

Stellenwert der Muttermilch-assoziierten CMV-Infektion bei sehr unreifen Frühgeborenen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

Franziska Anna Theodora Helfgen

aus Troisdorf

2021

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Andreas Müller
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Andree Faridi

Tag der Mündlichen Prüfung: 15.02.2021

Aus dem Zentrum für Kinderheilkunde
Direktor: Prof. Dr. med. Johannes Breuer

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
1. Einleitung	7
1.1 Allgemeines.....	7
1.1.1 Herpesviren.....	7
1.1.2 Humanes Zytomegalievirus.....	7
1.2 HCMV Infektion	10
1.2.1 Diagnostik der HCMV Infektion	10
1.2.2 Konnatale HCMV Infektion	11
1.2.3 Ernährung mit Muttermilch	13
1.2.4 Postnatale HCMV Infektion via Muttermilch	14
1.2.5 Virusinaktivierung in der Muttermilch	16
1.2.6 Spätfolgen der postnatalen CMV-Infektion.....	17
1.2.7 Therapie der CMV Infektion	18
1.3 Nekrotisierende Enterokolitis.....	19
1.3.1 Definition und Stadieneinteilung.....	19
1.3.2 Risikofaktoren der nekrotisierenden Enterokolitis	20
1.3.3 Therapie und Prognose.....	21
1.3.4 Prävention der NEC	21
1.4 Bronchopulmonale Dysplasie	22
1.5 Fragestellung der Dissertation	24
2. Material und Methoden	26
2.1 Studiendesign	26
2.2 Patientenkollektiv	26
2.3 Virologische Diagnostik.....	27

2.4	Ernährungsregime.....	28
2.5	Statistische Analyse	29
3.	Ergebnisse.....	32
3.1	Patientenkollektiv	32
3.2	Klinische Basischarakteristika	34
3.3	Charakteristika der CMV-Infektionen	35
3.4	Enterale Ernährung mit Muttermilch.....	38
3.5	Vergleich mit der historischen Kohorte.....	40
4.	Diskussion.....	42
4.1	Fragestellung und Grundidee.....	42
4.2	Ernährungsregime und Virusinaktivierung in der Muttermilch	42
4.3	Patientenkollektiv und Ausschlusskriterien.....	45
4.4	Diskussion der Ergebnisse.....	46
4.4.1	CMV Transmission und Krankheitsverläufe	46
4.4.2	Nekrotisierende Enterokolitis und CMV.....	49
4.4.3	Langzeitfolgen.....	51
4.5	Schlussfolgerung.....	53
5.	Zusammenfassung	54
6.	Abbildungsverzeichnis.....	55
7.	Tabellenverzeichnis	56
8.	Publikationen.....	57
9.	Literaturverzeichnis	58
10.	Danksagung.....	70

Abkürzungsverzeichnis

BPD	Bronchopulmonale Dysplasie
CDH	Congenital diaphragmatic hernia
CMV	Zytomegalievirus
CPAP	Continuous Positive Airway Pressure
CRIB	Clinical risk index for babies
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EBV	Ebstein-Barr-Virus
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EK	Erythrozytenkonzentrat
FiO ₂	Inspiratorische Sauerstofffraktion
GA	Gestationsalter
GMFCS	Gross Motor Functions Classification System
HCMV	Humanes Zytomegalievirus
HSV	Herpes simplex Virus
ICTV	Internationales Komitee für die Taxonomie von Viren
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IQR	Interquartilsabstand
IUGR	Intrauterine Wachstumsretardierung
K-ABC	Kaufman Assessment Battery for Children
LT	Lebenstag
MRT	Magnetresonanztomographie
n. a.	Nicht angegeben
NIH	National Institutes of Health
NEC	Nekrotisierende Enterkolitis
KISS	Krankenhaus Infektions Surveillance System
NIPS	Neonatologische Intensivpflegestation
opB	Ohne pathologischen Befund
PCR	Polymerase chain reaction
PVL	Periventrikuläre Leukomalazie

SSW	Schwangerschaftswoche
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
ZNS	Zentralnervensystem

1. Einleitung

1.1 Allgemeines

1.1.1 Herpesviren

1981 wurden die Herpesviren vom Internationalen Komitee für die Taxonomie von Viren (ICTV) innerhalb der Familie der Herpesviridae klassifiziert. Dieses Komitee ist stetig mit der Aktualisierung einer Datenbank für eine universelle Virustaxonomie beschäftigt (Lefkowitz et al. 2018). Erstmals wurde aus dieser Familie das Herpes simplex-Virus (HSV) im Jahr 1924 identifiziert, ab den 50er Jahren wurden weitere, diesem Virus sehr ähnliche Viren entdeckt: das Varizella-Zoster-Virus im Jahr 1953, das Humane Zytomegalievirus 1956, HSV Typ 2 1962 und das Epstein-Barr Virus 1965 (Foulon 1992). Im Jahr 1981 waren insgesamt bereits etwa 90 Herpesviren benannt worden, die die Einführung einer Klassifikation notwendig machten. Der Mensch ist Hauptwirt von acht Herpesviren, die rein taxonomisch als Humane Herpesviren 1 bis 8 bezeichnet werden (Doerr und Gerlich 2010). Die Herpesviren wurden hauptsächlich in drei Gruppen eingeteilt: Die Alphaherpesvirinae, deren bekanntester Vertreter das HSV-1 darstellt, die Betaherpesvirinae, zu denen das Zytomegalievirus (CMV) gehört, sowie die Gammaherpesvirinae mit dem Epstein-Barr-Virus (EBV) als hauptsächlichen Vertreter (Foulon 1992). Sie unterscheiden sich unter anderem durch die Länge ihres Replikationszyklus und durch die Zellen, in denen sie vorwiegend persistieren: Während die Alphaherpesviren eine hauptsächliche Latenz in Neuronen aufweisen, persistieren die Betaherpesviren häufig im Knochenmark und in sekretorischen Drüsen und die Gammaherpesviren in Lymphozyten (Doerr und Gerlich 2010).

1.1.2 Humanes Zytomegalievirus

Das Humane Zytomegalievirus (HCMV), auch als Humanes Herpesvirus 5 bezeichnet, ist ein linear doppelsträngiges DNA-Virus aus der Familie der Herpesviridae, Subfamilie Betaherpesvirinae, Genus Cytomegalievirus (Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit 2017). Vom Virus infizierte Zellen erscheinen vergrößert mit intranukleären und zytoplasmatischen Einschlüssen (Eulenaugenzellen) und wurden erstmalig durch Pathologen im 19. Jahrhundert in Speicheldrüsen, Lungen, Lebern und Nieren totgeborener Feten entdeckt (Buxmann et al. 2017). Das Virus ist von einem

Kapsid und einer Hülle, welche viruskodierte Glykoproteine enthält, umgeben (Robert Koch Institut 2014). Verglichen mit anderen Herpesviren handelt es sich um das Größte, mit einem Genom von ca. 235 Kilo-Basenpaaren, welche für 165 Gene kodieren (Crough und Khanna 2009). Der Durchmesser eines reifen Viruspartikels beträgt 150-200 nm (Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit 2017). Es existiert nur ein Serotyp, jedoch verschiedene Virusisolate mit unterschiedlichen Genotypen. Es besteht eine Empfindlichkeit gegenüber niedrigem pH-Wert, Lipidlösungsmittel und Hitze, daher sollten Proben, um Virusverluste zu vermeiden, bei mindestens -70 °C gelagert werden (Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit 2017). Das Virus kommt sowohl beim Menschen als auch bei einer Vielzahl von Tieren vor, kann jedoch nicht von einer Spezies auf die andere übertragen werden (Robert Koch Institut 2014). Es wird durch Schmierinfektion, also beispielsweise durch Nasensekret, Speichel, Tränenflüssigkeit, Harn, Genitalsekret oder auch Muttermilch von Mensch zu Mensch übertragen. Häufig sind Kinder die Ansteckungsquelle. Ein besonders hohes Gefährdungspotential besteht daher für CMV-negative Kindergärtnerinnen und Kinderkrankenschwestern (Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit 2017). Auch der parenterale Übertragungsweg durch Bluttransfusionen oder Organ- bzw. Stammzelltransplantationen kommt infrage. Durch die Einführung der Leukozytendepletion zellulärer Blutkomponenten wurde jedoch das Übertragungsrisiko durch Blutprodukte drastisch reduziert, das Risiko einer transfusionsassoziierten Infektion liegt laut aktuellen Studien bei unter 1:100.000 (Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit 2017). Die Inkubationszeit beträgt 4-6 Wochen, da die virämische Virusausbreitung mit Bildung neutralisierender Antikörper (beispielsweise gegen HCMV-Glykoprotein B) verzögert erfolgt (Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit 2017).

Bei immunkompetenten Infizierten treten nur in 5-20 % der Fälle grippeähnliche Symptome auf, die an eine Mononukleose erinnern können und gelegentlich mit Fieber, Lymphozytose, Pharyngitis, Lymphadenopathie, Hepatosplenomegalie und leichter Transaminasenerhöhung einhergehen können (Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit 2017; Forster et al. 2013). Bei immunsupprimierten Patienten können auch beispielsweise eine Retinitis, interstitielle Pneumonien und gastrointestinale Beschwerden (Ösophagitis, Kolitis, Hepatitis) auftreten (Forster et al.

2013). In den restlichen Fällen verläuft die Infektion asymptomatisch (Buxmann et al. 2017). Jedoch persistiert das Virus wie alle Herpesviren anschließend ein Leben lang, vor allem in Zellen der myeloischen Reihe. Beispielsweise kann virale DNA in Monozyten/Makrophagen, Lymphozyten, CD34+ Stammzellen, dendritischen Zellen oder Endothelzellen nachgewiesen werden (Crough und Khanna 2009). Durch die persistierende CMV-Infektion entsteht bei immunkompetenten Personen eine Interaktion mit T-Zellen, welche die Virusreplikation hemmen, das Virus jedoch nicht gänzlich zu eliminieren vermögen (Meyer-Wittkopf et al. 2009). Was zu einer Reaktivierung des Virus führt, ist bislang nicht hinreichend geklärt, jedoch scheinen eine Immunsuppression, Infektion, Inflammation oder Stress Risikofaktoren zu sein. Außerdem scheint TNF- α als Mediator für die Reaktivierung eine Rolle zu spielen (Crough und Khanna 2009).

Die HCMV-Seroprävalenz ist vom Alter und von sozioökonomischen Faktoren abhängig. In Deutschland beträgt diese für die erwachsene Gesamtbevölkerung bis zu 50 % (Forster et al. 2013). Die Rate der Serokonversion bei seronegativen Schwangeren ist weltweit mit 2 % beschrieben, in Deutschland und Frankreich mit 0,5 % (Robert Koch Institut 2014). Insgesamt liegt die Seroprävalenz in Westeuropa und den USA zwischen 40 und 60 % (Ernährungskommission der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde 2019). In anderen Regionen (wie beispielsweise Südamerika, Afrika oder Asien) liegt die Seroprävalenz der Schwangeren deutlich höher, bei nahezu 100 %, was im Wesentlichen von sozioökonomischen Faktoren, dem Alter, der Zahl der vorangehenden Schwangerschaften oder der Schulbildung abhängt (Cannon et al. 2015; Kipfmueller et al. 2018; Mussi-Pinhata et al. 2018). Die Bestimmung des CMV-Serostatus zu Beginn einer Schwangerschaft wird in Deutschland nicht als Routineleistung von den Krankenkassen übernommen, wird jedoch bei einigen Berufsgruppen arbeitsmedizinisch empfohlen (Forster et al. 2013).

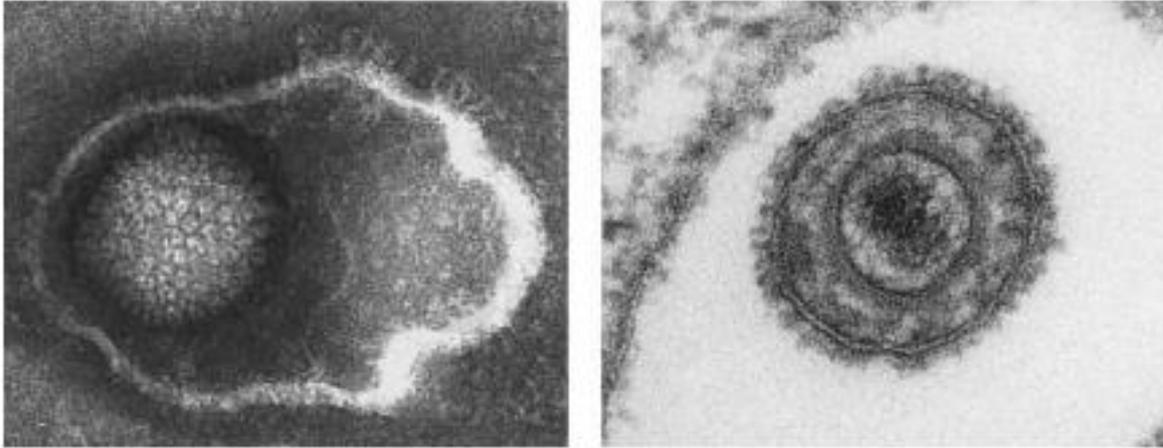


Abb. 1: Elektronenmikroskopische Aufnahme von HCMV-Partikeln.

Linkes Bild: Negativkontrastierung: dilatierte Virushülle mit Oberflächenproteinen, Kontrastmittel im Viruspartikel sichtbar (Deformierung der Lipidhülle), Nukleokapsid mit Untereinheiten im Inneren.

Rechtes Bild: Ultradünnschnitt durch ein Viruspartikel: Nukleinsäure (DNA) stark mit Kontrastmittel angefärbt, Proteinschicht zwischen Kapsid und Virushülle, Glykoproteine auf der Lipiddoppelmembran.

(Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit 2000)

1.2 HCMV Infektion

1.2.1 Diagnostik der HCMV Infektion

Die CMV-Primärinfektion wird mittels Immunoassay bzw. Antikörpernachweis aus Plasma oder Serum nachgewiesen. Eine Serokonversion, das heißt der erstmalige Nachweis von CMV-Immunglobulin G (IgG)-Antikörpern und CMV-Immunglobulin M (IgM)-Antikörpern bei vormals negativem CMV-IgG-Serostatus ist beweisend für eine Primärinfektion (Robert Koch Institut 2014). Diese wird jedoch bei nicht routinemäßig durchgeführtem Screening in der Schwangerschaft nur selten detektiert. Mittels serologischer Diagnostik ist daher eine Primärinfektion oft nicht eindeutig von einer Reaktivierung des Virus zu unterscheiden. Ein hoher CMV-IgM-Antikörpertiter, welcher im Verlauf abfällt, eine niedrige Avidität (Stärke der Antikörper-Antigen-Bindung) der IgG-Antikörper sowie noch nicht nachweisbare Antikörper gegen Glykoprotein B sprechen jedoch für eine Primärinfektion (Robert Koch Institut 2014). Daher sollte bei CMV-IgM Nachweis immer auch eine IgG-Aviditätsbestimmung durchgeführt werden (Forster et al. 2013).

Beim Fetus kann eine CMV Infektion pränatal aus der Amnionflüssigkeit durch eine PCR oder eine Anzucht des Virus in Zellkultur nachgewiesen werden (Robert Koch Institut 2014). Postnatal sollte bei Verdacht auf eine kongenitale Infektion das Virus innerhalb von 10 Tagen mittels PCR aus Speichel oder Urin des Neugeborenen nachgewiesen werden. Retrospektiv kann eine PCR zum Nachweis einer konnatalen CMV-Infektion nur noch aus der Trockenblutkarte des Neugeborenen Screenings erfolgen. Die serologische Diagnostik ist beim Neugeborenen nicht wegweisend (Robert Koch Institut 2014).

1.2.2 Konnatale HCMV Infektion

Das Humane Cytomegalovirus (HCMV) kann nach aktuellem Wissensstand auf das Neugeborene auf drei unterschiedlichen Wegen übertragen werden: konnatal (meist durch Primärinfektion der Mutter während der Schwangerschaft oder auch in seltenen Fällen bei rekurrenter Infektion in der Schwangerschaft), perinatal, z.B. durch Vaginalsekret, oder postnatal, durch CMV-positive Bluttransfusionen oder durch Muttermilch (Lanzieri et al. 2013; Meyer-Wittkopf et al. 2009). Eine konnatale oder perinatale CMV-Infektion wird hierbei als positive Viruskultur oder CMV-DNA-Nachweis im kindlichen Blut oder Urin innerhalb der ersten 3 Lebenswochen definiert, während bei einer postnatalen Infektion die Kultur zunächst negativ sein muss und nicht früher als 2 Wochen nach Geburt ein positives Ergebnis liefert (Lanzieri et al. 2013).

Die konnatale HCMV Infektion ist mit 0,3-1,2 % aller Lebendgeburten weltweit die häufigste kongenitale Infektion (Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit 2017; Meyer-Wittkopf et al. 2009).

Im Falle einer Primärinfektion kurz vor oder während der Schwangerschaft kann HCMV diaplazentar auf das ungeborene Kind übertragen werden, hierbei besteht das höchste Transmissionsrisiko bei einer Infektion im dritten Trimenon (Buxmann et al. 2017; Hughes und Gyamfi-Bannerman 2016). Bei präkonzeptionell bereits HCMV-IgG-seropositiven Schwangeren kann im Falle einer rekurrenten maternalen Infektion oder einer Reinfektion mit CMV dennoch eine Transmission stattfinden, die Transmissionsrate wird hier auf ca. 1 % geschätzt (Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit 2017; Dietrich und Schieffelin 2019; Robert Koch Institut 2014). Man geht jedoch davon aus, dass im Falle einer Reaktivierung des Virus oder einer Zweitinfektion, transplazentar übertragene Antikörper der Mutter den Fetus

partiell schützen. Über 90 % der hierdurch infizierten Neugeborenen sind zeitlebens asymptomatisch (Robert Koch Institut 2014). Der Schweregrad der kongenitalen HCMV-Infektion ist stark variabel und korreliert negativ mit steigendem Gestationsalter (GA) (Buxmann et al. 2017). Etwa 10 % der infizierten Kinder weisen bereits bei Geburt Symptome auf, von diesen ist bei etwa der Hälfte mit Spätfolgen zu rechnen. Bei den symptomatischen Kindern wurde eine Mortalitätsrate von 30 % beschrieben (Crough und Khanna 2009). Von den asymptomatischen Kindern erleiden etwa 10-15 % Spätfolgen im Verlauf (Dietrich und Schieffelin 2019; Meyer-Wittkopf et al. 2009). Zu den häufigsten Symptomen gehören neben Hörstörungen Thrombozytopenie, Hepatosplenomegalie, Hepatitis, ZNS-Beteiligung (lentikulo-striatale Vaskulopathie, Mikrozephalus, zerebrale Krampfanfälle), Chorioretinitis oder eine intrauterine Wachstumsretardierung (IUGR) (Buxmann et al. 2017; Dietrich und Schieffelin 2019; Forster et al. 2013). In seltenen Fällen kann die fetale CMV Infektion bereits intrauterin septisch verlaufen und als Hydrops fetalis tödlich enden (Forster et al. 2013). Bei Infektion im 1. Trimenon besteht vor allem die Gefahr der Hirnatrophie und der Lissenzephalie, im 2. Trimenon kann es beispielsweise zur Schizenzephalie, zur Balkenhypoplasie und zu periventrikulären Verkalkungen kommen, während bei einer Infektion im 3. Trimenon vor allem eine okzipitoparietal gelegene Leukenzephalopathie, sowie subkortikale Zysten beschrieben sind (Forster et al. 2013).

