

Medizinische Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

**Vaginales Interleukin-6 zur Vorhersage einer fetalen Inflammation nach frühem vorzeitigem Blasensprung**

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt  
der Medizinischen Fakultät  
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Michael Bergner  
geboren am 25.08.1983 in Halle (Saale)

Betreuer:  
PD Dr. med. habil. Gregor Seliger

01.06.2021

02.06.2022

PD C. Birdir, Dresden

Frau Prof. A. Königer, Regensburg

## Referat

In der vorliegenden Arbeit soll die vaginale Interleukin-6-Konzentration als Parameter für das Risiko einer intrauterinen Inflammation untersucht werden. Hierfür wurde ein neuartiges Verfahren der Probengewinnung entwickelt. Die Rekrutierung von Patientinnen mit frühem vorzeitigem Blasensprung erfolgte im Rahmen einer prospektiven, multizentrischen Studie. Bei den Probandinnen wurde einmal täglich ein Kunstfaserschwamm in die Scheide eingelegt und die Vaginalflüssigkeit durch anschließende Zentrifugation gewonnen. Durch diese Methode ist erstmals eine serielle Bestimmung der vaginalen Interleukin-6-Konzentration bis zur Entbindung darstellbar. Die Einteilung der Fälle in eine Inflammations- und eine Kontrollgruppe erfolgt retrospektiv anhand postnataler Endpunkte (auffällige Plazentahistologie, erhöhte Interleukin-6-Konzentration im Nabelschnurblut und klinische Zeichen einer frühen Neugeborenenensepsis). Der Vergleich der vaginalen Interleukin-6-Konzentration ( $IL-6_{vag}$ ) sowie der mütterlichen Entzündungsparameter zwischen den Gruppen erfolgt jeweils für die letzte Messung und im zeitlichen Verlauf vor Entbindung.

Das entwickelte Verfahren ermöglicht eine tägliche Bestimmung der vaginalen Interleukin-6-Konzentration. In der letzten Messung vor Entbindung unterscheidet sich die vaginale IL-6-Konzentration der beiden Gruppen signifikant. Bei der Analyse der Messwerte nach Tagen vor Entbindung ist ein signifikanter Unterschied bereits zwei Tage vor Entbindung festzustellen. Die im Rahmen der Routinediagnostik bestimmten mütterlichen Parameter ( $WBC_{mat}$ ,  $CRP_{mat}$ ,  $IL-6_{mat}$ ) ermöglichen eine schlechtere Differenzierung zwischen den Gruppen.

Die Ergebnisse der Arbeit decken sich im Wesentlichen mit Vorarbeiten, bei denen eine erhöhte vaginale Interleukin-6-Konzentration im Zusammenhang mit einer intrauterinen Inflammation oder Infektion festgestellt wurde. Bei nahezu allen bisher publizierten Studien handelt es sich im Gegensatz zur hier vorliegenden Studie um Einzelpunktmessungen. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sprechen für das Potential der vaginalen IL-6-Konzentration, wie auch der entwickelten Entnahmemethode in der täglichen Routinediagnostik nach frühem vorzeitigem Blasensprung. Auf Grund der geringen Fallzahl ist diese Studie als Pilotstudie zu werten, deren Ergebnisse es in groß angelegten Folgestudien zu verifizieren gilt. Die wichtigsten Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden publiziert (Seliger et al. 2021).

Bergner, Michael: Vaginales Interleukin-6 zur Vorhersage einer fetalen Inflammation nach frühem vorzeitigem Blasensprung, Halle (Saale), Univ., Med. Fak., Diss., 65 Seiten, 2021

## Inhaltsverzeichnis

1	Einführung .....	1
2	Zielstellung .....	10
3	Material und Methoden .....	11
3.1	Studiendesign.....	11
3.2	Ein- und Ausschlusskriterien.....	14
3.3	diagnostische Methoden.....	14
3.4	statistische Methoden .....	16
4	Ergebnisse .....	17
4.1	Patientengut .....	17
4.2	Durchführbarkeit .....	21
4.3	vaginales Interleukin-6 und Inflammation.....	22
4.4	Vergleich mit maternalen Serumparametern.....	25
4.5	Korrelation mit amniotischer Flüssigkeit .....	33
5	Diskussion .....	36
6	Zusammenfassung .....	48
	Literaturverzeichnis.....	49
	Thesen .....	59

## Abkürzungen

a	-----	Jahr(e)
Abb.	-----	Abbildung
AC	-----	Amniozentese
AFP	-----	α Fetoprotein
AFP <sub>ac</sub>	-----	AFP-Konzentration in durch Amniozentese gewonnener Fruchtwasserprobe
AFP <sub>vag</sub>	-----	AFP-Konzentration im Vaginalsekret
AIS	-----	Amnioninfektionssyndrom
art.	-----	arteriell
AUC	-----	<i>area under the curve</i> – Fläche unter der Kurve
AZ	-----	(klinischer) Allgemeinzustand
BE	-----	<i>base excess</i> – Basenüberschuss
BMI	-----	<i>body mass index</i>
BPD	-----	bronchopulmonale Dysplasie
bpm	-----	<i>beats per minute</i> – Schläge pro Minute
bzgl.	-----	bezüglich
°C	-----	Grad Celsius
CI	-----	Konfidenzintervall
CPAP	-----	<i>continuous positive airway pressure</i>
CRF	-----	<i>case report form</i> – Prüfbogen
CRP	-----	C-reaktives Protein
CRP <sub>mat</sub>	-----	CRP-Konzentration im mütterlichen Blut
CVF	-----	cervicovaginale Flüssigkeit
d	-----	Tag(e)
ECLIA	-----	<i>Electrochemilumineszens Immunoassay</i>
EKH	-----	St. Elisabeth-Krankenhaus Halle (Saale)
Entb.	-----	Entbindung
EONS	-----	<i>early onset neonatal sepsis</i> – frühe Neugeborenensepsis
FIRS	-----	<i>fetal inflammatory response syndrome</i> – Fetale Sepsis
FWI	-----	Fruchtwasserindex
GBS	-----	Gruppe B Streptokokken (-status)

Gpt/l	-----	Gigapartikel pro Liter
i.S.	-----	im Sinne
I/T	-----	<i>immature/total-ratio</i> – I/T-Quotient
ITS	-----	Intensivstation
IL-6	-----	Interleukin-6
IL-6 <sub>ac</sub>	-----	IL-6-Konzentration in durch Amniozentese gewonnener Fruchtwasserprobe
IL-6 <sub>mat</sub>	-----	Interleukin-6-Konzentration im mütterlichen Blut
IL-6 <sub>vag</sub>	-----	Interleukin-6-Konzentration im Vaginalsekret
Infl.	-----	Inflamationsgruppe
IVH	-----	intraventrikuläre Hämorrhagie
k.A.	-----	keine Angaben
Kont.	-----	Kontrollgruppe
LONS	-----	<i>late onset neonatal sepsis</i> – späte Neugeborenenensepsis
LRI	-----	Lungenreifeinduktion
mg/dl	-----	Milligramm pro Deziliter
mg/l	-----	Milligramm pro Liter
MIAC	-----	<i>microbial invasion of the amniotic cavity</i> - bakterielle Besiedlung der Fruchthöhle
min	-----	Minute(n)
mm <sup>3</sup>	-----	Kubikmillimeter
mmol/l	-----	Millimol pro Liter
MMP-8	-----	Matrix-Metalloprotease-8
mval/l	-----	Millival pro Liter
n	-----	Anzahl
NapH	-----	pH im arteriellen Nabelschnurblut
NEC	-----	nekrotisierende Enterokolitis
neg.	-----	negativ
NPV	-----	<i>negative predictive value</i> – negativer Vorhersagewert
NS	-----	Nabelschnur
NvpH	-----	pH im venösen Nabelschnurblut
OR	-----	<i>odds ratio</i> - Chancenverhältnis
PAMG-1	-----	plazentares $\alpha$ Mikroglobulin 1

PCT ----- Prokalzitonin  
 PCR ----- *polimerase chain reaction* – Polymerase-Kettenreaktion  
 pers.Duct.Art. ----- persistierender ductus arteriosus  
 pg/ml ----- Pikogramm pro Milliliter  
 pos. ----- positiv  
 PPROM----- *preterm prelabor rupture of membranes* – früher vorzeitiger Blasensprung  
 PPV----- *positive predictive value* – positive Vorhersagewert  
 prim. ----- primär  
 PROM----- *prelabor rupture of membranes* – vorzeitiger Blasensprung  
 RDS ----- *respiratory distress syndrome* – Atemnotsyndrom  
 RNS ----- Ribonukleinsäure  
 ROC----- *receiver operating characteristic* - Grenzwertoptimierungskurve  
 RKZ----- Rekapillarierungszeit  
 s ----- Sekunde(n)  
 sek. ----- sekundär  
 Sens. ----- Sensitivität  
 SIRS----- systemisches inflammatorisches Response-Syndrom  
 Spez. ----- Spezifität  
 SS----- Schwangerschaft  
 SSW----- Schwangerschaftswoche(n)  
 Tab. ----- Tabelle  
 TNF- $\alpha$  ----- Tumor Nekrosefaktor- $\alpha$   
 UKH ----- Universitätsklinikum Halle (Saale)  
 UKJ ----- Universitätsklinikum Jena  
 UKL ----- Universitätsklinikum Leipzig  
 ven. ----- venös  
 voll.----- vollendet(e)  
 WBC----- *white bloodcell count* – Leukozytenkonzentration

## 1 Einführung

Der frühe vorzeitige Blasensprung (PPROM) und sein Management stellt eine der größten Herausforderungen in der modernen Geburtshilfe dar. Die medizinische Versorgung von Schwangeren und Neugeborenen hat in den letzten Dekaden zweifelsfrei erhebliche Verbesserungen erfahren. Trotzdem stellen die Folgekomplikationen des frühen vorzeitigen Blasensprunghes – vor allem die intrauterine Infektion und die Frühgeburt – konstant eine wesentliche Ursache neonataler Morbidität und Mortalität dar (American College of Obstetricians and Gynecologists 2020; Higgins et al. 2016; Liu et al. 2015; Shah and Padbury 2014; Shane et al. 2017). Ein wesentliches Problem liegt in den unzureichenden Möglichkeiten, eine fetale Infektion zu erkennen oder vorherzusagen. Die geringe Sensitivität und Spezifität der Routinediagnostik haben eine iatrogene Frühgeburt oder andererseits eine intrauterine Infektion des Kindes zur Folge, welche das Outcome nach PPROM verschlechtern (DGGG, OEGGG, SGGG 2019; Ona et al. 2019; Su et al. 2014; Sung et al. 2016; Tchirikov et al. 2018).

Der frühe vorzeitige Blasensprung betrifft ca. 3-5% aller Schwangerschaften (Mercer et al. 2000; Mercer 2003; Sae-Lin and Wanitpongpan 2019; Tchirikov et al. 2018). Erhebliche klinische Relevanz erlangt diese Komplikation vor allem als Ursache für Frühgeburt und Neugeborenenensepsis. So sind 25-30% aller Frühgeburten mit einem frühen vorzeitigen Blasensprung assoziiert (Mercer et al. 2000; Moutquin 2003; Roberts et al. 2017). Je nach Definition kommt es in 5-24% aller Fälle nach PPROM zu einer Neugeborenenensepsis (Arora et al. 2014; Bond et al. 2017; Drassinower et al. 2016). Beide Komplikationen machen mit geschätzten 1,5 Millionen Todesfällen jährlich einen wachsenden relativen Anteil der weltweiten Kindersterblichkeit aus (Liu et al. 2015; Liu et al. 2016). Weitere Komplikationen des PPROM sind Plazentalösung, Nabelschnurvorfal und pulmonale Hypoplasie, die, wenn auch mit geringerer Inzidenz, ebenfalls zur Morbidität und Mortalität beitragen (Furman et al. 2000; Mercer 2003; Mercer 2005; Tchirikov et al. 2018; Williams et al. 2012).

Als häufigste Ursache für den frühen vorzeitigen Blasensprung gilt die aufsteigende Infektion (Goldenberg et al. 2008; Menon and Richardson 2017). Die Besiedelung des inneren Muttermundes und der anliegenden Eihäute mit Bakterien führt zur zunehmenden Instabilität der fetalen Membranen (Fortner et al. 2014; Kumar et al. 2016). Nach dem Blasensprung erhöht sich das Risiko einer bakteriellen Besiedelung deutlich (Fortner et al. 2014) was im weiteren Verlauf zu einer Infektion von Fruchthöhle und Feten führen kann (Redline 2012; Tchirikov et al. 2018). Die Inflammationsreaktion führt zu einer erhöhten Kontraktilität des Myometriums und so zur vorzeitigen

Wehentätigkeit und Frühgeburt (Sivarajasingam et al. 2016). Gleichzeitig erhöht sich die neonatale Morbidität bei Auftreten einer intrauterinen Inflammation (Ramsey et al. 2005; Soraisham et al. 2009; Villamor-Martinez et al. 2018a; Villamor-Martinez et al. 2018b). Bei Auftreten von fetalen oder maternalen Infektionszeichen ist daher eine rasche Entbindung indiziert (American College of Obstetricians and Gynecologists 2020; DGGG, OEGGG, SGGG 2019). Aus diesen Gründen erfolgt in 50% aller Fälle die Entbindung innerhalb der nächsten sieben Tage nach einem vorzeitigem Blasensprung (Mercer 2003).

Das klinische Management nach vorzeitigem Blasensprung ist von dem Bestreben geprägt, die frühgeburtsassoziierten Risiken zu reduzieren und gleichzeitig eine fetale Infektion zu vermeiden. Im Falle eines Blasensprunges zwischen der 24. und der 34. SSW wird nach Ausschluss einer akuten Gefährdungssituation ein exspektatives Vorgehen empfohlen (American College of Obstetricians and Gynecologists 2020; DGGG, OEGGG, SGGG 2019). Die Behandlung umfasst im Wesentlichen eine kalkulierte Antibiotikaphylaxe, die Optimierung des geburtshilflichen Settings durch Verlegung in eine entsprechend ausgestattete Einrichtung sowie die Verbesserung der kindlichen Prognose durch Glucocorticoidgabe und Prolongation. Bei Schwangerschaften unterhalb der 29. SSW sollte des Weiteren eine Neuroprotektion erfolgen. Die tokolytische Therapie hat derzeit nur noch einen Stellenwert zur Verlegung in eine entsprechend ausgestattete Klinik und zum Abschluss der Lungenreifeinduktion (DGGG, OEGGG, SGGG 2019). Gleichzeitig ist ein engmaschiges Monitoring auf Zeichen einer fetomaternalen Infektion sowie eine zügige Entbindung im Fall von Komplikationen essentiell.

Die in den deutschen Leitlinien empfohlene Routinediagnostik umfasst die Kontrolle des fetalen Herzfrequenzmusters mittels CTG, die klinische Untersuchung als auch die Kontrolle der maternalen Laborparameter. Eine Entbindung wird bei Hinweisen auf eine *triple I (intrauterine infection, inflammation or both)* empfohlen (siehe unten). Gleichzeitig wird die eingeschränkte Vorhersage sowohl der klinischen wie auch der paraklinischen Überwachung hervorgehoben. Die deutschen Leitlinien betonen explizit, dass derzeit keine fetale Überwachungsmethode zur Verfügung steht, „*die zuverlässig eine intrauterine Inflammation oder Infektion anzeigt*“ (DGGG, OEGGG, SGGG 2019). Die amerikanischen Leitlinien empfehlen ebenso die Überwachung auf Infektionszeichen, wobei auch hier die Vorhersage einer intrauterinen Infektion durch die Routinediagnostik sehr kritisch betrachtet wird: „*Serial monitoring of leukocyte counts and other markers of inflammation have not been proved to be useful and are nonspecific when there is no*



*clinical evidence of infection ...*“ (American College of Obstetricians and Gynecologists 2020).

Die Frühgeburt bezeichnet eine Entbindung vor Erreichen der kindlichen Reife mit einem Schwangerschaftsalter von 37 voll. SSW. Diese Gruppe weist eine höhere Morbidität und Mortalität auf (Platt 2014). Die Komplikationen betreffen vor allem die pulmonale Funktion, die Infektanfälligkeit und die Funktion des vaskulären Systems (Shane et al. 2017). Die wichtigsten Komplikationen nach Frühgeburt sind daher das Respiratory distress syndrom (RDS), die bronchopulmonale Dysplasie (BPD), die neonatale Sepsis sowie Blutungskomplikationen, vor allem intrakranielle Hämorrhagien. Diese Komplikationen bedingen eine erhebliche Mortalität sowie eine kurz- und langfristige Morbidität bei den betroffenen Kindern (Lui et al. 2019). Die Frühgeburt allein stellt mit ca. 965000 Fällen jährlich eine der wesentlichen Ursachen für die Kindersterblichkeit weltweit dar (Liu et al. 2015). Frühgeburt und niedriges Geburtsgewicht sind die wichtigsten Risikofaktoren für die Entwicklung einer Neugeborenenensepsis mit einer 3-10-fachen Inzidenz (Shane et al. 2017).

Die Mortalitätsrate ist indirekt proportional zum Schwangerschaftsalter. So betrug die neonatale Gesamtmortalität bei in einer Auswertung US-amerikanischer Geburtendaten von über 25 Millionen zwischen 2005 und 2014 geborenen Einlingen nach einer Entbindung in der 24. SSW 28,5%, in der 28. SSW noch 3,9% und in der 34. SSW 0,32% (Chen and Chauhan 2019). In Deutschland betrug im Jahr 2017 die perinatale Mortalität von Kindern unterhalb der 28. SSW 33,43%, zwischen der 28. und 31. SSW 8,01% und zwischen der 32. und der 36. SSW noch 1,6% (DGGG, OEGGG, SGGG 2019; IQTIG 2018). Ähnliche Verläufe stellen sich für die einzelnen Komplikationen dar (Mercer 2003). Bei der Betreuung von Patientinnen nach frühem vorzeitigem Blasensprung gilt es daher zu beachten, dass die Prolongation – insbesondere vor 28 voll. SSW, jedoch kaum noch nach 34 voll. SSW – die neonatalen Risiken reduziert. Diese Risikoreduktion begründet die Empfehlung der Prolongation nach PPRM. Der Verbesserung der Routinediagnostik kommt in diesem Zusammenhang erhebliche klinische Bedeutung zu: Eine verbesserte Spezifität dürfte die Rate an fehlerhaft gestellten Entbindungsindikationen und damit verbundener iatrogenen Frühgeburt verringern.

Der Begriff der *clinical chorioamnionitis* bezeichnet eine systemische maternale Inflammationsreaktion auf Grund einer nachgewiesenen oder vermuteten Infektion der Fruchthöhle (Gibbs and Duff 1991; Newton 1993; Tita and Andrews 2010). Im deutschen Sprachgebrauch wird der Begriff des Amnioninfektionssyndroms synonym verwendet (DGGG 2010). Es werden klinische und paraklinische Zeichen einer systemischen

Inflamationsreaktion (Temperaturerhöhung >38°C, maternale Tachykardie >100bpm, Leukozytose >15Gpt/l, serieller CRP-Anstieg) sowie klinische Hinweise auf eine intrauterine Infektion (übel riechendes Fruchtwasser, fetale Tachykardie >150bpm, zunehmende Wehentätigkeit, druckschmerzhafter Uterus) zur Definition herangezogen (DGGG 2010; Gingelmaier and Genzel-Boroviczény 2013).

2016 wurde von Higgins et al. (Higgins et al. 2016) der Begriff der *triple I* (*intrauterine infection, inflammation or both*) eingeführt, der sich auch in den Leitlinien durchgesetzt hat (American College of Obstetricians and Gynecologists 2017; DGGG, OEGGG, SGGG 2019). Mit der neuen Nomenklatur wird der Tatsache Rechnung getragen, dass eine intrauterine Inflammation nicht zwangsläufig infektionsbedingt auftreten muss (Romero et al. 2014). Gleichzeitig wird die *triple I* von einem isolierten maternalen Fieber dezidiert abgegrenzt, um eine Erweiterung des Begriffes auf unspezifische klinische Auffälligkeiten zu vermeiden, wie dies nach Meinung der Autoren in der Vergangenheit mit dem bislang gängigen Begriff der *clinical chorioamnionitis* geschehen ist (Higgins et al. 2016). Des Weiteren differenziert die Terminologie zwischen der *suspected* (d.h. auf Grund von klinischen Auffälligkeiten vermuteten) und der *confirmed triple I*. Letztere stellt die histologische oder durch Fruchtwasseranalysen bestätigte klinische Verdachtsdiagnose dar. Die *suspected triple I* entspricht im Wesentlichen dem Amnioninfektionssyndrom im Sinne seiner eigentlichen Definition. Die *triple I* hebt die Bedeutung der Amniozentese (Kultur, Glucosekonzentration) und der (retrospektiven) histologischen Beurteilung der Plazenta hervor. In den deutschen Leitlinien werden die von Higgins et al. angeführten Auffälligkeiten im Fruchtwasser klarer definiert (DGGG, OEGGG, SGGG 2019). Tabelle 01 stellt die Definitionen den unterschiedlichen Bezeichnungen gegenüber. Die klinisch manifeste, systemische Inflamationsreaktion, ob als *triple I*, als *clinical chorioamnionitis* oder als Amnioninfektionssyndrom definiert, ist ein Hinweis für lebensbedrohliche Komplikationen. Neben der drohenden maternalen Sepsis ist sie als Prognosefaktor für das kindliche Outcome relevant. Beispielsweise ist eine frühe Neugeborenenensepsis deutlich häufiger (Hanke et al. 2015; Shane et al. 2017). Gleiches gilt für andere Komplikationen wie Hirnblutungen (Villamor-Martinez et al. 2018b) oder bronchopulmonaler Dysplasie (Villamor-Martinez et al. 2019). Deshalb ist die klinisch manifeste maternale Infektion keine optimale Entbindungsindikation: Im Falle einer ursächlichen intrauterinen Infektion muss von einer schweren fetalen Infektion mit den damit verbundenen Risiken ausgegangen werden. Eine Entbindung erfolgt in diesem Fall zu spät. Auch wenn eine schwere intraamniotische Infektion nicht ohne Auswirkungen auf den mütterlichen Organismus bleiben kann, so kann dessen Reaktion bis zur klinischen Auffälligkeit durch das mütterliche Immunsystem und eine, im

Vergleich zum Feten, bessere Bioverfügbarkeit von Antibiotika verzögert und geringer ausgeprägt sein. Andererseits können Erkrankungen (wie beispielsweise Harnwegsinfektionen) Symptome hervorrufen, die von einer beginnenden intrauterinen Infektion nicht sicher abgrenzbar sind (Dulay et al. 2015; Tchirikov et al. 2018).

Tabelle 01: Definitionen der Termini AIS, *clinical chorioamnionitis* und *triple I*

Amnioninfektionssyndrom (DGGG 2010; Gingelmaier and Genzel-Boroviczény 2013)	<i>clinical chorioamnionitis</i> (Newton 1993; Tita and Andrews 2010)	<i>triple I</i> (DGGG, OEGGG, SGGG 2019; Higgins et al. 2016)
Temperatur >38°C axillar und mind. zwei der folgenden Kriterien: - maternale Tachykardie (>100bpm) - fetale Tachykardie (>150 bpm) - druckschmerzhafter Uterus - Wehentätigkeit - übel riechendes Fruchtwasser - Leukozytose >15Gpt/l - CRP - Anstieg (seriell)	Temperatur >37,8°C sowie zwei der folgenden Kriterien: - druckempfindlicher Uterus - übel riechender Ausfluss - fetale Tachykardie (>160bpm) - maternale Leukozytose (>15Gpt/l)	<u><i>suspected</i></u> maternales Fieber unklarer Ursache sowie eines der folgenden Kriterien: - fetale Tachykardie (>160bpm, >10Minuten) - maternale Leukozytose (>15Gpt/l, nicht nach Kortikosteroidgabe) - purulenter Fluor ex utero  <u><i>confirmed</i></u> zusätzlich eines der folgenden Kriterien: - histologischer Nachweis einer Chorioamnionitis - AC Glucosekonz. <14mg/dl (0,8mmol/l) - AC Leukozyten >30/mm <sup>3</sup> - AC Bakterien in Gramfärbung oder Kultur

(AC: Amniozentese; bpm: Schläge pro Minute; CRP: C-reaktives Protein; Gpt/l: Gigapartikel pro Liter; mg/dl: Milligramm pro Deziliter; Konz.: Konzentration; mm<sup>3</sup>: Kubikmillimeter; mmol/l: Millimol pro liter)

Die *triple I* findet sich als Entbindungsindikation bei der Behandlung des frühen vorzeitigen Blasensprunges in den gängigen Leitlinien, da es sich um die eindeutig definierbare Konstellation handelt, bei der eine Entbindung klar indiziert ist. Jedoch ist bereits bei Vorliegen dieser Konstellation das neonatale Komplikationsrisiko deutlich erhöht, was den präventiven Charakter des Managements nach PPROM konterkariert. Darüber hinaus gibt es Hinweise für eine sehr geringe Sensitivität der klinischen Kriterien bei der Vorhersage einer intrauterinen Infektion (Maki et al. 2020; Ona et al. 2019). Eine verbesserte Sensitivität der Routinediagnostik würde das Risiko einer intrauterinen Infektion nach PPROM reduzieren.

