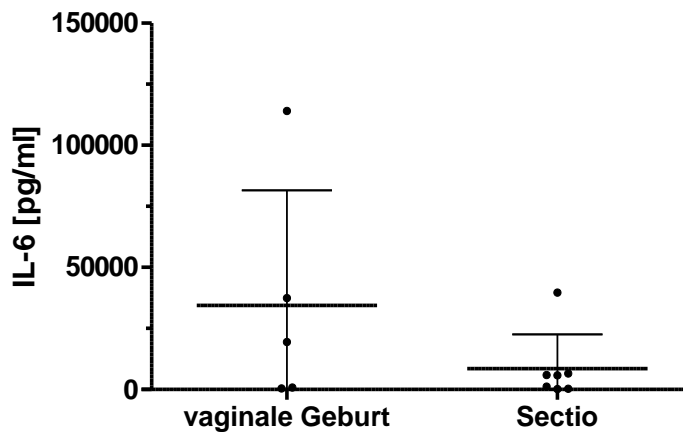


Abbildung 34: IL-6 vor Geburt (ELISA) im Fruchtwasser bei den Gruppen ‚vaginale Geburt‘ und ‚Sectio‘

vG IL-6 - vag vs Sec - diff POC

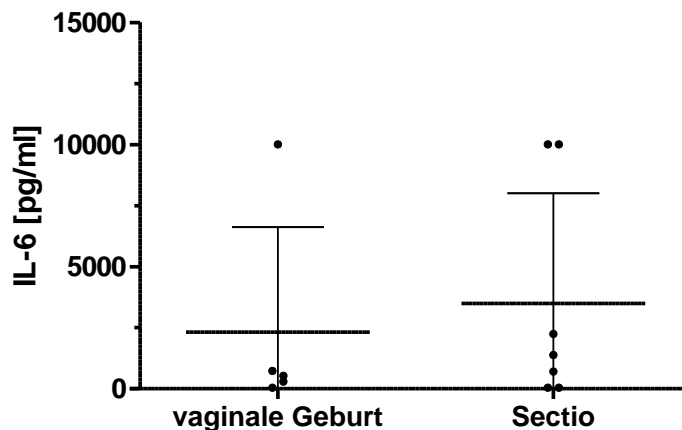


Abbildung 35: IL-6 vor Geburt (POC Test) im Fruchtwasser bei den Gruppen ‚vaginale Geburt‘ und ‚Sectio‘

4.6.6 IL-6 und die Histologie der Plazenta

Bei dem Vergleich der IL-6 Werte vor Geburt der Kohorten mit und ohne histologisch nachgewiesener Entzündung der Plazenta ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied ($p > .05$). Die Darstellung der IL-6 Werte im Scatter Plot zeigt jedoch eindrücklich wie unterschiedlich der Median der Zytokinwerte, sowohl gemessen mit ELISA (Abb.36) als auch mit POC Test (Abb.37), der beiden Gruppen ausfällt. Bei beiden Messmethoden weist die Gruppe ‚+Entzündung‘ höhere Medianwerte auf als die Gruppe ‚-Entzündung‘ (ELISA 56155 pg/ml vs. 1863 pg/ml, POC 10001 pg/ml vs. 937 pg/ml). Bei den Werten gemessen mit POC Test fällt ein Ausreißer auf. Es handelt sich dabei um eine blutig tingierte Probe. Von neun histologischen Befunden enthielten drei die Diagnose einer histologischen Entzündung. Darunter waren Patientin Nr. 2 mit Funisitis und Amnionitis mit IL-6 Konzentrationen bis 40675 pg/ml, Patientin Nr. 5 mit generalisierter Funisitis und fokaler Amnionitis bei IL-6 Werten bis 132114 pg/ml und Patientin Nr. 8 mit einer hochgradig floriden Chorioamnionitis mit Omphalovaskulitis sowie subchondrialer Plazentitis bei Werten von IL-6 bis 65076 pg/ml. IL-6 erreichte nur bei diesen drei Frauen im Zeitraum von fünf bis null Tage vor Geburt Konzentrationen > 40000 pg/ml und am Tag der Geburt > 37000 pg/ml (gemessen mit ELISA).

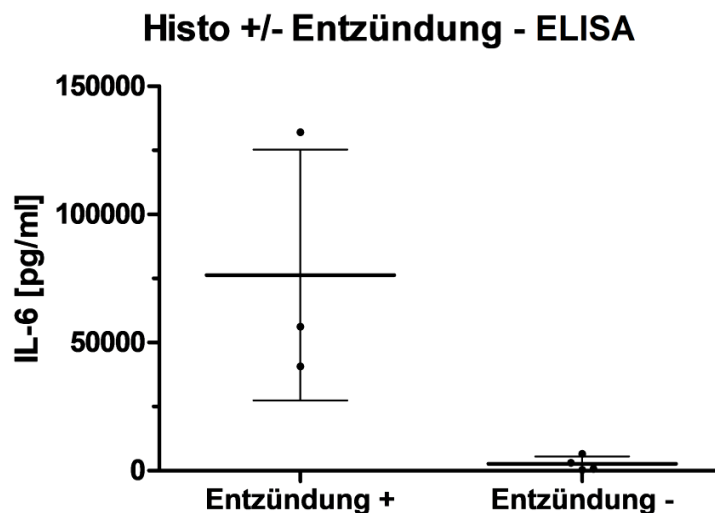


Abbildung 36: IL-6 vor Geburt (ELISA) im Fruchtwasser bei den Gruppen 'Entzündung' und 'keine Entzündung' im histologischen Befund

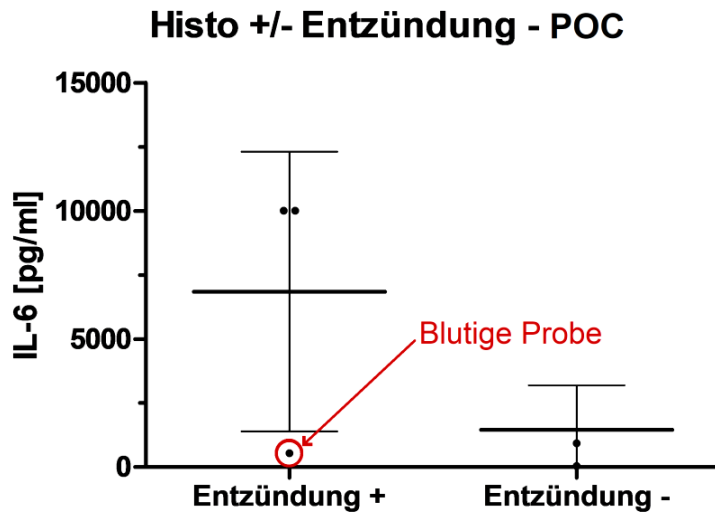


Abbildung 37: IL-6 vor Geburt (POC Test) im Fruchtwasser bei den Gruppen 'Entzündung' und 'keine Entzündung' im histologischen Befund

4.7 Keimbefestigung beim PPRM

Bei 43 Vaginalabstrichen der 20 Schwangeren vom PPRM bis zur Geburt zeigte sich nachfolgende Keimbefestigung (Tab.17). Am häufigsten traten grampositive Bakterien auf. Vertreter dieser Gruppe waren apathogene Keime wie *Lactobacillus* (33%), *Staphylococcus epidermidis* (19%), *haemolyticus* (12%) und *hominis* (2%) und pathogene Erreger z.B. *Enterococcus faecalis* (44%), *Streptococcus agalactiae* (16%) und Streptokokken der Viridans-Gruppe (9%). *Streptococcus agalactiae* war in 71% der Fälle ‚massenhaft‘ vorzufinden. Gramnegative Bakterien, welche gehäuft vorkamen waren: *Klebsiella pneumoniae* (19%), *Escherichia coli* (12%) und *Enterobacter cloacae* (5%). *Escherichia coli* war gehäuft (40%) in einer ‚massenhaften‘ Menge vorhanden. Vertreter der *Candida*-Spezies (7%) waren *Candida albicans*, *dubliniensis* und *tropicalis*. Außerdem wiesen 40% (8/20) der Schwangeren mit PPRM einen positiven Nachweis für Ureaplasmen im Urin auf. In 37,5 % (3/8) der Plazentaabstriche wurden ebenfalls pathologische Keime vorgefunden. Es handelte sich dabei um ‚reichlich‘ *Streptococcus agalactiae* zusammen mit ‚mäßig‘ *Prevotella bivia*, ‚mäßig‘ *Escherichia coli* und ‚massenhaft‘ *Escherichia coli*.

Ergebnisse

Tabelle 17: Vaginale Keimbildung beim frühen vorzeitigen Blasensprung

| Keime bei 43 Vaginal-Abstrichen | Häufigkeit | Massenhaft | Reichlich | Mäßig | Spärlich | Vereinzelt |
|---|------------|------------|-----------|-------|----------|------------|
| Candida | | | | | | |
| <i>Candida albicans</i> | 1 | | | | | 1 |
| <i>Candida dubliniensis</i> | 1 | | | | | 1 |
| <i>Candida tropicalis</i> | 1 | | | 1 | | |
| Gramnegative Bakterien | | | | | | |
| <i>Citrobacter koseri</i> | 1 | | | 1 | | |
| <i>Citrobacter youngae</i> | 1 | | | | 1 | |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 2 | | | 1 | | 1 |
| <i>Escherichia coli</i> | 5 | 2 | 3 | | | |
| <i>Klebsiella ornithinolytica</i> | 1 | | 1 | | | |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | 1 | | 1 | | | |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 8 | | 4 | 2 | | 2 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1 | | | | 1 | |
| <i>Serratia marcescens</i> | 1 | | 1 | | | |
| Grampositive Bakterien | | | | | | |
| <i>Corynebacterium amycolatum</i> | 1 | | | | 1 | |
| <i>Corynebacterium aurimucosum</i> | 1 | | | | 1 | |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 19 | 4 | 2 | 7 | 3 | 3 |
| <i>Lactobacillus</i> | 14 | 2 | 3 | 6 | 3 | |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 8 | | 1 | 4 | 1 | 2 |
| <i>Staphylococcus haemolyticus</i> | 5 | | 1 | 3 | | 1 |
| <i>Staphylococcus hominis</i> | 1 | | | | 1 | |
| <i>Staphylococcus lugdunensis</i> | 1 | | | | 1 | |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> | 7 | 5 | 1 | 1 | | |
| Viridans-Streptokokken (<i>Streptococcus anginosus, mitis/oralis</i>) | 4 | | | 3 | 1 | |

5 Diskussion

Das Management beim PPROM stellt nach wie vor eine Herausforderung in der Perinatalmedizin dar. Es gilt zu evaluieren, wann das Risiko einer Infektion die negativen Folgen der Frühgeburtlichkeit überwiegt und eine Beendigung der Schwangerschaft nötig macht (10, 11, 14, 68). Zum Monitoring stehen maternale Parameter wie CRP, Leukozyten im Blut, klinisches Erscheinungsbild und fetale Überwachungsmaßnahmen wie die Sonographie und das CTG zur Verfügung (11, 14). Eine invasive Option zur einmaligen Fruchtwassergewinnung für den Ausschluss einer intrauterinen Infektion ist die Amniozentese (35). Über die letzten Jahre sind nichtinvasive Methoden ins Blickfeld gerückt (26, 27, 33–37, 69). Das nichtinvasiv gewonnene Fruchtwasser bzw. Vaginalsekret lässt Aussagen über den Entzündungsstatus des intraamnialen Kompartiments zu (34, 36). Diese können durch die Bestimmung von IL-6 (37, 49, 50, 54), IL-8 (51) und TNF α (53) getroffen werden. Die Zytokine werden wegen lokalen Entzündungen aufgrund von Mikroorganismen, deren Bestandteilen oder Gewebeverletzungen durch Fibroblasten, Epithelzellen und Makrophagen vermehrt ausgeschüttet (21, 61). Inzwischen gibt es ein Bedside-Assessment, das eine Messung von IL-6 (32, 34, 36, 58, 59) und TNF α (34) im Fruchtwasser innerhalb von 20 Minuten ermöglicht.