In großen Teilen der Welt, vor allem in industrialisierten Nationen, sind konnatale CMV-Infektionen die Hauptursache für nicht-genetisch bedingte Hörstörungen (Buxmann et al. 2017; Dietrich und Schieffelin 2019). Der Schweregrad der Spätfolgen ist umso ausgeprägter, je früher die Infektion während der Schwangerschaft stattfindet. Eine Progredienz bzw. ein Neuauftreten von Hörstörungen wurde bis ins Adoleszentenalter hinein beschrieben (Dietrich und Schieffelin 2019).

Strategien zur Verhinderung der kongenitalen CMV Infektion haben sich bislang noch nicht etabliert. Jedoch zeigt eine Studie aus dem Jahr 2005, dass möglicherweise der Einsatz von CMV-Hyperimmunglobulin bei Schwangeren mit CMV-Primärinfektion eine pränatale Therapieoption zur Prävention einer symptomatischen CMV-Infektion des Neugeborenen darstellen könnte (Forster et al. 2013; Meyer-Wittkopf et al. 2009).

1.2.3 Ernährung mit Muttermilch

Ernährung mit Muttermilch wird von sämtlichen Experten für alle Früh- und Neugeborenen empfohlen, weil es erwiesenermaßen die Inzidenz und den Schweregrad vieler Erkrankungen reduziert, wie beispielsweise der bakteriellen Meningitis, Bakteriämie, Diarrhoe, respiratorischer Infektionen, der nekrotisierenden Enterokolitis oder der Otitis media (American Academy of Pediatrics 2001; Eidelman und Schanler 2012; Gartner et al. 2005; Lawrence und Lawrence 2015; Szucs 2011). Wie eine Metaanalyse aus dem Jahr 2016 zeigte, haben Kinder, welche über einen längeren Zeitraum mit Muttermilch ernährt wurden, eine geringere Morbidität und Mortalität als solche, die nur kurzzeitig oder gar keine Muttermilch erhielten (Victora et al. 2016). Aus dem Grund wird Muttermilch als der Goldstandard für die Ernährung Neugeborener angesehen. Sie enthält alle notwendigen Nährstoffe und Vitamine, bioaktive Substanzen, lösliche Immunfaktoren, antimikrobielle Proteine und Peptide, Fettsäuren, Hormone, Oligosaccharide und Mikroorganismen (Fernández et al. 2018). Stillen spielt eine nachweisbar wichtige Rolle bei der Entwicklung des Mikrobioms in den ersten Lebensjahren und bei der Reifung des Immunsystems und des neuroendokrinen Systems (Fernández et al. 2018; Jeurink et al. 2013; Jost et al. 2015; Mcguire und Mcguire 2017). Meist beziehen sich diese Studien auf die eigene Muttermilch, welche auf die Bedürfnisse des einzelnen Kindes abgestimmt ist (Corpeleijn et al. 2012; Fernández et al. 2018; Meinzen-Derr et al. 2009). Grundsätzlich ist diese der Spendermilch vorzuziehen, jedoch belegen Studien, dass Spendermilch wiederum der Formulanahrung deutlich überlegen ist (Arslanoglu et al. 2013; Quigley et al. 2018). Bezüglich der immunologischen Voraussetzungen ist die Zusammensetzung der Muttermilch an das jeweilige Gestationsalter angepasst und es findet sich, abhängig von der jeweiligen Stillphase, ein unterschiedliches Mengenverhältnis von Oligosacchariden, Zytokinen, Chemokinen, Wachstumshormonen und Enzymen (Fernández et al. 2018; Mcguire und Mcguire 2017). Es gibt Veröffentlichungen darüber, dass die bakterielle Konzentration ebenso wie die Konzentration an Oligosacchariden in der Muttermilch im Verlauf der Stillperiode abzunehmen scheint und im Kolostrum am höchsten ist (Jost et al. 2015). Muttermilch ist Quelle zahlreicher - zum Teil probiotischer - Bakterien, wie zum Beispiel Lactobazillen, Bifidobakterien, Streptokokken, koagulase-negative Staphylokokken, Pseudomonaden und Propionibakterien (Fernández et al. 2018; Jost et

al. 2015; Mcguire und Mcguire 2017). Nicht zuletzt trägt die hohe Diversität an Oligosacchariden in der Frauenmilch dazu bei, das Wachstum potentiell pathogener Keime zu hemmen (Jost et al. 2015). Diese Komplexität an wertvollen Inhaltsstoffen konnte in den bisher verwendeten Formulanahrungen nicht erreicht werden (Jost et al. 2015).

1.2.4 Postnatale HCMV Infektion via Muttermilch

Zunehmend wird der Stellenwert der postnatalen Übertragung von HCMV durch Muttermilch bei sehr unreifen Frühgeborenen (< 30+0 Schwangerschaftswochen (SSW)) diskutiert (Hamprecht et al. 2001; Mehler et al. 2014; Stagno und Cloud 1994). Wie die Ernährungskommission der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde postuliert, korreliert auch bei der HCMV Infektion über Muttermilch - ebenso wie bei der kongenitalen Infektion - ein geringeres Gestationsalter mit einer höheren Übertragungsrate. In ihrem Konsensuspapier von 2018 beschreiben sie eine Inzidenz von 57,1 % in der 23.-24. SSW und danach ein stetiges Absinken der Inzidenz bis auf 7,1 % in der 29.-30. SSW (Ernährungskommission der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde 2019).

Aus Muttermilch wurde das Virus erstmalig 1967 isoliert (Hamprecht et al. 2001). Zahlreiche Studien belegen zuverlässig, dass eine Übertragung des Cytomegalovirus von der Mutter auf das neugeborene Kind über Muttermilch möglich ist und in der Vergangenheit häufig unterschätzt wurde (Hamprecht et al. 2008; Hamprecht et al. 2001; Stagno und Cloud 1994). Vor allem Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht unter 1000 g und einem GA unter 30 Wochen sind besonders gefährdet, eine symptomatische CMV Infektion zu entwickeln, die Sepsis-ähnliche Symptome annehmen kann (Hamprecht et al. 2008; Hamprecht et al. 2003; Lanzieri et al. 2013). Man geht davon aus, dass eine postnatale CMV-Infektion bei reifgeborenen Kindern eher unwahrscheinlich ist, da sie einen Schutz durch den passiven Transfer mütterlicher Antikörper besitzen und ihr Immunsystem weiter ausgereift ist als das Frühgeborener (Lanzieri et al. 2013). Die plazentare Übertragung protektiver Antikörper findet gemäß heutigem Wissensstand ab einem GA von 28 SSW statt und nähert sich mit höherem GA immer mehr dem maternalen IgG-Level an (Brecht et al. 2015; Bryant et al. 2002;

Mussi-Pinhata et al. 2003). Daher ist die Gefahr einer Transmission für Frühgeborene unter 28 SSW besonders hoch.

Die Infektion der Kinder setzt zunächst voraus, dass die Mutter eine IgG-Seropositivität für CMV aufweist und eine Reaktivierung des Virus während des Stillens erfolgt, also virale DNA in der Muttermilch nachweisbar ist (Goelz und Hamprecht 2008). Diverse Studien belegen eine Virusreaktivierung in der Muttermilch CMV-IgG-seropositiver Mütter von bis zu 96 % (Goelz und Hamprecht 2008; Hamprecht et al. 2001; Hotsubo et al. 1994; Lanzieri et al. 2013; Meier et al. 2005). Diese hohe Reaktivierungsrate konnte erst mittels Einführung einer Milchfraktionierung und der PCR Technologie detektiert werden, zuvor wurde sie auf ca. 30 % geschätzt (Hamprecht et al. 2008). Weshalb das Virus bei ansonsten gesunden und immunkompetenten Müttern während der Laktation reaktiviert wird, ist bislang ungeklärt. Ein Nachweis von CMV-DNA (DNA-Laktie) bzw. infektiösem Virus (Virolaktie) gelingt jedoch häufig bereits im Kolostrum (Hamprecht et al. 2003). Nach Fraktionierung der Milch in ihre Bestandteile kann das Virus für gewöhnlich sowohl in den Muttermilch-Zellen als auch in zellfreier Molke nachgewiesen werden (Hamprecht et al. 2001).

Die Sekretion von CMV in die Muttermilch beginnt etwa eine Woche nach Geburt, erreicht ein Maximum nach 4-8 Wochen und endet 9-12 Wochen postpartum (Hamprecht et al. 2008; Yoo et al. 2015). Die virale Reaktivierung ist somit ein selbstlimitierender Prozess (Hamprecht et al. 2008; Hamprecht et al. 2003). Die Viruslast im Kolostrum ist laut aktueller Studienlage sehr gering, sodass dies entsprechend der aktuellen Empfehlungen meist ohne Bedenken nativ verfüttert werden darf (Ernährungskommission der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde 2019). Jedoch gibt es vereinzelte Studien, die eine mögliche frühe CMV-Reaktivierung bereits am 3. postpartalen Tag belegen (Ernährungskommission der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde 2019; Hamprecht und Goelz 2017). Der Übertragungszeitpunkt von CMV auf das Neugeborene kann mit dem Erreichen der maximalen Viruslast in Verbindung gebracht werden (Hamprecht et al. 2008).

Die Inzidenz der CMV-Übertragung via Muttermilch bei extrem unreifen Frühgeborenen hat eine hohe Spannweite von 6,3 % bis 38 % (Doctor et al. 2005; Hamprecht et al. 2001; Meier et al. 2005; Omarsdottir et al. 2015). Meist treten Symptome innerhalb von

3 Wochen nach Nachweis einer Virurie beim Neugeborenen auf. Die häufigsten Symptome sind hier Thrombozytopenie, Neutropenie, direkte Hyperbilirubinämie, erhöhte Leberfunktionsparameter und Beatmungspflichtigkeit (Ernährungskommission der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde 2019). Jedoch können auch schwere sepsisartige Episoden auftreten und zunehmend lassen sich auch gastrointestinale Erkrankungen wie spontane Perforationen, nekrotisierende Enterokolitis oder Volvulus mit CMV-Infektionen in Verbindung bringen (Ernährungskommission der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde 2019). Auch eine moderate oder schwere bronchopulmonale Dysplasie (BPD) wird als mögliche Langzeitfolge einer postnatalen CMV-Infektion in der Literatur beschrieben (Ernährungskommission der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde 2019).

1.2.5 Virusinaktivierung in der Muttermilch

Es wurden in der Vergangenheit verschiedene Methoden zur Virusinaktivierung in der Muttermilch getestet, wobei die Erhaltung von protektiven Substanzen in der Milch angestrebt wurde (Forsgren 2004; Hamprecht et al. 2005). HCMV kann prinzipiell durch verschiedene Methoden inaktiviert werden: durch Einfrieren (Dworsky et al. 1982; Friis und Andersen 1982; Hamprecht et al. 2005), Langzeit-Pasteurisierung (30 Minuten bei 65 °C) (Hamprecht et al. 2005), Holder-Pasteurisierung (30 Minuten bei 62.5 °C) (Ford et al. 1977; Hamprecht et al. 2005) oder Kurzzeit-Pasteurisierung (5 Sekunden bei 62 °C) (Hamprecht et al. 2005; Hamprecht et al. 2004). Einfrieren vermindert zwar die Viruslast, die Virusinaktivierung ist jedoch stark von der initialen Viruslast abhängig und schwerwiegende CMV Infektionen werden dennoch in der Literatur beschrieben (Hamprecht et al. 2005). Jedoch wurde das Einfrieren der Muttermilch im Konsensuspapier der Ernährungskommission der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde von 2009 für alle Frühgeborenen <32 +0 SSW bei positivem CMV-IgG-Status der Mutter empfohlen, um die Viruslast um mindestens 90 % zu reduzieren (Ernährungskommission der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde 2019). Der Effekt des Einfrierens der Muttermilch bei -20 °C wurde in den vergangenen Jahren sehr kontrovers diskutiert. Eine Metaanalyse hierzu zeigt, dass durch Einfrieren die Wahrscheinlichkeit der Infektion lediglich um 13 % reduziert

wird, sodass derzeit die empfohlene Maßnahme eine Pasteurisierung der Muttermilch CMV-IgG-seropositiver Mütter bei Frühgeborenen <28 SSW oder einem Geburtsgewicht <1000 g ab dem 4. Lebenstag (LT) ist (Ernährungskommission der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde 2019). Das Pasteurisieren der Muttermilch soll bis zu einem GA von 32+0 SSW fortgeführt werden. Langzeit-Pasteurisierung zerstört die virale Infektiosität vollständig, es werden gleichzeitig aber auch andere Enzyme, Antikörper und hitzelabile Proteine denaturiert (Hamprecht et al. 2005; Hamprecht et al. 2004). So werden unter anderem Abwehrzellen, Immunglobuline und Wachstumsfaktoren zerstört (Ernährungskommission der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde 2019). Die Österreichische Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde empfahl daher die Holder Pasteurisierung der Muttermilch jeder CMV-positiven Mutter bis zum Erreichen eines GA des Kindes von 34 SSW (Hamprecht et al. 2005).

1.2.6 Spätfolgen der postnatalen CMV-Infektion

Zum Langzeitoutcome von Frühgeborenen mit postnatal erworbener CMV-Infektion gibt es bislang nur wenige Studien. Die prospektive Studie von Goelz et al. erfasste im Zeitraum von 1995 bis 2000 alle Frühgeborenen < 1500 g mit einer im Alter von bis zu 3 Monaten (nach korrigiertem Alter) erworbenen CMV Infektion auf der neonatologischen Intensivstation des Universitätsklinikums in Tübingen. Hierbei wurde das kognitive und neurologische Outcome im Alter >4 Jahre getestet. Die Testung erfolgte im Rahmen einer Paar-Design-Studie, bei der jeweils ein nicht an CMV erkranktes Kind (mit seronegativer Mutter) mit gleichem Gestationsalter bei Geburt, gleichem Geschlecht und Aufnahmedatum mit einem infizierten Kind gepaart wurde. Zur Einschätzung der kognitiven Leistungsfähigkeit wurde der Kaufman Assessment Battery for Children (K-ABC) Intelligenztest verwendet, welcher auf drei Skalen aufbaut: der „sequential processing scale“ , der „simultaneous processing scale“ und der „achievement scale“ (Goelz et al. 2013; Wolke und Meyer 1999). In allen Tests schnitten die mit CMV infizierten Kinder schlechter ab, jedoch war dieser Unterschied nicht signifikant (Goelz et al. 2013). Vries, Gunkel et al. konnten in ihrer Studie von 2018 keinen Effekt einer postnatalen CMV-Infektion auf die neurologische Entwicklung von Kindern innerhalb der ersten sechs Lebensjahre nachweisen. Vermehrte Hörstörungen oder Zerebralpareesen

wurden hier ebenfalls nicht beobachtet (Gunkel et al. 2018). In einer funktionellen MRT-Studie aus dem Jahr 2014 wurde eine signifikant höhere - am ehesten kompensatorische - Aktivierung bestimmter Hirnregionen bei Frühgeborenen mit früher postnataler HCMV-Infektion festgestellt. Inwieweit sich dies klinisch auf das neurologische Outcome auswirkt, ist jedoch nicht abschließend geklärt (Dorn et al. 2014). Eine weitere Follow-Up-Studie aus dem Jahr 2015 liefert zudem Hinweise darauf, dass in der Gruppe der 11- bis 17-Jährigen eine postnatale CMV-Infektion einen größeren Einfluss auf die intellektuelle Entwicklung haben könnte, als die Frühgeburtlichkeit selbst (Brecht et al. 2015). Dennoch wird der Effekt der CMV-Infektion auf das neurobiologische Outcome insgesamt sehr kontrovers diskutiert (Brecht et al. 2015; Goelz et al. 2013; Gunkel et al. 2018; Jim et al. 2015; Vollmer et al. 2004; Weimer et al. 2020).

1.2.7 Therapie der CMV Infektion

Bisher gibt es aufgrund unzureichender Datenlage keine einheitliche Empfehlung für eine antivirale Therapie der CMV-Infektion beim Neugeborenen. Als mögliche Off-label-Medikamente der kongenitalen CMV Infektion nach Geburt kommen die intravenöse Gabe von Ganciclovir oder die orale Gabe von Valganciclovir infrage (Dietrich und Schieffelin 2019). Eine Studie konnte nach 6-wöchigem Therapiezyklus mit Ganciclovir (2 x 6 mg/kg pro Tag intravenös) signifikant weniger Hörstörungen im Vergleich zu den Kindern, die keine Therapie erhielten, feststellen (Meyer-Wittkopf et al. 2009). Allerdings fehlen Langzeitstudien zu einem möglicherweise gentoxischen Effekt von Ganciclovir in Form von Einzel- und Doppelstrang-DNA-Brüchen, Apoptose-Induktion und Chromosomenaberrationen (Meyer-Wittkopf et al. 2009). Ob die orale Verabreichung von Valganciclovir genauso effizient ist wie die intravenöse Therapie mit Ganciclovir, kann aus Mangel an vorhandenen Studien leider derzeit nicht abschließend beurteilt werden. Eine Fallstudie aus dem Jahr 2008 gibt jedoch Hinweise darauf, dass durch die Gabe von Valganciclovir ebenso hohe Medikamentenspiegel im Serum erreicht werden können und, dass sich hierdurch ebenfalls eine rasche Reduktion der Viruslast erreichen lässt (Müller et al. 2008). Die häufigste beschriebene Nebenwirkung beider Medikamente ist eine transiente Neutropenie (Forster et al. 2013).

Zur Prävention einer HCMV-Infektion, beispielsweise bei Organtransplantationen, kommen die Nukleosidanaloga Ganciclovir und Valganciclovir ebenfalls zum Einsatz, außerdem Cidofovir und das Pyrophosphat analogon Foscarnet-Natrium (Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit 2017). All diese Substanzen hemmen die HCMV-Replikation, führen jedoch nicht zur vollständigen Elimination des Virus (Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit 2017).

Eine Impfung gegen das Cytomegalievirus existiert bislang nicht. Versuche mit einem rekombinanten CMV-Glykoprotein-B-Impfstoff wurden durchgeführt, konnten jedoch bislang nicht die Rate an konnatalen CMV Infektionen positiv beeinflussen (Forster et al. 2013).