Nach dem frühen vorzeitigen Blasensprung kommt es mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einer Besiedelung der Fruchthöhle mit Bakterien aus dem unteren Genitaltrakt (Mercer 2005), was eine lokale Inflammationsreaktion von Plazenta, Eihäuten, Nabelschnur

sowie eine fetale Infektion auslösen kann (Kim et al. 2015). Die Inflammation des fetalen Gewebes und der Plazenta lässt sich histologisch in Form einer Granulozyteninfiltration nachvollziehen und wird als histologische Chorioamnionitis (*histological chorioamnionitis* – HCA) bezeichnet (Redline 2012). Für die Diagnose der histologischen Chorioamnionitis haben sich verschiedene Klassifikationssysteme etabliert. Eines der gängigsten ist die Klassifikation nach Redline (Redline et al. 2003) welche in zahlreichen Studien Verwendung findet und von führenden Experten zur Diagnosestellung einer histologischen Chorioamnionitis empfohlen wird (Khong et al. 2016). Die Diagnosekriterien nach Redline werden in Tabelle 02 zusammengefasst.

Tabelle 02: histologische Chorioamnionitis (Feist et al. 2017; Redline et al. 2003)

Kategorie	Terminologie	Definition
<b>Maternale Inflammation</b>		
Stadium 1 – früh (unspezifisch)	akute Subchorionitis oder Chorionitis	neutrophile Granulozyten im subchorialen Fibrin und/oder membranösen Trophoblast
Stadium 2	akute Chorioamnionitis	diffus oder fokal ausgeprägte Ausbreitung von neutrophilen Granulozyten in der Chorionplatte und/oder im Amnion
Stadium 3	nekrotisierende Chorioamnionitis	Karyorrhesis der neutrophilen Granulozyten, Nekrosen des Amnions und/oder Verbreiterung der Amnionbasalmembran
Grad 1 (leicht)		geringer als Grad 2
Grad 2 (schwer)	schwere akute granulozytäre Entzündung mit subchorialen Mikroabszessen	konfluierende neutrophile Granulozyten ( $\geq 10 \times 20$ Zellen) zwischen Chorion und Dezidua; $\geq 3$ isolierte Foci oder kontinuierliche bandförmige Ausbreitung
<b>fetale Inflammation</b>		
Stadium 1	Vaskulitis der Deckplattengefäße oder umbilikale Phlebitis	intramurale neutrophile Granulozyten in chorialen Deckplattengefäßen und/oder in der Vena umbilicalis
Stadium 2	umbilikale Arteriitis $\pm$ Phlebitis oder umbilikale Panvaskulitis	intramurale neutrophile Granulozyten in einer oder zwei Umbilikalarterien $\pm$ Umbilikalvene
Stadium 3	subakute nekrotisierende Funisitis oder konzentrische umbilikale Perivaskulitis	neutrophile Granulozyten und Debris in konzentrischen Ringen um ein oder mehr umbilikale Gefäße
Grad 1		geringer als Grad 2
Grad 2	mit schwerer fetaler entzündlicher Reaktion oder mit schwerer chorialer (umbilikaler) Vaskulitis	nahezu konfluierende intramurale neutrophile Granulozyten in den chorialen oder umbilikalen Gefäßen mit Zerstörung der glatten Gefäßwandmuskulatur

Der Begriff der histologischen Chorioamnionitis bezeichnet lediglich die Gewebsreaktion als Folge einer Inflammation und ist von der klinischen Chorioamnionitis (*clinical chorioamnionitis*) zu unterscheiden (Khong et al. 2016).

Die Sepsis bezeichnet eine schwere systemische Inflammationsreaktion auf Grund einer Infektion durch Bakterien, Viren oder Pilze (Shane et al. 2017). Bei der Sepsis charakteristisch ist die Ausbildung einer Schocksymptomatik mit Organversagen und laborchemisch deutlich erhöhten Entzündungsparametern. Beim Neugeborenen, insbesondere beim Frühgeborenen sind die Zeichen der Sepsis oft deutlich weniger spezifisch und die Diagnosekriterien weniger klar definiert. Dies erschwert die rechtzeitige Diagnose (Chiesa et al. 2004; Sullivan and Fairchild 2015; Wynn et al. 2014). Die gültigen deutschen Leitlinien übernehmen die Definition des Nationales Referenzzentrums für Surveillance von nosokomialen Infektionen (NRZ für Surveillance von nosokomialen Infektionen 2016; Zemlin et al. 2019). Die diagnostischen Kriterien nach NEO-KISS sind in Tabelle 03 aufgeführt.

Tabelle 03: Defintion der Neugeborenenensepsis nach NEO-KISS (NRZ für Surveillance von nosokomialen Infektionen 2016)

Definition Sepsis nach NEO-KISS
I) Betreuender Arzt beginnt geeignete antimikrobielle Therapie für Sepsis für mindestens 5 Tage; keine offensichtliche Infektion an anderer Stelle <u>ODER</u>
II) Nachweis eines Erregers, der kein koagulase-negativer Staphylokokkus ist in Blut oder Liquor <u>ODER</u>
III) Nachweis von koagulase-negativen Staphylokokken in Blut oder Liquor mit Alteration mind. eines Entzündungsparameters (Thrombozytopenie, CRP-, IL-6-, WBC, I/T- Anstieg)
<u>UND</u> zwei der folgenden Kriterien (ohne andere erkennbare Ursache)
1) Fieber (>38 °C) oder Temperaturinstabilität (häufiges Nachstellen des Inkubators) oder Hypothermie (<36.5 °C)
2) unerklärte metabolische Azidose (BE < -10 mval/l)
3) Tachykardie (> 200/min) oder neu/vermehrte Bradykardien (<80/min)
4) neu aufgetretene Hyperglykämie (>140mg/dl)
5) Rekapillarisierungszeit (RKZ) >2s
6) anderes Sepsiszeichen (Hautkolorit (nur wenn RKZ nicht verwendet), laborchemische Zeichen (CRP, Interleukin), erhöhter Sauerstoffbedarf (Intubation), instabiler AZ, Apathie)
7) neu oder vermehrte Apnoe(en) (>20s)

(AZ: Allgemeinzustand; BE: *base excess*; CRP: C-reaktives Protein; IL-6: Interleukin-6; I/T: *immature/total-ratio*; min.: Minuten; mval/l: Millival pro Liter; RKZ: Rekapillarisierungszeit; WBC: Leukozytenkonzentration)

Die Neugeborenenensepsis wird allgemein nach ihrem zeitlichen Auftreten in die *early onset neonatal sepsis* (EONS - innerhalb von 72h nach Entbindung) und die *late onset neonatal sepsis* (LONS - 72h bis 28d nach Entbindung) unterteilt (Shane et al. 2017; Wynn et al. 2014). Diese Unterteilung ist wegen der unterschiedlichen Ätiologie und dem

unterschiedlichen Erregerspektrum relevant. So geht man bei der EONS von einer ursächlichen intrauterinen oder peripartalen Infektion (vor allem durch *Streptococcus agalactiae* und *Escherichia coli*) aus, wohingegen die LONS auf eine postpartale Infektion (*Staphylococcus spp.*, *Candida spp.*) zurückgeführt wird (Shane et al. 2017).

Insgesamt sind Infektionskrankheiten bei einem Viertel aller Todesfälle in der Neonatalperiode ursächlich (Liu et al. 2012). Die systemische Inflammation führt zur vaskulären Dysregulation, die Blutungskomplikationen bedingt. Die neonatale Sepsis erhöht das Risiko für intrakranielle Blutungen und nekrotisierende Enterokolitis, vermindert die Toleranz des kindlichen Gehirns gegen Sauerstoffmangel und führt so zu einer erhöhten Rate an Hirnschäden, die das langfristige Outcome erheblich beeinträchtigen (Kramer and Garnier 2007; Shah and Padbury 2014).

Die Rolle des vorzeitigen Blasensprunges als Risikofaktor für eine kindliche Sepsis ist differenziert zu bewerten: Bei der Betrachtung einer großen deutschen Kohorte mit Neugeborenen <32. SSW (Hanke et al. 2015), ebenso wie bei der retrospektiven Analyse von Entbindungen zwischen der 30. Und der 34. SSW (Ofman et al. 2016), zeigte sich kein Zusammenhang zwischen dem Auftreten eines PPRM und dem Risiko für eine kindliche Sepsis. Die Häufigkeit einer EONS betrug 2,6% bzw. 5,5%. Hingegen war in beiden Studien das Auftreten von klinischen Infektionszeichen (*AIS/clinical Chorioamnionitis*) nach Blasensprung mit einer signifikant höheren Sepsisrate assoziiert (18,2% bzw. 24,6%). Diese Studienergebnisse müssen vor dem Hintergrund einer intensiven klinischen und paraklinischen Überwachung und einer meist großzügig gestellten Entbindungsindikation betrachtet werden. Arora und Kollegen berichten in einem Setting mit schlechteren Überwachungs- und Interventionsmöglichkeiten von einer EONS-Rate von über 23% in einer Kohorte von 100 Schwangeren nach PPRM (Arora et al. 2014).

Das Konzept der Schwangerschaft als ein System von mehreren koexistierenden, getrennten Kompartimenten („*multiple coexisting, yet separate compartments*“) (Dulay et al. 2015) veranschaulicht das Problem der Routinediagnostik zur Vorhersage einer fetalen Infektion: mütterlicher Organismus, Fruchthöhle und fetaler Organismus können unabhängig voneinander von einer Infektion betroffen sein. Die meisten der diagnostischen Routineverfahren detektieren unspezifische Reaktionen des mütterlichen Organismus auf eine Infektion und können somit allenfalls indirekt Auskunft über den Zustand des Feten liefern (Dulay et al. 2015). Die Amniozentese kann bei Verdacht eine intraamniotische Infektion bestätigen (Higgins et al. 2016). Jedoch handelt es

sich um ein invasives Verfahren, welches nicht für eine Anwendung im Rahmen der regelmäßigen Routinediagnostik geeignet ist (DGGG, OEGGG, SGGG 2019).

Die Verbesserung der Routinediagnostik nach PPROM durch vaginale Parameter ist seit längerem Gegenstand der Forschung. Interleukin-6 ist ein Polypeptid das als pleiotropes Zytokin eine wesentliche Rolle bei der Initiierung der Akute-Phase-Reaktion einnimmt. IL-6 wird von zahlreichen Zellarten synthetisiert und sezerniert, unter anderem von Monozyten, Fibroblasten, Endothelzellen, Makrophagen und Lymphozyten (Hunter and Jones 2015). Dudley et al., wie später auch Lockwood et al., konnten die IL-6-Produktion in Dezidualzellen nachweisen (Dudley et al. 1992; Lockwood et al. 2010). Stimulierende Faktoren für die IL-6-Ausschüttung sind bakterielle Endotoxine, aber auch Interleukin-1, TNF- $\alpha$  und PDGF (Gressner and Gressner O. A. 2017). IL-6 zeichnet sich durch einen frühen Anstieg im Zuge der Akute-Phase-Reaktion, aber auch durch eine kurze Halbwertszeit aus und gilt damit als frühzeitiger Parameter zur Detektion einer Infektion bzw. Inflammationsreaktion. Insbesondere bei der Diagnose der Neugeborenenensepsis kommt dem IL-6 auf Grund dieser Eigenschaften eine besondere Bedeutung zu. Durch seine ubiquitäre Synthese eignet sich Interleukin-6 zur Detektion einer lokalen Inflammation und hat bei der Diagnose der fetalen Infektion eine wichtige Bedeutung (Chiesa et al. 2015). In mehreren Studien erfolgte eine Bestimmung der vaginalen IL-6-Konzentration zur Vorhersage einer intrauterinen Infektion oder Inflammation. Eine ausführliche Darstellung ausgewählter Studien findet sich im Diskussionsteil bzw. in Tabelle 16. Im Vergleich mit anderen Parametern wies das vaginale IL-6 eine gute Testperformance auf (Combs et al. 2015; Park et al. 2013). In der vorliegenden Arbeit soll durch ein neuartiges Verfahren erstmals das vaginale IL-6 als Parameter im täglichen Monitoring untersucht werden.

## 2 Zielstellung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Bestimmung der vaginalen Interleukin-6-Konzentration nach frühem vorzeitigem Blasensprung im zeitlichen Verlauf bis zur Entbindung. Hierfür war ein neuartiges Verfahren zu entwickeln, welches eine nichtinvasive und täglich durchführbare Probenentnahme ermöglicht. Die vaginale Interleukin-6-Konzentration soll als Parameter zur Detektion einer intrauterinen Inflammation getestet werden. Hierzu wurde der Unterschied zwischen Schwangerschaften mit postpartalen Inflammationszeichen und unauffälligen Kontrollen untersucht. Langfristiges Ziel der Arbeit ist die Etablierung der vaginalen Interleukin-6-Konzentration als zusätzlichen Parameter zur Detektion einer intrauterinen Infektion. Somit könnte ein Anstieg des vaginalen IL-6 ein Kriterium bei der Indikationsstellung einer vorzeitigen Entbindung nach frühem vorzeitigem Blasensprung darstellen.

Die maternalen Parameter der Leukozytenkonzentration (WBC), der Serumkonzentration des C-reaktiven Proteins (CPR) und des Interleukin-6 (IL-6) sollen bezüglich der Testgütekriterien zur Vorhersage einer amnialen bzw. fetalen Inflammation mit dem vaginalen IL-6 verglichen werden. In diesem Zusammenhang sind die folgenden Hypothesen zu überprüfen:

1. Mit dem neuartigen Verfahren ist die tägliche Bestimmung des vaginalen IL-6 möglich.
2. Nach frühem vorzeitigem Blasensprung weisen Schwangere mit einer intrauterinen Inflammation eine höhere IL-6-Konzentration im Vaginalsekret auf als Schwangere ohne Inflammationszeichen; konsekutiv lassen sich anhand der vaginalen IL-6-Konzentration Schwangerschaften mit und ohne intrauteriner Inflammation differenzieren.
4. Bei der Unterscheidung von Schwangerschaften mit und ohne intrauterine Inflammation nach PPRM ist die vaginale IL-6-Konzentration den Routineparametern CRP, WBC und mat. IL-6 bezogen auf die Testgütekriterien überlegen.



### **3 Material und Methoden**

#### **3.1 Studiendesign**

Im Rahmen der Studie „multimodales Monitoring des fetalen Inflamationsrisikos beim frühen vorzeitigen Blasensprung“ (MuMfl-PPROM, clinicaltrials.gov ID: NCT02702297), einer multizentrischen Pilotstudie unter Beteiligung des Universitätsklinikums Leipzig, des Universitätsklinikums Jena und des St. Elisabeth-Krankenhauses Halle, wurden Patientinnen mit vorzeitigem Blasensprung zwischen 24+0 und 34+0 voll. SSW für die Teilnahme rekrutiert. Die Studie erhielt von den zuständigen Ethikkommissionen der Martin-Luther-Universität (Aktenzeichen 2015-212), der Universität Leipzig (Aktenzeichen 339/16-lk), der Universität Jena (Aktenzeichen 5203-06/17) und der Ärztekammer Sachsen-Anhalt (Aktenzeichen 51/16) eine zustimmende Bewertung. Nach Aufklärung und Einschluss der Patientinnen erfolgte unter anderem eine täglich durchgeführte Bestimmung der IL-6-Konzentration in der Vaginalflüssigkeit. Die Probengewinnung erfolgte mit Hilfe eines für diese Studie entwickelten Verfahrens, welches im Kapitel 3.3 ausführlich erläutert wird. Jedwede weitere Entscheidung bezüglich Diagnostik und Therapie, inklusive der Entbindungsindikation, wurde studienunabhängig entsprechend der geltenden Leitlinien bzw. nach Entscheidung der behandelnden Ärzte mit den Patientinnen gefällt. Die im Rahmen der durchgeführten Diagnostik erhobenen Laborparameter (Routineparameter und Messergebnisse im Fall einer Amniozentese) wurden in die Auswertung einbezogen. Nach Entbindung erfolgte im Rahmen der Routine die Dokumentation der kindlichen Klinik, der kindlichen Laborparameter und die histologische Beurteilung von Plazenta und Nabelschnur. Relevante Daten der mütterlichen Anamnese wurden ebenso wie Daten des neonatalen Outcomes (bis zum Zeitpunkt der Entlassung oder bis zum 28. Tag post natum) in einer einheitlichen *case report form* (CRF) von den Ärzten der teilnehmenden Zentren erfasst und zur Auswertung an das Universitätsklinikum für Geburtshilfe und Perinatalmedizin Halle übermittelt. Erfasst wurden folgende Daten:

##### mütterliche Daten

- Alter bei Entbindung (in Jahren)
- Anzahl aller Schwangerschaften (n)
- Anzahl aller vorangegangenen Geburten (n)
- Anzahl aller vorangegangenen Aborte (n)
- Diabetes mellitus (ja/nein)
- Nicotinabusus in der Schwangerschaft (ja/nein)
- BMI zu Beginn der Schwangerschaft (kg/m<sup>2</sup>)
- vaginaler B-Streptokokkenstatus (pos./neg.)

#### Daten bezüglich Therapieverlauf

- Zeitpunkt des Blasensprunges und Schwangerschaftsalter (Datum/Uhrzeit)
- Zeitpunkt der Diagnose bzw. des Therapiebeginns (Datum/Uhrzeit)
- Zeitpunkt der Entbindung und Schwangerschaftsalter (Datum/Uhrzeit, voll.SSW)
- Abschluss der Lungenreifeinduktion (ja/nein)
- Durchführung einer Bolustokolyse für 48h (ja/nein)
- Durchführung einer Antibiotikaphylaxe nach Standard (ja/nein)
- Entbindungsmodus (spontan/ prim. Sectio/ sek.operativ)
- Geburtseinleitung mit Prostaglandinen (ja/nein)
- Entbindungsindikation (Schwangerschaftsalter/ V.a. AIS/ sonstige)

#### Daten bezüglich des neonatalen Outcome

- histologische Begutachtung der Plazenta (*stage/grade* (Redline et al. 2003))
- kindliches Geschlecht (männlich/weiblich)
- Geburtsgewicht (Gramm)
- Nabelschnur-pH arteriell und venös (pH)
- APGAR-Werte nach 1, 5 und 10 Minuten (APGAR)
- IL-6-Konzentration im NS-Blut oder aus Blutentnahme nach Entbindung (in pg/ml)
- Auftreten einer early onset neonatal sepsis – definiert als Auftreten klinischer Sepsiszeichen innerhalb der ersten 72 Lebensstunden (NRZ für Surveillance von nosokomialen Infektionen 2016) (ja/nein)
- Auftreten einer klinischen late onset neonatal sepsis, definiert als Auftreten klinischer Sepsiszeichen zwischen 72 Stunden und 28 Tage nach Entbindung (NRZ für Surveillance von nosokomialen Infektionen 2016) (ja/nein)
- Auftreten einer intraventrikulären Hämorrhagie mit semiquantitativer Gradeinteilung (I-II / III-IV) (ja/nein)
- Auftreten einer nekrotisierenden Enterokolitis (ja/nein)
- Auftreten eines *infant respiratory distress syndromes* (ja/nein)
- Auftreten einer bronchopulmonalen Dysplasie (ja/nein)
- Auftreten einer Frühgeborenen-Retinopathie (ja/nein)
- Dauer des ITS-Aufenthaltes (in Tagen)
- Dauer der postnatalen Antibiotikatherapie (in Tagen)
- Dauer einer Atemunterstützung bzw. Intubation (in Tagen)
- kindliche Mortalität (ja/nein)
- kongenitale Fehlbildungen (ja/nein)

Nach Auswertung der Daten erfolgte die retrospektive Zuordnung der Fälle in eine Kontrollgruppe und eine Inflammationsgruppe. Zur Inflammationsgruppe zugeordnet wurde ein Fall bei Erfüllung von mindestens einem der aufgeführten Kriterien:

1. klinische Sepsis i.S. des Neo-KISS innerhalb der ersten 72 Lebensstunden (NRZ für Surveillance von nosokomialen Infektionen 2016)
2. fetale systemische Inflammationsreaktion (FIRS), definiert als IL-6-Konzentration im Nabelschnurblut >60pg/ml (Resch et al. 2003; Verboon-Maciolek et al. 2006)
3. histologische Zeichen einer signifikanten Chorioamnionitis (maternal >grade 1, fetal >grade 0), definiert nach Redline et al. (Khong et al. 2016; Redline 2015)

Nach Zuordnung der Fälle erfolgte der Vergleich der vaginalen Interleukinkonzentration (IL-6<sub>vag</sub>) und der studienunabhängigen Routinediagnostik (maternale Serumkonzentration für CRP (CRP<sub>mat</sub>) und IL-6 (IL-6<sub>mat</sub>) sowie Leukozytenkonzentration (WBC<sub>mat</sub>)) zwischen der Inflammations- und der Kontrollgruppe. Verglichen wurde zunächst der Wert der letzten Messung vor Entbindung. Des Weiteren erfolgte die Beurteilung des Verlaufs der letzten 10 Tage vor Entbindung. Hierbei wurden die Messwerte innerhalb desselben Tages (definiert als Zeitraum von je 24h vor Entbindung) gruppiert. Bei mehreren Bestimmungen der maternalen Routineparameter innerhalb von 24h wurde die Messung, die den geringsten zeitlichen Abstand zur vaginalen IL-6-Bestimmung aufwies, zum Vergleich herangezogen. Zum Studiendesign siehe auch Abbildung 01.

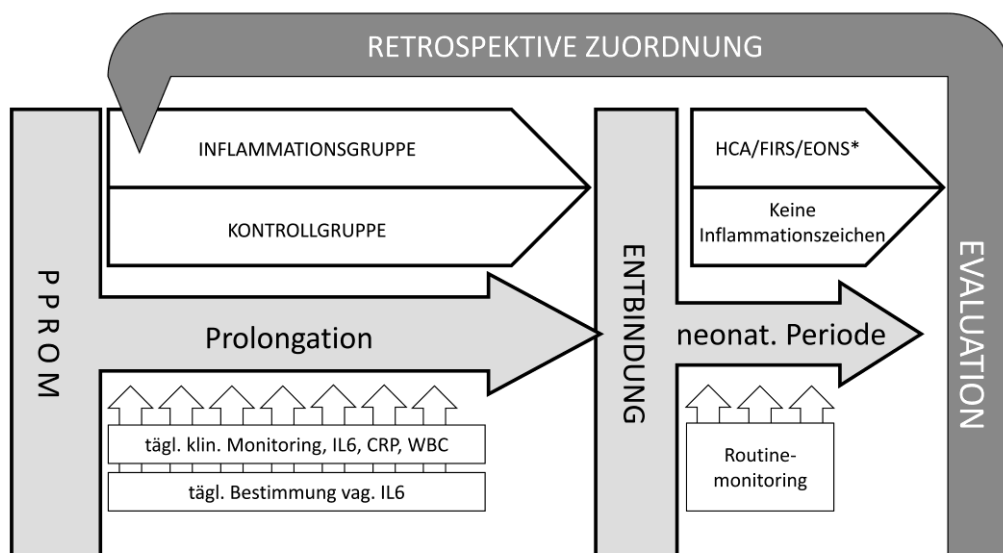


Abb. 01: Studiendesign MuMfi-Studie (EONS: early onset neonatal sepsis; FIRS: fetal inflammatory response syndrome; HCA: histologische Chorioamnionitis; neonat.: neonatal; PPROM: preterm prelabor rupture of membranes; tägl.: täglich; )

### **3.2 Ein- und Ausschlusskriterien**

Eingeschlossen wurden volljährige Patientinnen mit der Diagnose eines frühen vorzeitigen Blasensprunges zwischen 24+0 und 34+0 voll. SSW, bei denen eine Aufklärung in deutscher oder englischer Sprache möglich war.

Von der Teilnahme ausgeschlossen waren Schwangere mit unmittelbar bevorstehender oder dringend indizierter Entbindung (einschließlich subpartueller Situation und AIS) und schweren (akut vital bedrohlichen) kindlichen Fehlbildungen. Von der Auswertung ausgeschlossen wurden Patientinnen nach zurückgezogener Einwilligung sowie nach Abbruch der Betreuung in den jeweiligen Zentren, sei es auf Grund einer Verlegung in eine externe Einrichtung oder auf Grund eines Therapieabbruchs entgegen ärztlichen Rates.

Von der Auswertung ausgeschlossen wurden des Weiteren Fälle mit unzureichender Erhebung relevanter Daten (schwere Protokollabweichung), definiert als:

1. keine erfolgreiche Bestimmung der Studienparameter innerhalb von 48h vor Entbindung
2. nicht erfolgte histologische Untersuchung der Plazenta
3. keine IL-6-Bestimmung aus Nabelschnur oder kindlichem Serum
4. unzureichende Dokumentation des Auftretens einer EONS

Mehrlingsschwangerschaften wurden nicht ausgeschlossen. Im Fall einer Mehrlingsschwangerschaft wurde diese der Inflammationsgruppe zugeordnet, wenn mindestens eines der Kinder mindestens eines der oben genannten Zuordnungskriterien erfüllte. Kinder mit Fehlbildungen, welche postnatal keine unmittelbare vitale Gefährdung nach sich zogen, wurden ebenfalls nicht ausgeschlossen.

