

Aus der  
Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen  
Abteilung Kinderheilkunde IV  
(Schwerpunkt: Neonatologie, neonatologische Intensivmedizin)

**Auswirkungen einer frühen Antibiotikatherapie auf die  
Immunantwort des Frühgeborenen im Rahmen der „6+1“-  
Impfung**

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

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

**vorgelegt von  
Haag, Laura Alexandra  
2025**

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Privatdozentin Dr. N. Köstlin-Gille

2. Berichterstatter: Professorin Dr. J. Feucht

Tag der Disputation: 18.07.2025

*Meiner Familie und Jonas.*

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>3</b>
<b>1. Einleitung</b>	<b>5</b>
<b>1.1. Frühgeburtlichkeit und Neugeborenenensepsis</b>	<b>5</b>
<b>1.2. Mikrobiom</b>	<b>6</b>
<b>1.3. Das neonatale Immunsystem</b>	<b>7</b>
<b>1.4. Impfungen</b>	<b>9</b>
<b>1.5. Ziel der Arbeit</b>	<b>11</b>
<b>2. Methodik und Studienaufbau</b>	<b>12</b>
<b>2.1. Patientenkollektiv</b>	<b>12</b>
<b>2.2. Material</b>	<b>13</b>
2.2.1. Probenmaterial	13
2.2.2. Nichtbiologisches Material und Software	14
2.2.3. Verwendete Impfstoffe	14
<b>2.3. Methodik</b>	<b>15</b>
2.3.1. Studienaufbau	15
2.3.2. Probenaufarbeitung und -analyse	16
2.3.3. Statistische Methode	16
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>17</b>
<b>3.1. Demographische Daten</b>	<b>17</b>
<b>3.2. Eine frühe postnatale Antibiotikatherapie bei Frühgeborenen ist assoziiert mit erniedrigten Impftitern im korrigierten Alter von vier Monaten</b>	<b>20</b>
<b>3.3. Einfluss weiterer Faktoren auf die Impftiter</b>	<b>24</b>
3.3.1. Einfluss der Dauer der Antibiotikatherapie auf die Impftiter	24
3.3.2. Einfluss des Geschlechts auf die Impftiter	25
3.3.3. Einfluss des Geburtsmodus auf die Impftiter	26
3.3.4. Einfluss einer Mehrlingsschwangerschaft auf die Impftiter	27
3.3.5. Einfluss eines vorzeitigen Blasensprungs auf die Impftiter	28
3.3.6. Einfluss des Geburtsgewichts auf die Impftiter	29

3.3.7. Einfluss des Gestationsalters auf die Impftiter	30
<b>3.4. Zusammenfassung der Ergebnisse</b>	<b>32</b>
<b>4. Diskussion und Ausblick</b>	<b>33</b>
4.1. Antibiotikatherapie bei Frühgeborenen	33
4.2. Frühe Antibiotikatherapie und Immunantwort: Eine frühe postnatale Antibiotikatherapie ist mit erniedrigten Impftitern assoziiert	36
4.3. Mechanismus der Wirkung von Antibiotika auf das Immunsystem	40
4.4. Einfluss der Dauer der Antibiotikatherapie auf die Impfantwort	43
4.5. Einfluss weiterer Faktoren auf die Impfantwort	44
4.5.1. Einfluss von Geburtsgewicht und Gestationsalter auf die Impfantwort	44
4.5.2. Einfluss von Geschlecht und Mehrlingsschwangerschaft auf die Impfantwort	45
4.5.3. Einfluss des Geburtsmodus auf die Impfantwort	46
4.5.4. Einfluss eines VBS auf die Impfantwort	47
4.5.5. Weitere nicht untersuchte Einflussfaktoren	48
4.6. Limitationen der Studie	49
<b>5. Ausblick</b>	<b>51</b>
<b>6. Zusammenfassung</b>	<b>53</b>
<b>7. Literaturverzeichnis</b>	<b>55</b>
<b>8. Abbildungsverzeichnis</b>	<b>67</b>
<b>9. Tabellenverzeichnis</b>	<b>68</b>
<b>10. Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift</b>	<b>69</b>
<b>11. Danksagung</b>	<b>70</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AB	Antibiotika
ABT	Antibiotikatherapie
AIS	Amnioninfektsyndrom
APCs	Antigenpräsentierende Zellen
BPD	Bronchopulmonale Dysplasie
BE	Blutentnahme
CD	cluster of differentiation
CED	Chronisch-entzündliche Darmerkrankung
CONS	Koagulasenegative Staphylokokken
C/S	Caesarean section (Kaiserschnitt)
DC	Dendritische Zellen
DTPa	Azellulärer Kombinationsimpfstoff Diphtherie-Tetanus-Pertussis
EOS	early onset sepsis
ET	Entbindungstermin
FHA	Filamentöses Hämagglutinin
FIP	Fokale intestinale Perforation
FMT	Fäkaler Mikrobiomtransfer
GA	Gestationsalter
GBS	Gruppe B Streptokokken
GF	germfree (englisch für keimfrei)
GG	Gestationsgewicht
GNN	German Neonatal Network (englisch für Deutsches neonatales Netzwerk)
HBsAg	Heptatitis B-surface Antigen
HiB	Hämophilus influenzae
IBD	Inflammatory bowel disease (englisch für chronisch entzündliche Darmerkrankung)
IgA/G/M	Immunglobuline A/G/M
IVH	Intraventrikuläre Hämorrhagie
KFA	Kinderfacharzt
KISS	Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System
LOS	late onset sepsis
LT	Lebenstag

NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
NEC	Nekrotisierende Enterocolitis
Pa	Azelluläres Pertussisvakzin
PD-L1	programmed cell death ligand-1
pPROM	preterm premature rupture of membranes (englisch für vorzeitiger Blasensprung)
PRN	Pertactin
PT	Pertussistoxin
SCFA	short chain fatty acids (englisch für kurzkettige Fettsäuren)
SGA	small for gestational age
SPF	specific pathogen free (englisch für spezifisch pathogenfrei)
SSW	Schwangerschaftswoche
STIKO	Ständige Impfkommission
TFH	Follikuläre T-Helferzelle
TH1/TH2	T-Helferzellen 1/2
Treg	Regulatorische T-Zelle
TüRex	Tübinger Research Experience
VBS	Vorzeitiger Blasensprung
VLBWI	very low birth weight infants (englisch für Säugling mit sehr niedrigem Geburtsgewicht)
wABT	mit Antibiotikatherapie
w/oABT	ohne Antibiotikatherapie
WP	Ganzzell-Impfstoff

# 1. Einleitung

## 1.1. Frühgeburtlichkeit und Neugeborenenensepsis

Frühgeburtlichkeit ist definiert als Geburt vor der vollendeten 37. Schwangerschaftswoche (SSW). Jährlich kommen weltweit fast 15 Millionen Neugeborene zu früh zur Welt. Dies sind mehr als 10 % aller Geburten<sup>1</sup>. Trotz einer weltweit deutlich verbesserten Versorgung von Früh- und Neugeborenen ist die Frühgeburtlichkeit ursächlich für 75 % der neonatalen Mortalität und mehr als 50 % der Langzeit-Morbidität von Neugeborenen<sup>2</sup>.

Eine der häufigsten lebensgefährlichen Komplikationen bei Frühgeborenen ist die Neugeboreneninfektion bzw. Neugeborenenensepsis<sup>3,4</sup>. In Deutschland erleidet etwa jedes dritte Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht von weniger als 1500 g (very low birthweight infant, VLBWI) eine oder mehrere bakterielle Infektionen während seines Aufenthaltes auf einer neonatologischen Intensivstation<sup>5</sup>. Die Inzidenz für eine neonatale Sepsis steigt mit sinkendem Gestationsalter deutlich an<sup>6</sup>.

Die Symptome einer Neugeborenenensepsis sind meist unspezifisch und umfassen eine Beeinträchtigung der Atmung und des Kreislaufs, eine Veränderung des Hautkolorits und Symptome wie Trinkschwäche, Hyperexzitabilität, Lethargie oder Temperaturinstabilität<sup>7</sup>.

Infektionen in der Neonatalperiode werden unterteilt in Infektionen innerhalb der ersten drei Lebenstage (early onset sepsis, EOS) und Infektionen, die nach den ersten drei Lebenstagen, also nach 72 Lebensstunden, auftreten (late onset sepsis, LOS)<sup>8,9</sup>. Der Häufigkeitsgipfel der LOS liegt zwischen dem 10. und dem 22. Lebenstag<sup>10-12</sup>.

Bei der EOS und LOS unterscheiden sich sowohl Risikofaktoren als auch das Keimspektrum<sup>7,13-15</sup>. Für eine EOS sind am häufigsten Gruppe B Streptokokken (GBS) und *E. coli* aus dem Geburtskanal der Mutter verantwortlich, während als verursachende Keime einer LOS vor allem Keime der Krankenhausumgebung wie Koagulasenegative Staphylokokken (CoNS), Klebsiellen, *E. coli* und viele andere Erreger gefunden werden<sup>7,8,13-15</sup>.

Risikofaktoren für eine EOS sind ein niedriges Geburtsgewicht, ein Amnioninfektsyndrom (AIS) sowie eine Spontangeburt<sup>5</sup>. Risikofaktoren der LOS sind neben der Frühgeburtlichkeit<sup>16</sup> vor allem invasive Maßnahmen wie Beatmung und Venen- bzw. Arterienkatheter<sup>15,17</sup> und eine vorangegangene EOS<sup>5</sup>.

Bis heute zählt die Neugeborenen-Sepsis zu den häufigsten Todesursachen bei Frühgeborenen<sup>5</sup>. In den Jahren 2010 bis 2016 starben in Deutschland insgesamt 11,9 % der VLBW-Frühgeborenen an einer Sepsis<sup>18</sup>. Eine Auswertung der Daten des German Neonatal Network (GNN) zeigte eine Sepsis-assoziierte Mortalität zwischen 7 % und 14,6 %. Bis zu 43 % Frühgeborene erleiden nach einer EOS oder LOS schwere Folgeerkrankungen, wie zum Beispiel eine Bronchopulmonalen Dysplasie (BPD) oder intraventrikulären Blutungen (IVH)<sup>5</sup>. Aufgrund der hohen Mortalität und des Risikos der Entwicklung weiterer Komplikationen ist die Neugeborenen-Sepsis eine sehr gefürchtete Komplikation in der Neonatologie. Dies bedingt, dass bis zu über 80 % aller Frühgeborenen bereits innerhalb ihrer ersten Lebenswoche Antibiotika erhalten<sup>19</sup>.

## **1.2. Mikrobiom**

Als Mikrobiom wird die Gesamtheit aller Mikroorganismen des menschlichen Körpers bezeichnet, wobei der größte Teil auf das intestinale Mikrobiom, umgangssprachlich als Darmflora bezeichnet, entfällt<sup>20</sup>. Dieses besteht größtenteils aus Bakterien, enthält aber auch Pilze und Viren.

Die Funktionen des Mikrobioms sind vielfältig<sup>21</sup>. Es ist nicht nur an der Verdauung und dem Stoffwechsel beteiligt, sondern spielt auch bei der Entwicklung und Funktion des angeborenen und des adaptiven Immunsystems eine große Rolle<sup>22,23</sup>. Dabei ist entscheidend, dass das sich entwickelnde Immunsystem lernt, die „guten“ Mikroorganismen des intestinalen Mikrobioms zu tolerieren und gleichzeitig Pathogene zu erkennen und abzuwehren<sup>24</sup>.

Eine Dysbiose, eine pathologische Zusammensetzung des Mikrobioms, wird heute mit der Pathogenese verschiedener Erkrankungen, wie zum Beispiel Asthma oder chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CEDs) in Zusammenhang gebracht<sup>25–27</sup>.

Die Etablierung des Mikrobioms beginnt unmittelbar nach der Geburt, evtl. sogar schon *in utero*<sup>28</sup>. Die Zusammensetzung des Mikrobioms unterscheidet sich bei Früh- und Reifgeborenen<sup>29</sup>. Beispielsweise scheint die Besiedlung mit Mikrobiom-typischen Bakterien bei Frühgeborenen verzögert zu sein<sup>29</sup>. Verschiedene Faktoren wie Geburtsmodus und Ernährung, aber auch die Gabe von Antibiotika spielen eine große Rolle bei der Etablierung des Mikrobioms<sup>30–32</sup>.

Im Vergleich zu Erwachsenen konnte gezeigt werden, dass Antibiotikagaben bei Säuglingen und Kindern langanhaltendere Effekte aufweisen. Das Mikrobiom bei Kindern zeigt auch Monate und Jahre nach einer Antibiotikatherapie noch Veränderungen im Vergleich zum Mikrobiom von Kindern ohne Antibiotikatherapie<sup>33,34</sup>.

### **1.3. Das neonatale Immunsystem**

Im Vergleich zu Erwachsenen haben Frühgeborene ein deutlich erhöhtes Risiko, eine Infektion zu erleiden. Entsprechend der Daten des Krankenhaus-Infektions-Surveillance-Systems (KISS) treten schwere nosokomiale Infektionen bei Frühgeborenen mit einer Inzidenz von 5,3 pro 1000 Patienten auf<sup>33</sup>, während bei Erwachsenen von einer Inzidenz um 1,6 pro 1000 Patienten ausgegangen wird<sup>34</sup>.

Einer der wichtigsten Gründe hierfür ist eine relative Unreife des neonatalen Immunsystems. Das Immunsystem des Neugeborenen muss sich nach der Geburt innerhalb kürzester Zeit von geschützten Verhältnissen im Mutterleib auf ein aktives und funktionsfähiges Immunsystem außerhalb des Mutterleibes umstellen<sup>35</sup>.

Die Unreife des Immunsystems zum Zeitpunkt der Geburt betrifft sowohl das angeborene Immunsystem als auch das adaptive Immunsystem<sup>36,37</sup>.

Zu den ersten Barrieren des angeborenen Immunsystems gehören die Haut und die Schleimhäute, welche einen mechanischen Schutz vor dem Eintritt von Krankheitserregern in den Organismus bilden<sup>38</sup>. Sie sind bei Frühgeborenen noch unausgereift und dadurch empfindlicher gegenüber Traumata und bilden so eine Eintrittspforte für Krankheitserreger.

Weitere Veränderungen des angeborenen Immunsystems Neugeborener im Vergleich zu Erwachsenen, die wahrscheinlich zur erhöhten Infektionsanfälligkeit beitragen, sind eine verminderte Funktionsfähigkeit des Komplementsystems<sup>39-41</sup>, verminderte Anzahl sowie veränderte Funktionen von an der Phagozytose beteiligten Zellen<sup>42,43</sup>, eine veränderte Zytokin-Ausschüttung angeborener Immunzellen<sup>44</sup> sowie einer verminderte Fähigkeit Neutrophiler Granulozyten in das entzündete Gewebe einzuwandern<sup>43</sup>.

Das adaptive Immunsystem, bestehend aus B-, T- und antigenpräsentierenden Zellen (APCs), entwickelt sich zum Großteil postnatal<sup>45</sup>. Bei Früh- und Neugeborenen zeigt sich im Vergleich zu Erwachsenen eine geringere Gesamtanzahl an Lymphozyten, welche bei Frühgeborenen auch sieben Monate nach Geburt noch nachweisbar ist<sup>46</sup>. Unterschiede in der adaptiven Immunantwort von Neu- bzw. Frühgeborenen und Erwachsenen betreffen sowohl die B- als auch die T-Zellen.

Auf Seiten der T-Zellen zeigen Neugeborene ein verändertes Verhältnis zwischen T-Helfer 1 (TH1)- und T-Helfer 2 (TH2)-Zellen zugunsten der TH2-Lymphozyten, was zu einem veränderten Zytokinmilieu führt. Außerdem scheint es im Vergleich zu Erwachsenen eine verringerte Proliferation von folliculären T-Helferzellen, einer Untergruppe der CD4+ T-Helfer-Zellen, zu geben, was zu einer verminderten Aktivierung von B-Zellen beiträgt<sup>47-49</sup>.

Auf Seiten der B-Zellen ist die Expression von Co-Rezeptoren, welche im Rahmen der Aktivierung von B-Zellen durch TH2-Zellen notwendig sind, vermindert<sup>50,51</sup>. Außerdem beginnt der Klassenwechsel von IgM zu IgG bei Frühgeborenen verfrüht beziehungsweise ist beeinträchtigt, was zu einer geringeren Affinität und Vielzahl von Antikörpern bei Frühgeborenen und damit zu einer eingeschränkten humoralen Immunantwort führt<sup>37,51-53</sup>.

Seit einigen Jahren ist bekannt, dass die Entwicklung des Immunsystems beim Neugeborenen stark durch das Mikrobiom beeinflusst wird. Insbesondere konnte gezeigt werden, dass eine Antibiotikatherapie sich auf die lokale Immunität im Darm auswirkt<sup>54-56</sup>. Bisher ist jedoch relativ wenig darüber bekannt, wie sich Antibiotika auf die systemische Immunantwort, insbesondere auf die adaptive Immunität von Neu- und Frühgeborenen, auswirken.

## 1.4. Impfungen

Ein gutes Maß für die Effektivität der adaptiven Immunität ist die Antikörperantwort auf Schutzimpfungen gegen bestimmte Infektionskrankheiten. Insbesondere bei Neu- und Frühgeborenen werden hierfür sowohl T-Zellen als auch B-Zellen benötigt.

Unter einer Impfung versteht man die Immunisierung eines Organismus gegen eine Infektionskrankheit durch die Verabreichung eines Impfstoffes (Vakzine) oder durch die Verabreichung von Immunsereen. Man unterscheidet dabei zwischen der aktiven Immunisierung und der passiven Immunisierung. Bei einer aktiven Immunisierung wird durch die Gabe eines Lebend- oder Totimpfstoffes eine Immunreaktion mit Bildung von Antikörpern und T-Gedächtniszellen hervorgerufen. Bei einer passiven Immunisierung werden zum sofortigen Schutz nach möglicher Exposition mit einem Krankheitserreger Antikörper oder Antitoxine verabreicht.

Für eine Impfung werden Antigene eingesetzt, welche in T-Zell-abhängige Antigene und T-Zell-unabhängige Antigene unterteilt werden können. Bei T-Zell-abhängigen Antigenen werden Proteine verwendet, welche nach Antigenpräsentation durch B-Zellen T-Helferzellen aktivieren, die dann wiederum eine Differenzierung und Expansion von B-Zellen auslösen. Solche Antigene werden zum Beispiel bei der Impfung gegen Hepatitis B in Form des HBsAgs oder bei der Pertussis-Impfung mit dem azellulären Pertussisvakzin Pa verwendet. Bei T-Zell-unabhängigen Antigenen handelt es sich um Polysaccharide, welche auch ohne T-Zellen eine Antikörperproduktion durch B-Zellen auslösen können. Aufgrund einer bei Neugeborenen noch ineffektiven Antikörperproduktion durch B-Zellen gegen nicht-Protein-Antigenen, müssen die verwendeten Polysaccharide an Proteine gekoppelt werden, damit eine ausreichende Antikörperproduktion ausgelöst werden kann. Diese Impfstoffe werden Konjugat-Impfstoffe genannt. Beispiele hierfür sind die Impfungen gegen Pneumokokken oder *H. influenzae B* (HiB)<sup>57,58</sup>.

Die folgende Abbildung zeigt die in Deutschland durch die Ständige Impfkommission am Robert Koch-Institut (STIKO) empfohlenen Schutzimpfungen<sup>59</sup>.

Impfung	Alter in Wochen	Alter in Monaten									
	6	2	3	4	5–10	11*	12	13–14	15	16–23	
		U4			U5	U6				U7	
Rotaviren		G1 <sup>a</sup>		G2	(G3)						
Tetanus <sup>b</sup>		G1	FG	G2		G3 <sup>d</sup>					
Diphtherie <sup>b</sup>		G1	FG	G2		G3 <sup>d</sup>					
Pertussis <sup>b</sup>		G1	FG	G2		G3 <sup>d</sup>					
Hib <sup>b</sup> – <i>H. influenzae</i> Typ b		G1	FG	G2		G3 <sup>d</sup>					
Poliomyelitis <sup>b</sup>		G1	FG	G2		G3 <sup>d</sup>					
Hepatitis B <sup>b</sup>		G1	FG	G2		G3 <sup>d</sup>					
Pneumokokken <sup>b</sup>		G1	FG	G2		G3 <sup>d</sup>					
Meningokokken B <sup>c</sup>		G1	FG	G2			G3 <sup>d</sup>				
Meningokokken C		Für FG gilt: Zusätzliche Dosis mit 3 Monaten					G1				
Masern							G1		G2		
Mumps, Röteln							G1		G2		
Varizellen							G1		G2		
HPV – Humane Papillomviren											
Herpes zoster											
Influenza											
COVID-19											

**Abb. 1: Impfkalender der STIKO für Frühgeborene**

Grundimmunisierung „6+1-Impfung“ gegen Tetanus, Diphtherie, Pertussis, *H. influenzae* Typ B, Poliomyelitis, Hepatitis B + Pneumokokken (Ausschnitt aus dem Impfkalender 2020/21 der STIKO). Reifgeborene erhalten seit 2020 das Impfschema „2+1“ (Impfung mit 2, 4 und 11-14 Monaten); Frühgeborene erhalten weiterhin das Impfschema „3+1“ (Impfungen mit 2, 3, 4 und 11-14 Monaten)<sup>60</sup>, G = Grundimmunisierung (1, 2, 3); FG = Frühgeborene; U4-7: Vorsorgeuntersuchungen 4-7.

Heute werden durch Impfungen weltweit schätzungsweise (bis zu) 4,4 Mio. Leben pro Jahr gerettet<sup>61</sup>. Im Jahr 2020 waren weltweit über 80 % aller Kinder mit dem DPT-Kombinationsimpfstoff gegen die potentiell tödlichen Infektionserkrankungen Diphtherie, Pertussis und Tetanus geimpft<sup>62</sup>. Allerdings entwickeln dabei geschätzt zwischen 4-19 Millionen Kinder jedes Jahr (dies entspricht 3-13 % der Geburtskohorte) eine unzureichende Immunantwort gegen die Impfantigene und sind daher nur teilweise geschützt<sup>63</sup>. Zum Beispiel kam es im Jahr 2018 zu fast 13000 Pertussis-Erkrankungen in Deutschland, etwa 450 davon im Säuglingsalter<sup>58</sup>. Die Ursachen hierfür sind vielfältig und zum großen Teil noch ungeklärt.

Genetische Ursachen, das Alter, das Vorliegen immunologischer Grunderkrankungen oder die Einnahme spezieller Medikamente können eine Rolle spielen. Aktuelle

Studien weisen darauf hin, dass eine unzureichende Antikörperbildung auch mit einer Dysbiose des intestinalen Mikrobioms im Zusammenhang stehen könnte<sup>64–66</sup>. Im Mausmodell konnte gezeigt werden, dass eine frühe postnatale Antibiotikagabe Einfluss auf die impfbedingte Immunreaktion hat<sup>67</sup>.