Diese Studie befasst sich mit einer potenziellen Monitoringmaßnahme beim PPROM, die nichtinvasive Fruchtwassergewinnung und Bedside-Assessment kombiniert. Nachfolgend werden die wesentlichen Erkenntnisse der Arbeit aufgeführt:

(I) Die nichtinvasive Fruchtwassergewinnung mit einer Presse war bei dem Großteil der Studienpopulation möglich, dabei konnte die tägliche Probengewinnung bei ausreichend Fruchtwasserabgang vom PPROM bis zur Geburt erstmals über mehrere Wochen vollzogen werden. (II) Zur sequenziellen Zytokinmessung waren sowohl ELISA (IL-6, IL-8, TNF) als auch der POC Test (IL-6) geeignet. (III) Bei den IL-6 Konzentrationen im Vaginalsekret gemessen mit ELISA und POC Test zeigte sich eine stark positive Korrelation. (IV) Diese war bei blutig tingierten Proben schwächer. (V) POC Test und ELISA lieferten signifikant unterschiedliche IL-6 Werte. (VI) Bei der Betrachtung der Zytokinkonzentrationen über 14 Tage zeigte sich eine Übereinstimmung der Graphen von IL-6 und IL-8. (VII) Die Zusammenschau von IL-6 im Fruchtwasser, CRP im maternalen Serum sowie Klinik der Frauen im Verlauf

lieferte mögliche Ursachen für einen Anstieg der Entzündungsparameter, ein einheitliches Schema konnte dabei nicht eruiert werden. (VIII) Hinsichtlich der maternalen Parameter und der IL-6 Konzentration im Vaginalsekret zeigte sich eine schwach positive Korrelation von CRP im maternalen Serum und IL-6 vermessen mit ELISA. (IX) IL-6 zeigte weder gemessen im ELISA noch im POC Test eine Korrelation mit mütterlichen Leukozyten.

5.1 Tägliche nichtinvasive Fruchtwassergewinnung

Die Amniozentese stellt eine Untersuchung zur Fruchtwassergewinnung dar, welche Übung erfordert und als invasive Maßnahme die geringe Gefahr der Gefäßverletzung von Mutter und Fet birgt (31). Deshalb ist sie keine Routineuntersuchung und nicht für die tägliche Durchführung geeignet (7).

Nichtinvasive Ansätze (26, 27, 33–37, 69) stellen deshalb wichtige Optionen für ein Monitoring beim PPRM dar. Es wurden bereits Tupfer (69), sterile Urinsammelröhrchen (27, 36) oder ein speziell dafür entworfener Kollektor (33) verwendet um Fruchtwasser unterhalb der Zervix im Vaginaltrakt zu sammeln. Nach diesem Prozess wurde das Fruchtwasser als Zervixsekret (69) oder Vaginalsekret (27, 36) bezeichnet. Nachfolgend wird einheitlich von Vaginalsekret gesprochen. Kunze et al. gewannen 2016 erstmals mit Hilfe einer Presse Fruchtwasser aus den Saugkernen von Hygieneeinlagen (34). In vorliegender Studie wurde diese Methode verwendet und dementsprechend die Gefahr der Verunreinigung des Fruchtwassers mit Vaginal-/Zervixsekret, Blut und Debris in Kauf genommen, weil sie als Möglichkeit zur täglichen Fruchtwassergewinnung deklariert wurde (34). In unserer Studie wurde dies bestätigt. Erstmals wurde über Tage und Wochen hinweg nichtinvasiv Fruchtwasser gewonnen, indem das Vaginalsekret vom PPRM bis zur Geburt täglich aus den 24h lang gesammelten Vorlagen gepresst wurde. Die Dauer der sequenziellen Probengewinnung reichte dabei von 24 Stunden bis 46 Tage vor Geburt und unterschied sich darin von anderen Arbeiten. Diese beschrieben die einmalige Gewinnung von Vaginalsekret bei Aufnahme (27, 36, 37, 69–71) oder das einmalige Sammeln über 24h (34). Im Zuge unserer Arbeit gelang es in 65% der Fälle Vaginalsekret zu gewinnen. Die Methode von Kacerovsky et al. übertraf dies mit einer Erfolgsquote der einmaligen Gewinnung von Vaginalsekret bei 91% der Frauen (27). Um mit dem sterilen Urinröhrchen (27), dem Tupfer (37, 69) oder dem

Fruchtwasserkollektor (33) Vaginalsekret zu gewinnen ist jedoch im Vergleich zu der von uns verwendeten Methode die Manipulation an der Zervix nötig. Urinröhrchen und Tupfer als Device sind deshalb trotz höherer Erfolgsquote nicht für die tägliche Vaginalsekretgewinnung geeignet (27, 69). Der Kollektor, welcher in die Vagina eingebracht und dort belassen wurde, verursachte bei elf Frauen über 60 Minuten keine Unannehmlichkeiten (33). Geringer Fruchtwasserabgang stellte eine Limitation unserer Methode dar. Bei 25% der Frauen war dies der Grund für eine inadäquate Probengewinnung. Im Vergleich dazu war der Fruchtwasserkollektor auch bei kleinen Fruchtwassermengen unverändert anwendbar (33). Große Fruchtwassermengen oder eine große Anzahl an Vorlagen waren bei unserer Methode mit einem enormen Zeitaufwand verbunden. Im klinischen Alltag könnte dies ein Problem darstellen. Der Fruchtwasserkollektor scheint folglich ebenfalls zur nichtinvasiven Fruchtwassergewinnung geeignet zu sein (33). Er wurde bisher lediglich für eine Dauer von 60 Minuten verwendet (33). Unsere Ergebnisse stützen die Aussage von Kunze et al. (34). Die Presse ist ein geeignetes Werkzeug zur täglichen nichtinvasiven Gewinnung von Vaginalsekret. Die Methode gewährleistet bei ausreichend Fruchtwasserabgang das Monitoring über Tage und Wochen.

5.2 Konzentrationsbestimmung der Zytokine mit zwei Methoden

Beim PPRM sind infektiöse Ursachen klar belegt (10, 15, 72). Er kann durch den fehlenden Schutz der Amnionmembranen jedoch auch der Grund für das Auftreten von Infektionen sein (7, 19). Die fetalen Membranen und die Dezidua sezernieren bei infektiösen Prozessen Zytokine wie TNF α , IL-6 und IL-8 (7). Die im Fruchtwasser erhöhten Zytokine haben in den letzten Jahren zu neuen Definitionen einer intrauterinen Inflammation geführt (7, 21, 23, 73). Nachzuweisen sind sie klassischerweise mit einem ELISA (22, 34, 43, 51, 54, 57, 58, 70, 74, 75). Inzwischen hat sich ein Lateral Flow Immunoassay als POC Test (19, 23, 32, 34, 36, 57, 58) ebenfalls bewährt. Beide Methoden wurden im Rahmen der vorliegenden Studie erfolgreich zur sequenziellen Messung der Zytokine verwendet. Der ELISA lieferte nach drei Tagen Werte für IL-6, IL-8 und TNF α . Mit dem POC Test erhält man innerhalb von 20 Minuten IL-6 Konzentrationen.

5.2.1 Messung von IL-6 mit Point-of-Care Test und ELISA im Vergleich

IL-6 ist hauptverantwortlicher Mediator der Akut-Phase-Antwort auf Gewebeschäden und Infektionen (20, 62). Es zählt im Fruchtwasser zum besten prädiktiven Marker einer drohenden Infektion beim PPRM (63). IL-6 wurde deshalb zusätzlich zum ELISA mit dem Lateral Flow Immunoassay als POC Test vermessen.

Bei den IL-6 Konzentrationen im Vaginalsekret, gemessen mit ELISA und POC Test, zeigte sich eine signifikante, sehr stark positive Korrelation ($r=0.88$, $p \leq .0001$). Chaemsaithong et al. kamen 2015 zu dem selben Schluss (58).

Wichtig für die vorliegende Arbeit ist zusätzlich die Erkenntnis von Musilova et al. aus dem Jahr 2016 (36). Sie beschrieben einen sehr deutlichen Zusammenhang zwischen der mit POC Test bestimmten IL-6 Konzentration im Fruchtwasser und im Vaginalsekret (36). Es ist davon auszugehen, dass mit Hilfe der angewandten Probengewinnungs- und Messmethode Rückschlüsse auf das intraamniotische Kompartiment gezogen werden können.

Bei vorliegender Arbeit war auffallend, dass die Korrelation bei blutig tingierten Proben schwächer war als bei unblutigem Vaginalsekret ($r=0.38$, $p \leq .05$ vs. $r=0.89$, $p \leq .0001$). Da Plasma, Leukozyten, Thrombozyten und selbst Erythrozyten bei der Freisetzung von Zytokinen eine Rolle spielen (76), ist eine Veränderung des IL-6 Levels im Vergleich zum Vaginalsekret ohne Verunreinigung naheliegend. Dies ist wohl auch Grund dafür, dass der POC Test für die Bestimmung von IL-6 im Serum, Plasma und Fruchtwasser nicht aber bei unverarbeitetem Vollblut geeignet ist (67). Der Effekt der Blutbeimengung auf unsere Zytokinkonzentrationen war bei der Verwendung des POC Tests größer als bei der des ELISAs, da beim POC Test im Vergleich zum ELISA unverdünnte Proben verwendet wurden.

Beide Bestimmungsmethoden lieferten signifikant unterschiedliche IL-6 Werte. Die Zytokinkonzentrationen des POC Tests waren niedriger. Dieses Ergebnis deckt sich mit demjenigen von Chaemsaithong et al. aus dem Jahr 2015 (58). Sie maßen mit dem POC Test ebenfalls niedrigere IL-6 Werte (58). Auch die von Musilova et al., Kacerovsky et al. und Chaemsaithong et al. benutzten Definitionen einer IAI weisen auf ähnliche Ergebnisse hin (23, 27, 57). Sie gaben für die IL-6 Konzentrationen im Fruchtwasser einen Cut-Off von 745 pg/ml für den POC Test (23, 27) und 2600 pg/ml für den ELISA an (57).

Die Ergebnisse dieser Studie stimmen mit der Aussage von Chaemsaithong et al. überein, dass der POC Test eine klinische Alternative zum ELISA darstellt, um IL-6

Konzentrationen im Fruchtwasser beim PPROM zu bestimmen (57). Es besteht eine stark positive Korrelation der IL-6 Konzentrationen im ELISA und POC Test. Bei der Verwendung des POC Tests ist zu berücksichtigen, dass Blutbeimengungen möglichst auszuschließen sind und die Konzentrationen im POC Test niedriger ausfallen als im ELISA. Für die Verlaufsbeurteilung der Zytokinkonzentrationen scheint der POC Test jedoch geeignet.