### **3.3 diagnostische Methoden**

Für die Studie erfolgte die Herstellung eines in-house-Diagnostikums (Seliger et al. 2021). Hierzu wurde ein biokompatibler Kunstfaserschwamm (Salivette Cortisol code blau<sup>®</sup>, Sarstedt AG & Co, Nümbrecht) mit einem chirurgischen Faden (MARLIN violett, PGA-Faden geflochten, 1USP, CATGUT GmbH Markneukirchen) versehen und bei 134°C über 5 Minuten dampfsterilisiert (vgl. Abbildung 02). Die Probenschwämmchen wurden gemeinsam mit den Entnahmesets bei Raumtemperatur bis zur Anwendung gelagert. Bei dem Kunstfaserschwamm handelt es sich um ein kommerziell hergestelltes Produkt, welches zur Gewinnung von Speichelproben konzipiert wurde. Der Schwamm misst im Durchmesser ca. 10mm bei einer Länge von ca. 38mm. Er zeichnet sich durch unproblematische Anwendung im Zusammenhang mit Schleimhautkontakt, so wie durch eine hohe Rückgewinnungsrate von Probenvolumen aus. In der ursprünglichen

Verwendung erfolgt die Einlage in die Wangentasche für 1-2 Minuten. Das auf diese Weise gewonnene Speichelvolumen beträgt im Durchschnitt 1,1ml (Gröschl and Rauh 2006; Sarstedt AG & CO).

Zur vaginalen Probengewinnung wurde der Kunstfaserschwamm in das untere Scheidendrittel eingelegt und dort für 30-45 Minuten belassen. Die Einlage des Schwammes erfolgte entweder durch einen Mitarbeiter der betreuenden Klinik oder nach entsprechender Anleitung durch die Patientin selbst. Für das neuartige Verfahren erfolgte die Eintragung eines Gebrauchsmusters beim deutschen Patent- und Markenamt (Gebrauchsmuster Nr. 20 2017 006 181).

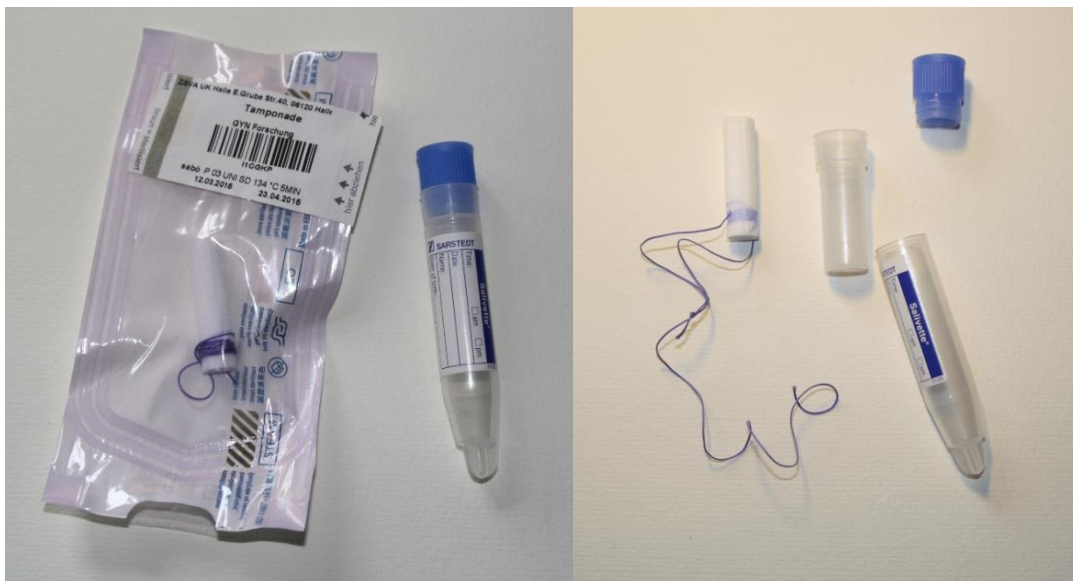


Abb. 02: Salivette-System modifiziert zur Probengewinnung im Rahmen der Studie

Die Probengewinnung erfolgte durch Zentrifugation des Schwammes in den dazugehörigen Probenröhrchen (2000xg über 15 Minuten).

Die weitere Verarbeitung der Probe erfolgte abhängig von der durchführenden Einrichtung:

In den teilnehmenden externen Zentren (Universitätsklinikum Leipzig – Abteilung für Geburtsmedizin, St. Elisabeth-Krankenhaus Halle, Universitätsklinikum Jena – Klinik für Geburtsmedizin) erfolgte zunächst die Lagerung und Überführung der Probe bei -20°C bis zur Weiterverarbeitung im Zentrallabor des Universitätsklinikums Halle. Im Universitätsklinikum Halle erfolgte die Bestimmung unmittelbar im Zentrallabor. Probleme oder Komplikationen bei der Probenentnahme oder Bestimmung wurden in einem Probenprotokoll erfasst. Die Messung der IL-6-Konzentration erfolgte mittels Electrochemilumineszenz Immunoassay (ECLIA – Cobas Elecsys IL-6, La Roche Ltd.) mit einem minimalen Probenvolumen von 30µl und einem Messbereich von 1,5 bis 5000

pg/ml (La Roche Ltd). Bei Messwerten oberhalb der Nachweisgrenze erfolgte eine Verdünnung von 1:10 bis die obere Nachweisgrenze unterschritten wurde.

Die Bestimmung der maternalen Routineparameter der CRP- und IL-6 Konzentration bzw. der maternalen Leukozytenzahl wie auch die Bestimmung der kindlichen Serum-IL-6-Konzentration nach Entbindung erfolgte in den Laboren der jeweiligen Einrichtungen nach den entsprechenden validierten Methoden.

### **3.4 statistische Methoden**

Die Analyse erfolgte mittels IBM SPSS 25, die graphische Darstellung mit IBM SPSS 25 sowie Microsoft Excel 2013. Eine Fallzahlschätzung wurde anhand von vergleichbaren Studiendaten durchgeführt (Kacerovsky et al. 2014). Um eine Signifikanz von 0,05 und eine Power von 80% in einem zweiseitigen t-Test zu erreichen, wurde die notwendige Fallzahl pro Gruppe auf 15 Individuen geschätzt.

Die metrischen Variablen wurden mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests auf Normalverteilung hin getestet. Bei normalverteilten Variablen erfolgte die Testung auf signifikante Unterschiede mit Hilfe des zweiseitigen T-Tests für unabhängige Stichproben. Bei nicht normalverteilten Variablen erfolgte Signifikanztestung mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Test. Ein p-Wert  $<0,05$  wurde als signifikant angesehen.

Es erfolgten die Berechnung des Mittelwertes und des Medians der vaginalen IL-6-Konzentration und der Vergleich zwischen Inflammations- und Kontrollgruppe. Zunächst erfolgte die Analyse für den letzten Wert vor Entbindung.

Zur Darstellung des zeitlichen Verlaufes der IL-6-Konzentration wurden die Messwerte nach Tagen vor Entbindung gruppiert und ausgewertet. Hierbei wurde ein Zeitintervall von jeweils 24 Stunden, ausgehend vom Zeitpunkt der Geburt, als ein Tag definiert. Analysiert wurden die letzten zehn Tage vor Entbindung. Auch hierbei erfolgte die Berechnung von Median und Mittelwert sowie die Signifikanztestung in oben beschriebener Weise.

Zur Prüfung der Testgüte erfolgte die Darstellung der *receiver-operating-characteristic* (ROC) inklusive der Fläche unter der Kurve (AUC) für den letzten Messwert des vaginalen IL-6 vor Entbindung zur Vorhersage der Inflammation. Die explorative Ermittlung eines möglichen Cut-off-Wertes erfolgte durch Berechnung des Youden-Index (Youden 1950). Die Testgütekriterien Sensitivität, Spezifität, PPV, NPV und OR wurden für diesen Schwellenwert berechnet. Des Weiteren erfolgte die Ermittlung des

Grenzwertes mit einer Sensitivität von 95% als Rule-out und des Grenzwertes mit einer Spezifität von 95% als Rule-in-Cut-off. Die Analyse der maternalen Routineparameter Leukozyten-, CRP- und IL-6-Konzentration erfolgte in gleicher Weise. Bei mehreren Messungen innerhalb von 24h wurde der Wert mit dem geringsten zeitlichen Abstand zur vaginalen Probenentnahme ausgewählt. Es erfolgte die Darstellung der ROC-AUC zum Vergleich mit den studienspezifischen Parametern. Auf die Berechnung von Schwellenwerten wurde in Anbetracht von vorhandenen etablierten Grenzwerten verzichtet.

In mehreren Fällen erfolgte unabhängig von der Studie die Amniozentese zum Ausschluss einer intraamnialen Inflammation. Bei diesen Fällen wurde die Interleukin-6-Konzentration im Fruchtwasser bestimmt. Messwerte bei denen eine erfolgreiche vaginale Bestimmung im zeitlichen Intervall von 48h vorlag, wurden mit diesen auf eine Korrelation hin getestet. Es erfolgte die Bestimmung des Korrelationskoeffizienten nach Pearson.

Zum Vergleich der hier angewandten Methode zur vaginalen Probenentnahme mit denen in anderen Studien erfolgte die Berechnung der Erfolgsrate der vaginalen Probengewinnung. Hierzu wurde von allen am UKH durchgeführten Messungen der Anteil an erfolgreichen Messungen (ausreichende Probemenge zur Bestimmung der IL-6 und AFP-Konzentration) berechnet.

## **4 Ergebnisse**

### **4.1 Patientengut**

Zwischen Januar 2016 und Januar 2018 wurden in den vier teilnehmenden Einrichtungen insgesamt 57 schwangere Patientinnen für die Studie rekrutiert (UKH: 26, UKL:16, UKJ: 8 EKH:7). Die Studienteilnahme wurde in fünf Fällen abgebrochen: in zwei auf Grund einer Verlegung in eine andere Einrichtung, in drei Fällen auf Wunsch der Patientin. Es erfolgte die Analyse der studienrelevanten Daten bei den übrigen 52 Fällen. Hiervon wurden insgesamt 15 Fälle von der Endauswertung ausgeschlossen. In sechs Fällen erfolgte der Ausschluss auf Grund einer insuffizienten Datenerhebung, in fünf Fällen erfolgte keine histologische Untersuchung der Plazenta, in zwei Fällen war keine suffiziente Probengewinnung innerhalb der letzten 48h vor Entbindung erfolgt oder möglich. Bei zwei Fällen erfolgte der Ausschluss wegen fetaler Komplikationen (1x monströses Steißbeinteratom mit unmittelbarer kardialer Dekompensation, 1x Superfecundatio mit Entbindung vor Erreichen von 24+0 voll. SSW beim jüngeren Gemini – im letzteren Fall kam es zum Versterben beider Kinder). Zum detaillierten Rekrutierungsablauf siehe Graphik 03.

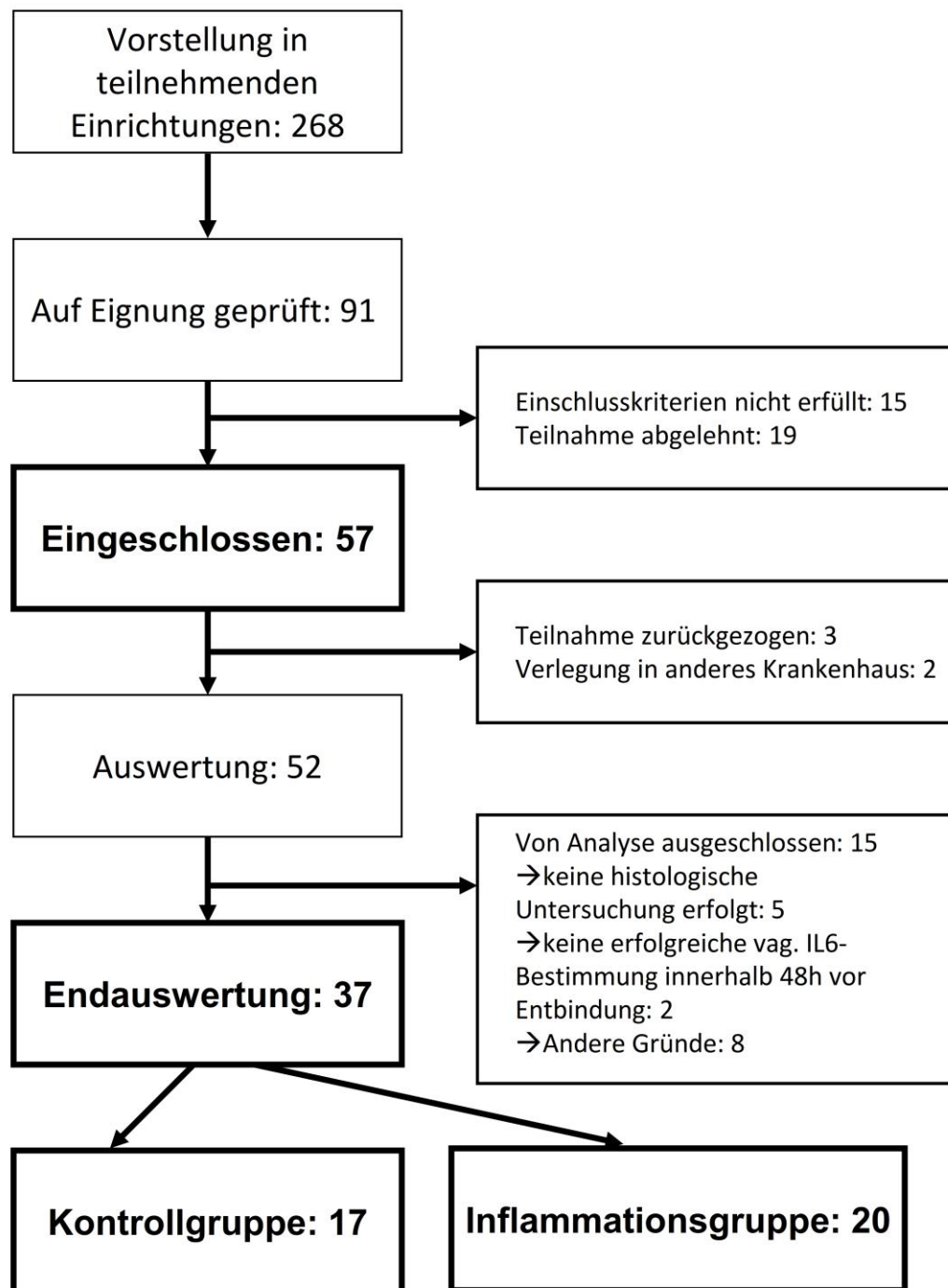


Abb. 03: Rekrutierung und Patienteneinschluss

Von den 37 in die Endauswertung einbezogenen Fällen wurden 20 Fälle (54,1%) der Inflammationsgruppe und 17 Fälle (45,9%) der Kontrollgruppe zugeordnet. Die Rate an auffälligen histologischen Untersuchungsergebnissen („HCA“) betrug 37,8% (n=14), der NS-IL-6 Cut-off von 60pg/ml („FIRS“) wurde in 29,7% (n=11) überschritten, die klinische Diagnose einer EONS wurde in 18,9% (n=7) der Fälle gestellt.



Die Darstellung der klinischen Basisdaten von Inflammations- und Kontrollgruppe finden sich in Tabelle 04. Es erfolgte die rein explorative Analyse der p-Werte mittels T-Test im Falle von normalverteilten, metrischen Variablen, bei nicht normalverteilten Variablen mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Test und mit Hilfe des Chi-Quadrat-Testes im Falle von binären Variablen.

In der Inflammationsgruppe zeigte sich eine höhere Anzahl von vorangegangenen Schwangerschaften und Geburten in der Anamnese. Die Indikation zur Entbindung wurde in der Inflammationsgruppe häufiger wegen des Verdachtes einer intrauterinen Infektion gestellt. Grund für die Verdachtsdiagnose waren ein Anstieg der maternalen Entzündungsparameter (n=6), Wehentätigkeit (n=2), eine Kombination aus Wehentätigkeit und steigenden Entzündungswerten (n=2) oder fetale und/oder maternale Tachykardie in Kombination mit steigenden Entzündungswerten und Wehentätigkeit (n=3). In zwei Fällen wurde die Verdachtsdiagnose gestellt, ohne objektivierbare Befunde zu dokumentieren. In den übrigen erhobenen Faktoren gab es keine nennenswerten Unterschiede. In vier Fällen erfolgte keine Antibiotikaphylaxe entsprechend dem Standard bei PPRM, sondern nur eine perioperative Prophylaxe. Diese Fälle wurden als Fälle ohne Antibiotikaphylaxe erfasst.

Die postnatalen Parameter werden in Tabelle 05 zusammengefasst. In der Inflammationsgruppe stellten sich ein niedrigeres Geburtsgewicht und eine höhere Rate an Mädchen dar. Die übrigen kindlichen Risikofaktoren zeigten keine Unterschiede. Bei der Analyse des kindlichen Outcomes war ein niedrigerer 5-Minuten-APGAR-Wert, ein längerer ITS-Aufenthalt, eine längere Intubationsdauer sowie eine längere Antibiotikatherapie in der Inflammationsgruppe auffällig. Die übrigen erhobenen Outcomeparameter zeigten keine relevanten Unterschiede.

In die Analyse eingeschlossen wurden vier Geminigeburten, welche alle der Kontrollgruppe angehörten. Bei den aufgetretenen nicht lebensbedrohlichen Anomalien handelte es sich um eine Skelettanomalie, zwei kardiale Fehlbildungen, eine Trisomie 21, ein Situs inversus und eine Hypospadie mit einseitiger Nierenagenesie. Fehlbildungen, die postnatal eine akute vitale Gefährdungssituation nach sich zogen, wurden von der Auswertung ausgeschlossen.

Tabelle 04: maternale und peripartale Charakteristika

Variable	Kontrollgruppe	Inflammationsgruppe	p-Wert
Mütterliches Alter (a) Median / Range	31 (22 – 37)	31 (21 – 41)	0,48
Gravidität (n) Median / Range	2 (0 – 4)	3 (1-6)	0,01
Paridität (n) Median / Range	0 (0 – 2)	1 (0-3)	0,02
Frühgeburt i.d. Anamnese (% , n)	11,8 (2)	5,0 (1)	0,45
Diabetes i.d. SS (% , n)	11,8 (2)	15,0 (3)	0,77
Nicotinabusus in der SS (% , n)	29,4 (5)	25 (5)	0,76
BMI zu Beginn der SS (kg/m <sup>2</sup> ) Median / Range	25,9 (17,5 – 44,64)	22,17 (16,4-41,6)	0,39
SS-Alter bei Entbindung (voll. SSW) Median / Range	33 (28-34)	30 (24 – 37)	0,13
SS-Alter bei Entbindung (d) Median / Range	232 (198-239)	210 (171-264)	0,19
SS-Alter bei Blasensprung (d) Mittelwert / Median	213 (182-236)	197 (133-232)	0,13
Prolongation Blasensprung- Entbindung (d) Mittelwert / Median / Range	10,8 / 6 (0-45)	15,25 / 9 (1-56)	0,29
GBS-Abstrich positiv (% , n)	5,8 (1)	10 (2)	0,65
LRI Abgeschlossen (% , n)	94 (16)	85 (17)	0,37
Präpartal Antibiotikaprophylaxe (% , n)	94 (16)	89 (17)	0,61
Tokolyse erfolgt (% , n)	64 (11)	50 (10)	0,37
Hoher Blasensprung - FWI bis zur Entbindung unauffällig/untere Norm (% , n)	35 (6)	15 (3)	0,15
Entbindungsmodus: primäre Sectio (% , n)	11,7 (2)	0 (0)	0,115
Entbindungsmodus: Spontangeburt (% , n)	41,2 (7)	35 (7)	0,699
Entbindungsmodus: sekundär operativ (% , n)	47 (8)	65 (13)	0,272
Entbindungsindikation: V.a. AIS (% , n)	23,5 (4)	55 (11)	0,052
Entbindungsindikation: Sonstige (% , n)	52 (9)	35 (7)	0,272
Entbindungsindikation: Erreichen SS-Alter (% , n)	17,6 (3)	10 (2)	0,498
Prostaglandineinleitung (% , n)	29,4 (5)	15 (3)	0,289
Zentrum UKH (% , n)	70 (12)	45 (9)	0,117
Zentrum UKL (% , n)	17,6 (3)	30 (6)	0,383
Zentrum UKJ (% , n)	0 (0)	10 (2)	0,18
Zentrum EKH (% , n)	11,7 (2)	15 (3)	0,774

(AIS: Amnioninfektionssyndrom; BMI: Body-Mass-Index;; FWI: Fruchtwasserindex;  
GBS: Gruppe-B-Streptokokken; LRI: Lungenreifeinduktion; n: Anzahl; SS:  
Schwangerschaft; UKH: Universitätsklinikum Halle; UKL: Universitätsklinikum Leipzig;  
UKJ: Universitätsklinikum Jena; EKH: St. Elisabeth-Krankenhaus Halle)

Tabelle 05: postnatales Outcome

Variable	Kontrollgruppe	Inflammationsgruppe	p-Wert
Geburtsgewicht (g)	1892	1490	0,052
Median, Range	(1240-2435)	(610-2950)	
weibliches Geschlecht (% , n)	23,5 (4)	70 (14)	0,005
Mehrlingsgeburt (% , n)	23,5 (4)	0 (0)	0,22
NapH	7,33	7,35	0,54
Median, Range	(7,26-7,47)	(7,27-7,42)	
NvpH	7,40	7,42	0,48
Median, Range	(7,34-7,48)	(7,34-7,51)	
APGAR 1'	8 (1-9)	6 (3-9)	0,116
Median, Range			
APGAR 5'	9 (4-10)	7,5 (5-10)	0,029
Median / Range			
APGAR 10'	9 (6-10)	9 (6-10)	0,079
Median / Range			
LONS (% , n)	5,9 (1)	5 (1)	0,9
IVH Grad 1-2 (% , n)	23 (4)	10 (2)	0,266
IVH Grad 3-4 (% , n)	0 (0)	5 (1)	0,35
RDS (% , n)	52 (9)	65 (13)	0,457
NEC (% , n)	0 (0)	0(0)	n.d.
BPD (% , n)	11,7 (2)	10 (2)	0,86
Therapiebedürftiger pers. Dukt. Art. (% , n)	5,8 (1)	10 (2)	0,647
Kongenitale Fehlbildungen (nicht lebensbedrohlich) (% , n)	11,7 (2)	25 (5)	0,3
Kindl. Mortalität bis 28d (% , n)	0 (0)	0 (0)	n.d.
Dauer €-Aufenthalt (d)	11	17,5	0,045
Median / Range	(0-19)	(0-80)	
Dauer Intubation (d)	0	0	0,032
Median / Range	(0-1)	(0-12)	
CPAP (d)	1	4	0,101
Median / Range	(0-14)	(0-75)	
Antibiotikatherapie (d)	0	5	<0,001
Median / Range	(0-4)	(0-24)	

(APGAR 1' (5'; 10'): APGAR-Wert nach einer (fünf; zehn) Minute(n); BPD: bronchopulmonale Dysplasie; CPAP: *continuous positive airway pressure*; d: Tag(e); IVH: intraventrikuläre Hämorrhagie; LONS: *late onset neonatal sepsis*; n: Anzahl; NapH: pH im arteriellen Nabelschnurblut; NEC: nekrotisierende Enterokolitis; NvpH: pH im venösen Nabelschnurblut; RDS: *respiratory distress syndrome*; pers.Duct.Art.: persistierender ductus arteriosus;)

#### 4.2 Durchführbarkeit

Im Zuge der studienspezifischen Probeentnahmen wurden keine schweren Komplikationen berichtet. Drei Probandinnen berichteten von einem vorübergehenden Fremdkörpergefühl oder von leichten Schmerzen im Scheidenbereich nach Probeentnahme. In einem der drei Fälle traten diese Beschwerden erst im

Zusammenhang mit der Gabe von prostaglandinhaltigem Vaginalgel zur Geburtseinleitung nach zuvor unauffälligem Verlauf auf. In diesem und einem weiteren Fall wurde die Studienteilnahme von der Patientin abgebrochen. Im dritten Fall wurde die Teilnahme nach nochmaliger Instruktion zur korrekten Anwendung des Inhouse-Diagnostikums fortgesetzt. Die tägliche Probeentnahme konnte gut in den klinischen Alltag integriert werden. Zur Berechnung der Erfolgsrate wurde der Anteil an Probenentnahmen mit ausreichender Probenmenge zur Bestimmung von IL-6 und AFP an allen am UKH durchgeführten Messungen ermittelt. Hierfür wurden alle verfügbaren Messergebnisse analysiert, auch von Fällen, die von der Endauswertung ausgeschlossen waren. Insgesamt erfolgten an allen 26 im UKH eingeschlossenen Fällen 171 Probenentnahmen, von denen 148 eine ausreichende Probenmenge aufwiesen. Die Erfolgsrate des Verfahrens betrug insgesamt somit 86%.