## 1.5. Ziel der Arbeit

In der vorliegenden Arbeit wurde in Pilotversuchen der Einfluss einer frühen Antibiotikatherapie bei Frühgeborenen auf die Impfantwort untersucht. Eine unzureichende oder fehlende Impfantwort kann schwerwiegende gesundheitliche Folgen für das gesamte Leben haben. Die Ursachen, welche zu einem Impfversagen führen oder dazu beitragen, sind bis heute weitestgehend ungeklärt. Außerdem kann die Impfantwort im Neugeborenenalter als Maß für die Reifung der adaptiven Immunität herangezogen werden. Dass eine frühe postnatale Antibiotikatherapie negative Auswirkungen auf das adaptive Immunsystem und daraus folgend die Impfantwort hat, konnte in einem Mausmodell bereits gezeigt werden<sup>67</sup>. Es wurde daher die Hypothese überprüft, dass eine Antibiotikatherapie in der ersten Lebenswoche bei Frühgeborenen zu einer verminderten Antikörperantwort auf die ersten drei 6+1 Impfungen (sechsfach Kombinationsimpfung gegen Diphtherie, *Haemophilus influenzae Typ B*, *Hepatitis B*, Pertussis, Poliomyelitis und Tetanus und simultane Impfung gegen Pneumokokken) führt.

Exemplarisch wurden dabei die Antikörper-Titer gegen Keuchhusten/Pertussis als Vertreter der Protein-Impfstoffe und *Haemophilus influenzae Typ B* (*H. influenzae TypB*; HiB) als Vertreter der Polysaccharid-Impfstoffe bei Frühgeborenen mit und ohne Antibiotikaexposition in der ersten Lebenswoche untersucht.

## **2. Methodik und Studienaufbau**

### **2.1. Patientenkollektiv**

Die Pilotstudie wurde durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Eberhard-Karls-Universität Tübingen geprüft und genehmigt (Ethikvotum 368/2019BO1).

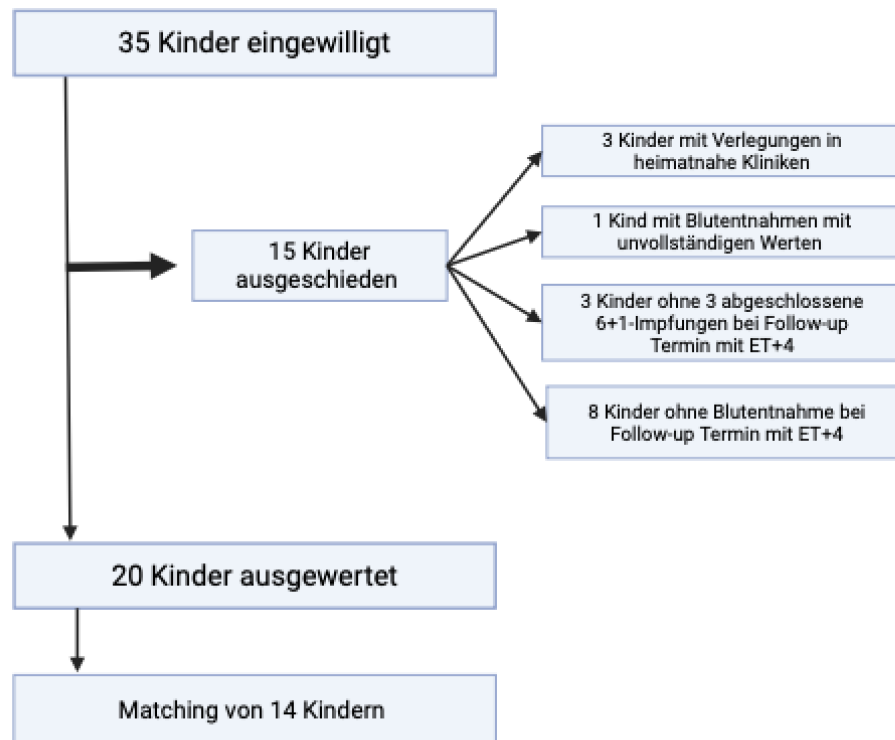
Die Rekrutierung der Teilnehmer fand zwischen Januar 2020 und Januar 2021 statt. Eingeschlossen wurden Frühgeborene mit einem Gestationsalter zwischen 24 0/7 und 31 6/7 SSW, deren Eltern ihr informiertes Einverständnis zur Studie gegeben hatten. Der Studieneinschluss erfolgte innerhalb der ersten 14 Lebenstage.

Ausschlusskriterien waren genetische oder immunologische Grunderkrankungen, chronische Infektionen, Immunglobulin-Gaben innerhalb der ersten 60 Lebenstage (vor der ersten 6+1-Impfung), hämatologische Grunderkrankungen und eine Hepatitis-B-Infektion der Mutter mit konsekutiver aktiver und passiver Immunisierung des Kindes.

Patient/innen der Studiengruppe hatten eine Antibiotikagabe innerhalb der ersten Lebenswoche erhalten. Patient/innen der Kontrollgruppe hatten keine Antibiotikatherapie in der ersten Lebenswoche erhalten. Eine spätere Antibiotikatherapie wurde nicht berücksichtigt. Patient/innen der Studien- und Kontrollgruppe wurden nach Gestationsalter und Geschlecht passend rekrutiert.

Insgesamt wurden 35 Patient/innen rekrutiert. Davon gehörten 18 der Studiengruppe und 17 der Kontrollgruppe an. Aufgrund verschiedener Ursachen (s. unten) mussten insgesamt 15 Patienten aus der Studie ausgeschlossen werden, sodass letztendlich Proben von 20 Frühgeborenen ausgewertet werden konnten. Davon wurden insgesamt 14 Kinder nach Gestationsalter und Geschlecht gematcht.

Abbildung 2 zeigt die Gründe für den nachträglichen Studienausschluss.



**Abb. 2: Probanden, Anzahl eingeschlossener sowie Gründe für Ausschluss**

Initial wurden 35 Frühgeborener mit einem Gestationsalter < 32 SSW in die Studie eingeschlossen. Insgesamt wurden im Verlauf der Studie 15 Kinder aus verschiedenen Gründen ausgeschlossen, welche in der Abbildung aufgeführt wurden, sodass schlussendlich die Daten von 20 Frühgeborenen ausgewertet werden konnten.

## 2.2. Material

### 2.2.1. Probenmaterial

Im Rahmen einer routinemäßigen Blutentnahme im Alter von etwa 14 Lebenstagen wurde den Studienteilnehmern zusätzlich 0,5 ml Nativ-Blut zur Bestimmung der Antikörpertiter vor Impfung entnommen.

Bei der Follow-Up-Untersuchung im Alter von korrigiert 4 Monaten (d. h. vier Monate nach dem errechneten Geburtstermin) in der Frühgeborenen-Ambulanz der Abteilung Neonatologie der Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde des Universitätsklinikum Tübingens wurden – ebenfalls im Rahmen einer Routine-Blutentnahme – zusätzlich 0,5 ml Nativ-Blut für die Bestimmung der Antikörpertiter nach dreimaliger 6+1 Impfung entnommen. Es wurden zu keinem Zeitpunkt Blutentnahmen rein aus Studienzwecken

durchgeführt, alle Proben wurden im Rahmen routinemäßiger, stationär oder ambulant durchgeführter Kontrolluntersuchungen gewonnen.

## 2.2.2. Nichtbiologisches Material und Software

**Tabelle 1: Verwendetes nichtbiologisches Material und Software**

Blutröhrchen, Serum	Sarstedt AG &Co. KG, Nümbrecht, Deutschland
Microsoft Word 2019	Microsoft Corporation, Redmond, USA
Microsoft Excel 2019	Microsoft Corporation, Redmond, USA
GraphPad Prism 9.1.2.	GraphPad Software, Inc.; San Diego, USA
BioRender	Science Suite Inc., Toronto, Canada

## 2.2.3. Verwendete Impfstoffe

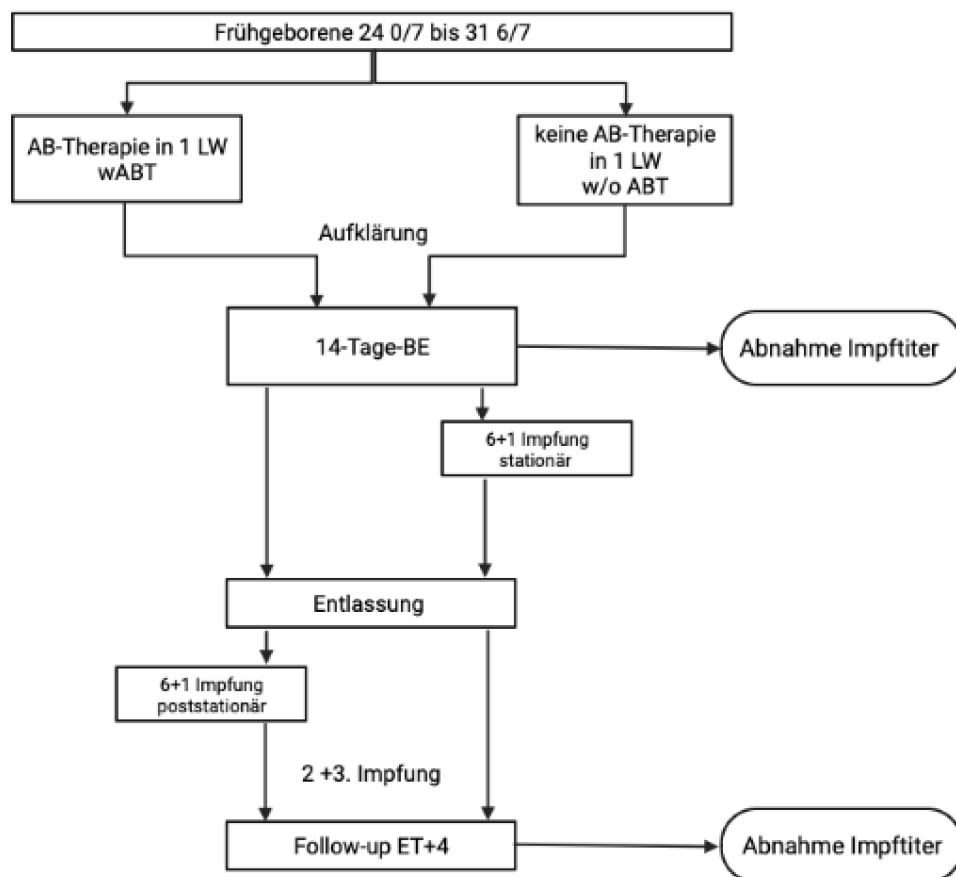
**Tabelle 2: Verwendete Impfstoffe**

Infanrix hexa	GlaxoSmithKline GmbH & Co. KG, London-Brentford, UK
Prevenar 13	Pfizer Pharma GmbH, New York, USA

## 2.3. Methodik

### 2.3.1. Studienaufbau

Es wurde eine prospektive Beobachtungsstudie durchgeführt. Das folgende Schema zeigt den Ablauf der Studie (Abb. 3).



**Abb. 3: Studienaufbau mit zeitlichem Verlauf**

Frühgeborene mit einem Gestationsalter zwischen 24 0/7 - 27 6/7 SSW (rechter Pfad) und 28 0/7 – 31 6/7 SSW (linker Pfad) wurden im Alter von 7-14 Tagen nach Gestationsalter und Geschlecht passend in die Studiengruppe und die Kontrollgruppe rekrutiert. Im Alter von 14 Tagen erfolgte die Abnahme einer Blutprobe zur Bestimmung der Antikörpertiter vor erster Impfung. Bei Frühgeborenen mit Gestationsalter < 28 SSW fand die erste 6+1 Impfung während des stationären Aufenthaltes statt, bei Frühgeburt ≥ 28 SSW durch den Kinderfacharzt nach Entlassung. Alle Kinder erhielten bei einem Follow-Up im Alter von korrigiert vier Monaten eine erneute Blutentnahme im Rahmen eines Routine-Vorstellungstermins in der Nachsorgeambulanz der Abteilung Neonatologie des Universitätsklinikums Tübingen.

### 2.3.2. Probenaufarbeitung und -analyse

Die Nativ-Blutproben wurden durch das Institut für Mikrobiologie und Hygiene des Universitätsklinikums Tübingen bearbeitet. Dort wurden aus dem Serum Antikörpertiter gegen die Erreger *H. influenzae Typ B* und *Bordetella pertussis (B. pertussis)* bestimmt. Für *B. pertussis* wurden Antikörpertiter (IgG) gegen das *B. pertussis* Toxin und gegen das filamentöse Hämagglutinin (FHA) bestimmt. Aufgrund der geringen Blutmengen, die von Frühgeborenen gewonnen werden können, wurde auf die Bestimmung weiterer Antikörpertiter verzichtet. Die Proben wurden im Anschluss vernichtet.

### 2.3.3. Statistische Methode

Die Auswertung der Daten erfolgte mit GraphPad Prism 9.1.2. Die Daten wurden mittels Shapiro-Wilk Test auf Normalverteilung getestet. Da es sich bei den Impftitern um normalverteilte Daten handelte, wurden Unterschiede zwischen zwei Gruppen ungepaarter Proben mittels t-Test und zwischen zwei Gruppen gepaarter Proben mittels gepaartem t-Test ermittelt. Korrelationen zwischen zwei Variablen wurden mittels Pearsons Korrelationsanalyse untersucht. Ein p-Wert von  $<0.05$  wurde als statistisch signifikant angenommen (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; \*\*\*\*  $p < 0,0001$ ). In den Abbildungen sind die Einzelwerte und Mittelwerte dargestellt.

## 3. Ergebnisse

### 3.1. Demographische Daten

Für die vorliegende Pilotstudie wurden insgesamt 35 Patienten mit einem Gestationsalter zwischen 24 0/7 und 31 6/7 SSW eingeschlossen.

Während dem Studienverlauf schieden mehrere Patienten aufgrund unterschiedlicher Ursachen aus, zum Beispiel aufgrund einer zuvor beim Kinderarzt erfolgten Blutentnahme oder nicht wahrgenommener Follow-up-Termine. Schlussendlich gingen insgesamt die Daten von 20 Kindern in die Auswertung ein. Das mittlere Gestationsalter der für die Studie rekrutierten Kinder lag bei 29 3/7 SSW. Das mittlere Geburtsgewicht der Probanden lag bei 1189 g. Der Anteil der Jungen lag bei 40 %, der Anteil der Mädchen mit 60 % etwas höher. Alle in die Studie eingeschlossenen Kinder wurden per Kaiserschnitt entbunden, wobei mit 65 % ein Großteil der Kinder per sekundärer Sectio caesarea entbunden wurden.

Die Kinder mit Antibiotikatherapie waren im Durchschnitt jünger, hatten ein niedrigeres Geburtsgewicht und waren häufiger männlich als in der Vergleichsgruppe ohne Antibiotikatherapie. Der mediane Apgar-Wert in Lebensminute fünf und 10 lag in beiden Probandengruppen bei Neunten oder 10. Insgesamt lag die mittlere Dauer des Krankenhausaufenthalts bei 55,6 Tagen. Frühgeborene mit Antibiotikatherapie hatten im Durchschnitt mit 61,9 Tagen einen längeren Krankenhausaufenthalt als Frühgeborene ohne Antibiotikatherapie. Der mittlere Nabelschnur-pH-Wert lag bei 7,31, wobei sich der Wert in beiden Studienkohorten kaum unterschied. Bei insgesamt sechs Kindern lag ein AIS vor, wovon bei vier Kindern postnatal eine Antibiotikatherapie begonnen wurde. Bei sieben Kindern wurde ein vorzeitiger Blasensprung (VBS) dokumentiert, wovon vier Kinder antibiotisch behandelt wurden. Ein positiver GBS-Status lag bei zwei Kindern vor. Bei der Mehrzahl der Kinder war der GBS-Status negativ, bei 5 Kindern war dieser unbekannt.

Insgesamt erhielten 11 Kinder postnatal Antibiotika, wobei nur bei 10 % der Verdacht einer EOS entsprechend der NeoKISS-Kriterien bestätigte. Ein Erregernachweis konnte in keinem der 11 Fälle getätigt werden. Die durchschnittliche Dauer der Antibiotikatherapie bei Verdacht einer EOS lag bei vier Tagen. Die Therapie wurde am

häufigsten am ersten Lebenstag, im Durchschnitt an Lebenstag 1,3 begonnen. Bei Verdacht auf eine LOS wurde bei insgesamt zwei Kindern eine antibiotische Therapie begonnen. Bei keinem der Kinder konnte ein Erreger nachgewiesen werden oder eine LOS entsprechend der NeoKISS-Kriterien bestätigt werden.

Von allen in die Studie eingeschlossenen Kindern mussten drei Kinder invasiv beatmet werden, wobei alle dieser Kinder in die Studiengruppe mit Antibiotikatherapie fielen. Die Komplikation einer BPD, IVH, Nekrotisierenden Enterocolitis (NEC) oder Fokalen intestinalen Perforation (FIP) traten bei keinem der in die Studie aufgenommenen Kinder auf. Zwei der Kinder erlitten eine Retinopathie des Frühgeborenen (ROP) Grad I, was insgesamt 10 % entspricht. Keines der betroffenen Kinder erhielt eine antibiotische Therapie.

Alle Daten finden sich in Tabelle 3 zur Übersicht.

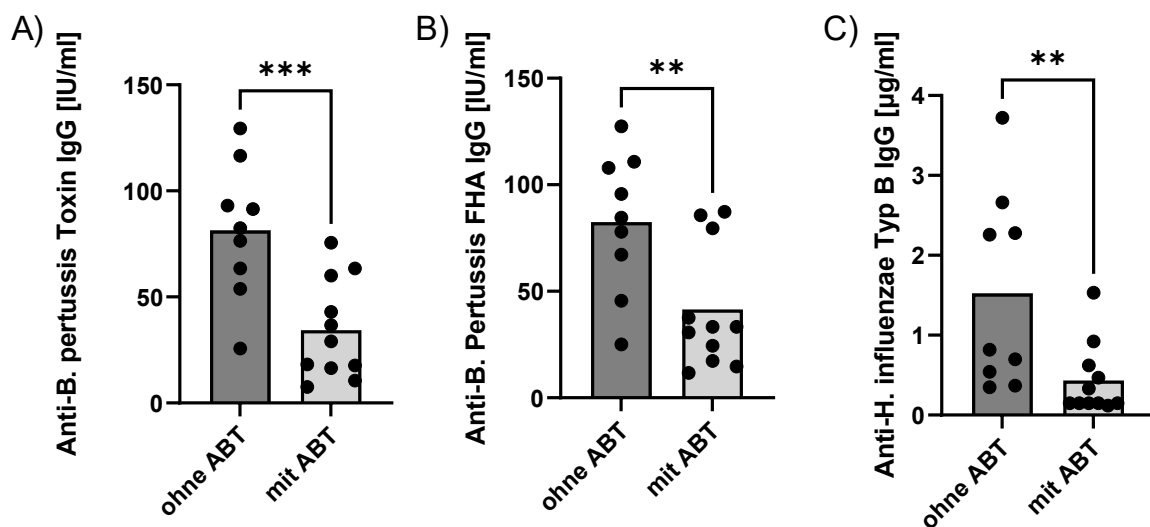
**Tabelle 3: Zusammensetzung der Kohorten nach Geschlecht und Gestationsalter**

	<b>Gesamtes Kollektiv</b>	<b>Probanden mit AB-Therapie</b>	<b>Probanden ohne AB-Therapie</b>
Anzahl	20 Kinder	11 Kinder	9 Kinder
Gestationswoche (SSW) mean (± SD)	29 3/7 (± 1 5/7)	29 2/7 ± 2	29 4/7 ± 1 2/7
Geburtsgewicht (g): mean (±SD)	1189 ± 359	1177 ± 415	1203 ± 276
<b>Geschlecht</b>			
Männlich	8 Kinder (40 %)	5 Kinder (45,5 %)	3 Kinder (33,3 %)
Weiblich	12 Kinder (60 %)	6 Kinder (54,5 %)	6 Kinder (66,7 %)
<b>Geburtsmodus</b>			
Spontangeburt	-	-	-
Prim. Sectio	7 Kinder (35 %)	3 Kinder (27,3 %)	4 Kinder (44,4 %)
Sek. Sectio	13 Kinder (65 %)	8 Kinder (72,7 %)	5 Kinder (55,6 %)
NapH, median	7,31± 0,05	7,32 ± 0,05	7,31 ± 0,06
APGAR 5' median	9	9	9
APGAR 10' median	10	9	10
<b>GBS-Status</b>			
positiv	2 Kinder (10 %)	1 Kind (9,1 %)	1 Kind (11,1 %)
negativ	13 Kinder (65 %)	7 Kinder (63,6 %)	6 Kinder (66,7 %)
unbekannt	5 Kinder (25 %)	3 Kinder (27,3 %)	2 Kinder (22,2 %)
AIS	6 Kinder (30 %)	4 Kinder (36,4 %)	2 Kinder (22,2 %)
VBS	7 Kinder (35 %)	4 Kinder (36,4 %)	3 Kinder (33,3 %)
EOS	11 Kinder (55 %)	11 Kinder (63,6 %)	-

EOS nach NeoKISS-Kriterien	2 Kinder (10 %)	2 Kinder (18,2 %)	-
Erregernachweis	-	-	-
LOS	2 Kinder (10 %)	1 Kind (9,1 %)	1 Kind (11,1 %)
LOS nach NeoKISS-Kriterien	-	-	-
Erregernachweis	-	-	-
Antibiotikatherapie	12 Kinder (60 %)	11 Kinder (100 %)	1 Kind (11,1 %)
Antibiotikatherapie bei EOBI (Early onset bacterial infection) (Ampicillin, Tobramycin)	11 Kinder (55 %)	11 Kinder (100 %)	-
Beginn Antibiotikatherapie bei EOBI	1,3 LT ( $\pm 0,7$ )	1,3 LT ( $\pm 0,7$ )	-
Dauer Antibiotikatherapie bei EOBI	4 Tage ( $\pm 1,7$ )	4 Tage ( $\pm 1,7$ )	-
Nosokomiale Antibiotikatherapie (Ampicillin, Amikacin, Cefotaxim)	2 Kinder (10 %)	1 Kind (9,1 %)	1 Kind (11,1 %)
Beginn Antibiotikatherapie bei nosokomialer Infektion	21 LT ( $\pm 4,2$ )	18.-21. LT	24.-26.LT
Dauer Antibiotikatherapie bei nosokomialer Infektion		4 LT	3 LT
Antibiotikatherapie bei Ureaplasmen-Nachweis (Azithromycin)	1 Kind (5 %)	1 Kind (9,1 %)	-
Aufenthaltsdauer	55,6 Tage ( $\pm 20,6$ )	61,9 Tage ( $\pm 23,2$ )	47,4 Tage ( $\pm 14,6$ )
Invasive Beatmung	3 Kinder (15 %)	3 Kinder (27,3 %)	-
NEC	-	-	-
FIP	-	-	-
IVH	-	-	-
BPD	-	-	-
ROP	2 Kinder; ROP I° (10 %)	-	2 Kinder; ROP I° (22,2 %)

### 3.2. Eine frühe postnatale Antibiotikatherapie bei Frühgeborenen ist assoziiert mit erniedrigten Impftitern im korrigierten Alter von vier Monaten

Zunächst wurde am gesamten Patientenkollektiv untersucht, ob eine frühe Antibiotikatherapie mit Veränderungen in den Impftitern im Alter von korrigiert vier Monaten assoziiert ist. Hierzu wurden die Impftiter der Frühgeborenen ohne Antibiotikatherapie in der ersten Lebenswoche (ohne ABT) mit denen der Frühgeborenen mit Antibiotikatherapie in der ersten Lebenswochen (mit ABT) verglichen. Dabei zeigte sich, dass für alle untersuchten Antikörper, die Titer bei den Kindern mit früher ABT niedriger waren als bei den Kindern ohne ABT (ohne ABT versus mit ABT, für Anti-*B. pertussis* Toxin IgG 81,34 IU/ml  $\pm$  31,16 IU/ml versus 34,37 IU/ml  $\pm$  23,33 IU/ml, n=9-11, p<0.001, für Anti-*B. pertussis* FHA IgG 82,46 IU/ml  $\pm$  32,72 IU/ml versus 41,40 IU/  $\pm$  28,72 IU/ml, n=9-11, p<0.01 und für Anti-*H. influenzae Typ B* IgG 1,52  $\mu$ g/ml  $\pm$  1,23  $\mu$ g/ml versus 0,43  $\mu$ g/ml  $\pm$  0,45  $\mu$ g/ml, n=9-11, p<0,01, Abbildung 5A-C).

