

Aus der Klinik für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie
der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes, Homburg/ Saar,
Direktor: Prof. Dr. M. Zemlin

Messung flüchtiger organischer Verbindungen in Bioproben von Frühgeborenen

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2022

vorgelegt von
Michelle Bous
geboren am 20.04.1996 in Saarlouis

Tag des Kolloquiums: 11.08.2023

Dekan: Prof. Dr. Michael Menger

Berichterstatter: Prof. Dr. M. Zemlin

Prof. Dr. T. Volk

Prof. Dr. M. Meyer

Für meine Familie

Aufgrund der besseren Lesbarkeit wird in der vorliegenden Promotionsarbeit das generische Maskulinum verwendet, gemeint sind jedoch immer alle Geschlechter.

Inhaltsverzeichnis

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	XI
TABELLENVERZEICHNIS	XIV
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	XVI
1. ZUSAMMENFASSUNG	- 1 -
2. ABSTRACT	- 3 -
3. EINLEITUNG	- 5 -
3.1. Frühgeburtlichkeit und ihre Folgen	- 5 -
3.2. Akute Infektionen und diagnostische Probleme	- 6 -
3.3. Neuer Ansatz für nicht-invasive Diagnostik durch Analyse von volatilen organischen Substanzen	- 9 -
3.4. Bereits durchgeführte Studien zur VOCs-Analyse	- 10 -
3.4.1. Gaschromatographische und massenspektrometrische Verfahren	- 10 -
3.4.2. Studien mit MCC-IMS	- 10 -
3.4.3. Studien mit elektronischer Nase	- 12 -
3.5. Fragestellung und Ziele	- 13 -
4. MATERIAL UND METHODEN	- 14 -
4.1. Gewinnung der Windelproben	- 14 -
4.2. Benötigte Materialien und Software	- 17 -
4.3. Analyse mittels multikapillarsäulengestützter Ionenmobilitätsspektrometrie	- 19 -
4.3.1. Allgemeines Prinzip der multikapillarsäulengekoppelten Ionenmobilitätsspektrometrie	- 19 -
4.3.1.1. Aufbau einer Multikapillarsäule (MCC)	- 19 -
4.3.1.2. Aufbau und Funktionsweise eines multikapillarsäulengekoppelten Ionenmobilitätsspektrometers	- 20 -
4.3.2. Messanordnung.....	- 24 -
4.3.3. Messprotokoll und Einstellungen.....	- 25 -
4.3.4. Messungen der Medikamente und Materialien.....	- 28 -

4.3.4.1.	Analyse der Medikamente	- 29 -
4.3.4.2.	Analyse der Medizinprodukte.....	- 30 -
4.3.4.3.	Analyse der Pflegeprodukte der Frühgeborenen.....	- 30 -
4.3.5.	Säuberung der Laborflaschen	- 31 -
4.3.6.	Auswertungssoftware	- 32 -
4.3.7.	Statische Auswertungsmethoden	- 32 -
4.4.	Analyse mittels <i>Cyranose</i>® 320.....	- 33 -
4.4.1.	Allgemeines Prinzip der <i>Cyranose</i> ® 320.....	- 33 -
4.4.2.	Anordnung der Messungen mittels <i>Cyranose</i> ® 320	- 34 -
4.4.3.	Auswertung der Analysen mittels <i>Cyranose</i> ® 320.....	- 36 -
5.	ERGEBNISSE.....	- 37 -
5.1.	Etablierung und Optimierung der multikapillarsäulengekoppelten Ionenmobilitätsspektrometrie zur Analyse von Stuhl – und Urinproben	- 37 -
5.1.1.	Vergleich direkt gemessener und nach einer Lagerung bei -80 °C gemessener Proben	- 37 -
5.1.2.	Vergleich unverdünnte Probe und mit <i>Ultra Pure Water</i> verdünnte Probe.....	- 38 -
5.1.3.	Unterscheidung zwischen leeren und vollen Windeln	- 39 -
5.2.	Medikamentenanalyse mittels multikapillarsäulengekoppelter Ionenmobilitätsspektrometrie.....	- 41 -
5.2.1.	Analyse der Medikamente	- 42 -
5.2.1.1.	Heparin.....	- 42 -
5.2.1.2.	Unacid (Ampicillin/ Sulbactam).....	- 44 -
5.2.1.3.	Vigantolette	- 46 -
5.2.1.4.	Infloran.....	- 47 -
5.2.1.5.	Kaliumchlorid.....	- 49 -
5.2.1.6.	Infectosoor.....	- 51 -
5.2.1.7.	Salvilipid	- 53 -
5.2.1.8.	Theophyllin.....	- 55 -

5.3.	Identifizierung von Individuen anhand eines VOCs-<i>Fingerprints</i> mittels MCC-IMS	- 58 -
5.3.1.	Zwillingspaar 1	58 -
5.3.2.	Zwillingspaar 2	59 -
5.3.3.	Zwillingspaar 3	62 -
5.3.4.	Zwillingspaar 4	64 -
5.3.5.	Vierlinge	66 -
5.3.6.	Vergleich aller Probanden	68 -
5.3.7.	Unterscheidung zwischen weiblichen und männlichen Individuen	70 -
5.4.	Nicht-invasive Sepsisdiagnostik mittels MCC-IMS	- 72 -
5.5.	Vergleich der Peaks der MCC-IMS-Analyse mit der Substanzdatenbank der Firma B. Braun	- 75 -
5.6.	Ergebnisse der Analysen mittels <i>Cyranose® 320</i>.....	- 75 -
5.6.1.	Unterscheidung von vier unterschiedlichen Windeln.....	75 -
5.6.2.	Vergleich wenig Stuhl (S1), viel Stuhl (S2), Urin und leere Windeln	76 -
5.6.3.	Vergleich Stuhl, Urin und leere Windeln	78 -
5.6.4.	Vergleich Unacid/ kein Unacid und leere Windeln.....	79 -
5.6.5.	Vergleich Vierlinge	81 -
5.6.6.	Vergleich Zwillingspaar 1 und leere Windeln	83 -
5.6.7.	Vergleich Zwillingspaar 2 und leere Windeln	85 -
5.6.8.	Vergleich Zwillingspaar 3 und leere Windeln	86 -
6.	DISKUSSION.....	- 88 -
6.1.	Diskussion der Hauptergebnisse.....	- 88 -
6.2.	Diskussion bisheriger diagnostischer Möglichkeiten	- 88 -
6.3.	Diskussion der Ergebnisse	- 90 -
6.3.1.	Einsatz des MCC-IMS im Medikamenten-Monitoring	90 -
6.3.2.	Minimal handling – intelligenter Inkubator.....	92 -
6.3.3.	VOCs- <i>Fingerprint</i>	93 -

6.3.4.	Sepsisdiagnostik ohne Blutentnahme.....	- 94 -
6.3.5.	Zuordnung biochemischer Substanzen zu den einzelnen Peaks	- 96 -
6.4.	Ausblick: Intelligenter Inkubator und neue diagnostische Möglichkeiten.....	- 97 -
6.4.1.	Stuhlanalysen.....	- 97 -
6.4.2.	Urinanalysen.....	- 98 -
6.4.3.	Ausatemluftanalysen.....	- 99 -
6.5.	Diskussion der Methodik	- 102 -
6.5.1.	Probenentnahme und Einfluss auf Stuhl- und Urinproben	- 102 -
6.5.2.	Methoden.....	- 103 -
7.	LITERATURVERZEICHNIS.....	- 107 -
8.	DANKSAGUNG.....	- 119 -
9.	PUBLIKATIONEN.....	- 120 -
10.	LEBENS LAUF.....	- 122 -
11.	ANHANG	- 125 -
11.1.	Tabellarische Darstellung des klinikinternen Layer „190222_Zemlin_003_Q_layer“	- 125 -
11.2.	Einverständniserklärung	- 127 -
11.3.	Ethikvotum der Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes	- 128 -

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Stuhlkarte, modifiziert nach Koletzko, Otto et al. 2017 (KOLETZKO et al., 2017).....	- 15 -
Abbildung 2: Probenverarbeitung.....	- 15 -
Abbildung 3: MCC-IMS, Typ „Breath Discovery BD29“, modifiziert nach B&S Analytik.....	- 19 -
Abbildung 4: Querschnitt durch eine Multikapillarsäule, modifiziert nach Baumbach et al., 2009 (BAUMBACH, 2009).....	- 20 -
Abbildung 5: Schematische Darstellung des MCC-IMS, modifiziert nach B&S Analytik	- 21 -
Abbildung 6: Beispiel eines typischen Ionenmobilitätsspektrogrammes.....	- 22 -
Abbildung 7: Beispiel einer <i>Heatmap</i>	- 23 -
Abbildung 8: Beispiel eines dreidimensionalen Spektrogramms	- 23 -
Abbildung 9: Messanordnung Wasserbad.....	- 24 -
Abbildung 10: MCC-IMS, Typ "Breath Discovery BD29"	- 25 -
Abbildung 11: Schematische Darstellung der Messesequenz.....	- 26 -
Abbildung 12: Genaue Messesequenz des MCC-IMS	- 27 -
Abbildung 13: Schematische Messesequenz der Analyse der Medikamente und Materialien	- 28 -
Abbildung 14: Schematische Darstellung der Sensorenanordnung, modifiziert nach Sensigent, Nanosensors.	- 34 -
Abbildung 15: Messanordnung <i>Cyranose® 320</i>	- 35 -
Abbildung 16: Messeinstellungen und Sequenz der Messungen mittels <i>Cyranose® 320</i>	- 36 -
Abbildung 17: Vergleich der direkt gemessenen und der tiefgefrorenen Windeln anhand des Peaks P19	- 38 -
Abbildung 18: Vergleich der Windelproben hinsichtlich des methodischen Verfahrens „verdünnt und unverdünnt“ mittels MCC-IMS-Analyse	- 39 -
Abbildung 19: Box-and-Whisker-Plot der Peaks P20, P83 und P98	- 40 -
Anhand des Entscheidungsbaums (Abbildung 20Abbildung 21: Entscheidungsbaum) ist ebenfalls eine Unterscheidung zwischen leeren Windeln, Stuhl und Urin möglich. Peak P103 differenziert zwischen leeren Windeln (Signalintensität $\leq 0,008$ V) und Windeln mit Stuhl und Urin (Signalintensität $> 0,008$ V). Bei einer Signalintensität $> 0,102$ V kann anhand des Peaks P160 von Stuhl ausgegangen werden, während der Peak P1 eine weitere Differenzierung bei einer Signalintensität $\leq 0,102$ V erlaubt, eine Signalintensität $\leq 0,005$ V ist hierbei Urin, eine Signalintensität $> 0,005$ V Stuhl zuzuordnen.....	- 41 -
Abbildung 21: Entscheidungsbaum Leere Windel – Stuhl – Urin.....	- 41 -
Abbildung 22: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich des Heparins mit den Proben der Kinder mit Heparintherapie.	- 43 -

Abbildung 23: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich der Proben der Kinder ohne bzw. mit Heparinbehandlung.....	- 44 -
Abbildung 24: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich des Unacids mit den Proben der Kinder mit Unacidtherapie.....	- 45 -
Abbildung 25: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich der Messungen der Proben der Kinder mit bzw. ohne Unacidtherapie.	- 46 -
Abbildung 26: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich der Leermessung, der Messungen der leeren Windel, der Vigantolekten und den Proben der Kinder mit bzw. ohne Vigantolette.	- 47 -
Abbildung 27: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich der Messungen des Inflorans und den Proben der Kinder mit Infloranthherapie.....	- 48 -
Abbildung 28: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich der Proben der Kinder mit bzw. ohne Infloranthherapie.	- 49 -
Abbildung 29: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich des Kaliumchlorids und den Proben der Kinder mit Kaliumchloridtherapie.	- 50 -
Abbildung 30: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich der Proben der Kinder mit bzw. ohne Kaliumchloridtherapie.	- 51 -
Abbildung 31: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich des Infectosoors und den Proben der Kinder mit Infectosoorthherapie.	- 52 -
Abbildung 32: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich der Proben der Kinder mit bzw. ohne Infectosoorthherapie.	- 53 -
Abbildung 33: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich des Salvilipids und den Proben der Kinder mit Salvilipidtherapie.....	- 54 -
Abbildung 34: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich der Proben der Kinder mit bzw. ohne Salvilipidtherapie.....	- 55 -
Abbildung 35: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich des Theophyllins und den Proben der Kinder mit Theophyllintherapie.	- 56 -
Abbildung 36: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich der Proben der Kinder mit bzw. ohne Theophyllintherapie.	- 57 -
Abbildung 37: Vergleich der Proben des Zwilling 028 mit den Proben des Zwilling 030.....	- 58 -
Abbildung 38: Entscheidungsbaum Zwillingpaar 1.....	- 59 -
Abbildung 39: Vergleich der Proben des Zwilling 029 mit den Proben des Zwilling 031.....	- 60 -
Abbildung 40: Entscheidungsbaum Zwillingpaar 2.....	- 60 -
Abbildung 41: Vergleich der Proben des Zwilling 021 mit den Proben des Zwilling 022.....	- 62 -
Abbildung 42: Entscheidungsbaum Zwillingpaar 3.....	- 63 -
Abbildung 43: Vergleich der Proben des Zwilling 026 mit den Proben des Zwilling 027.....	- 64 -

Abbildung 44: Entscheidungsbaum Zwillingsspaar 4.....	- 65 -
Abbildung 45: Vergleich der Proben der Vierlinge 1 bis 4.....	- 67 -
Abbildung 46: Entscheidungsbaum Vierlinge.....	- 68 -
Abbildung 47: Vergleich der Proben aller Probanden miteinander.....	- 69 -
Abbildung 48: Entscheidungsbaum Vergleich aller Probanden.....	- 70 -
Abbildung 49: Vergleich der Proben von weiblichen und männlichen Probanden.....	- 71 -
Abbildung 50: Entscheidungsbaum Vergleich männlich - weiblich.....	- 72 -
Abbildung 51: Vergleich der Proben mit und ohne Sepsis.....	- 73 -
Abbildung 52: Entscheidungsbaum „Sepsis“.....	- 74 -
Abbildung 53: Graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse des Vergleichs vier verschiedener Windeln (n = 10 Messungen pro Windel) mittels GnuPlot.....	- 76 -
Abbildung 54: Graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse des Vergleichs leere Windel, Urin, Stuhl S1 und S2 (Klasse S1 mit n = 47 Messungen, Klasse S2 mit n = 103 Messungen, Klasse Urin mit n = 45 Messungen und Klasse leere Windeln mit n = 6 Messungen) mittels GnuPlot.....	- 78 -
Abbildung 55: Graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse des Vergleichs Stuhl, Urin, leere Windel (n = 150 Messungen der Stuhlproben, n = 45 Messungen der Urinproben, bzw. n = 6 Messungen der leeren Windeln) mittels GnuPlot.....	- 79 -
Abbildung 56: Graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse des Vergleich mit Unacid/ ohne Unacid/ leere Windel (Proben mit Unacid, bzw. ohne Unacid jeweils n = 14 Messungen, bzw. n = 6 Messungen in der Klasse „leere Windel“) mittels GnuPlot.....	- 81 -
Abbildung 57: Graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse des Vergleichs „Vierlinge“ (jeweils n = 20 Messungen pro Klasse) mittels GnuPlot, wobei die Mahalanobis-Distanz (MD) und der Kreuzvalidierungswertes (CVV) bestimmt wurden.....	- 83 -
Abbildung 58: Graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse des Vergleichs „Zwillingsspaar 1“ (Zwilling 028 und Zwilling 030 jeweils n = 20 Messungen, bzw. n = 6 Messungen in der Klasse „leere Windel“) mittels GnuPlot.....	- 84 -
Abbildung 59: Graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse des Vergleichs „Zwillingsspaar 2“ (Zwilling 029 und Zwilling 031 jeweils n = 20 Messungen, bzw. n = 6 Messungen in der Klasse „leere Windel“) mittels GnuPlot.....	- 86 -
Abbildung 60: Graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse des Vergleichs „Zwillingsspaar 3“ (Zwilling 026 und Zwilling 027 jeweils n = 20 Messungen, bzw. n = 6 Messungen in der Klasse „leere Windel“) mittels GnuPlot.....	- 87 -

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Erhobene Parameter bei der Probengewinnung	- 16 -
Tabelle 2: Benötigte Materialien	- 17 -
Tabelle 3: Benötigte Software	- 18 -
Tabelle 4: Analyisierte Medikamente	- 29 -
Tabelle 5: Analyisierte Medizinprodukte	- 30 -
Tabelle 6: Analyisierte Pflegeprodukte	- 30 -
Tabelle 7: Materialien zur Säuberung der Laborflaschen	- 31 -
Tabelle 8: Übersicht über die Anwendungsgebiete der elektronischen Nase <i>Cyranose® 320</i>	- 34 -
Tabelle 9: Charakterisierung der Peaks P20, P83 und P98	- 40 -
Tabelle 10: Vierfeldertafel des Vergleichs des Zwillingspaars 1	- 59 -
Tabelle 11: Vierfeldertafel des Vergleichs des Zwillingspaars 2	- 61 -
Tabelle 12: Vierfeldertafel des Vergleichs des Zwillingspaars 3	- 63 -
Tabelle 13: Vierfeldertafel des Vergleichs des Zwillingspaars 4	- 65 -
Tabelle 14: Charakterisierung der Peaks P1, P6, P27, P59 und P85	- 73 -
Tabelle 15: Vierfeldertafel Sepsis	- 74 -
Tabelle 16: Zuordnung ausgesuchter Peaks zu Substanzen der Datenbank	- 75 -
Tabelle 17: Charakterisierung der Klassen anhand ihrer Mahalanobis-Distanz (MD; signifikante Ergebnisse in Fettdruck) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) in Klammern, Vergleich vierer unterschiedlicher Windeln	- 76 -
Tabelle 18: Charakterisierung der Werte anhand ihrer Mahalanobis-Distanz (MD; signifikante Ergebnisse in Fettdruck) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) in Klammern; Vergleich wenig Stuhl (S1), viel Stuhl (S2), Urin und leere Windel	- 77 -
Tabelle 19: Charakterisierung der Vergleiche leere Windel zu Windeln mit S1, S2 und Urin	- 77 -
Tabelle 20: Charakterisierung der Klassen zueinander anhand ihrer Mahalanobis-Distanz (MD; signifikante Ergebnisse in Fettdruck) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) in Klammern; Vergleich von Stuhl – und Urinproben und leeren Windeln	- 79 -
Tabelle 21: Charakterisierung der Vergleiche leere Windel zu Windeln mit Stuhl und Urin	- 79 -
Tabelle 22: Charakterisierung der Klassen zueinander anhand ihrer Mahalanobis-Distanz (MD; signifikante Ergebnisse in Fettdruck) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) in Klammern;	- 80 -
Tabelle 23: Charakterisierung des Vergleichs leere Windel zu Windeln mit/ ohne Unacid	- 80 -
Tabelle 24: Charakterisierung der Klassen zueinander anhand ihrer Mahalanobis-Distanz (MD; signifikante Ergebnisse in Fettdruck) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) in Klammern; Vergleich „Vierlinge“	- 82 -

Tabelle 25: Charakterisierung des Vergleichs „Vierlinge“ - 82 -

Tabelle 26: Charakterisierung der Klassen zueinander anhand ihrer Mahalanobis-Distanz (MD; signifikante Ergebnisse in Fettdruck) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) in Klammern; Vergleich „Zwillingspaar 1“ - 84 -

Tabelle 27: Charakterisierung des Vergleichs „Zwillingspaar 1“ - 84 -

Tabelle 28: Charakterisierung der Klassen zueinander anhand ihrer Mahalanobis-Distanz (MD; signifikante Ergebnisse in Fettdruck) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) in Klammern; Vergleich „Zwillingspaar 2“ - 85 -

Tabelle 29: Charakterisierung des Vergleichs „Zwillingspaar 2“ - 85 -

Tabelle 30: Charakterisierung der Klassen zueinander anhand ihrer Mahalanobis-Distanz (MD; signifikante Ergebnisse in Fettdruck) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) in Klammern; Vergleich „Zwillingspaar 3“ - 86 -