### 4.3 vaginales Interleukin-6 und Inflammation

Die Endauswertung erfolgte bei allen 37 Fällen mit erfolgreicher Messung der vaginalen IL-6-Konzentration innerhalb von 48h vor Entbindung. Die Aufteilung der Fälle erfolgte anhand der oben aufgeführten Kriterien in eine Inflammationsgruppe (n=20) und eine Kontrollgruppe (n=17). Es erfolgte die Bestimmung von Mittelwert und Median der jeweils letzten Messung und die Überprüfung auf Signifikanz mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Test. Das Ergebnis wurde in Tabelle 06 und Abb. 04 zusammengefasst.

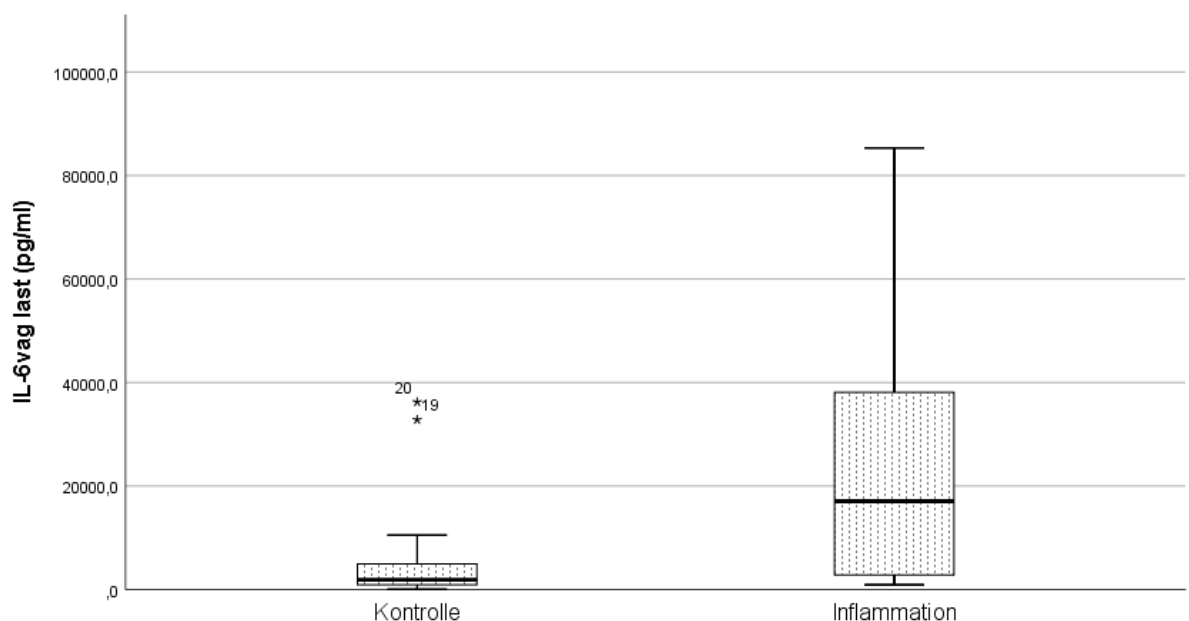


Abb. 04: Box-Plot-Darstellung des vaginalen IL-6 (pg/ml) - letzte Messung vor Entbindung

Tabelle 06: letzte Messung des vaginalen IL-6-Konzentration (IL-6<sub>vag</sub>) vor Entbindung

	Mittelwert (pg/ml)	Median (pg/ml)	Range	p
Inflammation (n=20)	24511,2	17085	942-85280	0,01
Kontrolle (n=17)	6624,1	1888	84,7-36236	

(n: Anzahl; pg/ml: Pikogramm pro Milliliter)

Analog zu diesem Vorgehen erfolgte die Auswertung des vaginalen IL-6 im zeitlichen Verlauf vor der Entbindung. Hierzu wurden die Messungen nach Tagen (definiert als Zeitraum von je 24 Stunden vor Entbindung) gruppiert und die Inflammationsgruppe mit der Kontrollgruppe verglichen. Die Ergebnisse werden in Tabelle 07 und in Abbildung 05 dargestellt. Zu beachten sind hierbei die mit zunehmendem Abstand zur Entbindung kleiner werdenden Fallzahlen die durch eine unterschiedlich lange Prolongation der Fälle zustande kommen.

Tabelle 07: Darstellung des vaginalen IL-6 im zeitlichen Verlauf vor Entbindung

	Mittelwert (pg/ml)	Median(pg/ml)	Range(pg/ml)	p
Infl. -10 (n=6)	2367,3	1253,5	289-5672	0,796
Kont. -10 (n=3)	1902,6	1076	1031-3601	
Infl. -09 (n=6)	2199,5	1868	15-6634	0,739
Kont. -09 (n=2)	1379	1379	1014-1744	
Infl. -08 (n=3)	1311	1873	178-1882	0,564
Kont. -08 (n=2)	989	989	646-1332	
Infl. -07 (n=9)	3295	1816	207-10900	0,157
Kont. -07 (n=2)	888,5	888,5	597-1180	
Infl. -06 (n=7)	9233	2053	153-54938	0,394
Kont. -06 (n=4)	1292,8	1140	455-2436	
Infl. -05 (n=4)	1869	1662	106-4046	0,643
Kont. -05 (n=2)	1201	1201	785-1617	
Infl. -04 (n=11)	5234,5	2199	112-25172	0,380
Kont. -04 (n=7)	2194,64	1311	10,5-5056	
Infl. -03 (n=11)	7299,5	2852	199-2842	0,845
Kont. -03 (n=7)	3656,67	3384	503,7-11556	
Infl. -02 (n=15)	15483	7889	297,3-65369	0,014*
Kont. -02 (n=11)	1878,5	1782	443-4944	
Infl. -01 (n=17)	26209	24170	942-85280	0,029*
Kont. -01 (n=14)	7490	2216	84-36236	

(Infl.: Inflammationsgruppe; n: Anzahl; pg/ml: Pikogramm pro Milliliter; Kont.: Kontrollgruppe; die Nummerierung bezieht sich auf die Anzahl der Tage vor Entbindung; signifikante Unterschiede wurden mit \* hervorgehoben)

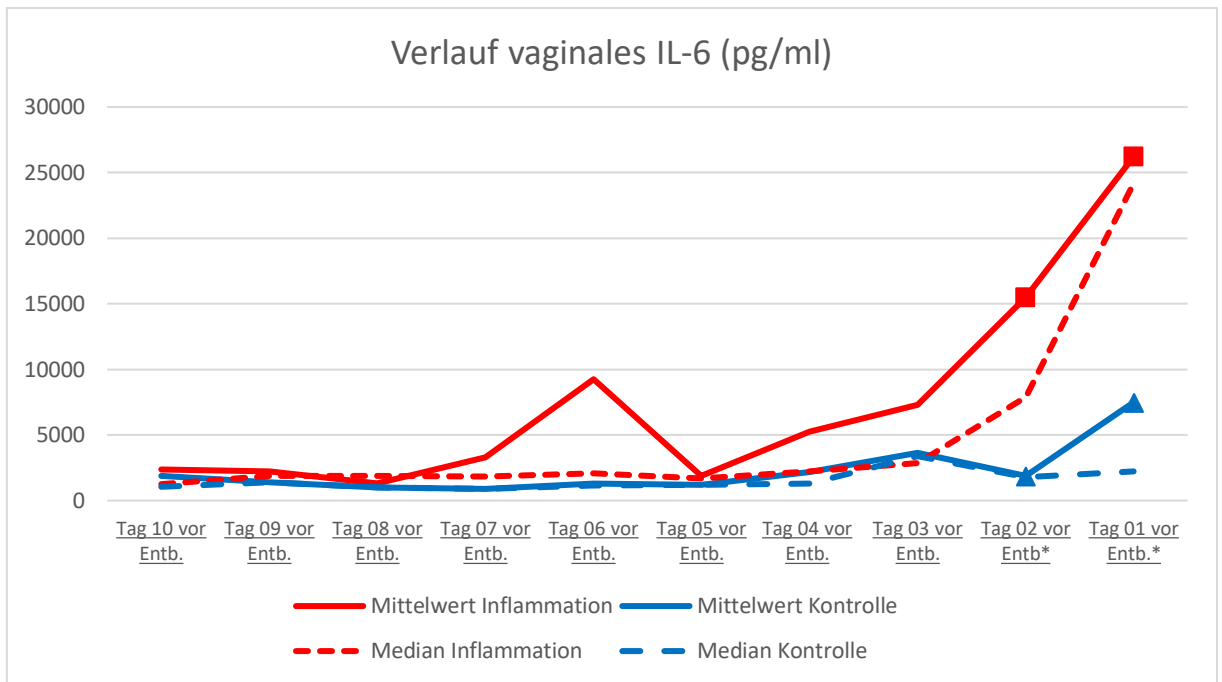


Abb.05: vaginale IL-6-Konzentration im Verlauf bis zur Entbindung. (Entb.: Entbindung; pg/ml: Pikogramm pro Milliliter; \*signifikante Unterschiede wurden graphisch hervorgehoben)

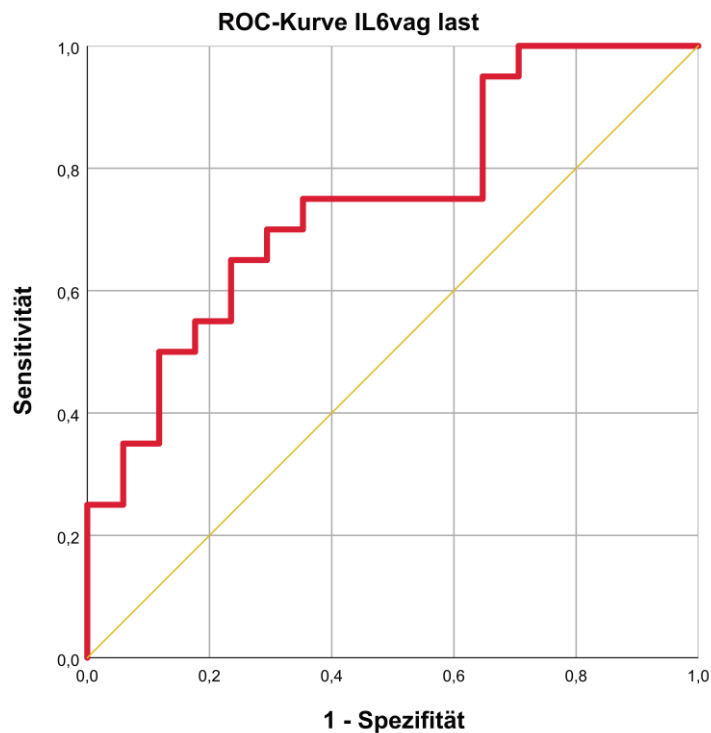


Abb. 06: ROC-Kurve für IL-6<sub>vag</sub> in der letzten Messung vor Entbindung

Wie aus den dargestellten Daten zu erkennen ist, unterscheiden sich die Messwerte der letzten gemessenen vaginalen IL-6-Konzentration zwischen Inflammations- und

Kontrollgruppe signifikant. Im zeitlich gestaffelten Verlauf stellen sich diese signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen bereits zwei Tage vor der Entbindung, nicht jedoch früher dar. Zur Bewertung der Testgüte und zur Festlegung eines möglichen Schwellenwertes erfolgte die Berechnung der *receiver operating characteristic* (ROC) incl. AUC für die letzte erfolgreiche Messung zur Vorhersage der Gruppenzugehörigkeit (vgl. Abb. 06). Die AUC des Kurvenverlaufes betrug 0,747 (95%CI: 0,589-0,905).

#### 4.4 Vergleich mit maternalen Serumparametern

Die maternalen Laborparameter Leukozytenkonzentration ( $WBC_{mat}$ ), CRP-Serumkonzentration ( $CRP_{mat}$ ) und Interleukin-6-Serumkonzentration ( $IL-6_{mat}$ ) wurden im Rahmen der Routinediagnostik bestimmt. Die Auswertung dieser Parameter erfolgte analog zur obigen Darstellung des vaginalen IL-6. Die Überprüfung auf Signifikanz erfolgte mittels t-Test bei normalverteilten und mittels Mann-Whitney-U-Test bei nicht normalverteilten Variablen. Die Ergebnisse dieser Auswertung stellen Tabelle 08 sowie Abbildung 07-09 dar.

Tabelle 8: Darstellung der maternalen Routineparameter  $WBC_{mat}$ ;  $CRP_{mat}$ ;  $IL-6_{mat}$  in der letzten Messung vor Entbindung.

$WBC_{mat}$ (Gpt/l)	Mittelwert	Median	Range	P
Inflammation (n=19)	14,72	13,6	7,1-28	0,098
Kontrolle (n=15)	12,31	10,5	8,9-19,4	
$CRP_{mat}$ (mg/l)	Mittelwert	Median	Range	p
Inflammation (n=19)	17,69	10,9	1,6-64,69	0,033*
Kontrolle (n=15)	6,48	5,1	0,5-21,5	
$IL-6_{mat}$ (pg/ml)	Mittelwert	Median	Range	p
Inflammation (n=17)	28,44	9,7	1,5-292	0,018*
Kontrolle (n=13)	3,92	3,7	1,5-9,6	

( $CRP_{mat}$ : C-reaktives Protein im mütterlichen Serum; Gpt/l: Gigapartikel pro Liter;  $IL-6_{mat}$ : Interleukin-6 im mütterlichen Serum; mg/l: Milligramm pro Liter; n: Anzahl; pg/ml Pikogramm pro Milliliter;  $WBC_{mat}$ : Leukozytenkonzentration im mütterlichen Blut)

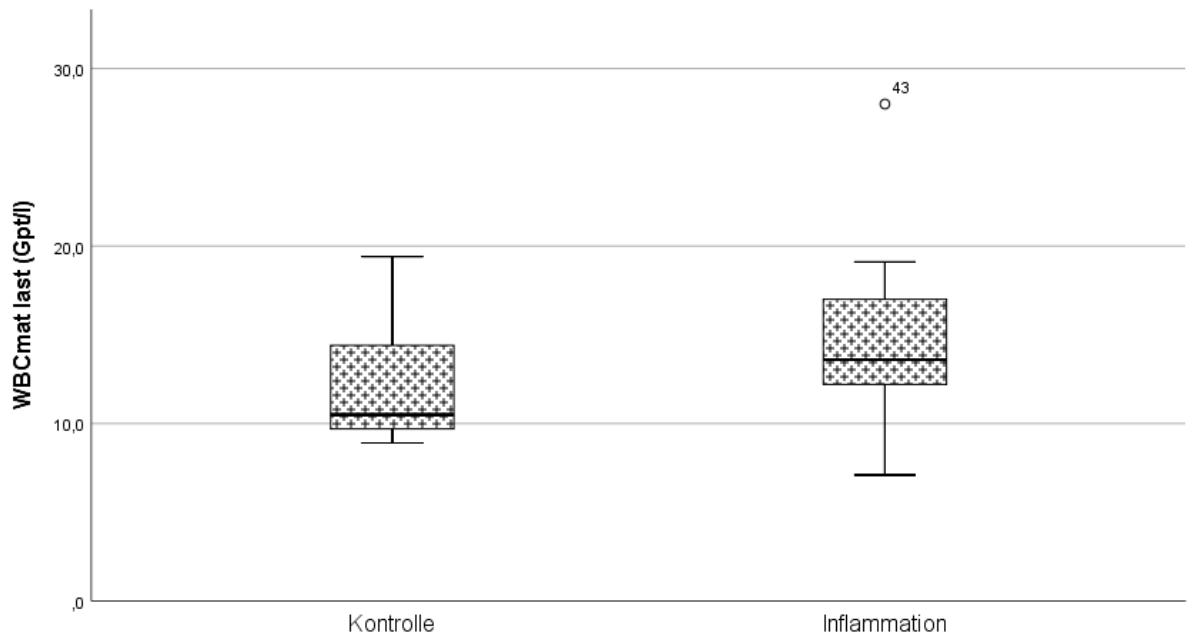


Abb. 07: Box-Plot-Darstellung der Leukozytenzahl (Gpt/l) – letzte Messung vor Entbindung.

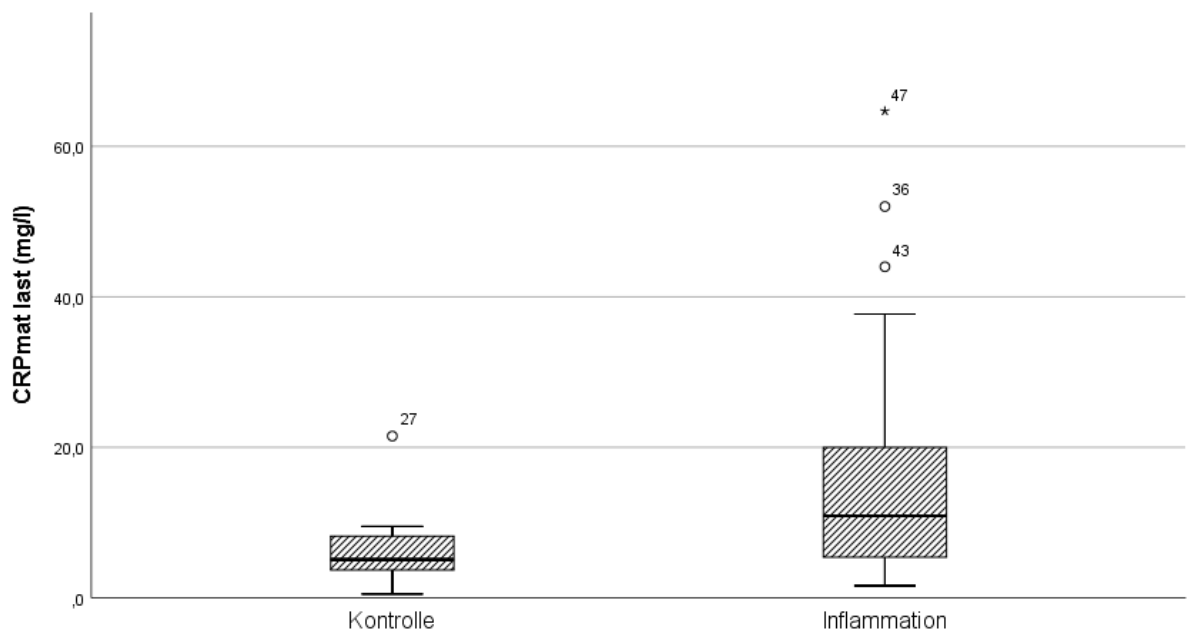
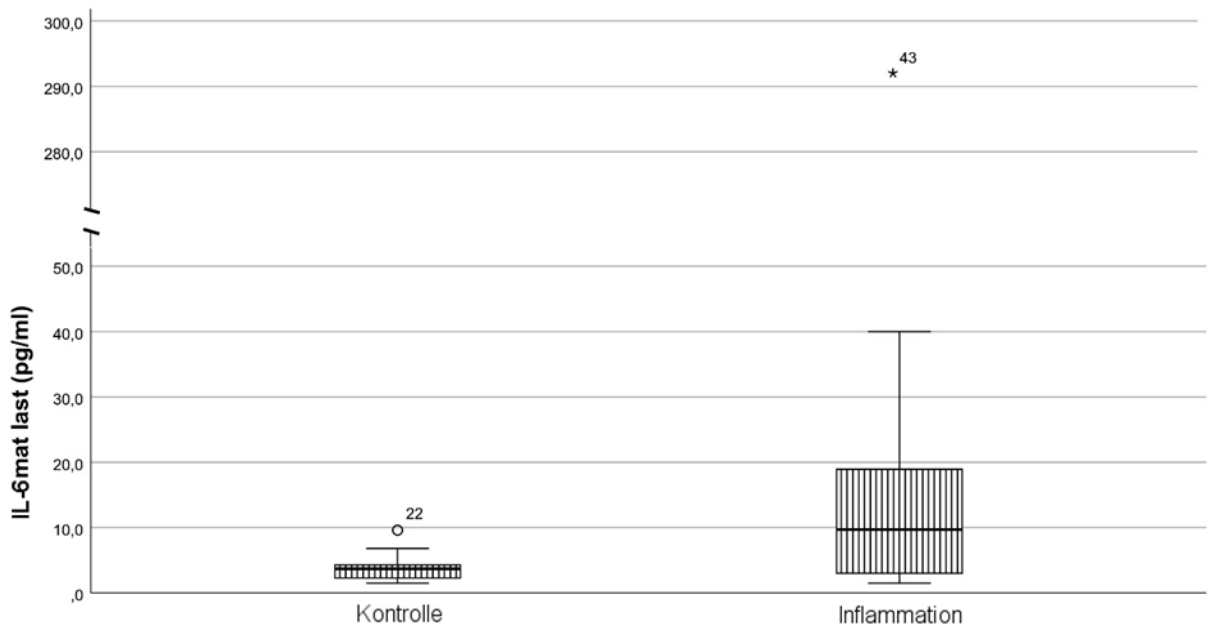


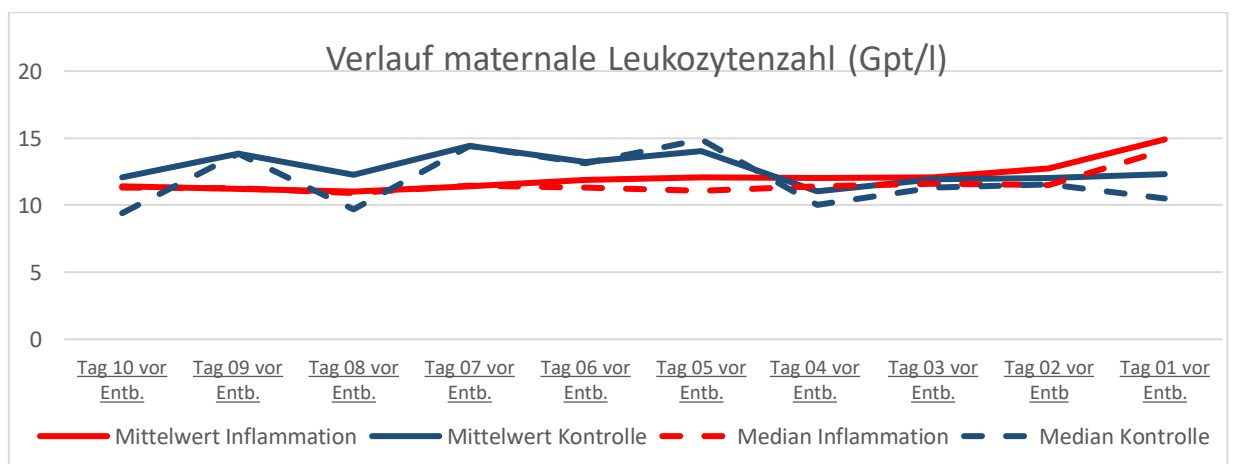
Abb. 08: Box-Plot-Darstellung des CRP (mg/l) – letzte Messung vor Entbindung





**Abb. 09: Box-Plot-Darstellung des Serum-IL-6 (pg/ml) – letzte Messung vor Entbindung**

Bei den letzten Messungen vor Entbindung stellt sich eine signifikante Differenz der CRP- sowie in der IL-6-Konzentration zwischen Inflammations- und Kontrollgruppe dar (Median 10,9 vs. 5,1 mg/l bzw. 9,7 vs 3,7 pg/ml). Die Unterschiede der Leukozytenkonzentration sind nicht signifikant. Ähnliche Befunde liefert die zeitlich gruppierte Auswertung der mütterlichen Laborparameter: Die maternale CRP- und Interleukin-6-Konzentration unterscheidet sich in den letzten 24h, nicht jedoch in den vorangegangenen Messungen. Die maternale Leukozytenkonzentration bleibt ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Die graphische Darstellung erfolgt in den Abbildungen 10-12.