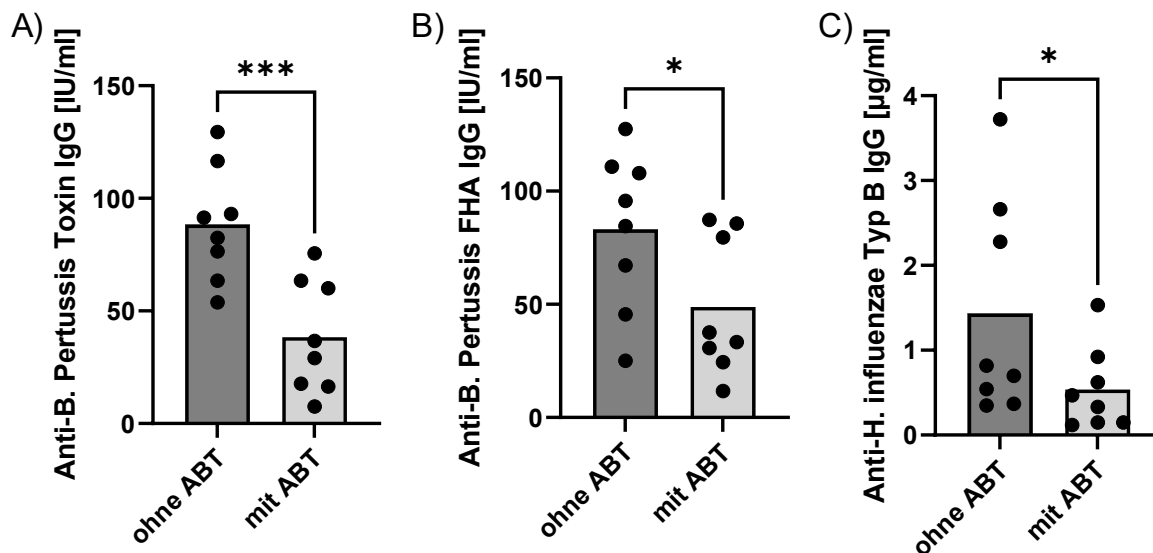


**Abb. 4: Eine frühe postnatale Antibiotikatherapie bei Frühgeborenen ist assoziiert mit erniedrigten Impftitern im korrigierten Alter von vier Monaten**

Antikörper gegen *B. pertussis* Toxin (A) und *B. pertussis* FHA (B) sowie gegen *H. influenzae Typ B* (C) aus dem Serum von Frühgeborenen < 32 SSW nach dreimaliger 6+1 Impfung. Die Höhe der Impftiter ohne Antibiotikatherapie (ABT) und mit Antibiotikatherapie in der ersten Lebenswoche wurden verglichen. Dargestellt sind jeweils Einzelwerte (Punkte) sowie die Mittelwerte der Impftiter der Probanden ohne Antibiotikatherapie (dunkelgrauer Balken) und mit Antibiotikatherapie (hellgrauer

Balken) in der ersten Lebenswoche. Ohne ABT = ohne Antibiotikatherapie in der ersten Lebenswoche, mit ABT = mit Antibiotikatherapie in der ersten Lebenswoche; ohne ABT n=9, mit ABT n=11, \*\*\* p<0,001; \*\* p<0,01, ungepaarter t-Test.

Im nächsten Schritt wurde der Effekt einer frühen Antibiotikatherapie auf die Impfantwort in der Kohorte der Frühgeborenen mit einem Gestationsalter  $\geq 28$  SSW untersucht. Auch hier zeigte sich, dass die frühe postnatale Antibiotikatherapie mit verminderten Impftitern einherging (ohne ABT versus mit ABT, für Anti-*B. pertussis* Toxin IgG 88,30 IU/ml  $\pm$  25,37 IU/ml versus 38,30 IU/ml  $\pm$  25,12 IU/ml, n=8, p<0,001, für Anti-*B. pertussis* FHA IgG 83,03 IU/ml  $\pm$  34,92 IU/ml versus 48,76 IU/ml  $\pm$  30,36 IU/ml, n=8, p<0,05 und für Anti-*H. influenzae Typ B* IgG 1,43  $\mu$ g/ml  $\pm$  1,24  $\mu$ g/ml versus 0,54  $\mu$ g/ml  $\pm$  0,49  $\mu$ g/ml, n=8, p>0,05, Abbildung 6A-C).



**Abb. 5: Eine frühe postnatale Antibiotikatherapie bei Frühgeborenen mit einem Gestationsalter von > 28 SSW ist assoziiert mit erniedrigten Impftitern im korrigierten Alter von vier Monaten** Antikörper gegen *B. pertussis* Toxin (A) und *B. pertussis* FHA (B) sowie gegen *H. influenzae Typ B* (C) aus dem Serum von Frühgeborenen > 28 SSW nach dreimaliger 6+1 Impfung. Die Höhe der Impftiter ohne Antibiotikatherapie (ABT) und mit Antibiotikatherapie in der ersten Lebenswoche wurden verglichen. Dargestellt sind jeweils Einzelwerte (Punkte) sowie die Mittelwerte der Impftiter der Probanden ohne Antibiotikatherapie (dunkelgrauer Balken) und mit Antibiotikatherapie (hellgrauer Balken) in der ersten Lebenswoche. Ohne ABT = ohne Antibiotikatherapie in der ersten Lebenswoche, mit ABT = mit Antibiotikatherapie in der ersten Lebenswoche; ohne ABT n=8, mit ABT n=8, \*\*\* p<0,001; \* p<0,05, ungepaarter t-Test.

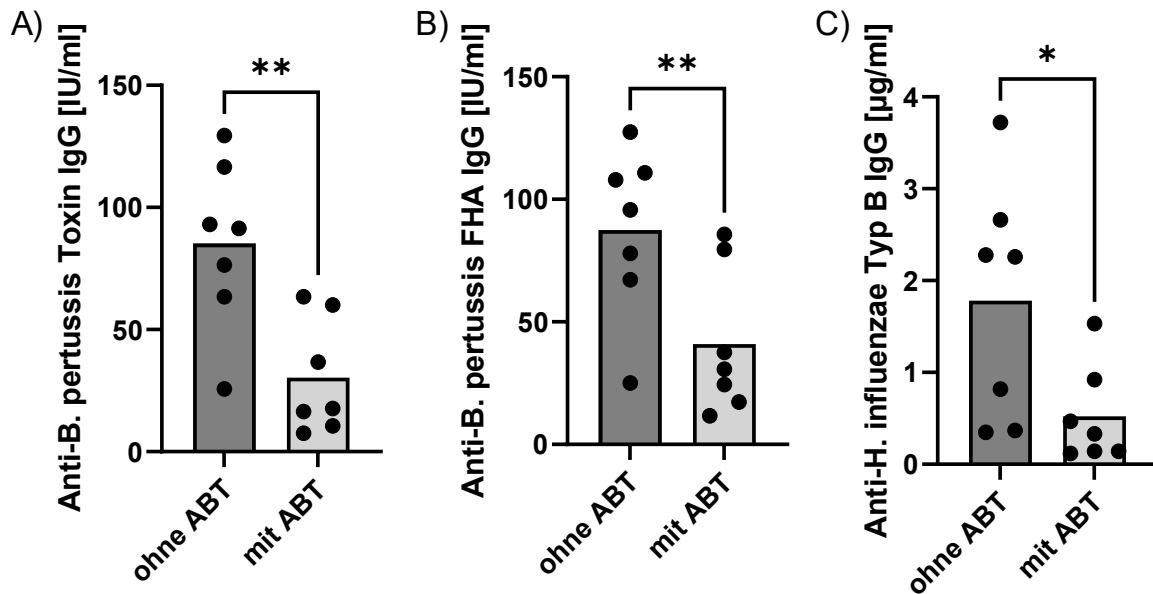
Da bereits bekannt ist, dass Geschlecht<sup>68-70</sup> und Gestationsalter<sup>71,72</sup> einen Einfluss auf die Antikörperproduktion im Rahmen der Impfung haben können, erfolgte zuletzt ein Matching von Kindern mit und ohne Antibiotikatherapie in der ersten Lebenswoche nach Gestationsalter und Geschlecht. Hier konnten sieben Paare in die Auswertung eingehen. Tabelle 4 zeigt die jeweils gepaarten Probanden.

**Tabelle 4: Anzahl der Paarungen aufgeteilt nach Geschlecht und Gestationsalter**

	<b>Geschlecht</b>	<b>Gestations- alter</b>	<b>Geburts- Gewicht</b>	<b>Tag 1. ABT- Gabe</b>	<b>Dauer ABT</b>
<b>Match 1</b>					
Mit ABT	Männl.	28 3/7	1140 g (P40)	1. LT	7 Tage
Ohne ABT	Männl.	28 1/7	845 g (P15)	-	-
<b>Match 2</b>					
Mit ABT	Männl.	29 4/7	740 g (<P3)	2. LT	3 Tage
Ohne ABT	Männl.	29 6/7	1060 g (<P3)	-	-
<b>Match 3</b>					
Mit ABT	Männl.	29 6/7	960 g (P8)	1. LT	2 Tage
Ohne ABT	Männl.	29 0/7	1660 g(P40)	-	-
<b>Match 4</b>					
Mit ABT	Weibl.	30 0/7	650 g (<P3)	2. LT	6 Tage
Ohne ABT	Weibl.	29 3/7	1025 g (<P3)	-	-
<b>Match 5</b>					
Mit ABT	Weibl.	30 0/7	1620 g (P60)	1. LT	3 Tage
Ohne ABT	Weibl.	29 6/7	1235 g (P40)	-	-
<b>Match 6</b>					
Mit ABT	Weibl.	26 5/7	795 g (P30)	1. LT	6 Tage
Ohne ABT	Weibl.	26 6/7	805 g (P40)	-	-
<b>Match 7</b>					
Mit ABT	Weibl.	31 2/7	1410 g (P30)	2. LT	3 Tage
Ohne ABT	Weibl.	31 2/7	1840 g (P70)	-	-

Auch nach Matching für Gestationsalter und Geschlecht beobachteten wir signifikant niedrigere Impftiter bei Frühgeborenen mit Antibiotikatherapie in der ersten

Lebenswoche als bei den Frühgeborenen ohne Antibiotikatherapie (ohne ABT versus mit ABT, für Anti-*B. pertussis* Toxin IgG 85,13 U/ml  $\pm$  34,47 IU/ml versus 30,34 IU/ml  $\pm$  23,36 IU/ml, n=7, p<0,01, für Anti-*B. pertussis* FHA IgG 87,41 IU/ml  $\pm$  34,23 IU/ml versus 40,97 IU/ml  $\pm$  29,71 IU/ml, n=7, p<0,01 und für Anti-*H. influenzae Typ B* IgG 1,78  $\mu$ g/ml  $\pm$  1,29  $\mu$ g/ml versus 0,52  $\mu$ g/ml  $\pm$  0,53  $\mu$ g/ml, n=7, p<0,05, Abbildung 7A-C).



**Abb. 6: Eine frühe postnatale Antibiotikatherapie bei Frühgeborenen mit einem Gestationsalter < 32 SSW, gematcht nach Geschlecht und Gestationsalter, ist assoziiert mit erniedrigten Impftitern im korrigierten Alter von 4 Monaten**

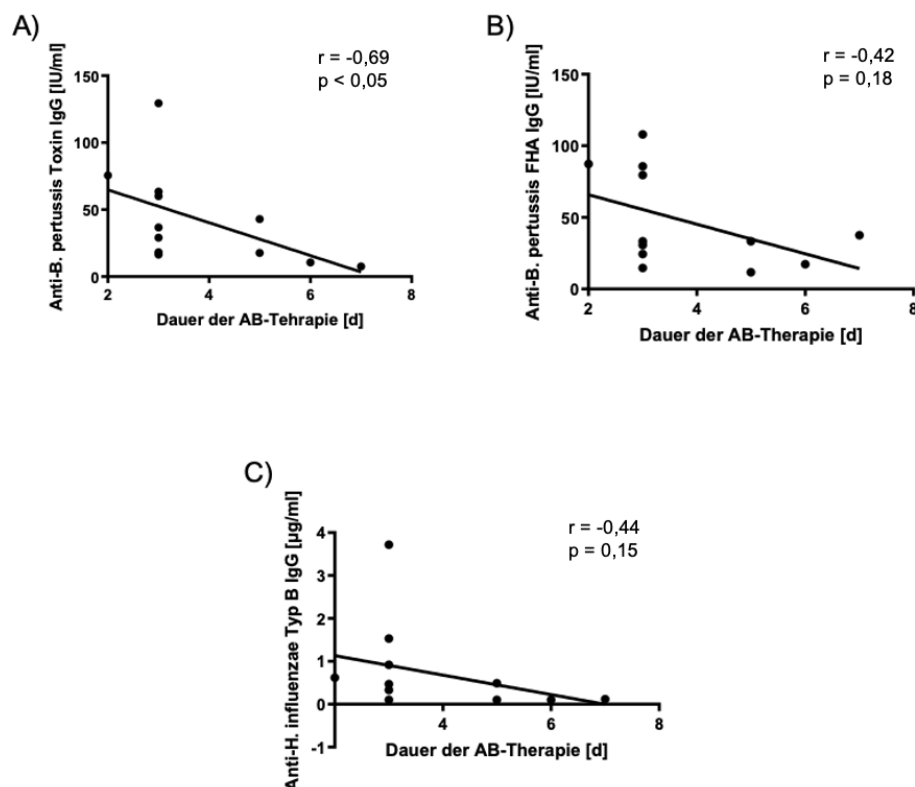
Antikörper gegen *B. pertussis* Toxin (A) und *B. pertussis* FHA (B) sowie gegen *H. influenzae Typ B* (C) aus dem Serum von Frühgeborenen < 32 SSW, gematcht nach Geschlecht und Gestationsalter, nach dreimaliger 6+1 Impfung. Die Höhe der Impftiter ohne Antibiotikatherapie (ABT) und mit Antibiotikatherapie in der ersten Lebenswoche wurden verglichen. Dargestellt sind jeweils Einzelwerte (Punkte) sowie die Mittelwerte der Impftiter der Probanden ohne Antibiotikatherapie (dunkelgrauer Balken) und mit Antibiotikatherapie (hellgrauer Balken) in der ersten Lebenswoche. Ohne ABT = ohne Antibiotikatherapie in der ersten Lebenswoche, mit ABT = mit Antibiotikatherapie in der ersten Lebenswoche; ohne ABT n=7, mit ABT n=7, \*\* p<0,01; \* p<0,05, gepaarter t-Test.

### 3.3. Einfluss weiterer Faktoren auf die Impftiter

Im Weiteren wurde der Einfluss weiterer Faktoren auf die Höhe der Impftiter in unserer Patientenkohorte untersucht.

#### 3.3.1. Einfluss der Dauer der Antibiotikatherapie auf die Impftiter

Als erstes wurde eine mögliche Korrelation zwischen Dauer der Antibiotikatherapie und der Höhe der Impftiter untersucht. Hier zeigte sich, dass eine längere Antibiotikatherapie mit niedrigeren Impftitern assoziiert war. Diese Korrelation war nur für die Impftiter gegen das *B. pertussis* Toxin ( $r=-0,69$ ,  $p<0,05$ ,  $n=12$ , A)) signifikant, nicht jedoch für die Impftiter gegen *B. pertussis* FHA ( $r=-0,42$ ,  $p=0,18$ ,  $n=12$ , B)) und gegen *H. influenzae* B ( $r=-0,44$ ,  $p=0,15$ ,  $n=12$ , C)), Abbildung 8A-C).



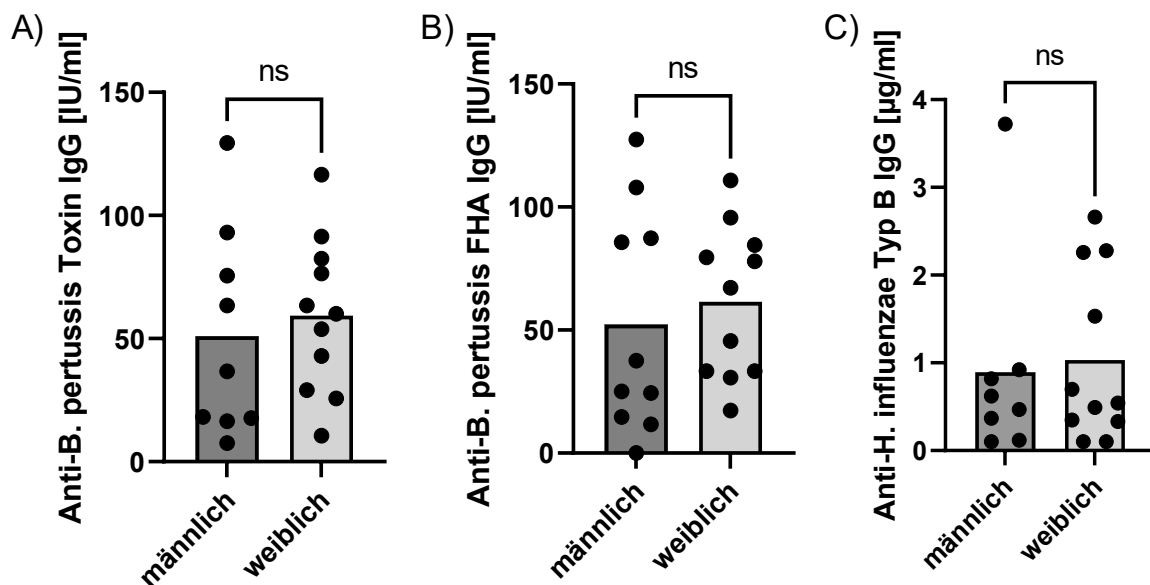
**Abb. 7: Negative Korrelation zwischen Dauer der Antibiotikatherapie und Höhe der Impftiter.**

Antikörper gegen *B. pertussis* Toxin (A) und FHA (B) sowie *H. influenzae* Typ B (C) aus dem Serum von Frühgeborenen < 32 SSW nach dreimaliger 6+1 Impfung. Die Höhe der Impftiter wurden auf eine Korrelation mit der Dauer der Antibiotikatherapie untersucht. Die Abbildung zeigt die Höhe der Impftiter in Abhängigkeit der Dauer der Antibiotikatherapie Dargestellt sind jeweils Einzelwerte (Punkte) sowie

die Ausgleichsgerade (Linie). Dauer der Antibiotikatherapie in Tagen; n=12, signifikant  $p < 0,05$ , nonparametrische Spearman Korrelation.

### 3.3.2. Einfluss des Geschlechts auf die Impftiter

Verschiedene vorangegangene Studien zeigten, dass das Geschlecht einen Einfluss auf die Antikörperproduktion im Rahmen einer Impfung hat<sup>68-70</sup>. Daher untersuchten wir in unserer Kohorte, ob Unterschiede in der Höhe der Impftiter zwischen Mädchen und Jungen vorlagen. Hier zeigte sich bei keinem der drei untersuchten Impftiter ein Unterschied zwischen den Geschlechtern, sondern nur eine leichte Tendenz zu höheren Impftitern bei Mädchen (männlich versus weiblich: Anti-*B. pertussis*-Toxin IgG IU/ml  $50,89 \pm 42,05$  IU/ml versus  $59,29$  IU/ml  $\pm 31,29$  IU/ml,  $p > 0,05$ , Anti-*B. pertussis* FHA IgG  $52,17$  IU/ml  $\pm 45,46$  IU/ml versus  $61,45$  IU/ml  $\pm 30,83$  IU/ml,  $p > 0,05$  Anti-*H. influenzae Typ B* IgG  $0,89$   $\mu\text{g/ml} \pm 1,18$   $\mu\text{g/ml}$  versus  $1,03$   $\mu\text{g/ml} \pm 1,29$   $\mu\text{g/ml}$   $p > 0,05$ ; männlich n=9, weiblich n=11, Abbildung 9 A-C).