Tabelle 31: Charakterisierung des Vergleichs „Zwillingspaar 3“ - 87 -

Abkürzungsverzeichnis

AGA	<i>Appropriate for Gestational Age</i>
CF	Cystische Fibrose
CoNS	Koagulase-negative Staphylokokken
CrP	C-reaktives Protein
DNA	<i>Desoxyribonucleic Acid</i> (deutsch: Desoxyribonukleinsäure)
ED	Einzel dosis
EDMON	<i>Exhaled Drug Monitor</i>
eGFR	<i>Estimated Glomerular Filtration Rate</i> (deutsch: geschätzte glomeruläre Filtrationsrate)
FEP	Tetrafluorethylen-Hexafluorpropylen-Copolymer
FN	Feuchte Null
GA	Gestationsalter
GC, der	Gaschromatograph
GC, die	Gaschromatographie
GC-MS, der	Gaschromatograph gekoppelt mit Massenspektrometer
GC-MS, die	Gaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie
GC-ToF-MS	Gaschromatographie- <i>Time of Flight</i> - Massenspektrometrie
I.E.	Internationale Einheit
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
IMR-MS	<i>Ion Molecule Reaction</i> -Massenspektrometrie
I/ T-Quotient	<i>Immature/ Total</i> -Quotient
i.v.	Intravenös
LD	Lineare Diskriminanzanalyse
LGA	<i>Large for Gestational Age</i>
MCC	Multikapillarsäule
MCC-IMS, das	Multikapillarsäulengekoppeltes Ionenmobilitätsspektrometer
MCC-IMS, die	Multikapillarsäulengekoppelte Ionenmobilitätsspektrometrie
MD	Mahalanobis- Distanz
MRSA	Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
MRT	Magnetresonanztomographie
MSSA	Methicillin-sensitiver <i>Staphylococcus aureus</i>
n	Anzahl

NEC	<i>Necrotizing Enterocolitis</i> (deutsch: Nekrotisierende Enterokolitis)
NFCS	<i>Neonatal Facial Coding Systeme</i>
Ni	Nickel
NPV	Negativer prädiktiver Wert
P	Peak
p.o.	Per oral
PP	Polypropylen
PPV	Positiver prädiktiver Wert
PTFE	Polytetrafluorethylen
RIP	<i>Reactant Ion Peak</i>
S	Stuhl
SGA	<i>Small for Gestational Age</i>
SIFT-MS	<i>Selected Ion Flow Tube</i> - Massenspektrometrie
SOP	<i>Standard Operating Procedure</i>
SSW	Schwangerschaftswoche
TN	Trockene Null
VOCs	<i>Volatile Organic Compounds</i> (deutsch: Flüchtige organische Verbindungen)
ZVD	Zentralvenöser Druck

1. Zusammenfassung

Mehr als 10 % aller Geburten weltweit sind Frühgeburten. Je früher die Kinder geboren werden, desto unreifer sind ihre Organsysteme und –funktionen, sowie das Immunsystem. Somit sind Frühgeborene besonders anfällig für akute und chronische Erkrankungen, sowie für Infektionen. Des Weiteren ist hervorzuheben, dass sie sehr sensibel auf Stress reagieren. Zur Diagnostik müssen häufig invasive Maßnahmen wie Blutentnahmen durchgeführt werden. Bei Frühgeborenen können diese jedoch Stress und Anämien auslösen und sich negativ auf die Kurz- und Langzeitentwicklung auswirken. Um diese negativen Folgen zukünftig zu minimieren, ist die Entwicklung nicht-invasiver diagnostischer Methoden erstrebenswert. Dabei birgt die Analyse flüchtiger organischer Verbindungen (*Volatile Organic Compounds*, VOCs) ein großes Potential. Sie entstehen im Körper bei physiologischen und pathophysiologischen Prozessen und werden über Haut, Urin, Stuhl und Ausatemluft an die Umwelt abgegeben. Mithilfe elektronischer Nasen, zu welchen das multikapillarsäulengekoppelte Ionenmobilitätsspektrometer (MCC-IMS) und die *Cyranose® 320* gezählt werden, können VOCs bereits in extrem geringen Konzentrationen (pg/l) detektiert werden. Dabei ist die *Cyranose® 320* schnell und kompakt, sie kann jedoch nur bestimmte Muster, die *Smellprints* genannt werden, erkennen. Dem gegenüber steht das MCC-IMS. Es ist im Vergleich zur handlichen *Cyranose® 320* schwerer und größer, aber ebenfalls mobil auf Station und am Patientenbett einsetzbar. Ein weiterer Vorteil dieses Analyseverfahrens ist die Möglichkeit einer Zuordnung bestimmter biochemischer Substanzen aus den vermessenen Proben.

Die vorliegende Arbeit hat sich mit der Frage beschäftigt, ob mittels multikapillarsäulengekoppelter Ionenmobilitätsspektrometrie (MCC-IMS) und *Cyranose® 320* eine Umgebungsluft-unabhängige Methode zur Messung von VOCs an Bioproben von Frühgeborenen möglich ist. Nach Genehmigung der Ethikkommission des Saarlandes (HOM: 276/17) wurden Urin- und Stuhlproben Frühgeborener gesammelt und mittels MCC-IMS und *Cyranose® 320* analysiert. Einschlusskriterien waren neben der Betreuung auf den neonatologischen Stationen des Universitätsklinikums des Saarlandes ein Geburtsgewicht < 2000 g oder ein Gestationsalter < 32 Wochen, sowie das schriftliche Einverständnis der Eltern. Die statistische Auswertung der Daten des MCC-IMS erfolgte unter Verwendung des Mann-Whitney-U-Tests und Bonferroni-Korrektur, die Auswertung der *Cyranose® 320* durch eine lineare Diskriminanzanalyse zur Ermittlung der Mahalanobis- Distanz (MD) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV).

Es wurden VOCs-Profile von 133 Stuhl- und Urinproben von insgesamt 12 Frühgeborenen untersucht. Zunächst erfolgte die stufenweise Etablierung beider Methoden. Es gelang, die Messmethoden zu optimieren, sodass Stuhl und Urin als Probematerial verwendet werden konnten. Zudem wurden mit systematischen Kontrollexperimenten optimale Lagerungsbedingungen für die Bioproben entwickelt. Mithilfe des MCC-IMS konnte demonstriert werden, dass der Inhalt der Windel (Urin/ Stuhl) anhand des

VOCs-Musters klassifiziert werden kann. Des Weiteren gelang es, Unterschiede zwischen Kindern, welchen ein bestimmtes Medikament verabreicht wurde und Kindern, welchen das entsprechende Medikament nicht verabreicht wurde, zu detektieren. Sogar eine Unterscheidung von Zwillingen und Vierlingen anhand ihres mittels MCC-IMS bestimmten VOCs-Profiles war möglich. Vielversprechend war auch, dass eine Unterscheidung zwischen einem gesunden Kind und einem an Sepsis erkrankten Kind vorgenommen werden konnte. Die mittels MCC-IMS-Analyse identifizierten Peaks wurden mit einer Substanzdatenbank abgeglichen. Dabei konnten verschiedene Peaks bestimmten Substanzen (z.B. 2-Methylthio-Ethanol, 2-Pentyl-Furan, 2-Hexanon und Benzonnitril) zugeordnet werden. In der Literatur findet sich für 2-Methylthio-Ethanol, 2-Pentyl-Furan und Benzonnitril eine Assoziation mit Bakterienmetaboliten. Ein Auftreten der Substanzen 2-Hexanon und Butanal wurde mit septischem Schock/ Endotoxinschock in Zusammenhang gebracht. Es konnte nachgewiesen werden, dass sich die *Cyranose*® 320 als Screening-Instrument für die Identifikation von VOCs-Profilen eignet, da anhand der „Smellprints“ unterschiedliche Exkremate und auch unterschiedliche Individuen voneinander unterschieden werden konnten.

In der vorliegenden Arbeit konnten Profile volatiler organischer Substanzen von Bioproben Frühgeborener zuverlässig und Umgebungsluft-unabhängig mittels MCC-IMS und *Cyranose*® 320 erhoben werden. Die Ergebnisse stellen einen innovativen Ansatz zur nicht-invasiven Diagnostik in der Neonatologie dar und könnten sich zur Suche nach volatilen Biomarkern in der Neonatologie eignen.

2. Abstract

Throughout the world, more than one in ten infants is born prematurely. As the children are born earlier, their organ systems, functions and the immune system are less mature. Therefore, premature infants are particularly susceptible to acute and chronic diseases and infections. Furthermore, it should be emphasized that these children are very sensitive to stress. For diagnostic purposes, invasive measures such as blood sampling are often performed. In premature infants, however, these can trigger stress and anemia and have a negative effect on short-term and long-term development. In order to minimize these negative consequences in the future, the development of non-invasive diagnostic methods is desirable. In this context, the analysis of volatile organic compounds (VOCs) possesses great potential. VOCs are produced in the body during physiological and pathophysiological processes and are released into the environment via skin, urine, stool and exhaled air. Using electronic noses, including the ion mobility spectrometer coupled to multi-capillary columns (MCC-IMS) and *Cyranose® 320*, VOCs can be detected even in extremely low concentrations (pg/l). On the one hand, *Cyranose® 320* is fast and compact, but can only detect certain patterns called smell prints. On the other hand, the MCC-IMS is rather unwieldy and heavy compared to the *Cyranose® 320*. However, with this analytical method it is possible to classify certain substances out of the samples.

The present dissertation deals with the question of whether an ambient air-independent method for measuring VOCs on biosamples of premature babies is possible using ion mobility spectrometry coupled to multi-capillary columns (MCC-IMS) and *Cyranose® 320*. After approval of the Ethics Committees of the University Hospitals Homburg and Marburg (HOM: 276/17; MR: 05/17), urine and stool samples of premature infants were collected and analyzed using MCC-IMS and *Cyranose® 320*. Besides the treatment on the neonatological wards of the Saarland University Hospital, inclusion criteria were a birth weight < 2000 g or a gestational age < 32 weeks as well as written consent of the parents which was also obtained. The statistical evaluation of the MCC-IMS data was performed using the Mann-Whitney-U test and Bonferroni correction, the evaluation of *Cyranose® 320* was based on a linear discriminant analysis to determine the Mahalanobis distance (MD) and the cross-validation value (CVV).

VOCs profiles of 133 stool and urine samples from a total of 12 preterm infants were examined. First, the two methods were gradually established. It was possible to optimize the measurement methods to allow stool and urine to be used as sample material. In addition, we conducted systematic control experiments to find optimal storage conditions for the biosamples. We were able to demonstrate that the contents of the diaper (urine / stool) can be classified using the VOCs pattern via MCC-IMS. It was also possible to detect differences between children who received a certain medication and children who did not receive the corresponding medication. Moreover, a distinction could be made between a healthy child and a child

suffering from sepsis. The peaks identified by MCC-IMS analysis were compared with a substance database. Four peaks could be assigned to specific substances (2-methylthioethanole, 2-pentyl furane, 2-hexanone and benzonitrile). In the literature, 2-methylthioethanole, 2-pentyl furane and benzonitrile are associated with bacterial metabolites. The presence of the substances 2-hexanone and butanal was associated with septic shock/endotoxic shock. Furthermore, we could demonstrate that Cyranose® 320 can be used as a screening tool for the identification of VOCs profiles, as different excrements and even different individuals could be distinguished from each other based on the “smellprints”.

In the project, profiles of volatile organic substances from biosamples of premature infants could be reliably and ambient air-independently determined by MCC-IMS and *Cyranose*® 320. The results represent an innovative approach to non-invasive diagnostics in neonatology and may be particularly useful in the search for volatile biomarkers in neonatology.

3. Einleitung

3.1. Frühgeburtlichkeit und ihre Folgen

Im Jahre 2010 waren mehr als 10% aller Geburten Frühgeburten, ein Problem, das weltweit mehr als 14,9 Millionen Kinder pro Jahr betrifft (HOWSON et al., 2013). Laut Definition der WHO werden Geburten vor vollendeter 37. Schwangerschaftswoche (SSW) als Frühgeburten bezeichnet. 2015 waren die Komplikationen bei Frühgeburtlichkeit die führende Sterblichkeitsursache bei Kindern unter 5 Jahren (LIU et al., 2016). Um das Ausmaß der Frühgeburtlichkeit für die Betroffenen genauer zu definieren, wurden verschiedene Einteilungen vorgenommen. Bei der Einteilung nach Gestationsalter (GA) kann man zwischen einem GA < 28 Wochen (*Extremly Preterm*), einem GA zwischen 28 und 32 Wochen (*Very Preterm*) und einem GA zwischen 32 und 37 Wochen (*Moderate to Late Preterm*) unterscheiden (BLENCOWE et al., 2012). Häufig wird eine Einteilung hinsichtlich des Geburtsgewichtes vorgenommen, hierbei wird unterschieden zwischen einem Geburtsgewicht < 2500 g (*Low Birth Weight Infant*), < 1500 g (*Very Low Birth Weight Infant*) und < 1000 g (*Extremly Low Birth Weight Infant*). Eine weitere Einteilung hinsichtlich des Geburtsgewichtes ist bezogen auf das Gestationsalter möglich. Dabei spricht man bei einem Geburtsgewicht < 10. Perzentile von einem hypotrophen Neugeborenen (*Small for Gestational Age, SGA*), bei einem Geburtsgewicht zwischen der 10. und 90. Perzentile von einem eutrophen Neugeborenen (*Appropriate for Gestational Age, AGA*) und bei einem Geburtsgewicht > 90. Perzentile von einem hypertrophen Neugeborenen (*Large for Gestational Age, LGA*) (SPEER, 2019). Für Frühgeborene besteht ein erhöhtes Risiko für akute und chronische Erkrankungen. Denn je größer die Diskrepanz des Geburtstermins zum berechneten Termin ist, desto geringer ist die Reife der Organsysteme und -funktionen, sowie des Immunsystems. So treten gehäuft Erkrankungen wie die Nekrotisierende Enterokolitis, schwere Anämien, Frühgeborenenretinopathie und Taubheit sowie pneumologische Entitäten wie das Atemnotsyndrom, chronische Lungenerkrankungen und die Bronchopulmonale Dysplasie auf. Neurologische Affektionen wie intrakranielle Blutungen und Periventrikuläre Leukomalazie, sowie psychomotorische Retardierung sind ebenfalls vermehrt zu beobachten. Des Weiteren sind durch die Unreife Hypoglykämien, Hypothermien, Apnoen und Bradykardien, sowie ein persistierender *Ductus arteriosus Botalli* häufig bedingte Konsequenzen. Eine erhöhte Infektneigung und die nosokomial akquirierte Sepsis stellen ebenfalls ein großes Problem dar. Die *Early*- bzw. *Late Onset*-Sepsis ist eine der häufigsten Gründe für neonatale Mortalität und Morbidität. Eine *Early Onset*-Sepsis wird als Sepsis innerhalb der ersten 72 h postpartal definiert, das Erregerspektrum ist vergleichbar mit der mütterlichen Vaginalflora. Tritt eine Sepsis nach 72 h *post partum* auf, so wird diese als *Late Onset*-Sepsis bezeichnet. Sie ist häufig katheter- und beatmungsassoziiert, deshalb lassen sich häufig Koagulase-negative Staphylokokken (CoNS), *Staphylococcus aureus* und Enterobakterien als Erreger identifizieren (CHINEDU

et al., 2019; EL MANOUNI EL HASSANI et al., 2019; GASTMEIER et al., 2004; MORROW et al., 2017; SAMUELS et al., 2017; SPEER, 2019; VALDEZ SANDOVAL et al., 2019; WALSH, MCGUIRE, 2019; ZEMLIN et al., 2018). Bei Frühgeborenen ist eine Überwachung der Vitalfunktionen essentiell, da sie durch ihre Unreife häufig noch nicht in der Lage sind, diese aus eigener Kraft aufrecht zu erhalten. Gerade die Thermoregulation stellt für viele Frühgeborene ein Problem dar, da in Relation zur großen Körperoberfläche nur wenig Fett und Muskeln vorhanden sind. Ältere Kinder und Erwachsene erzeugen durch Muskelzittern Wärme; Neugeborene sind dazu noch nicht fähig und müssen die Lipolyse des braunen, plurivakuolären Fettgewebes zur Wärmegegewinnung nutzen, was bei Frühgeborenen oft nur unzureichend möglich ist. Deshalb wird mittels Inkubators oder Wärmebett die benötigte Wärme aufrechterhalten. Das Monitoring der übrigen Vitalparameter wie Herz- und Atemfunktion erfolgt über auf den Brustkorb aufgeklebte Elektroden (OBLADEN, 2017). Aufgrund der oben genannten Besonderheiten bei Frühgeborenen ist neben der intensivmedizinischen Betreuung eine medikamentöse Therapie essentiell. Bei Frühgeborenen ist ein erhöhter Nährstoffbedarf zu statieren. Mit etwa 180 ml/kg Körpergewicht/ Tag wird bei Frühgeborenen deutlich mehr Flüssigkeit pro Tag benötigt als bei Erwachsenen mit 40-50 ml/kg Körpergewicht/ Tag. Zusätzlich müssen vermehrt Energie und Proteine zugeführt werden (SPEER, 2019).

3.2. Akute Infektionen und diagnostische Probleme

Frühgeborene weisen eine erhöhte Suszeptibilität gegenüber nosokomialen Infektionen auf. Hierfür konnten intrinsische sowie extrinsische Einflüsse als Risikofaktoren stratifiziert werden. Zu den intrinsischen Faktoren gehören u.a. das Gestationsalter und das Geburtsgewicht. In einer Studie von Benjamin et al. wurde bei Frühgeborenen < 750 g ein signifikant erhöhtes Risiko für bakterielle Sepsis und invasive Pilzkrankungen beobachtet. Neben diesen Faktoren muss auch die Unreife des Immunsystems berücksichtigt werden. Diese ist durch eine verminderte Lymphozytenpopulation, eine eingeschränkte Granulozytopenese sowie eine verminderte Komplementaktivität und Opsonierungsfähigkeit gekennzeichnet und führt dadurch zu einer verminderten Abwehrfähigkeit (BENJAMIN et al., 2004; CARR, 2000; CHRISTOPH et al., 2013; FÖRSTER-WALDL et al., 2005; LEVY, 2007; SIMON, EXNER, 2014). Extrinsische Einflüsse sind beispielsweise die Liegedauer der Kinder, sowie invasive Eingriffe. In einer Studie von Gaynes et al. konnte ein positiver Zusammenhang zwischen der nosokomialen Infektionsrate und der Liegedauer der Frühgeborenen gezeigt werden (GAYNES et al., 1991). Mit einer längeren Zeit im Krankenhaus gibt es auch mehr invasive und nicht-invasive Eingriffe, die das Infektionsrisiko wiederum ebenfalls erhöhen. Am häufigsten wurden Blutentnahmen, endotracheales Absaugen und das Legen von venösen Zugängen durchgeführt (BARKER, RUTTER, 1995). Jeder invasive Eingriff bringt auch ein gewisses Infektionsrisiko mit sich, wie beispielsweise intravaskuläre Katheter für katheterassoziierte

Blutstrominfektionen (SMITH et al., 2008). Außerdem konnten Graham et al. feststellen, dass Frühgeborene häufig asymptomatisch mit Keimen besiedelt sind und diese Kolonisation wiederum eine Infektion zur Folge haben kann (GASTMEIER et al., 2004; GAYNES et al., 1991; GRAHAM et al., 2007; SIMON, EXNER, 2014; STOLL et al., 2002).