**Abb. 10: Messwerte der maternalen Leukozytenzahl im Verlauf (Entb.: Entbindung)**

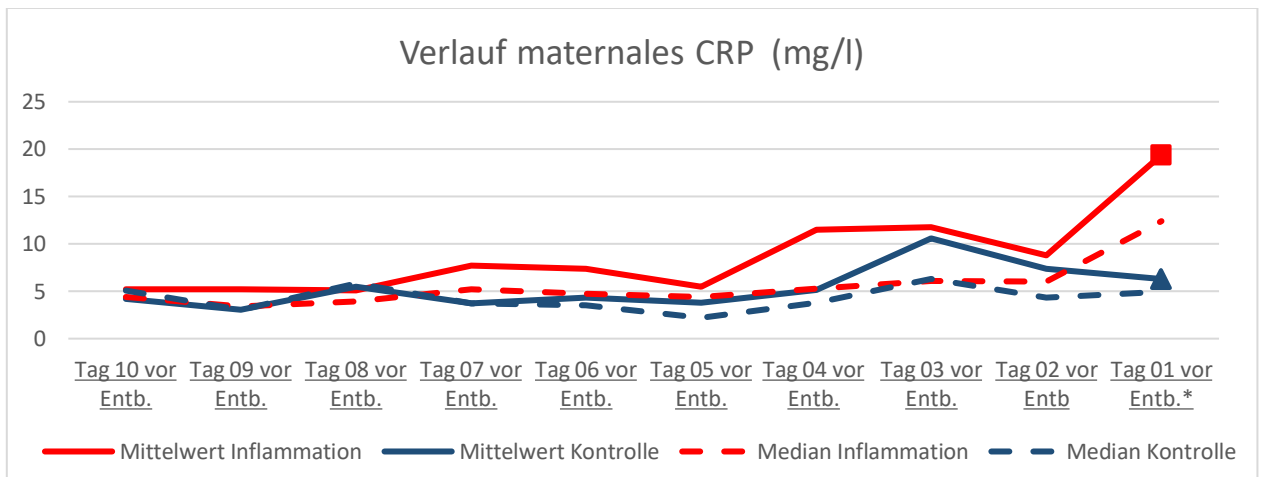


Abb.11: Messwerte der maternalen CRP-Konzentration im Verlauf (Entb.: Entbindung)

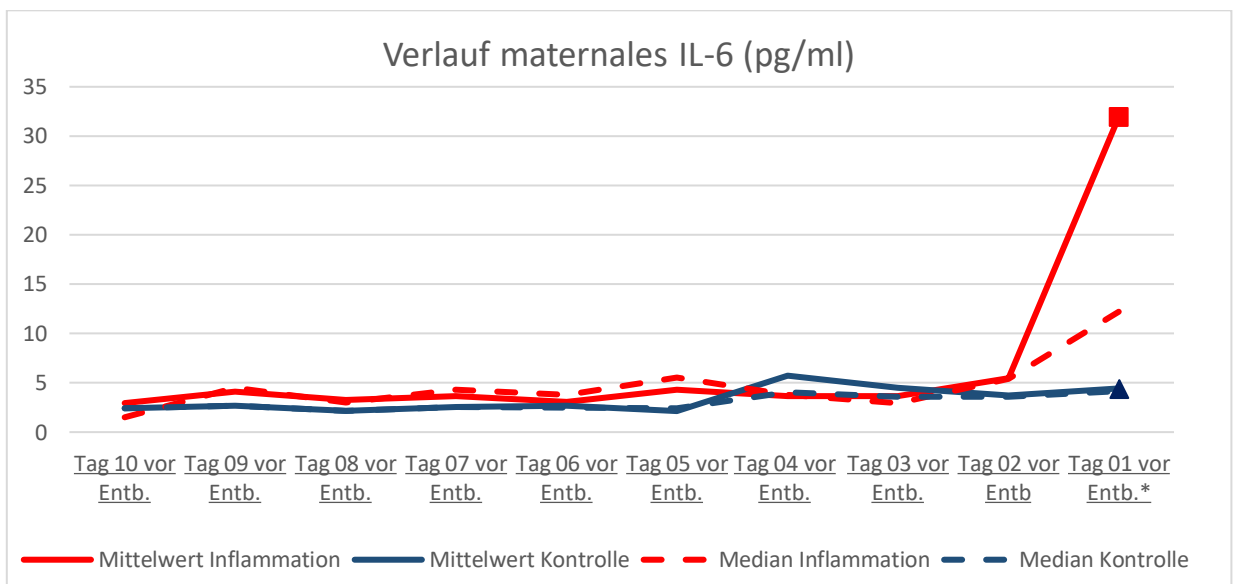


Abb.12: Messwerte der maternalen IL-6-Konzentration im Verlauf (Entb.: Entbindung)

Des Weiteren erfolgte die Darstellung der *receiver operating characteristic* Kurve der letzten Messung vor Entbindung für das vaginale IL-6 sowie die maternalen Laborparameter (siehe Abb. 13). Ebenso erfolgte die ROC-Analyse der Messungen des letzten (24-0h) und des vorletzten (48-24h) Tages vor der Entbindung. Die AUC der ROC-Kurven mit den dazugehörigen Konfidenzintervallen werden in Tabelle 09-11 aufgeführt. Die Unterschiede zu den in Kapitel 4.2.1 angegebenen Werten ergeben sich aus der Fallauswahl, da für diese Auswertung nur Fälle bei Verfügbarkeit aller Daten (Messwerte IL-6<sub>vag</sub> sowie alle Routineparameter innerhalb 48h vor Entbindung) einbezogen werden.

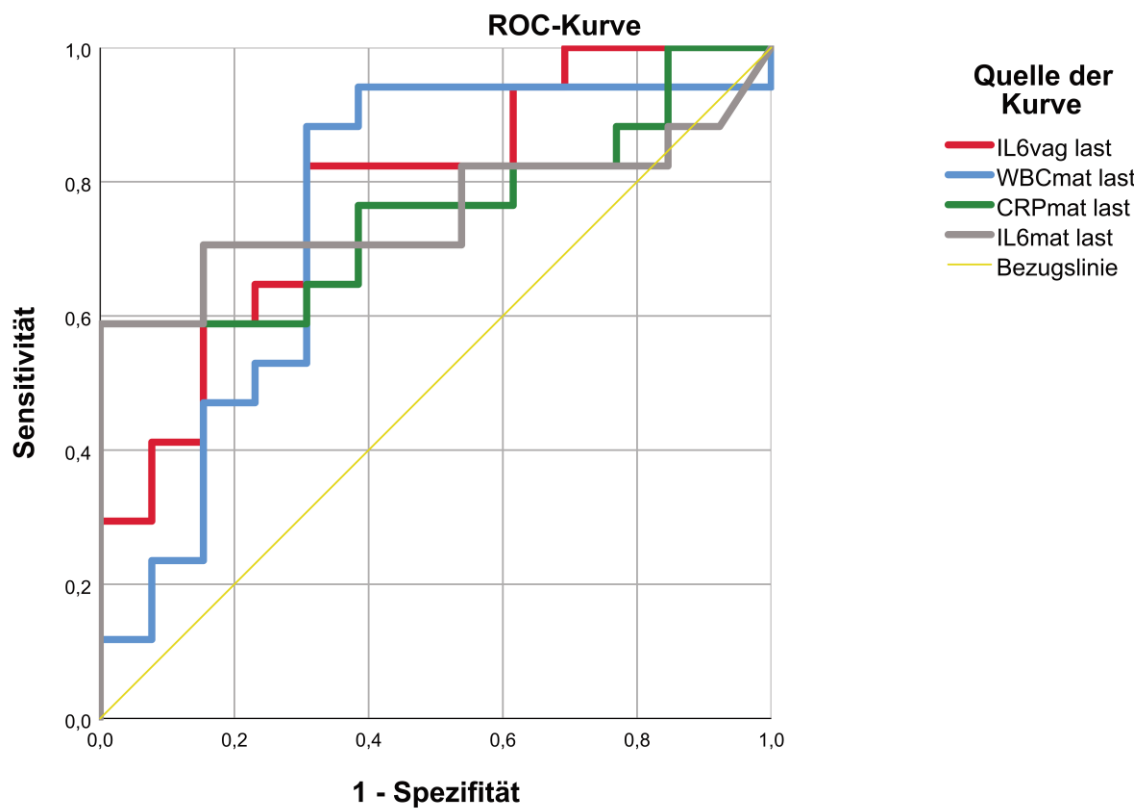


Abb. 13: ROC von IL-6<sub>vag</sub>, IL-6<sub>mat</sub>, WBC<sub>mat</sub> und CRP<sub>mat</sub> zur Vorhersage einer Inflammation

Tabelle09: ROC-AUC IL-6<sub>vag</sub> und maternale Parameter - letzte Messung vor Entbindung

	Fläche	p	95% Konfidenzintervall	
IL-6 <sub>vag</sub>	0,783	0,009	0,617	0,948
WBC <sub>mat</sub>	0,751	0,020	0,559	0,943
CRP <sub>mat</sub>	0,756	0,018	0,580	0,931
IL-6 <sub>mat</sub>	0,756	0,018	0,574	0,937

(CRP<sub>mat</sub>: C-reaktives Protein im mütterlichen Serum; IL-6<sub>mat</sub>: Interleukin-6 im mütterlichen Serum; IL-6<sub>vag</sub>: Interleukin-6 im Vaginalsekret; WBC<sub>mat</sub>: Leukozytenkonzentration im mütterlichen Blut)

Tabelle10: ROC-AUC IL-6<sub>vag</sub> und maternale Parameter: 0 – 24h vor Entbindung

	Fläche	p	95% Konfidenzintervall	
IL-6 <sub>vag</sub>	0.761	0.012	0.558	0.964
WBC <sub>mat</sub>	0.803	0.004	0.596	1.000
CRP <sub>mat</sub>	0.829	< 0.001	0.650	1.000
IL-6 <sub>mat</sub>	0.761	0.016	0.548	0.973

(CRP<sub>mat</sub>: C-reaktives Protein im mütterlichen Serum; IL-6<sub>mat</sub>: Interleukin-6 im mütterlichen Serum; IL-6<sub>vag</sub>: Interleukin-6 im Vaginalsekret; WBC<sub>mat</sub>: Leukozytenkonzentration im mütterlichen Blut)

Tabelle11: ROC-AUC IL-6<sub>vag</sub> und maternale Parameter: 24 – 48h vor Entbindung

	Fläche	p	95% Konfidenzintervall	
IL-6 <sub>vag</sub>	0.877	< 0.001	0.670	10.083
WBC <sub>mat</sub>	0.568	0.634	0.288	0.847
CRP <sub>mat</sub>	0.630	0.335	0.366	0.893
IL-6 <sub>mat</sub>	0.704	0.119	0.447	0.960

(CRP<sub>mat</sub>: C-reaktives Protein im mütterlichen Serum; IL-6<sub>mat</sub>: Interleukin-6 im mütterlichen Serum; IL-6<sub>vag</sub>: Interleukin-6 im Vaginalsekret; WBC<sub>mat</sub>: Leukozytenkonzentration im mütterlichen Blut)

Tabelle 12: Testgüte IL-6<sub>vag</sub> und maternale Parameter; letzte Messung vor Entbindung

<b>Parameter (Grenzwert)</b>	<b>Sens (95% CI)</b>	<b>Spez (95% CI)</b>	<b>PPV (95% CI)</b>	<b>NPV (95% CI)</b>	<b>OR (95%CI)</b>
IL-6 <sub>vag</sub> (1145 pg/ml)	95% (85,4-100%)	35,29% (12,6-58%)	63,33% (46,1-80,6%)	85,71% (59,8-100%)	10,36 (1,1-98)
IL-6 <sub>vag</sub> (6416,5pg/ml)	65% (44,1-85,9%)	76,50% (56,3-96,6%)	76,50% (56,3-96,6%)	65% (44,1-85,9%)	6 (1,41-26)
IL-6 <sub>vag</sub> (32855 pg/ml)	35% (14,1-55,9%)	94% (82,9-100%)	87,50% (64,6-100%)	55,17% (37,1-73,3%)	8,61 (0,93-79)
IL-6 <sub>vag</sub> (11000pg/ml)	50% (28,1-71,9%)	88,20% (72,9-100%)	83,30% (62,2-100%)	60% (40,8-79,2%)	7,5 (1,35-42)
IL-6 <sub>vag</sub> (2600pg/ml)	75% (56-94%)	58,80% (35,4-82,2%)	68,20% (48,7-87,6%)	66,67% (42,8-90,5%)	7,28 (1,06-17)
WBC <sub>mat</sub> (15Gpt/l)	40% (18,5-61,5%)	76,50% (56,3-96,6%)	66,70% (40-93,3%)	52% (32,4-71,6%)	2,1 (0,51-9)
CRP <sub>mat</sub> (20mg/l)	25% (6-44%)	94,10% (82,9-100%)	83,30% (53,5-100%)	51,60% (34,0-69,2%)	5,3 (0,55-52)
IL-6 <sub>mat</sub> (8,5pg/ml)	58,80% (35,4-82,2%)	92,30% (77,8-100%)	90,90% (73,9-100%)	63,20% (41,5-84,8%)	17,14 (1,79-164)

(CRP<sub>mat</sub>: C-reaktives Protein im mütterlichen Serum; Gpt/l: Gigapartikel pro Liter; IL-6<sub>mat</sub>: Interleukin-6 im mütterlichen Serum; IL-6<sub>vag</sub>: Interleukin-6 im Vaginalsekret; Sens.: Sensitivität; Spez.: Spezifität; mg/l: Milligramm pro Liter; NPV: negativer Vorhersagewert; OR: odds ratio; pg/ml Pikogramm pro Milliliter; PPV: positiver Vorhersagewert; WBC<sub>mat</sub>: Leukozytenkonzentration im mütterlichen Blut)

Vergleichend erfolgte die Berechnung der Testgütekriterien. Für die Routineparameter werden Grenzwerte angenommen, wie sie in den Leitlinien zum Zeitpunkt der Durchführung der Studie und anderen Publikationen Verwendung fanden (DGGG 2010; Dutton et al. 2005; Gulati et al. 2012; Sayed Ahmed et al. 2016). Für die vaginale Interleukin-6-Konzentration wurde zunächst explorativ der optimale Schwellenwert anhand des Youden-Index berechnet (Youden 1950).

Ein Wert von 6416,5pg/ml stellt bei einer Sensitivität von 0,65 (95%CI: 0,441 – 0,859) und einer Spezifität von 0,765 (95%CI: 0,563 – 0,966) einen möglichen Cut-off zur Vorhersage einer fetalen Inflammation dar (Youden-Index 0,415). Eine Sensitivität von 0,95 wird bei einem Grenzwert von 1150 pg/ml (Rule-out-Cut-off) mit einer Spezifität von 0,35 erreicht. Eine Spezifität von annähernd 0,95 (Rule-in-Cut-off) wird bei 32855 pg/ml mit einer Sensitivität von 0,35 erreicht. Für die errechneten Grenzwerte erfolgte explorativ die Bestimmung der Testgüteparameter. Des Weiteren wurden die Testgütekriterien für Grenzwerte bei 2600pg/ml und 11000 pg/ml berechnet. Diese

Grenzwerte wurden bei einer Kohorte mit vorzeitiger Wehentätigkeit zur Quantifizierung der intraamnialen Entzündungsreaktion angewandt und korrelieren mit einem schlechteren geburtshilflichen oder neonatalen Outcome (Combs et al. 2014). Die Darstellung der Parameter am Tag 1 bzw. 2 vor Entbindung erfolgte in derselben Weise. (siehe Tabelle 12-14)

Tabelle 13: Testgütekriterien IL-6<sub>vag</sub> und maternale Parameter; 0-24h vor Entbindung

	Sens (95% CI)	Spez (95% CI)	PPV (95% CI)	NPV (95% CI)	OR (95%CI)
IL-6 <sub>vag</sub> (1145 pg/ml)	94% (82,9 - 100%)	35,7% (10,6 - 60,8%)	64,00% (45,2 - 82,8%)	83,33% (53,5 - 100%)	8,89 (0,89 - 88)
IL-6 <sub>vag</sub> (6416,5pg/ml)	65% (42,0 - 87,4%)	71,43% (47,8 - 95,1%)	73,33% (51,0 - 95,7%)	63% (38,8 - 86,2%)	4,58 (0,99 - 21)
IL-6 <sub>vag</sub> (32855 pg/ml)	35% (12,6 - 58,0%)	93% (79,4 - 100%)	85,71% (59,8 - 100%)	54,17% (34,2 - 74,1%)	7,09 (0,74 - 68)
IL-6 <sub>vag</sub> (11000pg/ml)	53% (29,2 - 76,7%)	85,71% (67,4 - 100%)	81,82% (59,0 - 100%)	60% (38,5 - 81,5%)	6,75 (1,15 - 40)
IL-6 <sub>vag</sub> (2600pg/ml)	71% (48,9 - 92,2%)	57,14% (31,2 - 83,1%)	66,67% (44,9 - 88,4%)	61,53% (35,1 - 88,0%)	3,2 (0,7 - 14)
WBC <sub>mat</sub> (15Gpt/l)	44,44% (21,5 - 67,4%)	80% (59,8 - 100%)	72,73% (46,4 - 99%)	54,55% (33,7 - 75,4%)	3,2 (0,6 - 15)
CRP <sub>mat</sub> (20mg/l)	29% (7,8 - 51,1%)	92,86% (79,4 - 100%)	83,33% (53,5 - 100%)	52% (32,4 - 71,6%)	5,4 (0,5 - 53)
IL-6 <sub>mat</sub> (8,5pg/ml)	66,67% (42,8 - 90,5%)	90% (71,4 - 100%)	90,91% (73,9 - 100%)	64,29% (39,2 - 89,4%)	18 (1,75 - 184)

(CRP<sub>mat</sub>: C-reaktives Protein im mütterlichen Serum; Gpt/l: Gigapartikel pro Liter; IL-6<sub>mat</sub>: Interleukin-6 im mütterlichen Serum; IL-6<sub>vag</sub>: Interleukin-6 im Vaginalsekret; Sens.: Sensitivität; Spez.: Spezifität; mg/l: Milligramm pro Liter; NPV: negativer Vorhersagewert; OR: odds ratio; pg/ml Pikogramm pro Milliliter; PPV: positiver Vorhersagewert; WBC<sub>mat</sub>: Leukozytenkonzentration im mütterlichen Blut)

Tabelle 14: Testgütekriterien IL-6<sub>vag</sub> und maternale Parameter; 24-48 vor Entbindung

	Sens (95% CI)	Spez (95% CI)	PPV (95% CI)	NPV (95% CI)	OR (95%CI)
IL-6 <sub>vag</sub> (1145 pg/ml)	80% (59,8 - 100%)	36,36% (7,9 - 64,8%)	63,16% (41,5 - 84,8%)	57,14% (20,5 - 93,8%)	2,28 (0,39 - 13)
IL-6 <sub>vag</sub> (6416,5pg/ml)	53% (28,1 - 78,6%)	100% (100 - 100%)	100% (100 - 100%)	61,11% (38,6 - 83,6%)	2,57 (1,44 - 4,59)
IL-6 <sub>vag</sub> (32855 pg/ml)	13% (3,9 - 30,5%)	100% (100 - 100%)	100% (100 - 100%)	45,83% (25,9 - 65,8%)	
IL-6 <sub>vag</sub> (11000pg/ml)	47% (21,4 - 71,9%)	100% (100 - 100%)	100% (100 - 100%)	57,89% (35,7 - 80,1%)	
IL-6 <sub>vag</sub> (2600pg/ml)	67% (42,8 - 90,5%)	72,73% (46,4 - 99,0%)	76,92% (54 - 99,8%)	61,54% (35,1 - 88,0%)	5,3 (0,9 - 29)
WBC <sub>mat</sub> (15Gpt/l)	23% (0,2 - 46,0%)	66,67% (40,0 - 93,3%)	42,86% (6,2 - 79,5%)	44,44% (21,5 - 67,4%)	0,6 (0,1 - 3,5)
CRP <sub>mat</sub> (20mg/l)	8% (-6,8 - 22,2%)	91,67% (76,0% - 100%)	50% (19,3 - 100%)	47,83% (27,4 - 68,2%)	0,92 (0,05 - 16)
IL-6 <sub>mat</sub> (8,5pg/ml)	18,18% (4,6 - 41,0%)	90% (71,4 - 100%)	66,67% (13,3 - 100%)	50% (26,9 - 73,1%)	2 (0,15 - 26)

(CRP<sub>mat</sub>: C-reaktives Protein im mütterlichen Serum; Gpt/l: Gigapartikel pro Liter; IL-6<sub>mat</sub>: Interleukin-6 im mütterlichen Serum; IL-6<sub>vag</sub>: Interleukin-6 im Vaginalsekret; Sens.: Sensitivität; Spez.: Spezifität; mg/l: Milligramm pro Liter; NPV: negativer Vorhersagewert; OR: odds ratio; pg/ml Pikogramm pro Milliliter; PPV: positiver Vorhersagewert; WBC<sub>mat</sub>: Leukozytenkonzentration im mütterlichen Blut)

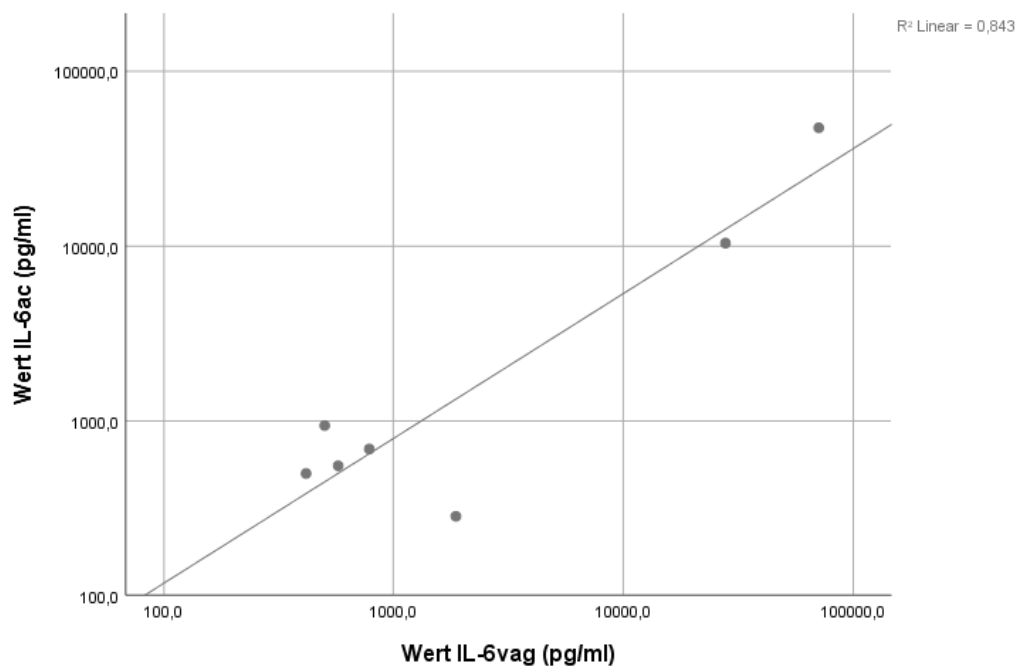
#### 4.5 Korrelation mit amniater Flüssigkeit

In Zuge der studienunabhängigen klinischen Betreuung erfolgte in acht Fällen eine Amniozentese zum Ausschluss einer fetalen Inflammation. In sieben Fällen konnte einer Amniozentese eine erfolgreiche vaginale Probenentnahme innerhalb von 48h zugeordnet werden (Durchschnitt 24,6h; Range 0,5-47,7h; UKL: 3, UKH:4). In allen sieben Fällen erfolgte in der jeweiligen Einrichtung die Bestimmung der Interleukin-6-Konzentration, in den vier am UKH durchgeführten Fällen erfolgte zusätzlich die Bestimmung des  $\alpha$ -Fetoproteins im Fruchtwasser. Trotz der geringen Fallzahl erfolgte explorativ die Berechnung des Pearson-Korrelationskoeffizienten zur Überprüfung auf Korrelation der Parameter im Fruchtwasser („IL-6<sub>ac</sub>“ bzw. „AFP<sub>ac</sub>“) mit denen der vaginal entnommenen Proben („IL-6<sub>vag</sub>“ bzw. „AFP<sub>vag</sub>“). Die Darstellung der Messwerte findet sich in Tabelle 15 sowie auf Abbildung 14 und 15.