1.3 Nekrotisierende Enterokolitis

1.3.1 Definition und Stadieneinteilung

Die nekrotisierende Enterokolitis (NEC) ist eine entzündliche Erkrankung des Gastrointestinaltrakts, welche am häufigsten bei Frühgeborenen <1500 g im Alter von 14 bis 21 Tagen auftritt (Genzel-Boroviczény et al. 2017). Der Schweregrad wird nach Bell et al. in verschiedene Stadien eingeteilt (Bell et al. 1978). Während Stadium I den klinischen Verdacht bei typischer Symptomatik (Magenreste, Erbrechen, abdominelle Distension, ggf. rektale Blutabgänge) darstellt, ist in Stadium II die Diagnose bereits radiologisch gesichert, beispielsweise durch eine Pneumatosis intestinalis im Röntgenbild oder den Nachweis von Lufteinschlüssen in der Pfortader. In Stadium III liegt eine fortgeschrittene NEC mit Peritonitis, Aszites und ggf. bereits bestehender Perforation mit Pneumoperitoneum vor (Bell et al. 1978; Genzel-Boroviczény et al. 2017).

Tab. 1: Modifizierte Bell-Klassifikation der NEC (Bell et al., modifiziert von Walsh und Kliegman) (Genzel-Boroviczény et al. 2017)

Stadium	Systemische Zeichen	Gastrointestinale Zeichen	Radiologische Zeichen
Ia Verdachtsdiagnose NEC	Temperaturinstabilität, Apnoen, Bradykardien, Lethargie	Magenreste, Erbrechen, okkulte rektale Blutungen, geringgradige abdominelle Distension	Normal oder geringe Dilatation, geringgradiger Ileus
Ib Verdachtsdiagnose NEC	Wie Ia	wie Ia, aber definitiv blutige Stühle	Wie Ia
Ila definitive NEC, wenig krank	Wie Ia	wie Ib, zusätzlich: fehlende Darmgeräusche, eindeutige abdominale Schmerzen	wie Ib, zusätzlich: Pneumatis intestinalis, mäßig- bis hochgradiger Ileus mit dilatierten, stehenden Darmschlingen
Ilb mäßig krank	wie Ila, zusätzlich: milde, metabolische Azidose, mäßige Thrombozytopenie	wie Ila, zusätzlich: evtl. geringgradiges Erythem der Bauchwand, evtl. Resistenz im rechten Unterbauch	wie Ila, zusätzlich: portalvenöses Gas, evtl. Aszites
Illa fortgeschrittene NEC, schwer krank, Darm intakt	wie Ilb, zusätzlich: metabolische und respiratorische Azidose, Neutropenie, Sepsis mit Hypotension, Schock, Bradykardie und DIC	wie Ilb, zusätzlich: generalisierte Peritonitis, hochgradige abdominelle Distension und Verfärbung, Resistenz im rechten Unterbauch	wie Ilb, zusätzlich: definitiv Aszites
IIIb fortgeschrittene NEC, schwer krank, Darm perforiert	wie Illa	Wie Illa	wie Illa, zusätzlich: Pneumoperitoneum

1.3.2 Risikofaktoren der nekrotisierenden Enterokolitis

Bei der Genese der NEC spielen intestinale Unreife, ein Ungleichgewicht des Mikrobioms, Ischämie mit gestörter intestinaler Epithelbarriere und die Ernährung eine Rolle. Gegebenenfalls existiert auch eine genetische Disposition, hierzu existieren jedoch bislang keine ausreichenden Studien (Genzel-Boroviczény et al. 2017). Eine amerikanische Studie von Gephart et al. konnte bei einer Kohorte von 58.820 Neugeborenen neun unabhängige Risikofaktoren für die Entwicklung einer NEC identifizieren: Gestationsalter, Erythrozytentransfusionsrate, die NEC Rate auf der jeweiligen Station, Late-onset Sepsis, multiple Infektionen, mit inotropen Medikamenten behandelte Hypotension, afrikanische oder hispanische Abstammung, Outborn Status

und metabolische Azidose (Gephart et al. 2014). Weitere Studien konnten ein etwas niedrigeres Risiko für die Gabe von Ibuprofen statt Indomethacin zur Behandlung des persistierenden Ductus arteriosus hinsichtlich der NEC Rate feststellen (Genzel-Boroviczény et al. 2017). Kardiale Vitien sind ebenfalls häufiger mit einer NEC assoziiert (Genzel-Boroviczény et al. 2017).

1.3.3 Therapie und Prognose

Die Therapie der NEC besteht aus Nahrungskarenz, Schmerztherapie, Ausgleich von Elektrolytverschiebungen und Antibiotika-Gabe für in der Regel 10 Tage sowie Katecholamine und Volumentherapie bei Schocksymptomatik (Genzel-Boroviczény et al. 2017). Bei höherem Schweregrad der Erkrankung kann eine chirurgische Intervention, meist mit Laparotomie und Anus praeter-Anlage, erforderlich sein (Genzel-Boroviczény et al. 2017). Häufig hat die Erkrankung eine Langzeithospitalisierung zur Folge und die Morbiditätsrate liegt bei bis zu 30 bis 50 % (Gephart et al. 2014). Ca. 25 % aller NEC-Infizierten müssen längerfristig parenteral ernährt werden (Genzel-Boroviczény et al. 2017). Hierdurch erhöht sich das Risiko für eine Cholestase. Auch entwicklungsneurologische Einschränkungen können im Verlauf auftreten, das Risiko hierfür ist insbesondere bei einem notwendigen operativen Eingriff im Rahmen der NEC erhöht (Genzel-Boroviczény et al. 2017).

1.3.4 Prävention der NEC

Diverse Studien konnten eine Reduktion der NEC Rate durch die Ernährung mit Frauenmilch (Muttermilch oder Spendermilch) im Vergleich zu Formulanahrung belegen (Genzel-Boroviczény et al. 2017; Good et al. 2014; Meinzen-Derr et al. 2009; Quigley et al. 2018; Sisk et al. 2007). Welche Komponenten der Frauenmilch für die protektive Wirkung in Bezug auf die NEC verantwortlich sind, ist noch nicht hinreichend geklärt. Diskutiert werden Nitrat/Nitrit, L-Arginin, L-Glutamin, Oligosaccharide, Lactoferrin und bestimmte Wachstumsfaktoren (Good et al. 2014). Beispielsweise in Kalifornien konnte durch die Einrichtung von Frauenmilchbanken die NEC Rate signifikant gesenkt werden (Genzel-Boroviczény et al. 2017). Auch in der Studie von Gephart et al. konnte die Verabreichung von Frauenmilch an LT 7 und 14 sowie die Gabe von Probiotika jeweils eine Reduktion der NEC Rate erwirken (Gephart et al. 2014). Inwieweit die

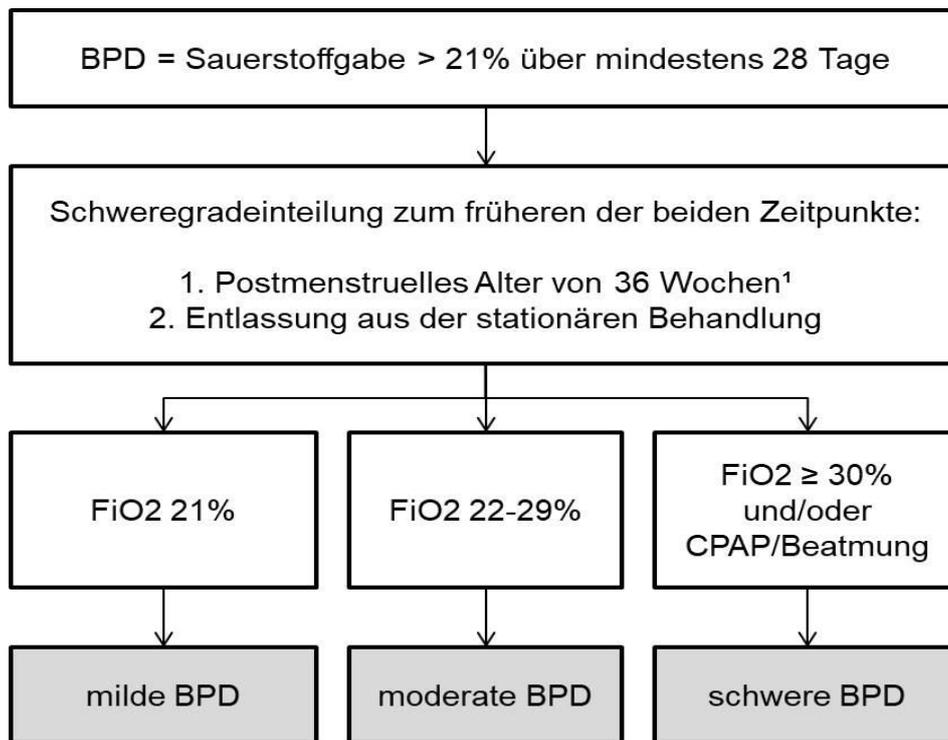
Pasteurisierung der Muttermilch einen Einfluss auf das NEC Risiko hat, ist bislang ebenfalls nicht ausreichend geklärt. Jedoch werden durch die Pasteurisierung viele Immunkomponenten reduziert oder zerstört, wie beispielsweise IgA-, IgG-, T- und B-Zellen, Makrophagen und Lymphozyten (Genzel-Boroviczény et al. 2017).

Wie bisherige Analysen zeigen, sorgt auch die Verwendung von Probiotika für eine signifikante Reduktion der NEC Rate (Dermyschi et al. 2017; Genzel-Boroviczény et al. 2017; Repa et al. 2015; Yang et al. 2014). Jedoch zeigt sich hier eine Tendenz zu einer besseren Wirksamkeit von Kombipräparaten wie *Lactobacillus acidophilus* und *Bifidobacterium bifidum* im Vergleich zu Monopräparaten (Genzel-Boroviczény et al. 2017; Repa et al. 2015). Die Studie von Repa et al. konnte jedoch keinen von der Nahrung unabhängigen Effekt der Probiotika feststellen. Hier konnte nur durch die Kombination mit Frauenmilch im Gegensatz zu Formulanahrung ein positiver Effekt auf die NEC Rate nachgewiesen werden (Repa et al. 2015).

1.4 Bronchopulmonale Dysplasie

Vor allem Frühgeborene unter 1000 g Geburtsgewicht oder unter 28 SSW bei Geburt, welche aufgrund eines Atemnotsyndroms eine maschinelle Beatmung und Sauerstofftherapie erhalten, haben ein erhöhtes Risiko, an einer BPD zu erkranken (Davidson und Berkelhamer 2017). Bei Frühgeborenen unter 28 SSW lag die BPD Inzidenz in den letzten Dekaden bei etwa 40 % (Davidson und Berkelhamer 2017). Die Lungenunreife sowie die Einwirkung weiterer postnataler Noxen wie Baro- und Volutraumata, supraphysiologische Sauerstoffzufuhr und/oder Infektionen begünstigen die Entwicklung dieser chronischen, jedoch potentiell reversiblen Erkrankung mit gestörter Alveolarisierung und pulmonaler Gefäßentwicklung (Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften - Ständige Kommission Leitlinien 2010). Entsprechend der Ergebnisse der National Institutes of Health (NIH) Konsensuskonferenz wird die BPD in drei Schweregrade eingeteilt, abhängig vom jeweiligen chronischen Sauerstoffbedarf (vgl. Abb. 2) (Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften - Ständige Kommission Leitlinien 2010; Jobe und Bancalari 2001). Eine inspiratorische Sauerstofffraktion (F_{iO_2}) ab 30 % und/oder eine Beatmung via Continuous Positive Airway Pressure (CPAP) bei einem postmenstruellen Alter von 36 Wochen oder am Entlasstag wird hierbei als schwere

BPD definiert (Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften - Ständige Kommission Leitlinien 2010; Jobe und Bancalari 2001). Als Präventionsmaßnahmen für eine BPD werden pränatal verabreichte Kortikosteroide wie Betamethason oder Dexamethason, prophylaktische oder frühzeitige Surfactantgabe bei Atemnotsyndrom, der frühzeitige Einsatz von Koffein ab dem 3. Lebenstag, intramuskuläre Vitamin A Gabe sowie die Wahl einer lungenprotektiven Beatmungsstrategie diskutiert (Davidson und Berkelhamer 2017). Pränatale Kortikosteroide und Surfactantapplikation scheinen zwar das Langzeitüberleben positiv zu beeinflussen, jedoch nicht die BPD Rate (Davidson und Berkelhamer 2017). Zur Beurteilung des Langzeitoutcomes der BPD erfordert es weitere Follow-Up-Studien. Die bisherige Studienlage lässt jedoch zumindest den Verdacht zu, dass eine Schädigung der pulmonalen Funktion und Abwehr, Asthma-ähnliche Symptome, pulmonale Hypertension und eine reduzierte Belastbarkeit bis ins Erwachsenenalter hinein bestehen können (Davidson und Berkelhamer 2017). Daher sollten Präventionsmaßnahmen zur Verhinderung möglicher Komplikationen der BPD durchgeführt werden, wie zum Beispiel die Durchführung einer RSV Prophylaxe und der erforderlichen Schutzimpfungen inklusive Influenza-Impfung. An BPD erkrankte Frühgeborene haben zudem ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines pulmonalen Hypertonus (Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften - Ständige Kommission Leitlinien 2010).



¹Für Kinder >32 SSW erfolgt die Schweregradeinteilung bei Entlassung, spätestens am 56. Lebenstag

Abb. 2: Definition der BPD gemäß der NIH Konsensuskonferenz (Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften - Ständige Kommission Leitlinien 2010; Jobe und Bancalari 2001)

1.5 Fragestellung der Dissertation

Diese Dissertation beschäftigt sich speziell mit der Fragestellung, wie groß der Stellenwert der CMV-Übertragung über Muttermilch bei sehr unreifen Frühgeborenen (<28 SSW) ist. Diese Fragestellung wurde im Zusammenhang mit einem im Januar 2011 eingeführten Ernährungsprotokoll untersucht, bei dem die Frühgeborenen bereits in den ersten 10 Lebenstagen Muttermilch erhielten. Dieses Protokoll wurde eingeführt, um eine Reduktion der NEC-Inzidenz zu erreichen zu erreichen. Das Kollektiv wurde zudem mit einer historischen Kohorte, welche erst ab einem Gestationsalter von 32 SSW Muttermilch erhielt, hinsichtlich verschiedener Charakteristika - inklusive CMV- und NEC-Inzidenz - verglichen.

Auch die Therapieschemata bei Muttermilch-assoziierten CMV-Infektionen, die virologischen Daten, der Serostatus der infizierten Kinder und die Nachsorgeergebnisse (Bayley-Scale, Hörtest, Sehtest) wurden untersucht.

2. Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Es handelt sich hierbei um eine retrospektive Studie, welche die Kohorte aller extrem unreifen Frühgeborenen < 28 SSW von Januar 2011 bis April 2014 - im Folgenden als „Studienkohorte“ betitelt - hinsichtlich ihrer Basischarakteristika, insbesondere in Bezug auf die Inzidenz der CMV-Infektion, untersucht. Sie basiert auf der Einführung eines neuen Ernährungsprotokolls im Jahr 2011. Zusätzlich werden diese Frühgeborenen mit einer historischen Kohorte vor Einführung dieses Ernährungsprotokolls (Januar 2009 bis Dezember 2010) verglichen. Die Studie wurde durch die Ethik-Kommission für klinische Versuche am Menschen und epidemiologische Forschung mit personenbezogenen Daten der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn bewilligt. Aufgrund des retrospektiven Designs und der im Rahmen der Routinediagnostik gewonnenen Daten war keine Einwilligungserklärung der Patienten notwendig.

2.2 Patientenkollektiv

Die Studienkohorte bestand aus insgesamt 112 Frühgeborenen unter 28 SSW, die im Studienzeitraum im Universitätsklinikum Bonn geboren wurden oder innerhalb von 24 Stunden nach Geburt auf die neonatologische Intensivpflegestation (NIPS) verlegt wurden. Ausschlusskriterien waren ein Versterben im Rahmen des Aufenthaltes, eine Verlegung oder Entlassung innerhalb von sechs Wochen nach Geburt oder das Vorhandensein kongenitaler Fehlbildungen, die den enteralen Nahrungsaufbau - vor allem in den ersten Lebenstagen - verlangsamen oder unmöglich machen (wie beispielsweise eine angeborene Zwerchfellhernie (CDH), Omphalozele oder Gastroschisis).

Innerhalb der Studienkohorte wurden die Frühgeborenen mit nachweisbarer postnataler CMV Infektion mit denjenigen ohne CMV-Infektion bei positivem CMV-Serostatus der Mutter hinsichtlich Basischarakteristika wie Geschlecht, Gestationsalter, metrische Daten bei Geburt und Entlassung, Dauer des Sauerstoffbedarfs, Anzahl an Bluttransfusionen sowie Komplikationen wie BPD, Sepsis oder NEC verglichen. Sepsis wurde anhand des nationalen Klassifikationssystems (NEO-KISS) definiert (Kipfmüller et al. 2015). Die NEC wurde anhand der Bell Kriterien diagnostiziert (Bell et al. 1978),

die BPD entsprechend der Definition der NIH Konsensuskonferenz (Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften - Ständige Kommission Leitlinien 2010; Jobe und Bancalari 2001).

Die historische Kohorte von Januar 2009 bis Dezember 2010 wurde ebenfalls anhand der oben genannten Ein- und Ausschlusskriterien ausgewählt und anhand der gleichen Basischarakteristika und klinischen Daten tabellarisch aufgetragen und mit der Studienkohorte verglichen.

Die Patienten- und krankheitsbezogenen Daten wurden den Patienteninformationssystemen „Neodat“ (Programm zur Neonatalerhebung und Generierung von Arztbriefen) und „Orbis“, sowie den Kurven der jeweiligen Patienten aus dem Archiv entnommen und anschließend pseudonymisiert tabellarisch eingetragen. Die Ergebnisse zum neurokognitiven Outcome der CMV-infizierten Kinder bezüglich Motorik, Kognition und Sprache wurden während der Nachuntersuchung mit 2 Jahren in der entwicklungsneurologischen Ambulanz erhoben. Hierzu wurden die Bayley Scales of Infant and Toddler Development (Second Edition) verwendet, welche aus einer mentalen und einer motorischen Skala bestehen. Die Seh- und Hörfähigkeit wurde ebenfalls mit 2 Jahren durch augenärztliche bzw. HNO-ärztliche Konsile festgestellt.

2.3 Virologische Diagnostik

Alle Mütter innerhalb der Studienkohorte wurden zum Zeitpunkt der Entbindung mittels Abbott CMV IgG Architect assay (Abbott, Wiesbaden, Deutschland) auf CMV-IgG-Seropositivität getestet. Bei positivem Ergebnis wurde eine kongenitale CMV-Infektion beim Neugeborenen durch eine Bestimmung von CMV-DNA im Urin innerhalb der ersten 72 Lebensstunden ausgeschlossen. Zudem wurde die CMV-PCR im Urin vor Wiedereinführung der Ernährung mit Muttermilch mit 30 SSW sowie vor Entlassung wiederholt. Unabhängig davon erfolgte eine virologische Diagnostik auf Veranlassung des behandelnden Neonatologen bei klinischer Verdachtsdiagnose einer CMV-Infektion. Die Amplifikation und Quantifizierung des CMV wurde unter Verwendung des RealStar CMV PCR Kit 1.0 (Altona Diagnostics, Hamburg, Deutschland) durchgeführt und entsprechend den Handlungsempfehlungen des Herstellers ein LightCycler 480 II Instrument (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) verwendet. Die untere Detektionsgrenze betrug 91 IU/ml (Probitanalyse) und die untere Quantifizierungsgrenze

1000 IU/ml. Die Nukleinsäureverarbeitung erfolgte unter Verwendung des QIAamp DNA Blood Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland, Elutionsvolumen 100 µl).