5.2.2 Messung von IL-6, IL-8 und TNF α mit ELISA

Die Zytokinkonzentrationen unserer Probandinnen verliefen in unterschiedlichsten Konzentrationsbereichen mit einer breiten Range der IL-6, IL-8 und TNF α Konzentrationen. Die Höhe der Zytokinkonzentration variiert je nach Gestationsalter (77). Figueroa et al. untersuchten 2005 das Fruchtwasser von 52 Frauen mit Frühgeburtlichkeitsbestrebungen zwischen der 21. und der 35. SSW (78), einem ähnlichen Gestationsalter wie in unserer Arbeit. In der Studie um Figueroa et al. hatten die Frauen jedoch keinen PPROM und das Fruchtwasser wurde per Amniozentese gewonnen (78). Da ein starker Zusammenhang von Zytokinkonzentrationen im Fruchtwasser und Zervixsekret besteht (36, 37, 46), wurde die Arbeit von Figueroa et al. zur Interpretation unserer Ergebnisse herangezogen. Ihre Messungen führten ebenfalls zu sehr unterschiedlichen Konzentrationsbereichen der Zytokinwerte, die Range reichte bei IL-6 von 98 – 232000 pg/ml, bei IL-8 von 100 – 250600 pg/ml und bei TNF α von 11 – 5249 pg/ml (78). Diese Zytokinranges gleichen unseren unter Punkt 4.4 dargestellten Befunden im Vaginalsekret, mit IL-6 von 58 – 132114 pg/ml, IL-8 von 59 – 231184 und TNF α von 0 – 4370 pg/ml. Es wurden signifikante Unterschiede der Mittelwerte bei den Gruppen mit positiver oder negativer Fruchtwasserkultur, sowie einer Geburt innerhalb von $>$ oder \leq 7 Tagen beschrieben (78). Dies legt nahe, dass die große Range der Werte im vorliegenden Patientenkollektiv ebenfalls auf die Unterschiede bezüglich der Keimbesiedlung des Fruchtwassers und dem Zeitintervall vom PPROM bis zur Geburt zurückzuführen ist. In einer Studie um Weissenbacher et al. von 2012 wurde von 192 Frauen entweder bei einem Kaiserschnitt ohne Geburtsbeginn im 3. Trimester oder einer Amniozentese zur Pränataldiagnostik im 2. Trimenon Fruchtwasser gewonnen (79). Die Probandinnen wiesen keine Frühgeburtlichkeitsbestrebungen auf und sie gebaren ohne den Hinweis auf eine Infektion (79). Die Zytokine im Fruchtwasser dieser Frauen wiesen im Vergleich zu den Ergebnissen

Diskussion

von Figueroa et al. und unserer Arbeit weitaus niedrigere Werte und engere Ranges von IL-6 (2.Trimenon 91 – 2823 pg/ml, 3.Trimenon 121 – 21275 pg/ml), IL-8 (2.Trimenon 236 – 4296 pg/ml, 3.Trimenon 0 – 17125 pg/ml) und TNF α (2.Trimenon 3 – 69 pg/ml, 3. Trimenon 5 – 659 pg/ml) auf (79). Dies bekräftigt die Erkenntnis von Figueroa et al. und unserer Studie, dass Frühgeburtlichkeitsbestrebungen mit hohen und im Zuge dessen weit gestreuten Zytokinkonzentrationen im Fruchtwasser einhergehen. Auch Zhang et al. kamen zu der Erkenntnis, dass das Fruchtwasser bei PPROM im Vergleich zu Kontrollen signifikant höhere IL-6, IL-8 und TNF α Konzentrationen besitzt (80). Dabei ist zu berücksichtigen, dass in unserer Studie die Anzahl von 171 bzw. 176 Messungen anhand von sequenziellen Proben der 13 Schwangeren über Tage bis Wochen und nicht wie bei Figueroa et al. und Weissenbacher et al. durch eine einmalige Fruchtwasservermessung zustande kam.

Die Konzentrationen von IL-6 und IL-8 im Vaginalsekret zeigten einen signifikanten, stark positiven Zusammenhang, TNF α und IL-6 wiesen ebenfalls eine statistisch signifikante Korrelation auf, welche jedoch weniger stark war ($r=0.88$, $p\leq .0001$ vs. $r=0.5$, $p\leq .0001$). Jung et al. kamen 2017 bei der Korrelation von IL-6 und IL-8 zu dem gleichen Ergebnis im Fruchtwasser von Frauen mit vorzeitiger Wehentätigkeit oder PPROM von SSW 23+0 bis SSW 32+0 ($r=0.8$, $p\leq .001$) (43).

Ein Grund für die unterschiedliche Korrelation könnte darin liegen, dass IL-6 und IL-8 im Vergleich zu TNF α im zweiten und dritten Trimester im Fruchtwasser in unterschiedlichen Konzentrationen auftreten (68, 81). IL-6 und IL-8 waren bei Saji et al. und Tchirikov et al. bei physiologischen Schwangerschaftsverläufen im Fruchtwasser nachzuweisen (68, 81). TNF α war laut Saji et al. und Romero et al. jedoch nicht messbar (53, 81). Es wies bei infektiösen Geschehnissen (21, 68, 81), im Zuge der Frühgeburtlichkeit (82) oder dem Geburtsbeginn (21) erhöhte Werte auf. Im Widerspruch zu diesen Aussagen steht die Arbeit von Weissenbacher et al. von 2012: Hier waren TNF α Konzentrationen im Fruchtwasser von komplikationslosen Schwangerschaften im 2. und 3. Trimenon messbar (79). Es war jedoch im dritten Trimenon signifikant niedriger als im zweiten und in weitaus niedrigeren Konzentrationen vorhanden als IL-6 und IL-8 (79).

Zudem bewegten sich die IL-6 und IL-8 Werte über den Zeitraum der Probengewinnung in ähnlichen Konzentrationsbereichen (IL-6 Mittelwert 7909 pg/ml und Range 58 – 132114 pg/ml, IL-8 Mittelwert 11500pg/ml und Range 59 – 231184

Diskussion

pg/ml) und glichen sich im Verlauf der Graphen über zwei Wochen stark. Die TNF α Konzentrationen hingegen waren weitaus niedriger und zeigten einen engeren Konzentrationsbereich (Mittelwert 261 pg/ml und Range 0 – 4370 pg/ml), der Verlauf der Graphen über zwei Wochen zeigte einen inkongruenten Verlauf zu IL-6 und IL-8. Dies stimmt mit den bis dato bekannten Ergebnissen der Konzentration dieser Zytokine im Fruchtwasser überein. Auch Figueroa et al. und Weissenbacher et al. konnten einen enormen Unterschied zwischen TNF α Konzentrationen und IL-6 bzw. IL-8 Konzentrationen verzeichnen (78, 79). Eine Arbeit um Fortunato et al. lieferte schon 1996 einen Erklärungsversuch für dieses Ergebnis, da auch bei ihrer Studie der beschriebene Konzentrationsunterschied auffiel (51). Der Unterschied zwischen IL-6 sowie IL-8 Konzentrationen im Vergleich zu TNF α wurde in ihrer Arbeit dadurch erklärt, dass IL-6 und IL-8 bei der Stimulation der fetalen Membranen mit Endotoxinen sowohl vom Chorion als auch vom Amnion sezerniert wurden, wohingegen TNF α lediglich im Amnion freigesetzt wurde (51). Gegen diese Annahme sprechen Arbeiten, welche zu dem Schluss kamen, dass TNF α ausschließlich vom Chorion (83, 84) oder gar von beidem (85) freigesetzt wurde. Der genaue Entstehungsort innerhalb der fetalen Membranen ist umstritten. Es bleibt zu bedenken, dass TNF α im Plasma bei inflammatorischen Ereignissen einen schnellen Anstieg aufweist und eine kürzere Halbwertszeit als IL-6 und IL-8 besitzt (86). Dies schränkt die Nachweisbarkeit des Zytokins ein (86). Der beachtliche Konzentrationsunterschied von TNF α verglichen mit IL-6 und IL-8 in vorliegender Arbeit könnte der kurzen Halbwertszeit und diffizilen Nachweisbarkeit von TNF α zuzuschreiben sein.

Die Erstellung der Zytokinverläufe über mehrere Wochen gelang in der vorliegenden Studie sowohl für IL-6, IL-8 als auch für TNF α . Über einen Zeitraum von 14 Tagen zeigten die Zytokine am Tag der Geburt im Mittel höhere Konzentrationen als 13 Tage vor Geburt (IL-6 27806 pg/ml vs. 2486 pg/ml, IL-8 36714 pg/ml vs. 3200 pg/ml, TNF α 758 pg/ml vs. 66 pg/ml). In Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen beschrieben Zhang et al. 2000 mit der Dauer vom PPRM bis zur Geburt gleichsinnig ansteigende IL-6, IL-8 und TNF α Konzentrationen (80). Eine mögliche Erklärung hierfür lieferten Romero et al. 2007 (21). Sie beschrieben einen Anstieg der MIAC von etwa 32% direkt nach PPRM auf 75% bis zum Geburtsbeginn, da die Ruptur der Membranen die Aszension von Mikroorganismen förderte (21).

Bakterienbestandteile in der Amnionhöhle führen wiederum zur vermehrten Zytokinsekretion (60). Hinzu kommt, dass Zytokine chemotaktisch aktive Mediatoren sind (47, 48, 51). Winkler et al., Kelly et al. und Fortunato et al. beschrieben wie IL-8 Granulozyten anlockt (47, 48, 51). Diese sezernieren wiederum inflammatorische Zytokine (51). Diese Vorgänge unterstützen und erklären das vorliegende Ergebnis.

Die tägliche, sequenzielle Zytokinbestimmung aus nichtinvasiv gewonnenem Fruchtwasser zur Erstellung von Entzündungsprofilen ist bei allen untersuchten Zytokinen möglich. Die Zytokinkonzentrationen variieren, wohl bedingt durch Gestationsalter, Halbwertszeit, Keimbeseidlung im Fruchtwasser und Zeitintervall vom PPRM bis zur Geburt, stark. IL-6 und IL-8 zeigen eine stark positive Korrelation und eine weitgehende Übereinstimmung ihrer Graphen über zwei Wochen. TNF α hingegen korreliert weniger stark mit IL-6 und besitzt einen abweichenden Verlauf der Graphen. IL-6, IL-8 und TNF α liefern eine ansteigende Zytokinkonzentration zum Geburtsbeginn hin. Es sind Vergleichsarbeiten wünschenswert, welche über einen längeren Zeitraum Informationen über IL-6, IL-8 und TNF α gleichermaßen verfolgen.

5.2.3 Zusammenschau von maternalen Entzündungsparametern und Kasuistik

Bei dieser Studie handelt es sich um die erste, welche die Zytokinkonzentrationen im Vaginalsekret alle 24 Stunden bestimmte. Es wurde somit ein tägliches Monitoring möglich. Die Zusammenschau der Zytokine mit der Klinik der Schwangeren über den stationären Aufenthalt hinweg lieferte, wie 4.5 zeigt, interessante Anhaltspunkte für den Anstieg maternaler Entzündungsparameter. Es fehlen jedoch Vergleichsarbeiten, um diese abschließend zu bewerten. Die drei Fälle unseres Kollektivs mit histologischer Chorioamnionitis wiesen als einzige bis fünf Tage vor Geburt IL-6 Werte >40000 pg/ml auf, sie erreichten die höchsten IL-6 Werte am Tag der Geburt. Diese waren bei allen drei Frauen >37000 pg/ml. Das CRP war in diesen Fällen mit ≥ 18 mg/L ebenfalls erhöht, solche Werte waren jedoch auch bei Frauen ohne HCA vorzufinden. Da das CRP nicht spezifisch und Mittel zur Erkennung von Infektionen und Entzündungen mit unterschiedlichsten Ätiologien ist (40), können erhöhte Werte auch auf andere Gründe als eine HCA zurückzuführen sein.