Die Problematik in der Diagnostik bakterieller Infektionen bei Frühgeborenen besteht allerdings darin, dass sich diese häufig nur durch unspezifische neurologische, metabolische, respiratorische und abdominelle Auffälligkeiten äußern. Dadurch ist die Diagnosestellung schwierig. Problematisch ist hierbei, dass vor allem bei zu spät eingeleiteter und inadäquater Therapie ein Fortschreiten der Infektion bis zum septischen Schock in einem Zeitraum binnen weniger Stunden möglich ist. Eine frühzeitige Antibiotikaapplikation ist somit prognosebestimmend. Bei einem klinischen Infektionsverdacht werden zur Diagnostik eine Blutkultur- sowie eine Laboruntersuchung durchgeführt. In der Laboruntersuchung ist das C-reaktive Protein (CrP), Interleukin-6 oder Interleukin-8 (IL-6, IL-8), sowie das Differenzialblutbild von besonderer Wichtigkeit (ZEA-VERA, OCHOA, 2015; ZEMLIN et al., 2018). IL-6 und IL-8 sind körpereigene Zytokine, die bei entzündlichen Reaktionen vermehrt sezerniert werden. IL-6 wirkt stimulierend auf Lymphozyten sowie auf die Produktion von Akutphase-Proteinen in der Leber, wohingegen IL-8 an der Diapedese von neutrophilen Granulozyten beteiligt ist. Das CrP gehört zu den Akutphase-Proteinen und wird in den Hepatozyten produziert und sezerniert (HEINRICH et al., 2003; HEINRICH et al., 2014; JONES, 2005; JONES et al., 1999; PAPE et al., 2018). Das CrP zeigt jedoch bei hoher Spezifität (86%) nur eine geringe Sensitivität (46%) bei Infektionsbeginn, sein Plasmaanstieg erfolgt erst nach 12-24 h. Dies bedeutet, dass trotz negativem CrP bei einer ersten Blutentnahme eine Infektion nicht ausgeschlossen werden kann. IL-6 und IL-8 sind im Blutplasma am frühesten nachweisbar und zeigen die höchste Sensitivität bei Erkrankungsbeginn, sind jedoch ungünstig zur Verlaufskontrolle, da ihre Konzentration schon nach 24 h absinkt. Im Differenzialblutbild sollte am ehesten der I/ T-Quotient (*Immature/ Total-Quotient*) berücksichtigt werden. Dieser gibt Auskunft über die Anzahl stabkerniger neutrophiler Granulozyten und Metamyelozyten im Verhältnis zur Anzahl aller neutrophiler Granulozyten. Er besitzt jedoch eine niedrige Spezifität und ist daher nur eingeschränkt nutzbar. Die Leukozytenauszählung im Labor erfolgt maschinell und kann durch die bei Neonaten vermehrt vorliegenden Erythrozytenvorstufen verfälscht werden. Außerdem unterliegt die Leukozytenzahl verschiedenen Einflussfaktoren, wie z.B. dem Geburtsmodus und dem Gestationsalter. Deshalb tritt diese Untersuchung bei Neugeborenen in den Hintergrund (CAMACHO-GONZALEZ et al., 2013; FRANZ et al., 2001; FRANZ et al., 2004; FRANZ et al., 1999; HANDRICK, HUPPERTZ, 2018a; THOMAS et al., 2010; ZEA-VERA, OCHOA, 2015; ZEMLIN, 2015; ZEMLIN et al., 2018). Auch die Blutkulturdiagnostik ist in der Neonatologie eingeschränkt. Hier gibt es zwar spezielle Blutkulturflaschen, für die eine Inokulation von 1 ml ausreichend sind, jedoch wird angenommen, dass es einen positiven Zusammenhang zwischen Blutmenge, die für die Blutkultur verwendet wurde, sowie der

Trefferquote gibt. Diese Hypothese wurde in einer prospektiven Studie überprüft. Es konnte gezeigt werden, dass durch Entnahme größerer Blutmengen für Blutkulturen eine frühzeitigere Erkennung der Bakteriämie möglich war (ISAACMAN et al., 1996; TENNEY et al., 1982). Ein weiteres Problem ist, dass die Mehrzahl der Blutkulturen erst innerhalb von 24 h ein positives Ergebnis liefert, allerdings ist auch ein Keimwachstum erst nach diesem Zeitraum möglich. Ein Nachweis von Bakterien kann also bis zu sieben Tagen dauern (BRUNKHORST, SCHMITZ, 2013), durchschnittlich nimmt die Identifikation bakterieller Erreger etwa 2-4 Tage in Anspruch (JUNGER et al., 2012).

Es muss beachtet werden, dass die Diagnostik häufig mit schmerzhaften Eingriffen wie z. B. Venenpunktionen zum Legen von Zugängen und zur Blutentnahme verbunden ist. Die Punktionen sind für die Frühgeborenen ein erheblicher Stressfaktor. Oftmals müssen Punktionen sogar mehrfach durchgeführt werden, wenn sie nicht beim ersten Versuch erfolgreich waren. In Studien zeigte sich jedoch ein negativer Effekt von Venenpunktionen auf Frühgeborene (COURTOIS et al., 2016). Des Weiteren sind Frühgeborene besonders anfällig für die Entwicklung klinisch relevanter Anämien. Eine Anämie Neugeborener ist definiert als das Absinken des Hämatokrits unterhalb des Referenzwertes von 40 % sowie durch eine Verminderung der Hämoglobinkonzentration < 14 g/dl. Klinische Zeichen einer akuten Anämie können Tachypnoe, Tachykardie, schwache bzw. nicht mehr tastbare Pulse, niedriger Blutdruck, gestörte Mikrozirkulation, ein niedriger zentralvenöser Druck (ZVD) und eine metabolische Azidose sein. Das Hautkolorit kann hierbei noch rosig sein. Eine chronische Anämie kann sich durch chronische Blässe, Tachypnoe, Tachykardie, schwaches Trinkverhalten und eine niedrige Körpertemperatur zeigen. Der Blutdruck und der ZVD können normal sein, Hepato- bzw. Splenomegalie können Zeichen für eine extramedulläre Blutbildung sein (EBER, 2014; MAIER, OBLADEN, 2011; ORLIKOWSKY, 2017). Gründe für die Anämieneigung bei Frühgeborenen können perinatale Blutungen, ein niedriger Ausgangshämatokrit, inadäquate Erythropoetinsekretion und eine Hämodilution durch das schnelle Wachstum der Kinder sein. Die repetitiven Blutentnahmen verstärken die Anämie bei häufig ohnehin bestehender erythropoetischer Störung. (FIKAC, 2019; MAIER, OBLADEN, 2011; OBLADEN et al., 1988; ORLIKOWSKY, 2017; SPEER, 2019; WANG, 2016). Diese Problematik macht deutlich, dass die Diagnostik in der Neonatologie schwierig und dass nicht-invasive Diagnostik in diesem Feld besonders erstrebenswert ist.

3.3. Neuer Ansatz für nicht-invasive Diagnostik durch Analyse von volatilen organischen Substanzen

Um in Zukunft eine möglichst schonende, berührungslose und nicht-invasive Diagnostik vornehmen zu können, wird ein neuartiger Ansatz verfolgt, dessen Grundidee aber eine über tausendjährige Tradition besitzt: Die Diagnostik von Krankheiten anhand spezifischer Gerüche. Bereits im antiken Griechenland nutzte Hippokrates das Potential der Geruchserkennung für die Diagnose einer Tuberkulose, da sich, nachdem man das Sputum eines infizierten Patienten auf heiße Kohle gab, ein fauliger Geruch bildete (BUIJCK et al., 2016). Auch in der fernöstlichen Medizin spielt die Analyse der Ausatemluft seit mehreren tausend Jahren in der Diagnostik und im Therapiemonitoring eine wichtige Rolle. So kann beispielsweise eine Aussage über den metabolischen Status bei Diabetes-Patienten getroffen werden: Liegt eine diabetische Ketoazidose vor, ist aufgrund der gebildeten Ketonkörper ein süßlicher Acetongeruch des Patienten wahrnehmbar (JIANG et al., 2016). Indes kann in der heutigen klinischen Praxis ein charakteristischer Geruch ein Hinweis auf eine Erkrankung sein, wie bei einer Gastroenteritis durch Rotaviren (POULTON, TARLOW, 1987). Weiterhin kommt dem *Foetor hepaticus* („Lebergeruch“) eine Bedeutung zu, denn er kann auf ein Leberversagen hindeuten. Zudem wurde der Name der metabolischen Ahornsirupkrankheit vom malzartigem, an Ahornsirup erinnernden Geruch des Urins der betroffenen Patienten abgeleitet (BIJLAND et al., 2013). Auch während der SARS-CoV-2-Pandemie konnten durch speziell geschulte Hunde anhand des Geruchs von Speichel-, Schweiß- und Urinproben infizierte Patienten von gesunden Probanden unterschieden werden (JENDRNY et al., 2021). Diese Phänomene erklären sich dadurch, dass bei verschiedenen Erkrankungen Stoffe emittiert werden, die teilweise mit dem Riechsystem wahrnehmbar sind. Sie werden als flüchtige organische Substanzen (*Volatile Organic Compounds*, VOCs) bezeichnet. Hierbei handelt es sich um kohlenstoffhaltige Stoffe, die im menschlichen Metabolismus bei physiologischen und pathophysiologischen Prozessen gebildet werden, als Abfallprodukte über Haut, Harn, Stuhl und Atem ausgeschieden werden und schließlich in die Gasphase übergehen (DE LACY COSTELLO et al., 2014). Da diese Exkrete leicht und nicht-invasiv zu gewinnen sind, stellt ihre Detektion einen neuen diagnostischen Ansatz dar. Das große Potential der VOCs als Biomarker für Erkrankungen wurde durch die Entwicklung verschiedener Techniken möglich. Zwei mögliche Verfahren, VOCs detektieren zu können, sind zum einen die chemische Analysetechnik der multikapillarsäulengekoppelten Ionenmobilitätsspektrometrie, sowie das elektrische Verfahren der *Cyranose® 320*, das auf Mustererkennungsalgorithmen basiert (BUIJCK et al., 2016). Außerdem werden gaschromatographische und massenspektrometrische Verfahren genutzt, z.B. Gaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie (GC-MS), Gaschromatographie-*Time of Flight*- Massenspektrometrie (GC-ToF-MS), *Selected Ion Flow Tube*-Massenspektrometrie (SIFT-MS) und *Ion Molecule Reaction*-Massenspektrometrie

(IMR-MS), auf diese, bis auf GC-MS, nicht weiter eingegangen wird und nur zur Vollständigkeit und zum besseren Verständnis genannt werden (NEERINCX et al., 2017).

3.4. Bereits durchgeführte Studien zur VOCs-Analyse

3.4.1. Gaschromatographische und massenspektrometrische Verfahren

Bakterien sind durch ihren eigenständigen Metabolismus ebenfalls in der Lage, entsprechende spezifische VOCs zu produzieren. Dies kann man sich diagnostisch zu Nutze machen. Hierzu wurden die VOCs der sechs häufigsten Sepsiserreger (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* und *Escherichia coli*) mittels GC-MS, SIFT-MS, IMR-MS und elektronischer Nase analysiert. Dabei zeigte sich, dass alle sechs Bakterienarten Isopentanol, Formaldehyd, Methylmercaptan und Trimethylamin produzierten. Der menschliche Organismus ist hingegen nicht in der Lage, diese Substanzen zu synthetisieren, daher erscheinen diese Verbindungen als potentielle Biomarker für die entsprechenden Pathogene gut geeignet zu sein (BOS et al., 2013). Es gibt auch Ansätze, die auf die Analyse der VOCs der Ausatemluft mittels chemischer Verfahren setzen, zum Beispiel in der Asthmadagnostik. Es konnte gezeigt werden, dass Kinder mit *Asthma bronchiale* mittels GC-MS anhand von acht VOCs von einer gesunden Kontrollgruppe voneinander unterschieden werden (DALLINGA et al., 2010). Des Weiteren wurde gezeigt, dass gesunde Kinder von Kindern mit Asthma und Cystischer Fibrose (CF) mithilfe von *Broadband Quantum Cascade Laser Spectroscopy* differenziert werden können (VAN MASTRIGT et al., 2016). Doch es scheint mittels VOCs-Analyse nicht nur die Differenzierung zwischen gesunden Probanden und Asthmatikern zu gelingen, sondern auch zwischen verschiedenen Asthmaphänotypen, wie eosinophilem und neutrophilem Asthma (SCHLEICH et al., 2019), sowie zwischen kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma mit Exazerbationen (VAN VLIET et al., 2017; VAN VLIET et al., 2016). Im Gebiet der Nephrologie konnten durch die VOCs-Analyse der Ausatemluft mittels GC-MS Patienten mit normaler Nierenfunktion ($eGFR \geq 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$) von Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz ($eGFR 10-59 \text{ ml/min/1,73 m}^2$) voneinander unterscheiden werden (PAGONAS et al., 2012).

3.4.2. Studien mit MCC-IMS

Bei einem multikapillarsäulengekoppelten Ionenmobilitätsspektrometer ist das Verfahren der Ionenmobilitätsspektrometrie an eine Multikapillarsäule gekoppelt um eine Vortrennung zu erreichen. Es wurden Untersuchungen bezüglich des VOCs-Verhaltens bei septischen Krankheitsbildern durchgeführt. In der Gruppe mit hämorrhagischem Schock konnte ein signifikanter Anstieg von 2-Hexanon im Vergleich zu allen anderen Gruppen gefunden werden. Vergleicht man die VOCs der Gruppen mit Endotoxinschock und

Sepsis mit den VOCs der Kontrollgruppe, so zeigten sich statistisch signifikante Unterschiede für 3-Pentanon und Aceton. Es zeigten sich ebenfalls Unterschiede in den VOCs 1-Propanol, Butanal, Acetophenon, 1,2-Butandiol und 2-Hexanon bei dem Vergleich zwischen Ratten im Endotoxinschock und der Kontrollgruppe. Betrachtet man die Ratten mit Sepsis und Endotoxinschock genauer, unterscheiden sich diese beiden Gruppen im Auftreten von Butanal, 3-Pentanon und 3-Hexanon (FINK et al., 2015). Nachdem demonstriert werden konnte, dass *Escherichia coli*-Stämme bestimmte VOCs emittieren (MADDULA et al., 2009), wurde dargelegt, dass eine Unterscheidung einzelner Bakterienstämme anhand ihrer VOCs möglich ist. Vielversprechend war die Erkenntnis, dass sich für die jeweiligen Bakterienstämme spezifische VOCs zeigten (JUNGER et al., 2012). In einer Studie von Goedicke-Fritz et al. konnte 2-Methylpentan als vielversprechender Biomarker bei Amnioninfektionssyndrom in Schafen identifiziert werden (GOEDICKE-FRITZ et al., 2021). Hinsichtlich virologischer Diagnostik konnten mittels nasaler Ausatemluftanalysen durch MCC-IMS bereits Individuen mit Influenza-A-Infektion bzw. mit SARS-CoV-2-Infektion von gesunden Probanden unterschieden werden bzw. eine *in vitro*- Unterscheidung von SARS-CoV-2, dem humanen Coronavirus-NL 63 sowie Influenza-A vorgenommen werden (FEUERHERD et al., 2021; STEPPERT et al., 2020; STEPPERT et al., 2021). Aber auch in der Detektion von Malignomen wird dem MCC-IMS ein großes Potential zugesprochen. Zur Analyse der VOCs von Patienten mit histologisch gesichertem Bronchialkarzinom wurde ein MCC-IMS an ein Bronchoskop angeschlossen und jeweils der gesunden Lungenseite und der von Tumor befallenen Seite gemessen. Hierbei ergaben sich Unterschiede in der VOCs-Zusammensetzung der beiden Seiten, wobei angenommen wurde, dass Emission von VOCs mit metabolischen Prozessen im Tumor oder seiner Umgebung korreliert (DARWICHE et al., 2011). Mittels MCC-IMS konnte die Propofol-Konzentration in der Ausatemluft bestimmt werden, zudem korrelierte die Intensität des detektierten Propofols mit der berechneten Propofolmenge im Serum (BUCHINGER et al., 2013; KREUDER et al., 2011; PERL et al., 2009). Arbeitsmedizinisch relevante Ergebnisse konnten durch die Bestimmung der Sevoflurankonzentration auf dem Arbeitsplatz erzielt werden. Die gesundheitlichen Auswirkungen einer dauerhaften Exposition von Sevofluran, einem volatilen Anästhetikum, am Arbeitsplatz waren jedoch umstritten, sodass Arbeitsplatzgrenzwerte eingeführt wurden. Um diese zu einzuhalten und um das Gas bereits in sehr geringen Mengen detektieren zu können, wurde die Methode des MCC-IMS eingesetzt (KUNZE et al., 2015). Bei weiteren Untersuchungen konnten VOCs in der Inkubatoratmosphäre von Frühgeborenen detektiert werden, dabei konnte zwischen leeren Inkubatoren und Inkubatoren mit Frühgeborenen diskriminiert werden (STEINBACH et al., 2019).

3.4.3. Studien mit elektronischer Nase

Auch elektronische Nasen wie die *Cyranose*® 320 und weitere Modelle finden in verschiedenen Feldern der medizinischen Forschung eine Anwendung. In der Analyse der VOCs-Zusammensetzung im Stuhl wurden verschiedene Einflussfaktoren beleuchtet. Ebenso wie die Probensammlung hatte die Ernährungszusammensetzung einen Einfluss auf die VOCs im Stuhl (BERKHOUT et al., 2016; EL MANOUNI EL HASSANI et al., 2018). Mittels elektronischer Nase wurden außerdem biofilmbildende und nicht-biofilmbildende *Pseudomonas*- und *Staphylokokken*-Stämme mit großer Genauigkeit voneinander unterschieden (THALER et al., 2008). Daneben konnten in Blutkulturen häufige Erreger (Methicillin-sensitiver *Staphylococcus aureus* (MSSA), Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Clostridium perfringens*) mit einer Genauigkeit von 78,0 % voneinander unterschieden werden (SAVIAUK et al., 2018). Darauf aufbauend gelang es, an Patienten mit Wundinfektionen eine Unterscheidung zwischen infizierter und nicht-infizierter Wunde mit hoher Sensitivität und Spezifität (91,0 %, 71,0 %) vorzunehmen (HAALBOOM et al., 2019). Anhand der elektronischen Nase „ChemPro 100i“ (Environics Inc., Mikkeli, Finnland) konnten die häufigsten Pathogene bei Harnwegsinfektionen (*Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus faecalis* und *Klebsiella spp.*) in Urinkulturen detektiert und von sterilen Kulturmedien, die nicht mit Bakterien beimpft wurden, unterschieden werden (ROINE et al., 2014). Auch die Anwendung bei beatmeten Patienten erscheint erfolgsversprechend, mittels *Cyranose*® 320 gelang die Vorhersage beatmungsassoziierter Pneumonien mit *Pseudomonas aeruginosa* (LIAO et al., 2019). Während der SARS-CoV-2-Pandemie war durch die elektronischen Nasen eine Detektion von Infizierten anhand von Ausatemluftanalysen möglich (SNITZ et al., 2021; WINTJENS et al., 2020). Dazu wurden „Aeonose“ (The Aeonose Company, Zutphen, Niederlande) bzw. PEN3 eNose (AIRSENSE Analytics GmbH, Schwerin, Deutschland) verwendet (SNITZ et al., 2021; WINTJENS et al., 2020). Die elektronische Nase ist in der Diagnostik gastrointestinaler Erkrankungen in Erprobung (BUIJCK et al., 2016). Es zeigten sich vielversprechende Ergebnisse in der Früherkennung der Nekrotisierenden Enterokolitis (*Necrotizing Enterocolitis*, NEC). Hierfür wurden täglich Stuhlproben von Frühgeborenen mit einem Gestationsalter von ≤ 30 SSW gesammelt und mittels elektronischer Nase analysiert. Dabei konnten die Proben von Kindern mit NEC von den Proben der gesunden Kontrollgruppe unterschieden werden (DE MEIJ et al., 2015). Auch tierexperimentell konnten Unterschiede im VOCs-Profil des Stuhls von Mäusen mit induzierter NEC im Vergleich zu Mäusen der Kontrollgruppe gefunden werden (HOSFIELD et al., 2021). Des Weiteren konnten anhand des VOCs-Profils Stuhlproben von Kindern mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen wie *Morbus Crohn* und *Colitis ulcerosa* von den Proben gesunder Kinder der Kontrollgruppe differenziert werden (DE MEIJ et al., 2014). Interessant ist auch, dass sich bei Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis spezielle VOCs in der Ausatemluft detektieren lassen, die eine Unterscheidung zwischen

gesunden und an Psoriasisarthritis und rheumatoider Arthritis erkrankten Probanden ermöglicht (BREKELMANS et al., 2016). Daneben wurde die elektronische Nase für onkologische Fragestellungen genutzt: es konnten u.a. Patienten mit Lungenkarzinom und Patienten mit chronisch obstruktiver Lungenerkrankung von gesunden Individuen mittels Ausatemluftanalyse durch eine elektronische Nase unterschieden werden (PELED et al., 2021; V A et al., 2021). Mithilfe der *Cyranose*® 320 konnten ebenfalls eine Differenzierung zwischen Patienten mit Lungenkarzinom und einer Kontrollgruppe anhand VOCs in der Ausatemluft vorgenommen werden (TIRZİTE et al., 2018). Durch die *PEN3 eNose* konnten Patienten, die an kolorektalem Karzinom erkrankt sind sowie gesunde Probanden auf Basis der jeweiligen Urinproben identifiziert werden (TYAGI et al., 2021).