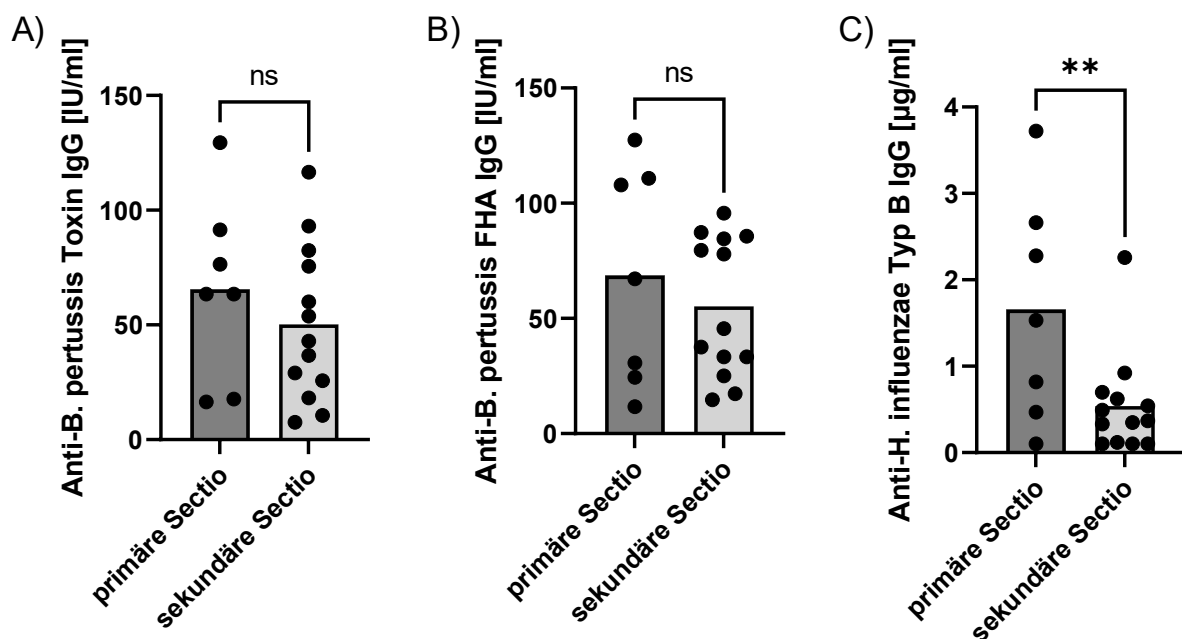


**Abb. 8: Einfluss des Geschlechts auf die Höhe der Impftiter**

Antikörper gegen *B. pertussis* FHA (A) und *B. pertussis* Toxin (B) sowie gegen *H. influenzae Typ B* (C) aus dem Serum von Frühgeborenen < 32 SSW nach dreimaliger 6+1 Impfungen. Die Höhe der Impftiter zwischen Jungen und Mädchen wurde verglichen. Dargestellt sind jeweils die Einzelwerte (Punkte) sowie die Mittelwerte der Impftiter der männlichen (dunkelgrauer Balken) und der weiblichen (hellgrauer Balken) Probanden. männlich n=9, weiblich n=11 ns=nicht signifikant, ungepaarter t-Test.

### 3.3.3. Einfluss des Geburtsmodus auf die Impftiter

In einer ganz aktuellen Studie konnte gezeigt werden, dass der Geburtsmodus (Spontangeburt versus Kaiserschnittentbindung) einen Einfluss auf die Impfantwort hat<sup>73</sup>. In unserer Kohorte wurden alle Frühgeborenen mittels Kaiserschnitts entbunden. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in den Impftitern gegen *B. pertussis* Toxin und FHA zwischen Frühgeborenen welche per primärer (vor Einsetzen der Wehentätigkeit) oder sekundärer (nach Einsetzen der Wehentätigkeit) Sectio caesarea entbunden wurden (primäre Sectio caesarea versus sekundäre Sectio caesarea, für Anti-*B. pertussis* Toxin IgG 65,44 IU/ml  $\pm$  39,95 IU/ml versus 50,16 IU/ml  $\pm$  33,80 IU/ml,  $p > 0,05$ ,  $n = 7-13$ ; für Anti-*B. pertussis*-FHA IgG 68,59 IU/ml  $\pm$  47,28 IU/ml versus 55,18 IU/ml  $\pm$  30,17 IU/ml,  $p > 0,05$ ,  $n = 7-13$ , Abbildung 10A-B)). Allerdings zeigte sich ein signifikanter Unterschied der Impftiter gegen *H. influenzae* Typ B zwischen den Frühgeborenen nach primärer und sekundärer Sectio caesarea (Anti-*H. influenzae* Typ B IgG 1,65  $\mu$ g/ml  $\pm$  1,30  $\mu$ g/ml versus 0,54  $\mu$ g/ml  $\pm$  0,58  $\mu$ g/ml,  $p < 0,01$ ;  $n = 7-13$ , Abbildung 10A-C).



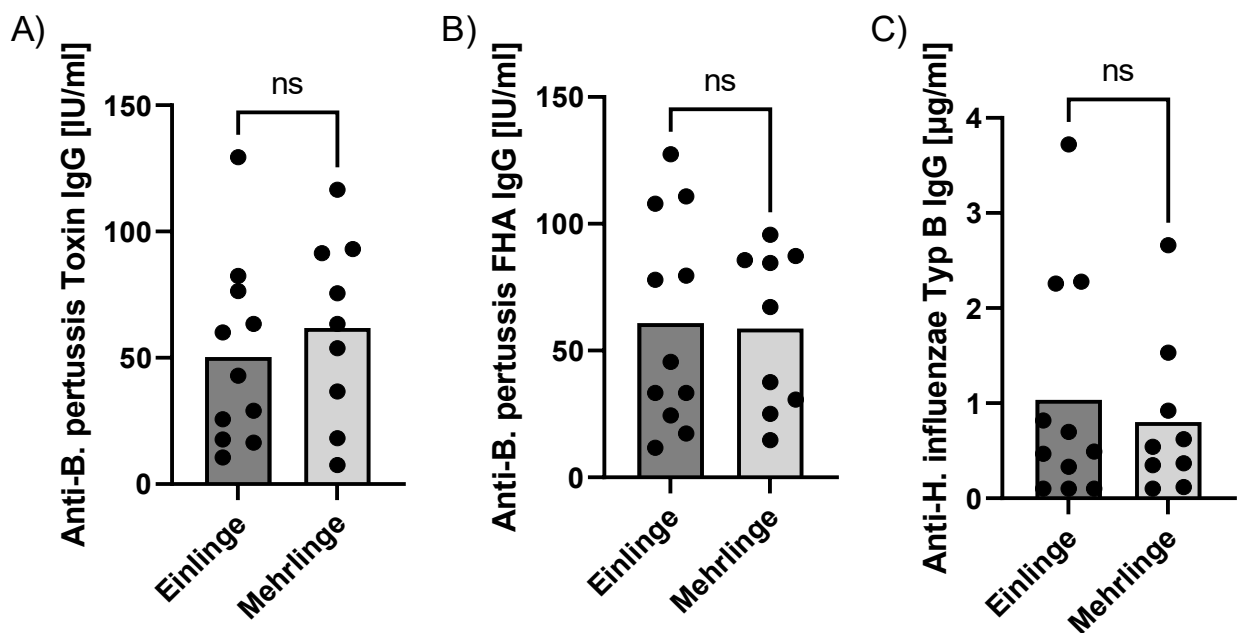
**Abb. 9: Der Geburtsmodus hatte keinen Einfluss auf die Impftiter.**

Antikörper gegen *B. pertussis* FHA (A) und *B. pertussis* Toxin (B) sowie gegen *H. influenzae* Typ B (C) aus dem Serum von Frühgeborenen < 32 SSW nach dreimaliger 6+1 Impfungen. Die Höhe der Impftiter zwischen Kindern welche per primärer Sectio oder sekundärer Sectio cesarea entbunden wurden wurde verglichen. Dargestellt sind jeweils die Einzelwerte (Punkte) sowie die Mittelwerte der Impftiter der Kinder welche per primärer Sectio (dunkelgrauer Balken) und per sekundärer Sectio (hellgrauer Balken)

auf die Welt kamen. Primäre Sectio n=7, sekundäre Sectio n=13, ns=nicht signifikant, \*\* p<0,01 ungepaarter t-Test.

### 3.3.4. Einfluss einer Mehrlingsschwangerschaft auf die Impftiter

Wir untersuchten weiter, ob das Vorliegen einer Mehrlingsschwangerschaft die Höhe der Impftiter beeinflusst. Auch hier konnten wir für keinen der untersuchten Antikörper einen Unterschied zwischen Einlingen und Mehrlingen beobachten (Einlinge versus Mehrlinge, für Anti-*B. pertussis*-Toxin IgG 50,36 IU/ml  $\pm$  36,24 IU/ml versus 61,80 IU/ml  $\pm$  36,35 IU/ml, n=11-9, p>0,05, für Anti-*B. pertussis*-FHA IgG 60,83 IU/ml  $\pm$  41,43 IU/ml versus 58,71 IU/ml  $\pm$  31,55 IU/ml, n=11-9, p>0,05 für Anti-*H. influenzae Typ B* IgG 1,03  $\mu$ g/ml  $\pm$  1,19  $\mu$ g/ml versus 0,80  $\mu$ g/ml  $\pm$  0,83  $\mu$ g/ml, n=11-9, p>0,05; Abbildung 11 A-C).



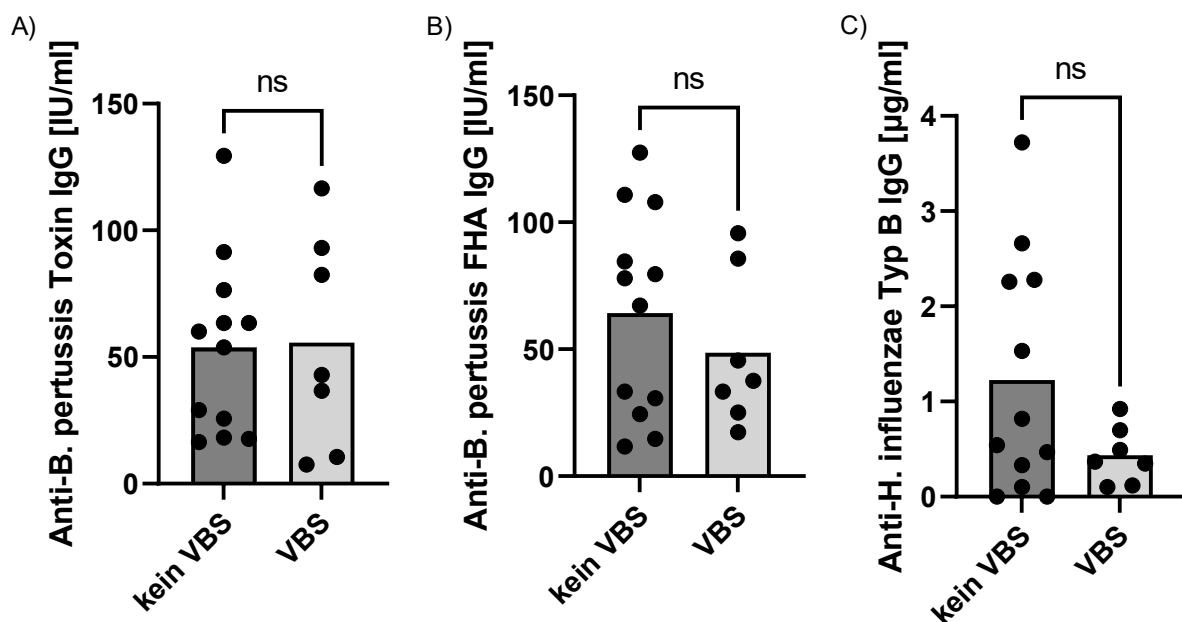
**Abb. 10: Kein Einfluss von Mehrlingsschwangerschaften auf die Impftiter**

Antikörper gegen *B. pertussis* FHA (A) und *B. pertussis* Toxin (B) sowie gegen *H. influenzae* Typ B (C) aus dem Serum von Frühgeborenen < 32 SSW nach dreimaliger 6+1 Impfungen. Die Höhe der Impftiter zwischen Einlingen und Mehrlingen wurde verglichen. Dargestellt sind jeweils die Einzelwerte (Punkte) sowie die Mittelwerte der Impftiter der Kinder welche per primärer Sectio (dunkelgrauer Balken) und per sekundärer Sectio (hellgrauer Balken) auf die Welt kamen. Einlinge n=11, Mehrlinge n=9, ns=nicht signifikant, ungepaarter t-Test.

### 3.3.5. Einfluss eines vorzeitigen Blasensprungs auf die Impftiter

Bei Betrachtung des Einflusses eines VBS auf die Impftiter zeigte sich für die Impftiter gegen *B. pertussis* FHA eine leichte Tendenz zu erniedrigten Impftitern bei Probanden mit VBS im Vergleich zu Probanden ohne VBS, während bei den Impftitern gegen das *B. pertussis* Toxin keine Tendenz festzustellen war. (Kein VBS versus VBS, für Anti-*B. pertussis* Toxin IgG 53,74 IU/ml  $\pm$  34,74 IU/ml versus 55,69 IU/ml  $\pm$  42,29 IU/ml n=12-7, p>0,05, für Anti-*B. pertussis* FHA IgG 64,18 IU/ml  $\pm$  40,22 IU/ml versus 48,59 IU/ml  $\pm$  30,27 IU/ml, n=7-12, p>0,05; Abbildung 12 A-B).

Bei den Impftitern gegen *H. influenzae* Typ B zeigte sich zwar kein signifikanter Unterschied, jedoch eine eindeutige Tendenz, wobei die Impftiter bei Vorliegen eines VBS niedriger waren als in der Gruppe ohne VBS (Für Anti-*H. influenzae* Typ B IgG 1,23  $\mu$ g/ml  $\pm$  1,24  $\mu$ g/ml versus 0,44  $\mu$ g/ml  $\pm$  0,30  $\mu$ g/ml, n=7-12, p>0,05, Abbildung 12 C).

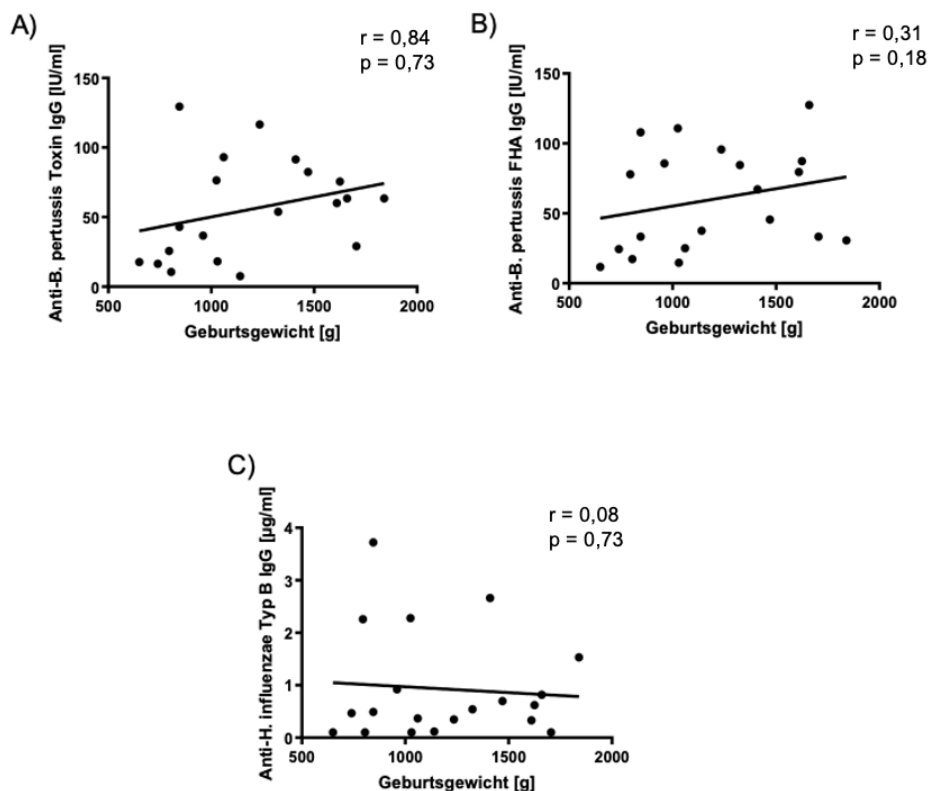


**Abb. 11: Kein Einfluss eines VBS auf die Impftiter**

Antikörper gegen *B. pertussis* FHA (A) und *B. pertussis* Toxin (B) sowie gegen *H. influenzae* Typ B (C) aus dem Serum von Frühgeborenen < 32 SSW nach dreimaliger 6+1 Impfungen. Die Höhe der Impftiter zwischen Frühgeborenen mit VBS und ohne VBS wurden verglichen. Dargestellt sind jeweils die Einzelwerte (Punkte) sowie die Mittelwerte der Impftiter der Probanden mit VBS (dunkelgrauer Balken) und der Probanden ohne VBS (hellgrauer Balken) Probanden. Kein VBS n=12, VBS n=7, ns=nicht signifikant, ungepaarter t-Test.

### 3.3.6. Einfluss des Geburtsgewichts auf die Impftiter

Zur Auswertung des Einflusses des Geburtsgewichtes auf die Höhe der Impftiter erfolgte zunächst eine Korrelationsanalyse. Diese zeigte eine Tendenz zu einer positiven Korrelation zwischen Gestationsalter und Geburtsgewicht, allerdings ohne Signifikanz (*B. pertussis* Toxin  $r=0,84$ ,  $p=0,73$ , *B. pertussis* FHA  $p=0,31$ ,  $p=0,18$ , *H. influenzae* B  $r=0,08$ ,  $p=0,73$ , alle  $n=20$ ).

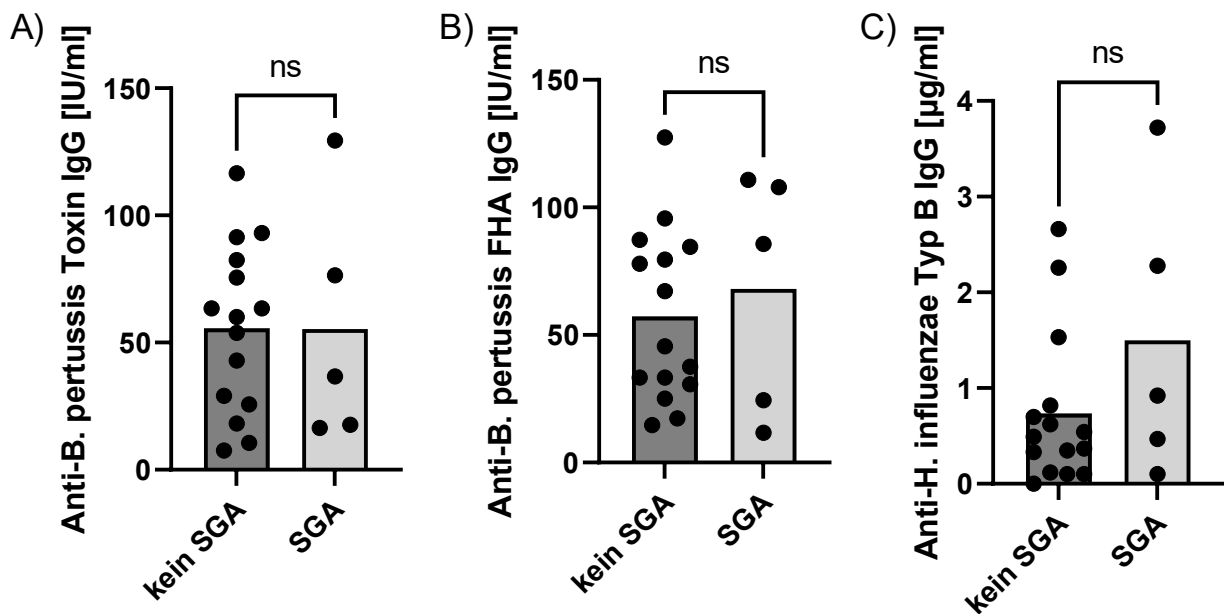


**Abb. 12: Keine Korrelation zwischen Geburtsgewicht und Höhe der Impftiter**

Antikörper gegen *B. pertussis* Toxin (A) und FHA (B) sowie *H. influenzae* Typ B (C) aus dem Serum von Frühgeborenen < 32 SSW nach dreimaliger 6+1 Impfung. Die Höhe der Impftiter wurden auf eine Korrelation mit dem Geburtsgewicht untersucht. Die Abbildung zeigt die Höhe der Impftiter in Abhängigkeit des Geburtsgewichtes. Dargestellt sind jeweils Einzelwerte (Punkte) sowie die Ausgleichsgerade (Linie). Geburtsgewicht in g;  $n=20$ , signifikant  $p < 0,05$ , nonparametrische Spearman Korrelation.

Außerdem untersuchten wir, ob Kinder mit Geburtsgewicht unter der 10. Perzentile (hypotrophe Frühgeborene, small for gestational age, SGA) veränderte Impftiter aufwiesen im Vergleich zu normalgewichtigen Frühgeborenen. Auch hier zeigte sich

kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen (kein SGA versus SGA, für Anti-B. pertussis Toxin IgG 55,57 IU/ml  $\pm$  32,89 IU/ml versus 55,32 IU/ml  $\pm$  47,98 IU/ml, n=15-5, p>0,05; für Anti-B. pertussis FHA IgG 57,13 IU/ml  $\pm$  33,70 IU/ml versus 68,10 IU/ml  $\pm$  46,92 IU/ml, n=15-5, p>0,05; für Anti-H. influenzae B IgG 0,73  $\mu$ g/ml  $\pm$  0,80  $\mu$ g/ml versus 1,50  $\mu$ g/ml  $\pm$  1,49  $\mu$ g/ml, n=15-5, p>0,05; Abbildung 15 A-C).

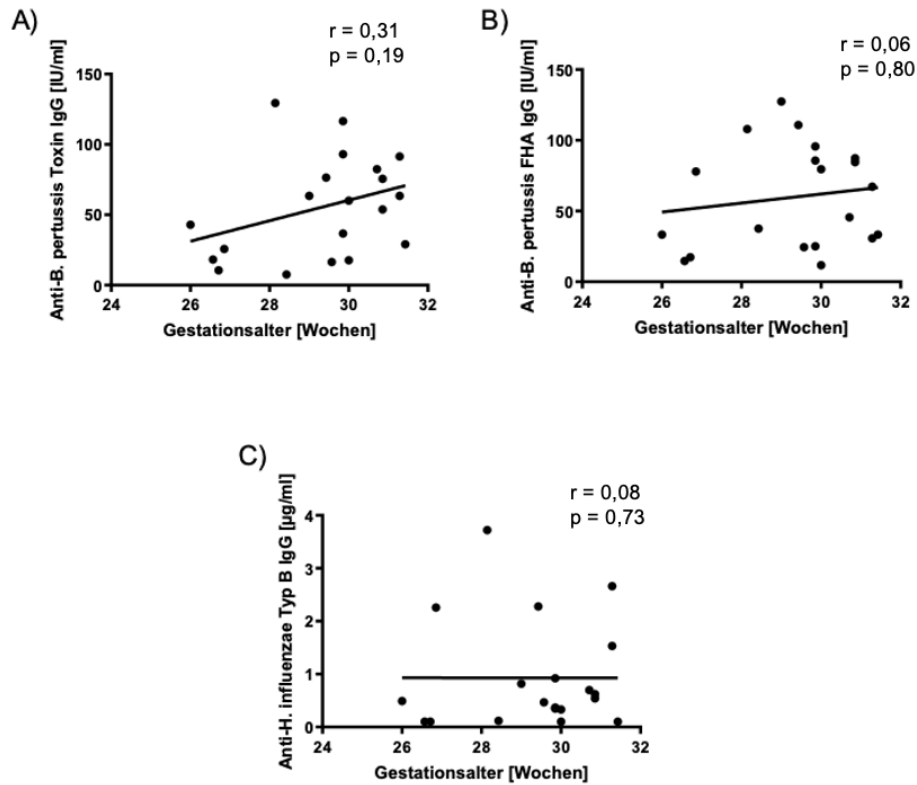


**Abb. 13: Kein Einfluss eines Geburtsgewichtes unter der 10. Perzentile auf die Impftiter**

Antikörper gegen *B. pertussis* FHA (A) und *B. pertussis* Toxin (B) sowie gegen *Haemophilus influenzae* (C) aus dem Serum von Frühgeborenen < 32 SSW nach dreimaliger 6+1 Impfungen. Die Höhe der Impftiter zwischen Frühgeborener ohne SGA und Frühgeborener mit SGA wurden verglichen. Dargestellt sind jeweils die Einzelwerte (Punkte) sowie die Mittelwerte der Impftiter der Probanden mit VBS (dunkelgrauer Balken) und der Probanden ohne VBS (hellgrauer Balken) Probanden. Kein SGA n=15, SGA, n=5, ns=nicht signifikant, ungepaarter t-Test.