2.4 Ernährungsregime

Im Studienzeitraum (2011-2014) erhielten extrem unreife Frühgeborene in den ersten 10 Lebenstagen die Milch der eigenen Mutter (sofern vorhanden), unabhängig vom maternalen CMV-Serostatus. Anschließend erhielten Neugeborene CMV-IgG-positiver Mütter Formulanahrung für Frühgeborene und ab einem Gestationsalter von 30 SSW erneut Muttermilch nach Durchführung einer erneuten CMV-PCR im Urin. Als Formulanahrung wurde Beba Frühgeborennahrung Stufe 1, als Spezialnahrung für Frühgeborene bis 1800 g, verwendet. Neugeborene von Müttern mit negativem CMV-Serostatus erhielten durchgehend Muttermilch. Zum Zeitpunkt der Studie hatte sich eine Frauenmilchbank in der neonatologischen Abteilung der Universitätskinderklinik in Bonn noch nicht etabliert, sodass die Bereitstellung von CMV-seronegativer Spendermilch nicht gewährleistet werden konnte. Daher erhielten die Frühgeborenen zwischen LT 10 und einem GA von 30 SSW statt Muttermilch Formulanahrung, welche in der Literatur weitgehend als drittbeste Option beschrieben wird (Gartner et al. 2005). Die Muttermilch wurde vor Verabreichung regelhaft für 24 Stunden bei -24 °Celsius eingefroren, abgesehen vom Kolostrum, welches ohne vorherige Behandlung verabreicht wurde. Parallel zur Einführung des neuen Ernährungsregimes wurden auf der Intensivstation Probiotika - in diesem Fall Infloran, welches aus *Lactobacillus acidophilus* und *Bifidobacterium bifidum* besteht - für alle Früh- bzw. Neugeborenen angeordnet.

Vor Januar 2011 erhielten alle Frühgeborenen Muttermilch erst ab einem Gestationsalter von 32 SSW, vor diesem Zeitpunkt wurden sie mit Formulanahrung enteral ernährt.

Die Informationen über die verabreichten Muttermilch-Mengen (in ml) an den jeweiligen Lebenstagen waren den Kurvenblättern der jeweiligen Patienten aus dem Archiv zu entnehmen.

2.5 Statistische Analyse

Die anonymisierten Patientendaten wurden in Microsoft Excel-Tabellen zusammengefasst. Bei der statistischen Analyse wurden parametrische und nichtparametrische Tests zum Vergleich der Mittelwerte der verschiedenen Gruppen verwendet. Parametrische Tests können unter der Voraussetzung einer Normalverteilung verwendet werden und die Ergebnisse sind signifikanter, da sie eine metrische Skala gebrauchen. Nichtparametrische Tests sind weniger signifikant, weil sie ein ordinales System verwenden, können jedoch auch dann angewandt werden, wenn keine Normalverteilung vorliegt. Das Vorliegen einer Normalverteilung für kontinuierliche Variablen wurde in dieser Studie mittels Shapiro-Wilk-Test überprüft (vgl. Tab. 2 und 3) (Holling und Gediga 2016). Lag im Shapiro-Wilk-Test der Wert für die Signifikanz $<0,05$, wurde davon ausgegangen, dass die Nullhypothese, dass die vorliegenden Daten normalverteilt seien, abzulehnen sei. Zusätzlich wurden zur grafischen Veranschaulichung einer Normalverteilung Q-Q-Plots und Histogramme verwendet. Für kontinuierliche Variablen, für die eine Normalverteilung laut Shapiro Wilk Test anzunehmen war (Shapiro Wilk Test negativ, Signifikanzniveau $> 0,05$), wurde der t Test für unabhängige Stichproben als parametrischer Test verwendet (vgl. Tab. 2 und 3) (Hilgers et al. 2003). Wenn nicht von einer Normalverteilung auszugehen war (Shapiro Wilk Test positiv), wurde für kontinuierliche Variablen der Mann-Whitney U Test als nichtparametrischer Test verwendet (vgl. Tab. 2 und 3) (Bortz und Lienert 1998). Für kategoriale Variablen wurde der Exakte Test nach Fisher eingesetzt. Dieser überprüft wie der Chi-Quadrat-Test die Unabhängigkeit zweier diskreter Merkmale. Dabei stellt er jedoch keine Voraussetzungen an die Stichprobengröße. Der Exakte Fisher-Test unterscheidet sich von vielen Signifikanztests dahingehend, dass die Signifikanz einer Abweichung von der Nullhypothese exakt berechnet werden kann (Bortz und Lienert 1998). In den Tabellen 4 und 6 sind die p-Werte, die mittels Exaktem Fisher-Test errechnet wurden, mit Sternchen (*) markiert. Die Werte werden in den Ergebnissen als Mittelwert mit Standardabweichung, Median mit Interquartilsabstand (IQR) oder in absoluten Zahlen und Prozentwerten angegeben. Als obere Grenze für die statistische Signifikanz wurde ein p-Wert von 0,05 definiert. Es wurden ausschließlich zweiseitige Tests verwendet. Alle statistischen Analysen wurden mit IBM SPSS Statistics 22 (IBM Corp. Armonk, NY, USA) durchgeführt.

Tab. 2: Normalverteilungstest für Frühgeborene CMV positiver Mütter in der Studienkohorte

Kategorie	CMV Infektion	Shapiro Wilk Test	Testverfahren
GA bei Geburt	ja	0,408	t-Test
	nein	0,26	
Geburtsgewicht (kg)	ja	0,088	t-Test
	nein	0,537	
Geburtslänge (cm)	ja	0,33	t-Test
	nein	0,663	
APGAR 5 min	ja	0,607	Mann-Whitney U Test
	nein	0,003	
APGAR 10 min	ja	0,82	Mann-Whitney U Test
	nein	0	
CRIB Score	ja	0,045	Mann-Whitney U Test
	nein	0,047	
Dauer Sauerstoffbedarf (Tage)	ja	0,719	Mann-Whitney U Test
	nein	0	
EK Transfusionen	ja	0,783	Mann-Whitney U Test
	nein	0,011	
Sepsis Episoden	ja	0,035	Mann-Whitney U Test
	nein	0	
LT bei Entlassung	ja	0,476	Mann-Whitney U Test
	nein	0	
Entlassgewicht (kg)	ja	0,071	Mann-Whitney U Test
	nein	0	
Entlasslänge	ja	0,798	Mann-Whitney U Test
	nein	0	
Enterale Nahrungsmenge LT 10 (ml)	ja	0,064	t-Test
	nein	0,314	
Enterale Nahrungsmenge LT 28 (ml)	ja	0,887	t-Test
	nein	0,768	
Durchschnittliche Muttermilchmenge (ml/Tag) in den ersten 10 LT	ja	0,116	Mann-Whitney U Test
	nein	0,012	

Tab. 3: Normalverteilungstest für die Gesamtkohorte

Kategorie	Studienkohorte	Shapiro Wilk Test	Testverfahren
GA bei Geburt	ja	0,189	t-Test
	nein	0,06	
Geburtsgewicht (kg)	ja	0,415	t-Test
	nein	0,163	
Geburtslänge (cm)	ja	0,583	t-Test
	nein	0,123	
APGAR 5 min	ja	0,007	Mann-Whitney U Test
	nein	0,011	
APGAR 10 min	ja	0	Mann-Whitney U Test
	nein	0,002	
CRIB Score	ja	0,141	Mann-Whitney U Test
	nein	0,086	
Dauer Sauerstoffbedarf (Tage)	ja	0,001	Mann-Whitney U Test
	nein	0	
EK Transfusionen	ja	0,037	Mann-Whitney U Test
	nein	0	
Sepsis Episoden	ja	0	Mann-Whitney U Test
	nein	0	
LT bei Entlassung	ja	0	Mann-Whitney U Test
	nein	0,004	
Entlassgewicht (kg)	ja	0,091	Mann-Whitney U Test
	nein	0	
Entlasslänge	ja	0,005	Mann-Whitney U Test
	nein	0,876	
Enterale Nahrungsmenge LT 10 (ml)	ja	0,015	Mann-Whitney U Test
	nein	0,012	
Enterale Nahrungsmenge LT 28 (ml)	ja	0,625	t-Test
	nein	0,133	
Muttermilch Lebenstag 28 (ml)	ja	0	Mann-Whitney U Test
	nein	0	
Muttermilch GA 30+0 SSW (ml)	ja	0,049	Mann-Whitney U Test
	nein	0,042	

3. Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

Von Januar 2011 bis April 2014 wurden insgesamt 112 extrem unreife Frühgeborene <28 SSW im Uniklinikum Bonn geboren oder innerhalb von 24 Stunden nach Geburt auf die neonatologische Intensivstation verlegt. 25 Patienten (22,3 %) wurden aus der Studie ausgeschlossen, weil sie während des Krankenhausaufenthaltes verstarben (Median: 1,9 Lebenstage bis zum Todeszeitpunkt). Aufgrund des frühzeitigen Versterbens wurde bei 11 dieser Patienten der mütterliche CMV-Serostatus nicht untersucht. Von den verbleibenden 14 Müttern waren 8 CMV-seropositiv ohne Nachweis einer Infektion beim Kind. 6 von 112 Kindern (5,4 %) wurden innerhalb der ersten 6 Wochen nach Entbindung in ein heimatnahes Krankenhaus verlegt und deswegen ebenfalls in der vorliegenden Studie nicht berücksichtigt. Zwei von ihnen erhielten Muttermilch einer Mutter mit positivem CMV-Serostatus, bei beiden Kindern war das postnatale CMV-Screening im Urin negativ. Zudem wurden Patienten mit kongenitalen Malformationen, die eine enterale Ernährung in den ersten Lebenstagen unmöglich machten, ausgeschlossen. In dem hier betrachteten Kollektiv betraf dies ein Neugeborenes mit CDH. Nach Ausschluss von 32 Frühgeborenen (28,6 %) bestand das Studienkollektiv aus 80 Frühgeborenen (33 davon weiblich, 47 männlich).

Die historische Kohorte (Januar 2009 bis Dezember 2010) umfasste insgesamt 73 Frühgeborene unter 28 SSW, wovon 30 Kinder aufgrund von frühzeitigem Versterben, Verabreichung von Muttermilch in den ersten 10 Lebenstagen oder einer Verlegung bzw. Entlassung innerhalb von 6 Wochen nach Geburt ausgeschlossen wurden. Von den verbleibenden 43 Kindern war bei 18 Kindern der Serostatus der Mutter bekannt. Ein Kind erlitt eine postnatale CMV-Infektion, was bei 11 bekannt CMV-positiven Müttern 9 % entsprechen würde (vgl. Abb. 3).

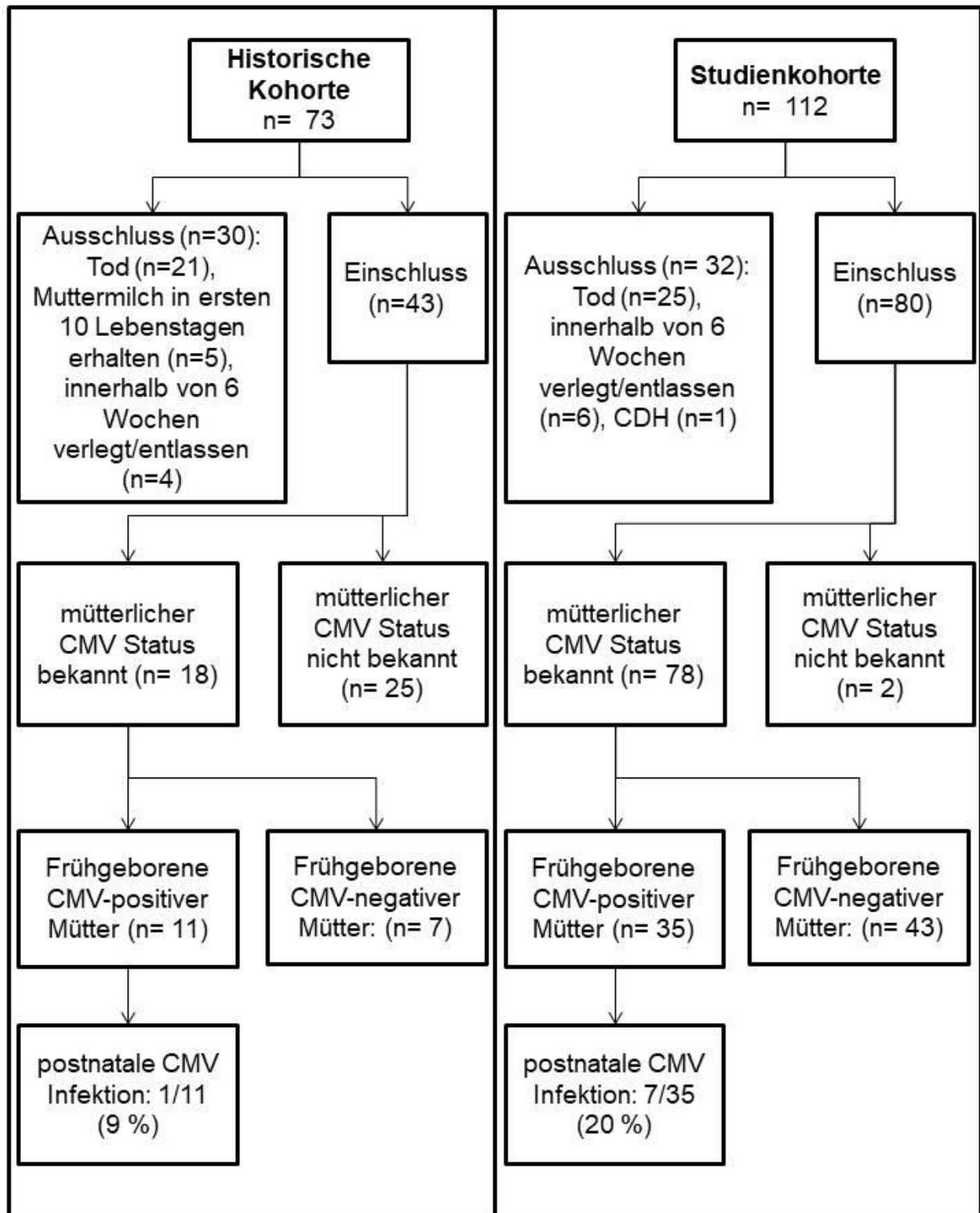


Abb. 3: Flussschema des vorliegenden Patientenkollektivs

3.2 Klinische Basischarakteristika

Im Studienzeitraum wurden 35 Frühgeborene CMV-seropositiver Mütter (2011-2014) geboren. Bei 7 von 35 (20 %) kam es im Verlauf nach initial negativem CMV-Screening zu einer postnatalen CMV-Infektion, die Rate symptomatischer CMV Infektionen lag bei 14 % (5/35). Die Transmission auf das Neugeborene wurde mittels CMV-PCR im Urin detektiert, bei positivem Befund wurde zudem die Viruslast im EDTA-Blut bestimmt. Der Vergleich der klinischen Charakteristika der Kinder seropositiver Mütter, mit und ohne Virus-Transmission über die Muttermilch ist in Tabelle 4 dargestellt. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen war hier bezüglich der Basischarakteristika nicht nachweisbar (vgl. Tab. 4). Die CMV-infizierten Kinder erhielten im Durchschnitt jeweils 4 Transfusionen von Erythrozytenkonzentraten (EK) im Rahmen ihres klinischen Aufenthaltes, die Gruppe der nicht-infizierten Kinder im Durchschnitt eine EK Transfusion in ihrem stationären Aufenthalt. Jedoch war dieser Unterschied nicht statistisch signifikant. Bei den CMV-infizierten Neonaten zeigte sich ein Trend hin zu einem längeren Sauerstoffbedarf ($p=0,071$). Vergleichbar war in beiden Gruppen die Inzidenz anderer Komplikationen bei Frühgeburtlichkeit wie NEC, BPD oder Sepsis (Tab. 4).

Tab. 4. Vergleich der Frühgeborenen mit und ohne postnatale CMV Infektion in der Studienkohorte (N=35)

Kategorien	Kontrollgruppe (n=28)	CMV Gruppe (n=7)	p-Wert
Geburtsdaten			
männlich:weiblich	16:12	06:01	0,22*
Mehrlinge ^a	8 (28,6)	3 (42,9)	0,652*
Gewicht (kg) ^b	0,69 ± 0,19	0,82 ± 0,31	0,167
Länge (cm) ^b	32,6 ± 3,2	33,7 ± 3,5	0,411
Apgar 5 min ^c	8 (2)	8 (3)	0,525
Apgar 10 min ^c	9 (1)	9 (1)	1
CRIB Score ^c	8 (4)	8 (4)	0,923
Klinischer Verlauf			
NEC ^a	1 (3,6)	0 (0)	1,0*
BPD ^a	5 (18,5)	3 (42,9)	0,315*
Dauer Sauerstoffbedarf (Tage) ^c	0 (1)	5 (7)	0,071
EK Transfusionen ^c	1 (4)	4 (4)	0,135
Sepsis Episoden ^c	0 (1)	0 (2)	0,6
Entlassdaten			
LT bei Entlassung ^c	100,2 (23)	94,8 (55)	0,672
Gewicht (kg) ^c	2,7 (0,4)	2,4 (0,6)	0,356
Länge (cm) ^c	46 (2,9)	46 (7)	0,783
Ernährung			
Ernährung mit Muttermilch ^a	28 (100)	7 (100)	1,0*
Enterale Nahrungsmenge LT 10 (ml) ^b	68 ± 41	68 ± 84	0,999
Enterale Nahrungsmenge LT 28(ml) ^b	124 ± 50	152 ± 54	0,21
Behandlung mit Probiotika ^a	28 (100)	7 (100)	
Durchschnittliche Menge an Muttermilch in den ersten 10 LT (ml) ^b	18,8 (16)	14,2 (15,8)	0,482

(a) absolute Zahlen (Prozent)

(b) Mittelwert ± Standardabweichung

(c) Median (IQR)

3.3 Charakteristika der CMV-Infektionen

Das Gestationsalter der sieben Frühgeborenen mit postnataler CMV Infektion bei Geburt reicht von 24+0 SSW bis 27+4 SSW, das Geburtsgewicht von 490 g bis 1390 g (vgl. Tab. 5). Bei 5 der 7 Kinder lag eine symptomatische Infektion vor, welche mit oralem Valganciclovir oder intravenösem Ganciclovir (bei zwei Frühgeborenen mit Nahrungsunverträglichkeit) therapiert wurde. Der mediane Zeitpunkt der CMV-Detektion

im Urin lag bei 57 Lebenstagen (22 bis 92 Lebenstage). Die Viruslast im Urin differierte von $1,2 \times 10^4$ IU/ml bis 19×10^6 IU/ml und im EDTA Blut von $5,6 \times 10^3$ IU/ml bis $7,7 \times 10^5$ IU/ml. Unter Therapie sank die Viruslast im Blut jeweils rasch unter 1000 IU/ml, die Viruslast im Urin war höher, jedoch ebenfalls deutlich rückläufig. Die beiden asymptomatisch infizierten Kinder fielen als Zufallsbefund durch eine routinemäßige CMV-PCR im Urin vor Entlassung auf und hatten daher keine therapeutische Konsequenz (Patient 2 und 4, Tab. 5-7). Drei der symptomatischen Infektionen wurden im Rahmen des Screenings vor Wiedereinführung von Muttermilch mit 30+0 SSW entdeckt und aufgrund von parallel vorliegender Symptomatik wie Thrombozytopenie, Apnoen und Bradykardien therapiert (Patient 1, 6 und 7, Tab. 6). Die anderen beiden CMV-Nachweise fanden nach der 31. SSW statt und bestätigten den klinischen Verdacht auf das Vorliegen einer postnatalen CMV-Infektion bei Sepsis-ähnlichen Symptomen wie Temperaturerhöhung, Apnoen, Bradykardien, Thrombozytopenie und Leukopenie (Patient 3 und 5, Tab. 5 und 6) sowie in einem Fall erhöhten Leberenzymen und Splenomegalie (Patient 5, Tab. 6).