3.5. Fragestellung und Ziele

Gerade bei Frühgeborenen gestaltet sich die Diagnostik schwierig. Sie ist oft unpräzise, langwierig und benötigt invasive Verfahren, was Stress für die unreifen Kinder bedeutet. Deshalb muss die Entwicklung neuartiger, nicht-invasiver Diagnostikverfahren angestrebt werden. Mittels MCC-IMS und *Cyranose*® 320 sollen Bioproben von Frühgeborenen, die nicht-invasiv gewonnen werden können, analysiert werden. Ziel der Arbeit ist es, die beiden Verfahren hinsichtlich eines Einsatzes in klinischen Anwendungsgebieten zu testen. Die Verwendung von Windelproben in diesem Zusammenhang ist neu, deshalb muss zuerst eine geeignete Methode etabliert werden. Dies betrifft sowohl die Gewinnung der Windelproben, als auch die Verarbeitung und Messung.

Es ergeben sich folgende Fragestellungen:

- Kann eine Methode zur VOCs-Analyse mittels multikapillarsäulengekoppelter Ionenmobilitätsspektrometrie und mittels *Cyranose*® 320 entwickelt werden? Sind als Probematerial Stuhl und Urin geeignet?
- Lassen sich Kinder anhand des VOCs-Profiles voneinander unterscheiden? Können Krankheiten mittels VOCs-Analyse identifiziert werden?

4. Material und Methoden

4.1. Gewinnung der Windelproben

Die Kollektion der Windelproben fand im Zeitraum von Oktober bis Dezember 2018 unter standardisierten und gleichbleibenden Bedingungen unter Berücksichtigung einer *Standard Operating Procedure* (SOP) statt. Es wurden zwölf Probanden in die Studie eingeschlossen, die die folgenden Einschlusskriterien erfüllt haben.

1. Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht < 2000 g oder einem Gestationsalter $< 32 + 0$ SSW
2. Schriftliches Einverständnis der Erziehungsberechtigten
3. Stationärer Aufenthalt in der neonatologischen Intensivstation KK-01 oder der Frühgeborenenstation KK-02 des Universitätsklinikums des Saarlandes/ Homburg.

Alle erhobenen Daten wurden in pseudonymisierter Weise gespeichert und verarbeitet.

Die Windeln wurden jeweils in einem Zeitraum von 14 Tagen gesammelt, nachdem ein schriftliches Einverständnis der Erziehungsberechtigten vorlag (siehe Anhang). Der erste Wechsel der Windel fand morgens gegen 7 Uhr statt, die Windeln wurden von dem Stationspersonal aufbewahrt und innerhalb von 30 min abgeholt und verarbeitet. Die Windeln wurden zuerst gewogen und der Inhalt wurde mithilfe einer Stuhlkarte nach Menge, Konsistenz und Farbe klassifiziert (siehe Abbildung 1). Außerdem wurde vermerkt, ob sich neben Stuhl auch Urin und Feuchttücher in der Windel befanden und um welche Windelgröße es sich handelt. Mithilfe einer Schere wurden aus jeder Windel vier kleine Stücke (Größe: 1,5 x 1 cm) geschnitten (siehe Abbildung 2).

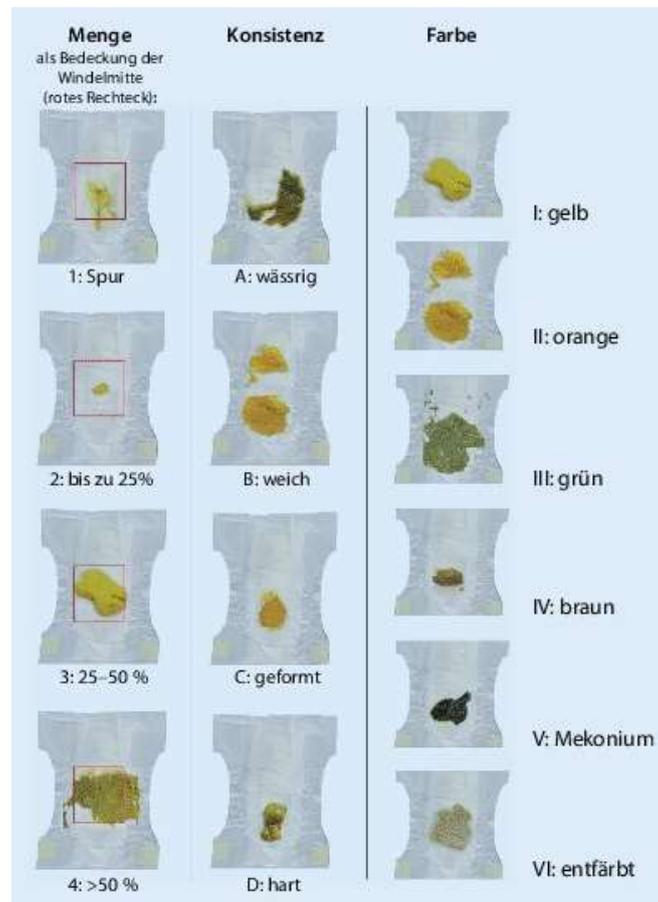


Abbildung 1: Stuhlkarte, modifiziert nach Koletzko, Otto et al. 2017 (KOLETZKO et al., 2017)

Die Abbildung zeigt die Stuhlkarte, anhand dieser wurden die Proben nach Menge, Konsistenz und Farbe klassifiziert.



Abbildung 2: Probenverarbeitung

Die Abbildung zeigt beispielhaft die verarbeiteten Windeln. Nachdem sie gewogen wurden, wurden pro Windel vier Stücke (Größe: 1 x 1,5 cm) mit einer Schere herausgeschnitten. Drei dieser Stücke wurden anschließend in ein 15 ml- Zentrifugengefäß und ein weiteres in ein 1,5 ml- Reagiergefäß gefüllt. Alle Probengefäße wurden bei -80 °C tiefgefroren.

Drei davon wurden in ein 15 ml- Zentrifugenröhrchen gefüllt, ein Stück in ein 1,5 ml- Reagiergefäß, alle Proben wurden bei -80 °C tiefgefroren. Die zu den Probanden erhobenen Parameter sind in Tabelle 1 dargestellt. Sie stammen aus der der Patientenakte. Das Vorhaben wurde von der Ethikkommission des Saarlandes genehmigt (HOM: 276/17; siehe Anhang).

Tabelle 1: Erhobene Parameter bei der Probengewinnung

Erhobene Parameter [Einheit]
Atemfrequenz [Atemzüge/ min]
CrP [g/dl]
Differentialblutbild
Geburtsdatum, -uhrzeit
Geburtsgewicht [g]
Geburtsmodus: <i>Sectio Caesarea</i> oder Spontanentbindung
Geschlecht
Gestationsalter [SSW + Tage]
Herzfrequenz [Schläge/ min]
Medikation (inklusive Antibiotika)
Mehrlingsschwangerschaft
Pflegeprodukte
SpO ₂ [%]
Temperatur, rektal [° C]

4.2. Benötigte Materialien und Software

In der Tabelle 2 und der Tabelle 3 sind die für die Arbeit benötigten Materialien und Softwares aufgelistet.

Tabelle 2: Benötigte Materialien

Material	Hersteller
Aqua dest. Pur	
Holzstäbchen	
Isopropanol	
Laborflasche, Schott Duran®, Glas, 100 ml	DWK Life Sciences GmbH, Wertheim/ Main, Deutschland
Laborflasche, Schott Duran®, Glas, 1000 ml	DWK Life Sciences GmbH, Wertheim/ Main, Deutschland
Pipetman, P1000	Gilson Incorporated, Middleton, WI, USA
Pipettenspitzen, Quality Pipette Tops, 100-1000 µl	Sarstedt AG & Co. KG, Nürnbrecht, Deutschland
Polytetrafluorethylen (PTFE) -Schlauch, Innen-Ø: 2,9 mm, Außen-Ø: 4 mm, BOLA	Bohlender GmbH, Grünsfeld, Deutschland
Reagenzglasgestell aus PP	
Reagiergefäß, 1,5 ml, SafeSeal	Sarstedt AG & Co. KG, Nürnbrecht, Deutschland
Röhre 15ml, 120X17mm, PP	Sarstedt AG & Co. KG, Nürnbrecht, Deutschland
Rotilabo®-Tetrafluorethylen-Hexafluorpropylen-Copolymer (FEP)-Schlauch, transparent, Ø innen 1,58mm, Ø außen 3,18mm	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Schraubverschluss für große und kleine Duran® Schott-Flasche, Polypropylen (PP), 2 Port Gl 45	DWK Life Sciences GmbH, Wertheim/ Main, Deutschland
Spülmaschine Desinfektor G 7736CD MCU	Miele & Cie. KG, Gütersloh, Deutschland

Synthetische Luft (20,5 ± 0,5% O ₂ in N ₂ , 50l und 10l, Alphagaz™ 1 Luft	AIR LIQUIDE Deutschland GmbH, Düsseldorf, Deutschland
Thermometer für Wasserbad	
Thermostat für Wasserbad	Boeringer Precitherm®PFV
<i>Ultra Pure Water</i> , steril	Biochrom GmbH, Berlin, Deutschland
Ultraschallbad Sonorex RK 102 M	BANDELIN electronic GmbH & Co. KG, Berlin, Deutschland
Wasserbad 5A max. 60 °C	JULABO GmbH, Seelbach, Deutschland

Tabelle 3: Benötigte Software

Software	Hersteller
<i>Cyranose</i> ® 320 mit <i>NoseChip</i> ™-Sensoren	Sensigent, Baldwin Park, CA, USA
Gnuplot, Version 5.0, Patchlevel 3	Gnuplot, SourceForge
MCC-IMS, Typ „Breath Discovery BD29“	BS Analytik GmbH, Dortmund, Deutschland
Microsoft® Office 2010	Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA
PCNose+™	Sensigent, Baldwin Park, CA, USA
R, Version i386 3.5.1	The R Foundation for Statistical Computing, Wien, Österreich
Visual Now v3.7 DT	BS Analytik GmbH, Dortmund, Deutschland
VOCan v3.7	BS Analytik GmbH, Dortmund, Deutschland

4.3. Analyse mittels multikapillarsäulengestützter Ionenmobilitätsspektrometrie

4.3.1. Allgemeines Prinzip der multikapillarsäulengekoppelten Ionenmobilitätsspektrometrie

Die Messungen wurden mit dem multikapillarsäulengekoppelten Ionenmobilitätsspektrometer (MCC-IMS) „Breath Discovery BD29“ durchgeführt.



Abbildung 3: MCC-IMS, Typ „Breath Discovery BD29“, modifiziert nach B&S Analytik

Bei dem abgebildeten Gerät handelt es sich um das multikapillarsäulengekoppelte Ionenmobilitätsspektrometer „Breath Discovery BD29“, mit dem die Analysen durchgeführt wurden.

4.3.1.1. Aufbau einer Multikapillarsäule (MCC)

Die Multikapillarsäule MCC-OV5 setzt sich aus 1000 Kapillaren zusammen, die nebeneinander angeordnet sind. Ihr Gesamtdurchmesser beträgt 3 mm, ihre innere Oberfläche ist mit einer stationären flüssigen Phase überzogen. Diese besteht aus 5 % Diphenyl und 95 % Dimethylpolysiloxane und ist unpolar. Der Aufbau einer Multikapillarsäule ist beispielhaft in Abbildung 4 dargestellt.

Aufgrund der Ladung der Moleküle kommt es zu unterschiedlich starken Interaktionen mit den Kapillaren und deren Oberfläche. Dies resultiert in verschiedenen Retentionszeiten, anhand deren sich eine Vortrennung vornehmen lässt.

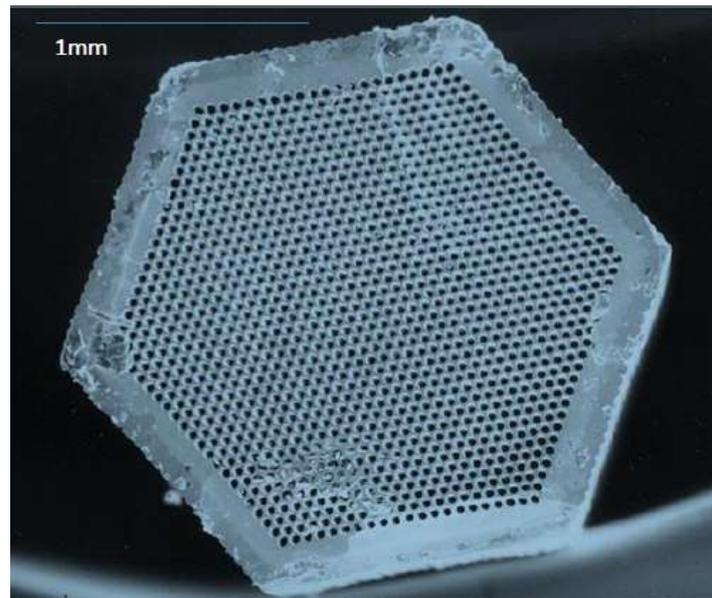


Abbildung 4: Querschnitt durch eine Multikapillarsäule, modifiziert nach Baumbach et al., 2009 (BAUMBACH, 2009)

4.3.1.2. Aufbau und Funktionsweise eines multikapillarsäulengekoppelten Ionenmobilitätsspektrometers

Ein Ionenmobilitätsspektrometer besteht prinzipiell aus vier Hauptkomponenten. Der erste Sektor besteht aus der Ionisationsregion, die durch ein Einlassgitter (zweites Kompartiment) vom Driftraum getrennt ist. Am Ende dieses dritten Teils befindet sich als Detektor eine Faraday-Platte. Die VOCs kommen über das Probeaufnahme-system nach der Vortrennung mittels MCC in die Ionisierungszone. Die in diesem Abschnitt ionisierten Moleküle gelangen in den Driftraum, der mit Driftgas gefüllt ist. In diesem Driftraum werden die ionisierten Moleküle beschleunigt und durch im Driftraum befindliche Moleküle ausgebremst. Sie gelangen zur Detektionsregion, die aus einem Faraday-Detektor mit Aperturöffnung besteht. Dort werden die Ionen absorbiert. Dabei kommt es zur Spannungserzeugung, diese Signale werden durch die Software verarbeitet werden und als Ionenmobilitätsspektrogramm dargestellt.

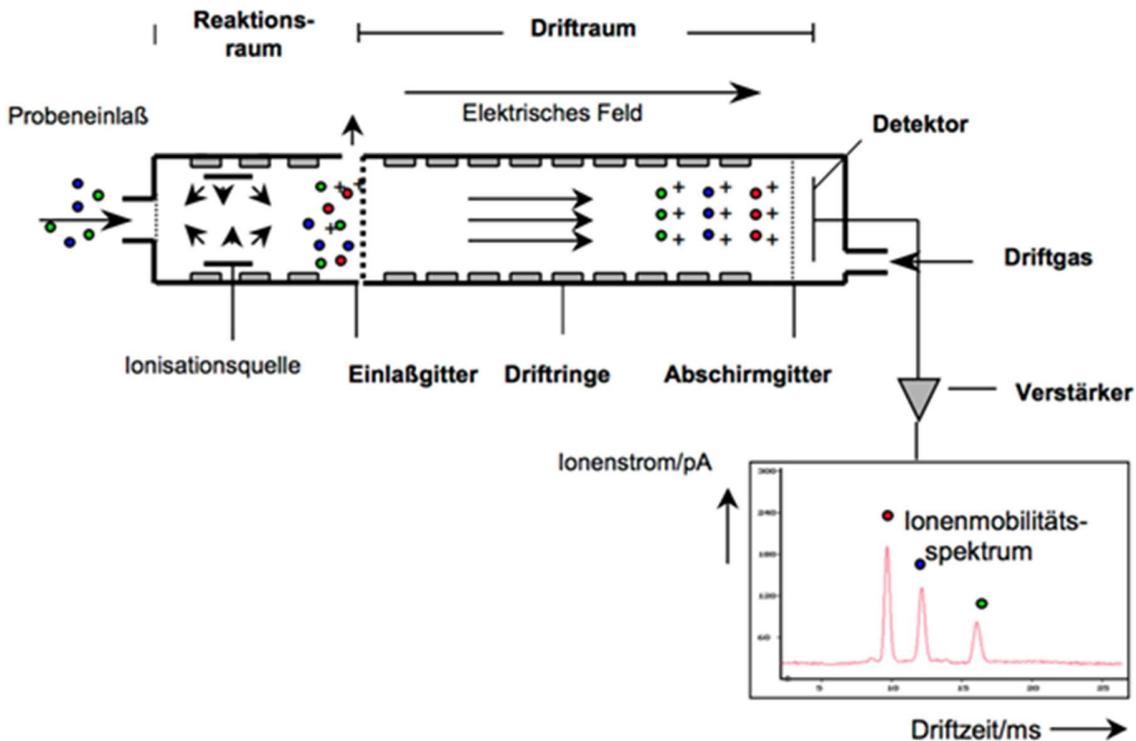


Abbildung 5: Schematische Darstellung des MCC-IMS, modifiziert nach B&S Analytik

Die VOCs kommen über das Probeaufnahmesystem nach der Vortrennung mittels MCC in die Ionisierungszone. Die in diesem Abschnitt ionisierten Moleküle gelangen in den Driftraum, der mit Driftgas gefüllt ist. In diesem Driftraum werden die ionisierten Moleküle beschleunigt und durch im Driftraum befindliche Moleküle ausgebremst. Sie gelangen zur Detektionsregion, die aus einem Faraday-Detektor mit Aperturöffnung besteht. Dort werden die Ionen absorbiert. Dabei kommt es zur Spannungserzeugung, diese Signale werden durch die Software verarbeitet werden und als Ionenmobilitätsspektrum dargestellt.

Die volatilen organischen Substanzen werden über das Probeaufnahmesystem aspiriert und gelangen nach Vortrennung mittels Multikapillarsäule in die Ionisierungszone. Dort werden die Moleküle durch β -Strahlung ionisiert. Als Strahlungsquelle fungiert ein ^{63}Ni -Betastrahler mit einer Aktivität von 95 MBq. Dieser besteht aus ^{63}Ni -Radionukliden.

Es kommt zu Reaktionen mit neutralen Teilchen aus der synthetischen Luft, wodurch verschiedene Mono- bzw. Di- oder Trimere entstehen. Durch Hydratation bilden sich Ionencluster. Diese sind später im IMS-Chromatogramm als sogenannter *Reactant Ion Peak* (RIP) sichtbar.

Nun gelangen die ionisierten Moleküle in den Driftraum, der mit synthetischer Luft gefüllt ist. Die als Driftgas verwendete synthetische Luft setzt sich zu 75,0 % aus Stickstoff und zu 20,5 % aus Sauerstoff zusammen, ihre Reinheit liegt bei $\geq 99,999$ mol%. Dies ist wichtig, um Verunreinigungen des Gerätes und Verfälschungen der Messergebnisse zu vermeiden.

Die ionisierten Moleküle sind einem elektrischen Feld E ausgesetzt und bewegen sich dort. Aufgrund der Coulomb'schen Kräfte erfahren sie eine Beschleunigung, durch Kollisionen mit den im Driftraum

befindlichen Molekülen werden sie abgebremst. Der Mittelpunkt des IMS ist die Detektionsregion, die aus einem Faraday-Detektor mit Aperturöffnung besteht, der die Ionen absorbiert. Dabei werden Signale erzeugt, die durch die Software VOCan aufgenommen und gespeichert werden, es entsteht ein Ionenmobilitätsspektrogramm (siehe Abbildung 6). Dieses stellt die Signalstärke in Abhängigkeit zur Driftzeit dar. Hierbei können im IMS-Chromatogramm sowohl eine quantitative als auch qualitative Analyse der Probe vollzogen werden (BAUMBACH, 2006; CUMERAS et al., 2015a; RUZSANYI et al., 2005).