In einigen Fällen der vorliegenden Arbeit konnte eine CRP Erhöhung bei unauffälligen IL-6 Werten auf andere Ursachen als eine potenzielle intraamniotische

Inflammation zurückgeführt werden. Ein CRP Wert über der Norm stand im zeitlichen Zusammenhang mit einer grippalen Symptomatik mit Halsschmerzen und ein anderer erhöhter CRP Wert fiel mit dem Beginn eines HELLP-Syndroms zusammen. Hackenberg et al. gaben 1998 zu bedenken, dass CRP im Zuge eines HELLP-Syndroms erhöht sein kann und aufgrund dessen in diesen Fällen nicht für die Diagnose einer Infektion geeignet ist (87). Unser Kollektiv beinhaltete eine Patientin mit Adipositas, anhaltender Cephalgie und PPRM, bei welcher durchwegs eine CRP Erhöhung bei bledem IL-6 Verlauf vorlag. Es stellt sich die Frage, ob ein Infektionsfokus übersehen wurde, die Kopfschmerzen oder gar die Fettleibigkeit Ursache der erhöhten maternalen Entzündungswerte im Serum sein konnten. Eine systemische Entzündungsreaktion bei adipösen Personen wurde von Stulning 2009 beschrieben (88).

Im Zuge der vorliegenden Studie fiel außerdem auf, dass ein Abfall der Zytokinwerte des Öfteren im zeitlichen Zusammenhang mit einer Umstellung oder dem Ansetzen einer antibiotischen Therapie stand. Baldwin et al. kamen 2015 in ihrer Arbeit zu dem Schluss, dass die antibiotische Therapie eine Reduktion einiger Bakterienarten mit sich brachte, andere jedoch vermehrt auftraten (89). Mikroorganismen und deren Bestandteile lösen eine lokale Entzündungsreaktion und die Ausschüttung von Zytokinen aus (21, 61), sodass bei einer Veränderung des Mikrobioms durchaus Zytokinschwankungen zu erwarten wären.

Die Zusammenschau von klinischem Erscheinungsbild der Mutter und maternalen Entzündungsparametern im Vaginalsekret (IL-6) und Serum (CRP) vom PPRM bis zur Geburt lässt eine Analyse möglicher Ursachen für einen Anstieg des jeweiligen Parameters zu. Ein einheitliches Schema lässt sich bisweilen nicht eruieren.

5.3 Zusammenhang von IL-6 und maternalen Parametern

5.3.1 CRP und Leukozyten

Durch die plazentare Schranke ist die fetale von der maternalen Zirkulation getrennt und lässt nur partiell einen Transfer zwischen beiden Kompartimenten zu (39). Der diagnostische Wert des mütterlichen Serums im Hinblick auf intrauterine infektiöse und inflammatorische Vorgänge ist deshalb limitiert (39, 63, 90). Dennoch gibt es Berichte über einen schwachen Vorhersagewert und Zusammenhang zwischen CRP im maternalen Serum und Infektionen beim PPRM (40).

Diskussion

Unsere Untersuchungen ergaben eine schwach positive Korrelation von CRP im maternalen Serum und IL-6 im nichtinvasiv gewonnenen Vaginalsekret gemessen mit ELISA ($r=0.24$, $p \leq .01$). Musilova et al. berichteten 2017 von einer ebenfalls signifikanten, schwach positiven Korrelation des maternalen CRPs und dem IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit POC Test ($r= 0.28$, $p < .0001$) (28). Als Akut-Phase-Protein ist CRP ein wichtiger Bestandteil des angeborenen Immunsystems (91). Es wird als Reaktion der Leber auf pro-inflammatorische Zytokine hergestellt (38). Dabei ist IL-6 für seine Regulation verantwortlich (91), sodass eine Korrelation von CRP und IL-6 auch in unterschiedlichen Kompartimenten zu erklären ist.

Bezüglich der Leukozytenzahl konnte die vorliegende Studie weder bei IL-6 gemessen mit ELISA noch mit POC Test eine Korrelation feststellen (*ELISA* $r= -0.14$, $p > .05$ und *POC* $r= -0.09$, $p > .05$). Musilova et. al hingegen fanden 2017 für die maternalen Leukozyten im Serum ebenfalls eine schwach positive Korrelation mit IL-6 ($r=0.24$, $p < .0001$) (92). Leukozyten werden von unterschiedlichsten Mediatoren angelockt (93). Dazu zählen unter anderem C5a, Leukotrien B4, IL-8 oder bestimmte antimikrobielle Peptide (93). Diese Heterogenität der Chemotaxis dient als Erklärungsbasis für die ermittelten, abweichenden Ergebnisse von CRP und Leukozyten.

Insgesamt besteht keine Einigkeit bezüglich des Nutzens von CRP und Leukozyten im maternalen Serum zur Diagnostik beim PPRM (28, 41, 92, 94).

Trochez-Martinez et al. beschrieben, dass CRP nicht dazu geeignet ist eine Infektion im frühen Stadium zu erkennen (40). Unterdessen empfahl eine Studie aus dem Jahr 2017 CRP als nichtinvasiven diagnostischen Marker zum Ausschluss von Komplikationen des PPRM nicht außer Acht zu lassen (28). Für Popowski et al. stellt die maternale Leukozytenzahl ein nützliches Tool mit Vorhersagekraft einer klinischen Chorioamnionitis dar (94). Eine Review zu den Entzündungsparametern im maternalen Serum von 2009 erklärte, dass die heterogene Datenlage keine klaren Schlüsse zuließe (42). 2007 beschrieb eine Review bei mehreren CRP-Messungen hintereinander einen Cut-Off von ≥ 20 mg/L als angemessen, um von einem infektiösen Geschehen beim PPRM auszugehen (40). Die vorliegende Studie ist die erste, welche das CRP im Serum über einen bis zu 6 Wochen langen Verlauf mit dem IL-6 im Vaginalsekret vergleicht.

5.3.2 Dauer vom Blasensprung bis zur Geburt

Die Dauer vom PPRM bis zur Geburt ist umso länger, je früher dieser in der Schwangerschaft stattfindet (15, 95, 96). Bei vorliegender Arbeit wurden die IL-6 Konzentrationen im Vaginalsekret in diesem Zeitraum betrachtet. Es zeichnete sich sowohl bei den Messungen mit ELISA als auch mit POC Test die Tendenz ab, dass Schwangere mit < 18,5 Tagen zwischen Blasensprung und Geburt höhere IL-6 Mittelwerte aufwiesen als diejenigen mit einer längeren Dauer zwischen den Ereignissen. Wie 4.6.3 zeigt, erreichten unsere Untersuchungen bezüglich der Dauer vom Blasensprung bis zur Geburt und IL-6 im Vaginalsekret keine statistische Signifikanz. Zwei schwedische Studien bestätigen unsere Aussagen mit ähnlichen Erkenntnissen (26, 46). Sie wiesen höhere IL-6 Konzentrationen bei Frauen mit vorzeitiger Wehentätigkeit im Vaginalsekret (46) und bei Frauen mit PPRM im Fruchtwasser (26) nach, welche ≤ 7 Tage nach Probengewinnung geboren haben. Im Gegensatz dazu berichteten Zhang et al., dass die IL-6 Konzentration bei längerer Latenz des PPRM anstieg (80). Bei Betrachtung der Pathophysiologie des PPRM und der Entstehung seiner Komplikationen erscheinen beide Ergebnisse nachvollziehbar. Einerseits begründet die Tatsache, dass Infektionen eine Hauptursache des PPRM sind (10, 15, 72) und die fetalen Membranen im Zuge dessen Zytokine sezernieren (7), welche letzten Endes zur Ruptur der Membranen führen können (7, 15), hohe IL-6 Konzentrationen direkt beim Auftreten des PPRM. Andererseits bewirkt die Aszension von Mikroorganismen nach Destruktion der Eihäute (7, 19) erhöhte IL-6 Werte im Zuge einer längeren Latenzperiode. Dass erhöhte IL-6 Werte im Fruchtwasser Ausdruck eines infektiösen Geschehens sind, ist inzwischen belegt (7). Ob der PPRM Folge oder Ursache einer Infektion ist, gilt es in weiteren Arbeiten zu eruieren. Außerdem muss bei der Beurteilung der Zeitspanne vom PPRM bis zur Geburt berücksichtigt werden, dass auch nichtinfektiöse Komplikationen des PPRM wie eine vorzeitige Plazentalösung oder ein Nabelschnurvorfall frühzeitig eine Schwangerschaftsbeendigung erforderlich machen können (10, 14). Auch bei der vorliegenden Arbeit erschwert dies die Beurteilung. Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied der IL-6 Werte in Abhängigkeit von der Dauer vom Blasensprung bis zur Geburt. Eine Tendenz von höheren IL-6 Werten bei kürzerer Dauer zeichnet sich ab.

5.3.3 Vaginale Keimbeseidlung

Die aszendierende Infektion ist die häufigste Ursache der intrauterinen Infektion (18, 20). An ihrem Beginn steht die Vaginose, eine bakterielle Dysbiose des unteren Genitaltrakts (18, 20). Bei der Pathophysiologie handelt es sich um ein Ungleichgewicht des Vaginalmilieus mit einer Verschiebung weg von der Laktobazillus-Spezies hin zu anderen Organismen (7, 97). Auffällig ist ein stark variierendes Mikrobiom der Schwangeren mit PPRM (89, 98).

Bei einer kanadischen Studie von Paramel Jayaprakash et al. 2016 ließ sich kein spezielles vaginales Mikrobiom beim PPRM und in der nachfolgenden Zeit bis zur Geburt erkennen (98). Sie untersuchten 70 Abstriche von 36 Frauen (98). In der vorliegenden Arbeit wurden, wie Punkt 4.7 zeigt, Erkenntnisse von 43 Vaginalabstrichen bei 20 Schwangeren gewonnen. Sowohl Paramel Jayaprakash et al. als auch unsere Studie untersuchten Proben, welche direkt nach PPRM vor der Antibiotikagabe sowie fortlaufend bis zur Geburt nach oder während der Verabreichung von Antibiotika entnommen wurden. Dabei lag eine stark variierende Keimbeseidlung des Patientenkollektivs während der Zeit vom PPRM bis zur Geburt vor (98). Die im Vaginalmilieu physiologisch vorhandene Laktobazillus-Spezies war bei der kanadischen Studie in 13 von 70 Fällen (19%) vorhanden (98). In unserer Studie wurden in 14 von 43 Abstrichen (33%) Laktobazillen vorgefunden, welche jedoch nur in 14% das Milieu dominierten. Sie zählen zu den grampositiven Bakterien und somit zu der bei uns am häufigsten detektierten Klasse. Neben apathogenen grampositiven Keimen waren *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus agalactiae* und Streptokokken der Viridans-Gruppe als pathogene Vertreter dieser Gruppe in unseren Proben vorhanden. Gramnegative Bakterien, welche gehäuft vorkamen waren: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* und *Enterobacter cloacae*. Die Proben um Paramel Jayaprakash et al. wiesen in allen Fällen *Megasphaera* und *Prevotella* auf (98). Im Kontrast dazu wurde die *Prevotella*-Spezies in den vorliegenden Untersuchungen lediglich in einem Plazentaabstrich festgestellt. Auch Kacerovsky et al. führten 2015 eine Studie zur vaginalen Keimbeseidlung beim PPRM durch, welche eine vom vorliegenden Ergebnis abweichende Keimbeseidlung beschrieb (99). Sie teilten das vorgefundene Mikrobiom in ‚community state types‘ (CST) ein, CST IV-A und CST IV-B waren durch ein vermindertes Vorhandensein von Laktobazillen gekennzeichnet (99). In CST IV-A (18%) dominierten non-Lactobacillus Spezies (*Ureaplasma*, *Propionibacterium*

Diskussion

acnes, *Fusobacterium nucleatum*, *Veillonella*, *Streptococcus*, *Haemophilus influenza*) und CST IV-B (20%) beinhaltete mit Keimen wie *Gardnerella vaginalis* and *Sneathia sanguinegens* für eine bakterielle Vaginose typische Erreger (99). Übereinstimmungen der Keimbesiedlung mit der hier vorliegenden Arbeit stellen lediglich Streptokokken und Ureaplasmen dar, wobei letztere in unseren Untersuchungen im Urin detektiert wurden. Die wahrscheinlichste Ursache der stark abweichenden Ergebnisse liegt in der Nachweismethode der Mikroorganismen. Während die PCR in der hier dargestellten Studie nur für die Identifikation der Mykoplasmen und Ureaplasmen im Urin benutzt wurde und für den Nachweis von Mikroorganismen in Vaginalabstrichen auf die Kultivierung zurückgegriffen wurde, benutzten Paramal Jayaprakash et al. und Kacerovsky et al. die PCR für die gesamte Erregerdiagnostik (98, 99). Das vielfältige und variierende vaginale Mikrobiom in der Zeit vom PPROM bis zur Geburt wich stark vom klassischen Bild der bakteriellen Vaginose oder dem physiologischen Vaginalmilieu ab. Dies könnte unter anderem auf die antibiotische Therapie oder die Steroidgabe beim konservativen Vorgehen nach PPROM zurückzuführen sein (98).