Es erschienen nur 3 von den 7 Patienten mit Zustand nach CMV Infektion zu den Nachsorgeuntersuchungen in der entwicklungsneurologischen Ambulanz. Für die restlichen Patienten können somit die Daten nicht erhoben bzw. nicht angegeben (n. a.) werden. Hier zeigte sich in der Testung nach Bayley (Second Edition) bei zweien eine altersgerechte Entwicklung in Bezug auf Kognition und Sprache und bei einem Patienten eine leicht retardierte mentale Entwicklung (vgl. Tab. 7). Auf der motorischen Skala ergab sich bei Patient 1 eine schwere Zerebralparese (GMFCS IV), bedingt durch eine periventrikuläre Leukomalazie (PVL), und bei zwei Patienten eine altersgerechte Entwicklung (vgl. Tab. 7). Die augenärztlichen und audiometrischen Untersuchungen im Alter von 2 Jahren waren bei allen getesteten Patienten ohne pathologischen Befund (opB).

Tab. 5: Basisdaten der CMV-infizierten Frühgeborenen

Patient	Gestationsalter (SSW+Tage)	Geburtsgewicht (g)	Muttermilchmenge pro Tag innerhalb der ersten 10 LT (ml)	LT bei Diagnose	Gestationsalter bei Diagnose (SSW+Tage)
1	26+2	915	40,7	22	29+2
2	27+4	1390	6,9	57	35+4
3	25+4	900	0,6	80	36+6
4	26+0	600	24,8	92	39+2
5	27+4	880	24,2	70	37+3
6	24+0	490	1,7	39	29+4
7	24+0	560	0,3	39	29+4

Tab. 6: Klinischer Verlauf der CMV Infektionen

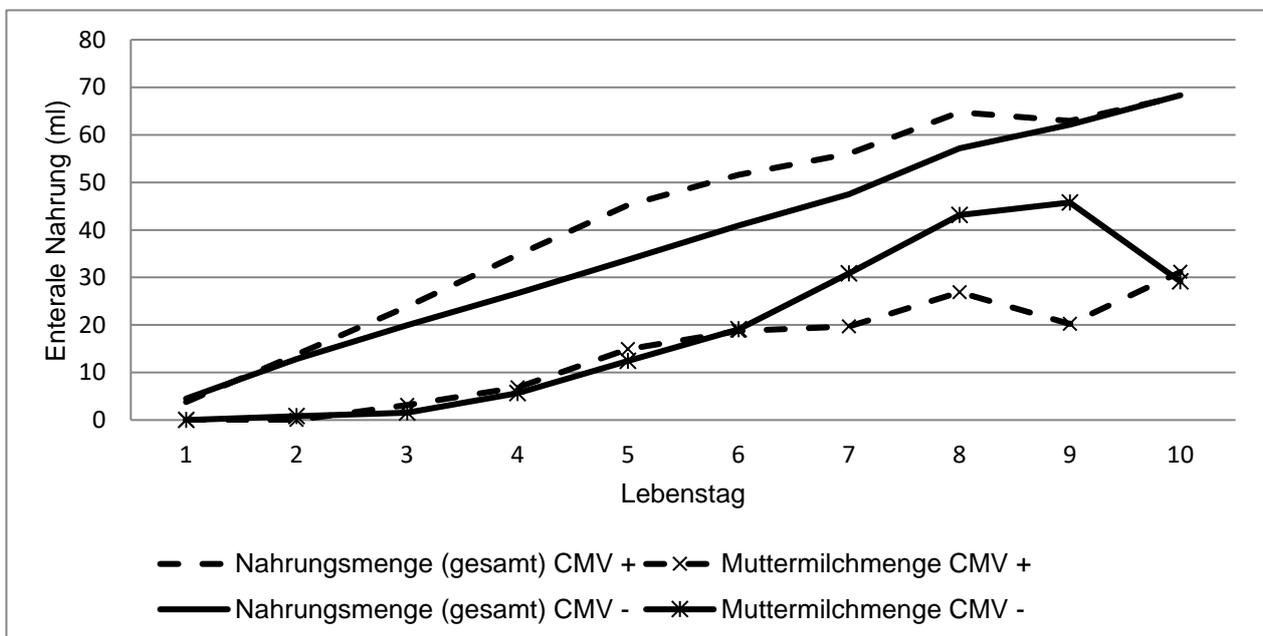
Patient	Symptomatische Infektion	Klinische Symptome	Viruslast im Urin (IU/ml)	Viruslast im EDTA Blut (IU/ml)	Behandlungsbeginn (LT)	Dauer der Behandlung mit Valganciclovir (Tage)	Dauer der Behandlung mit Ganciclovir (Tage)
1	ja	Thrombozytopenie, Apnoen, Bradykardien	6,5x10 ⁴	13,6	26	9	0
2	nein	keine	2,7x10 ⁴	n/d		0	0
3	ja	Temperaturerhöhung, Thrombozytopenie, Apnoen, Bradykardien	1,2x10 ⁴	5,6x10 ³	84	31	0
4	nein	keine	2,6x10 ⁵	3x10 ⁴		0	0
5	ja	Splenomegalie, Thrombozytopenie, Leukopenie, Apnoen, erhöhte Leberenzyme	1,9x10 ⁵	5,2x10 ⁴	75	> 7	0
6	ja	Apnoen, Bradykardien	19x10 ⁶	8x10 ³	42	56	3
7	ja	Apnoen, Bradykardien	2,4x10 ⁶	7,7x10 ⁵		53	18

Tab. 7: Klinisches Outcome der CMV-infizierten Frühgeborenen nach 2 Jahren

Patient	Bayley II: Mentale Skala	Interpretation mentale Skala	Bayley II: Motorische Skala	Interpretation motorische Skala	Sehtest	Hörtest
1	113	altersgerecht	50	retardiert, Zerebralparese bei PVL (GMFCS IV)	opB	opB
2	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
3	96	altersgerecht	100	altersgerecht	opB	opB
4	70	leicht retardiert	100	altersgerecht	opB	opB
5	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
6	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
7	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.

3.4 Enterale Ernährung mit Muttermilch

Alle 35 Kinder CMV-seropositiver Mütter der Studienkohorte erhielten während ihres Aufenthaltes Muttermilch. Bezüglich der erhaltenen Muttermilchmengen an Lebenstag 10 und 28 bestand kein statistisch signifikanter Unterschied, vergleicht man die Gruppe der Frühgeborenen mit CMV-Infektion mit der ohne CMV Infektion (Tab. 4).

**Abb. 4:** Enterales Nahrungsvolumen während der ersten 10 Lebenstage

Betrachtet man die jeweiligen exakten Muttermilchmengen der ersten 10 Lebenstage untereinander – bei nicht ausreichend vorhandener Muttermilch wurde stattdessen Formulanahrung verabreicht – so fällt auf, dass die Gruppe der später mit CMV infizierten Patienten insgesamt mehr enterale Nahrung während der ersten 10 Lebenstage erhielt, sich jedoch die erhaltene Muttermilch während der ersten 6 Lebenstage nur unwesentlich von der Gruppe der nicht-infizierten Patienten unterschied. An Lebenstag 6-10 erhielt die CMV-Gruppe sogar durchschnittlich weniger Muttermilch, was vor allem in einer Nahrungskarenz zweier Kinder aufgrund einer intestinalen Perforation in diesem Zeitraum mit daraus resultierender Laparotomie begründet liegt (Abb. 4).

Abbildung 5 zeigt den Anteil der mit Muttermilch ernährten Kinder seropositiver Frauen. Dabei fällt auf, dass an Lebenstag 6-10 der Anteil an Kindern, die Muttermilch erhielten, in der Gruppe ohne CMV-Transmission höher war als in der Gruppe mit CMV-Transmission. An dieser Stelle ist zu erwähnen, dass die CMV Transmission bei den beiden Patienten mit Nahrungskarenz ab Lebenstag 6 bzw. 7 an Lebenstag 3-5 bzw. 6 erfolgt sein muss, da bei diesen beiden die CMV Infektion noch vor Wiedereinführung von Muttermilch in der 30. SSW detektiert wurde (Patient 6 und 7, Tab. 5).

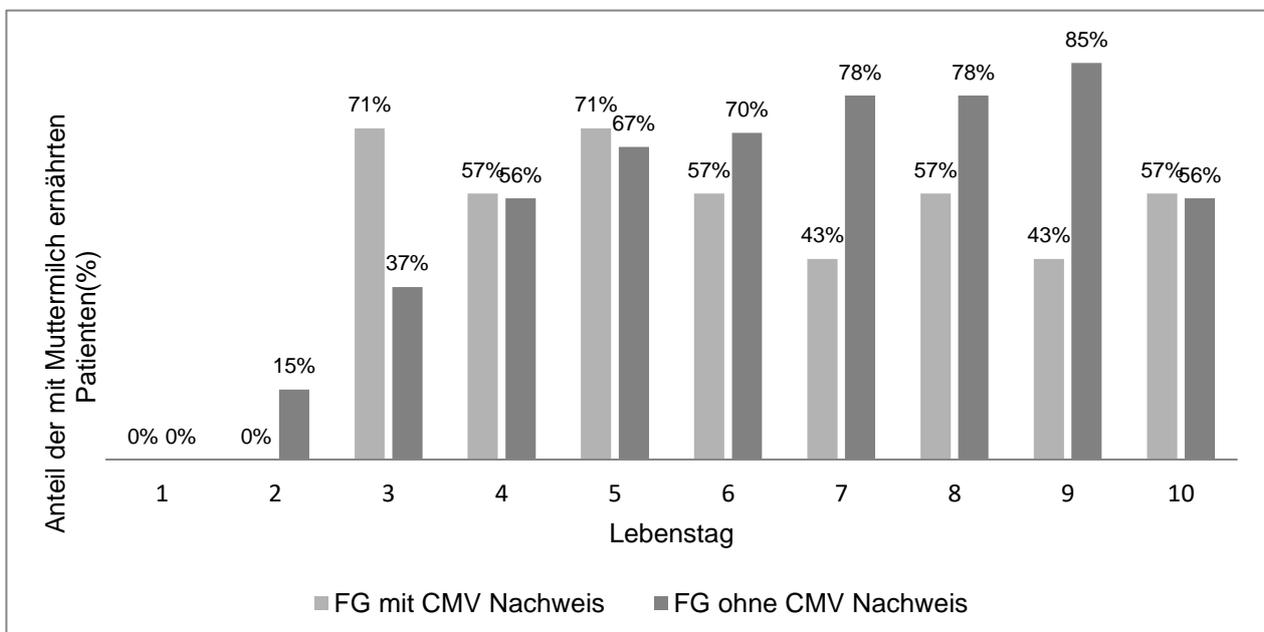


Abb. 5: Prozentzahlen der mit Muttermilch seropositiver Frauen ernährten Frühgeborenen in den ersten 10 Lebenstagen

3.5 Vergleich mit der historischen Kohorte

Von den 43 eingeschlossenen Patienten der historischen Kohorte entwickelte ein Kind eine postnatale CMV Infektion (vgl. Abb. 3). Hierbei handelte es sich um ein Frühgeborenes mit 27+6 SSW (Geburtsgewicht 1230 g). Die CMV Infektion fiel hier am 70. Lebenstag durch Nachweis einer hohen Viruslast in Blut und Urin, bei neu aufgetretenen Symptomen wie Thrombozytopenie, Apnoe-Bradykardiesyndrom sowie arterieller Hypertonie (am ehesten durch CMV-Vaskulitis), auf. Im Vergleich der historischen Kohorte mit der Studienkohorte fallen keine signifikanten Unterschiede bezüglich der klinischen Basischarakteristika auf (vgl. Tab. 8). Hinsichtlich des klinischen Verlaufs bestand in der historischen Kohorte ein signifikant längerer Sauerstoffbedarf ($p=0,001$), sowie häufigere EK Transfusionen ($p=0,016$) (Tab. 8). Die NEC-Rate betrug 23,3 % in der historischen Kohorte und 5 % in der Interventionskohorte ($p=0,005$).

Die Dynamik des enteralen Nahrungsaufbaus war in beiden Gruppen ähnlich, jedoch ist zu erwähnen, dass zu den Zeitpunkten Lebenstag 28 ($p=0,049$) und Gestationsalter 30+0 SSW ($p<0,001$) in der historischen Kohorte keine Muttermilch verabreicht wurde (Tab. 8).

Da die standardmäßige Behandlung mit Probiotika in etwa zeitgleich mit dem überarbeiteten Ernährungsregime eingeführt wurde, besteht auch hier ein signifikanter Unterschied (100 % in der Studienkohorte vs. 14 % in der historischen Kohorte, $p<0,001$).

Tab. 8. Vergleich der Studienkohorte mit der historischen Kohorte bezüglich klinischer Charakteristika (N=123)

Kategorien	Studienkohorte (n=80)	Historische Kohorte (n=43)	p-Wert
Geburtsdaten			
männlich:weiblich	47:33	25:18	1,0*
Mutter CMV-seropositiv ^a	35/78 (44,9)	11/18 (61,1)	0,296*
GA (SSW) ^b	25,9 ± 1,2	25,9 ± 1,6	0,95
Körpergewicht (kg) ^b	0,74 ± 0,22	0,78 ± 0,22	0,318
Körperlänge (cm) ^b	32,9 ± 3,2	32,5 ± 3,4	0,467
Mehrlinge ^a	35 (43,8)	18 (41,9)	0,851*
Apgar 5 min ^c	8 (1)	8 (1)	0,819
Apgar 10 min ^c	9 (1)	8 (1)	0,442
CRIB Score ^b	6,5 ± 3,3	5,9 ± 3,8	0,403
Klinischer Verlauf			
CMV Infektion ^a	7 (8,8)	1 (2,3)	0,259*
NEK ^a	4 (5)	10 (23,3)	0,005*
BPD ^a	17 (22,7)	8 (19,0)	0,815*
Sauerstoffbedarf ^a	40 (50)	34 (79,1)	0,002*
Dauer Sauerstoffbedarf (Lebenstage) ^c	0,5 (4)	3 (7)	0,001
EK Transfusionen ^c	1 (4)	3 (3)	0,016
Sepsis Episoden (Anzahl) ^c	0 (1)	0 (1)	0,684
Entlassdaten			
LT bei Entlassung ^c	117 (55)	101 (82)	0,762
Körpergewicht (kg) ^c	2,8 (0,9)	2,8 (1,8)	0,891
Körperlänge (cm) ^c	46,8 (4,1)	45,5 (9)	0,539
Ernährung			
Enterales Nahrungsvolumen LT 10 (ml) ^c	32 (41)	39 (78)	0,198
Enterales Nahrungsvolumen LT 28 (ml) ^c	104 (77)	96 (111)	0,375
Muttermilch LT 28 (ml)	0 (101)	0 (0)	0,049
Muttermilch GA 30+0 SSW (ml)	1 (78)	0 (0)	<0,00..1
Vollständiger enteraler Nahrungsaufbau (LT) ^c	21 (15)	18 (19)	0,654
Behandlung mit Probiotika ^a	80 (100)	6 (14)	<0,00..1*

(a) absolute Zahlen mit Prozentangabe

(b) Mittelwert +/- Standardabweichung

(c) Median (IQR)

4. Diskussion

4.1 Fragestellung und Grundidee

Das neu eingeführte Ernährungsregime, welches in der vorgelegten Arbeit hinsichtlich seiner Vor- und Nachteile für das vorliegende Patientenkollektiv untersucht wurde, stützte sich inhaltlich auf vorangehende Studien, die sich mit der zeitlichen Dynamik der postnatalen CMV Infektion durch Muttermilch beschäftigen und diente vor allem dazu, die Inzidenz für NEC, Sepsis und andere Komplikationen der Frühgeburtlichkeit durch frühzeitigere Verabreichung von Muttermilch zu senken. Insgesamt ist bekannt, dass die NEC Inzidenz bei Muttermilch-ernährten Frühgeborenen, 2 bis 6 mal niedriger ist als bei Formula-ernährten Frühgeborenen (Corpeleijn et al. 2012; Lucas und Cole 1990). Auch das Risiko für andere Infektionen ist bei Formula-ernährten Frühgeborenen deutlich höher (Hylander et al. 1998). Meinen-Derr et al. beschrieben eine Dosis-abhängige Assoziation von Muttermilch mit der Reduktion der NEC- und Mortalitätsrate (Meinen-Derr et al. 2009). Corpeleijn et al. untersuchten in ihrer Arbeit von 2012 explizit die Verabreichung von Muttermilch in den ersten 10 Lebenstagen und konnten hierfür eine Reduktion des Risikos für Sepsis, NEC und Mortalität demonstrieren (Corpeleijn et al. 2012). Analog wurde auch in der vorgelegten Studie durch die sofortige postnatale Gabe von Muttermilch bis zum 10. Lebenstag insgesamt ein verbessertes Outcome erwartet (Corpeleijn et al. 2012). Die CMV-Sekretion in die Muttermilch erreicht - der aktuellen Studienlage nach - ihr Maximum nach 4-8 Wochen und endet 9-12 Wochen post partum (Hamprecht et al. 2008). Aus diesem Grund wurde, im Rahmen der Modifikation des Ernährungsregimes, die Ernährung mit Muttermilch bei Frühgeborenen CMV-seropositiver Mütter ab dem 11. Lebenstag bis zu einem Gestationsalter von 30+0 SSW unterbrochen.