**Tabelle 15: Messwerte aus Amniozenteseproben mit vaginalen Messwerten und Zeitabstand**

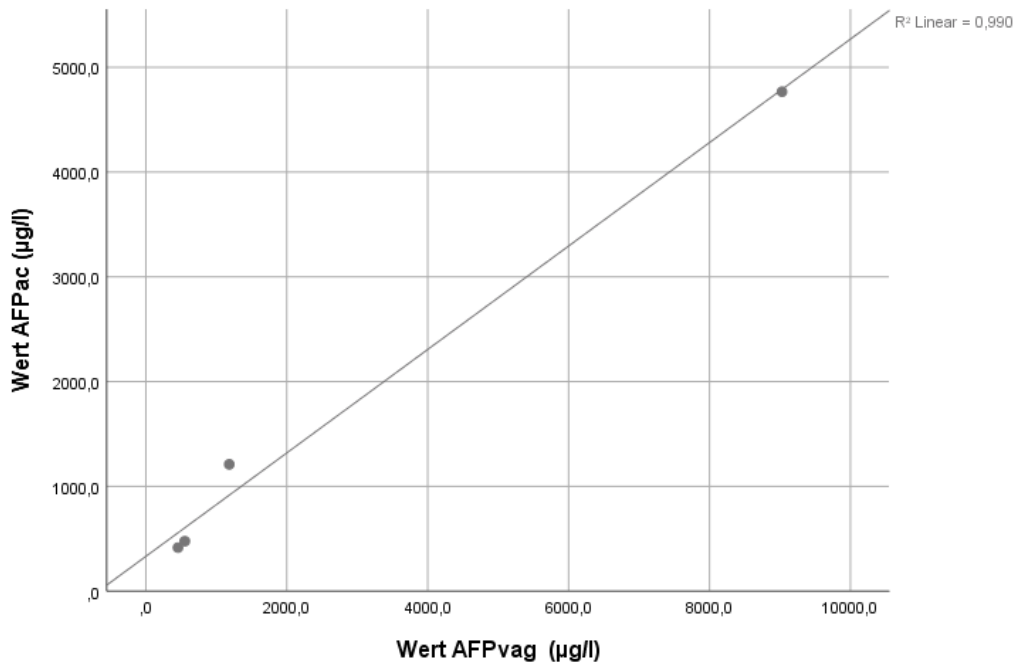
Fall-Nr.	Abstand (h)	IL-6 <sub>ac</sub> (pg/ml)	IL-6 <sub>vag</sub> (pg/ml)	AFP <sub>ac</sub> (µg/l)	AFP <sub>vag</sub> (µg/l)
HAL 009	45,5	553,9	575,9	476,5	552,3
HAL 012	5,0	47540	70770	4767	9029
HAL 025	27,2	690,7	786,3	1210	1183
HAL 014	0,5	10410	27830	415	456
LEI 003	47,7	284,2	1873		
LEI 007	25,2	941	503		
LEI 010	21,1	500	417,3		

(AFP<sub>ac</sub>: α-Fetoprotein im Fruchtwasser; AFP<sub>vag</sub>: α-Fetoprotein im Vaginalsekret; h: Stunde(n); IL-6<sub>ac</sub>: Interleukin-6 im Fruchtwasser; IL-6<sub>vag</sub>: Interleukin-6 im Vaginalsekret; µg/l: Mikrogramm pro Liter; pg/ml: Pikogramm pro Milliliter)



**Abb. 14: Streudiagramm IL-6ac und IL-6vag (Achsen sind logarithmiert)**





**Abb. 15: Streudiagramm AFP<sub>ac</sub> und AFP<sub>vag</sub>**

Für beide Parameter stellt sich eine deutliche Korrelation zwischen beiden Messmethoden dar: Für die IL-6-Konzentration beträgt der Pearson Koeffizient 0,984 ( $p < 0,001$ ). Für die AFP-Konzentration beträgt der Koeffizient 0,995 ( $p = 0,005$ ). Diese Ergebnisse werden durch die sehr kleine Fallzahl ( $n = 7$  bzw. 4) in ihrer Aussage stark eingeschränkt. Im Gegensatz hierzu findet sich keine Korrelation zwischen der vaginalen IL-6 Konzentration und der IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut (Pearson Koeffizient  $-0,117$ ;  $p = 0,489$ ).

## 5 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit kann erstmals die vaginale Interleukin-6-Konzentration im zeitlichen Verlauf vor der Entbindung dargestellt werden. Die Messung erfolgte mit Hilfe eines für diese Zwecke entwickelten Verfahrens, welches sich gut in den klinischen Alltag integrieren ließ. Die Gruppe mit postnatalen Inflammationszeichen weist im Vergleich mit der Kontrollgruppe eine signifikant höhere vaginale IL-6-Konzentration vor der Entbindung auf. Dieser Unterschied ist bereits mehr als 24 Stunden vor der Geburt festzustellen. Im Gegensatz dazu ist bei den etablierten Routineparametern ein Unterschied zwischen den beiden Gruppen gar nicht oder erst innerhalb von 24 Stunden vor Entbindung erkennbar. Diese Ergebnisse sprechen für das Potential der neuartigen Methode zur Verbesserung der Routinediagnostik nach PPRM.

Das vaginale IL-6 als Entzündungsparameter nach PPRM wurde bereits in zahlreichen Arbeiten untersucht. Dabei wurden erhöhte vaginale IL-6-Konzentrationen bei erhöhter intraamniotischer IL-6-Konzentration (Holst et al. 2005; Musilova et al. 2017a; Park et al. 2013) und bei intraamniotischem Keimnachweis (Combs et al. 2015; Holst et al. 2011; Jun et al. 2000; Kacerovsky et al. 2015; Musilova et al. 2017a; Park et al. 2013; Ryu et al. 2013) festgestellt. Eine Darstellung der ausgewählten Studien bietet Tabelle 16. Combs und Kollegen führten eine Studie an 414 Schwangeren mit vorzeitiger Wehentätigkeit und intakten Eihäuten durch. Endpunkte waren das Vorliegen einer intrauterinen Infektion (positive Kultur bzw. PCR in AC-Probe) bzw. einer intrauterinen Inflammation (IL-6 in AC-Probe  $>11,3$  ng/ml). Die Testgüte von 43 Parametern im Vaginalsekret wurde analysiert. Von allen Parametern wies das vaginale IL-6 die beste Testperformance mit einer ROC-AUC von 0,85 auf (Combs et al. 2015). Park und Kollegen bestimmten bei 85 Patientinnen mit vorzeitiger Wehentätigkeit und intakten Eihäuten die Konzentrationen von IL-6 und IL-8 sowie die der Leukozyten im Vaginalsekret. Alle drei Parameter waren beim Vorliegen einer intrauterinen Inflammation bzw. Infektion (definiert als IL-6-Konzentration im Fruchtwasser  $>2,6$  ng/ml und/oder positivem Keimnachweis) erhöht. IL-6 zeigte auch hier mit einer ROC-AUC von 0,85 die beste Testperformance (Park et al. 2013). Die gleiche Arbeitsgruppe kam in einer weiteren Studie an 86 Frauen mit frühem vorzeitigem Blasensprung zu einem vergleichbaren Ergebnis (Jun et al. 2000). Die Arbeitsgruppe um Jacobsson und Kacerovsky führte Untersuchungen mit ähnlichen Studiendesigns (Bestimmung der vaginalen IL-6-Konzentration zeitnah zur Amniozentese und Korrelation mit Keimnachweis und erhöhter IL-6-Konzentration im Fruchtwasser) durch. Die Ergebnisse waren vergleichbar (Musilova et al. 2016; Musilova et al. 2017a). Ryu et al. verglichen

die Testgüte von IL-1 $\beta$ , IL-8 und IL-6 zur Vorhersage eines intraamnialen Keimnachweises bei 76 Frauen mit vorzeitigem Blasensprung. IL-6 zeigte bei dieser Analyse im Vergleich die geringste AUC, die jedoch immer noch einen Wert von 0,7 erreichte (Ryu et al. 2013).

In den genannten Studien wurden die Proben im Rahmen einer gynäkologischen Untersuchung entweder durch Verwendung eines Tupfers oder durch Aspiration gewonnen. Oh, Yoon und Kollegen erfanden einen *cervical fluid collector*, ein trichterförmiger Latexballon mit Ableitungskatheter, der im Zuge einer gynäkologischen Untersuchung über der Portio uteri platziert werden kann. Durch diese Technik ist ein kontinuierliches Auffangen von Vaginalsekret theoretisch möglich (Lee et al. 2015). Bei der Analyse der IL-8-Konzentration in den gewonnenen Sekreten von 111 Frauen mit PPRM war eine gute Testperformance sowohl zur Vorhersage einer intraamnialen Infektion wie auch einer intraamnialen Inflammation (AC-Fruchtwasserprobe MMP-8 >23ng/ml) zu verzeichnen. Auch hier erfolgte lediglich eine Einzelpunktmessung (Oh et al. 2020).

Diese Ergebnisse stützen die Prämisse, dass ein intraamniales Infektionsgeschehen zu einer Inflammationsreaktion und damit zu einem Anstieg der vaginalen IL-6-Konzentration führt. In allen Studien erfolgte die Bestimmung der Interleukinkonzentration im Zuge einer Einzelpunktmessung zeitgleich zur Amniozentese. Die Bestimmung des Studienparameters (vaginale Probe) und Outcomeparameter (Amniozentese) erfolgten also zur selben Zeit. Es wurden keine postnatalen Befunde als Endpunkt herangezogen. Im Gegensatz dazu führten Dorfeuille und Kollegen eine Studie an 25 Schwangeren nach PPRM durch. Diese verwendete ein Design, bei dem die vaginale IL-6 und MMP-8 Konzentrationen bei der Aufnahmeuntersuchung mit der histologischen Chorioamnionitis bzw. mit Komplikationen beim Neugeborenen (IVH >I°, Leukomalazie und Krämpfe in der Neonatalperiode) korreliert wurden. Eine Korrelation war für die Diagnose der HCA, nicht jedoch für die neonatalen Komplikationen nachweisbar (Dorfeuille et al. 2016). In einer weiteren Arbeit von Kacerovsky und Kollegen fand sich zwar eine Assoziation zwischen der vaginalen IL-6 Konzentration bei der Aufnahmeuntersuchung und dem Keimnachweis in durch Amniozentese gewonnenen Fruchtwasserproben, nicht jedoch zwischen vaginalen IL-6 und der postpartalen Diagnose einer HCA (Kacerovsky et al. 2015). Diese Ergebnisse legen eine Schwäche im Studiendesign nahe: Während die vaginalen Interleukin-Konzentrationen offensichtlich gut mit den zeitgleich unmittelbar bestimmten Endpunkten (IL-6 bzw. Keimnachweis bei Amniozentese) korrelieren, verschlechtert sich die Korrelation bei

zunehmendem zeitlichen Abstand zu den Endpunkten, insbesondere zu den postnatalen Endpunkten wie Plazentahistologie oder neonatalem Outcome. Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführte tägliche Bestimmung kann - aufgrund der engen zeitlichen Beziehung - die Überprüfung des Zusammenhangs der IL-6-Konzentration mit postpartalen und postnatalen Endpunkten vereinfachen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung stehen im Einklang mit den genannten Arbeiten. Wie bei diesen war die vaginale Interleukin-6-Konzentration bei Vorliegen einer intrauterinen Inflammation bzw. Infektion erhöht. Im Gegensatz zu den genannten Arbeiten erfolgte jedoch eine serielle Bestimmung der vaginalen Interleukin-Konzentration sowie die alleinige Betrachtung von postnatalen Endpunkten (HCA, EONS und NS-IL-6). Diesen Ansatz verfolgten bereits Kunze und Kollegen in einer Arbeit von 2016, die in den aktuellen Leitlinien Erwähnung findet (DGGG, OEGGG, SGGG 2019; Kunze et al. 2016). Bei 99 Schwangeren nach PPRM erfolgte die Gewinnung von Fruchtwasserproben durch das Auspressen von Hygienevorlagen. Ein Unterschied zwischen der Gruppe mit und ohne Inflamationszeichen konnte sowohl für die IL-6-Konzentration wie auch für die TNF- $\alpha$ -Konzentration dargestellt werden. Erstmals wurde bei dieser Studie die Bestimmung des Studienparameters direkt vor der Entbindung durchgeführt. Es erfolgte jedoch nur die Darstellung des Mittelwertes in den letzten 48h und keine Darstellung des Verlaufes der letzten Tage vor Entbindung.

Tabelle 16 gibt eine Übersicht über die genannten Arbeiten mit den IL-6-Schwellenwerten die für die Kohorten und die jeweiligen Medien errechnet wurden. Die eindrückliche Bandbreite der Schwellenwerte von 232 – 24670pg/ml ergibt sich am ehesten aus der Verschiedenheit der Kohorten (PPROM oder intakte Eihäute), der Ungleichheit der Medien (Fruchtwasser oder Vaginalsekret) sowie der Mannigfaltigkeit der Endpunkte bzw. deren Definitionen. Der in der vorliegenden Kohorte anhand des Youden-Index berechnete Cut-off von 6416,5pg/ml liegt im Vergleich zu den aufgeführten Ergebnissen im oberen Bereich, die ROC-AUC stellt sich vergleichsweise niedriger dar. Dies könnte damit zusammenhängen, dass - wie erläutert - im Gegensatz zu der Mehrzahl der Studien postnatale (z.T. klinische) Endpunkte gewählt wurden. Der Unterschied zu dem Cut-off in der Arbeit von Kunze und Kollegen könnte mit einer anderen Art der Probengewinnung (durch Präanalytik und Verdünnung durch andere Flüssigkeiten) oder durch Unterschiede im Kollektiv bedingt sein.

Die Aussage der hier vorliegenden Studie wird vor allem durch die geringe Fallzahl und die hohe *drop-out*-Rate eingeschränkt. Der MuMfl-Trial war als multizentrische Pilotstudie angelegt und wurde weder durch Sponsoring noch Drittmittel finanziert.

Hierdurch ergab sich eine geringe Screening- bzw. Rekrutierungsrate in den teilnehmenden Zentren. Leider erfolgte in einem großen Anteil der Fälle keine histologische Untersuchung der Plazenta. Diese Fälle mussten von der Auswertung ausgeschlossen werden. Ein Einbeziehen der Fälle, bei denen eines der anderen Zuordnungskriterien erfüllt war, hätte ein Selektionsbias ermöglicht. Fälle mit unbekannter Histologie hätten hingegen nicht der Kontrollgruppe zugeordnet werden können. Eingeschlossen wurden sowohl Mehrlinge als auch Schwangerschaften mit nicht akut lebensbedrohlichen Komplikationen.

Tabelle 16: Auswahl Studien mit Berechnung eines Schwellenwertes für IL-6

Autor Jahr (n)	Fruchtwasser (AC)	CVF (intakte Membran)	CVF (PPROM)	Outcome	AUC
(Park et al. 2013) (54)		232 pg/ml		MIAC u/o FW IL-6 >2,6ng/ml	0,85
(Jun et al. 2000) (86)			350 pg/ml	MIAC	0,84
(Kacerovsky et al. 2015) (60)			349 pg/ml	MIAC + HCA	0,78
(Combs et al. 2015) (414)		463 pg/ml		MIAC	0,80
(Ryu et al. 2013) (76)			483 pg/ml	MIAC	0,70
(Musilova et al. 2017b) (144)			500 pg/ml	MIAC+ AC-IL-6 >745pg/ml	0,78
(Jacobsson et al. 2003) (47)	800 pg/ml			Entbindung <7d	k.A.
(Kunze et al. 2016) (99)			1000 pg/ml	NS-IL-6 >100pg/ml u/o HCA	0,84
(Harirah 2002) (84)	11400 pg/ml			MIAC	k.A.
(Holst et al. 2005) (a:55 b:91)		0 pg/ml 0 pg/ml		a) AC-IL-6 >1,5ng/ml b) Entbindung <7d	k.A.
(Musilova et al. 2016) (141)			a) 2500 pg/ml b) 2500 pg/ml	a)MIAC b) AC-IL-6 >745pg/ml	a) 0,75 b) 0,90
(Holst et al. 2011) (89)	24670 pg/ml	9607 pg/ml		MIAC	AC: 0,71 CVF: 0,78

(AC: Amniozentese; AUC: Fläche unter der *receiver operating characteristic*-Kurve; CVF: cervicovaginale Flüssigkeit; FW: Fruchtwasser; IL-6: Interleukin-6; k.A.: keine Angaben; MIAC: *microbial invasion of the amniotic cavity*; n: Anzahl; ng/ml: Nanogramm pro Milliliter; NS: Nabelschnur(-blut); PPROM: *preterm prelabor rupture of membranes*; pg/ml: Pikogramm pro Milliliter)

Der Einschluss von Mehrlingsschwangerschaften erfolgte in den meisten der vergleichbaren Studien nicht (Kacerovsky et al. 2015; Musilova et al. 2016; Ryu et al. 2013), in einzelnen anderen Arbeiten hingegen schon (Kunze et al. 2016). Der Einschluss von Mehrlingsschwangerschaften birgt das Risiko einer unklaren Zuordnung, wenn nur eines der Kinder Inflammationszeichen aufweist. In der untersuchten Kohorte wurden alle in die Endauswertung einbezogenen Mehrlingsschwangerschaften der Kontrollgruppe zugeordnet. Eine Einschränkung der Vergleichbarkeit mit den Ergebnissen anderer Arbeiten ist jedoch nicht sicher auszuschließen. Kinder mit nicht lebensbedrohlichen Fehlbildungen wurden ebenfalls in die Auswertung einbezogen. In der Kontrollgruppe wurde ein Neugeborenes mit Situs inversus sowie eines mit einer urogenitalen Fehlbildung (Hypospadie mit einseitiger Nierenagenesie) eingeschlossen. In die Inflammationsgruppe eingeschlossen wurden ein Neugeborenes mit einer radialen Polydaktylie und vier Kinder mit kardialen Fehlbildungen. Keine dieser Fehlbildungen legen ein erhöhtes Risiko für eine intrauterine Infektion/Inflammation oder für einen der drei Endpunkte nahe, jedoch kann ein möglicher Confounder nicht gänzlich ausgeschlossen werden.

Das Therapieregime sowie die Indikation zur Entbindung waren im Studienprotokoll nicht vorgegeben. Dieses Design entspricht vorangegangenen Arbeiten (Dorfeuille et al. 2016; Kacerovsky et al. 2015; Kunze et al. 2016; Musilova et al. 2016; Ryu et al. 2013). Im Unterschied zu den meisten dieser Studien erfolgte jedoch in der vorliegenden Arbeit keine Einzelmessung, sondern eine Verlaufsbestimmung bis zur Entbindung. Hierdurch gewinnt die Entbindungsindikation an Bedeutung. Die Betreuung der Patientinnen erfolgte jedoch auf der Basis der selben Leitlinien und vergleichbarer hausinterner Standards (DGGG 2010). Die Entbindungsindikation wurde entsprechend der Angaben der behandelnden Ärzte bzw. entsprechend der Dokumentation in den Patientenakten erfasst. Die Entbindungsindikation „Verdacht auf AIS“ stellt kein klar definiertes Kriterium dar, die Diagnose war uneinheitlich (Anstieg der maternalen Entzündungsparameter: n=6, Wehentätigkeit: n=2, Kombination aus Wehentätigkeit und steigenden Entzündungswerten: n=2, fetale und/oder maternale Tachykardie in Kombination mit steigenden Entzündungswerten und Wehentätigkeit: n=3, Diagnose nicht objektivierbar: n=2). Eine standardisierte Erfassung, insbesondere der klinischen Befunde, hätte die Möglichkeit gegeben die Testperformance der klinischen Diagnose „V.a. AIS“ bzw. „*suspected tripple I*“ mit den Studienparametern zu vergleichen.

Als Endpunkt der Studie wurde mit der „Inflammation“ ein Surrogatparameter aus histologischem Befund (HCA), Laborparameter beim Neugeborenen (NS-IL-6  $\geq 60$ pg/ml) und klinischer Diagnose (EONS) gebildet. Abgesehen vom letzteren Faktor handelt es

sich nicht um eine Diagnose von unmittelbarer klinischer Relevanz. Die deutlichen Unterschiede in der Dauer des ITS-Aufenthaltes und der Antibiotikatherapie zwischen Inflammations- und Kontrollgruppe sprechen jedoch für die Relevanz der verwendeten Zuordnungskriterien. Der Zusammenhang zwischen der histologischen Chorioamnionitis wie auch einer postnatalen IL-6-Erhöhung und einer verschlechterten kindlichen Prognose ist zudem gut belegt.

Die Diagnose der HCA korreliert nach frühem vorzeitigem Blasensprung mit der Rate neonataler Komplikationen (Kim et al. 2001; Kim et al. 2015; Soraisham et al. 2009). Hierbei zeigt sich auf der einen Seite eine höhere Rate an EONS und anderen Komplikationen. Andererseits war in einer großen retrospektiven Kohorte von frühgeborenen <30 voll. SSW die HCA-Rate der überlebenden Neugeborenen deutlich höher als die der verstorbenen. (Lahra and Jeffery 2004). Dies wird damit erklärt, dass eine intraamniotische Inflammation die fetale Cortisolproduktion steigert und somit die vorzeitige Surfactantbildung fördern könnte. In den meisten Studien ist die HCA-Rate indirekt proportional zum Schwangerschaftsalter (Shane et al. 2017). In diesem Zusammenhang wird die Möglichkeit einer physiologischen Gewebsreaktion, deren Rate mit steigendem Schwangerschaftsalter abnimmt, von einigen Autoren diskutiert (Conti et al. 2015). Unstrittig ist die HCA nach PPROM als Zeichen einer fortgeschrittenen Infektion. So korreliert beispielsweise die HCA mit der Bakterienlast nach PPROM (Fortner et al. 2014). Buschimi und Kollegen konnten in einer Studie an 132 Schwangeren die prädiktive Wertigkeit der histologischen Chorioamnionitis im Zusammenhang mit der intrauterinen Inflammation (definiert über den Nachweis von Entzündungsmarkern im Fruchtwasser) zur Vorhersage von erhöhten Interleukin-6 im Nabelschnurblut nachweisen (Buhimschi et al. 2009).

Die Bestimmung von Entzündungsparametern im Nabelschnurblut wurde ebenfalls in zahlreichen Studien betrachtet. Nabelschnurblut eignet sich zur postnatalen Risikostratifizierung, da seine Entnahme nach dem Zeitpunkt des Abnabelns keinen zusätzlichen Blutverlust für das Neugeborene darstellt. Präpartal stellt die Entnahmemethode per Cordozentese einen technisch herausfordernden und einen äußerst invasiven Prozess dar, weshalb sich nur wenige Studien mit auf diese Weise gewonnenem Nabelschnurblut als Medium zur Analyse beschäftigen. Die gängigen Leitlinien definieren einen Cut-off von 50-100pg/ml zum Screening für eine relevante bakterielle Infektion (Zemlin et al. 2019). In diesem Bereich befindet sich auch der hier verwendete Grenzwert.

Die Verwendung eines Surrogatparameters findet sich auch bei der Arbeit von Kunze und Kollegen (Kunze et al. 2016). In der betrachteten Kohorte liegt die EONS-Rate bei ca. 18% (n=7). Zumindest im Rahmen einer Pilotstudie lässt sich daher die Verwendung des Surrogatparameters aufgrund der niedrigen Anzahl der neonatalen Sepsisfälle rechtfertigen. Eine Gruppenverteilung von annähernd 50% findet sich auch in vergleichbaren Studien wie bei Kunze und Kollegen (Kunze et al. 2016). Die prädiktive Wertigkeit des Studienparameters bzgl. klinischer Parameter - wie der kindlichen Sepsis und anderer schwerer neonataler Komplikationen - muss in einer größer angelegten, auskömmlich finanzierten Folgestudie untersucht werden.

In der vorliegenden Studie erfolgte kein Keimnachweis im Fruchtwasser. Dies schränkt die Vergleichbarkeit mit Arbeiten ein, welche einen positiven Keimnachweis als Endpunkt verwenden (Jun et al. 2000; Kacerovsky et al. 2015; Musilova et al. 2017a; Ryu et al. 2013). Die intrauterine Infektion ist in der überwiegenden Anzahl der Fälle eine aufsteigende Infektion (Tchirikov et al. 2018). Die Besiedelung der Fruchthöhle mit Bakterien des unteren Genitaltraktes (*microbial invasion of the amniotic cavity* – MIAC) stellt nach diesem Verständnis den entscheidenden Zwischenschritt zwischen dem PPROM und der neonatalen Sepsis dar (Kim et al. 2015; Mercer 2005; Shah and Padbury 2014; Tchirikov et al. 2018). Diese Theorie wird von zahlreichen Erkenntnissen gestützt. So wiesen zum Beispiel Fortner und Kollegen den Zusammenhang zwischen Bakterienlast und histologischer Entzündungsreaktion sowie der Ausdünnung des Chorions nach PPROM nach (Fortner et al. 2014). Ebenso findet sich in mehreren Studien ein Zusammenhang zwischen einer MIAC und schlechtem kindlichen Outcome (Combs et al. 2014; Romero et al. 2015; Shim et al. 2004).

Die Bedeutung des Endpunktes MIAC ist jedoch zu hinterfragen. Problematisch ist die Möglichkeit von falsch negativen Befunden im Kulturnachweis, bedingt u.a. durch den regelhaften Einsatz von Antibiotika im betroffenen Patientenkollektiv und andererseits von möglichen positiven Befunden ohne klinisches Korrelat bei PCR-gestützten Methoden. Verschiedene Autoren verwendeten in ihren Studien unterschiedliche Nachweisverfahren, in der Regel einen Kulturnachweis von Bakterien und/oder PCR-Methoden jeweils in durch Amniozentese gewonnenem Fruchtwasser. In mehreren Studien finden sich bei Schwangerschaften mit hohen Konzentrationen an Inflammationsmarkern im Fruchtwasser vergleichbare Komplikationsraten unabhängig vom Keimnachweis (Combs et al. 2014; Kacerovsky et al. 2013; Romero et al. 2015; Shim et al. 2004; Stepan et al. 2016b). Auf Grund dieses Phänomens sprechen einige Autoren von der „sterilen Inflammation“ (Romero et al. 2015), ein Begriff, der vor allem mit Hinweis auf die zum Teil nicht unerhebliche Rate an falsch negativen Befunden von



anderen Autoren kritisiert wird (Cobo et al. 2017; Redline 2015). Neben der Frage nach falsch negativen Befunden im Kulturnachweis stellt sich die Frage nach der Relevanz von positiven Befunden durch äußerst sensitive Nachweismethoden: Fortner und Kollegen wiesen bakterielle 16s RNS in allen von ihnen untersuchten Eihautproben nach, auch bei jenen ohne Blasensprung und Wehentätigkeit (Fortner et al. 2014). Ebenso gelang Chen und Kollegen bei nicht schwangeren Frauen ohne infektiöse Erkrankung der Nachweis von bakterieller 16s RNS im gesamten weiblichen Genitaltrakt bis hin zum Douglas-Raum (Chen et al. 2017). Zum Nachweis einer MIAC ist eine Amniozentese erforderlich. Somit eignet sich dieser Endpunkt nur für ein Studiendesign mit einer einmaligen Bestimmung. In der vorliegenden Arbeit wurde der Verlauf des Studienparameters bis zur Entbindung betrachtet. Eine serielle Amniozentese wäre nicht praktikabel gewesen. Aus diesen Gründen wurde der intraamniotische Keimnachweis bewusst nicht als Endpunkt einbezogen. In einer Folgestudie mit größerer Fallzahl könnte der intrauterine Keimnachweis zum Entbindungszeitpunkt bei der Subgruppe mit Schnittentbindung im Studiendesign berücksichtigt werden.