Neben der Untersuchung des Mikrobioms bei 20 Schwangeren wurde bei 13 Frauen mit nichtinvasiv gewonnenem Vaginalsekret die Korrelation des IL-6 mit der Keimlast im Vaginalabstrich geprüft (siehe 4.6.4). Bei den Messungen mit ELISA und POC Test wies die Gruppe ‚hohe Keimlast‘ höhere Mittelwerte von IL-6 auf, eine statistische Signifikanz wurde jedoch nicht erreicht. Die Arbeit von Kacerovsky et al. beschäftigte sich ebenfalls mit dem Zusammenhang von IL-6 im Vaginalsekret und dem vaginalen Mikrobiom (99). Dabei wurde jedoch nicht die Keimlast sondern die Spezies zur Beurteilung herangezogen (99). Das Vaginalsekret wies bei Frauen mit non-Lactobacillus dominiertem Mikrobiom im Vergleich zur Kontrollgruppe doppelt bis 2,5-fach so hohe IL-6 Konzentrationen auf (99). In unserer Studie handelte es sich bei Fällen mit hoher pathogener Keimbesiedlung mit *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* oder *Streptococcus agalactiae* ausnahmslos um non-Lactobacillus Bakterien. Diese Ergebnisse stimmen mit der Aussage von Kacerovsky et al. überein, dass eine vaginale non-Lactobacillus Besiedlung scheinbar mit verstärkten entzündlichen Vorgängen einhergeht (99). Zu den von uns detektierten Mikroorganismen bei hoher pathogener Keimlast passt der 2015 von Mendling benutzte Begriff „aerobe Vaginitis“ mit einem Vorherrschen von Spezies wie *Streptococcus agalactiae* oder *Escherichia coli* (100). Bei der „aeroben Vaginitis“

kommt es zur Entzündungsreaktion und Zytokinerhöhung (98).

Eine ‚hohe vaginale Keimlast‘ zeigt einen Zusammenhang mit erhöhten IL-6 Konzentrationen im Vaginalsekret gemessen mit POC Test und ELISA, eine statistische Signifikanz wird dabei nicht erreicht. Das vorliegende Patientenkollektiv ist während der Zeit vom PPROM bis zur Geburt von einer stark variierenden vaginalen Keimbesiedlung geprägt.

5.3.4 Geburtsmodus

Entbindungszeitpunkt und -modus nach PPROM folgen keinen einheitlichen Regeln (17). Außer bei dem Vorliegen von Kontraindikationen ist die vaginale Entbindung der favorisierte Geburtsmodus (10, 101). Grundsätzlich scheint der Anteil an Kaiserschnitten bei Geburten nach PPROM erhöht (11). Dies ist auch in unserer Studie mit einer Kaiserschnitttrate von 65% der Fall. Zum Kaiserschnitt kam es wegen beginnendem Amnioninfektionssyndrom mit steigenden Entzündungsparametern, pathologischem CTG und beginnendem HELLP-Syndrom. Zusätzlich beinhaltete unser Kollektiv einen Fall mit Geburtseinleitung bei erreichter SSW 34+0 sowie einen Fall mit intrauterinem Fruchttod. Bei der Untersuchung von IL-6 vor Geburt im Vaginalsekret zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen vaginaler Entbindung und Sectio. Der Zusammenhang von IL-6 und dem Geburtsmodus ist bei dem untersuchten Patientenkollektiv aufgrund von heterogenen Sectioindikationen kaum beurteilbar.

5.3.5 Histologie

Zu den Entzündungen mit einem Anstieg des IL-6 Levels zählen die MIAC (46), die IAI (46) und die Chorioamnionitis (50). Durch Chemokine angelockte maternale neutrophile Granulozyten wandern bei der akuten Chorioamnionitis in die Eihäute ein (20). Die Infiltration der Granulozyten wird durch den Pathologen histologisch beurteilt (19, 20).

Bei der vorliegenden Arbeit zeigten sich bei Frauen mit einem positiven histologischen Entzündungsnachweis der Plazenta, wie Chorioamnionitis und/oder Funisitis, im ELISA und POC Test weitaus höhere IL-6 Werte im Vaginalsekret. Es wurde jedoch keine statistische Signifikanz erreicht. Patientinnen mit HCA oder Funisitis erreichten am Tag der Geburt die höchsten IL-6 Werte vermessen mit ELISA. Junk et al. beschrieben ebenfalls, dass Patientinnen mit HCA oder Funisitis im Median eine höhere IL-6 Konzentration im Vaginalsekret aufwiesen (37).

Shobokshi et al. erläuterten wie Eihäute als Infektionsantwort Zytokine synthetisierten und das fetomaternale Immunsystem im Zuge der inflammatorischen Veränderungen hochreguliert wurde (64). Sie sprachen von den Zytokinen als sensitive Parameter für die Identifizierung einer akuten Chorioamnionitis (64). Im Gegensatz dazu ergab sich laut Dorfeuille et al. 2016 nach Adjustierung für die SSW kein Zusammenhang des IL-6 im Vaginalsekret und dem Auftreten einer histologischen Chorioamnionitis (102). Auch bei Kacerovsky et al. stellte sich 2015 kein Unterschied der IL-6 Konzentration im Vaginalsekret bei Frauen mit bzw. ohne HCA heraus (71). Grund dafür könnte, wie Dorfeuille et al. zu bedenken gaben, das Gestationsalter als Confounder sein (102). Es ist bekannt, dass die Prävalenz der HCA im Zusammenhang mit dem Gestationsalter steht (20) und auch die Zytokinproduktion mit dem Gestationsalter variiert (79). Kim et al. beschrieben bei Geburten von der 21. bis zur 24. SSW bei 94,4% eine HCA, bei Geburten von der 33. bis zur 36. SSW bei 11% (20).

Unsere Ergebnisse lassen einen Zusammenhang zwischen der histologisch nachgewiesenen Entzündung der Plazenta und IL-6 im Vaginalsekret vermuten, es ergab sich jedoch keine Signifikanz. Die Diskrepanz der Aussagen und die möglichen Confounder machen weitere Arbeiten zum Thema wünschenswert.

5.4 Stärken und Limitationen der Studie

Abschließend soll auf die Stärken und Limitationen dieser Arbeit eingegangen werden. Zu Ersteren zählen, dass es sich mit dem PPRM um einen klar definierten Typ der spontanen Frühgeburt handelt und die Frauen wenn möglich schwangerschaftsprolongierend behandelt wurden. Außerdem fand die Probengewinnung von Vaginalsekret und maternalem Serum zeitgleich statt, was die Darstellung des aktuellen Status in beiden Medien zuließ. Positiv ist weiterhin, dass die Zytokine mit zwei Methoden vermessen wurden und die Ergebnisse nicht in Therapieentscheidungen einbezogen wurden.

Zu den Schwächen zählen die kleine Studienpopulation und die eventuelle Kontamination des Probenmaterials (34). Im Vergleich zu anderen Arbeiten fehlte hier die Möglichkeit die Funde im Vaginalsekret mit einer Probengewinnung durch eine Amniozentese zu bestätigen (27, 36), da diese nicht zur täglichen Anwendung

geeignet ist (7). Als letzte Limitation ist die Nachweismethode der Mikroorganismen mittels Kultur zu nennen. Diese ist der PCR unterlegen (100).

6 Zusammenfassung

Der PPRM (Preterm Prelabor Rupture of Membranes) ist als Blasensprung vor der vollendeten 37. SSW (Schwangerschaftswoche) definiert. Er geht etwa einem Drittel der Frühgeburten voraus. Eine intrauterine Infektion kann sowohl Ursache als auch Folge des PPRM sein, weshalb der Entzündungsstatus zu evaluieren ist. Dies kann u.a. mit Hilfe von Zytokinen im Fruchtwasser geschehen. Die vorliegende prospektive Studie befasste sich mit einer potenziellen Monitoringmaßnahme beim PPRM, welche eine nichtinvasive Methode zur Fruchtwassergewinnung mit der Zytokinmessung mittels Bedside-Assessment kombinierte. Hierfür sammelten konservativ behandelte Probandinnen mit PPRM von SSW 23+0 bis SSW 33+6 ihre Vorlagen vom Zeitpunkt des PPRM bis zur Geburt. Täglich wurden die innerhalb von 24 Stunden gesammelten Hygienebinden mit Hilfe einer Presse ausgedrückt und das abgehende Fruchtwasser somit gewonnen. Die Zytokine im Fruchtwasser wurden mit Lateral Flow Immunoassay als POC (Point-Of-Care) Test, welcher innerhalb von 20 Minuten Ergebnisse liefert, und ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) quantitativ bestimmt. Ihr Zusammenhang mit maternalen Parametern wurde untersucht. Die nichtinvasive Fruchtwassergewinnung mit einer Presse war bei 65% der Schwangeren durchführbar. Die tägliche Probengewinnung vom PPRM bis zur Geburt konnte dabei erstmalig über mehrere Wochen hinweg vollzogen werden. Zur sequenziellen Zytokinmessung waren sowohl ELISA (IL-6, IL-8, TNF α) als auch der POC Test (IL-6) geeignet. Zwischen den IL-6 Konzentrationen im Vaginalsekret gemessen mit ELISA und POC Test zeigte sich eine signifikante, stark positive Korrelation ($r=0.88$, $p\leq .0001$). Sie war bei blutig tingierten Proben schwächer als bei unblutigem Vaginalsekret ($r=0.38$, $p\leq .05$ vs. $r=0.89$, $p\leq .0001$). POC Test und ELISA lieferten signifikant unterschiedliche IL-6 Werte ($p\leq .0001$). Die Ergebnisse des POC Tests waren niedriger. Es konnten Entzündungsprofile für IL-6, IL-8 und TNF α im Zeitverlauf erstellt werden. Bei der Betrachtung der Zytokinwerte von IL-6 und IL-8 zeigte sich eine stark positive Korrelation sowie eine Übereinstimmung der Graphen über 14 Tage hinweg. Die Zusammenschau von maternalen Entzündungsparametern und Klinik der Schwangeren im Verlauf ließ Schlüsse auf

Zusammenfassung

mögliche Ursachen für einen Anstieg von IL-6 im Vaginalsekret und CRP im Serum zu, ein einheitliches Schema konnte dabei nicht eruiert werden. Die IL-6 Konzentration im Vaginalsekret gemessen mit ELISA zeigte eine signifikante, schwach positive Korrelation mit dem mütterlichen CRP im Serum ($r=0.24$, $p\leq .01$). IL-6 zeigte weder gemessen mit ELISA noch mit POC Test eine Korrelation mit mütterlichen Leukozyten. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass die verwendete Methode zur nichtinvasiven Fruchtwassergewinnung in Kombination mit der Zytokinmessung mittels POC Test bei ausreichendem Fruchtwasserabgang und nach Ausschluss von Blutbeimengungen als potenzielle Monitoringmaßnahme beim PPRM im klinischen Alltag geeignet ist. Um den genauen klinischen Nutzen dieses Monitorings abschließend zu beurteilen sind weitere Arbeiten mit einer größeren Studienpopulation nötig.