4.2 Ernährungsregime und Virusinaktivierung in der Muttermilch

Die Dynamik der postnatalen CMV Übertragung von der Mutter auf ihr Neugeborenes soll im Folgenden näher beleuchtet werden.

Für eine vertikale Transmission sind die Seropositivität der Mutter sowie eine Reaktivierung des Virus durch das Stillen Grundvoraussetzungen. Letztere kann durch Nachweis von Virus bzw. viraler DNA in den Milchzellen oder in zellfreier Molke

nachgewiesen werden (Hamprecht et al. 2001; Hamprecht und Goelz 2015). Wie diese Studien belegen, ist die Sekretion viraler DNA in die Muttermilch, also die Virolaktie, jedoch bei nahezu allen CMV seropositiven Müttern während der Stillperiode nachweisbar (Goelz und Hamprecht 2008; Hamprecht et al. 2001; Hamprecht und Goelz 2015; Meier et al. 2005; Yasuda et al. 2003). Daher wurde in der vorliegenden Studie von einer hundertprozentigen Sekretion des Virus in die Muttermilch ausgegangen und auf die finanziell und technisch aufwändige Testung aller seropositiven Mütter auf das Vorhandensein von CMV DNA in der Muttermilch verzichtet. Durch diese Einschränkung war es jedoch nicht möglich, Rückschlüsse von der Viruslast der Mütter auf das Risiko der CMV Transmission zu ziehen. Diverse Studien geben Anhaltspunkte für einen Zusammenhang zwischen maximaler Viruslast in der Muttermilch und dem Übertragungszeitpunkt (Doctor et al. 2005; Hamprecht et al. 2001; Meier et al. 2005; Omarsdottir et al. 2015). Hamprecht et al. beschreiben für CMV-Überträgerinnen einen früheren Zeitpunkt der CMV Detektion in der Muttermilch als für Mütter, von denen keine Übertragung des Virus auf das Neugeborene stattfand (5 Tage vs. 11,4 Tage nach Geburt). Ob durch diesen Ansatz eine weitere Reduktion der Übertragungsrate möglich wäre, ist unklar.

Muttermilch, die in den ersten 10 Lebenstagen gefüttert wurde, wurde bei -24 °C für mindestens 24 Stunden eingefroren, um eine längere Haltbarkeit zu erzielen. Zusätzlich wurden niedrigere CMV-Transmissionsraten durch zuvor eingefrorene Muttermilch beschrieben (Dworsky et al. 1982; Hamprecht et al. 2005). Die Ernährungskommission der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde hatte noch 2009 das Einfrieren von Muttermilch für alle Frühgeborenen <32+0 SSW bei CMV-Seropositivität der Mutter empfohlen (Ernährungskommission der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde 2019). Jedoch zeigen neuere Studien, dass die Kryoinaktivierung zwar das schonendste, jedoch auch das im Vergleich zu anderen Verfahren am wenigsten effektive Verfahren zur Virusinaktivierung in der Muttermilch ist. Grundsätzlich haben diverse Studien demonstriert, dass Kältebehandlung die Viruslast in der Muttermilch zwar reduziert, ihre potentielle Infektiosität oder den Schweregrad der klinischen Symptome jedoch nicht aufheben bzw. abmildern kann (Friis und Andersen 1982; Hamprecht et al. 2008; Maschmann et al. 2006). Omarsdottir et al. untersuchten in ihrer Studie von 2015 das routinemäßige Einfrieren von Muttermilch bei -20 °C für

mindestens 3 Tage und beschreiben eine vergleichbare CMV-Transmissionsrate für kryoinaktivierte wie für frische, unbehandelte Muttermilch (Omarsdottir et al. 2015). Auch die Morbidität war hier in beiden Gruppen ähnlich, es existierte jedoch ein Trend hin zu einer niedrigeren Inzidenz einer Candida Sepsis in der Kryo-Gruppe (Omarsdottir et al. 2015). Als weitere Möglichkeit der Virusinaktivierung gilt die Pasteurisierung, welche, je nach Art und Dauer der Behandlung, in Langzeit-, Kurzzeit- oder Holderpasteurisierung unterteilt wird. Um eine hochgradige Reduktion der CMV-Infektionsrate zu erzielen, sollte diese in Betracht gezogen werden (Ernährungskommission der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde 2019). Hier hat sich die Empfehlung auch dahingehend geändert, dass die Altersgrenze für eine empfohlene Pasteurisierung von <math><32+0\text{ SSW}</math> auf <math><28+0\text{ SSW}</math> verschoben wurde, was die vorliegende Studie in der Grundvoraussetzung, dass eine postnatale CMV Infektion besonders diesem Kollektiv gefährlich werden kann, bestätigt. Unter den Methoden der Pasteurisierung scheint durch Holder-Pasteurisierung die effektivste Reduktion der Viruslast erzielt zu werden. Zusätzlich werden dabei nicht so viele protektive Inhaltsstoffe in der Muttermilch denaturiert wie bei Langzeitpasteurisierung (Ford et al. 1977; Hamprecht et al. 2005). Die Kurzzeit-Pasteurisierung (62 °C für 5 Sekunden) erscheint jedoch aufgrund der technischen Umsetzbarkeit und auch unter wirtschaftlichen Aspekten im Klinikalltag am praktikabelsten. Zu erwähnen ist, dass das Verabreichen nicht vorbehandelten Kolostrums, wie in der vorliegenden Studie praktiziert, eine CMV Übertragung nicht ausschließt, dennoch überwiegen die Vorteile der Muttermilch gegenüber dem sehr geringen CMV-Übertragungsrisiko in den ersten 3 Lebenstagen (Ernährungskommission der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde 2019). Generell wird bis heute die Pasteurisierung der Muttermilch CMV seropositiver Mütter erst ab dem 4. Lebenstag empfohlen (Ernährungskommission der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde 2019).

Die Einrichtung einer Frauenmilchbank, um eine flächendeckende Versorgung mit Frauenmilch zu gewährleisten, wäre grundsätzlich wünschenswert, allerdings ist dies mit einem erheblichen materiellen und personellen Aufwand verbunden. Abgesehen von der Tatsache, dass davon auszugehen ist, dass Spendermilch nicht das exakt gleiche, auf das jeweilige Frühgeborene und dessen Gestationsalter abgestimmte Mikrobiom darstellen kann wie die Milch der eigenen Mutter, birgt die Verwendung von

Spendermilch noch andere Risiken (Fernández et al. 2018). So kann zum Beispiel die Verwendung von Milchpumpen das Risiko einer Kontamination mit gramnegativen Bakterien erhöhen (Fernández et al. 2018). Dieses Risiko besteht jedoch auch bei extrem unreifen Frühgeborenen, die nicht gestillt werden können, bei der Ernährung mit der eigenen Muttermilch. Zudem ist ein lückenloses mikrobiologisches und virologisches Screening der Spenderin und Ihrer Milch notwendig, um ein Infektionsrisiko zu minimieren, sowie eine gute Schulung der Spenderinnen in Bezug auf die bei der Gewinnung und Konservierung der Milch erforderlichen Hygienemaßnahmen (Fernández et al. 2018). In vielen Zentren wird die Spendermilch pasteurisiert, um die Übertragungsrisiken zu minimieren, wodurch jedoch leider auch andere wertvolle Inhaltsstoffe denaturiert werden. Experimente, bei denen kleine Anteile von eigener Muttermilch mit Spendermilch gemeinsam inkubiert werden, um so eine "Personalisierung" der Frauenmilch zu erreichen, könnten möglicherweise in der Zukunft den gegenwärtigen Standard ablösen (Fernández et al. 2018). Hiervon könnten vor allem die Frühgeborenen profitieren, deren Mütter postnatal nicht sofort in der Lage sind, genügend Muttermilch zu produzieren (Fernández et al. 2018). Die Synthese eines idealen Muttermilch-Mikrobioms – angelehnt an das Prinzip der Darmtransplantation – stellt Wissenschaftler bislang noch vor große Herausforderungen (Fernández et al. 2018).

4.3 Patientenkollektiv und Ausschlusskriterien

Wie in verschiedenen Studien beschrieben, findet der Transfer maternaler Antikörper auf den Fetus üblicherweise erst ab einem Gestationsalter von 28 SSW statt (Bryant et al. 2002). Dies impliziert ein höheres CMV-Infektionsrisiko für Frühgeborene unter 28 SSW, weshalb sich die vorliegende Studie auf diese Kohorte konzentrierte (Bryant et al. 2002; Omarsdottir et al. 2015). Zudem wurde für extrem unreife Frühgeborene mit einem Gestationsalter zwischen 22 und 24 SSW in der Literatur ein hohes Risiko für schwere CMV Infektionen mit längeren Beatmungszeiten beschrieben (Mehler et al. 2014).

Der Ausschluss einer relativ hohen Zahl an Patienten der Studienkohorte war notwendig, da die Mehrzahl dieser Kinder bereits innerhalb der ersten Wochen post partum verstarb (n=25) und eine Beurteilung hinsichtlich einer möglichen späteren CMV

Infektion somit nicht möglich war. Bei 62,5 % der 32 exkludierten Patienten war der mütterliche Serostatus bekannt, bei den restlichen lag dieser nicht vor. Alle ausgeschlossenen Patienten wurden auf das Vorhandensein von CMV DNA getestet, solange dies möglich war. Ein positiver Befund lag hier bei keinem der exkludierten Patienten vor. Hamele et al. belegen, dass eine postnatale CMV Infektion im Durchschnitt meist erst nach 35 Lebenstagen auftritt, was eine unerkannte CMV Infektion bei Frühgeborenen, welche innerhalb der ersten sechs Lebenswochen verstarben, unwahrscheinlich macht (Hamele et al. 2010). Die Mortalitätsrate von 28,8 % in der historischen Kohorte und 22,3 % in der Studienkohorte entspricht annähernd der in der Literatur berichteten Mortalitätsrate extrem unreifer Frühgeborener (Voss et al. 2016). In Deutschland werden ca. 0,6 % aller Kinder mit einem Gestationsalter < 28 SSW geboren (Voss et al. 2016). Diese Kinder haben ein erhöhtes Risiko für sprachliche und motorische Entwicklungsstörungen, Zerebralpareesen und geistige Behinderungen. Als Risikofaktoren hierfür gilt neben den intraventrikulären Hirnblutungen und der periventrikuläre Leukomalazie auch eine Unreife <26 SSW (Voss et al. 2016).

4.4 Diskussion der Ergebnisse

4.4.1 CMV Transmission und Krankheitsverläufe

Die Prozentzahlen zur postnatalen CMV Infektion, die in der Literatur angegeben werden, divergieren zwischen 6 % und 65 % der Kinder, bezogen auf Kinder CMV-seropositiver Mütter bzw. Mütter mit nachweisbarer CMV-DNA in der Muttermilch (Doctor et al. 2005; Hamprecht et al. 2001; Martins-Celini et al. 2016; Mehler et al. 2014; Meier et al. 2005; Omarsdottir et al. 2015).

Hierbei ist zu erwähnen, dass die Studien sich auf unterschiedliche Patientenkollektive, die insbesondere in Bezug auf das Gestationsalter voneinander abweichen, beziehen. So wird in der Studie von Mehler et al. mit der höchsten Inzidenz von 65 % nur ein sehr kleines Kollektiv (GA 22 bis 24 SSW) untersucht, welches ein besonders hohes Risiko für eine symptomatische postnatale CMV Infektion zu haben scheint (Mehler et al. 2014). In Tabelle 9 wurden die vorhandenen Studien zur Inzidenz der postnatalen CMV Infektion hinsichtlich ihres Ernährungsregimes, des untersuchten Kollektivs und des CMV Screenings tabellarisch aufgelistet (vgl. Tab. 9). Bei der mit Sternchen (*)

versehene Studie von Mehler et al. handelte es sich um einen Studienansatz, bei welchem ein CMV Screening nur bei klinischen Symptomen durchgeführt wurde, während bei den anderen hier gezeigten Studien ein Screening-Ansatz verwendet wurde, durch welchen auch asymptomatische CMV Infektionen detektiert wurden.

Tab. 9: Vergleich der Studien zur Inzidenz der postnatalen CMV-Infektion bei Kindern von Müttern mit positivem CMV-Serostatus bzw. nachweisbarer CMV-DNA in der Muttermilch

Autor, Datum der Veröffentlichung (Beobachtungszeitraum)	Ernährungsregime	Patientenkollektiv	CMV Screening	Inzidenz
Hamprecht et al., 2001 (1995-1998)	Muttermilch, keine Spendermilch	GA < 32 SSW oder Geburtsgewicht < 1500 g (n=176)	Rachen- und Ohrabstrich 2 h nach Geburt (PCR), Muttermilch und neonataler Urin (PCR) an Tag 7, dann alle 14 Tage bis Entlassung	38%
Doctor et al., 2005 (1999-2000)	Muttermilch (unbehandelt, gekühlt bei 4°C für ≤ 24 h oder gefroren bei -20°C für bis zu 3 Monate) oder Formulanahrung, keine Spendermilch	Geburtsgewicht ≤ 1000 g (n= 119)	Urin-PCR in der 1. Lebenswoche, danach wöchentlich	6%
Meier et al., 2005 (1999-2003)	unbehandelte Muttermilch, alternativ Formulanahrung	GA 24 bis 33 SSW, Geburtsgewicht 380 - 2010 g (n=89)	PCR aus Muttermilch, Trachealsekret/Rachenabstrich und Urin an Tag 3, 7 und ab dann wöchentlich	37%
Mehler et al., 2014 (2012) *	Muttermilch (unbehandelt oder eingefroren bei -20°C)	GA 22-24 SSW (n=26)	Urin-PCR bei klinischem Verdacht *	65%
Omarsdottir et al., 2015 (2005-2009)	Muttermilch (unbehandelt oder eingefroren bei -20°C für ≥3 Tage), alternativ Spendermilch (bis 34 SSW, danach Formula)	GA <28 SSW (n=140)	PCR aus Muttermilch alle 2 Wochen, Urin-PCR innerhalb der ersten 3 Lebenswochen und nach 4, 6, 8 und 12 Wochen	8%
Martins-Celini et al., 2016 (n.a.)	unbehandelte Muttermilch, gelagert bei 4°C, nach 10 h pasteurisiert	GA ≤30 SSW (n=188)	PCR aus Speichelproben alle 2 Wochen bis LT 45, danach alle 3 Wochen	15%

Somit liegt das vorliegende Patientenkollektiv mit einer Transmissionsrate von 20 % eher im mittleren Durchschnitt. Der Anteil symptomatischer CMV Infektion liegt jedoch nur bei 14 %, bei den anderen beiden Fällen handelte es sich um asymptomatische Infektionen die nur durch das Screening erkannt wurden. Gehen wir von einem höheren CMV-Infektionsrisiko für Frühgeborene <28 SSW aus (Bryant et al. 2002; Omarsdottir et al. 2015), so handelt es sich bei der hier vorgestellten Studie um ein besonderes Risiko-Kollektiv. Bei einer Einbeziehung der im Studienzeitraum in unserer Abteilung geborenen Frühgeborenen von 28-30 SSW würde die Transmissionsrate deutlich geringer ausfallen, da bei diesen Kindern keine weitere symptomatische CMV Infektion nachweisbar war. Auch eine konsequente Bestimmung des CMV Status der Mutter ist sowohl für die Bewertung des Transmissionrisikos als auch zur Prävention der CMV Infektion, beispielsweise durch intermittierende Verwendung von Spendermilch oder Formulanahrung, essentiell.

Insgesamt fällt in der vorliegenden Studie eine Inhomogenität der klinischen Charakteristika und der Krankheitsverläufe der Gruppe der Frühgeborenen mit CMV-Infektion auf. Hier waren weder Geburtsgewicht noch Gestationsalter mit der Entwicklung einer CMV Infektion assoziiert, wobei Schlussfolgerungen hieraus im Hinblick auf die kleine Studienkohorte nur eingeschränkt möglich sind (vgl. Tab. 5).

Es ist anzunehmen, dass in den drei Fällen, in denen der CMV Nachweis vor Wiedereinführung von Muttermilch mit 30+0 SSW stattfand, das CMV durch die Muttermilch, welche in den ersten 10 Lebenstagen verabreicht wurde, übertragen wurde. Bemerkenswert ist hier, dass die durchschnittlich verabreichten Muttermilchmengen in den ersten 10 Lebenstagen stark voneinander abweichen (40 ml/Tag bei Patient 1 und 0,3 ml/Tag bei Patient 7, Tab. 6). Patient 6 und 7 erhielten sogar ab Lebenstag 6 bzw. 7 aufgrund einer chirurgischen Intervention gar keine Nahrung mehr, sodass auch sehr geringe Mengen an Muttermilch für eine vertikale Transmission des Virus ausreichen dürften.

In der vorliegenden Studie fällt auf, dass in 4 von 7 Fällen der Virusnachweis erst ab der 35. SSW auftrat (vgl. Tab. 5 und 6). Ab einem Gestationsalter von 30+0 SSW hatten diese Frühgeborenen bereits wieder frische, unbehandelte Muttermilch erhalten, sodass die Infektion auch zu einem späteren Zeitpunkt hätte verursacht worden sein können.

Die Diagnosestellung erfolgte mit 3 bis 13 Wochen (22 bis 92 Lebenstage; Median 8 Wochen) postnatalem Alters, was über den in der Literatur beschriebenen häufigsten Transmissionszeitraum (4 bis 8 Wochen post partum) hinausgeht. Jedoch fiel bei zwei Kindern die asymptomatische CMV Infektion im Rahmen des Entlass-Screenings als Zufallsbefund auf, sodass hier retrospektiv der Zeitpunkt der Transmission nicht eindeutig zu benennen ist. Der exakte Transmissionszeitpunkt kann insgesamt auch bei aufwändigstem Studiendesign nur sehr ungenau zugeordnet werden, da sich die Nachweisbarkeit von CMV in der Muttermilch über einen großen Zeitraum erstreckt.

Alternative Infektionsquellen wie Bluttransfusionen oder horizontale Transmissionen über Angehörige oder Krankenhauspersonal gelten als Übertragungsweg auf Grund der heutigen Standards zur Herstellung von Blutprodukten und Hygienemaßnahmen als ausgesprochen unwahrscheinlich (Bryant et al. 2002). Bei der Herstellung von Erythrozytenkonzentraten ist die Leukozytendepletion, also die nahezu vollständige Abtrennung von Spender-Leukozyten, ein standardisiertes Verfahren, das seit 2001 für alle Blutprodukte, unabhängig vom CMV-Status des Spenders in Deutschland gesetzlich vorgeschrieben ist (Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit 2017). Verschiedene Studien konnten zeigen, dass die Häufigkeit einer HCMV-Virämie bei stammzelltransplantierten Patienten nicht von der Verwendung ausschließlich leukozytendepletierter Blutprodukte (CMV-seropositiv oder -negativ) oder von Blutprodukten eines seronegativen Spenders abhängig waren (Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit 2017). Die Übertragung von CMV über Blutprodukte ist dementsprechend ausgesprochen gering, auch wenn theoretisch ein seronegativer Spender im Rahmen einer akuten Infektion freies CMV Virus übertragen könnte.