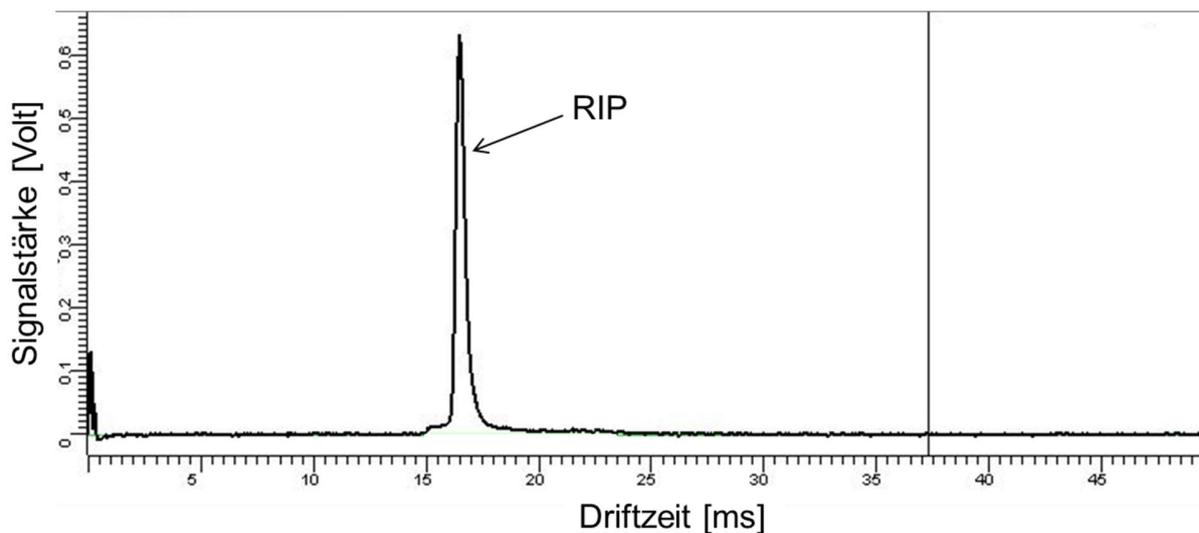


Abbildung 6: Beispiel eines typischen Ionenmobilitätsspektrogrammes

Die Abbildung zeigt ein typisches Ionenmobilitätsspektrogramm, auf dem ein *Reactant Ion Peak* (RIP) sichtbar ist.

Das Modell „Breath Discovery BD29“ der Firma BS Analytik ist zwecks Vortrennung über eine Multikapillarsäule an das IMS gekoppelt. Hierbei macht man sich zunutze, dass Moleküle jeweils in Abhängigkeit des Materials der Kapillaren unterschiedlich stark wechselwirken. Die Proben werden also nach ihrer Retentionszeit aufgetrennt, das Ionenmobilitätsspektrogramm wird somit um einen weiteren Parameter ergänzt (CUMERAS et al., 2015b).

Durch eine *Heatmap*-Darstellung ist die farbliche Kodierung der Signalintensität möglich. Die inverse reduzierte Ionenmobilität ($1/K_0$) werden hier auf der x-Achse, die Retentionszeit auf der y-Achse aufgetragen. Eine *Heatmap* ist beispielhaft in Abbildung 7 dargestellt, in dieser ist die Identifikation einzelner Peaks möglich. Zur Veranschaulichung ist in der Abbildung ein Peak markiert. Die Abbildung wurde mithilfe des Programms VisualNow erstellt.

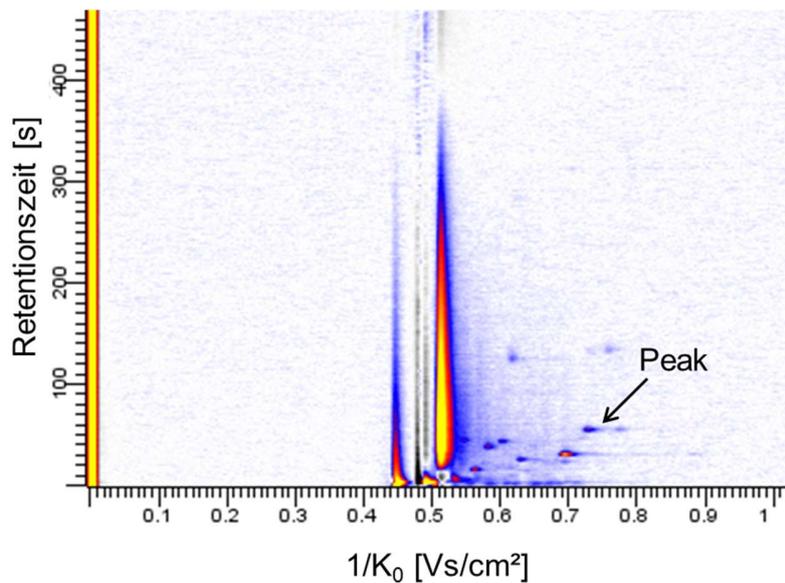


Abbildung 7: Beispiel einer Heatmap

Durch eine *Heatmap*-Darstellung ist es möglich, die Signalintensität farblich zu kodieren. Die inverse reduzierte Ionenmobilität ($1/K_0$) wird hier auf der horizontalen Achse, die Retentionszeit auf der vertikalen Achse aufgetragen. Zur Veranschaulichung ist in der Abbildung ein Peak markiert.

Es besteht ebenfalls die Möglichkeit der Darstellung eines dreidimensionalen Spektrogramms. Hierbei werden die Proben anhand ihrer Retentionszeit, ihrer inversen reduzierten Ionenmobilität ($1/K_0$) und der Signalintensität charakterisiert. Ein Beispiel eines dreidimensionalen Spektrogramms ist in Abbildung 8 dargestellt, es zeigt einen Ausschnitt der *Heatmap*-Darstellung aus Abbildung 7. Es wurde mithilfe des Programms VisualNow erstellt.

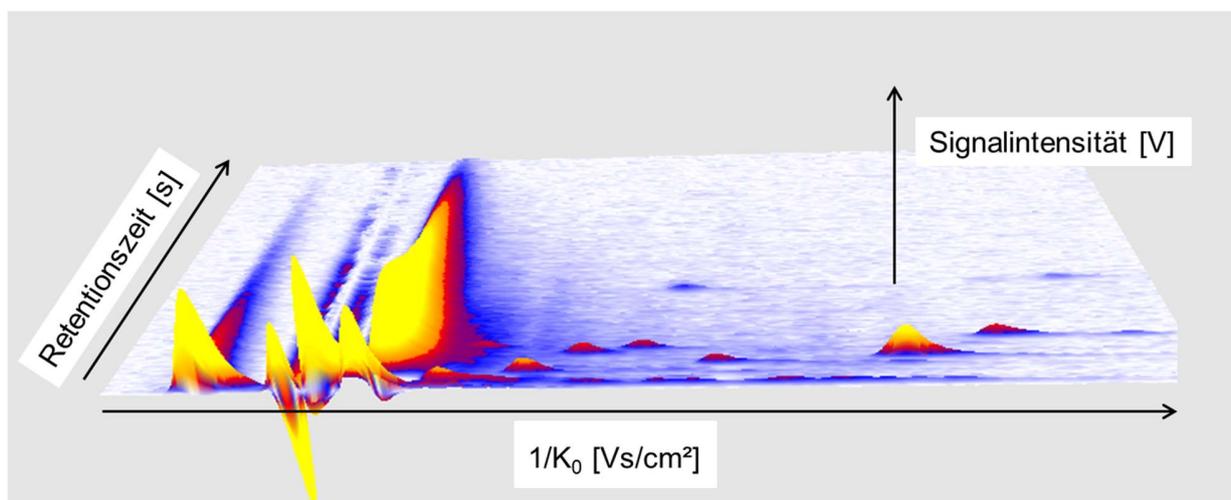


Abbildung 8: Beispiel eines dreidimensionalen Spektrogramms

Mittels MCC-IMS werden die VOCs der analysierten Proben anhand Retentionszeit, inverser reduzierter Ionenmobilität ($1/K_0$) und Signalintensität charakterisiert. Eine Darstellungsmöglichkeit ist das dreidimensionale Spektrogramm, hier wurde ein Ausschnitt der in Abbildung 7 dargestellten *Heatmap* gezeigt.

4.3.2. Messanordnung

Das benötigte Material und die verwendete Software sind der Tabelle 2 zu entnehmen. Die genaue Messanordnung ist in Abbildung 9 und Abbildung 10 dargestellt.

In das mit destilliertem Wasser gefüllte Wasserbad wurde zum Aufwärmen ein kleines, zuvor nach Protokoll gereinigtes Laborglas gestellt (siehe 4.3.5). Die Wassertemperatur wurde auf 37 °C festgesetzt und musste mit dem Thermometer regelmäßig kontrolliert werden. Insgesamt wurde ein geschlossenes System hergestellt: Eine große Laborflasche (1 Liter) wurde mit synthetischer Luft als Trägergas befüllt. Diese war über einen Deckel mit angeschlossenem Schlauch mit der ebenfalls mit Trägergas zu befüllenden kleinen Laborflasche im Wasserbad verbunden. Vom Deckel der kleinen Laborflasche (0,25 Liter) führte ein Schlauch zur Probenahme in das MCC-IMS hinein.

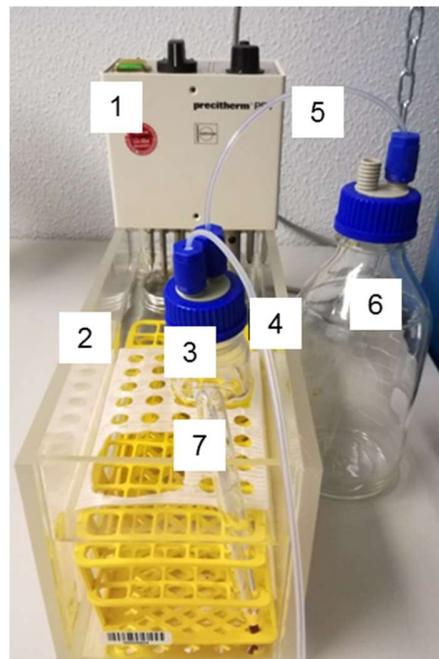


Abbildung 9: Messanordnung Wasserbad

1 Thermostat, 2 Wasserbad, 3 kleine Laborflasche mit Probe, 4 Verbindungsschlauch zum MCC-IMS zur Probensammlung, 5 Verbindungsschlauch zur großen Laborflasche, 6 große Laborflasche (gefüllt mit synthetischer Luft)

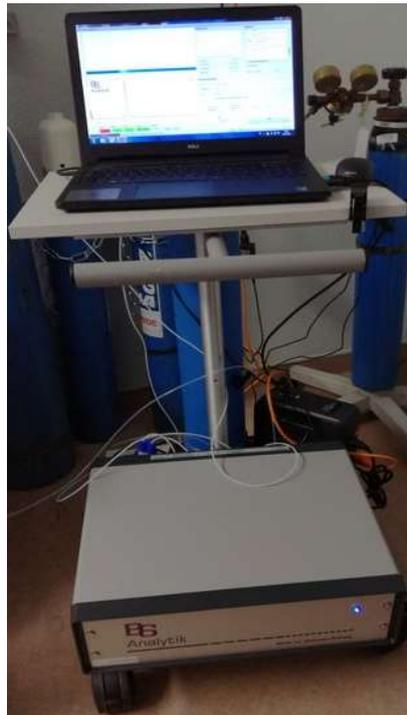


Abbildung 10: MCC-IMS, Typ "Breath Discovery BD29"

4.3.3. Messprotokoll und Einstellungen

Eine Stunde vor Beginn der Messungen wurden die Proben bei Raumtemperatur aufgetaut. Die Probe wurde dann mithilfe eines Holzstäbchens aus dem Reagiergefäß in die kleine Laborflasche transferiert.

Die Messungen fanden nach einem genauen Protokoll statt, passend dazu wurde die Software des MCC-IMS programmiert um einen genauen Sequenzablauf (siehe Abbildung 12) zu gewähren. Die *Headspace*-Messung der Proben setzte sich aus zwei Zyklen zusammen. Im ersten Zyklus wurde die Windelprobe pur, in einem zweiten Zyklus mit 1 ml *Ultra Pure Water* verdünnt. Jeder Zyklus bestand aus drei Teilschritten. Zuerst wurde eine Leermessung (synthetische Luft in der kleinen Laborflasche) vorgenommen, anschließend wurde die Probe gemessen und im Anschluss daran wurde die Probenschleife mittels Feuchter Null (FN) gespült. Der Messablauf ist in Abbildung 11 schematisch dargestellt, in Abbildung 12 ist die genaue Messsequenz abgebildet. Die Messungen fanden unter standardisierten und gleichbleibenden Bedingungen unter Berücksichtigung der *Standard Operating Procedure* (SOP) statt. Die Temperatur des MCC-IMS wurde auf 40 °C festgelegt.

Unter Feuchter Null (FN) versteht man einen Vorgang, bei dem die Probenschleife mit einem angefeuchtetem Spülgas gespült wird. Somit wird eine Reinigung vorgenommen. Das Wasser hierfür stammt aus einer Laborflasche, die von der Herstellerfirma kontrolliert und bereitgestellt wurde. Diese wurde an der Rückseite des Gerätes an einem für die Laborflasche vorgesehenem Anschluss angebracht. Im

Anschluss daran startet automatisch eine Messung mit einer Dauer von 12,5 min, durch die sich der Erfolg der Reinigung einschätzen lässt. Ergänzend dazu gibt es auch die Reinigung mittels Trockener Null (TN), die prinzipiell wie die FN durchgeführt wird, jedoch ohne Feuchtigkeit. Da es sich bei den Stuhl- und Urinproben jedoch um humide Substanzen handelt, ist diese Art der Spülung nicht für diese Messungen geeignet.



Abbildung 11: Schematische Darstellung der Messequenz

Nach der Leermessung der Laborflasche, die mit synthetischer Luft gefüllt ist, erfolgte die Messung der Probe. Danach wird eine FN angeschlossen. Die Dauer jedes einzelnen Schrittes betrug 12,5 min, die Dauer des gesamten Zyklus addierte sich somit auf 37,5 min. Dieser Zyklus wurde wiederholt, dabei musste beachtet werden, dass die Messung der Probe im ersten Zyklus ohne Verdünnung, im zweiten Zyklus mit Verdünnung mittels 1 ml *Ultra Pure Water* erfolgte.

Sequence
Flow sample I I 100
Flow drift 100
Flow mcc 150
Sampling duration 20
Wait with progress 10000 10 Sekunden Pause
Wait for user ok Leere Flasche anschliessen, dann weiter mit OK.
Flow sample I I 500
Wait with progress I I 30000 I I 30 Sekunden Pause
Flow sample I I 0
Wait with progress I I 120000 I I 2 Minuten Pause
Sample id I I FL
Comment I I Flasche leer
Sampling duration I I 20
Prog: Pump
Wait for user ok I I Jetzt Probe in die Flasche, dann weiter mit OK.
Flow sample I I 500
Wait with progress I I 30000 I I 30 Sekunden Pause
Flow sample I I 0
Wait with progress I I 120000 I I 2 Minuten Pause
Sample id I I Headspace Windel
Comment I I UxKx
Prog: Pump
Wait with progress I I 10000 I I 10 Sekunden Pause
Flow sample I I 500
Sample id I I Headspace, FN
Comment Headspace, FN
Prog: FN
Wait with progress I I 10000 I I 10 Sekunden Pause
Flow sample I I 100
Flow drift 100
Flow mcc 150

Abbildung 12: Genaue Messsequenz des MCC-IMS

Die genauen Einstellungen und die Abfolge der Sequenz sind in dieser Abbildung dargestellt. Das Durchlaufen der Sequenz erfolgte in der angegebenen Reihenfolge.

4.3.4. Messungen der Medikamente und Materialien

Für jede Probe der Medikamente, Medizin- und Pflegeprodukte wurden drei Messzyklen festgelegt, jeder bestand ebenfalls aus drei Teilschritten. Der Leermessung schlossen sich die Messung der jeweiligen Probe und eine Feuchte Null (FN) an. Abbildung 13 zeigt schematisch einen Überblick über die Abfolge der Messungen.

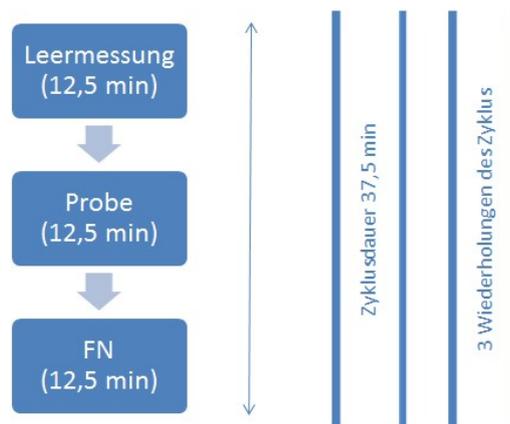


Abbildung 13: Schematische Messsequenz der Analyse der Medikamente und Materialien

Nach der Leermessung der Laborflasche, die mit synthetischer Luft gefüllt ist, erfolgte die Messung der Probe. Daran wurde eine FN angeschlossen. Die Dauer jedes einzelnen Schrittes betrug 12,5 min, die Dauer des gesamten Zyklus addierte sich somit auf 37,5 min. Der Gesamtzyklus wurde dreimal wiederholt.

4.3.4.1. Analyse der Medikamente

Es wurden verschiedene Medikamente, die teils als Infusionslösungen, teils als gelöste Tabletten verabreicht wurden, gemessen. Es wurden jeweils 300 µl pro Lösung gemessen. Die Medikamente sind der Tabelle 4 zu entnehmen.

Tabelle 4: Analyierte Medikamente

Wirkstoff	Handelsname	Hersteller	Dosierung
Ampicillin/ Sulbactam	Unacid®	Pfizer Deutschland GmbH, Berlin	50-200 mg/kg/ d i.v. (3 Einzeldosen = ED)
Bifidobacterium bifidum, Lactobacillus acidophilus	Infloran®	Desma Healthcare S.p.A., Turin	1 Tbl./ d
Colecalciferol (Vitamin D3)	Vigantol®	Merck KGaA, Darmstadt	500-100 Internationale Einheiten (I.E.) / d
Essentielle Fettsäuren	Salvilipid®	Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim	1-3 g/kg/ d
Heparinnatrium	Heparin Natrium Braun®	B. Braun Melsungen AG, Melsungen	50-100 I.E./kg/ d i.v.
Kaliumchlorid	Kaliumchloridlösung Fresenius Inf.®	Fresenius SE & Co. KGaA, Bad Homburg	0-5 mmol/kg/ d i.v.
Miconazol Mundgel	Infectosoor®	InfectoPharm Arzneimittel und Consilium GmbH, Heppenheim	4 x ¼ Messlöffel
Theophyllin	Afpred®- forte THEO	Leyh Pharma GmbH, Brotterode-Trusetal	6-8 mg/kg p.o. initial, dann 3 mg/kg/ d per os (p.o.) in 6-8 ED

4.3.4.2. Analyse der Medizinprodukte

Es wurden Medizinprodukte, die bei der Ernährung der Frühgeborenen und bei der Medikamentenapplikation verwendet werden, analysiert. Das Holzstäbchen wurde verwendet um die Proben vom Reagiergefäß in das Laborglas zu transferieren.

Tabelle 5: Analyisierte Medizinprodukte

Material	Hersteller
Connecting tube 150 cm, für Spritzenpumpen	M. Schilling GmbH, Gelnhausen, Deutschland
Holzstäbchen	
Magensondeschlauch <i>nutrisafe 2</i>	Vygon-Erzeugnisse für Medizin und Chirurgie GmbH & Co. KG, Aachen, Deutschland
Spritze 2,5 ml <i>nutrisafe 2</i>	Vygon-Erzeugnisse für Medizin und Chirurgie GmbH & Co. KG, Aachen, Deutschland
Spritze 5 ml <i>nutrisafe 2</i>	Vygon-Erzeugnisse für Medizin und Chirurgie GmbH & Co. KG, Aachen, Deutschland

4.3.4.3. Analyse der Pflegeprodukte der Frühgeborenen

Die Frühgeborenen wurden auf Station vom Pflegepersonal am Körper mit Hipp Waschlotion gewaschen, im Windelbereich jedoch nur mit klarem Wasser. Danach wurden sie mit Olivenöl eingerieben. Zur Säuberung des Windelbereichs nach dem Windelwechsel wurden Hipp Feuchttücher verwendet. Um einen Einfluss dieser Pflegeprodukte auf die VOCs der Proben zu beurteilen, wurden diese ebenfalls analysiert. Die erwähnten Pflegeprodukte sind in Tabelle 6 aufgeführt. Auf das Aufführen der Messergebnisse der aufgelisteten Pflegemittel wird im Folgenden verzichtet.