### 3.3.7. Einfluss des Gestationsalters auf die Impftiter

Für das Gestationsalter konnte in vorangegangenen Studien gezeigt werden, dass Kinder mit höherem Gestationsalter eine bessere Impfantwort zeigen als jüngere Kinder<sup>71,72</sup>. In unserer Kohorte zeigte sich nur für *B. pertussis* Toxin eine Tendenz zu einer Korrelation zwischen Gestationsalter und Impftitern, auch hier aber ohne statistische Signifikanz (Korrelation zwischen Impftiter und Gestationsalter für *B. pertussis* Toxin r=0,31, p=0,19, *B. pertussis* FHA r=0,06, p=0,80 und *H. influenzae B* r=0,08, p=0,73, alle n=20, Abbildung 15 A-C).



**Abb. 14: Kein Einfluss des Gestationsalters auf die Höhe der Impftiter**

Antikörper gegen *B. pertussis* Toxin (A) und FHA (B) sowie *H. influenzae* Typ B (C) aus dem Serum von Frühgeborenen < 32 SSW nach dreimaliger 6+1 Impfung. Die Höhe der Impftiter wurden auf eine Korrelation mit dem Gestationsalter untersucht. Die Abbildung zeigt die Höhe der Impftiter in Abhängigkeit des Gestationsalters. Dargestellt sind jeweils Einzelwerte (Punkte) sowie die Ausgleichsgerade (Linie). Gestationsalter in Wochen; n=20, signifikant  $p < 0,05$ , nichtparametrische Spearman Korrelation.

### 3.4. Zusammenfassung der Ergebnisse

In dieser Pilotstudie konnte gezeigt werden, dass eine frühe postnatale Antibiotikatherapie bei Frühgeborenen mit einem Gestationsalter von < 32 SSW mit erniedrigten Impftitern für die untersuchten Impfungen gegen *B. pertussis* und *H. influenzae* assoziiert war. Die Dauer der Antibiotikatherapie korrelierte negativ mit der Höhe der Impftiter.

Außerdem konnten wir zeigen, dass bestimmte perinatale Faktoren wie Geschlecht, vorzeitiger Blasensprung (VBS), Mehrlingsschwangerschaft, Geburtsgewicht und Gestationsalter keinen Einfluss auf die Höhe der Impftiter hatten.

Die Rolle des Mikrobioms konnte im Rahmen dieser Studie aufgrund technischer Probleme hingegen nicht, wie ursprünglich geplant, geklärt werden.

## 4. Diskussion und Ausblick

Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss einer frühen postnatalen Antibiotikatherapie auf die Reifung des adaptiven Immunsystems besser zu verstehen. Hierzu wurden in einer prospektiven Beobachtungsstudie die Impftiter gegen zwei repräsentative Bestandteile der ersten Impfung (*B. pertussis* und *H. influenzae*) im Serum von Frühgeborenen mit und ohne Antibiotikatherapie in der ersten Lebenswoche vergleichend untersucht. Daneben wurde der Einfluss weiterer perinataler Faktoren (Dauer der Antibiotikatherapie, Geschlecht, Geburtsmodus, Mehrlingsschwangerschaft, VBS, Geburtsgewicht und Gestationsalter) auf die Höhe der Impftiter untersucht.

### 4.1. Antibiotikatherapie bei Frühgeborenen

Antibiotikatherapien sind in der Neonatologie extrem häufig. Es erhalten bis zu 80 % der Frühgeborenen in ihrer ersten Lebenswoche Antibiotika<sup>19,74</sup>. Dies steht in deutlichem Kontrast zu dem Anteil der Zahl an tatsächlich auftretenden frühen Infektionen, welche bei ca. 1-6 %<sup>5,74,75</sup> liegt. Da immer klarer wird, dass frühe Antibiotikatherapien aber selbst mit einem erhöhten Risiko für Komplikationen einhergehen, ist es wichtig, dass die Indikationsstellung umsichtig erfolgt.

Die deutsche Leitlinie der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften AWMF spricht für die antibiotische Therapie bestimmte Empfehlungen aus. Aufgrund des häufig schwerwiegenden und rasch fortschreitenden Verlaufs einer bakteriellen Infektion bei Neugeborenen wird empfohlen, bereits bei klinischem Verdacht eine empirische Antibiotikatherapie zu beginnen. In diesem Falle sollen lokale Faktoren wie Erreger- oder Resistenzstatistik in die Wahl der Antibiotikatherapie einbezogen werden. Bei einer kalkulierten Antibiotikatherapie einer EOS sollte das Antibiotikum Gruppe B-Streptokokken, *E. coli*, Listerien und Enterokokken erfassen. Außerdem wird empfohlen bei einer EOS die Besiedlung der Mutter mittels Vaginalabstrich bei Bedarf bei der Wahl des Antibiotikums einzubeziehen. Es wird empfohlen vor Antibiotikabeginn eine Blutkultur abzunehmen. Zur Dauer der Antibiotikatherapie empfiehlt die AWMF eine Mindestdauer von 36-48 Stunden. Bei negativen klinischen und laborchemischen Infektionszeichen wird empfohlen, die Therapie frühzeitig wieder zu beenden<sup>76</sup>. Aus diesen Empfehlungen

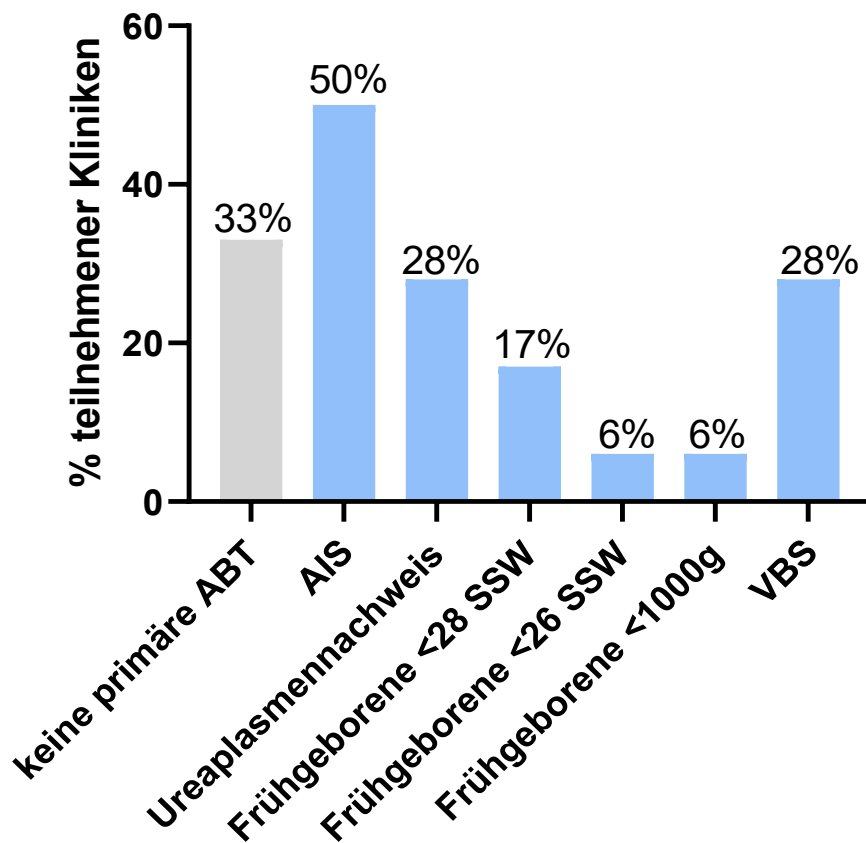
geht hervor, wie schwierig es ist, einheitliche Kriterien für die Therapie einer neonatalen Sepsis festzulegen.

Auswertungen einer Umfrage im Rahmen einer Projektarbeit der Tübinger Research Experience (TüRex, Uhlig, 2021, Abbildung 16) ergaben, dass an fast 70 % der teilnehmenden universitären Neonatologien in Deutschland bestimmte Patientengruppen primär, d. h. direkt nach der Geburt, eine Antibiotikatherapie erhalten.

Als Gründe wurde das Vorliegen<sup>71</sup> bestimmter Risikofaktoren wie VBS oder AIS genannt. Dabei ergibt sich aber die Schwierigkeit, dass der prädiktive Wert von Risikofaktoren sehr unklar ist und in der Literatur kontrovers diskutiert wird<sup>77-79</sup>. Für den VBS zeigen beispielsweise Daten aus Syrien, dass der Anteil des VBS bei Neugeborenen mit einer EOS-Diagnose bei fast 44 % lag<sup>77</sup>. Zu einem ähnlichen Ergebnis kam eine Studie aus Nigeria, welche einen VBS als Risikofaktor für eine EOS identifizierte<sup>80</sup>, während in einer großen Kohorte aus Deutschland kein Zusammenhang gefunden werden konnte<sup>5</sup>. Die alleinige Verwendung von einzelnen Risikofaktoren scheint daher kein optimaler Ansatz für die Entscheidung zur Initiierung einer Antibiotikatherapie zu sein. Ein aktuell viel untersuchter Ansatz ist die Verwendung sogenannter Sepsis-Kalkulatoren<sup>81,82</sup>, bei denen Risikofaktoren wie Gestationsalter, mütterliche Temperatur, GBS-Status und intrapartale Antibiotikagabe sowie die klinische Präsentation des Neugeborenen mit Faktoren wie hämodynamische Instabilität, O<sub>2</sub>-Bedarf oder auch Tachykardie und Tachypnoe analysiert wurden. Die Verwendung solcher Kalkulatoren kann insbesondere bei älteren Frühgeborenen und reifen Neugeborenen zu einer erfolgreichen Vorhersage einer Sepsis führen<sup>83-85</sup>, wodurch der Einsatz von Antibiotika in bis zu ca. 42-68 %<sup>86,87</sup> gesenkt werden konnte.

Hinsichtlich der Dauer der Antibiotikatherapie sind<sup>5</sup> serielle Messungen des C-reaktiven Proteins ein möglicher Ansatz<sup>88,89</sup>. Das bedeutet, dass nach Beginn einer Antibiotikatherapie täglich oder zweitäglich das CRP bestimmt wird und bei Erreichen eines negativen Wertes und klinisch gutem Zustand die Antibiotikatherapie wieder beendet wird. Es konnte gezeigt werden, dass bei Verwendung dieser Methode das Risiko für einen Rückfall nicht erhöht ist. So wird zwar die antibiotische Therapie nicht per se vermieden, aber die Dauer der Therapie verringert.

Immer mehr Bedeutung erlangen sogenannte Antibiotic Stewardship-Programme (ABS), welche dabei helfen sollen, die richtige Wahl sowie die richtige Dosis eines Antibiotikums entsprechend klinischer Symptomatik, vorliegender Kulturergebnisse und Resistogramme, zu finden und die Therapiebeendigung festzulegen. Meta-Analysen konnten einen Rückgang des Antibiotikum-Einsatzes sowie einen positiven Effekt auf Resistenzbildungen durch die Nutzung von Antibiotic Stewardship-Programmen zeigen<sup>90-92</sup>. Allerdings wurden die meisten dieser Meta-Analysen bei Erwachsenen und nicht bei Neu- und Frühgeborenen durchgeführt. Eine Meta-Analyse aus dem Jahr 2020 untersuchte den Effekt von ABS-Programmen auf den Antibiotika-Einsatz auch bei Frühgeborenen. Es wurden 12 Studien eingeschlossen die jedoch aufgrund zu unterschiedlicher Studienkohorten, zu verschiedener Fragestellungen und sehr heterogener gemessener Outcomes nicht zusammengefasst werden konnten<sup>93</sup>. Dennoch scheinen ABS-Programme auch in der Neonatologie ein vielversprechender Ansatz zur Reduktion des Antibiotikaeinsatzes zu sein<sup>93</sup>.



**Abb. 15.: Gründe für die Entscheidung zu einer primären Antibiotikatherapie**

AIS = Amnioninfektionssyndrom; SSW = Schwangerschaftswoche; VBS = vorzeitiger Blasensprung (TüRex, Uhlig, 2021).

#### **4.2. Frühe Antibiotikatherapie und Immunantwort: Eine frühe postnatale Antibiotikatherapie ist mit erniedrigten Impftitern assoziiert**

In der vorliegenden Pilotstudie konnte gezeigt werden, dass eine frühe Antibiotikatherapie bei Frühgeborenen mit einer verminderten Impfantwort im Rahmen der 6+1 Impfung im Alter von korrigiert vier Monaten assoziiert war. Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit tierexperimentellen Daten von Lynn et al., die zeigten, dass Mäuse, welche perinatal Antibiotika erhielten, geringere Antikörpertiter nach Impfung entwickelten<sup>67</sup>. Interessanterweise zeigten Lynn et al. weiter, dass eine Antibiotikatherapie über mehrere Wochen bei erwachsenen Mäusen die Impfantwort nicht beeinträchtigte. Dies verdeutlicht, dass die Neugeborenenzeit eine besonders vulnerable Phase für Störfaktoren wie eine Antibiotikatherapie ist.

Lynn et al. untersuchten die Antwort auf Impfungen gegen Meningokokken Gruppe B (Bexsero), Meningokokken Gruppe C (NeisVac-C), Pneumokokken (Prevenar), Diphtherie, Tetanus, Pertussis, Hepatitis B, Haemophilus influenzae B und Poliomyelitis (Infanrix). Alle von Lynn et al. untersuchten Impfstoffe finden häufig bei Menschen im Kindesalter Anwendung. Aufgrund des geringen Blutvolumens Frühgeborener hätte die Gewinnung von mehr Blut zum Teil kritisch für das Patientienkollektiv in unserer Studie sein können. Daher konzentrierten wir uns auf die Antikörpertiter gegen *H.influenzae Typ B* sowie *B. Pertussis*. Der Grund für die Wahl dieser spezifischen Antikörpertiter liegt in deren unterschiedlicher Wirkungsweise, da das azelluläre Pertussisvakzin ein T-Zell-abhängiges Antigen darstellt, während es sich bei der Impfung gegen *H. influenzae Typ B* um einen Konjugat-Impfstoff handelt, wodurch eine T-Zell unabhängige Antikörperproduktion ausgelöst wird. Die Untersuchung von Antikörpertitern gegen weitere Impfantigene wäre aber sinnvoll und sollte in weiterführenden Studien angestrebt werden.

Beim Menschen zeigten Chapman et al. in einer im April 2022 veröffentlichten retrospektiven Kohortenstudie mit 560 eingeschlossenen Kindern, dass eine Antibiotikatherapie in den ersten zwei Lebensjahren ebenfalls mit erniedrigten Impftitern einherging<sup>94</sup>. In dieser Studie wurde die Impfantwort reifer Kinder, die im Alter zwischen sechs und 24 Monaten eine oder mehrere Zyklen Antibiotikatherapie erhalten hatten, untersucht. Es zeigten sich erniedrigte Impftiter gegen Diphtherie, Tetanus und Pertussis, Haemophilus influenzae B, Poliomyelitis und Pneumokokken. Eine weitere, jüngst veröffentlichte Studie beobachtete dagegen keinen Effekt einer frühen Antibiotikatherapie auf die Impfantwort bei reifen Neugeborenen im ersten Lebensjahr<sup>95</sup>. In dieser Studie wurden jedoch die Impftiter im Speichel und nicht im Blut untersucht. Wir fokussierten uns in unserer Studie auf eine sehr frühe Antibiotikaexposition innerhalb der ersten Lebenswoche mit der Hypothese, dass gerade Einflüsse ganz zu Beginn des Lebens eine entscheidende Rolle spielen. Studien, die einen ähnlich engen Zeitraum betrachteten und Frühgeborene untersuchten, existieren unseres Wissens nach bisher nicht. Eine Limitation unserer Studie ist, dass wir pränatale mütterliche Antibiotikatherapien nicht berücksichtigten, ebenso wie spätere Antibiotikagaben. Dies wird Inhalt einer auf den Ergebnissen dieser Pilotstudie aufbauenden Folgestudie sein.

Neben dem Einfluss auf die Impfantwort ist schon seit längerem bekannt, dass eine frühe Antibiotikatherapie auch einen Einfluss auf verschiedene immunologisch bedingte Erkrankungen hat. So wurde beispielsweise gezeigt, dass eine Therapie mit Antibiotika mit der Entwicklung von allergischen Erkrankungen wie Asthma bronchiale<sup>96,97</sup> assoziiert ist. In einer retrospektiven Studie von Marra et al. wurden 251.817 Kinder eingeschlossen, welche zwischen 1997 und 2003 in Kanada geboren wurden. Davon erhielten 108.958 Kinder (43 %) mindestens einmalig innerhalb des ersten Lebensjahres Antibiotika. Die Antibiotikatherapie im ersten Lebensjahr war dabei signifikant mit einem erhöhten Risiko für das spätere Auftreten eines Asthmas assoziiert. Ein Zusammenhang zwischen der Art des verwendeten Antibiotikums und der Entwicklung von Asthma konnte nicht gefunden werden<sup>96</sup>.

Auch der Zusammenhang zwischen einer Antibiotikatherapie im Säuglingsalter und der Entwicklung von Adipositas wird in der Literatur beschrieben<sup>98</sup>. In einer Studie an über 65.000 Säuglingen wurde gezeigt, dass insbesondere repetitive Antibiotikagaben mit vier oder mehr Episoden mit einem erhöhten Risiko für Adipositas im Kleinkindalter assoziiert waren. Diese Assoziation war stärker bei Verwendung von Breitspektrumantibiotika als beim Einsatz von Schmalspektrumantibiotika<sup>98</sup>. Auch Trasande et al. zeigten einen Zusammenhang zwischen einer Antibiotikatherapie in den ersten sechs Lebensmonaten und Adipositas<sup>99</sup>.

Schon länger wird ein Zusammenhang zwischen einer frühen Antibiotikaexposition bei Frühgeborenen und der Entwicklung einer Nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) diskutiert. Entgegen der bisherigen Annahmen zeigte eine große, internationale Studie aus dem Jahr 2020 (Neomune-NeoNutriNet Cohort Study), dass eine kurz andauernde, postnatale Antibiotikatherapie das Risiko für eine NEC nicht erhöht. Hierfür wurden insgesamt 2.831 Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht  $\leq 1500$  g aus 13 neonatologischen Intensivstationen fünf ändern eingeschlossen. Es zeigte sich, dass VLBW-Frühgeborene mit einer Antibiotikatherapie innerhalb der ersten drei Lebenstage seltener eine NEC entwickelten als Frühgeborene ohne Antibiotikaexposition oder einer Exposition nach dem dritten Lebenstag<sup>100</sup>. Andere Studien zeigten dagegen, dass eine Antibiotikatherapie mit einem erhöhten Risiko für eine NEC einhergehen<sup>101,102</sup>. In zwei retrospektiven Kohortenstudie an Frühgeborenen war eine länger dauernde Antibiotikatherapie (> fünf Tage) mit einer erhöhten NEC-Inzidenz assoziiert<sup>102,103</sup>.

Auch für eine Bronchopulmonale Dysplasie wird eine mögliche Assoziation mit einer Antibiotikatherapie beschrieben. In einer Studie von Vatne et al. wurden Frühgeborene mit einem Gestationsalter < 32 SSW mit oder ohne Antibiotikatherapie innerhalb der ersten Lebenswoche bei fehlendem Infektionsnachweis und deren Outcome untersucht. Die Autoren beschrieben eine Assoziation der Antibiotikatherapie mit einer schweren NEC, einer schweren BPD und Tod. Für die BPD zeigte sich insbesondere auch ein Zusammenhang mit der Dauer der Antibiotikatherapie<sup>104</sup>. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen Cantey et al., die ebenfalls zeigten, dass jeder zusätzliche Tag mit Antibiotikatherapie innerhalb der ersten zwei Lebenswochen mit einem erhöhten Risiko für eine BPD assoziiert ist<sup>105</sup>.

Interessanterweise wird sogar ein Zusammenhang von frühen Antibiotika mit dem neurologischen Outcome diskutiert<sup>106,107</sup>. Slykerman et al. beschrieben in einer 2019 publizierten Studie an knapp 500 Kindern eine Assoziation zwischen einer Antibiotikatherapie innerhalb der ersten sechs Lebensmonate und einer schlechteren neurokognitiven Entwicklung im Vergleich zu späteren Antibiotikagaben.

Zwei der bekanntesten Studien zum neurologischen Outcome nach antibiotischer Therapie sind die sogenannten ORACLE Children Studies I und II. Im Rahmen des ORACLE II Trials wurden Frauen mit drohender Frühgeburt ohne VBS eingeschlossen und der Einsatz von Erythromycin und/oder Amoxicillin-Clavulansäure mit dem Einsatz von Placebo verglichen. Für die ORACLE Children Study I wurden die Kinder der eingeschlossenen Frauen im Alter von sieben Jahren nachuntersucht. Ziel war es, potentielle Langzeiteffekte der antibiotischen Therapie festzustellen. Die Autoren beschrieben ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer Cerebralparese bei Kindern, deren Mütter Antibiotika erhalten hatten. Bei Antibiotikagabe an Mütter mit VBS war dieser Effekt nicht zu beobachten<sup>107–109</sup>.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass all diese Studien darauf hindeuten, dass eine Antibiotikatherapie am Anfang des Lebens langfristige negative Auswirkungen auf die Entwicklung verschiedenster Organsysteme haben könnte. Auch wenn bisher prospektive Studien, die diesen Zusammenhang klar bestätigen fehlen, kann geschlussfolgert werden, dass der Einsatz von Antibiotika am Lebensbeginn niemals unkontrolliert erfolgen sollte und gut überwacht sein muss.

### 4.3. Mechanismus der Wirkung von Antibiotika auf das Immunsystem

Die Entwicklung des Immunsystems von Früh- und Neugeborenen ist ein komplexer Vorgang, welcher bis heute noch nicht vollständig erforscht ist. Man weiß jedoch, dass das Immunsystem nach der Geburt in vielen Aspekten noch anders reagiert als im späteren Leben und während der ersten Lebenswochen und -monate reift. Verschiedenste Umwelteinflüsse, wie zum Beispiel der Geburtsmodus, die Ernährungsform<sup>110-112</sup> oder eben eine frühe Antibiotikatherapie beeinflussen diesen Prozess.