4.4.2 Nekrotisierende Enterokolitis und CMV

Die Assoziation zwischen einer niedrigeren NEC Rate und der frühzeitigen Verabreichung von Muttermilch bei extrem unreifen Frühgeborenen ist bereits ausführlich untersucht worden (Chauhan et al. 2008; Corpeleijn et al. 2012; Eidelman und Schanler 2012; Hair et al. 2016; Henderson et al. 2009; Sullivan et al. 2010). Es existieren Daten zu einem von der verabreichten Menge an Muttermilch abhängigen, protektiven Effekt (Poindexter et al. 2009). Diese zeigen, dass ein reziprokes Verhältnis

zwischen dem erhaltenen Volumen an Muttermilch und der NEC Inzidenz besteht (Poindexter et al. 2009). Bei Kombination von Muttermilch und Formulanahrung, zum Beispiel bei Frühgeborenen, deren Mütter postnatal noch nicht genügend Milch produzieren, konnten Sisk et al. zeigen, dass ein größerer Anteil von Muttermilch an der Gesamtnahrungsmenge mit einer niedrigeren NEC Inzidenz einhergeht (Sisk et al. 2007). Ob diese Resultate ausschließlich durch den protektiven Effekt der Muttermilch erklärbar sind oder ob möglicherweise Formulanahrung durch bislang ungeklärte Mechanismen zur Entstehung einer NEC beitragen könnte, erfordert weitere Studien (Sisk et al. 2007). Das in der vorliegenden Studie verwendete Ernährungsregime stützte sich vor allem auf die Erwartung eines positiven Effekts der Verabreichung von Muttermilch sofort nach Geburt bzw. in den ersten 10 Lebenstagen (Corpeleijn et al. 2012). Wie Tabelle 8 demonstriert, nahm durch Änderung des Ernährungsregimes die NEC Inzidenz signifikant ab. Hierzu beigetragen hat möglicherweise auch der zeitgleiche Beginn einer Probiotikaphylaxe für alle Frühgeborenen auf der neonatologischen Intensivstation. Eine signifikante Reduktion von NEC-Inzidenz, Late-onset Sepsis und Mortalität durch Probiotika-Supplementation konnte durch verschiedene Meta-Analysen gezeigt werden (Aceti et al. 2015; Dermyschi et al. 2017; Sawh et al. 2016; Yang et al. 2014). Dieser Effekt wurde im Speziellen für Probiotika, die sowohl Lactobazillen als auch Bifidobakterien enthalten, beschrieben. Diese wurden auch ab 2011 in der Abteilung für Neonatologie verwendet. (Dermyschi et al. 2017; Sawh et al. 2016). Es ist jedoch anzumerken, dass sich die Ernährungsmodalitäten der in den Meta-Analysen eingeschlossenen Studien, stark unterscheiden. Teilweise wurde der Effekt bei Kombination von exklusiver Ernährung mit Frauenmilch (und Frauenmilch-basierten Zusätzen) und Probiotika-Supplementation untersucht, sodass genauere Schlussfolgerungen über einen Einzel-Effekt der beiden Faktoren nicht gezogen werden können (Sato et al. 2020). Zusätzlich muss umgekehrt die Verabreichung von Formulanahrung als möglicher Risikofaktor für die Entstehung einer NEC berücksichtigt werden (Dermyschi et al. 2017; Sawh et al. 2016).

Patel et al. zeigten in einer Kohorte von 596 Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht <1500 g, dass 18 % der Kinder mit einer postnatalen CMV Infektion (n=33) eine NEC entwickelten. In der Gruppe ohne CMV Infektion betrug die NEC-Inzidenz nur 7 % (Patel et al. 2019). Hierbei konnte eine Assoziation zwischen der Höhe der maximalen CMV-

Viruslast in der Muttermilch in den ersten 14 Lebenstagen und der Entwicklung einer NEC festgestellt werden (Patel et al. 2019). Möglicherweise erhöht eine CMV Infektion die Vulnerabilität des Darms und begünstigt durch Störung der intestinalen Permeabilität die sekundäre Einwanderung von Bakterien und fördert somit die Entstehung einer nekrotisierenden Enterokolitis (Tengsupakul et al. 2013; Tran et al. 2013). Dieser Zusammenhang spräche für die Einrichtung von Frauenmilchbanken, da durch die Verwendung CMV-seronegativer Frauenmilch sowohl CMV- als auch NEC-Inzidenz gesenkt werden könnten.

Anhand eines Fallberichts konnte gezeigt werden, dass auch bei Frühgeborenen eine CMV-Virämie bereits mehrere Wochen vor dem Auftreten einer symptomatischen CMV Infektion nachweisbar sein könnte. Ein wöchentliches Screening auf CMV-DNA könnte möglicherweise helfen, bei Frühgeborenen eine CMV Infektion frühzeitig zu identifizieren (Tengsupakul et al. 2013). Dies wird in ähnlicher Form bereits bei Patienten nach Stammzelltransplantation gehandhabt, so dass ab einer bestimmten Viruslast im Blut frühzeitig eine antivirale Therapie eingeleitet werden könnte (Tengsupakul et al. 2013).

4.4.3 Langzeitfolgen

Die Diskussion, ob eine frühzeitige Verabreichung von Muttermilch an extrem unreife Frühgeborene seropositiver Mütter sinnvoll ist oder ob aufgrund des Risikos einer schlechteren neurokognitiven Entwicklung nach postnataler CMV Infektion davon abgesehen werden sollte, ist ungeklärt (Goelz et al. 2013). Goelz et al. beobachteten in einer prospektiven Studie mit Matched-Pair-Design eine schlechtere neurokognitive Entwicklung bei 42 ehemals extrem unreifen Frühgeborenen mit postnataler CMV Infektion im Vergleich zu Kindern ohne postnatale CMV-Infektion (Goelz et al. 2013). Im Rahmen einer post-hoc Analyse zeigten sich, im mittleren Alter von 6-7 Jahren, signifikant schlechtere Werte in einer Skala des Kaufmann-ABC Intelligenztests nur bei den Kindern, die bereits während des Krankenhausaufenthaltes an einer CMV Infektion erkrankten (Goelz et al. 2013). Auch Brecht et al. fanden in ihrer Follow-Up-Studie von 2015, in der sie ehemalige Frühgeborene mit und ohne postnatale CMV-Infektion im Alter von 11 bis 17 Jahren hinsichtlich ihres Intelligenzquotienten verglichen, signifikant niedrigere Ergebnisse im verwendeten Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Kinder IV für die ehemals CMV-infizierte Gruppe (Brecht et al. 2015). Eine sehr aktuelle Studie

konnte ein erhöhtes Risiko für Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht <1500g und postnataler CMV Infektion für Störungen der Hörfunktion, Wachstumsstörungen sowie eine längere Hospitalisierung demonstrieren (Weimer et al. 2020). Insgesamt ist die Datenlage jedoch bisher uneinheitlich bezüglich des Langzeitoutcomes. Die meisten Studien fanden keinen Einfluss auf die Entwicklung innerhalb der ersten 2 bis 4,5 Lebensjahre nach postnataler CMV Infektion (Brecht et al. 2015; Gunkel et al. 2018; Jim et al. 2015; Vollmer et al. 2004). Gunkel et al. zeigten darüber hinaus, dass auch im 6. Lebensjahr bei Kindern mit postnataler CMV Infektion keine Einschränkung der neurologischen Entwicklung oder der Hörfunktion zu verzeichnen war (Gunkel et al. 2018). Lediglich der verbale Intelligenzquotient war hier im Vergleich zu nicht-infizierten Kindern signifikant erniedrigt, was sich jedoch auch durch soziale und epidemiologische Faktoren erklären lässt (Gunkel et al. 2018). In der vorliegenden Studie konnten nur 3 der 7 Patienten mit CMV Infektion im Verlauf nachuntersucht werden. Bei diesen waren in der Nachuntersuchung mit 2 Jahren keine Einschränkungen hinsichtlich der Seh- und Hörfähigkeit zu beobachten. Die motorische Retardierung bei einem Patienten mit schwerer Zerebralparese (GMFCS IV) bei periventrikulärer Leukomalazie kann nicht sicher der postnatalen CMV Infektion zugeordnet werden (vgl. Tab. 7). In der vorliegenden Studie wurden alle Patienten mit symptomatischer CMV Infektion (n=5) nach Virusnachweis mit Ganciclovir bzw. Valganciclovir therapiert. Ob hierdurch die neurokognitive Entwicklung im Vergleich zu unbehandelten Kindern positiv beeinflusst werden kann, ist unklar. Bei guter Nahrungsverträglichkeit und nicht bestehender Notwendigkeit eines zentralvenösen Zugangs wurde die Therapie auf orales Valganciclovir umgestellt. Hierunter zeigte sich die Viruslast in EDTA-Blut und Urin rasch rückläufig, was die These stützt, dass eine orale Therapie mit Valganciclovir ebenso wirksam ist wie die intravenöse Gabe von Ganciclovir (Müller et al. 2008). In der Beurteilung der Spätfolgen einer postnatalen CMV Infektion ist es wichtig, andere Komplikationen von Frühgeburtlichkeit, wie intraventrikuläre Blutungen, periventrikuläre Leukomalazie, fokale intestinale Perforationen, NEC, BPD etc., in Betracht zu ziehen.

4.5 Schlussfolgerung

In der Beurteilung eines Ernährungsregimes sollte der Einfluss der NEC gegen den Einfluss der CMV Infektion auf das neurokognitive Outcome abgewogen werden.

Die Mortalität der NEC reicht von 10 bis 50 % (Henry und Moss 2009) und Überlebende einer NEC haben, insbesondere nach chirurgischer Intervention, ein deutlich erhöhtes Risiko für eine langfristige neurologische Beeinträchtigung (Schulzke et al. 2007). Der positive Effekt des Einsatzes von Spendermilch auf die Rate der NEC im Vergleich zur Ernährung mit Formulanahrung ist bekannt (Cristofalo et al. 2013). Um das Risiko für eine NEC und für eine postnatale CMV Infektion gleichermaßen zu senken, könnte die Verwendung von Spendermilch bzw. die Einrichtung von Frauenmilchbanken ein sinnvoller Ansatz sein.

Insgesamt sollte bei extrem unreifen Frühgeborenen nur in Ausnahmefällen von der Verabreichung von Muttermilch bzw. Spendermilch abgesehen werden.

5. Zusammenfassung

Bislang existieren nur wenige Studien, welche die Auswirkung einer besonders frühzeitigen Verabreichung von Muttermilch an Frühgeborene auf die CMV-Transmissionsrate untersuchen. Besonders gefährdet ist hier das Kollektiv der Frühgeborenen unter 28 SSW, weshalb sich die vorliegende Studie ausschließlich auf diese Kohorte konzentrierte (Bryant et al. 2002; Omarsdottir et al. 2015). Untersucht wurden 80 Frühgeborene mit einem Gestationsalter unter 28 SSW, die in den ersten 10 Lebenstagen Muttermilch erhielten. Insgesamt 35 Frühgeborene CMV-seropositiver Mütter wurden im Studienzeitraum geboren, bei 7 von ihnen war eine postnatale CMV-Infektion nachweisbar. Die CMV Transmissionsrate lag somit in der Studienkohorte bei 20 %. Betrachtet man nur die symptomatischen CMV Infektionen, lag die Rate nur bei 14 %. Zu erwähnen ist hier, dass in diversen Studien eine höhere Infektionsrate für extrem unreife Frühgeborene zu beobachten war, sodass es sich bei dem hier betrachteten Patientenkollektiv um ein besonderes Risiko-Kollektiv handelte, für welches eine potentiell höhere Rate an CMV-Infektionen zu erwarten ist (Mehler et al. 2014). Die Studienkohorte wurde mit einer historischen Kohorte verglichen, die erst ab einem Gestationsalter von 32 SSW Muttermilch erhielt. Hier ergab sich bei 43 Frühgeborenen unter 28 SSW eine Häufigkeit von 2,3 % für eine postnatale CMV Infektion. Auffallend ist, dass bereits sehr geringe Mengen an Muttermilch für eine CMV Übertragung ausreichen. In der Studienkohorte war die NEC-Inzidenz signifikant niedriger als in der historischen Kohorte (5 % versus 23,3 %; $p=0,005$). Grundsätzlich könnte die Einrichtung von Frauenmilchbanken ein sinnvoller Schritt sein, um das NEC- und CMV-Risiko gleichermaßen zu senken. Jedoch sollte, auch in Anbetracht der inkongruenten Studienlage bezüglich der Spätfolgen einer CMV-Infektion, nur in Ausnahmefällen auf die Verabreichung von Muttermilch verzichtet werden, da die Vorteile in den meisten Fällen überwiegen (Corpeleijn et al. 2012; Gunkel et al. 2018). Weitere Studien sind notwendig, um die Dynamik der postnatalen CMV Infektion genauer charakterisieren und konkrete Empfehlungen für ein ideales Ernährungsregime geben zu können.

6. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Elektronenmikroskopische Aufnahme von HCMV-Partikeln.....	10
Abbildung 2:	Definition der BPD gemäß der NIH Konsensuskonferenz.....	24
Abbildung 3:	Flussschema des vorliegenden Patientenkollektivs.....	33
Abbildung 4:	Enterales Nahrungsvolumen während der ersten 10 Lebenstage...35	
Abbildung 5:	Prozentzahlen der mit Muttermilch ernährten Frühgeborenen in den ersten 10 Lebenstagen.....	39

7. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Modifizierte Bell-Klassifikation der NEC (Bell et al., modifiziert von Walsh und Kliegman).....	20
Tabelle 2:	Normalverteilungstest für Frühgeborene CMV positiver Mütter in der Studienkohorte.....	30
Tabelle 3:	Normalverteilungstest für die Gesamtkohorte.....	31
Tabelle 4:	Vergleich der Frühgeborenen mit und ohne postnatale CMV Infektion in der Studienkohorte (N=35).....	35
Tabelle 5:	Basisdaten der CMV-infizierten Frühgeborenen.....	37
Tabelle 6:	Klinischer Verlauf der CMV Infektionen.....	37
Tabelle 7:	Klinisches Outcome der CMV-infizierten Frühgeborenen nach 2 Jahren..	38
Tabelle 8:	Vergleich der Studienkohorte mit der historischen Kohorte bezüglich klinischer Charakteristika (N=123).....	41
Tabelle 9:	Vergleich der Studien zur Inzidenz der postnatalen CMV-Infektion bei Kindern von Müttern mit positivem CMV-Serostatus bzw. nachweisbarer CMV-DNA in der Muttermilch.....	47

8. Publikationen

Die Inhalte dieser Arbeit wurden als Poster mit dem Titel „Die Inzidenz Muttermilch-assoziiertes CMV-Infektionen bei extrem unreifen Frühgeborenen nach Einführung eines alternativen Ernährungsprotokolls“ auf der 44. Jahrestagung der Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin 2018 in Rostock präsentiert.

9. Literaturverzeichnis

Aceti A, Gori D, Barone G, Callegari ML, Mauro A Di, Fantini MP, Indrio F, Maggio L, Meneghin F, Morelli L, Zuccotti G, Corvaglia L. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants : systematic review and meta-analysis. *Ital J Pediatrics* 2015;14:1–20

American Academy of Pediatrics. Provisional Section on Breastfeeding. *Pediatrics* 2001;108:1216–1217

Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften - Ständige Kommission Leitlinien. Prävention und Therapie der bronchopulmonalen Dysplasie Frühgeborener. https://www.gnpi.de/leitlinien/aktuell/024-014_S2_Praevention_und_Therapie_der_bronchopulmonalen_Dysplasie_Fruehgeborener_06-2009_06-2014.pdf (Zugriff: 02.06.2020). 2010

Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit. Humanes Cytomegalovirus (HCMV) - Stellungnahmen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit. *Bundesgesundheitsblatt* 2000: 653–659

Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit. Humanes Cytomegalievirus (HCMV). https://www.rki.de/DE/Content/Kommissionen/AK_Blut/Stellungnahmen/download/stHCMV_2017.pdf?__blob=publicationFile (Zugriffsdatum: 02.06.2020). 2017: 1–45

Arslanoglu S, Corpeleijn W, Moro G, Braegger C, Campoy C, Colomb V, Decsi T, Domellöf M, Fewtrell M, Hojsak I, Mihatsch W, Molgaard C, Shamir R, Turck D, Van Goudoever J. Donor human milk for preterm infants: Current evidence and research directions. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013;57:535–542

Bell MJ, Ternberg JL, Feigin RD, Keating JP, Marshall R, Barton L, Brotherton T. Neonatal Necrotizing Enterocolitis - Therapeutic Decisions Based upon Clinical Staging. *Annals of Surgery* 1978;187:1–7

Bortz J, Lienert GA. Kurzgefaßte Statistik für die klinische Forschung - Ein praktischer Leitfaden für die Analyse kleiner Stichproben. 1998

Brecht KF, Goelz R, Bevot A, Krägeloh-Mann I, Wilke M, Lidzba K. Postnatal Human Cytomegalovirus Infection in Preterm Infants Has Long-Term Neuropsychological Sequelae. *The Journal of Pediatrics* 2015;166:834–839

Bryant P, Morley C, Garland S, Curtis N. Cytomegalovirus transmission from breast milk in premature babies: does it matter? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2002;87:75–77

Buxmann H, Hamprecht K, Meyer-Wittkopf M, Friese K. Zytomegalievirus-Primärinfektion in der Schwangerschaft 2017;114:45–52

Cannon MJ, Griffiths PD, Van Aston X, Rawlinson WD. Universal newborn screening for congenital CMV infection: what is the evidence of the potential benefit? *Reviews in Medical Virology* 2015;24:291–307

Chauhan M, Henderson G, Mcguire W. Enteral feeding for very low birth weight infants : reducing the risk of necrotising enterocolitis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2008;93:162–167

Corpeleijn WE, Kouwenhoven MP, Paap MC, van Vliet I, Scheerder I, Muizer Y, Helder OK, van Goudoever J, Vermeulen MJ. Intake of Own Mother's Milk during the First Days of Life Is Associated with Decreased Morbidity and Mortality in Very Low Birth Weight Infants during the First 60 Days of Life. *Neonatology* 2012;102:276–281

Cristofalo EA, Schanler RJ, Blanco CL, Sullivan S, Trawoeger R, Kiechl-Kohlendorfer U, Dudell G, Rechtman DJ, Lee ML, Lucas A. Randomized Trial of Exclusive Human Milk versus Preterm Formula Diets in Extremely Premature Infants. *The Journal of Pediatrics* 2013;163:1592–1595

Crough T, Khanna R. Immunobiology of Human Cytomegalovirus: from Bench to Bedside. *Clinical Microbiology Reviews* 2009;22:76–98

Davidson LM, Berkelhamer SK. Bronchopulmonary Dysplasia: Chronic Lung Disease of Infancy and Long-Term Pulmonary Outcomes. *J clin Med* 2017;6:6–8