Tabelle 6: Analyisierte Pflegeprodukte

Pflegeprodukt	Hersteller
Feuchttuch Ultrasensitiv Babysanft	Hipp, Pfaffenhofen (Ilm), Deutschland
Olivenöl (<i>Oleum olivarum</i> DAB 10)	Apotheke des Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg, Deutschland
Waschgel Sensitiv Babysanft	Hipp, Pfaffenhofen (Ilm), Deutschland

4.3.5. Säuberung der Laborflaschen

Die Säuberung der kleinen Laborflasche, die zur *Headspace*-Messung benötigt wurden, erfolgte unter standardisierten Bedingungen unter Einhaltung einer *Standard Operating Procedure* (SOP). Ziel war es, die Flaschen von den Gerüchen der vorherigen Messung zu befreien, um die nächste Messung nicht zu beeinflussen. Dazu wurden sie zuerst in einer Spülmaschine bei 93 °C thermisch desinfiziert, anschließend in einem Ultraschallbad mit einer Mischung (im Verhältnis 4:1) aus destilliertem Wasser und Propanol 30 min behandelt. Die Reste des Propanolgemisches an den Flaschen wurden mit destilliertem Wasser abgewaschen, wurden sie noch einmal für 30 min in das Ultraschallbad gelegt, das nun mit destilliertem Wasser gefüllt wurde. Die hierzu benötigten Materialien wurden in der Tabelle 7 zusammengefasst.

Zum Trocknen wurden die Flaschen für mindestens 8 h in den Wärmeschrank gestellt.

Tabelle 7: Materialien zur Säuberung der Laborflaschen

Material	Hersteller
Aqua dest. Pur	
Isopropanol	
Spülmaschine Desinfektor G 7736CD MCU	Miele & Cie. KG, Gütersloh, Deutschland
Ultraschallbad Sonorex RK 102 M	BANDELIN electronic GmbH & Co. KG, Berlin, Deutschland

4.3.6. Auswertungssoftware

Als Software wurde das Programm VisualNow v3.7 DT (B&S Analytik, Dortmund, Deutschland) verwendet. Die Auswertung erfolgte mithilfe des klinikinternen Layer „190222_Zemlin_003_Q_layer“. Dieser wurde für die Bestimmung der Retentionszeiten und der $1/K_0$ -Werte sowie für die Markierungen der einzelnen Peaks benötigt (siehe Anhang).

4.3.7. Statische Auswertungsmethoden

Die statistische Auswertung wurde der Mann-Whitney U-Test (MANN, WHITNEY, 1947) durchgeführt. Anschließend wurde eine Korrektur nach Bonferroni (CHEVERUD, 2001; KOWALSKI, ENCK, 2010) durchgeführt. Zur Darstellung der statistischen Auswertung wurde die Software VisualNow benutzt.

Dabei wurde die Wahrscheinlichkeit p in verschiedenen Signifikanzlevel U gewählt:

- $p > 0,050$ (nicht signifikant).
- $p < 0,050$ (95,0 %, signifikant), mit einem Z-Wert von mind. 1,960; Z-Wert nach Bonferroni-Korrektur mind. 3,446.
- $p < 0,010$ (99,0 %, sehr signifikant), mit einem Z-Wert von mind. 2,576; Z-Wert nach Bonferroni-Korrektur mind. 3,859.
- $p < 0,001$ (99,9 %, hoch signifikant), mit einem Z-Wert von mind. 3,292; Z-Wert nach Bonferroni-Korrektur mind. 4,389.

Die Auswertung der Daten, die mittels MCC-IMS gemessen wurden, wurde in Kooperation mit Frau Annika Wulff und Herrn Prof. Dr. Baumbach der Firma B. Braun Melsungen AG; Center of Competence Breath Analysis, Dortmund, durchgeführt.

Bei den dargestellten Box-and-Whisker-Plots wurden die Signifikanzlevels wie folgt gekennzeichnet:

- $p < 0,050$ (95,0 %, signifikant): Ein Stern (*)
- $p < 0,010$ (99,0 %, sehr signifikant): Zwei Sterne (**)
- $p < 0,001$ (99,9 %, hoch signifikant): Drei Sterne (***)

Die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte mittels Box-and-Whisker-Plots, Entscheidungsbäumen und Vierfeldertafeln. Hierbei bezieht sich ein Box-and-Whisker-Plot jeweils auf einen Peak, der sich in seiner Signalstärke signifikant, sehr signifikant oder hoch signifikant zwischen den gewählten Klassen zeigte. Für die Unterscheidung anhand des Entscheidungsbaums werden alle Peaks, die durch ihre Signalstärke zwischen den entsprechenden Klassen als signifikant, sehr signifikant oder hoch signifikant identifiziert werden, betrachtet. Der Peak bzw. eine Kombination mehrerer Peaks, die die beste

Unterscheidung ermöglichen, werden dargestellt. Dabei wurde die minimale Anzahl an Peaks, die zur Unterscheidung notwendig sind, ermittelt. Durch Vierfeldertafeln können zu entsprechender Fragestellung binäre Klassifikatoren (richtig positiv, falsch positiv, richtig negativ und falsch negativ) graphisch dargestellt werden und daraus die Sensitivität, Spezifität, der positive sowie der negative prädiktive Wert der jeweiligen Analysen bestimmt werden. Hierbei werden alle zur Unterscheidung geeigneten Peaks betrachtet.

4.4. Analyse mittels *Cyranose*® 320

4.4.1. Allgemeines Prinzip der *Cyranose*® 320

Das Konzept der elektronischen Nase wurde erstmals 1998 von Göpel et al. vorgestellt und kontinuierlich weiterentwickelt (GÖPEL, 1998; GÖPEL et al., 1998). Die elektronische Nase *Cyranose*® 320 (Sensigent, CA, USA) ist dem Riechsystem von Säugetieren nachempfunden und kann VOCs erkennen. Wie die menschliche Nase besteht die eNose ebenfalls aus verschiedenen Sensoren, die durch Gerüche unterschiedlich aktiviert werden. Die *Cyranose*® 320 setzt sich aus 32 Sensoren zusammen, die carbonbeschichtet sind und metallische sowie nicht-metallische Nanopartikel und leitende Polymerstrukturen enthalten. Durch den Kontakt mit VOCs kommt es in den Sensoren zu Spannungsänderungen, die ein bestimmtes Muster erzeugen und durch das Programm aufgezeichnet werden. Betrachtet man jeweils nur einen Sensor, so ist die Aussage über seine Aktivität unspezifisch. Da es jedoch durch verschiedene Substanzen zu unterschiedlich starken Aktivierungen der Sensoren kommt, ergeben sich durch die Betrachtung aller 32 Sensoren für alle Substanzen ein bestimmtes Muster. Diese werden als *Smellprint* bezeichnet. Treffen nun die VOCs einer neuen, bekannten oder unbekanntes Substanz auf die elektrische Nase, so wird dieses Signal mit den bisher bekannten *Smellprints* im Datensatz verglichen und diesen zugeordnet. Diese Musterwiedererkennung (*Pattern Recognition*) wird durch bestimmte mathematische Algorithmen ermöglicht. Dabei wird jedem Sensor ein Zahlenwert zugeordnet. Die Zusammenschau aller 32 Zahlenwerte ergibt einen *Smellprint*. Es ist ein Lernprozess möglich: Je mehr Proben sich im Datensatz befinden, desto genauer kann eine Zuordnung erfolgen (NAGLE et al., 1998; PEARCE et al., 2006; THALER, HANSON, 2005). In Abbildung 14 ist die Sensorenanordnung der *Cyranose*® 320 schematisch dargestellt.

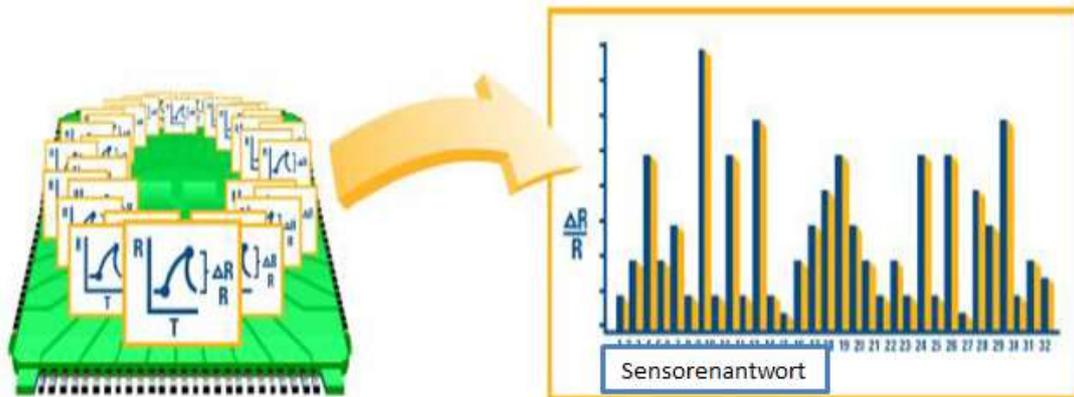


Abbildung 14: Schematische Darstellung der Sensorenanordnung, modifiziert nach Sensigent, Nanosensors.
Die Abbildung zeigt schematisch das Prinzip der Sensorenanordnung der *Cyranose® 320* sowie beispielhaft eine mögliche Antwort auf getestete VOCs.

Es findet in neben dem Einsatz in der biomedizinischen Forschung in verschiedenen Gebieten eine Anwendung (siehe Tabelle 8).

Tabelle 8: Übersicht über die Anwendungsgebiete der elektronischen Nase *Cyranose® 320*

Anwendungsgebiet	Beispiele	Literatur
Duftstoffe/ Kosmetikindustrie	Unterscheidung von Geruchsstoffen	(HADDAD et al., 2010)
Lebensmittelqualitätssicherung	-Unterscheidung von verschiedenen Trüffelarten -Klassifikationen der Aromen von Obstsorten	(ADAK, YUMUSAK, 2016)
Umweltmonitoring/ Luftqualität	Erkennung toxischer Gase	(DESHMUKH et al., 2015)

4.4.2. Anordnung der Messungen mittels *Cyranose® 320*

Im Anschluss an die Messung mit dem MCC-IMS wurden die jeweiligen Proben mittels *Cyranose® 320* analysiert. Die Messanordnung ist in Abbildung 15 dargestellt. Um die *Cyranose® 320* messbereit zu machen, wurde sie zuerst 6 min mit synthetischer Luft gespült. Die Proben wurden in einem Wasserbad auf 37 °C erwärmt und anschließend in ein 1,5 ml-Reagiergefäßen gefüllt und zur Analyse präsentiert. Der *Identify Run* wurde gestartet. Mittels Aufnahmesystem, das über die Probe gehalten wurde, ohne dabei den Rand des Reagiergefäßes und die Probe selbst zu berühren, wurden die VOCs der Probe für 10 s in die

Cyranose® 320 eingesogen. Die Analyse der VOCs wurde somit automatisch gestartet und gespeichert. In einem nächsten Schritt wurde ein Spülvorgang mit synthetischer Luft durchgeführt um Verunreinigungen zu vermeiden. Pro Probe wurde eine weitere Messung mittels *Identify Run* angeschlossen, die Messsequenz wurde folglich zweimal durchlaufen. Die genauen Einstellungen der Messsequenz sind Abbildung 16 zu entnehmen. Tabelle 2 zeigt die benötigten Materialien und Software.

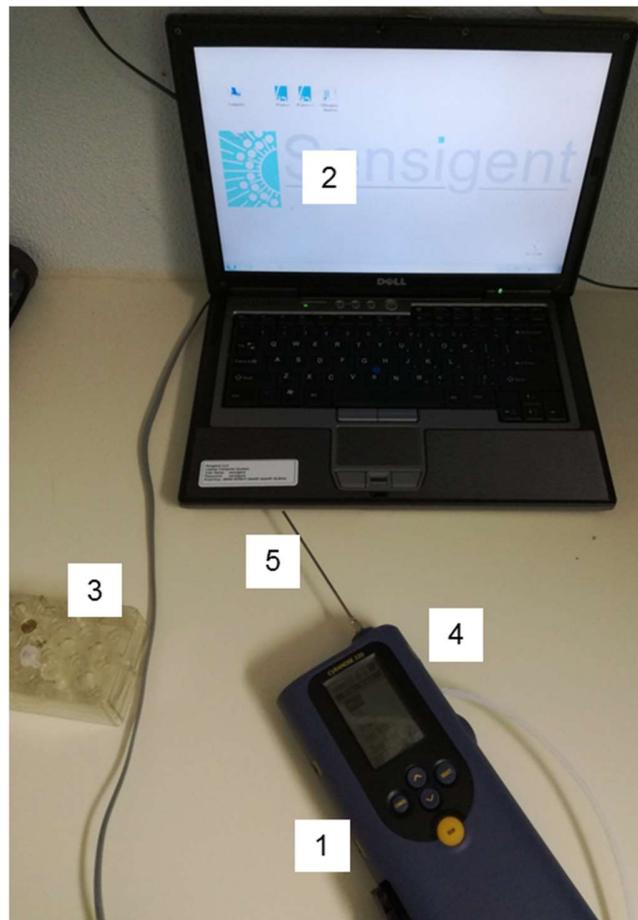


Abbildung 15: Messanordnung *Cyranose® 320*

1 *Cyranose® 320*, 2 Laptop mit PCNose+™, 3 Reagenzglashalter mit Reagiergefäß, 4 zuführender Schlauch zur synthetischen Luft, 5 Aufnahmesystem der *Cyranose® 320*

Flow Settings - (WARNING: Changes to this section may require retraining)

	Time (s)	Pump Speed		
		Low	Medium	High
Baseline				
Baseline Purge :	10	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>
Sample				
Sample Draw 1 :	10	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>
Sample Draw 2 :	0	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>
Purge				
Snout Removal :	0	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
1st Sample Gas Purge :	0	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
1st Air Intake Purge :	5	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
2nd Sample Gas Purge :	30	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
2nd Air Intake Purge :	0	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>

Digital Filtering (id/training/calibration):

Substrate Heater
 On / Off °C

Training Repeat Count :

Identifying Repeat Count :

Data Processing - (Changes to this section will not require retraining)

Active Sensors

1 2 3 4 5 6 7 8
 9 10 11 12 13 14 15 16
 17 18 19 20 21 22 23 24
 25 26 27 28 29 30 31 32

Algorithm :

Preprocessing :

Normalization :

Identification Quality :

Acceptance Threshold : %

Abbildung 16: Messeinstellungen und Sequenz der Messungen mittels Cyranose® 320

In dieser Abbildung sind genauen Einstellungen für die Analysen mittels Cyranose® 320 angegeben. Die Einstellungen wurden für alle Messungen beibehalten.

4.4.3. Auswertung der Analysen mittels Cyranose® 320

Die statistischen und grafischen Berechnungen der mittels Cyranose® 320 erhobenen Daten erfolgte mithilfe des Statistikprogramms R, Version i386 3.5.1. Hierbei wurde durch eine lineare Diskriminanzanalyse die Mahalanobis- Distanz (MD) und der Kreuzvalidierungswert (CVV) bestimmt. Dadurch war die Begrenzung des Datensatzes auf wenige Dimensionen, abhängig von der Fragestellung, möglich. Die MD stellt ein Distanzmaß dar, welches den Grad der Verwandtschaft zweier *Smellprints* angibt. Eine MD zwischen den Gruppen, die größer als 1.96 (Konfidenzintervall > 95%, $p < 0,05$) ist, wurde als signifikant definiert.

Mithilfe des Programms GnuPlot Version 5.0, Patchlevel 3, wurden die Ergebnisse graphisch dargestellt.

5. Ergebnisse

5.1. Etablierung und Optimierung der multikapillarsäulengekoppelten Ionenmobilitätsspektrometrie zur Analyse von Stuhl – und Urinproben

Ziel der Arbeit war es, eine Methode zur Analyse von Stuhl- und Urinproben mittels multikapillarsäulengekoppelter Ionenmobilitätsspektrometrie (MCC-IMS) zu etablieren und zu optimieren. Hierdurch könnten Biomarker sowie VOCs-Profile zur Identifikation von Infektionen und sonstige Erkrankungen bei Frühgeborenen detektiert werden. Im Folgenden wurden einzelne Parameter, wie verabreichte Medikamente, methodische Verfahren und Probeverarbeitung, sowie die VOCs-Konstellation bei Zwillingen und Vierlingen, betrachtet. Insgesamt wurden 133 Stuhl- und Urinproben analysiert. Jede Probe hatte ein Gewicht zwischen 0,0095 g und 0,1116 g. Um VOCs in Stuhl- und Urinproben analysieren zu können, musste zuerst eine geeignete Methodik etabliert werden. Aufgrund der Vielzahl an Proben war eine direkte Messung der Proben nicht immer gewährleistet. Deshalb wurde untersucht, ob die Lagerung einen Einfluss auf die Probenqualität hat. Hierzu wurden direkt gemessene Windelproben und Windelproben nach einer Lagerung bei -80 °C verglichen. Ein Problem des Probenmaterials Urin bzw. Stuhl war die Überlagerung der Messungen aufgrund des intensiven Ammoniaks, der in Urin enthalten ist. Deshalb wurde in einem weiteren Ansatz geschaut, ob eine Verdünnung der Proben mittels *Ultra Pure Water* vor den Messungen Auswirkungen auf das VOCs-Profil hat und ob ein Einfluss auf die Messqualität gegeben ist. In den chronologisch ersten Messungen (siehe 5.1.3, 5.3.6, 5.3.7) wurden die unverdünnten Proben verwendet, da es im Verlauf jedoch häufig zu Überlagerungen kam, wurden ansonsten die verdünnten Proben betrachtet. Des Weiteren wurde überprüft, ob es mittels MCC-IMS möglich ist, leere Windeln von mit Stuhl und/oder Urin gefüllten Windeln zu unterscheiden. Es wurde auch untersucht, ob Stuhl- von Urinproben zu differenzieren sind.

5.1.1. Vergleich direkt gemessener und nach einer Lagerung bei -80 °C gemessener Proben

Es wurden zwei Klassen mit jeweils $n = 15$ gewählt. Die erste Klasse „Direkt gemessen“ umfasst direkt nach der Sammlung und Verarbeitung gemessene Proben, die zweite Klasse „Nach Lagerung bei -80°C gemessen“ Proben, die sofort bei -80 °C tiefgekühlt wurden und nach einem gewissen Zeitraum mittels MCC-IMS gemessen wurden. Innerhalb dieser Analysen wurden 86 relevante Peaks detektiert. Im Vergleich der beiden Klassen ergeben sich keine signifikanten Unterschiede im Signifikanzlevel U (mit $p < 0,05$). Am Box-and-Whisker-Plot des Peaks P19 in Abbildung 17 wird deutlich, dass sich die tiefgefrorenen Proben nicht signifikant von den direkt gemessenen Proben unterscheiden.

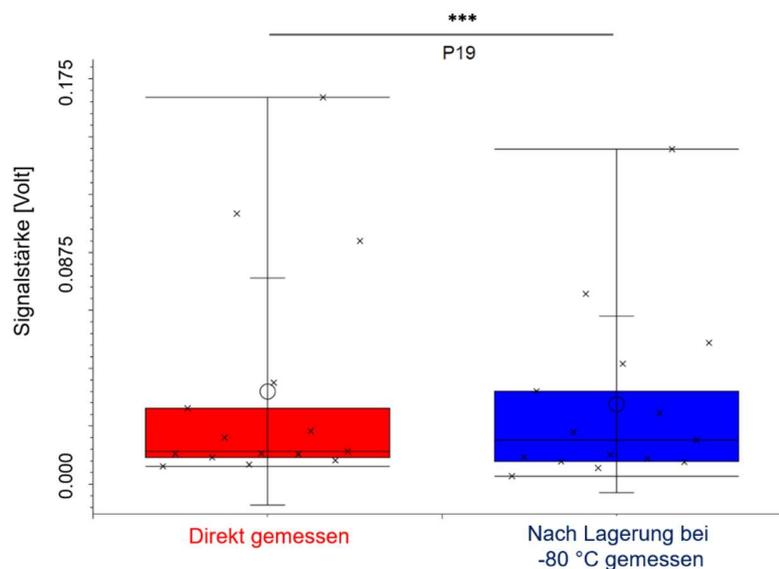


Abbildung 17: Vergleich der direkt gemessenen und der tiefgefrorenen Windeln anhand des Peaks P19

Beispielhaft wurde die Abbildung des Peaks P19 nach IMS-Analyse gewählt. An diesem Peak wird deutlich, dass sich die Proben der tiefgefrorenen und direkt gemessenen Windeln nicht signifikant voneinander unterscheiden. Innerhalb des Vergleichs wurden $n = 15$ Proben pro Klasse gemessen.