Wie bereits erörtert wurde, stellt das Monitoring auf frühe Infektionszeichen nach PPROM ein ungelöstes Problem dar. Die Suche nach laborchemischen Prädiktoren für die fetale Infektion ist Gegenstand zahlreicher Arbeiten (Dulay et al. 2015; Higgins et al. 2016; Su et al. 2014). Herausforderungen bei dieser Suche sind die in den Kompartimenten (Mutter, Kind und Fruchthöhle) unabhängige Entwicklung einer Infektion, die Invasivität der Probengewinnung, die Eignung zur täglichen klinischen Routine und ihre Testgüte für die Vorhersage eines klinisch relevanten kindlichen Outcomes (Dulay et al. 2015). Es darf derzeit als wissenschaftlicher Konsens betrachtet werden, dass die mütterlichen Entzündungsparameter eine unzureichende Diagnostik darstellen und damit für die Entbindungsindikation ungeeignet sind (American College of Obstetricians and Gynecologists. 2016; Dulay et al. 2015; Higgins et al. 2016). In den deutschen Leitlinien wird die tägliche Bestimmung der mütterlichen CRP- und Leukozytenkonzentration zur laborchemischen Überwachung empfohlen, auch wenn diese Maßnahmen auf Grund der schlechten Vorhersagewerte von den Fachgesellschaften dezidiert kritisch bewertet werden (DGGG, OEGGG, SGGG 2019). Zu beachten ist außerdem, dass sich die in vielen Studien angegebenen Cut-off-Werte zur Diskriminierung einer intrauterinen Infektion teilweise im Normalbereich oder im Bereich einer unspezifischen Erhöhung bewegen (Stepan et al. 2016a; Su et al. 2014). Die vorliegenden Ergebnisse stehen im Einklang mit diesen Erkenntnissen: Es lässt sich kein Unterschied in der Leukozytenkonzentration zwischen den beiden Gruppen feststellen. Der Median der CRP- und IL-6-Konzentration der Inflammationsgruppe liegt

im Bereich einer unspezifischen Erhöhung (CRP 13,6mg/l; IL-6 9,7mg/l). Im Gegensatz dazu war die vaginale IL-6-Konzentration der Inflammationsgruppe im Median um den Faktor 10 erhöht (17085 vs. 1888 pg/ml).

Die Aussagekraft der IL-6-Konzentration im vaginalen Sekret ist jedoch dadurch limitiert, dass sowohl ihr Ursprung als auch die Auslöser für ihren Anstieg heterogen sind: Interleukine lassen sich auch bei intakten amnialen Membranen im Vaginalsekret in hohen Konzentrationen nachweisen (Combs et al. 2015; Harirah 2002; Holst et al. 2011; Jacobsson et al. 2003) und stehen auch mit der physiologischen Wehentätigkeit in Zusammenhang (Bowen et al. 2002). Die deutschsprachigen Leitlinien bezeichnen die derzeitige Studienlage als nicht ausreichend um die Bestimmung der vaginalen Inflammationsparameter zu empfehlen (DGGG, OEGGG, SGGG 2019). Eine größere prospektive Studie könnte diese Erkenntnislücke schließen.

Neben dem Interleukin-6 gibt es noch zahlreiche andere Laborparameter, die zur Vorhersage einer intrauterinen Infektion in Frage kämen. So finden sich beispielsweise TNF- $\alpha$ , MMP-8 und IL-8 als Parameter in anderen Arbeiten (Dorfeuille et al. 2016; Kunze et al. 2016; Oh et al. 2020; Park et al. 2013; Ryu et al. 2013). In der vorliegenden Pilotstudie wurde IL-6 als Parameter ausgewählt, weil es, neben den oben genannten Vorteil der ubiquitären Synthese, im Routinelaborbetrieb bestimmt werden kann und kosteneffektiv ist. Des Weiteren stellte sich für IL-6, wie oben aufgeführt, im Vergleich mit anderen Parametern eine gute Testperformance zur Vorhersage einer intraamnialen Keimbesiedelung dar. In einer größer angelegten, Drittmittel-finanzierten Studie wäre jedoch die Betrachtung weiterer vielversprechender Laborparameter sinnvoll.

Im Vergleich mit den gängigen Routineparametern CRP<sub>mat</sub>, WBC<sub>mat</sub> und IL-6<sub>mat</sub> stellt sich die Testgüte des Studienparameters IL-6<sub>vag</sub> mit einer ROC-AUC von 0,78 gut dar. Bei der letzten Messung vor Entbindung weist IL-6<sub>vag</sub> bei einem Cut-off von 2600pg/ml die beste Sensitivität auf. Bei einem Cut-off-Wert von 11000pg/ml zeigt sich eine zumindest akzeptable Spezifität. Der Vergleich der Testgütekriterien der Grenzwerte 1145pg/ml, 6416,5pg/ml und 32855 pg/ml mit den maternalen Serumparametern ist nicht zulässig, da es sich um Grenzwerte handelt, welche zuvor anhand der Messwerte derselben Kohorte festgelegt wurden. Die Berechnung dieser Werte erfolgte daher rein explorativ. In einer Folgestudie könnten aber diese Grenzwerte als mögliche Rule-out und Rule-in Grenzwerte an einer anderen Kohorte überprüft werden. So könnte als Arbeitshypothese eine vaginale IL-6-Konzentration unter 1145pg/ml eine Inflammation ausschließen, ein überschreiten von 32855pg/ml eine Entbindungsindikation darstellen. Für den Bereich

zwischen beiden Grenzwerten kämen ergänzende Methoden wie eine Amniozentese in Frage.

Bei der Betrachtung der ROC der Messwerte der letzten beiden Tage vor Entbindung fällt ein erheblicher Vorteil des Studienparameters im Vergleich zu den Routineparametern auf. Die vaginale IL-6-Konzentration lässt bereits mehr als 24h vor Entbindung eine suffiziente Unterscheidung zwischen den beiden Gruppen zu (vgl. Tabellen 9-11). Sollten sich diese Ergebnisse in einer größer angelegten Folgestudie bestätigen, bestünde die Möglichkeit, anhand des vaginalen IL-6 eine drohende intrauterine Inflammation frühzeitig zu erkennen und durch eine rechtzeitige Entbindung das neonatale Outcome zu verbessern. Um diese These zu prüfen, bedürfte es allerdings einer prospektiven Interventionsstudie mit relevantem neonatalen Outcome als Endpunkt.

Die Probenentnahme ließ sich gut in den Klinikablauf integrieren. Bei keinem der Fälle kam es zu schweren Komplikationen. In zwei Fällen führten vorübergehende vaginale Missempfindung zu einem Zurückziehen der Einwilligung. In diesem Punkt besteht Optimierungsbedarf. In der Analyse aller am UKH durchgeführten Probenentnahmen ist in 86% der Proben die Gewinnung einer ausreichenden Probenmenge festzustellen. Andere Studien weisen eine höhere Erfolgsrate auf. Ryu und Kollegen verwendeten Abstriche zur Probengewinnung und berichteten von einer ausreichenden Probengewinnung in 90,5% (76/84) der Fälle (Ryu et al. 2013). Jacobsson und Kollegen berichten bei einem ähnlichen Verfahren bei Schwangeren ohne PPROM von einer erfolgreichen Materialgewinnung in 85% (17/20) der Fälle (Jacobsson et al. 2005). Dorfeuille gewann vaginale Flüssigkeit durch Aspiration im Rahmen der gynäkologischen Untersuchung und war in 93% (25/27) der Fälle erfolgreich (Dorfeuille et al. 2016). Musilova erreichte eine Erfolgsrate von 92% (141/153) (Musilova et al. 2016). Zu beachten ist, dass in der vorliegenden Untersuchung nur zwei Fälle wegen nicht erfolgreicher Messung vor Entbindung von der Endauswertung ausgeschlossen werden mussten. Im Rahmen der Studie nicht erhoben wurde das Probenvolumen der einzelnen Messungen. Im Laborprotokoll war die Bestimmung der IL-6-Konzentration und bei Überschreiten des Messbereiches > 5000 pg/ml eine 1:10 Verdünnung des Materials vorgesehen. Eine Änderung des Protokolls mit einer initialen Verdünnung des Materials würde auch bei geringem Probenvolumen eine erfolgreiche Messung gewährleisten. Des Weiteren wäre ein direkter Vergleich der Entnahmeverfahren (Abstrich-, Aspirationsentnahme und das hier beschriebene Verfahren) am selben Patientenkollektiv von wissenschaftlichem Interesse, um eine Vergleichbarkeit der Erfolgsraten der Verfahren herzustellen.

Die Methode zur Probengewinnung erfordert die wiederholte Einlage eines sterilisierten biokompatiblen Kunstfaserschwamms in das untere Scheidendrittel. Dabei handelt es sich prinzipiell um eine vaginale Manipulation. Eine Erhöhung des Infektionsrisikos kann nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Jedoch handelt es sich um ein Ausmaß von Invasivität, welches mit normaler Intimhygiene vergleichbar erscheint und sich deutlich geringer darstellt als im Rahmen von Methoden, welche in anderen Arbeiten zur Anwendung kamen (Lee et al. 2015). Darüber hinaus sprechen die erhobenen Daten eher gegen ein erhöhtes Infektionsrisiko: Die Rate von Neugeborenen mit klinischen Sepsiszeichen betrug 18,9% (n=7) und ist somit vergleichbar mit jener anderer Kollektive. In einer retrospektiven Datenanalyse von Drassionwer und Kollegen wurde bei 182 von insg. 1305 Fällen (13,94%) eine neonatale Sepsis beschrieben (Drassinower et al. 2015). Hanke und Kollegen beobachteten klinische Sepsiszeichen bei 36,1% der Frühgeborenen nach PPROM (Hanke et al. 2015). In einer Metaanalyse von Chan et al. kommen in Studien mit PPROM-Kollektiven klinische Sepsiszeichen in über 30% der Fälle vor (Chan et al. 2015). Die aktuellen amerikanischen Leitlinien schätzen die Häufigkeit einer postnatalen Infektion nach PPROM auf 15-25% (American College of Obstetricians and Gynecologists 2020).

Die deutliche Korrelation zwischen den vaginal bestimmten Parametern mit dem im per Amniozentese gewonnenen Material stellt einen bemerkenswerten Nebenbefund dar. In anderen Arbeiten, bei denen die IL-6-Konzentration mit der Konzentration im AC-Fruchtwasser verglichen wurde, ergab sich keine (Holmström et al. 2018) oder nur eine schwache Korrelation (Musilova et al. 2017a), in anderen wiederum eine deutliche Korrelation (Musilova et al. 2016). Holst und Kollegen konnten bei Schwangeren mit intakten Membranen eine Korrelation zwischen vaginaler und intraamnialer IL-6-Konzentration nachweisen (Holst et al. 2005). Ein Vergleich der AFP-Konzentration in beiden Medien nach PPROM ist bislang nur in der Arbeit von Lee und Kollegen erfolgt (Lee et al. 2015). Auch hier korrelierten beide Messungen. Das vorliegende Ergebnis muss vor allem in Hinblick auf die sehr geringe Fallzahl zurückhaltend betrachtet werden und bedarf einer Überprüfung an größeren Kohorten.

Die vorliegende Arbeit ist in ihrem Design, der Fallzahl und den Ergebnissen als Pilotstudie mit vielversprechenden Ergebnissen zu werten. Eine serielle Bestimmung vaginaler Entzündungsparameter bis zur Entbindung erscheint möglich. Es bedarf einer Folgestudie, um aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit belastbare Erkenntnisse zu generieren. In einer solchen Folgestudie müsste eine wesentlich größere Fallzahl eingeschlossen werden. Durch eine ausreichende Finanzierung und dadurch mögliche Logistik könnte die Drop-out Rate deutlich gesenkt und die Datenqualität verbessert

werden. Des Weiteren wäre eine Überprüfung anderer Parameter wie MMP-8 und IL-8 möglich. Eine größere Fallzahl würde eine separate Analyse der einzelnen Endpunkte des Surrogatparameter ermöglichen (insbesondere der EONS sowie der kindlichen Mortalität). Eine Untersuchung des Langzeitoutcomes wäre ein weiterer wichtiger Aspekt. Klinische Verlaufparameter, insbesondere die klinischen Anzeichen für eine intrauterine Infektion/Inflammation müssten exakter im Studienprotokoll erfasst werden, als dies bei der vorliegenden Arbeit erfolgte. Das neuartige Verfahren weist insbesondere bezüglich der Gewinnung eines ausreichenden Probevolumens Verbesserungspotential auf. Neben der Modifikation des verwendeten Kunstfaserschwammes könnte eine Veränderung im präanalytischen Procedere wie die generelle standardisierte Verdünnung des Probevolumens vor der Messung die Erfolgsrate verbessern. Bei einer umfangreicheren Rekrutierung gäbe es eine größere Anzahl von unabhängig indizierten Amniozentesen. Die Korrelation zwischen vaginalen und durch Amniozentese gewonnenen Proben sowie die Korrelation zwischen vaginalen Parametern und intrauteriner Infektion könnte bei dieser Subgruppe analysiert werden.

Da es sich bei den beschriebenen Verfahren um eine neuartige Methodik handelt, muss selbstverständlich auch in einer größer angelegten Folgestudie das Monitoring auf mögliche Nebeneffekte des Verfahrens fester Bestandteil des Studiendesigns sein. Eine systematische Erfassung von *adverse events* sowie die Überprüfung der Sepsisrate in der Studienkohorte und ein Vergleich mit ähnlichen Kollektiven müsste ebenfalls erfolgen. Die aktuellen Leitlinien beschreiben eine mangelnde Evidenz zur Beurteilung der vaginalen Entzündungsparameter nach PPROM. Eine groß angelegte Folgestudie könnte diese Erkenntnislücke schließen. Sollte die beschriebene Folgestudie die in dieser Arbeit generierten Hypothesen bestätigen, so könnte eine Interventionsstudie mit einem Studienarm mit durchgeführter bzw. entblindeter Bestimmung vaginaler Entzündungsparameter den Einfluss der Diagnostik auf das neonatale Outcome überprüfen.

## 6 Zusammenfassung

Beim frühen vorzeitigen Blasensprung (PPROM) ist die Definition des idealen Entbindungszeitpunktes ein noch ungelöstes Problem. Ein wesentlicher Grund hierfür sind die insuffizienten Möglichkeiten für ein fetomaternales Monitoring auf Infektionszeichen und die damit verbundene die eingeschränkte Risikostratifizierung.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde ein Verfahren zur Probengewinnung entwickelt. Mit diesem neuartigen Verfahren gelang erstmals die tägliche Bestimmung der Interleukin-6-Konzentration im Vaginalsekret nach frühem vorzeitigem Blasensprung bis zur Entbindung. Es stellt sich bei Schwangerschaften mit Inflammationszeichen (histologische Chorioamnionitis, Erhöhung der IL-6-Konzentration im Nabelschnurblut, EONS) eine deutlich höhere vaginale Interleukin-6-Konzentration dar als bei den unauffälligen Kontrollen. Dieser Unterschied ist im zeitlichen Verlauf bereits mehr als 24h vor der Entbindung festzustellen. In diesem Punkt unterschied sich der Studienparameter IL-6<sub>vag</sub> von den maternalen Inflammationsparametern, welche keinen Unterschied (maternale Leukozytenzahlen) oder einen solchen erst in der letzten Messung vor Entbindung (CRP und IL-6) aufweisen. Die ROC-AUC von >0,7 weist auf eine Eignung des Studienparameters als Test zur Vorhersage der intraamnialen Inflammation hin. Mit Hilfe des Youden-Index wurde ein Cut-off-Wert von 6416,5 pg/ml festgelegt. Dieser zeigte eine Sensitivität von 65% und eine Spezifität von 76,5%. Ein Rule-out-Wert mit einer Sensitivität von 95% wurde mit 1145pg/ml, ein Rule-in-Wert mit einer Spezifität von annähernd 95% mit 32855pg/ml definiert.

Die Aussage dieser Arbeit wird vor allem durch die kleine Fallzahl eingeschränkt. Darüber hinaus handelt es sich bei dem als Endpunkt verwendeten Surrogatparameter „Inflammation“ nur zum Teil um eine klinisch relevante Diagnose. Es bedarf größerer Folgestudien um die in dieser Arbeit generierten Hypothesen, insbesondere im Hinblick auf kurz- und langfristig relevantes kindliches Outcome zu überprüfen. Sollten sich die hier dargestellten Ergebnisse bei einem größeren Kollektiv bestätigen, so könnte die tägliche Bestimmung des vaginalen Interleukin-6 eine bessere Erkennung einer fetalen Infektion ermöglichen. Es ließe sich eine zu frühe Entbindung eines unauffälligen Kindes und eine zu späte Entbindung bei drohender Infektion vermeiden. Somit könnte eine Verbesserung des kindlichen Outcomes nach frühem vorzeitigem Blasensprung erreicht werden.

## Literaturverzeichnis

- American College of Obstetricians and Gynecologists (2017) Committee Opinion No. 712: Intrapartum Management of Intraamniotic Infection. *Obstet Gynecol* 130:e95-e101. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000002236>
- American College of Obstetricians and Gynecologists (2020) Prelabor Rupture of Membranes: ACOG Practice Bulletin, Number 217. *Obstet Gynecol* 135:e80-e97. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000003700>
- American College of Obstetricians and Gynecologists. (2016) Practice Bulletin No. 172: Premature Rupture of Membranes. *Obstet Gynecol* 128:e165-77. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000001712>
- Arora P, Bagga R, Kalra J, Kumar P, Radhika S, Gautam V (2014) Mean gestation at delivery and histological chorioamnionitis correlates with early-onset neonatal sepsis following expectant management in pPROM. *Journal of Obstetrics and Gynaecology* 35:235–240. <https://doi.org/10.3109/01443615.2014.958143>
- Bond DM, Middleton P, Levett KM, van der Ham DP, Crowther CA, Buchanan SL, Morris J (2017) 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* 3:CD004735. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004735.pub4>
- Bowen JM, Chamley L, Keelan JA, Mitchell MD (2002) Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: roles and regulation during human pregnancy and parturition. *Placenta* 23:257–273. <https://doi.org/10.1053/plac.2001.0782>
- Buhimschi CS, Dulay AT, Abdel-Razeq S, Zhao G, Lee S, Hodgson EJ, Bhandari V, Buhimschi IA (2009) Fetal inflammatory response in women with proteomic biomarkers characteristic of intra-amniotic inflammation and preterm birth. *BJOG* 116:257–267. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2008.01925.x>
- Chan GJ, Lee A, Baqui AH, Tan J, Black RE (2015) Prevalence of early-onset neonatal infection among newborns of mothers with bacterial infection or colonization: A systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis* 15:118. <https://doi.org/10.1186/s12879-015-0813-3>
- Chen C, Song X, Wei W, Zhong H, Dai J, Lan Z, Li F, Yu X, Feng Q, Wang Z, Xie H, Chen X, Zeng C, Wen B, Zeng L, Du H, Tang H, Xu C, Xia Y, Xia H, Yang H, Wang J, Wang J, Madsen L, Brix S, Kristiansen K, Xu X, Li J, Wu R, Jia H (2017) The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nat Commun* 8:875. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00901-0>
- Chen H-Y, Chauhan SP (2019) Risk of Neonatal and Infant Mortality in Twins and Singletons by Gestational Age. *Am J Perinatol* 36:798–805. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1675218>
- Chiesa C, Panero A, Osborn JF, Simonetti AF, Pacifico L (2004) Diagnosis of neonatal sepsis: a clinical and laboratory challenge. *Clin Chem* 50:279–287. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2003.025171>

- Chiesa C, Pacifico L, Natale F, Hofer N, Osborn JF, Resch B (2015) Fetal and early neonatal interleukin-6 response. *Cytokine* 76:1–12.  
<https://doi.org/10.1016/j.cyto.2015.03.015>
- Cobo T, Kacerovsky M, Jacobsson B (2017) Noninvasive Sampling of the Intrauterine Environment in Women with Preterm Labor and Intact Membranes. *Fetal Diagn Ther*. <https://doi.org/10.1159/000480232>
- Combs CA, Gravett M, Garite TJ, Hickok DE, Lapidus J, Porreco R, Rael J, Grove T, Morgan TK, Clewell W, Miller H, Luthy D, Pereira L, Nageotte M, Robilio PA, Fortunato S, Simhan H, Baxter JK, Amon E, Franco A, Trofatter K, Heyborne K (2014) Amniotic fluid infection, inflammation, and colonization in preterm labor with intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 210:125.e1-125.e15. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2013.11.032>
- Combs CA, Garite TJ, Lapidus JA, Lapointe JP, Gravett M, Rael J, Amon E, Baxter JK, Brady K, Clewell W, Eddleman KA, Fortunato S, Franco A, Haas DM, Heyborne K, Hickok DE, How HY, Luthy D, Miller H, Nageotte M, Pereira L, Porreco R, Robilio PA, Simhan H, Sullivan SA, Trofatter K, Westover T (2015) Detection of microbial invasion of the amniotic cavity by analysis of cervicovaginal proteins in women with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 212:482.e1-482.e12.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.02.007>
- Conti N, Torricelli M, Voltolini C, Vannuccini S, Clifton VL, Bloise E, Petraglia F (2015) Term histologic chorioamnionitis: a heterogeneous condition. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 188:34–38.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2015.02.034>
- DGGG (2010) Vorgehen beim vorzeitigen Blasensprung: AWMF 015/029 (S1). [https://www.dggg.de/fileadmin/documents/leitlinien/archiviert/federfuehrend/015029\\_Empfehlungen\\_zum\\_Vorgehen\\_beim\\_vorzeitigen\\_Blasensprung/015029\\_2010.pdf](https://www.dggg.de/fileadmin/documents/leitlinien/archiviert/federfuehrend/015029_Empfehlungen_zum_Vorgehen_beim_vorzeitigen_Blasensprung/015029_2010.pdf)
- DGGG, OEGGG, SGGG (2019) Prevention and therapy of preterm labour. Guideline of the DGGG, OEGGG and SGGG: (S2k-Level, AWMF Registry No. 015/025, February 2019). <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/015-025.html>
- Dorfeuille N, Morin V, Tetu A, Demers S, Laforest G, Gouin K, Piedboeuf B, Bujold E (2016) Vaginal Fluid Inflammatory Biomarkers and the Risk of Adverse Neonatal Outcomes in Women with PPRM. *Am J Perinatol* 33:1003–1007. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1582130>
- Drassinower D, Friedman AM, Običan SG, Levin H, Gyamfi-Bannerman C (2015) Prolonged latency of preterm premature rupture of membranes and risk of neonatal sepsis. *Am J Obstet Gynecol*.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.12.031>
- Drassinower D, Friedman AM, Obican SG, Levin H, Gyamfi-Bannerman C (2016) Prolonged latency of preterm prelabour rupture of membranes and neurodevelopmental outcomes: a secondary analysis. *BJOG* 123:1629–1635. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.14133>
- Dudley DJ, Trautman MS, Araneo BA, Edwin SS, Mitchell MD (1992) Decidual cell biosynthesis of interleukin-6: Regulation by inflammatory cytokines. *J*