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|--------|--|
| Abb. | Abbildung |
| CRP | C-reaktives Protein |
| CST | community state types |
| CTG | Cardiotokogramm |
| dtb | days to birth |
| dpp | days post partum |
| ELISA | Enzyme-Linked Immunosorbent Assay |
| G-CSF | Granulozyten-Kolonien-stimulierender Faktor |
| GOT | Glutamat-Oxalacetat-Transaminase |
| GPT | Glutamat-Pyruvat-Transaminase |
| HCA | Histologische Chorioamnionitis |
| IAI | Intraamniotic Inflammation |
| i.d.R. | in der Regel |
| IL | Interleukin |
| ICSI | Intrazytoplasmatische Spermieninjektion |
| IUGR | Intrauterine Growth Restriction |
| MIAC | Microbial associated Invasion of the Amniotic Cavity |
| MMP | Matrix-Metalloprotease |
| OD | Optische Dichte |
| PBS | Phosphate Buffered Saline |
| PCR | Polymerasekettenreaktion |
| PCOS | Polyzystisches Ovar-Syndrom |
| POC | Point-Of-Care |
| PPROM | Preterm Prelabor Rupture of Membranes |
| PRR | Pattern-recognition Receptor |
| SSW | Schwangerschaftswoche |
| TLR | Toll-like Rezeptor |
| TNF | Tumornekrosefaktor |
| u.a. | unter anderem |
| v.a. | vor allem |
| Z.n. | Zustand nach |

Literaturverzeichnis

1. Romero R, Dey SK, Fisher SJ. Preterm labor: One syndrome, many causes. *Science* 2014; 345(6198):760–5.
2. World Health Organization. Preterm birth; 2016 [cited 2017 May 22]. Available from: URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs363/en/>.
3. Schneider H, Husslein P, Schneider K-TM, editors. *Die Geburtshilfe*. 5. Aufl. 2016. Berlin, Heidelberg, s.l.: Springer Berlin Heidelberg; 2016. (Springer Reference Medizin). Available from: URL: <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-662-45064-2>.
4. Slattery MM, Morrison JJ. Preterm delivery. *The Lancet* 2002; 360(9344):1489–97.
5. Iacovidou N, Varsami M, Syggellou A. Neonatal outcome of preterm delivery. *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1205:130–4.
6. Gravett MG, Hummel D, Eschenbach DA, Holmes KK. Preterm labor associated with subclinical amniotic fluid infection and with bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol* 1986; 67(2):229–37.
7. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med* 2000; 342(20):1500–7.
8. Cook JL, Zaragoza DB, Sung DH, Olson DM. Expression of myometrial activation and stimulation genes in a mouse model of preterm labor: myometrial activation, stimulation, and preterm labor. *Endocrinology* 2000; 141(5):1718–28.
9. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *The Lancet* 2008; 371(9606):75–84.
10. Duff P. Preterm premature rupture of membranes; 2016 [cited 2017 May 8]. Available from: URL: https://www.uptodate.com/contents/preterm-prelabor-rupture-of-membranes?search=preterm%20rupture&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1.
11. Kiss H, Reisenberger Klaus. Früher vorzeitiger Blasensprung. In: Schneider H, Husslein P, Schneider K-TM, editors. *Die Geburtshilfe*. 5. Aufl. 2016. Berlin, Heidelberg, s.l.: Springer Berlin Heidelberg; 2016. p. 307–19 (Springer Reference Medizin).

12. Jazayeri A. Premature Rupture of Membranes; 2016 [cited 2017 May 9]. Available from: URL: <http://emedicine.medscape.com/article/261137-overview#a3>.
13. Manuck TA, Varner MW. Neonatal and early childhood outcomes following early vs later preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2014; 211(3):308.e1-6.
14. Garnier Y, Yassin J. Vorgehen bei PPRM. In: Toth B, editor. Fehlgeburten Totgeburten Frühgeburten: Ursachen, Prävention und Therapie; 2017. p. 251–7.
15. Parry S, Strauss JF3. Premature rupture of the fetal membranes. *N Engl J Med* 1998; 338(10):663–70.
16. Bond DM, Middleton P, Levett KM, van der Ham DP, Crowther CA, Buchanan SL et al. Planned early birth versus expectant management for women with preterm prelabour rupture of membranes prior to 37 weeks' gestation for improving pregnancy outcome. *Cochrane Database Syst Rev* 2017; 3:CD004735.
17. Simhan HN, Canavan TP. Preterm premature rupture of membranes: diagnosis, evaluation and management strategies. *BJOG* 2005; 112 Suppl 1:32–7.
18. Romero R, Gomez R, Chaiworapongsa T, Conoscenti G, Cheol Kim J, Mee Kim Y. The role of infection in preterm labour and delivery. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2001; 15(s2):41–56.
19. Tita AT. Intra-amniotic infection; 2016 [cited 2017 May 8]. Available from: URL: https://www.uptodate.com/contents/intra-amniotic-infection-clinical-chorioamnionitis-or-triple-i?search=intraamniotic%20infection&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1.
20. Kim CJ, Romero R, Chaemsaitong P, Chaiyasit N, Yoon BH, Kim YM. Acute chorioamnionitis and funisitis: Definition, pathologic features, and clinical significance. *Am J Obstet Gynecol* 2015; 213(4 Suppl):S29-52.
21. Romero R, Espinoza J, Goncalves LF, Kusanovic JP, Friel L, Hassan S. The role of inflammation and infection in preterm birth. *Semin Reprod Med* 2007; 25(1):21–39.
22. Romero R, Miranda J, Chaemsaitong P, Chaiworapongsa T, Kusanovic JP, Dong Z et al. Sterile and microbial-associated intra-amniotic inflammation in preterm

prelabor rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2015; 28(12):1394–409.

23. Musilova I, Kutova R, Pliskova L, Stepan M, Menon R, Jacobsson B et al. Intraamniotic Inflammation in Women with Preterm Prelabor Rupture of Membranes. *PLoS One* 2015 [cited 2017 May 8]; 10(7):e0133929.

24. DiGiulio DB, Romero R, Kusanovic JP, Gomez R, Kim CJ, Seok KS et al. Prevalence and diversity of microbes in the amniotic fluid, the fetal inflammatory response, and pregnancy outcome in women with preterm pre-labor rupture of membranes. *Am J Reprod Immunol* 2010; 64(1):38–57.

25. Shim S-S, Romero R, Hong J-S, Park C-W, Jun JK, Kim BI et al. Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191(4):1339–45.

26. Jacobsson B, Mattsby-Baltzer I, Andersch B, Bokström H, Holst R-M, Nikolaitchouk N et al. Microbial invasion and cytokine response in amniotic fluid in a Swedish population of women with preterm prelabor rupture of membranes. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2003; 82(5):423–31.

27. Kacerovsky M, Musilova I, Bestvina T, Stepan M, Cobo T, Jacobsson B. Preterm Prelabor Rupture of Membranes between 34 and 37 Weeks: A Point-of-Care Test of Vaginal Fluid Interleukin-6 Concentrations for a Noninvasive Detection of Intra-Amniotic Inflammation. *Fetal Diagn Ther* 2017.

28. Musilova I, Kacerovsky M, Stepan M, Bestvina T, Pliskova L, Zednikova B et al. Maternal serum C-reactive protein concentration and intra-amniotic inflammation in women with preterm prelabor rupture of membranes. *PLoS One* 2017; 12(8):e0182731.

29. Averbuch B, Mazor M, Shoham-Vardi I, Chaim W, Vardi H, Horowitz S et al. Intra-uterine infection in women with preterm premature rupture of membranes: maternal and neonatal characteristics. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1995; 62(1):25–9.

30. Cobo T, Kacerovsky M, Palacio M, Hornychova H, Hougaard DM, Skogstrand K et al. Intra-amniotic inflammatory response in subgroups of women with preterm prelabor rupture of the membranes. *PLoS One* 2012; 7(8):e43677.

31. Musilova I, Bestvina T, Stranik J, Stepan M, Jacobsson B, Kacerovsky M. Transabdominal Amniocentesis Is a Feasible and Safe Procedure in Preterm Prelabor Rupture of Membranes. *Fetal Diagn Ther* 2017; 42(1):257-61.
32. Kacerovsky M, Musilova I, Stepan M, Andrys C, Drahosova M, Jacobsson B. Detection of intraamniotic inflammation in fresh and processed amniotic fluid samples with the interleukin-6 point of care test. *Am J Obstet Gynecol* 2015; 213(3):435–6.
33. Lee SM, Romero R, Park JS, Chaemsaitong P, Jun JK, Yoon BH. A transcervical amniotic fluid collector: A new medical device for the assessment of amniotic fluid in patients with ruptured membranes. *J Perinat Med* 2015; 43(4):381–9.
34. Kunze M, Klar M, Morfeld CA, Thorns B, Schild RL, Markfeld-Erol F et al. Cytokines in noninvasively obtained amniotic fluid as predictors of fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2016; 215(1):96.e1-8.
35. Cotton DB, Hill LM, Strassner HT, Platt LD, Ledger WJ. Use of amniocentesis in preterm gestation with ruptured membranes. *Obstet Gynecol* 1984; 63(1):38–43.
36. Musilova I, Bestvina T, Hudeckova M, Michalec I, Cobo T, Jacobsson B et al. Vaginal fluid IL-6 concentrations as a point-of-care test is of value in women with preterm PROM. *Am J Obstet Gynecol* 2016;215(5):619-e1.
37. Jun JK, Yoon BH, Romero R, Kim M, Moon JB, Ki SH et al. Interleukin 6 determinations in cervical fluid have diagnostic and prognostic value in preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183(4):868–73.
38. Genc MR, Ford CE. The clinical use of inflammatory markers during pregnancy. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2010; 22(2):116–21.
39. Higgins RD, Saade G, Polin RA, Grobman WA, Buhimschi IA, Watterberg K et al. Evaluation and Management of Women and Newborns With a Maternal Diagnosis of Chorioamnionitis: Summary of a Workshop. *Obstet Gynecol* 2016; 127(3):426–36.
40. Trochez-Martinez RD, Smith P, Lamont RF. Use of C-reactive protein as a predictor of chorioamnionitis in preterm prelabour rupture of membranes: A systematic review. *BJOG* 2007; 114(7):796–801.
41. Stepan M, Cobo T, Musilova I, Hornychova H, Jacobsson B, Kacerovsky M. Maternal Serum C-Reactive Protein in Women with Preterm Prelabor Rupture of Membranes. *PLoS One* 2016; 11(3):e0150217.