5.1.2. Vergleich unverdünnte Probe und mit *Ultra Pure Water* verdünnte Probe

Es wurde die Frage behandelt, ob sich signifikante Unterschiede zwischen Proben, die unverdünnt gemessen wurden („Unverdünnte Proben“) und Proben, die vor der Messung mit 1 ml *Ultra Pure Water* verdünnt wurden („Verdünnte Proben“), bestehen. Hierzu wurden pro Klasse jeweils $n = 51$ Proben gewählt. Insgesamt wurden 87 Peaks detektiert. Es zeigen sich 61 hoch signifikante Peaks (Signifikanzlevel nach Bonferroni-Korrektur mit $p < 0,001$), sechs sehr signifikante Peaks (Signifikanzlevel nach Bonferroni-Korrektur mit $p < 0,01$) und ein signifikanter Peak (Signifikanzlevel nach Bonferroni-Korrektur mit $p < 0,05$). Die Sensitivität, die Spezifität, der positive prädiktive Wert (PPV) und der negative prädiktive Wert (NPV) des Peaks P59 liegen bei 96,1 %, 80,4 %, 83,1 % und 95,3 %. Da Peak P59 die höchsten Werte für Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV aufweist, ist er beispielhaft in Abbildung 18 dargestellt.

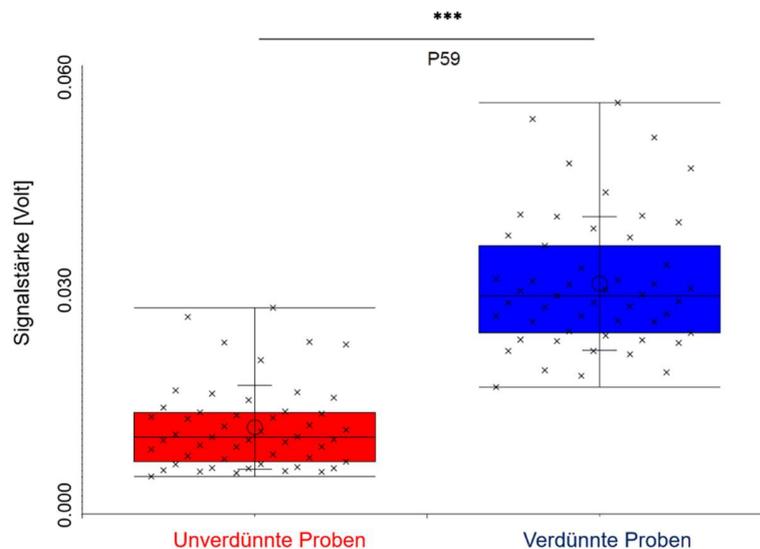


Abbildung 18: Vergleich der Windelproben hinsichtlich des methodischen Verfahrens „verdünnt und unverdünnt“ mittels MCC-IMS-Analyse

Die Abbildung zeigt den Peak P59 nach IMS-Analyse. Dieser Peak zeigt sich bezüglich der Signalintensität nach Bonferroni-Korrektur hoch signifikant ($p < 0,001$) bei dem Vergleich von Proben der ersten Klasse („Unverdünnte Proben“) und der zweiten Klasse („Verdünnte Proben“). Innerhalb des Vergleichs wurden jeweils $n = 51$ Proben pro Klasse gewählt.

5.1.3. Unterscheidung zwischen leeren und vollen Windeln

In weiteren Analysen wurde eine Unterscheidung zwischen leeren und vollen Windel mittels MCC-IMS betrachtet. Analysiert wurden insgesamt $n = 29$ Proben, darunter $n = 10$ Windeln mit Urin, $n = 10$ Windeln mit Stuhl und $n = 9$ leere Windeln als Kontrolle. Es konnten 17 Peaks, die in allen Vergleichen leeren Windeln zugeordnet werden konnten, identifiziert werden. Die höchste Sensitivität, Spezifität, sowie der höchste positive prädiktive Wert und negative prädiktive Wert von jeweils 99,9 % konnte für leere Windeln durch den Peak P98 erreicht werden in einem Signifikanzlevel von $p < 0,05$ nach Bonferroni-Korrektur (Abbildung 19C). Betrachtet man den Vergleich zwischen leeren Windeln und Windeln mit Urin, konnten 48 Peaks gefunden werden, die sich Urin zuordnen lässt. Hier zeigte der Peak P20 (Abbildung 19A) die höchste Sensitivität, Spezifität, sowie den höchsten positiven prädiktiven Wert und negativen prädiktiven Wert von jeweils 99,9 % (Signifikanzlevel $p < 0,01$ nach Bonferroni-Korrektur) für Urin. Für den Vergleich zwischen leeren Windeln und Windeln mit Stuhl konnten Stuhlwindeln 85 exklusive Peaks zugeordnet werden, wovon den Peaks P13 und P83 (Abbildung 19B) die höchste Sensitivität, Spezifität, sowie die höchsten positiven prädiktiven und negativen prädiktiven Werte von jeweils 99,9 % für Stuhl in einem Signifikanzlevel $p < 0,05$ nach Bonferroni-Korrektur zuzuordnen sind. Windeln mit Stuhl und Urin ließen sich anhand von 55 signifikanten Peaks (Signifikanzlevel $p < 0,05$) unterscheiden. Hierbei konnten 53 Peaks Stuhl, sowie zwei Peaks Urin zugeordnet werden. Peak P99 zeigte für Stuhl die höchste Sensitivität,

Spezifität und den höchsten positiven und negativen prädiktiven Wert mit 90 %, 80 %, 69,2 % und 94,1 % in einem Signifikanzlevel von $p < 0,001$. Beispielhaft ist in Tabelle 9 die genaue Charakterisierung der Peaks P20, P98 und P83 einzusehen.

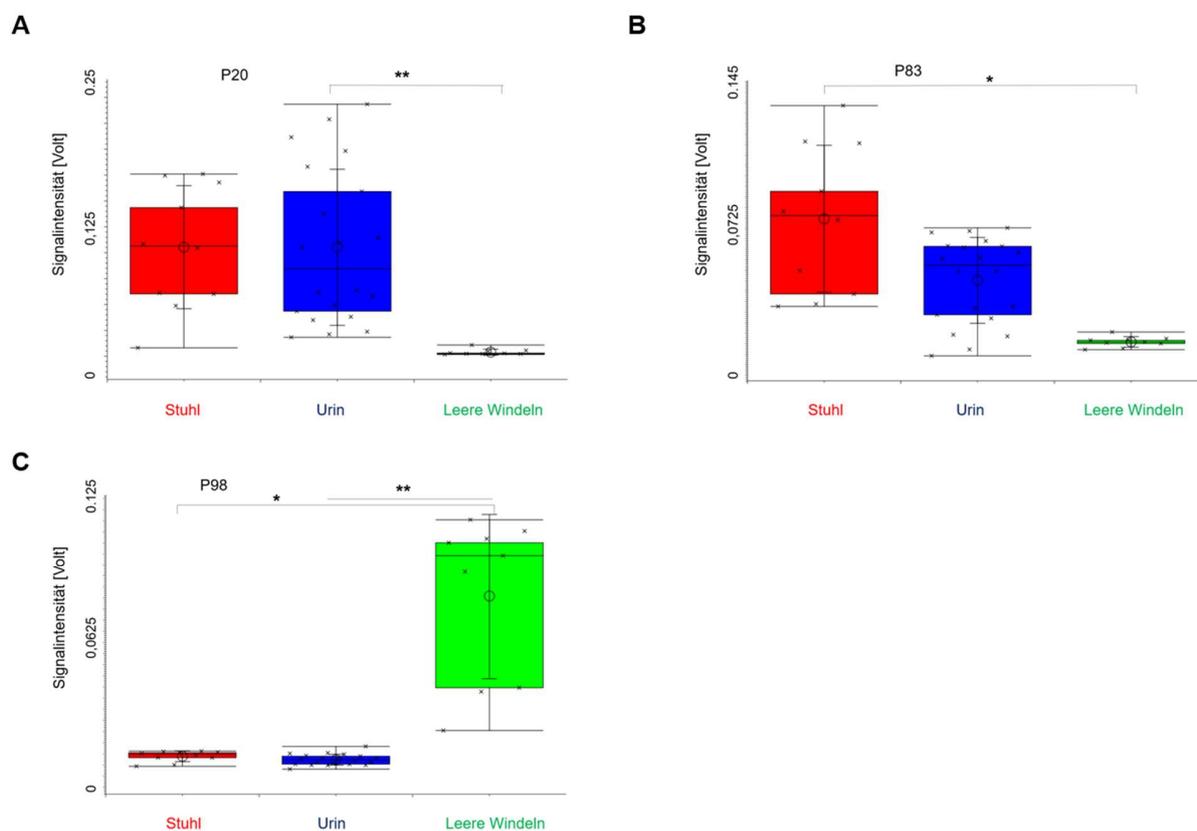


Abbildung 19: Box-and-Whisker-Plot der Peaks P20, P83 und P98

Verglichen wurden jeweils Stuhl, Urin und leere Windeln, beispielhaft sind die Box-and-Whisker-Plots der Peaks P20 (Urin), P83 (Stuhl) und P98 (leere Windeln) dargestellt.

Tabelle 9: Charakterisierung der Peaks P20, P83 und P98

Peak		Sensitivität	Spezifität	Positiver prädikativer Wert	Negativer prädikativer Wert
P20	Urin > Leere Windel	99,9 %	99,9 %	99,9 %	99,9 %
	Urin > Stuhl	10 %	99,9 %	99,9 %	69 %
P83	Stuhl > Leere Windel	99,9 %	99,9 %	99,9 %	99,9 %
	Stuhl > Urin	99,9 %	99,9 %	83,3 %	86,7 %
P98	Leere Windel > Stuhl	99,9 %	99,9 %	99,9 %	99,9 %

	Leere Windel > Urin	99,9 %	99,9 %	99,9 %	99,9 %
--	------------------------	--------	--------	--------	--------

Anhand des Entscheidungsbaums (Abbildung 20) ist ebenfalls eine Unterscheidung zwischen leeren Windeln, Stuhl und Urin möglich. Peak P103 differenziert zwischen leeren Windeln (Signalintensität $\leq 0,008$ V) und Windeln mit Stuhl und Urin (Signalintensität $> 0,008$ V). Bei einer Signalintensität $> 0,102$ V kann anhand des Peaks P160 von Stuhl ausgegangen werden, während der Peak P1 eine weitere Differenzierung bei einer Signalintensität $\leq 0,102$ V erlaubt, eine Signalintensität $\leq 0,005$ V ist hierbei Urin, eine Signalintensität $> 0,005$ V Stuhl zuzuordnen.

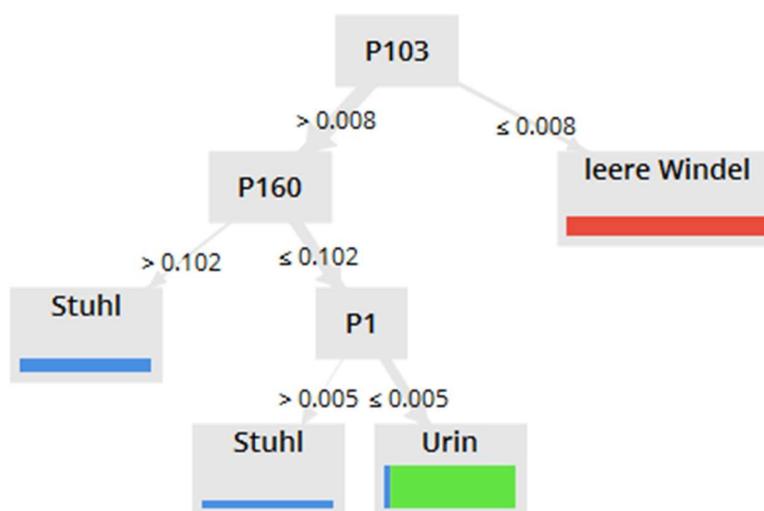


Abbildung 20: Entscheidungsbaum Leere Windel – Stuhl – Urin

Mithilfe des Entscheidungsbaums kann eine Unterscheidung zwischen leeren Windeln, Stuhl und Urin erfolgen. Peak P103 differenziert zwischen leeren Windeln (Signalintensität $\leq 0,008$ V) und Windeln mit Stuhl und Urin (Signalintensität $> 0,008$ V). Bei einer Signalintensität $> 0,102$ V kann anhand des Peaks P160 von Stuhl ausgegangen werden, während der Peak P1 eine weitere Differenzierung bei einer Signalintensität $\leq 0,102$ V erlaubt, eine Signalintensität $\leq 0,005$ V ist hierbei Urin, eine Signalintensität $> 0,005$ V Stuhl zuzuordnen.

5.2. Medikamentenanalyse mittels multikapillarsäulengekoppelter Ionenmobilitätsspektrometrie

5.2.1. Analyse der Medikamente

In den nächsten Analysen wurden die puren Medikamente zuerst mit der Leermessung der kleinen Laborflasche verglichen, in einem weiteren Schritt wurde das pure Medikament mit den Windelproben derer Kinder verglichen, welchen das betreffende Medikament verabreicht wurde. Hierbei wurden jeweils $n = 3$ Messungen durchgeführt. Dabei zeigen sich signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede in allen Vergleichen. Bei den analysierten Medikamenten handelt es sich um Heparin, Unacid, Vigantoletten, Infloran, Kalium, Infectosoor, Salvilipid und Theophyllin. In einem weiteren Ansatz wurden die Proben von Kindern, die das entsprechende Medikament bekommen haben, mit den Proben von Kindern, die das Medikament nicht erhalten haben, verglichen. Hierbei wurden pro Klasse $n = 3$ Proben gewählt (außer bei Vigantoletten mit $n = 2$).

5.2.1.1. Heparin

Bei der Gegenüberstellung zwischen der Leermessung und Heparin wurden 108 Peaks gefunden, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) voneinander unterscheiden. Der Peak P1 ist durch eine Sensitivität, Spezifität, einen positiven und negativen prädiktiven Wert von jeweils 99,9 % gekennzeichnet. Anhand des Peaks P1 lässt sich das Medikament Heparin von der Leermessung unterscheiden. Es wurden auch Peaks, die sich nicht signifikant ($p > 0,05$) voneinander unterscheiden, identifiziert: 14 Peaks sind in beiden Klassen nachweisbar.

Auch bei dem Vergleich des Heparins mit den Windelproben von Frühgeborenen, die Heparin erhalten haben, zeigen sich 97 Peaks, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) voneinander unterscheiden. Für den Peak P1 zeigen sich eine Sensitivität, eine Spezifität, sowie ein positiver und negativer prädiktiver Wert von jeweils 99,9 %. Aufgrund dieser Werte wurde repräsentativ in Abbildung 21 der Box-and-Whisker-Plot des Peaks P1 dargestellt.

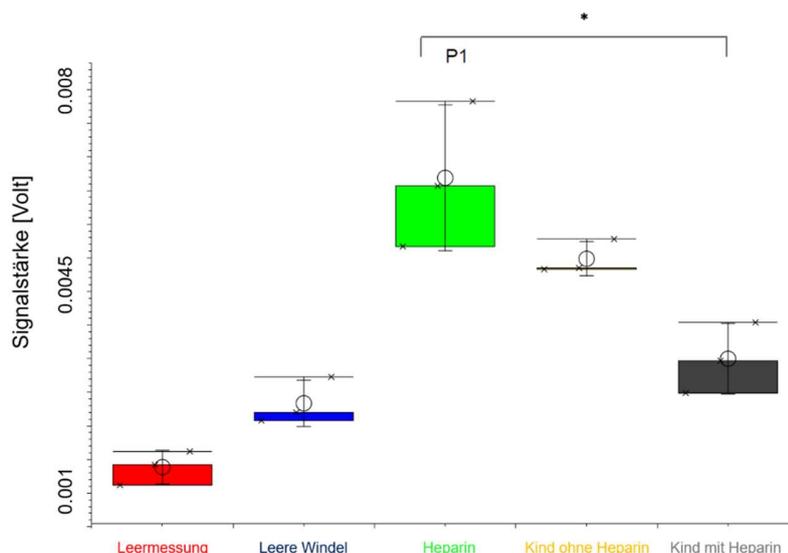


Abbildung 21: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich des Heparins mit den Proben der Kinder mit Heparintherapie. Exemplarisch dargestellt ist der Peak P1, der die Signifikanz ($p < 0,05$) im Vergleich des Heparins mit den Proben der Kinder, die Heparin erhalten haben, veranschaulicht.

Es zeigen sich 27 gleiche Peaks zwischen Heparin und Heparin in der Windelprobe, die sich nicht signifikant ($p > 0,05$) in ihrer Signalstärke unterscheiden. Diese Peaks sind folglich in beiden Proben nachweisbar. Um herauszufinden, ob sich Windelproben von Kindern mit oder ohne Heparinbehandlung signifikant voneinander unterscheiden, wurden diese in einem weiteren Ansatz miteinander verglichen. Dazu wurden zwei Klassen mit jeweils $n = 8$ definiert, wobei die erste Klasse Proben von Kindern mit Heparinbehandlung enthält, die zweite Klasse Proben von Kindern ohne Heparinbehandlung. Insgesamt wurden mittels IMS-Analyse 87 Peaks detektiert. Davon zeigen elf Peaks signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) in ihrer Signalintensität sowie ein Peak (P67) einen sehr signifikanten Unterschied ($p < 0,01$). Die Sensitivität, die Spezifität, der positive prädiktive Wert und der negative prädiktive Wert des Peaks P67 liegen bei jeweils 87,5 %. Da der Peak P67 als sehr signifikant ($p < 0,01$) klassifiziert ist und somit am besten zur Unterscheidung beider Gruppen geeignet ist, werden die Ergebnisse durch den zugehörigen Box-and-Whisker-Plot in Abbildung 29 verdeutlicht.

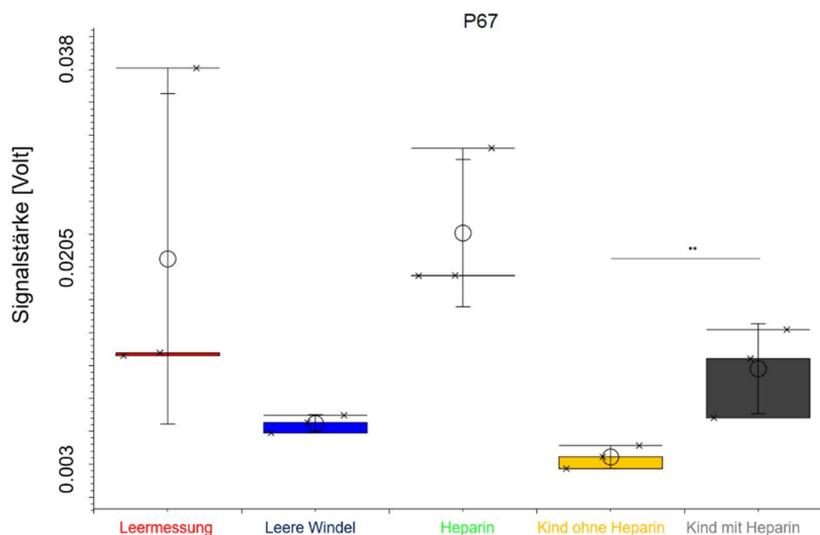


Abbildung 22: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich der Proben der Kinder ohne bzw. mit Heparinbehandlung. Exemplarisch dargestellt ist der Peak P67, der die Signifikanz ($p < 0,01$) im Vergleich der Kinder mit Heparintherapie zu den Kindern ohne Heparintherapie veranschaulicht.

5.2.1.2. Unacid (Ampicillin/ Sulbactam)

Im Vergleich zwischen der Leermessung und des Unacids zeigen sich 105 signifikante Peaks, die sich in ihrer Signalstärke signifikant voneinander unterscheiden. Ein Peak, der eine gute Unterscheidung zwischen Leermessung und Unacid treffen lässt ist der Peak P0. Dieser ist gekennzeichnet durch eine Sensitivität, Spezifität, einen positiven und negativen prädiktiven Wert von jeweils 99,9 %. Auch hier können Peaks, die sich nicht signifikant ($p > 0,05$) voneinander unterscheiden, identifiziert werden. 34 Peaks sind in beiden Klassen nachweisbar.