- Clin Endocrinol Metab 74:884–889.  
<https://doi.org/10.1210/jcem.74.4.1548355>
- Dulay AT, Buhimschi IA, Zhao G, Bahtiyar MO, Thung SF, Cackovic M, Buhimschi CS (2015) Compartmentalization of acute phase reactants Interleukin-6, C-Reactive Protein and Procalcitonin as biomarkers of intra-amniotic infection and chorioamnionitis. *Cytokine* 76:236–243.  
<https://doi.org/10.1016/j.cyto.2015.04.014>
- Dutton FL, Taber EB, Wood GC, Maslow AS (2005) Review of Maternal Serum C-Reactive Protein as a Marker of Infection/Inflammation in PPRM. *Obstetrics & Gynecology* 105:83S.  
<https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000153509.19172.cd>
- Feist H, Kaisenberg C von, Hussein K (2017) Pathologisch-anatomische und klinische Aspekte der Plazenta bei Frühgeburt (Pathoanatomical and clinical aspects of the placenta in preterm birth). *Pathologe* 38:248–259.  
<https://doi.org/10.1007/s00292-016-0156-x>
- Fortner KB, Grotegut CA, Ransom CE, Bentley RC, Feng L, Lan L, Heine RP, Seed PC, Murtha AP (2014) Bacteria localization and chorion thinning among preterm premature rupture of membranes. *PLoS ONE* 9:e83338.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083338>
- Furman B, Shoham-Vardi I, Bashiri A, Erez O, Mazor M (2000) Clinical significance and outcome of preterm prelabor rupture of membranes: Population-based study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 92:209–216
- Gibbs RS, Duff P (1991) Progress in pathogenesis and management of clinical intraamniotic infection. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 164:1317–1326. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(91\)90707-x](https://doi.org/10.1016/0002-9378(91)90707-x)
- Gingelmaier A, Genzel-Boroviczény O (2013) Amnioninfektionssyndrom. In: Friese K, Mylonas I, Schulze A (eds) *Infektionserkrankungen der Schwangeren und des Neugeborenen*, 3rd edn. Springer, Wien, pp 595–602
- Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R (2008) Epidemiology and causes of preterm birth. *The Lancet*, 371(9606), 75-84.  
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60074-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60074-4)
- Gressner AM, Gressner O. A. (2017) Interleukin-6. In: Gressner AM, Arndt T (eds) *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. Springer, Berlin, Heidelberg
- Gröschl M, Rauh M (2006) Influence of commercial collection devices for saliva on the reliability of salivary steroids analysis. *Steroids* 71:1097–1100.  
<https://doi.org/10.1016/j.steroids.2006.09.007>
- Gulati S, Bhatnagar S, Raghunandan C, Bhattacharjee J (2012) Interleukin-6 as a predictor of subclinical chorioamnionitis in preterm premature rupture of membranes. *Am J Reprod Immunol* 67:235–240.  
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2011.01084.x>
- Hanke K, Hartz A, Manz M, Bendiks M, Heitmann F, Orlikowsky T, Müller A, Olbertz D, Kühn T, Siegel J, Wense A von der, Wieg C, Kribs A, Stein A, Pagel J, Herting E, Göpel W, Härtel C (2015) Preterm prelabor rupture of membranes and outcome of very-low-birth-weight infants in the German

- Neonatal Network. PLoS ONE 10:e0122564.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122564>
- Harirah H (2002) Amniotic fluid matrix metalloproteinase-9 and interleukin-6 in predicting intra-amniotic infection. *Obstetrics & Gynecology* 99:80–84.  
[https://doi.org/10.1016/S0029-7844\(01\)01632-5](https://doi.org/10.1016/S0029-7844(01)01632-5)
- Higgins RD, Saade G, Polin RA, Grobman WA, Buhimschi IA, Watterberg K, Silver RM, Raju TNK (2016) Evaluation and Management of Women and Newborns With a Maternal Diagnosis of Chorioamnionitis: Summary of a Workshop. *Obstet Gynecol* 127:426–436.  
<https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000001246>
- Holmström E, Myntti T, Sorsa T, Kruit H, Juhila J, Paavonen J, Rahkonen L, Stefanovic V (2018) Cervical and Amniotic Fluid Matrix Metalloproteinase-8 and Interleukin-6 Concentrations in Preterm Pregnancies with or without Preterm Premature Rupture of Membranes. *Fetal Diagn Ther*:1–8.  
<https://doi.org/10.1159/000493207>
- Holst R-M, Mattsby-Baltzer I, Wennerholm U-B, Hagberg H, Jacobsson B (2005) 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 Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 84:551–557.  
<https://doi.org/10.1111/j.0001-6349.2005.00708.x>
- Holst R-M, Hagberg H, Wennerholm U-B, Skogstrand K, Thorsen P, Jacobsson B (2011) Prediction of microbial invasion of the amniotic cavity in women with preterm labour: Analysis of multiple proteins in amniotic and cervical fluids. *BJOG* 118:240–249. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2010.02765.x>
- Hunter CA, Jones SA (2015) IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nat Immunol* 16:448–457. <https://doi.org/10.1038/ni.3153>.
- IQTIG (2018) Bundesauswertung zum Erfassungsjahr 2017: Geburtshilfliche Qualitätsindikatoren
- Jacobsson B, Mattsby-Baltzer I, Andersch B, Bokstrom H, Holst R-M, Nikolaitchouk N, Wennerholm U-B, Hagberg H (2003) Microbial invasion and cytokine response in amniotic fluid in a Swedish population of women with preterm prelabor rupture of membranes. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 82:423–431. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0412.2003.00157.x>
- Jacobsson B, Mattsby-Baltzer I, Hagberg H (2005) Interleukin-6 and interleukin-8 in cervical and amniotic fluid: Relationship to microbial invasion of the chorioamniotic membranes. *BJOG* 112:719–724.  
<https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2005.00536.x>
- Jun JK, Yoon BH, Romero R, Kim M, Moon JB, Ki SH, Park JS (2000) Interleukin 6 determinations in cervical fluid have diagnostic and prognostic value in preterm premature rupture of membranes. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 183:868–873.  
<https://doi.org/10.1067/mob.2000.109034>
- Kacerovsky M, Cobo T, Andrys C, Musilova I, Drahosova M, Hornychova H, Janku P, Jacobsson B (2013) The fetal inflammatory response in subgroups

- of women with preterm prelabor rupture of the membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med* 26:795–801. <https://doi.org/10.3109/14767058.2013.765404>
- Kacerovsky M, Musilova I, Hornychova H, Kutova R, Pliskova L, Kostal M, Jacobsson B (2014) Bedside assessment of amniotic fluid interleukin-6 in preterm prelabor rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 211:385.e1-9. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2014.03.069>
- Kacerovsky M, Musilova I, Jacobsson B, Drahosova M, Hornychova H, Janku P, Prochazka M, Simetka O, Andrys C (2015) Cervical fluid IL-6 and IL-8 levels in pregnancies complicated by preterm prelabor rupture of membranes. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 28:134–140. <https://doi.org/10.3109/14767058.2014.908179>
- Khong TY, Mooney EE, Ariel I, Balmus NCM, Boyd TK, Brundler M-A, Derricott H, Evans MJ, Faye-Petersen OM, Gillan JE, Heazell AEP, Heller DS, Jacques SM, Keating S, Kelehan P, Maes A, McKay EM, Morgan TK, Nikkels PGJ, Parks WT, Redline RW, Scheimberg I, Schoots MH, Sebire NJ, Timmer A, Turowski G, van der Voorn, J Patrick, van Lijnschoten I, Gordijn SJ (2016) Sampling and Definitions of Placental Lesions: Amsterdam Placental Workshop Group Consensus Statement. *Arch Pathol Lab Med*. <https://doi.org/10.5858/arpa.2015-0225-CC>
- Kim CJ, Yoon BH, Romero R, Moon JB, Kim M, Park SS, Chi JG (2001) Umbilical arteritis and phlebitis mark different stages of the fetal inflammatory response. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 185:496–500. <https://doi.org/10.1067/mob.2001.116689>
- Kim CJ, Romero R, Chaemsaitong P, Chaiyasit N, Yoon BH, Kim YM (2015) Acute chorioamnionitis and funisitis: definition, pathologic features, and clinical significance. *Am J Obstet Gynecol* 213:52. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.08.040>
- Kramer B, Garnier Y (2007) Chorioamnionitis - Eine inflammatorische Multiorganerkrankung des Fetus? *Geburtsh Frauenheilk* 67:602–610. <https://doi.org/10.1055/s-2007-965051>
- Kumar D, Moore JJ, Moore RM, Mercer BM, Mansour JM, Redline RW (2016) The physiology of fetal membrane weakening and rupture: Insights gained from the determination of physical properties revisited. *Placenta* 42 (2016):59–73. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2016.03.015>
- Kunze M, Klar M, Morfeld CA, Thorns B, Schild RL, Markfeld-Erol F, Rasenack R, Proempeler H, Hentschel R, Schaefer WR (2016) Cytokines in noninvasively obtained amniotic fluid as predictors of fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.01.181>
- La Roche Ltd Elecsys® IL-6. <https://diagnostics.roche.com/ch/de/products/params/elecsys-il-6.html>. Accessed 4 July 2019
- Lahra MM, Jeffery HE (2004) A fetal response to chorioamnionitis is associated with early survival after preterm birth. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 190:147–151. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2003.07.012>
- Lee SM, Romero R, Park JS, Chaemsaitong P, Jun JK, Yoon BH (2015) A transcervical amniotic fluid collector: a new medical device for the

- assessment of amniotic fluid in patients with ruptured membranes. *J Perinat Med* 43:381–389. <https://doi.org/10.1515/jpm-2014-0276>
- Liu L, Johnson HL, Cousens S, Perin J, Scott S, Lawn JE, Rudan I, Campbell H, Cibulskis R, Li M, Mathers C, Black RE (2012) Global, regional, and national causes of child mortality: An updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000. *The Lancet* 379:2151–2161. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60560-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60560-1)
- Liu L, Oza S, Hogan D, Perin J, Rudan I, Lawn JE, Cousens S, Mathers C, Black RE (2015) Global, regional, and national causes of child mortality in 2000–13, with projections to inform post-2015 priorities: An updated systematic analysis. *The Lancet* 385:430–440. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61698-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61698-6)
- Liu L, Oza S, Hogan D, Chu Y, Perin J, Zhu J, Lawn JE, Cousens S, Mathers C, Black RE (2016) Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000–15: An updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals. *The Lancet* 388:3027–3035. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31593-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31593-8)
- Lockwood CJ, Murk WK, Kayisli UA, Buchwalder LF, Huang SJ, Arcuri F, Li M, Gopinath A, Schatz F (2010) Regulation of interleukin-6 expression in human decidual cells and its potential role in chorioamnionitis. *Am J Pathol* 177:1755–1764. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2010.090781>
- Lui K, Lee SK, Kusuda S, Adams M, Vento M, Reichman B, Darlow BA, Lehtonen L, Modi N, Norman M, Håkansson S, Bassler D, Rusconi F, Lodha A, Yang J, Shah PS (2019) Trends in Outcomes for Neonates Born Very Preterm and Very Low Birth Weight in 11 High-Income Countries. *J Pediatr* 215:32-40.e14. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2019.08.020>
- Maki Y, Furukawa S, Nakayama T, Oohashi M, Shiiba N, Furuta K, Tokunaga S, Sameshima H (2020) Clinical chorioamnionitis criteria are not sufficient for predicting intra-amniotic infection. *J Matern Fetal Neonatal Med*:1–6. <https://doi.org/10.1080/14767058.2020.1711725>
- Menon R, Richardson LS (2017) Preterm prelabor rupture of the membranes: A disease of the fetal membranes. *Seminars in Perinatology* 41:409–419. <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2017.07.012>
- Mercer B (2003) Preterm premature rupture of the membranes. *Obstetrics & Gynecology* 101:178–193. [https://doi.org/10.1016/S0029-7844\(02\)02366-9](https://doi.org/10.1016/S0029-7844(02)02366-9)
- Mercer BM (2005) Preterm premature rupture of the membranes: Current approaches to evaluation and management. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America* 32:411–428. <https://doi.org/10.1016/j.ogc.2005.03.003>
- Mercer BM, Goldenberg RL, Meis PJ, Moawad AH, Shellhaas C, Das A, Menard MK, Caritis SN, Thurnau GR, Dombrowski MP, Miodovnik M, Roberts J, McNellis D (2000) The Preterm Prediction Study: Prediction of preterm premature rupture of membranes through clinical findings and ancillary testing - The combination of short cervical length, history of preterm birth, and a positive result of fetal fibronectin testing is highly associated with preterm delivery after preterm premature rupture of membranes. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 183:738–745

- Moutquin J-M (2003) Classification and heterogeneity of preterm birth. *BJOG* 110 Suppl 20:30–33
- Musilova I, Bestvina T, Hudeckova M, Michalec I, Cobo T, Jacobsson B, Kacerovsky M (2016) Vaginal fluid interleukin-6 concentrations as a point-of-care test is of value in women with preterm prelabor rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 215:619.e1-619.e12. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.07.001>
- Musilova I, Andrys C, Drahosova M, Soucek O, Pliskova L, Jacobsson B, Kacerovsky M (2017a) Cervical fluid interleukin 6 and intra-amniotic complications of preterm prelabor rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med* 31:827–836. <https://doi.org/10.1080/14767058.2017.1297792>
- Musilova I, Pliskova L, Gerychova R, Janku P, Simecka O, Matlak P, Jacobsson B, Kacerovsky M (2017b) 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* 12:e0189394. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189394>
- Newton ER (1993) Chorioamnionitis and intraamniotic infection. *Clin Obstet Gynecol* 36:795–808
- NRZ für Surveillance von nosokomialen Infektionen (2016) Surveillance von nosokomialen Infektionen, multiresistenten Erregern und Antibiotika-Anwendungen bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht unter 1.500g: Protokoll
- Ofman G, Vasco N, Cantey JB (2016) Risk of Early-Onset Sepsis following Preterm, Prolonged Rupture of Membranes with or without Chorioamnionitis. *Am J Perinatol* 33:339–342. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1556758>
- Oh KJ, Lee J, Romero R, Park HS, Hong J-S, Yoon BH (2020) A new rapid bedside test to diagnose and monitor intraamniotic inflammation in preterm PROM using transcervically collected fluid. *Am J Obstet Gynecol* 223:423.e1-423.e15. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.02.037>
- Ona S, Easter, SR, Prabhu M, Wilkie G, Tuomala RE, Le Riley, Diouf K (2019) Diagnostic Validity of the Proposed Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Criteria for Intrauterine Inflammation or Infection. *Obstet Gynecol* 133. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000003008>
- Park JW, Park KH, Lee SY (2013) Noninvasive prediction of intra-amniotic infection and/or inflammation in women with preterm labor: Various cytokines in cervicovaginal fluid. *Reprod Sci* 20:262–268. <https://doi.org/10.1177/1933719112451794>
- Platt MJ (2014) Outcomes in preterm infants. *Public Health* 128:399–403. <https://doi.org/10.1016/j.puhe.2014.03.010>
- Ramsey PS, Lieman JM, Brumfield CG, Carlo W (2005) Chorioamnionitis increases neonatal morbidity in pregnancies complicated by preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 192:1162–1166. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2004.11.035>

- Redline RW (2012) Inflammatory response in acute chorioamnionitis. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* 17:20–25.  
<https://doi.org/10.1016/j.siny.2011.08.003>
- Redline RW (2015) The clinical implications of placental diagnoses. *Seminars in Perinatology* 39:2–8. <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2014.10.002>
- Redline RW, Faye-Petersen O, Heller D, Qureshi F, van Savell, Vogler C (2003) Amniotic Infection Syndrome: Nosology and Reproducibility of Placental Reaction Patterns. *Pediatric and Developmental Pathology* 6:435–448.  
<https://doi.org/10.1007/s10024-003-7070-y>
- Resch B, Gusenleitner W, Müller WD (2003) Procalcitonin and interleukin-6 in the diagnosis of early-onset sepsis of the neonate. *Acta Paediatrica* 92:243–245. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2003.tb00534.x>
- Roberts CL, Wagland P, Torvaldsen S, Bowen JR, Bentley JP, Morris JM (2017) Childhood outcomes following preterm prelabor rupture of the membranes (PPROM): a population-based record linkage cohort study. *J Perinatol* 37:1230–1235. <https://doi.org/10.1038/jp.2017.123>
- Romero R, Miranda J, Chaiworapongsa T, Korzeniewski SJ, Chaemsaitong P, Gotsch F, Dong Z, Ahmed AI, Yoon BH, Hassan SS, Kim CJ, Yeo L (2014) Prevalence and clinical significance of sterile intra-amniotic inflammation in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Reprod Immunol* 72:458–474. <https://doi.org/10.1111/aji.12296>
- Romero R, Miranda J, Chaemsaitong P, Chaiworapongsa T, Kusanovic JP, Dong Z, Ahmed AI, Shaman M, Lannaman K, Yoon BH, Hassan SS, Kim CJ, Korzeniewski SJ, Yeo L, Kim YM (2015) Sterile and microbial-associated intra-amniotic inflammation in preterm prelabor rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med* 28:1394–1409.  
<https://doi.org/10.3109/14767058.2014.958463>
- Ryu A, Park KH, Oh KJ, Lee SY, Jeong EH, Park JW (2013) Predictive value of combined cervicovaginal cytokines and gestational age at sampling for intra-amniotic infection in preterm premature rupture of membranes. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 92:517–524.  
<https://doi.org/10.1111/aogs.12073>
- Sae-Lin P, Wanitpongpan P (2019) Incidence and risk factors of preterm premature rupture of membranes in singleton pregnancies at Siriraj Hospital. *J Obstet Gynaecol Res* 45:573–577.  
<https://doi.org/10.1111/jog.13886>
- Sarstedt AG & CO Salivette® Cortisol, Code blau - Sarstedt.  
<https://www.sarstedt.com/produkte/diagnostik/salivasputum/produkt/51.1534.500/>. Accessed 9 December 2020
- Sayed Ahmed WA, Ahmed MR, Mohamed ML, Hamdy MA, Kamel Z, Elnahas KM (2016) Maternal serum interleukin-6 in the management of patients with preterm premature rupture of membranes. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 29:3162–3166.  
<https://doi.org/10.3109/14767058.2015.1118036>
- Seliger G, Bergner M, Haase R, Stepan H, Schlußner E, Zöllkau J, Seeger S, Kraus FB, Hiller GGR, Wienke A, Tchirikov M (2021) Daily monitoring of vaginal interleukin 6 as a predictor of intraamniotic inflammation after

- preterm premature rupture of membranes - a new method of sampling studied in a prospective multicenter trial. *J Perinat Med*.  
<https://doi.org/10.1515/jpm-2020-0406>
- Shah BA, Padbury JF (2014) Neonatal sepsis: an old problem with new insights. *Virulence* 5:170–178. <https://doi.org/10.4161/viru.26906>
- Shane AL, Sánchez PJ, Stoll BJ (2017) Neonatal sepsis. *The Lancet* 390:1770–1780. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31002-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31002-4)
- Shim S-S, Romero R, Hong J-S, Park C-W, Jun JK, Kim BI, Yoon BH (2004) Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 191:1339–1345. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2004.06.085>
- Sivarajasingam SP, Imami N, Johnson MR (2016) Myometrial cytokines and their role in the onset of labour. *J Endocrinol* 231:R101-R119. <https://doi.org/10.1530/JOE-16-0157>
- Soraisham AS, Singhal N, McMillan DD, Sauve RS, Lee SK (2009) A multicenter study on the clinical outcome of chorioamnionitis in preterm infants. *Am J Obstet Gynecol* 200:372.e1-6. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2008.11.034>
- Stepan M, Cobo T, Musilova I, Hornychova H, Jacobsson B, Kacerovsky M, Kanellopoulos-Langevin C (2016a) Maternal Serum C-Reactive Protein in Women with Preterm Prelabor Rupture of Membranes. *PLoS ONE* 11:e0150217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150217>
- Stepan M, Cobo T, Maly J, Navratilova M, Musilova I, Hornychova H, Jacobsson B, Kacerovsky M (2016b) Neonatal outcomes in subgroups of women with preterm prelabor rupture of membranes before 34 weeks. *J Matern Fetal Neonatal Med* 29:2373–2377. <https://doi.org/10.3109/14767058.2015.1086329>
- Su H, Chang S-S, Han C-M, Wu K-Y, Li M-C, Huang C-Y, Lee C-L, Wu J-Y, Lee C-C (2014) Inflammatory markers in cord blood or maternal serum for early detection of neonatal sepsis-a systemic review and meta-analysis. *J Perinatol* 34:268–274. <https://doi.org/10.1038/jp.2013.186>
- Sullivan BA, Fairchild KD (2015) Predictive monitoring for sepsis and necrotizing enterocolitis to prevent shock. *Semin Fetal Neonatal Med* 20:255–261. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2015.03.006>
- Sung J-H, Choi S-J, Oh S-Y, Roh C-R, Kim J-H (2016) Revisiting the diagnostic criteria of clinical chorioamnionitis in preterm birth. *BJOG*. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.14176>
- Tchirikov M, Schlabritz-Loutsevitch N, Maher J, Buchmann J, Naberezhnev Y, Winarno AS, Seliger G (2018) Mid-trimester preterm premature rupture of membranes (PPROM): Etiology, diagnosis, classification, international recommendations of treatment options and outcome. *J Perinat Med* 46:465–488. <https://doi.org/10.1515/jpm-2017-0027>
- Tita ATN, Andrews WW (2010) Diagnosis and management of clinical chorioamnionitis. *Clin Perinatol* 37:339–354. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2010.02.003>
- Verboon-Macielek MA, Thijsen SFT, Hemels MAC, Menses M, van Loon AM, Krediet TG, Gerards LJ, Fler A, Voorbij HAM, Rijkers GT (2006)

- Inflammatory Mediators for the Diagnosis and Treatment of Sepsis in Early Infancy. *Pediatric Research* 59:457 EP -. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000200808.35368.57>
- Villamor-Martinez E, Cavallaro G, Raffaeli G, Mohammed Rahim OMM, Gulden S, Ghazi AMT, Mosca F, Degraeuwe P, Villamor E (2018a) Chorioamnionitis as a risk factor for retinopathy of prematurity: An updated systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE* 13:e0205838. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205838>
- Villamor-Martinez E, Fumagalli M, Mohammed Rahim O, Passera S, Cavallaro G, Degraeuwe P, Mosca F, Villamor E (2018b) Chorioamnionitis Is a Risk Factor for Intraventricular Hemorrhage in Preterm Infants: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Physiol* 9. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01253>
- Villamor-Martinez E, Álvarez-Fuente M, Ghazi AMT, Degraeuwe P, Zimmermann LJI, Kramer BW, Villamor E (2019) Association of Chorioamnionitis With Bronchopulmonary Dysplasia Among Preterm Infants: A Systematic Review, Meta-analysis, and Metaregression. *JAMA Netw Open* 2. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.14611>
- Williams O, Hutchings G, Hubinont C, Debauche C, Greenough A (2012) Pulmonary effects of prolonged oligohydramnios following mid-trimester rupture of the membranes--antenatal and postnatal management. *Neonatology* 101:83–90. <https://doi.org/10.1159/000329445>
- Wynn JL, Wong HR, Shanley TP, Bizzarro MJ, Saiman L, Polin RA (2014) Time for a neonatal-specific consensus definition for sepsis. *Pediatr Crit Care Med* 15:523–528. <https://doi.org/10.1097/PCC.0000000000000157>
- Youden WJ (1950) Index for rating diagnostic tests. *Cancer* 3:32–35. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(1950\)3:1<32:aid-cncr2820030106>3.0.co;2-3](https://doi.org/10.1002/1097-0142(1950)3:1<32:aid-cncr2820030106>3.0.co;2-3)
- Zemlin M, Berger A, Franz A, Gille C, Härtel C, Küster H, Müller A, Pohlandt F, Simon A, Merz W (2019) Bakterielle Infektionen bei Neugeborenen: Leitlinie 024-008



## Thesen

1. Nach frühem vorzeitigem Blasensprung bietet die Routinediagnostik derzeit nur unzureichende Möglichkeiten, eine intrauterine Infektion des Kindes vorherzusagen.
2. Die intrauterine Infektion nach Blasensprung ist in der Regel eine aufsteigende Infektion aus dem Vaginalmilieu. Die Besiedelung der Fruchthöhle führt zu einer lokalen Inflammationsreaktion.
3. Die histologisch nachweisbare Chorioamnionitis und erhöhte IL-6-Konzentrationen im Nabelschnurblut sind Ausdruck einer intrauterinen Inflammationsreaktion.
4. Das Auftreten einer intraamnialen Inflammationsreaktion führt zu einer signifikanten Erhöhung der IL-6-Konzentration im Vaginalsekret, die sich im zeitlichen Verlauf vor der Entbindung darstellen lässt.
5. Der Anstieg der vaginalen IL-6-Konzentration ist bei Auftreten einer intraamnialen Inflammationsreaktion zeitlich vor dem Anstieg der maternalen Parameter nachweisbar.
6. Die vaginale IL-6-Konzentration weist zur Detektion einer intraamnialen Inflammationsreaktion bessere Testgütekriterien auf als die maternalen Serumparameter.
7. Durch vaginale Einlage eines Kunstfaserschwamms lassen sich Proben zur Bestimmung der vaginalen IL-6-Konzentration gewinnen.
8. Das neu entwickelte Verfahren eignet sich zur täglichen Entnahme von vaginalen Flüssigkeitsproben und lässt sich somit im Rahmen der Routinediagnostik nach frühem vorzeitigem Blasensprung anwenden.

## **Anhänge**

Selbständigkeitserklärung

Erklärung zum Wahrheitsgehalt der Angaben

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre, dass ich mich an keiner anderen Hochschule einem Promotionsverfahren unterzogen bzw. eine Promotion begonnen habe.

---

Michael Bergner

Ich erkläre, die Angaben wahrheitsgemäß gemacht und die wissenschaftliche Arbeit an keiner anderen wissenschaftlichen Einrichtung zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht zu haben.

---

Michael Bergner

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Alle Regeln der guten wissenschaftlichen Praxis wurden eingehalten; es wurden keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht.

---

Michael Bergner