42. van de Laar R, van der Ham DP, Oei SG, Willekes C, Weiner CP, Mol BWJ. Accuracy of C-reactive protein determination in predicting chorioamnionitis and neonatal infection in pregnant women with premature rupture of membranes: A systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009; 147(2):124–9.
43. Jung EY, Park KH, Han BR, Cho SH, Yoo HN, Lee J. Amniotic Fluid Infection, Cytokine Levels, and Mortality and Adverse Pulmonary, Intestinal, and Neurologic Outcomes in Infants at 32 Weeks' Gestation or Less. *J Korean Med Sci* 2017; 32(3):480–7.
44. Cobo T, Palacio M, Martinez-Terron M, Navarro-Sastre A, Bosch J, Filella X et al. Clinical and inflammatory markers in amniotic fluid as predictors of adverse outcomes in preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2011; 205(2):126.e1-8.
45. Norman JE, Bollapragada S, Yuan M, Nelson SM. Inflammatory pathways in the mechanism of parturition. *BMC Pregnancy Childbirth* 2007; 7 Suppl 1:S7.
46. Holst R-M, Mattsby-Baltzer I, Wennerholm U-B, Hagberg H, Jacobsson B. Interleukin-6 and interleukin-8 in cervical fluid in a population of Swedish women in preterm labor: relationship to microbial invasion of the amniotic fluid, intra-amniotic inflammation, and preterm delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2005; 84(6):551–7.
47. Winkler M. Role of cytokines and other inflammatory mediators. *BJOG* 2003; 110 Suppl 20:118–23.
48. Kelly RW. Inflammatory mediators and cervical ripening. *Journal of Reproductive Immunology* 2002; 57(1-2):217–24.
49. El-Bastawissi AY, Williams MA, Riley DE, Hitti J, Krieger JN. Amniotic fluid interleukin-6 and preterm delivery: a review. *Obstet Gynecol* 2000; 95(6 Pt 2):1056–64.
50. Arntzen KJ, Kjollesdal AM, Halgunset J, Vatten L, Austgulen R. TNF, IL-1, IL-6, IL-8 and soluble TNF receptors in relation to chorioamnionitis and premature labor. *J Perinat Med* 1998; 26(1):17–26.
51. Fortunato SJ, Menon RP, Swan KF, Menon R. Inflammatory cytokine (interleukins 1, 6 and 8 and tumor necrosis factor-alpha) release from cultured human fetal membranes in response to endotoxic lipopolysaccharide mirrors

amniotic fluid concentrations. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174(6):1855-61; discussion 1861-2.

52. Hillier SL, Witkin SS, Krohn MA, Watts DH, Kiviat NB, Eschenbach DA. The relationship of amniotic fluid cytokines and preterm delivery, amniotic fluid infection, histologic chorioamnionitis, and chorioamnion infection. *Obstet Gynecol* 1993; 81(6):941–8.

53. Romero R, Mazor M, Sepulveda W, Avila C, Copeland D, Williams J. Tumor necrosis factor in preterm and term labor. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166(5):1576–87.

54. Santhanam U, Avila C, Romero R, Viguet H, Ida N, Sakurai S et al. Cytokines in normal and abnormal parturition: elevated amniotic fluid interleukin-6 levels in women with premature rupture of membranes associated with intrauterine infection. *Cytokine* 1991; 3(2):155–63.

55. Castell JV, Gomez-Lechon MJ, David M, Fabra R, Trullenque R, Heinrich PC. Acute-phase response of human hepatocytes: regulation of acute-phase protein synthesis by interleukin-6. *Hepatology* 1990; 12(5):1179–86.

56. Romero R, Avila C, Santhanam U, Sehgal PB. Amniotic fluid interleukin 6 in preterm labor. Association with infection. *J Clin Invest* 1990; 85(5):1392–400.

57. Chaemsaihong P, Romero R, Korzeniewski SJ, Martinez-Varea A, Dong Z, Yoon BH et al. A point of care test for interleukin-6 in amniotic fluid in preterm prelabor rupture of membranes: A step toward the early treatment of acute intra-amniotic inflammation/infection. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2016; 29(3):360–7.

58. Chaemsaihong P, Romero R, Korzeniewski SJ, Dong Z, Yeo L, Hassan SS et al. A point of care test for the determination of amniotic fluid interleukin-6 and the chemokine CXCL-10/IP-10. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2015; 28(13):1510–9.

59. Kacerovsky M, Musilova I, Hornychova H, Kutova R, Pliskova L, Kostal M et al. Bedside assessment of amniotic fluid interleukin-6 in preterm prelabor rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2014; 211(4):385.e1-9.

60. Orsi NM, Tribe RM. Cytokine networks and the regulation of uterine function in pregnancy and parturition. *J Neuroendocrinol* 2008; 20(4):462–9.

61. Gotsch F, Romero R, Kusanovic JP, Mazaki-Tovi S, Pineles B, Erez O et al. The fetal inflammatory response syndrome. *Clinical Obstetrics And Gynecology* 2007; (3):652–83.
62. Gomez R, Romero R, Edwin SS, David C. Pathogenesis of preterm labor and preterm premature rupture of membranes associated with intraamniotic infection. *Infect Dis Clin North Am* 1997; 11(1):135–76.
63. Cobo T, Jacobsson B, Kacerovsky M, Hougaard DM, Skogstrand K, Gratacos E et al. Systemic and local inflammatory response in women with preterm prelabor rupture of membranes. *PLoS One* 2014; 9(1):e85277.
64. Shobokshi A, Shaarawy M. Maternal serum and amniotic fluid cytokines in patients with preterm premature rupture of membranes with and without intrauterine infection. *International Journal of Gynecology & Obstetrics* 2002; 79(3):209–15.
65. r-biopharm AG. Gute ELISA-Praxis: Handbuch [cited 2017 Jun 29]. Available from: URL: www.r-biopharm.com/de/produkte/lebensmittel-futtermittelanalytik.
66. Milenia Biotec. POCScan Reader [cited 2017 Jun 27]. Available from: URL: <http://milenia-biotec.de/geraete/mileniar-pocscan-reader/>.
67. Milenia Biotec. Milenia QuickLine IL-6 [cited 2017 Jun 27]. Available from: URL: <http://milenia-biotec.de/immunologie/mileniar-quickline-il-6/>.
68. Tchirikov M, Schlabritz-Loutsevitch N, Maher J, Buchmann J, Naberezhnev Y, Winarno AS et al. Mid-trimester preterm premature rupture of membranes (PPROM): Etiology, diagnosis, classification, international recommendations of treatment options and outcome. *J Perinat Med* 2017.
69. Musilova I, Andrys C, Drahosova M, Soucek O, Pliskova L, Jacobsson B et al. Cervical fluid interleukin 6 and intra-amniotic complications of preterm prelabor rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2017:1–29.
70. Kacerovsky M, Musilova I, Jacobsson B, Drahosova M, Hornychova H, Janku P et al. Cervical fluid IL-6 and IL-8 levels in pregnancies complicated by preterm prelabor rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2015; 28(2):134–40.
71. Kacerovsky M, Musilova I, Jacobsson B, Drahosova M, Hornychova H, Janku P et al. Vaginal fluid IL-6 and IL-8 levels in pregnancies complicated by preterm prelabor membrane ruptures. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2015; 28(4):392–8.

72. Spinillo A, Nicola S, Piazzzi G, Ghazal K, Colonna L, Baltaro F. Epidemiological correlates of preterm premature rupture of membranes. *Int J Gynaecol Obstet* 1994; 47(1):7–15.
73. Park KH, Kim SN, Oh KJ, Lee SY, Jeong EH, Ryu A. Noninvasive prediction of intra-amniotic infection and/or inflammation in preterm premature rupture of membranes. *Reprod Sci* 2012 [cited 2017 May 10]; 19(6):658–65.
74. Chiswick EL, Duffy E, Japp B, Remick D. Detection and quantification of cytokines and other biomarkers. *Methods Mol Biol* 2012; 844:15–30.
75. Marconi C, Andrade Ramos BR de, Peracoli JC, Donders GGG, da Silva MG. Amniotic fluid interleukin-1 beta and interleukin-6, but not interleukin-8 correlate with microbial invasion of the amniotic cavity in preterm labor. *Am J Reprod Immunol* 2011; 65(6):549–56.
76. Karsten E, Breen E, Herbert BR. Red blood cells are dynamic reservoirs of cytokines. *Sci Rep* 2018; 8(1):3101.
77. Burns C, Hall ST, Smith R, Blackwell C. Cytokine Levels in Late Pregnancy: Are Female Infants Better Protected Against Inflammation? *Front Immunol* 2015; 6:318.
78. Figueroa R, Garry D, Elimian A, Patel K, Sehgal PB, Tejani N. Evaluation of amniotic fluid cytokines in preterm labor and intact membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2005; 18(4):241–7.
79. Weissenbacher T, Laubender RP, Witkin SS, Gingelmaier A, Schiessl B, Kainer F et al. Influence of maternal age, gestational age and fetal gender on expression of immune mediators in amniotic fluid. *BMC Res Notes* 2012; 5:375.
80. Zhang W, Wang L, Zhao Y, Kang J. Changes in cytokine (IL-8, IL-6 and TNF-alpha) levels in the amniotic fluid and maternal serum in patients with premature rupture of the membranes. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)* 2000; 63(4):311–5.
81. Saji F, Samejima Y, Kamiura S, Sawai K, Shimoya K, Kimura T. Cytokine production in chorioamnionitis. *Journal of Reproductive Immunology* 2000; 47(2):185–96.
82. Abrahams V. Immunology of the maternal-fetal interface; 2017 [cited 2017 May 9]. Available from: URL: <https://www.uptodate.com/contents/immunology-of-the-maternal-fetal->

interface?source=search_result&search=maternal%20fetal%20interface&selectedTitle=1~150.

83. Laham N, Brennecke SP, Bendtzen K, Rice GE. Tumour necrosis factor α during human pregnancy and labour: Maternal plasma and amniotic fluid concentrations and release from intrauterine tissues. *European Journal of Endocrinology* 1994; 131(6):607–14.

84. Chen HL, Yang YP, Hu XL, Yelavarthi KK, Fishback JL, Hunt JS. Tumor necrosis factor α mRNA and protein are present in human placental and uterine cells at early and late stages of gestation. *Am J Pathol* 1991; 139(2):327–35.

85. Preedy VR, Patel VB, editors. *General Methods in Biomarker Research and their Applications*. Dordrecht: Springer; 2015. (Biomarkers in Disease: Methods, Discoveries and Applications).

86. Fraunberger P, Walli AK, Seidel D. Zytokinanalytik. *Der Internist* 2001 [cited 2018 Nov 13]; 42(1):35–46. Available from: URL: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs001080050722.pdf>.

87. Hackenberg H, Rappe N, Wohlers S, Meyer-Wittkopf M, Schulz K-D. Wertigkeit des C-reaktiven Proteins (CRP) beim HELLP-Syndrom. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 1998; 58(09):508–12.

88. T. Stulnig. Adipositas und die Entzündung des Fettgewebes. *Austrian Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2009; 2(3), 17-21.

89. Baldwin EA, Walther-Antonio M, MacLean AM, Gohl DM, Beckman KB, Chen J et al. Persistent microbial dysbiosis in preterm premature rupture of membranes from onset until delivery. *PeerJ* 2015 [cited 2017 May 10]; 3:e1398.

90. Cobo T, Tsiartas P, Kacerovsky M, Holst R-M, Hougaard DM, Skogstrand K et al. Maternal inflammatory response to microbial invasion of the amniotic cavity: Analyses of multiple proteins in the maternal serum. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2013; 92(1):61–8.

91. Ansar W, Ghosh S. C-reactive protein and the biology of disease. *Immunol Res* 2013 [cited 2018 Feb 27]; 56(1):131–42. Available from: URL: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs12026-013-8384-0.pdf>.