Der wahrscheinlich entscheidende Mechanismus der Wirkung von Antibiotika auf das Immunsystem ist das Mikrobiom. Verschiedene Studien an Neugeborenen konnten zeigen, dass eine Antibiotikatherapie im frühen Leben zu Veränderungen des Mikrobioms führt, welche noch über Monate nach Beendigung der Therapie nachweisbar sind<sup>113</sup>. Lynn et al. zeigten in ihrer oben bereits genannten Studie, dass die beeinträchtigte Antikörperproduktion nach früher Antibiotikatherapie auf Veränderungen des Mikrobioms zurückzuführen ist, indem sie einen fäkalen Mikrobiomtransfer durchführten, der bei antibiotikabehandelten Mäusen sowohl die Dysbiose aufhob, als auch die Impfantwort normalisierte<sup>67</sup>.

Im Einklang mit den Ergebnissen aus Tierversuchen konnten Harris et al. in einer in Ghana durchgeführten Studie feststellen, dass sich die Zusammensetzung des intestinalen Mikrobioms bei Kindern mit Impfversagen nach Rotavirus-Impfung und bei Kindern mit erfolgreicher Rotavirus-Impfung unterschied. Es zeigte sich ein verringertes Vorhandensein von Bacteroidetes bei gleichzeitig vermehrtem Vorkommen von *Streptococcus bovis* im Mikrobiom der „Impfversager“<sup>65</sup>. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Huda et al.<sup>114</sup>, welche den Stuhl von insgesamt 48 Kindern in Bangladesch im Alter von sechs, elf und 15 Wochen auf die Zusammensetzung des Mikrobioms untersuchten und mit der Impfantwort auf die Polio-, BCG-, Tetanus- und Hepatitis B-Impfung im Alter von 15 Wochen korrelierten. Hier zeigte sich, dass die verringerte Diversität des intestinalen Mikrobioms und das Vorhandensein bestimmter Bakterien, wie zum Beispiel *Enterobacter* oder *Pseudomonas*, mit einer schlechteren Impfantwort einherging<sup>114</sup>.

Auch in anderem Zusammenhang konnte gezeigt werden, dass Veränderungen des Mikrobioms Auswirkungen auf die Immunreifung des Neugeborenen haben.

Lynn et al. untersuchten in Mäusen den Effekt einer Antibiotikaexposition im frühen Leben auf deren Gesundheit im Vergleich zu Mäusen ohne Antibiotikaexposition. Es zeigte sich, dass Mäuse mit post-antibiotischem Mikrobiom höhere TNF- $\alpha$ -Level im Blut, veränderte Level an bestimmten Immunzellen in der Lamina propria des Dünndarms sowie unterschiedliche Expressionen der Zytokine Interferon- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  im Ileum aufwiesen. Daneben war der Metabolismus der mit Antibiotika behandelten Tiere im Sinne einer erhöhten Insulinresistenz verändert und die Tiere zeigten eine verkürzte Lebensdauer<sup>115</sup>. In einer Untersuchung von Olszak et al. aus dem Jahr 2012 wurde das Zusammenspiel zwischen Mikrobiom und invarianten natürlichen Killer-T-Zellen (iNKT) untersucht. iNKTs sind eine Subpopulation von T-Zellen, welche immunregulierte Zytokine sowie zytotoxische Effektor-Moleküle freisetzen können. Ihnen wird eine Rolle in der Pathogenese von Autoimmunerkrankungen wie chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und Asthma bronchiale zugeschrieben<sup>116</sup>. Olszak et al. beobachteten im Mausmodell erhöhte Zahlen an iNKT-Zellen in der Lamina propria des Kolons bei keimfrei gehaltenen Mäusen im Vergleich zu Kontrolltieren. Dieser Unterschied blieb auch nach Wiederherstellung des Mikrobioms zu einem späteren Zeitpunkt bestehen, was verdeutlicht, dass der Zeitpunkt der Mikrobiomentwicklung für deren Einfluss auf das Immunsystem entscheidend ist. Die erhöhten Zahlen an iNKT-Zellen bei den keimfrei gehaltenen Mäusen gingen mit einer verstärkten Entwicklung von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und Asthma einher<sup>117</sup>.

Gomez de Agüero et al. konnten 2016 zeigen, dass bereits das Mikrobiom in der Schwangerschaft einen Einfluss auf die spätere Immunentwicklung des Neugeborenen hat. Sie kolonisierten schwangere Mäuse mit einem genetisch veränderten *E. coli*-Stamm, welcher aufgrund eines Enzymdefektes nur zu einer transienten Kolonisierung der Tiere führt, so dass die Jungtiere schon wieder keimfrei geboren wurden. In diesem Modell konnte gezeigt werden, dass sich verschiedene Leukozyten-Populationen im Dünndarm der Jungtiere von Müttern mit transients Kolonisierung deutlich von denen der Jungtiere unbehandelter Mütter unterschieden. Diese Unterschiede waren auch noch Wochen nach der Geburt nachweisbar. Die Autoren interpretieren ihre Ergebnisse dahingehend, dass das maternale Mikrobiom während der Schwangerschaft dazu dient, den Fetus darauf vorzubereiten, als

Neugeborenes mit dem eigenen, sich entwickelnden Mikrobiom interagieren zu können<sup>118</sup>.

Auch ein Zusammenspiel zwischen dem Mikrobiom der Lunge und dem Immunsystem wurde beschrieben. Gollwitzer et al. untersuchten die Immunreaktion nach Stimulation mit Hausstaubmilben in der Lunge von neugeborenen Mäusen. Es zeigte sich hierbei eine stärker ausgeprägte Eosinophilie und eine stärkere Zytokinproduktion durch T-Helfer-2-Zellen als bei erwachsenen Mäusen. Dieser Unterschied konnte auf eine Interaktion von kolonisierenden Bakterien mit regulatorischen T-Zellen zurückgeführt werden<sup>119</sup>.

Lynn et al. untersuchten bei Mäusen mit und ohne Antibiotika-Exposition die B-Zell-Funktion und T-Zell-Aktivität. Hier zeigte sich im Gegensatz zur beeinträchtigten B-Zell-Funktion eine verstärkte T-Zell-Aktivität und Zytokinfreisetzung. Die Autoren vermuten, dass dieser Effekt mit der durch Antibiotika ausgelösten Dysbiose zusammenhängt, da *ex vivo* Splenozyten, welche Antibiotika ausgesetzt wurden, keine verstärkte Zytokin-Reaktion zeigten. Für die meisten Impfstoffe ist die Antikörperproduktion durch B-Zellen für den Immunschutz wichtig, jedoch gibt es auch Impfstoffe, deren Schutz vermehrt auf einer T-Zell-Aktivität beruht (zum Beispiel mRNA-Impfungen gegen Covid-19). Bei einigen der Erkrankungen, die mit einer Dysbiose des Darmes in Verbindung gebracht werden, zum Beispiel Asthma, spielen T-Gedächtniszellen eine Rolle in der Pathogenese<sup>120,121</sup>.

Ennamorati et al. konnten an keimfrei gehaltenen Mäusen, welche mit *B. fragilis* kolonisiert wurden zeigen, dass diese Monokolonisation einen Einfluss auf die Immunzellendichte und Komposition im Thymus der Tiere hat<sup>122</sup>. Außerdem konnten sie zeigen, dass eine frühe antibiotische Therapie die Immunzell-Entwicklung im Thymus ebenfalls langanhaltend beeinflusst<sup>123</sup>.

Die Auswirkungen einer Antibiotikatherapie auf den Stoffwechsel untersuchte die Arbeitsgruppe um Laura Cox<sup>124</sup>. Hierfür wurden Mäuse zu verschiedenen Zeitpunkten mit Antibiotika behandelt – pränatal durch eine Antibiotika-Exposition der Mütter, während der Stillperiode und nach dem Abstillen. Eine Kontroll-Gruppe erhielt kein Antibiotikum. Es zeigte sich, dass Mäuse, welche schon pränatal und während des Stillens Antibiotika erhielten, im Vergleich zu Mäusen welche erst nach dem Abstillen

Antibiotika erhielten oder Mäusen der unbehandelten Kontrollgruppe eine erhöhte Fettmasse sowie Zeichen eines metabolischen Syndroms aufwiesen<sup>124</sup>.

Über den genauen Mechanismus, mittels dem Veränderungen des Mikrobioms die Impfantwort Frühgeborener beeinflussen, kann aktuell nur spekuliert werden. Einige Studien zeigen jedoch vielversprechende Erklärungsansätze. Trompette et al. untersuchten beispielsweise die Rolle von kurzkettigen Fettsäuren (short-chain fatty acids; SCFA) für die Immunregulation. SCFA entstehen bei der Fermentation von Fasern durch Darmbakterien in großer Menge als Abbauprodukt und dienen als Energiequelle für Epithelzellen des Darms<sup>125,121</sup>. Gleichzeitig stellen SCFA eine wichtige Energiequelle für bestimmte Bakterien des Mikrobioms dar. Trompette et al. beschrieben einen Mechanismus, bei dem eine faserreiche Ernährung zu einer durch das Mikrobiom bedingten Erhöhung der SCFA-Level führte und dadurch die Hämatopoese im Knochenmark moduliert wurde. Dies führte letztendlich zu einer verminderten allergische Atemwegsinfektion in einem Asthma-Modell.

Lie et al. beschäftigten sich damit, inwieweit das intestinale Mikrobiom mit der Ausbildung des B-Zell-Repertoires zusammenhängt<sup>126</sup>. Sie konnten zeigen, dass durch die Exposition keimfreier Mäuse mit verschiedenen, definierten Bestandteilen des Mikrobioms das B-Zell-Repertoire sowie dessen Reaktionsfähigkeit beeinflusst werden und dass sich Immunglobulin-Ketten je nach Art der Exposition mit Bakterien – ob systemisch oder über die Schleimhaut – unterscheiden<sup>126</sup>. Beide Arbeiten zeigten also, dass das Mikrobiom eine wesentliche Rolle bei der Entwicklung des Immunsystems spielt. In unserer Pilotstudie konnte das Mikrobiom der Probanden leider nicht analysiert werden, da die Proben durch einen technischen Defekt während der Lagerung unbrauchbar wurden. Wie genau die Impfantwort durch die frühe Antibiotikatherapie moduliert wird soll Inhalt weiterführender Studien sein.

#### **4.4. Einfluss der Dauer der Antibiotikatherapie auf die Impfantwort**

Neben dem Zusammenhang zwischen einer Antibiotikatherapie in der ersten Lebenswoche und der Höhe der Impftiter bei Frühgeborenen zeigten sich in unseren Untersuchungen Hinweise darauf, dass es eine negative Korrelation zwischen der Dauer der Antibiotikatherapie und der Höhe der Impftiter gibt. Je länger die

Frühgeborenen in unserer Studie mit Antibiotika behandelt wurden, desto niedriger waren die Impftiter. Die Therapie wurde in unserer Studie so kurz wie möglich durchgeführt, die Beendigung der Antibiotikatherapie erfolgte CRP-gesteuert. Die längste Antibiotikatherapie in unserer Studie betrug sieben Tage, die kürzeste zwei Tage.

Zum aktuellen Zeitpunkt ist uns nur die Studie von Chapman et al. aus dem Jahr 2022 bekannt, welche einen Zusammenhang zwischen Dauer der Antibiotikatherapie und Impfung untersucht hat. Die Arbeit konnte zeigen, dass eine zehntägige Therapie mit Amoxicillin/Clavulansäure negativ mit den Impftitern korrelierte. Für eine fünftägige Therapie konnte dieser Effekt nicht nachgewiesen werden<sup>94</sup>. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass nicht nur der Zeitpunkt der Antibiotikatherapie, sondern auch die Dauer einen Einfluss auf die Ausbildung der adaptiven Immunantwort hat. Außerdem kann vermutet werden, dass bei Frühgeborenen eine Antibiotikatherapie schneller negative Effekte hervorruft als bei reifen Neugeborenen.

## **4.5. Einfluss weiterer Faktoren auf die Impfantwort**

### **4.5.1. Einfluss von Geburtsgewicht und Gestationsalter auf die Impfantwort**

Wir konnten in unserer Pilotstudie keinen Einfluss von Geburtsgewicht oder Gestationsalter auf die Impfantwort von Frühgeborenen im Alter von korrigiert vier Monaten nachweisen. Dies steht im Widerspruch zu vorangegangenen Studien, die zeigten, dass ein niedriges Geburtsgewicht mit einem verringerten Ansprechen auf Impfungen einhergeht<sup>127-130</sup>. Außerdem konnte gezeigt werden, dass Frühgeborene eine schlechtere Impfantwort zeigen als Reifgeborene<sup>71,131</sup>. Eine Studie aus 2007 untersuchte die Wirksamkeit von Booster-Impfungen gegen Diphtherie, Tetanus, Pertussis, Hepatitis B, Poliovirus und Haemophilus influenzae Typ b (DTaP-HBV-IPV/Hib) bei Frühgeborenen im Vergleich zu Reifgeborenen. Dabei wurde die Impfantwort im Alter von 18-20 Monaten und im fünften Lebensjahr untersucht. Hierbei zeigte sich eine gewisse Tendenz dahingehend, dass Frühgeborene im Alter von zwei Jahren eine geringere Seroprotektion haben als Reifgeborene<sup>131</sup>. Schon 1998 wiesen Ergebnisse einer Untersuchung von Faldella et al. auf ein geringeres Ansprechen Frühgeborener auf Impfungen hin. Dabei wurde die Impfantwort bei Frühgeborenen

mit einem medianen Gestationsalter von 32 SSW gegen Diphtherie, Pertussis, Tetanus und Hepatitis B (DPTa-HBV) untersucht. Die Impfungen wurden dabei in Lebensmonat 3,5 und 11 sowohl Frühgeborenen als auch Reifgeborenen verabreicht. Faldella et al. fanden signifikant niedrigere Antikörpertiter gegen Pertussis und Diphtherie bei Frühgeborenen im Vergleich zu Reifgeborenen. Unter den Frühgeborenen zeigten die Kinder mit einem Gestationsalter von < 31 SSW nochmals signifikant niedrigere Impftiter als ältere Kinder. In wieweit ein verzögertes Impfschema, welches bei Frühgeborenen laut verschiedenen Studien häufig zu beobachten ist<sup>71,132</sup> zu der schlechteren Impfantwort führt, ist dabei unklar.

Die im Vergleich zu vorangegangenen Arbeiten unterschiedlichen Ergebnisse unserer Arbeit lassen sich möglicherweise auf die sehr kleine Kohorte an untersuchten Patienten zurückführen. Außerdem waren alle Frühgeborenen, die in unsere Auswertung eingingen zeitgerecht geimpft, so dass mögliche Effekte eines verzögerten Impfschemas ausgeschlossen sind.

#### 4.5.2. Einfluss von Geschlecht und Mehrlingsschwangerschaft auf die Impfantwort

Auch bezüglich des Geschlechts konnten wir keinen signifikanten Effekt auf die Impfantwort feststellen, lediglich eine leichte Tendenz zu erhöhten Impftitern bei Mädchen. Verschiedene Studien deuten darauf hin, dass Frauen eine stärkere Immunantwort im Rahmen von Impfungen ausbilden<sup>68,69,133,134</sup>. Eine Metaanalyse beschrieb dabei einen geschlechterspezifischen Effekt abhängig vom Impfstoff. Verschiedene Studien zeigten eine bessere Impfantwort gegen das Influenza-Vakzin bei weiblichen Probanden, während Männer eine stärkere Impfantwort gegen Pneumokokken aufwiesen<sup>69</sup>. Vor allem jüngere Frauen scheinen höhere Impftiter zu entwickeln<sup>69</sup>. Auch in einer Metaanalyse zur Masern-Mumps-Röteln-Impfung zeigten sich ähnliche Tendenzen mit insbesondere früh nach der Impfung erhöhten Impftitern bei Frauen, die sich aber im Laufe der Zeit angleichen<sup>68</sup>. Neben der unterschiedlichen Impfantwort wurden auch weitere immunologische Unterschiede zwischen den Geschlechtern beschrieben, welche sowohl Immunzell-Zahlen als auch deren Aktivität und Zytokin-Produktion zu betreffen scheinen. Verantwortlich hierfür sind unter anderem hormonelle und genetische Unterschiede. Beispielsweise ist bekannt, dass erhöhte Östrogen- und Progesteron-Level die Aktivität von NK-Zellen, B- und T-Zellen

beeinflussen. Außerdem kodiert das X-Chromosom für deutlich mehr Gene, welche eine Rolle in der immunologischen Funktion spielen als das Y-Chromosom<sup>133</sup>. Anzumerken ist hier, dass all die genannten Studien Erwachsene untersuchten. Unseres Wissens nach existieren keine ähnlichen Studien bei Neu- oder Frühgeborenen. Welche Rolle das Geschlecht bei der Entwicklung des Immunsystems spielt, ist weitestgehend unklar. Eine aktuelle Studie von Baines et al. beschrieb einen geschlechtsspezifischen Effekt des Fetus auf die fetale, plazentare und maternale Immunantwort während der Schwangerschaft. Die Autoren dieser Studie beschrieben, dass während einer Schwangerschaft mit männlichen Föten eine stärker ausgeprägte Entzündungsreaktion auftritt als bei einer Schwangerschaft mit weiblichen Föten. Außerdem scheinen auch die Bildung und plazentare Übertragung von Antikörpern je nach Geschlecht des Fötus unterschiedlich zu sein<sup>132</sup>. Eine Studie am Mausmodell zeigte, dass sich bei neugeborenen Mäusen geschlechtsspezifische Unterschiede der Anzahl an B- und T-Zellen in der Milz innerhalb der ersten Lebenswoche ausbilden<sup>135</sup>. Außerdem ließen sich hormonelle Effekte auf die Immunzellentwicklung im Thymus der neonatalen Mäuse feststellen. Nach Stimulation weiblicher und männlicher neugeborener Mäuse mit Testosteron oder Östrogen zeigte sich ein testosteron-spezifischer Anstieg der CD8+ und CD4+ T-Zellen im Thymus<sup>135</sup>. Ob sich diese Ergebnisse auch auf das menschliche Immunsystem übertragen lassen, ist bisher nicht bekannt.

Weiterhin fanden wir keine Unterschiede in den Impftitern von Mehrlingen und Einlingen. Einige Studien beschäftigen sich mit den immunologischen Unterschieden zwischen Einlings- und Mehrlingsschwangerschaften. Zum Beispiel konnten Sabre et al. feststellen, dass bei Zwillingsgeborenen die Neutrophilen-Lymphozyten-Ratio anders ausfällt als bei Einlingen. Die Autoren interpretierten dies als Zeichen für eine veränderte Immun/Inflammations-Reaktion zu Beginn der Schwangerschaft<sup>136</sup>. Auch die T-Zell-Level scheinen bei Einlings- und Mehrlingsschwangerschaften unterschiedlich auszufallen<sup>137</sup>. Zu Unterschieden in der Impfantwort zwischen Einlingen und Mehrlingen liegen unseres Wissens in der Literatur aktuell keine Daten vor.

#### 4.5.3. Einfluss des Geburtsmodus auf die Impfantwort

In unserer Arbeit hatte der Geburtsmodus (Vergleich primärer Sectio caesarea sekundärer Sectio caesarea) keinen Einfluss auf die Impftiter. Es ist bereits bekannt, dass der Geburtsmodus einen entscheidenden Einfluss auf das Mikrobiom von Neugeborenen hat. Beispielsweise konnten Shao et al. im Jahr 2019 zeigen, dass nach einem Kaiserschnitt die Transmission von *Bacteroides*-Stämmen von der Mutter aufs Kind geringer ausfällt, als bei vaginaler Geburt<sup>138</sup>. Gleichzeitig weist das Mikrobiom nach einem Kaiserschnitt eine höhere Zahl von Umweltkeimen auf.

Neben dem Effekt des Geburtsmodus auf das Mikrobiom konnte in verschiedenen Zusammenhängen gezeigt werden, dass der Geburtsmodus mit dem Auftreten von chronischen Erkrankungen in Verbindung steht. In einer Analyse von zwei Millionen Reifgeborenen, welche in einen nationalen Register Dänemarks zwischen 1977 und 2012 erfasst wurden, wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen Kaiserschnitt und immunologisch bedingten Erkrankungen im Kindesalter untersucht. Hier zeigte sich, dass Kinder, welche per Kaiserschnitt auf die Welt kamen, ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung von Asthma, rheumatischen Erkrankungen wie der juvenilen rheumatoiden Arthritis, chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen sowie Bindegewebserkrankungen und interessanterweise auch Leukämien aufwiesen. Die Autoren schlussfolgerten, dass möglicherweise ein gemeinsamer Risikofaktor für Kaiserschnitt-Entbindungen und die verschiedenen chronischen Erkrankungen vorliegt<sup>139</sup>.

Hinsichtlich der Impfantwort zeigte eine jüngst veröffentlichte Studie, dass der Geburtsmodus sowie die Ernährung als einzige der untersuchten Faktoren des frühen peri-/postnatalen Lebens, einen signifikanten Einfluss auf die Impfantwort gegen Pneumokokken und Meningokokken C hatten. Diese Studie zeigte, dass die IgG-Level gegen Pneumokokken sowie Meningokokken C im Speichel bei reifgeborenen Kindern nach Kaiserschnitt-Geburt niedriger ausfielen als nach vaginaler Entbindung<sup>140</sup>.

In all diesen Studien wurden jedoch Kinder, die per Kaiserschnitt entbunden wurden, mit spontan geborenen Kindern verglichen. Unsere Kohorte enthielt keine spontan geborenen Kinder, so dass ein entsprechender Vergleich nicht möglich war<sup>137</sup>.

#### 4.5.4. Einfluss eines VBS auf die Impfantwort

In unseren Daten zeigte sich bei Kindern mit einem VBS eine Tendenz zu erniedrigten Impftitern, vor allem der Anti-*H. influenzae Typ B* -IgGs.. Der Effekt war jedoch nicht statistisch signifikant. Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass Frühgeborene mit VBS häufiger eine Antibiotikatherapie erhalten. Aufgrund der geringen Patientenzahl war es nicht möglich, in der aktuellen Studie auf Co-Variablen zu kontrollieren. Dies soll Inhalt einer aktuell laufenden größeren Studie sein.

Im Zusammenhang mit einem VBS wird in der Literatur das fetal inflammatory response syndrom, kurz FIRS, beschrieben<sup>141</sup>. Neugeborene, welche an einem FIRS leiden, weisen häufiger schwerere Morbiditäten auf<sup>142</sup>. Ein möglicher Mechanismus könnte über das Zytokin IL-17A vermittelt werden. IL-17A wird für die Initiierung von FIRS mitverantwortlich gemacht und könnte bei der Entwicklung späterer chronischer Erkrankungen, vor allem Autoimmunerkrankungen, eine Rolle spielen<sup>143,144</sup>. IL-17A wird von T-Helfer 17-Zellen (Th17) produziert welche durch eine

Chorioamnionitis aktiviert zu werden scheinen<sup>145</sup>. IL-17A, aktiviert wiederum neutrophile Granulozyten und regt die Bildung proinflammatorischer Proteine an. Gleichzeitig wird durch eine Chorioamnionitis die Funktionalität von regulatorischen T-Zellen (Tregs) beeinträchtigt<sup>146</sup>, welche für die materno-fötale Toleranz eine wichtige Rolle spielen. Ob dieser Mechanismus auch eine Rolle für die Antikörperproduktion nach Impfung spielt, ist bisher nicht untersucht.