Dermyshe E, Wang Y, Yan C, Hong W, Qiu G, Gong X, Zhang T. The “Golden Age” of Probiotics: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized and Observational Studies in Preterm Infants. *Neonatology* 2017;112:9–23

Dietrich ML, Schieffelin JS. Congenital Cytomegalovirus Infection 2019;123–130

Doctor S, Friedman S, Dunn MS, Asztalos E V, Wylie L, Mazzulli T, Vearncombe M, O'Brien K. Cytomegalovirus transmission to extremely low-birthweight infants through breast milk. *Acta paediatrica* 2005;94:53–58

Doerr HW, Gerlich WH. *Medizinische Virologie - Grundlagen, Diagnostik, Prävention und Therapie viraler Erkrankungen*. 2010

Dorn M, Lidzba K, Bevoit A, Goelz R, Hauser T-K, Wilke M. Long-Term Neurobiological Consequences of Early Postnatal hCMV-Infection in Former Preterms: A Functional MRI Study. *Human Brain Mapping* 2014;35:2594–2606

Dworsky M, Stagno S, Pass RF, Cassady G, Alford C. Persistence of cytomegalovirus in human milk after storage. *The Journal of Pediatrics* 1982;101:440–443

Eidelman A, Schanler R. Breastfeeding and the Use of Human Milk. *Pediatrics* 2012;129:827–841

Ernährungskommission der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde. Prävention von CMV-Infektionen bei Frühgeborenen (<28+0 SSW oder einem Geburtsgewicht < 1000 g) durch Muttermilch – Update 2018. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 2019;167:323–328

Fernández L, Ruiz L, Jara J, Orgaz B, Rodríguez JM. Strategies for the Preservation, Restoration and Modulation of the Human Milk Microbiota. Implications for Human Milk Banks and Neonatal Intensive Care Units. *Frontiers in Microbiology* 2018;9:1–13

Ford J, Law B, Marshall V, Reiter BS. Influence of the heat treatment of human milk on some of its protective constituents. *The Journal of pediatrics* 1977;90:29–35

Forsgren M. Cytomegalovirus in Breast Milk: Reassessment of Pasteurization and Freeze-Thawing. *Pediatric Research* 2004;56:526–528

Forster J, Bialek R, Borte M. DGPI Handbuch - Infektionen bei Kindern und Jugendlichen - 6. Auflage. 2013

Foulon T. Herpesviridae: Classification et structure en 1991. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases* 1992;15:13–29

Friis H, Andersen HK. Rate of inactivation of cytomegalovirus in raw banked milk during storage at -20°C and pasteurisation. *British Medical Journal* 1982;285:1604–1605

Gartner LM, Eidelman AI, Morton J, Lawrence R, Naylor AJ, O'Hare D, Schanler RJ. Breastfeeding and the Use of Human Milk. *Pediatrics* 2005;115:496–506

Genzel-Boroviczény O, Jenke A, Mihatsch W, Schmittenebecher P. AWMF Leitlinie Nekrotisierende Enterokolitis (NEK). https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/024-009I_S2k_Nekrotisierende_Enterokolitis_2018-02.pdf (Zugriffsdatum: 02.06.2020). 2017 p. 1–24

Gephart SM, Spitzer AR, Effken JA, Dodd E, Halpern M, Mcgrath JM. Discrimination of GutCheck, a clinical risk index for necrotizing enterocolitis. *J Perinatol* 2014;34:468–475
Goelz R, Hamprecht K. Breastfeeding and HCMV-Infection in the Preterm Infant. *Gesundheitswesen* 2008;70:22–24

Goelz R, Meisner C, Bevot A, Hamprecht K, Kraegeloh-Mann I, Poets CF. Long-term cognitive and neurological outcome of preterm infants with postnatally acquired CMV infection through breast milk. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2013;98:430–433

Good M, Sodhi CP, Hackam DJ. Evidence based feeding strategies before and after the development of necrotizing enterocolitis. *Expert Rev Clin Immunol* 2014;10:875–884

Gunkel J, De Vries LS, Jongmans M, Koopman-Esseboom C, Haastert IC Van, Eijssermans MCJ, Van Zanten BG, Wolfs TFW, Nijman J. Outcome of Preterm Infants With Postnatal Cytomegalovirus Infection. *Pediatrics* 2018;141:1–10

Hair AB, Peluso AM, Hawthorne KM, Perez J, Smith DP, Khan JY, O'Donnell A, Powers RJ, Lee ML, Abrams SA. Beyond Necrotizing Enterocolitis Prevention: Improving Outcomes with an Exclusive Human Milk-Based Diet. *Breastfeeding Medicine* 2016;11:70–74

Hamele M, Flanagan R, Loomis A, Stevens T, Fairchok MP. Severe morbidity and mortality with breast milk associated cytomegalovirus infection. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 2010;29:84–86

Hamprecht K, Goelz R. Transmission of human cytomegalovirus via breastmilk and potential risks to very preterm infants. *Microbiology Australia* 2015;36:190–193

Hamprecht K, Goelz R. Postnatal Cytomegalovirus Infection Through Human Milk in Preterm Infants: Transmission, Clinical Presentation, and Prevention. *Clinics in Perinatology* 2017;44:121–130

Hamprecht K, Goelz R, Maschmann J. Breast milk and cytomegalovirus infection in preterm infants. *Early Human Development* 2005;81:989–996

Hamprecht K, Maschmann J, Jahn G, Poets CF, Goelz R. Cytomegalovirus transmission to preterm infants during lactation. *Journal of Clinical Virology* 2008;41:198–205

Hamprecht K, Maschmann J, Müller D, Dietz K, Besenthal I, Goelz R, Middeldorp JM, Speer CP, Jahn G. Cytomegalovirus (CMV) Inactivation in Breast Milk: Reassessment of Pasteurization and Freeze-Thawing. *Pediatric Research* 2004;56:529–535

Hamprecht K, Maschmann J, Vochem M, Dietz K, Speer CP, Jahn G. Epidemiology of transmission of cytomegalovirus from mother to preterm infant by breastfeeding. *Lancet* 2001;357:513–518

Hamprecht K, Witzel S, Maschmann J, Dietz K, Baumeister A, Mikeler E, Goelz R, Speer CP, Jahn G. Rapid detection and quantification of cell free cytomegalovirus by a high-speed centrifugation-based microculture assay: comparison to longitudinally analyzed viral DNA load and pp67 late transcript during lactation. *Journal of clinical Virology* 2003;28:303–316

Henderson G, Craig S, Brocklehurst P, Mcguire W. Enteral feeding regimens and necrotising enterocolitis in preterm infants : a multicentre case – control study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2009;94:120–123

Henry MCW, Moss RL. Necrotizing Enterocolitis. *Annu Rev Med* 2009;60:111–124

Hilgers R-D, Bauer P, Scheiber V. Einführung in die Medizinische Statistik. 2003

Holling H, Gediga G. Statistik - Testverfahren. 2016

Hotsubo T, Nagata N, Shimada M, Yoshida K, Fujinaga K, Chiba S. Detection of Human Cytomegalovirus DNA in Breast Milk by Means of Polymerase Chain Reaction. *Microbiol Immunol* 1994;38:809–811

Hughes BL, Gyamfi-Bannerman C. Diagnosis and antenatal management of congenital cytomegalovirus infection. *Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM) Consult Series* 2016;9:6–11

Hylander MA, Strobino DM, Dhanireddy R. Human Milk Feedings and Infection Among Very Low Birth Weight Infants. *Pediatrics* 1998;102:1–6

Jeurink P V, van Bergenhenegouwen J, Jiménez E, Knippels LMJ, Fernández L, Garssen J, Knol J, Rodríguez JM, Martín R. Human milk : A source of more life than we imagine. *Beneficial Microbes* 2013;4:17–30

Jim W-T, Chiu N-C, Ho C-S, Shu C-H, Chang J-H, Hung H-Y, Kao H-A, Chang H-Y, Peng C-C, Yui B-H, Chuu C-P. Outcome of Preterm Infants With Postnatal Cytomegalovirus Infection via Breast Milk. *Medicine* 2015;94:1–5

Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary Dysplasia. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2001;163:1723–1729

Jost T, Lacroix C, Braegger C, Chassard C. Impact of human milk bacteria and oligosaccharides on neonatal gut microbiota establishment and gut health. *Nutrition Reviews* 2015;73:426–437

Kipfmueller F, Jungbluth K, Eis-Hübinger AM, Reber U, Holdenrieder S, Gembruch U, Bartmann P, Müller A. Evaluation of cellulose pads as a method to detect cytomegalovirus DNA in neonatal urine. *Annals of clinical biochemistry* 2018;55:553–560

Kipfmueller F, Schneider J, Prusseit J. Role of Neutrophil CD64 Index as a Screening Marker for Late-Onset Sepsis in Very Low Birth Weight Infants. *PLoS ONE* 2015;10:1–15

Lanzieri TM, Dollard SC, Josephson CD, Schmid DS, Bialek SR. Breast Milk-Acquired Cytomegalovirus Infection and Disease in VLBW and Premature Infants. *Pediatrics* 2013;131:1937–1945

Lawrence RM, Lawrence RA. Breastfeeding : More than just good nutrition. *Pediatrics in Review* 2015;32:267–279

Lefkowitz EJ, Dempsey DM, Hendrickson RC, Orton RJ, Siddell SG, Smith DB. Virus taxonomy : the database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). *Nucleic Acids Research*. Oxford University Press 2018;46:708–717

Lucas A, Cole TJ. Breast milk and neonatal necrotising enterocolitis. *The Lancet* 1990;336:1519–1523

Martins-Celini FP, Yamamoto AY, Passos DM, Dornellas do Nascimento S, Lima EV, Di Giovanni CM, Quadrado ERS, Barta R, Aragon DC, do Prado SI, de Almeida MFB, Mussi-Pinhata MM. Incidence, Risk Factors, and Morbidity of Acquired Postnatal Cytomegalovirus Infection Among Preterm Infants Fed Maternal Milk in a Highly Seropositive Population. *Clinical Infectious Diseases* 2016;63:929–936

Maschmann J, Hamprecht K, Weissbrich B, Dietz K, Jahn G, CP S. Freeze-thawing of breast milk does not prevent cytomegalovirus transmission to a preterm infant. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2006;91:288–290

Mcguire MK, Mcguire MA. Got bacteria? The astounding, yet not-so-surprising, microbiome of human milk. *Current Opinion in Biotechnology* 2017;44:63–68

Mehler K, Oberthuer A, Lang-Roth R, Kribs A. High rate of symptomatic cytomegalovirus infection in extremely low gestational age preterm infants of 22-24 weeks' gestation after Transmission via breast milk. *Neonatology* 2014;105:27–32

Meier J, Lienicke U, Tschirch E, Krüger DH, Wauer RR, Prösch S. Human Cytomegalovirus Reactivation during Lactation and Mother-to-Child Transmission in Preterm Infants Human Cytomegalovirus Reactivation during Lactation and Mother-to-Child Transmission in Preterm Infants. *J Clin Microbiol* 2005;43:1318–1324

Meinzen-Derr J, Poindexter B, Wrage L, Morrow A, Stoll B, Donovan E. Role of human milk in extremely low birth weight infants' risk of necrotizing enterocolitis or death. *J Perinatol* 2009;29:57–62

Meyer-Wittkopf M, Buxmann H, Gonser M, Hamprecht K. Neues zur prä- und perinatalen Cytomegalovirus-Infektion. *Frauenarzt* 2009;50:524–527

Müller A, Eis-Hübinger A, Brandhorst G, Heep A, Bartmann P, Franz A. Oral valganciclovir for symptomatic congenital cytomegalovirus infection in an extremely low birth weight infant. *Journal of Perinatology* 2008;28:74–76

Mussi-Pinhata MM, Pinto G, Yamamoto AY, Berencsi K, de Souza C, Andrea M, Duarte G, Jorge SM. Placental Transfer of Naturally Acquired , Maternal Cytomegalovirus Antibodies in Term and Preterm Neonates. *Journal of Medical Virology* 2003;69:232–239

Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY, Aragon DC, Duarte G, Fowler KB, Boppana S, Britt WJ. Seroconversion for Cytomegalovirus Infection During Pregnancy and Fetal Infection in a Highly Seropositive Population : “The BraCHS Study.” *The Journal of Infectious Diseases* 2018;218:1200–1204

Omarsdottir S, Casper C, Navér L, Legnevall L, Gustafsson F, Grillner L, Zweyberg-Wirgart B, Söderberg-Nauclér C, Vanpée M. Cytomegalovirus Infection and Neonatal Outcome in Extremely Preterm Infants After Freezing of Maternal Milk. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 2015;34:482–489

Patel RM, Shenvi N, Knezevic A, Hinkes M, Bugg GW, Stowell SR, Roback JD, Easley KA, Josephson C. Observational study of cytomegalovirus from breast milk and necrotising enterocolitis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2019;0:1–7

Poindexter B, Wrage L, Morrow AL, Stoll B, Donovan EF. Role of human milk in extremely low birth weight infants' risk of necrotizing enterocolitis or death. *J Perinatol* 2009;29:57–62

Quigley M, Embleton N, Mcguire W. Formula versus donor breast milk for feeding preterm or low birth weight infants (Review). *Cochrane Database Syst Rev* 2018: 1–94

Repa A, Thanhaeuser M, Endress D, Weber M, Kreissl A, Binder C, Berger A, Haiden N. Probiotics (*Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum*) prevent NEC in VLBW infants fed breast milk but not formula. *Pediatric Research* 2015;77:381–388

Robert Koch Institut. RKI-Ratgeber für Ärzte: Zytomegalievirus-Infektion. *Epidemiologisches Bulletin* 2014;23–28

Sato R, Malai S, Razmjouy B. Necrotizing Enterocolitis Reduction Using an Exclusive Human-Milk Diet and Probiotic Supplementation in Infants With 1000 – 1499 Gram Birth Weight. *Nutrition in Clinical Practice* 2020;35:331–334

Sawh SC, Deshpande S, Jansen S, Reynaert CJ, Jones PM. Prevention of necrotizing enterocolitis with probiotics : a systematic review and meta-analysis. *Peer J* 2016;5:1–29
Schulzke SM, Deshpande GC, Patole SK. Neurodevelopmental Outcomes of Very Low-Birth-Weight Infants With Necrotizing Enterocolitis. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2007;161:583–590

Sisk PM, Lovelady C, Dillard R, Gruber K, O'Shea T. Early human milk feeding is associated with a lower risk of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Journal of Perinatology* 2007;27:428–433

Stagno S, Cloud G. Working parents: the impact of day care and breast-feeding on cytomegalovirus infections in offspring. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91:2384–2389

Sullivan S, Schanler RJ, Kim JH, Patel AL, Trawöger R, Kiechl-Kohlendorfer U, Chan GM, Blanco CL, Abrams S, Cotten CM, Laroia N, Ehrenkranz RA, Dudell G, Cristofalo EA, Meier P, Lee ML, Rechtman DJ, Lucas A. An Exclusively Human Milk-Based Diet Is Associated with a Lower Rate of Necrotizing Enterocolitis than a Diet of Human Milk and Bovine Milk-Based Products. *The Journal of Pediatrics* 2010;156:562–567

Szucs KA. American Academy of Pediatrics - Section on Breastfeeding. *Journal of Human Lactation* 2011;27:378–379

Tengsupakul S, Birge ND, Bendel CM, Reed RC, Bloom B-A, Hernandez N, Schleiss MR. Asymptomatic DNAemia Heralds CMV-Associated NEC: Case Report, Review, and Rationale for Preemption abstract. *Pediatrics* 2013;132:1428–1434

Tran L, Ferris M, Norori J, Stark M, Craver R, Dowd S, Penn D. Necrotizing Enterocolitis and Cytomegalovirus Infection in a Premature Infant. *Pediatrics* 2013;131:318–322

Victoria CG, Bahl R, Barros AJD, França GVA, Horton S, Krasevec J, Murch S, Sankar MJ, Walker N. Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *Lancet* 2016;387:475–490

Vollmer B, Seibold-Weiger K, Schmitz-Salue C, Hamprecht K, Goelz R, Krageloh-Mann I, Speer CP. Postnatally acquired cytomegalovirus infection via breast milk: effects on hearing and development in preterm infants. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23:322–327

Voss W, Hobbiebrunken E, Ungermann U, Wagner M, Damm G. Entwicklung extrem unreifer Frühgeborener. *Deutsches Ärzteblatt* 2016;113:871–878

Weimer KED, Kelly MS, Permar SR, Clark RH, Greenberg RG. Association of Adverse Hearing, Growth, and Discharge Age Outcomes With Postnatal Cytomegalovirus Infection in Infants With Very Low Birth Weight. *JAMA Pediatr* 2020;174:133–140

Wolke D, Meyer R. Cognitive status, language attainment, and prereading skills of 6-year-old very preterm children and their peers: the Bavarian Longitudinal Study. *Developmental Medicine & Child Neurology* 1999;41:94–109

Yang Y, Guo Y, Kan Q, Zhou XG, Zhou XY, Li Y. A meta-analysis of probiotics for preventing necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *Brazilian journal of medical and biological research* 2014;47:804–810

Yasuda A, Kimura H, Hayakawa M, Ohshiro M, Kato Y, Matsuura O, Suzuki C, Morishima T. Evaluation of Cytomegalovirus Infections Transmitted via Breast Milk in Preterm Infants With a Real-Time Polymerase Chain Reaction Assay. *Pediatrics* 2003;111:1333–1336

Yoo HS, Sung SI, Jung YJ, Lee MS, Han YM, Ahn SY, Chang Y, Park WS. Prevention of Cytomegalovirus Transmission via Breast Milk in Extremely Low Birth Weight Infants. *Yonsei Med J* 2015;56:998–1006

10. Danksagung

Zuerst möchte ich mich herzlichst bei meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. Andreas Müller, für die Vergabe des Themas und die gute Betreuung bedanken. Des Weiteren gilt ein großer Dank meinem Betreuer Herrn Privat-Dozent Dr. Florian Kipfmüller, der mich bei der Erstellung meiner Arbeit die gesamte Zeit über begleitete, offene Fragen beantwortete und mir mit wertvollen Korrekturen zur Seite stand.

Ein weiterer Dank gilt Frau Professor Dr. Eis-Hübinger, welche mich mit wichtigen Informationen und Hintergrundwissen bezüglich der virologischen Diagnostik, mit der sich diese Studie unter anderem befasst, unterstützte. Ich danke dem pflegerischen Team der neonatologischen Intensivstation für eine gute Dokumentation – insbesondere der Muttermilch- und Formulamengen – in der Patientenkurve.

Ich danke meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, für die durchweg motivierende Unterstützung, auch in Zeiten, in denen eine Fertigstellung der Dissertation noch nicht in greifbarer Nähe war. Zuletzt bedanke ich mich bei meinem Freund Andreas Busch für das Gegenlesen am Ende sowie für seine hilfreichen Impulse bezüglich des Layouts der Tabellen und Abbildungen.