92. Musilova I, Pliskova L, Gerychova R, Janku P, Simetka O, Matlak P et al. Maternal white blood cell count cannot identify the presence of microbial invasion of the amniotic cavity or intra-amniotic inflammation in women with preterm prelabor rupture of membranes. *PLoS One* 2017; 12(12):e0189394.
93. Johnston R. An overview of the innate immune system - UpToDate; 2018 [cited 2018 Feb 27]. Available from: URL: https://www.uptodate.com/contents/an-overview-of-the-innate-immune-system/print?search=leukocyte&source=search_result&selectedTitle=5~150&usage_type=default&display_rank=5.
94. Popowski T, Goffinet F, Batteux F, Maillard F, Kayem G. Prédiction de l'infection maternofoetale en cas de rupture prématurée des membranes par les marqueurs sériques maternels. *Gynecol Obstet Fertil* 2011; 39(5):302–8.
95. Ekin A, Gezer C, Taner CE, Ozeren M, Uyar I, Gulhan I. Risk factors and perinatal outcomes associated with latency in preterm premature rupture of membranes between 24 and 34 weeks of gestation. *Arch Gynecol Obstet* 2014; 290(3):449–55.
96. Melamed N, Hadar E, Ben-Haroush A, Kaplan B, Yogev Y. Factors affecting the duration of the latency period in preterm premature rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2009; 22(11):1051–6.
97. Dols JAM, Molenaar D, van der Helm JJ, Caspers MPM, Kat Angelino-Bart A de, Schuren FHJ et al. Molecular assessment of bacterial vaginosis by *Lactobacillus* abundance and species diversity. *BMC Infect Dis* 2016; 16:180.
98. Paramel Jayaprakash T, Wagner EC, van Schalkwyk J, Albert AYK, Hill JE, Money DM. High Diversity and Variability in the Vaginal Microbiome in Women following Preterm Premature Rupture of Membranes (PPROM): A Prospective Cohort Study. *PLoS One* 2016; 11(11):e0166794.
99. Kacerovsky M, Vrbacky F, Kutova R, Pliskova L, Andrys C, Musilova I et al. Cervical microbiota in women with preterm prelabor rupture of membranes. *PLoS One* 2015; 10(5):e0126884.

Literaturverzeichnis

100. Mendling W. Vaginale Mikrobiota – ein Update. Gynäkologe 2015 [cited 2018 Dec 28]; 48(11):780–6. Available from: URL: <http://mendling.doubleit-media.com/wp-content/uploads/vaginale-mikrobiota-ein-update.pdf>.
101. Iams JD, Romero R, Culhane JF, Goldenberg RL. Primary, secondary, and tertiary interventions to reduce the morbidity and mortality of preterm birth. The Lancet 2008; 371(9607):164–75.
102. Dorfeuille N, Morin V, Tétu A, Demers S, Laforest G, Gouin K et al. Vaginal Fluid Inflammatory Biomarkers and the Risk of Adverse Neonatal Outcomes in Women with PPROM. Am J Perinatol 2016; 33(10):1003–7.

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

| | |
|--|---|
| Abbildung 1: Stadium I-IV der aufsteigenden Infektion nach Kom, Romero et al (20)..... | 3 |
| Abbildung 2: Die nichtinvasive Fruchtwassergewinnung mit einer Presse | 12 |
| Abbildung 3: Der schematische Aufbau eines Sandwich-ELISAs (65) | 13 |
| Abbildung 4: Testeinheit des Milenia QuickLines (67) | 15 |
| Abbildung 5: POCScan Reader (66) | 15 |
| Abbildung 6: Probengewinnung beim PPRM..... | 19 |
| Abbildung 7: Korrelation der mit ELISA und POC Test bestimmten IL-6 Konzentrationen im Fruchtwasser | 20 |
| Abbildung 8: IL-6 für die Stichproben ‚Bestimmung mit ELISA‘ und ‚Bestimmung mit POC Test‘ | 20 |
| Abbildung 9: Korrelation der IL-6 Konzentrationen bestimmt mit ELISA und POC Test bei nicht blutigen Proben | 21 |
| Abbildung 10: Korrelation der IL-6 Konzentrationen bestimmt mit ELISA und POC Test bei blutigen Proben..... | 21 |
| Abbildung 11: Korrelation von IL-6 und IL-8 im nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser | 22 |
| Abbildung 12: Korrelation von IL-6 und TNF α im nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser | 23 |
| Abbildung 13: IL-6 Verläufe über zwei Wochen (ELISA) | 24 |
| Abbildung 14: IL-8 Verläufe über zwei Wochen (ELISA) | 24 |
| Abbildung 15: TNF α Verläufe über zwei Wochen (ELISA) ... Fehler! Textmarke nicht definiert. | |
| Abbildung 16: Darstellung von IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.2 | 26 |
| Abbildung 17: Darstellung von IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.4 | 28 |
| Abbildung 18: Darstellung von IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.5 | Fehler! Textmarke nicht definiert. |
| Abbildung 19: Darstellung von IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.6 | 33 |

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

| | |
|---|----|
| Abbildung 20: Darstellung von IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.7 | 35 |
| Abbildung 21: Darstellung von IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.8 | 37 |
| Abbildung 22: Darstellung von IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.9 | 39 |
| Abbildung 23: Darstellung von IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.10 | 41 |
| Abbildung 24: Darstellung von IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.11 | 44 |
| Abbildung 25: Darstellung von IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.12 | 46 |
| Abbildung 26: Korrelation von IL-6 (ELISA) im Fruchtwasser und CRP im maternalen Serum..... | 49 |
| Abbildung 27: Korrelation von IL-6 (POC Test) im Fruchtwasser und CRP im maternalen Serum | 49 |
| Abbildung 28: Korrelation von IL-6 (ELISA) im Fruchtwasser und Leukozyten im maternalen Serum | 50 |
| Abbildung 29: Korrelation von IL-6 (POC Test) im Fruchtwasser und Leukozyten im maternalen Serum | 50 |
| Abbildung 30: IL-6 Mittelwert (ELISA) im Fruchtwasser und die Dauer vom Blasensprung bis zur Geburt > 446 und < 446 Stunden..... | 51 |
| Abbildung 31: IL-6 Mittelwert (POC Test) im Fruchtwasser und die Dauer vom Blasensprung bis zur Geburt > 446 und < 446 Stunden..... | 51 |
| Abbildung 32: IL-6 Mittelwert (ELISA) im Fruchtwasser bei den Gruppen 'hohe Keimlast' und 'keine hohe Keimlast'..... | 52 |
| Abbildung 33: IL-6 Mittelwert (POC Test) im Fruchtwasser bei den Gruppen 'hohe Keimlast' und 'keine hohe Keimlast'..... | 52 |
| Abbildung 34: IL-6 vor Geburt (ELISA) im Fruchtwasser bei den Gruppen 'vaginale Geburt' und 'Sectio'..... | 53 |
| Abbildung 35: IL-6 vor Geburt (POC Test) im Fruchtwasser bei den Gruppen 'vaginale Geburt' und 'Sectio'..... | 53 |
| Abbildung 36: IL-6 vor Geburt (ELISA) im Fruchtwasser bei den Gruppen 'Entzündung' und 'keine Entzündung' im histologischen Befund | 54 |

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

| | |
|---|----|
| Abbildung 37: IL-6 vor Geburt (POC Test) im Fruchtwasser bei den Gruppen 'Entzündung' und 'keine Entzündung' im histologischen Befund | 55 |
| Tabelle 1: Utensilien für die Durchführung der Studie | 10 |
| Tabelle 2: Reagenzien und Kits für die Zytokinbestimmung | 11 |
| Tabelle 3: Reagenzien für die Durchführung des ELISAs | 13 |
| Tabelle 4: Charakteristika des Patientenkollektivs..... | 17 |
| Tabelle 5: Übersicht der IL-6 Konzentrationen bestimmt mit ELISA und POC Test . | 19 |
| Tabelle 6: Übersicht der Zytokinkonzentrationen gemessen mit ELISA | 22 |
| Tabelle 7: IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.2..... | 27 |
| Tabelle 8: IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.4..... | 29 |
| Tabelle 9: IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.5..... | 31 |
| Tabelle 10: IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.6..... | 33 |
| Tabelle 11: IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.7..... | 36 |
| Tabelle 12: IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.8..... | 38 |
| Tabelle 13: IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.9..... | 40 |
| Tabelle 14: IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.10 | 41 |
| Tabelle 15: IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.11 | 44 |
| Tabelle 16: IL-6 im Fruchtwasser gemessen mit ELISA und POC Test sowie CRP im maternalen Serum im Zeitverlauf - Patientin Nr.12..... | 47 |
| Tabelle 17: Vaginale Keimbepflanzung beim frühen vorzeitigen Blasensprung..... | 56 |

Danksagung

Danksagung

Mein Dank gilt all den Personen, die mir mit Rat und Tat zur Seite standen und so maßgebend für das Gelingen meiner Arbeit waren.

Ich bedanke mich bei Frau Prof. Dr. Seelbach-Göbel, Direktorin der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe der Universität Regensburg - St. Hedwig. Für Ihre hilfreichen Ratschläge, das in mich gesetzte Vertrauen und die Möglichkeit zur Forschung an diesem interessanten Thema bin ich Ihnen sehr dankbar.

Ein besonderer Dank für die herzliche Betreuung und die Hilfe bei Sorgen und Fragen geht an Frau Dr. Reuschel, meine Betreuerin. Danke, dass Sie sich stets Zeit genommen haben.

Dankeschön auch an Herrn Dr. Ernst und Frau Wiesler für die lehrreiche Zusammenarbeit beim experimentellen Teil der Arbeit.


Zu guter Letzt möchte ich meinen Eltern für ihren grenzenlosen Rückhalt, meiner Kommilitonin, Nadine Hock, für den Beistand sowie meinem Partner und meinen Freunden für ihr Verständnis danken.

Aus all dieser Unterstützung konnte ich viel Energie schöpfen!

Erklärung

Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet. Insbesondere habe ich keine entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeit, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, erhalten. Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.



F.Aigner, Manching, den 30.12.2019

Lebenslauf

Lebenslauf

Name: Franziska Aigner
Geburtsdatum/ -ort: 26.11.1994, Eggenfelden
Wohnort: Manching



Bildungsweg

10/2013 – 11/2019 **Studium der Humanmedizin**
Universität Regensburg, Abschlussnote „sehr gut“ (1,5)

11/2019 **Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung**
Universität Regensburg, Abschlussnote „sehr gut“ (1,0)

10/2018 **Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung**
Universität Regensburg, Abschlussnote „gut“ (2,0)

10/2015 **Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung**
Universität Regensburg, Abschlussnote „sehr gut“ (1,5)

06/2013 **Allgemeine Hochschulreife**
Gymnasium, Landau a.d.Isar, Abiturnote (1,1)

09/2005 – 06/2013 **Naturwissenschaftlich-technologisches Gymnasium**
Gymnasium, Landau a.d.Isar

Praktische Erfahrung

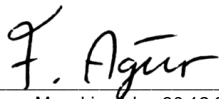
07/2019 - 10/2019 **Praktisches Jahr**
Innere Medizin
Klinikum Ingolstadt

03/2019 – 06/2019 **Viszeral-, Gefäß- sowie Unfallchirurgie**
Rottal-Inn Kliniken, Standort Eggenfelden

11/2018 – 03/2019 **Psychiatrie und Psychotherapie**
Bezirksklinikum Regensburg

Weiterbildung

11/2017 **Postervorstellung beim 28. Deutschen Kongress für Perinatale Medizin**
Berlin



F. Aigner, Manching, den 30.12.2019