#### 4.5.5. Weitere nicht untersuchte Einflussfaktoren

Ein Aspekt, welcher in unserer Studie nicht untersucht wurde, ist die Auswirkung der Art des Antibiotikums auf die adaptive Immunantwort. Chapman et al. beschrieben unterschiedlich starke Einflüsse verschiedener Antibiotika-Klassen auf die Impfantwort. Insbesondere die Drittgenerations-Cephalosporine, Ceftriaxon und Cefdinir hatten in der Analyse von Chapman et al. starken Einfluss auf die Impfantwort, genauso wie der Einsatz der Kombination aus Amoxicillin und Clavulansäure über eine Dauer von mindestens 10 Tagen. Der alleinige Einsatz von Amoxicillin oder eine kürzere Antibiotikaexposition von fünf Tagen mit Amoxicillin/Clavulansäure hatte keinen Effekt auf die Impfantwort<sup>147</sup>.

Die Frühgeborenen in unserer Kohorte erhielten alle innerhalb der ersten Lebenswoche entsprechend den deutschen Leitlinien zur Therapie der EOS ein

Aminopenicillin in Kombination mit einem Aminoglykosid (hier Ampicillin und Tobramycin). Eine später aufgetretene nosokomiale Infektion wurde bei einem Kind in jeder Kohorte mit Ampicillin, Amikacin und Cefotaxim behandelt. Daher war es nicht möglich den Effekt unterschiedlicher Antibiotikakombinationen herauszuarbeiten.

Ein weiterer, hier unbeachteter, Punkt ist die Frage nach Ernährung. Muttermilch wird als wichtiger Faktor für die Entwicklung des Mikrobioms bei Kindern angesehen. Es konnte gezeigt werden, dass sich das Mikrobiom bei Kindern mit Muttermilchernährung vom Mikrobiom bei Kindern mit Formulanahrung unterscheidet<sup>148</sup>. Zum Beispiel kommen insbesondere Bifidobakterien bei Kindern mit reiner Muttermilchernährung vermehrt vor. Diese spielen bei der Entwicklung des Immunsystems, vor allem der intestinalen Immunität, eine große Rolle<sup>149–151</sup>. Außerdem sind Streptokokken und Enterokokken signifikant weniger vorhanden als bei Kindern mit Formula-Ernährung.

Koff et al. konnten zeigen, dass die Ernährung einen Einfluss auf die Impfantwort zu haben scheint<sup>140</sup> und es ist naheliegend, dass dieser über das Mikrobiom vermittelt wird. Die Kinder in unserer Studie erhielten zum größten Teil Muttermilch oder Spendermilch, so dass der Einfluss der Ernährung hier höchstwahrscheinlich keine Rolle spielt. Die Untersuchung dieses Effektes soll Teil einer größer angelegten Hauptstudie sein.

#### **4.6. Limitationen der Studie**

Eine Schwäche der von uns durchgeführten Studie liegt in der kleinen Studienkohorte mit insgesamt 20 ausgewerteten Probanden/innen. Dies lässt nur eine bedingte Aussagekraft der Ergebnisse zu. Die Studie dient daher nur als Pilotstudie und als Grundlage für die aktuell laufende Hauptstudie. Außerdem muss beachtet werden, dass die Daten monozentrisch erhoben wurden. Es könnte sein, dass die Ergebnisse durch andere Faktoren wie zum Beispiel Ernährungsregimes, verwendete Standardmedikation oder/und Probiotika-Gabe beeinflusst werden. Auch die Wahl der angewendeten Antibiotika-Substanzen könnten Einfluss auf die Entwicklung des Immunsystems haben, können aber bei monozentrischem Studiendesign und klar definiertem Behandlungsregime nicht beurteilt werden. Eine weitere Limitation unserer Studie ist, dass wir eventuelle präpartale mütterliche Antibiotikatherapien in der

Analyse nicht berücksichtigt wurden. Dasselbe gilt für eine Antibiotikatherapien der Kinder nach der ersten Lebenswoche, welche ebenfalls einen Einfluss auf die Impfantwort haben könnten. Auch diese Fragen werden Inhalt der auf den Ergebnissen dieser Pilotstudie aufbauenden Folgestudie sein. Leider konnten wir wie oben bereits beschrieben keine Mikrobiomanalysen der von den Studienteilnehmer/innen gesammelten Stuhlproben durchführen, da aufgrund technischer Probleme die Proben nicht mehr verwendbar waren.

## 5. Ausblick

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass in dieser Arbeit Hinweise darauf gewonnen werden konnten, dass eine sehr frühe Antibiotikatherapie in der ersten Lebenswoche bei Frühgeborenen einen Einfluss auf die Immunantwort im Rahmen der ersten Impfung hat. Trotz der oben diskutierten Limitationen deuten die Ergebnisse darauf hin, dass bereits eine kurze Störung während der sehr frühen Phase der Mikrobiom-Entwicklung einen langanhaltenden Einfluss auf die Immunantwort von Frühgeborenen haben kann. Die immer bessere Kenntnis der negativen und häufig langfristigen Folgen einer perinatalen Antibiotika-Therapie sollte dafür sensibilisieren, die Indikationen für Antibiotika gut abzuwägen und kontinuierlich zu überprüfen. Hierbei könnten, wie oben erläutert, sogenannte Antibiotic Stewardship-Programme<sup>90-93</sup> oder Sepsis-Kalkulatoren helfen. Außerdem sollte weiter daran gearbeitet werden noch sensitivere und spezifischere Laborparameter zu identifizieren, die Infektionen von anderen inflammatorischen Geschehen abgrenzen. Das engmaschige Monitoring von Infektparametern, insbesondere dem CRP, wie es von der AWMF<sup>76</sup> empfohlen und häufig praktiziert wird, kann dabei helfen, die Antibiotikatherapie so kurz wie möglich zu gestalten. In Zukunft könnte ein besseres Wissen über die Rolle des intestinalen Mikrobioms für die Immunreifung Neugeborener dazu beitragen, individualisierte präventive Strategien zu entwickeln, die das langfristige Outcome verbessern. Hier sind als bereits praktizierte Verfahren die Verwendung von Probiotika oder Prebiotika zu nennen. Neuere, bisher experimentelle, Ansätze sind beispielsweise der Einsatz von Bakteriophagen oder ein fäkaler Mikrobiotatransfer (FMT)<sup>152</sup> und das sog. vaginal seeding, bei dem Vaginalsekret der Mutter über einen Watteträger auf Neugeborene, welche per Kaiserschnitt entbunden wurden, übertragen wird. Für Probiotika konnte in einer Reihe von Studien gezeigt werden, dass sie die Mikrobiomkomposition günstig zu beeinflussen scheinen und wahrscheinlich sowohl vor frühen inflammatorischen Erkrankungen wie der NEC, aber auch vor chronischen Erkrankungen wie z.B. Diabetes schützen<sup>153,154</sup>. Für das vaginal seeding, ebenso wie für den FMT konnte in bisher kleinen Studien gezeigt werden, dass sich das Mikrobiom von Kindern, welche per Kaiserschnitt entbunden wurden durch die Maßnahmen der Zusammensetzung des Mikrobioms spontan geborener Kinder annäherte<sup>155-157</sup>. Hier bleibt allerdings unklar, ob sich das auch auf die Langfristige Gesundheit der Kinder auswirkt.

Wie bereits erwähnt, wurde basierend auf den Ergebnissen dieser Pilotstudie eine Hauptstudie geplant und bereits begonnen, um den Effekt einer frühen Antibiotikatherapie auf die Immunantwort von Frühgeborenen detaillierter zu untersuchen. Die geplanten Untersuchungen umfassen neben der Messung der Impftiter Mikrobiom-Analysen, durchflusszytometrische Immunzellanalysen und metabolische Untersuchungen an rund 80 Frühgeborenen. Wir erwarten hierdurch die Mikrobiom-Immun-Interaktionen am Beginn des Lebens besser zu verstehen und möglicherweise neue Präventionsansätze abzuleiten, die das Outcome von Frühgeborenen insbesondere nach Störung der Mikrobiom-Etablierung durch Antibiotika verbessern könnten.

## 6. Zusammenfassung

Infektionen bei Frühgeborenen sind sehr häufig und haben oft schwerwiegende Folgen. Das führt dazu, dass Antibiotika bei Frühgeborenen zu den am häufigsten eingesetzten Medikamenten zählen. Seit einiger Zeit gibt es aber deutliche Hinweise darauf, dass Antibiotika neben den gewünschten antibakteriellen Eigenschaften im Falle von Infektionen auch negative Effekte auf die langfristige Gesundheit haben können. Diese sind wahrscheinlich über eine Beeinflussung des Mikrobioms vermittelt.

Wie die meisten anderen Organe auch, reift das Immunsystems des Neugeborenen nach der Geburt zunächst noch aus. Dies ist ein komplexer Vorgang, welcher durch viele verschiedene Faktoren beeinflusst wird. So scheint auch das Mikrobiom eine Rolle bei der Immunreifung zu spielen. Ziel der vorliegenden Dissertation war es, die Hypothese zu überprüfen, dass eine frühe postnatale Antibiotikatherapie bei Frühgeborenen die Entwicklung des Immunsystems beeinträchtigt. Als Maß für die Immunentwicklung wurde hier die Immunantwort auf die ersten drei 6+1 Impfungen herangezogen.

In einer klinischen Longitudinalstudie wurden Frühgeborene mit Gestationsalter zwischen 24 0/7 und 31 6/7 SSW mit und ohne Antibiotikatherapie in der ersten Lebenswoche rekrutiert. Bei diesen Kindern wurden Blutproben zwei Wochen nach Geburt sowie mit korrigiert vier Monaten entnommen und auf Impftiter gegen *B. pertussis* und *H. influenzae B* untersucht. Zum Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme hatten die untersuchten Kinder die ersten drei Dosen der Grundimmunisierung der 6+1-Impfung erhalten. Die Werte der ersten Blutentnahme dienten als Kontrolle um zu zeigen, dass sich die Impftiter, welche der Leihimmunität der Mutter entsprechen, nicht unterscheiden. Eine genauere Analyse der Daten fand nicht statt.

Die Untersuchungen der Impftiter zeigten, dass Frühgeborene mit einer postnatalen antibiotischen Therapie signifikant niedrigere Impftiter aufwiesen als Frühgeborene, welche nicht antibiotisch behandelt wurden. Dies traf nicht nur auf sehr unreife Frühgeborene mit einem Gestationsalter zwischen 24 und 28 SSW zu, sondern auch auf ältere Frühgeborene mit einem Gestationsalter zwischen 28 und 32 SSW.

Außerdem zeigte sich, dass die Dauer der Antibiotikatherapie einen Einfluss auf die Höhe der Impftiter hatte. Andere Faktoren wie Geschlecht, vorzeitiger Blasensprung (VBS), Mehrlingsschwangerschaft, Geburtsgewicht und Gestationsalter spielen wiederum keine entscheidende Rolle. Die darüber hinaus geplanten Mikrobiomanalysen mussten aufgrund technischer Probleme leider entfallen.

Die vorliegenden Ergebnisse erhärten die Hypothese, dass eine frühe, postnatale Antibiotikatherapie die Immunreifung Frühgeborener nachhaltig stört. Basierend auf den Ergebnissen dieser Pilotstudie wurde eine Hauptstudie geplant und bereits begonnen, in der die Antibiotika-Mikrobiom-Interaktionen am Lebensanfang umfassender untersucht werden sollen. Die Ergebnisse dieser Studie können dazu beitragen, die Mechanismen, die zu einer gestörten Immunentwicklung bei Neugeborenen führen besser zu verstehen und so in Zukunft möglicherweise neue präventive Ansätze zu entwickeln, um die Immunantwort bei Neu- und Frühgeborenen zu verbessern.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Chawanpaiboon, S. *et al.* Global, regional, and national estimates of levels of preterm birth in 2014: a systematic review and modelling analysis. *Lancet Glob Health* **7**, e37–e46 (2019).
2. Goldenberg, R. L., Culhane, J. F., Iams, J. D. & Romero, R. Epidemiology and causes of preterm birth. *The Lancet* **371**, 75–84 (2008).
3. Camacho-Gonzalez, A., Spearman, P. W. & Stoll, B. J. Neonatal Infectious Diseases: Evaluation of Neonatal Sepsis. *Pediatr Clin North Am* **60**, 367 (2013).
4. Stoll, B. J. *et al.* Trends in Care Practices, Morbidity, and Mortality of Extremely Preterm Neonates, 1993-2012. *JAMA* **314**, 1039–1051 (2015).
5. Köstlin-Gille, N. *et al.* Epidemiology of Early and Late Onset Neonatal Sepsis in Very Low Birthweight Infants: Data from the German Neonatal Network. *Pediatric Infectious Disease Journal* 255–259 (2021).
6. Stoll, B. J. *et al.* Neonatal Outcomes of Extremely Preterm Infants From the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics* **126**, 443 (2010).
7. Leitlinie der Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin (GNPI) der Deutschen Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie (DGPI) der Deutschen Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin (DGKJ) und der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG).
8. Hornik, C. P. *et al.* Early and Late Onset Sepsis in Very-Low-Birth-Weight Infants from a Large Group of Neonatal Intensive Care Units. *Early Hum Dev* **88**, S69 (2012).
9. Stoll, B. J. *et al.* Late-Onset Sepsis in Very Low Birth Weight Neonates: The Experience of the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics* **110**, 285–291 (2002).
10. Boghossian, N. S. *et al.* Late-Onset Sepsis in Very Low Birth Weight Infants from Singleton and Multiple Gestation Births. *J Pediatr* **162**, 1120 (2013).
11. Dong, Y. & Speer, C. P. Late-onset neonatal sepsis: recent developments. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* **100**, F257 (2015).
12. Tsai, M. H. *et al.* Incidence, clinical characteristics and risk factors for adverse outcome in neonates with late-onset sepsis. *Pediatric Infectious Disease Journal* **33**, (2014).
13. Stoll, B. J. *et al.* Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: a report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *J Pediatr* **129**, 63–71 (1996).

14. Stoll, B. J. *et al.* Early-onset sepsis in very low birth weight neonates: a report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *J Pediatr* **129**, 72–80 (1996).
15. Shah, B. A. & Padbury, J. F. Neonatal sepsis. <https://doi.org/10.4161/viru.26906> **5**, 170–178 (2013).
16. Dowling, D. J. & Levy, O. Ontogeny of early life immunity. *Trends Immunol* **35**, 299–310 (2014).
17. Camacho-Gonzalez, A., Spearman, P. W. & Stoll, B. J. Neonatal Infectious Diseases: Evaluation of Neonatal Sepsis. *Pediatr Clin North Am* **60**, 367 (2013).
18. Born, S. *et al.* Epidemiology of Sepsis Among Children and Neonates in Germany: Results From an Observational Study Based on Nationwide Diagnosis-Related Groups Data Between 2010 and 2016\*. *Crit Care Med* **49**, 1049–1057 (2021).
19. Kuppala, V. S., Meinzen-Derr, J., Morrow, A. L. & Schibler, K. R. Prolonged Initial Empirical Antibiotic Treatment is Associated with Adverse Outcomes in Premature Infants. *J Pediatr* **159**, 720–725 (2011).
20. Maynard, C. L., Elson, C. O., Hatton, R. D. & Weaver, C. T. Reciprocal Interactions of the Intestinal Microbiota and Immune System. *Nature* **489**, 231 (2012).
21. Frick, J. S. & Autenrieth, I. B. The gut microflora and its variety of roles in health and disease. *Curr Top Microbiol Immunol* **358**, 273–289 (2013).
22. Hooper, L. V., Stappenbeck, T. S., Hong, C. V. & Gordon, J. I. Angiogenins: a new class of microbicidal proteins involved in innate immunity. *Nat Immunol* **4**, 269–273 (2003).
23. Mazmanian, S. K., Liu, C. H., Tzianabos, A. O. & Kasper, D. L. An Immunomodulatory Molecule of Symbiotic Bacteria Directs Maturation of the Host Immune System. *Cell* **122**, 107–118 (2005).
24. Sanidad, K. Z. & Zeng, M. Y. Neonatal gut microbiome and immunity. *Curr Opin Microbiol* **56**, 30–37 (2020).
25. Swidsinski, A. *et al.* Mucosal Flora in Inflammatory Bowel Disease. (2002) doi:10.1053/gast.2002.30294.
26. Arrieta, M. C., Stiemsma, L. T., Amenyogbe, N., Brown, E. & Finlay, B. The intestinal microbiome in early life: Health and disease. *Front Immunol* **5**, (2014).
27. Abrahamsson, T. R. *et al.* Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age. *Clinical & Experimental Allergy* **44**, 842–850 (2014).

28. Bäckhed, F. *et al.* Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell Host Microbe* **17**, 690–703 (2015).
29. Sakata, H., Yoshioka, H. & Fujita, K. Pediatrics Development of the intestinal flora in very low birth weight infants compared to normal full-term newborns. *European Journal of Eur J Pediatr* **144**, 186–190 (1985).
30. Thursby, E. & Juge, N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochemical Journal* **474**, 1823 (2017).
31. Miller, J. E. *et al.* Maternal antibiotic exposure during pregnancy and hospitalization with infection in offspring: a population-based cohort study. *Int J Epidemiol* **47**, 561–571 (2018).
32. Avershina, E. *et al.* Major faecal microbiota shifts in composition and diversity with age in a geographically restricted cohort of mothers and their children. *FEMS Microbiol Ecol* **87**, 280–290 (2014).
33. KISS Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System.
34. Fleischmann-Struzek, C. *et al.* Challenges in assessing the burden of sepsis and understanding the inequalities of sepsis outcomes between National Health Systems: secular trends in sepsis and infection incidence and mortality in Germany. *Intensive Care Med* **44**, 1826–1835 (2018).
35. Levy, O. Innate immunity of the newborn: basic mechanisms and clinical correlates. *Nature Reviews Immunology* 2007 7:5 **7**, 379–390 (2007).
36. Hannet, I., Erkeller-Yuksel, F., Lydyard, P., Deneys, V. & DeBruyère, M. Developmental and maturational changes in human blood lymphocyte subpopulations. *Immunol Today* **13**, 215–218 (1992).
37. Siegrist, C.-A. & Aspinall, R. B-cell responses to vaccination at the extremes of age. *Nature Reviews Immunology* 2009 9:3 **9**, 185–194 (2009).
38. Murphy, K. M. & Weaver, C. Einführung in die Immunologie und die angeborene Immunität. *Janeway Immunologie* 4–51 (2009).
39. Wolach, B., Dolfin, T., Regev, R., Gilboa, S. & Schlesinger, M. The development of the complement system after 28 weeks' gestation. *Acta Paediatr* **86**, 523–527 (1997).
40. Pettengill, M. A., van Haren, S. D. & Levy, O. Soluble mediators regulating immunity in early life. *Front Immunol* **5**, (2014).
41. Fietta, A. *et al.* Complement-dependent bactericidal activity for E. coli K12 in serum of preterm newborn infants. *Acta Paediatr Scand* **76**, 37–41 (1987).

42. Correa-Rocha, R. *et al.* Preterm neonates show marked leukopenia and lymphopenia that are associated with increased regulatory T-cell values and diminished IL-7. *Pediatric Research* 2012 71:5 **71**, 590–597 (2012).
43. Nussbaum, C. & Sperandio, M. Innate immune cell recruitment in the fetus and neonate. *J Reprod Immunol* **90**, 74–81 (2011).
44. Currie, A. J. *et al.* Preterm infants have deficient monocyte and lymphocyte cytokine responses to group B streptococcus. *Infect Immun* **79**, 1588–1596 (2011).
45. Adkins, B., Leclerc, C. & Marshall-Clarke, S. Neonatal adaptive immunity comes of age. *Nature Reviews Immunology* 2004 4:7 **4**, 553–564 (2004).
46. Walker, J. C. *et al.* Development of Lymphocyte Subpopulations in Preterm Infants. *Scand J Immunol* **73**, 53–58 (2011).
47. Debock, I. & Flamand, V. Unbalanced neonatal CD4+ T-cell immunity. *Front Immunol* **5**, 393 (2014).
48. Rudd, B. D. Neonatal T Cells: A Reinterpretation. *Annu Rev Immunol* **38**, 229 (2020).
49. Sproat, T., Payne, R. P., Embleton, N. D., Berrington, J. & Hambleton, S. T Cells in Preterm Infants and the Influence of Milk Diet. *Front Immunol* **11**, (2020).
50. Kaur, K., Chowdhury, S., Greenspan, N. S. & Schreiber, J. R. Decreased expression of tumor necrosis factor family receptors involved in humoral immune responses in preterm neonates. *Blood* **110**, 2948–2954 (2007).
51. Mcmichael, A., Simon, A. K. & Hollander, G. A. Evolution of the immune system in humans from infancy to old age. doi:10.1098/rspb.2014.3085.
52. Zemlin, M. *et al.* The Postnatal Maturation of the Immunoglobulin Heavy Chain IgG Repertoire in Human Preterm Neonates Is Slower than in Term Neonates. *The Journal of Immunology* **178**, 1180–1188 (2007).
53. Haase, C., Yu, L., Eisenbarth, G. & Markholst, H. Antigen-dependent immunotherapy of non-obese diabetic mice with immature dendritic cells. *Clin Exp Immunol* **160**, 331 (2010).
54. Sun, L. *et al.* Antibiotic-induced disruption of gut microbiota alters local metabolomes and immune responses. *Front Cell Infect Microbiol* **9**, (2019).
55. Ramirez, J. *et al.* Antibiotics as Major Disruptors of Gut Microbiota. *Front Cell Infect Microbiol* **10**, (2020).
56. Pilmis, B., Le Monnier, A. & Zahar, J.-R. Gut Microbiota, Antibiotic Therapy and Antimicrobial Resistance: A Narrative Review. (2020) doi:10.3390/microorganisms8020269.

57. Murphy, K. M., Weaver, C., Seidler, L. & Springer-Verlag GmbH. Janeway Immunologie.
58. DGPI-Handbuch: 6. Auflage (2013) » DGPI: Deutsche Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie. <https://dgpi.de/dgpi-handbuch-2013/>.
59. Epidemiologisches Bulletin STIKO-Empfehlung zur Grund-immunisierung mit dem 6-fach-Impfstoff DTaP-IPV-Hib-HepB im Säuglingsalter nach dem 2+1-Impfschema. *Epidemiologisches Bulletin RKI* (2020).
60. Stiko. Impfkalendar der Ständigen Impfkommision. (2021).
61. The State of the World's Children 2023 | UNICEF. <https://www.unicef.org/reports/state-worlds-children-2023#SOWC>.
62. Immunization coverage. *WHO* <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/immunization-coverage> (2021).
63. Grassly, N. C., Kang, G. & Kampmann, B. Biological challenges to effective vaccines in the developing world. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **370**, (2015).
64. Lynn, D. J. & Pulendran, B. The potential of the microbiota to influence vaccine responses. *J Leukoc Biol* **103**, jlb.5MR0617-216R (2018).
65. Harris, V. C. *et al.* The Journal of Infectious Diseases Significant Correlation Between the Infant Gut Microbiome and Rotavirus Vaccine Response in Rural Ghana. (2016) doi:10.1093/infdis/jiw518.
66. Nazmul Huda, M. *et al.* Stool Microbiota and Vaccine Responses of Infants:e362-e372. *Pediatrics* **134**, (2014).
67. Lynn, M. A. *et al.* Early-Life Antibiotic-Driven Dysbiosis Leads to Dysregulated Vaccine Immune Responses in Mice. *Cell Host Microbe* **23**, 653-660.e5 (2018).
68. Klein, S. L., Jedlicka, A. & Pekosz, A. The Xs and Y of immune responses to viral vaccines. doi:10.1016/S1473-3099(10)70049-9.
69. Fink, A. L. & Klein, S. L. Sex and Gender Impact Immune Responses to Vaccines Among the Elderly. doi:10.1152/physiol.00035.2015.
70. Cook, I. F. Sexual dimorphism of humoral immunity with human vaccines. *Vaccine* **26**, 3551–3555 (2008).
71. Faldella, G. *et al.* The preterm infant's antibody response to a combined diphtheria, tetanus, acellular pertussis and hepatitis B vaccine. *Vaccine* **16**, 1646–1649 (1998).
72. Kulkarni-Munje, A. *et al.* Immune Response of Indian Preterm Infants to Pentavalent Vaccine Varies With Component Antigens and Gestational Age. *Front Immunol* **12**, 1 (2021).

73. De Koff, E. M. *et al.* Mode of delivery modulates the intestinal microbiota and impacts the response to vaccination. doi:10.1038/s41467-022-34155-2.
74. Köstlin-Gille, N. *et al.* Early initiation of antibiotic therapy and short-term outcomes in preterm infants: a single-centre retrospective cohort analysis. doi:10.1136/archdischild-2022-325113.
75. Wynn, J. L. *et al.* Early sepsis does not increase the risk of late sepsis in very low birth weight neonates. *J Pediatr* **162**, 942 (2013).
76. Leitlinie der Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin (GNPI) der Deutschen Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie (DGPI) der Deutschen Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin (DGKJ) und der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG).
77. Noah Noah, F., Jamel Doya, L. & Jouni, O. Perinatal Risk Factors and Early Onset of Neonatal Sepsis. *Int J Pediatr Res* **2022**, 88 (2022).
78. Jefferies, A. L. Position Statement Management of term infants at increased risk for early-onset bacterial sepsis. 223–228 (2017) doi:10.1093/pch/pxx023.
79. Moftian, N. *et al.* Clinical Risk Factors for Early-Onset Sepsis in Neonates: An International Delphi Study. *Iran J Med Sci* **48**, 57 (2023).
80. Olorukooba, A. A. *et al.* Prevalence and Factors Associated with Neonatal Sepsis in a Tertiary Hospital, North West Nigeria. *Niger Med J* **61**, 60 (2020).
81. Stocker, M. *et al.* Machine Learning Used to Compare the Diagnostic Accuracy of Risk Factors, Clinical Signs and Biomarkers and to Develop a New Prediction Model for Neonatal Early-onset Sepsis. *Pediatric Infectious Disease Journal* **41**, 248–254 (2022).
82. Achten, N. B. *et al.* Association of Use of the Neonatal Early-Onset Sepsis Calculator With Reduction in Antibiotic Therapy and Safety: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Pediatr* **173**, 1032 (2019).
83. Escobar, G. J. *et al.* Stratification of Risk of Early-Onset Sepsis in Newborns  $\geq 34$  Weeks' Gestation. *Pediatrics* **133**, 30–36 (2014).
84. Kuzniewicz, M. W. *et al.* A quantitative, risk-based approach to the management of neonatal early-onset sepsis. *JAMA Pediatr* **171**, 365–371 (2017).
85. Puopolo, K. M. *et al.* Estimating the Probability of Neonatal Early-Onset Infection on the Basis of Maternal Risk Factors. *Pediatrics* **128**, e1155–e1163 (2011).

86. Fernandes, M. *et al.* Screening for early-onset neonatal sepsis on the Kaiser Permanente sepsis risk calculator could reduce neonatal antibiotic usage by two-thirds. *Pediatr Investig* **6**, 171–178 (2022).
87. Dhudasia, M. B., Mukhopadhyay, S. & Puopolo, K. M. Implementation of the Sepsis Risk Calculator at an Academic Birth Hospital. *Hosp Pediatr* **8**, 243–250 (2018).
88. Ehl, S., Gering, B., Bartmann, P., Högel, J. & Pohlandt, F. C-Reactive Protein Is a Useful Marker for Guiding Duration of Antibiotic Therapy in Suspected Neonatal Bacterial Infection. *Pediatrics* **99**, 216–221 (1997).
89. Hofer, N., Zacharias, E., Müller, W. & Resch, B. An update on the use of C-reactive protein in early-Onset neonatal sepsis: Current insights and new tasks. *Neonatology* **102**, 25–36 (2012).
90. Karanika, S., Paudel, S., Grigoras, C., Kalbasi, A. & Mylonakis, E. Systematic Review and Meta-analysis of Clinical and Economic Outcomes from the Implementation of Hospital-Based Antimicrobial Stewardship Programs. *Antimicrob Agents Chemother* **60**, 4840–4852 (2016).
91. Cai, T. *et al.* Adherence to European Association of Urology Guidelines on Prophylactic Antibiotics: An Important Step in Antimicrobial Stewardship. *Eur Urol* **69**, 276–283 (2016).
92. Nathwani, D. *et al.* Value of hospital antimicrobial stewardship programs [ASPs]: a systematic review. doi:10.1186/s13756-019-0471-0.
93. Rajar, P. *et al.* Systematic Review Antibiotic Stewardship in Premature Infants: A Systematic Review. *Neonatology* **117**, 673–686 (2020).
94. Chapman, T. J., Pham, M., Bajorski, P. & Pichichero, M. E. Antibiotic Use and Vaccine Antibody Levels. *Pediatrics* **149**, (2022).
95. de Koff, E. M. *et al.* Mode of delivery modulates the intestinal microbiota and impacts the response to vaccination. *Nature Communications* **2022** *13:1* **13**, 1–12 (2022).
96. Marra, F. *et al.* Antibiotic Use in Children Is Associated With Increased Risk of Asthma. *Pediatrics* **123**, 1003–1010 (2009).
97. Risnes, K. R., Belanger, K., Murk, W. & Bracken, M. B. Antibiotic Exposure by 6 Months and Asthma and Allergy at 6 Years: Findings in a Cohort of 1,401 US Children. *Am J Epidemiol* **173**, 310 (2011).
98. Charles Bailey, L. *et al.* Association of Antibiotics in Infancy With Early Childhood Obesity. *JAMA Pediatr* **168**, 1063–1069 (2014).
99. Trasande, L. *et al.* Infant antibiotic exposures and early-life body mass. (2012) doi:10.1038/ijo.2012.132.
100. Li, Y. *et al.* Early Use of Antibiotics Is Associated with a Lower Incidence of Necrotizing Enterocolitis in Preterm, Very Low Birth Weight Infants:

Neomune-NeoNutriNet Cohort Study HHS Public Access. *J Pediatr* **227**, 128–134 (2020).

101. Michael Cotten, C. *et al.* Prolonged Duration of Initial Empirical Antibiotic Treatment Is Associated With Increased Rates of Necrotizing Enterocolitis and Death for Extremely Low Birth Weight Infants. *Pediatrics* **123**, 58 (2009).
102. Esmailizand, R. *et al.* Antibiotic exposure and development of necrotizing enterocolitis in very preterm neonates. *Paediatr Child Health* 56–61 (2018) doi:10.1093/pch/pxx169.
103. Michael Cotten, C. *et al.* Prolonged Duration of Initial Empirical Antibiotic Treatment Is Associated With Increased Rates of Necrotizing Enterocolitis and Death for Extremely Low Birth Weight Infants. *Pediatrics* **123**, 58 (2009).
104. Vatne, A. *et al.* Early Empirical Antibiotics and Adverse Clinical Outcomes in Infants Born Very Preterm: A Population-Based Cohort. (2023) doi:10.1016/j.jpeds.2022.09.029.
105. Cantey, J. B. *et al.* Antibiotic Exposure and Risk for Death or Bronchopulmonary Dysplasia in Very Low Birth Weight Infants. *Journal of Pediatrics* **181**, 289-293.e1 (2017).
106. Slykerman, R. F. *et al.* Exposure to antibiotics in the first 24 months of life and neurocognitive outcomes at 11 years of age. *Psychopharmacology* **2019** 236:5 **236**, 1573–1582 (2019).
107. Kenyon, S. *et al.* Childhood outcomes after prescription of antibiotics to pregnant women with spontaneous preterm labour: 7-year follow-up of the ORACLE II trial. *The Lancet* **372**, 1319–1327 (2008).
108. Kenyon, S. *et al.* Articles Childhood outcomes after prescription of antibiotics to pregnant women with preterm rupture of the membranes: 7-year follow-up of the ORACLE I trial. *The Lancet* **372**, 1310–1318 (2008).
109. Kenyon, S. L., Taylor, D. J. & Tarnow-Mordi, W. Broad-spectrum antibiotics for preterm, prelabour rupture of fetal membranes: The ORACLE I randomised trial. *Lancet* **357**, 979–988 (2001).
110. Brodin, P. *et al.* Variation in the human immune system is largely driven by non-heritable influences. *Cell* **160**, 37–47 (2015).
111. García-Serna, A. M., Martín-Orozco, E., Hernández-Caselles, T. & Morales, E. Prenatal and perinatal environmental influences shaping the neonatal immune system: A focus on asthma and allergy origins. *Int J Environ Res Public Health* **18**, (2021).
112. Siggers, R. H., Siggers, J., Thymann, T., Boye, M. & Sangild, P. T. Nutritional modulation of the gut microbiota and immune system in preterm neonates susceptible to necrotizing enterocolitis. *J Nutr Biochem* **22**, 511–521 (2011).

113. Azad, M. B. *et al.* Impact of maternal intrapartum antibiotics, method of birth and breastfeeding on gut microbiota during the first year of life: a prospective cohort study. *BJOG* **123**, 983–993 (2016).
114. Huda, M. N. *et al.* Stool Microbiota and Vaccine Responses of Infants. *Pediatrics* **134**, e362 (2014).
115. Lynn, M. A. *et al.* The composition of the gut microbiota following early-life antibiotic exposure affects host health and longevity in later life. *Cell Rep* **36**, (2021).
116. Schneidawind, D. Invariant natural killer T cells: Cellular immune regulators with cytotoxic potential. *Pathologe* **41**, 134–137 (2020).
117. Olszak, T. *et al.* Microbial Exposure During Early Life Has Persistent Effects on Natural Killer T Cell Function. *Science* **336**, 489 (2012).
118. De Agüero, M. G. *et al.* The maternal microbiota drives early postnatal innate immune development. *Science (1979)* **351**, 1296–1302 (2016).
119. Gollwitzer, E. S. *et al.* Lung microbiota promotes tolerance to allergens in neonates via PD-L1. *Nat Med* **20**, 642–647 (2014).
120. Wang, Y. H. *et al.* A novel subset of CD4(+) T(H)2 memory/effector cells that produce inflammatory IL-17 cytokine and promote the exacerbation of chronic allergic asthma. *J Exp Med* **207**, 2479–2491 (2010).
121. Endo, Y., Hirahara, K., Yagi, R., Tumes, D. J. & Nakayama, T. Pathogenic memory type Th2 cells in allergic inflammation. *Trends Immunol* **35**, 69–78 (2014).
122. Patrick, S. A tale of two habitats: *Bacteroides fragilis*, a lethal pathogen and resident in the human gastrointestinal microbiome. (2022) doi:10.1099/mic.0.001156.
123. Ennamorati, M. *et al.* Intestinal microbes influence development of thymic lymphocytes in early life. doi:10.1073/pnas.1915047117/-/DCSupplemental.
124. Cox, L. M. *et al.* Altering the intestinal microbiota during a critical developmental window has lasting metabolic consequences. *Cell* **158**, 705–721 (2014).
125. W ROEDIGER, W. E. & W Roediger, W. E. Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. *Gut* **21**, 793–798 (1980).
126. Li, H. *et al.* Mucosal or systemic microbiota exposures shape the B cell repertoire. *Nature* **584**, 274–278 (2020).
127. Vázquez, L. *et al.* Immunogenicity and reactogenicity of DTPa-HBV-IPV/Hib vaccine as primary and booster vaccination in low-birth-weight premature infants. *Acta Paediatr* **97**, 1243–1249 (2008).

128. Han, K. *et al.* Human Vaccines & Immunotherapeutics Revaccination of non-and low-responders after a standard three dose hepatitis B vaccine schedule. **8**, 1845–1849 (2012).
129. O’Leary, M. *et al.* Neonatal vaccination of low birthweight infants in Ghana. *Arch Dis Child* **102**, 145–151 (2017).
130. Davis, R. L. *et al.* Immunization Levels Among Premature and Low-Birth-Weight Infants and Risk Factors for Delayed Up-to-Date Immunization Status. *JAMA* **282**, 547–553 (1999).
131. Omeñaca, F., Garcia-Sicilia, J., Boceta, R., Sistiaga-Hernando, A. & García-Corbeira, P. Antibody persistence and booster vaccination during the second and fifth years of life in a cohort of children who were born prematurely. *Pediatric Infectious Disease Journal* **26**, 824–829 (2007).
132. Baines, K. J. & West, R. C. Sex differences in innate and adaptive immunity impact fetal, placental, and maternal health †. *Biol Reprod* **2023**, 256–270.
133. Ruggierii, A., Anticoli, S., D’ambrosio, A., Giordani, L. & Mora, M. The influence of sex and gender on immunity, infection and vaccination. *Ann Ist Super Sanita* **52**, 198–204 (2016).
134. Furman, D. *et al.* Systems analysis of sex differences reveals an immunosuppressive role for testosterone in the response to influenza vaccination. *Proc Natl Acad Sci U S A* **111**, 869–874 (2014).
135. Ghosh, M. K. *et al.* Sex Differences in the Immune System Become Evident in the Perinatal Period in the Four Core Genotypes Mouse. *Front Endocrinol (Lausanne)* **12**, 1 (2021).
136. Sabre, A., Sisti, G. & Gaither, K. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and Platelet-to-Lymphocyte Ratio in Twins Compared with Singletons. *South Med J* **114**, 28–31 (2021).
137. Suzuki, S. & Okudaira, S. Maternal peripheral T helper 1-type and T helper 2-type immunity in women during the first trimester of twin pregnancy. *Arch Gynecol Obstet* **270**, 260–262 (2004).
138. Shao, Y. *et al.* Stunted microbiota and opportunistic pathogen colonization in caesarean-section birth. *Nature* **574**, 117–121 (2019).
139. Sevelsted, A., Stokholm, J., Bønnelykke, K. & Bisgaard, H. Cesarean section chronic immune disorders. *Pediatrics* **135**, e92–e98 (2015).
140. de Koff, E. M. *et al.* Mode of delivery modulates the intestinal microbiota and impacts the response to vaccination. *Nat Commun* **13**, (2022).
141. Jung, E. *et al.* The fetal inflammatory response syndrome: the origins of a concept, pathophysiology, diagnosis, and obstetrical implications. *Semin Fetal Neonatal Med* **25**, 101146 (2020).

142. Jain, V. G., Willis, K. A., Jobe, A. & Ambalavanan, N. Chorioamnionitis and Neonatal Outcomes. doi:10.1038/s41390-021-01633-0.
143. Cua, D. J. & Tato, C. M. Innate IL-17-producing cells: the sentinels of the immune system. *Nature Reviews Immunology* 2010 10:7 **10**, 479–489 (2010).
144. Gomez, R. *et al.* The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol* **179**, 194–202 (1998).
145. Jackson, C. M. *et al.* Pro-inflammatory immune responses in leukocytes of premature infants exposed to maternal chorioamnionitis or funisitis. *Pediatr Res* **81**, 384 (2017).
146. Kamdar, S. *et al.* Perinatal inflammation influences but does not arrest rapid immune development in preterm babies. *Nat Commun* **11**, (2020).
147. Chapman, T. J., Pham, M., Bajorski, P. & Pichichero, M. E. Antibiotic Use and Vaccine Antibody Levels. *Pediatrics* **149**, (2022).
148. Ma, J. *et al.* comparison of gut microbiota in exclusively breast-fed and formula-fed babies: a study of 91 term infants. (123AD) doi:10.1038/s41598-020-72635-x.
149. Yan, S. *et al.* barrier maintenance and gut microbiota modulation. (2020) doi:10.1016/j.jff.2020.104153.
150. Kawahara, T. *et al.* Oral administration of Bifidobacterium bifidum G9-1 alleviates rotavirus gastroenteritis through regulation of intestinal homeostasis by inducing mucosal protective factors. *PLoS One* **12**, (2017).
151. Dong, J. *et al.* Immunomodulatory effects of the Bifidobacterium longum BL-10 on lipopolysaccharide-induced intestinal mucosal immune injury. *Front Immunol* **13**, (2022).
152. Hitch, T. C. A. *et al.* Microbiome-based interventions to modulate gut ecology and the immune system. *Mucosal Immunol* **15**, 1095 (2022).
153. Korpela, K. *et al.* Probiotic supplementation restores normal microbiota composition and function in antibiotic-treated and in caesarean-born infants. *Microbiome* **6**, (2018).
154. Uusitalo, U. *et al.* Association of Early Exposure of Probiotics and Islet Autoimmunity in the TEDDY Study. *JAMA Pediatr* **170**, 20–28 (2016).
155. Song, S. J. *et al.* Naturalization of the microbiota developmental trajectory of Cesarean-born neonates after vaginal seeding. *Med* **2**, 951-964.e5 (2021).
156. Korpela, K. *et al.* Probiotic supplementation restores normal microbiota composition and function in antibiotic-treated and in caesarean-born infants. *Microbiome* **6**, (2018).

157. Korpela, K. *et al.* Maternal Fecal Microbiota Transplantation in Cesarean-Born Infants Rapidly Restores Normal Gut Microbial Development: A Proof-of-Concept Study. *Cell* **183**, 324-334.e5 (2020).

## 8. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Impfkalender der STIKO für Frühgeborene .....	10
Abb. 2: Probanden, Anzahl eingeschlossener sowie Gründe für Ausschluss.....	13
Abb. 3: Studienaufbau mit zeitlichem Verlauf .....	15
Abb. 4: Eine frühe postnatale Antibiotikatherapie bei Frühgeborenen ist assoziiert mit erniedrigten Impftitern im korrigierten Alter von vier Monaten .....	20
Abb. 5: Eine frühe postnatale Antibiotikatherapie bei Frühgeborenen mit einem Gestationsalter von > 28 SSW ist assoziiert mit erniedrigten Impftitern im korrigierten Alter von vier Monaten.....	21
Abb. 6: Eine frühe postnatale Antibiotikatherapie bei Frühgeborenen mit einem Gestationsalter < 32 SSW, gematcht nach Geschlecht und Gestationsalter, ist assoziiert mit erniedrigten Impftitern im korrigierten Alter von 4 Monaten .....	23
Abb. 7: Negative Korrelation zwischen Dauer der Antibiotikatherapie und Höhe der Impftiter.....	24
Abb. 8: Einfluss des Geschlechts auf die Höhe der Impftiter .....	25
Abb. 9: Der Geburtsmodus hatte keinen Einfluss auf die Impftiter. ....	26
Abb. 10: Kein Einfluss von Mehrlingsschwangerschaften auf die Impftiter .....	27
Abb. 11: Kein Einfluss eines VBS auf die Impftiter .....	28
Abb. 12: Keine Korrelation zwischen Geburtsgewicht und Höhe der Impftiter.....	29
Abb. 13: Kein Einfluss eines Geburtsgewichtes unter der 10. Perzentile auf die Impftiter .....	30
Abb. 14: Kein Einfluss des Gestationsalters auf die Höhe der Impftiter.....	31
Abb. 15.: Gründe für die Entscheidung zu einer primären Antibiotikatherapie.....	36

## 9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verwendetes nichtbiologisches Material und Software .....	14
Tabelle 2: Verwendete Impfstoffe: .....	14
Tabelle 3: Zusammensetzung der Kohorten nach Geschlecht und Gestationsalter .	18
Tabelle 4: Anzahl der Paarungen aufgeteilt nach Geschlecht und Gestationsalter ..	22

## **10. Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift**

Die Arbeit wurde in der Klinik für Kinderheilkunde Abteilung IV. Neonatologie unter Betreuung von PD Dr. med. Natascha Köstlin-Gille durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit der Doktormutter PD Dr. med. Natascha Köstlin-Gille. Die Aufklärung und Probenentnahme erfolgten nach Einarbeitung durch PD. Dr. med. Natascha Köstlin-Gille durch mich. Die statistische Auswertung erfolgte zusammen mit PD. Dr. med. Natascha Köstlin-Gille.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Ich versichere, dass die eingereichte Arbeit weder vollständig noch in wesentlichen Teilen Gegenstand eines anderen Prüfungsverfahrens gewesen ist.

Tübingen, den **12.12.2024**

---

**Unterschrift Laura Haag**

## 11. Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt meiner Doktormutter PD Dr. med. Natascha Köstlin-Gille für die unermüdliche Unterstützung, Betreuung und Motivation. Ich möchte Dir herzlichst dafür danken, dass Du mir immer mit Rat und Tat beiseite gestanden bist und den langwierigen Prozess mit so viel Geduld mitgegangen bist.

Ein weiterer Dank geht an das Neolab-Team, welches mir immer tatkräftig zur Seite stand und mit viel Herzblut und Spaß bei der Sache ist. Ihr seid super!

Ganz besonders möchte ich Dr. rer. nat. Stefanie Dietz-Ziegler danken, welche mir nicht nur bei der Erstellung der Dissertation eine große Hilfe war, sondern in der Zeit auch eine gute Freundin wurde. Danke für alle Tipps, für das Korrekturlesen, für das viele Fragenbeantworten und die Hilfestellung.

Außerdem möchte ich meinen Freunden, vor allem in Tübingen, ganz herzlich danken. Ihr habt mich immer aufgemuntert und unterstützt.

Mein größter Dank gilt meiner Familie, Dr. jur. Judith Schaupp-Haag, Peter Haag und Dr. jur. Kathrin Haag, sowie meinem Freund Jonas Fink, die mich in allem bestärkt haben, mir immer eine Stütze waren und in jeder Lebenslage für mich da sind. Ohne Euch wäre diese Arbeit nicht zustande gekommen.