Die Gegenüberstellung des Unacids mit den Windelproben von Frühgeborenen, die Unacid erhalten haben, erbringt 105 Peaks, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) voneinander unterscheiden. Für den Peak P1 zeigen sich eine Sensitivität, eine Spezifität, sowie ein positiver und negativer prädiktiver Wert von jeweils 99,9 %. Deshalb ist, um diesen Vergleich graphisch zu veranschaulichen, der entsprechende Box-and-Whisker-Plot des Peaks P1 in Abbildung 23 dargestellt.

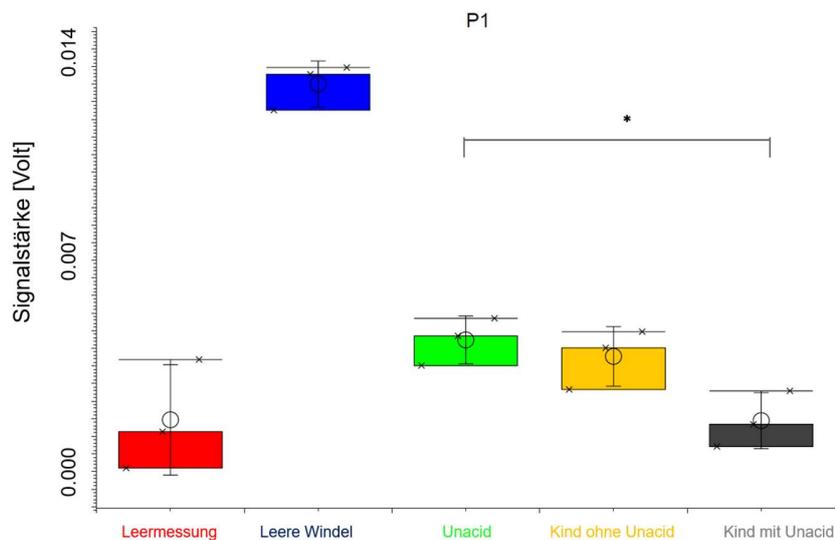


Abbildung 23: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich des Unacids mit den Proben der Kinder mit Unacidtherapie. Exemplarisch dargestellt ist der Peak P1, der die Signifikanz ($p < 0,05$) im Vergleich des Unacids zu den Proben der Kinder mit Unacidtherapie veranschaulicht.

Auch hier können gleiche Peaks, die sich nicht signifikant ($p > 0,05$) voneinander unterscheiden, identifiziert werden: 34 Peaks sind in beiden Klassen nachweisbar, darunter der Peak P100. Dieser zeigt eine Sensitivität, Spezifität, einen positiven und negativen prädiktiven Wert von 99,9 %, 66,7 %, 75,0 % und 99,9 %. In weiteren Analysen wurde als erste Klasse Proben von Kindern unter antibiotischer Therapie mit Unacid gewählt, die andere Klasse enthielt Proben von Kindern ohne antibiotische Behandlung mit Unacid. Es können insgesamt 87 Peaks nachgewiesen werden. Der Vergleich zeigt, dass sich die Signalintensität des Peaks P71 signifikant ($p < 0,05$) unterscheiden lässt. Die Sensitivität, Spezifität, der positive prädiktive Wert und der negative prädiktive Wert betragen 57,1 %, 99,9 %, 99,9 % und 70,0 %. Die Ergebnisse werden durch den Box-and-Whisker-Plot des Peaks P71 in Abbildung 24 verdeutlicht.

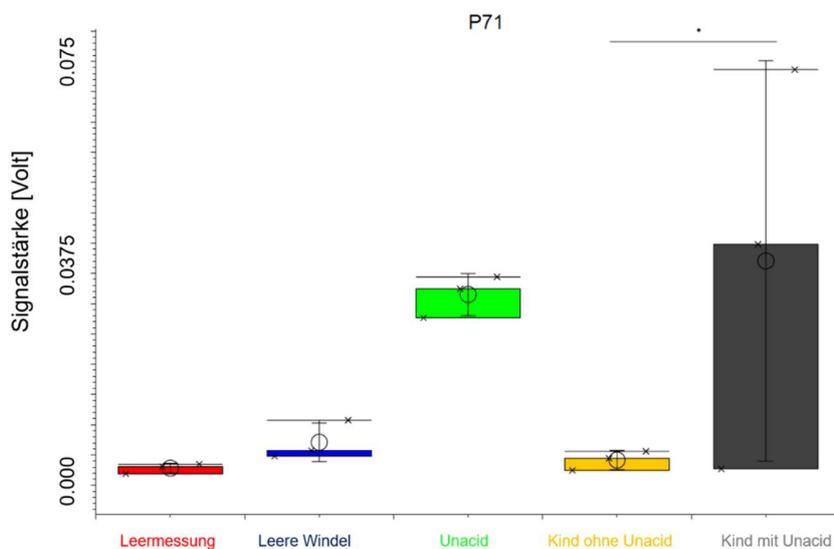


Abbildung 24: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich der Messungen der Proben der Kinder mit bzw. ohne Unacidtherapie. Exemplarisch dargestellt ist der Peak P71, der die Signifikanz ($p < 0,05$) im Vergleich der Proben der Kinder mit Unacidtherapie zu den Kindern ohne Unacidtherapie veranschaulicht.

5.2.1.3. Vigantolette

Es zeigen sich nur im Vergleich zwischen Leermessung und Medikament signifikante Ergebnisse. Hierbei können 82 Peaks identifiziert werden, die sich in ihrer Signalstärke signifikant voneinander unterscheiden, darunter der Peak P1. Dieser ist durch eine Sensitivität, Spezifität, einen positiven und negativen prädiktiven Wert von jeweils 99,9 % gekennzeichnet ist. Anhand dieses Peaks P1 lässt sich das Medikament Vigantolette von der Leermessung mithilfe eines Entscheidungsbaumes unterscheiden. Es können ebenfalls Peaks, die sich nicht signifikant ($p > 0,05$) voneinander unterscheiden, identifiziert werden, 59 Peaks sind in beiden Klassen nachweisbar. Bei dem Vergleich der Vigantolette mit den Windelproben von Frühgeborenen, die Vigantoletten erhalten haben, wurde $n = 2$ Messungen pro Klasse gewählt. Es zeigen sich keine Peaks, die sich in ihrer Signalstärke signifikant voneinander unterscheiden. Jedoch können 143 gleiche Peaks in beiden Klassen nachgewiesen werden.

Bei der Betrachtung des Vergleichs von Proben von Kindern mit Vigantolettengabe und ohne Vigantolettengabe wurden zwei Klassen mit jeweils $n = 2$ Proben gewählt. Es zeigen sich insgesamt 87 Peaks. Es wird jedoch auch hier kein Peak gefunden, der sich in seiner Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) von anderen Peaks unterscheidet. In Abbildung 25 ist, exemplarisch für alle Peaks der Vergleiche Vigantolette und Kind mit Vigantolette, sowie Kind ohne bzw. mit Vigantolette, der Peak P61 dargestellt.

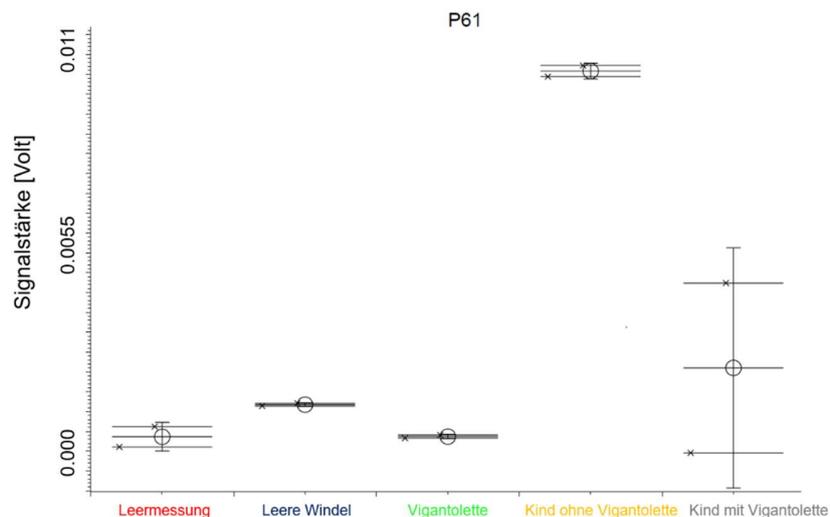


Abbildung 25: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich der Leermessung, der Messungen der leeren Windel, der Vigantoletten und den Proben der Kinder mit bzw. ohne Vigantolette.

Exemplarisch dargestellt ist der Peak P61. Dieser zeigt sich in seiner Signalstärke nicht signifikant ($p > 0,05$) im Vergleich der Vigantolette mit den Kindern mit Vigantolette. Er zeigt sich auch nicht signifikant ($p > 0,05$) im Vergleich der Kinder ohne bzw. mit Vigantolette.

5.2.1.4. Infloran

Im Vergleich zwischen der Leermessung und des Probiotikums Infloran zeigen sich 93 Peaks, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) voneinander unterscheiden, darunter der Peak P1. Dieser ist durch eine Sensitivität, Spezifität, einen positiven und negativen prädiktiven Wert von jeweils 99,9 % gekennzeichnet. Anhand des Peaks P1 kann eine eindeutige Unterscheidung zwischen Infloran und der Leermessung mithilfe eines Entscheidungsbaums getroffen werden. Bei diesem Vergleich wurden auch Peaks, die sich nicht signifikant ($p > 0,05$) voneinander unterscheiden, identifiziert: 51 Peaks sind in beiden Klassen nachweisbar.

Die Gegenüberstellung des Inflorans mit den Windelproben von Frühgeborenen, die Infloran erhalten haben, erbringt 75 Peaks, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) voneinander unterscheiden, darunter der Peak P0. Für ihn zeigen sich eine Sensitivität, eine Spezifität, sowie ein positiver und negativer prädiktiver Wert von jeweils 99,9 %. Anhand des Peaks P0 kann unter Berücksichtigung des Entscheidungsbaums eine Unterscheidung der beiden Klassen durchgeführt werden. Der Box-and-Whisker-Plot des Peaks P0 ist in Abbildung 26 dargestellt.

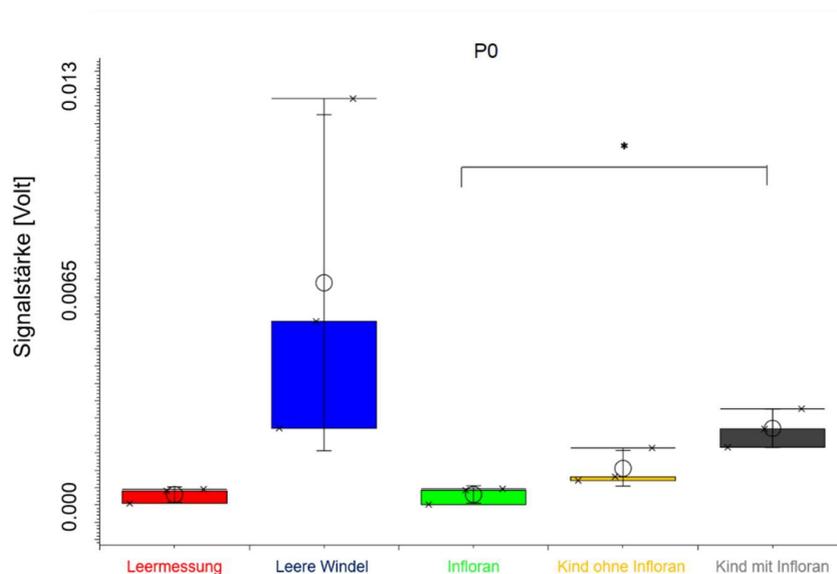


Abbildung 26: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich der Messungen des Inflorans und den Proben der Kinder mit Infloranthherapie.

Exemplarisch dargestellt ist der Peak P0, der die Signifikanz ($p < 0,05$) im Vergleich des Inflorans zu den Proben der Kinder mit Infloranthherapie veranschaulicht.

Auch hier können Peaks, die sich nicht signifikant ($p > 0,05$) voneinander unterscheiden, identifiziert werden: 71 Peaks sind in beiden Klassen nachweisbar. Nun wurden die Proben von Kindern mit und ohne Inflorangabe verglichen. Pro Klasse wurden $n = 13$ Proben gewählt. Hierbei zeigt sich ein Peak (P13) signifikant ($p < 0,05$) nach Bonferroni-Korrektur und 15 Peaks signifikant ($p < 0,05$) bzw. sehr signifikant ($p < 0,01$). Für den Peak P13 ergeben sich eine Sensitivität, Spezifität, ein positiver prädiktiver Wert und ein negativer prädiktiver Wert von jeweils 92,3 %. Die Ergebnisse werden durch den Box-and-Whisker-Plots des Peaks P13 in Abbildung 27 verdeutlicht. Anhand des Entscheidungsbaums wird ebenfalls deutlich, dass sich eine Trennung anhand des Peaks P13 vornehmen lässt.

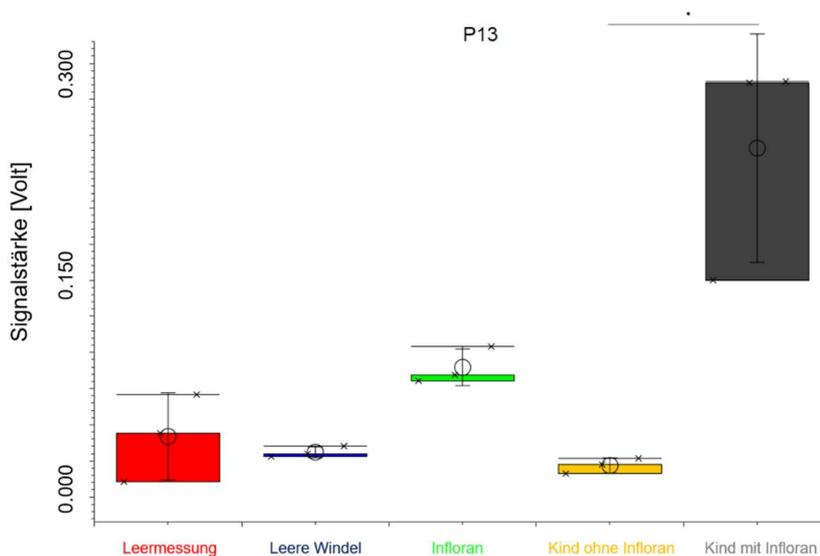


Abbildung 27: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich der Proben der Kinder mit bzw. ohne Infloranthherapie. Exemplarisch dargestellt ist der Peak P13, der die Signifikanz ($p < 0,05$) im Vergleich der Kinder mit Infloranthherapie zu den Kindern ohne Infloranthherapie veranschaulicht.

5.2.1.5. Kaliumchlorid

Es zeigen sich in beiden Vergleichen mit dem Medikament Kaliumchlorid signifikante Ergebnisse. Bei der Gegenüberstellung zwischen der Leermessung und dem Kaliumchlorid können 117 Peaks gefunden werden, die sich in ihrer Signalstärke signifikant voneinander unterscheiden. Die beste Unterscheidung zwischen der Leermessung und dem Kaliumchlorid lässt sich anhand des Peaks P0 treffen. Dieser zeigt eine Sensitivität, Spezifität, ein positiver und negativer prädiktiven Wert von jeweils 99,9 %. Anhand des Peaks P0 lässt sich das Medikament Kaliumchlorid von der Leermessung mithilfe eines Entscheidungsbaumes unterscheiden. Es können auch Peaks, die sich nicht signifikant ($p > 0,05$) voneinander unterscheiden, identifiziert werden: 31 Peaks sind in beiden Klassen nachweisbar.

Auch bei dem Vergleich des Kaliumchlorids mit den Windelproben von Frühgeborenen, die Kaliumchlorid erhalten haben, zeigen sich 130 Peaks, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) voneinander unterscheiden. Darunter befindet sich der Peak P1, für ihn zeigen sich eine Sensitivität, eine Spezifität, sowie ein positiver und negativer prädiktiver Wert von jeweils 99,9 %. Mit diesem Peak lässt sich die beste Unterscheidung zwischen beiden Klassen treffen. Deshalb ist auch der Box-and-Whisker-Plot dieses Peaks in Abbildung 28 dargestellt. Mithilfe eines Entscheidungsbaums kann eine Unterscheidung der beiden Klassen anhand des Peaks P1 erfolgen.

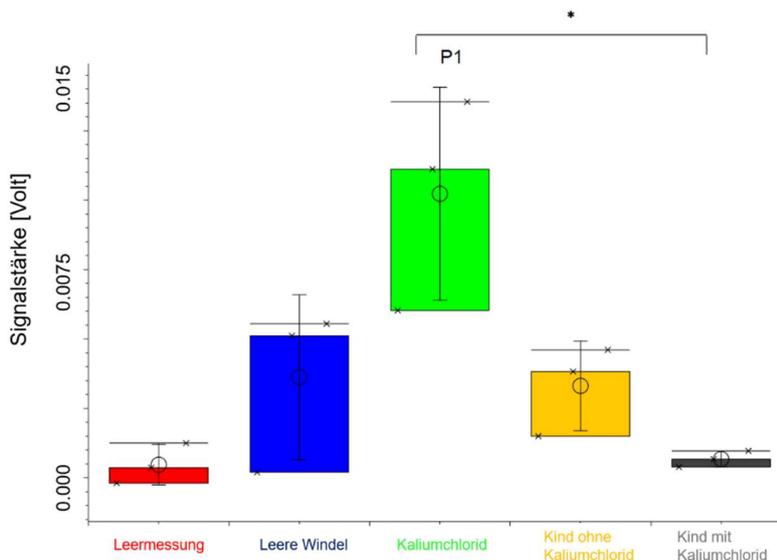


Abbildung 28: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich des Kaliumchlorids und den Proben der Kinder mit Kaliumchloridtherapie.

Exemplarisch dargestellt ist der Peak P1, der die Signifikanz ($p < 0,05$) im Vergleich des Kaliumchlorids zu den Proben der Kinder mit Kaliumchloridtherapie veranschaulicht.

Es zeigen sich 31 Peaks, die sich nicht signifikant ($p > 0,05$) in ihrer Signalstärke unterscheiden. Der Vergleich zwischen Proben von Kindern mit und ohne Kaliumchloridgabe wurde anschließend betrachtet. Pro Klasse wurden $n = 5$ Proben analysiert. Es zeigen sich sechs Peaks, die sich in ihrer Signalstärke sehr signifikant ($p < 0,01$ bzw. signifikant ($p < 0,05$)) voneinander unterscheiden. Die Charakterisierung des Peaks P8 anhand seiner Sensitivität und Spezifität, sowie seines positiven und negativen prädiktiven Wertes ergibt jeweils 99,9 %. Die Ergebnisse werden durch den Box-and-Whisker-Plot des Peaks P8 in Abbildung 29 verdeutlicht. Anhand des Entscheidungsbaums erfolgt eine Trennung zwischen den Proben mit und ohne Kaliumchloridgabe ebenfalls mithilfe des Peaks P8.

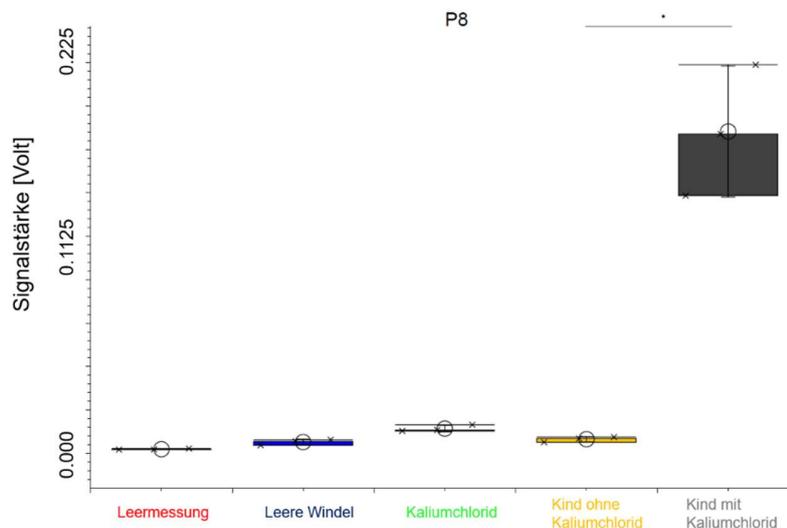


Abbildung 29: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich der Proben der Kinder mit bzw. ohne Kaliumchloridtherapie. Exemplarisch dargestellt ist der Peak P8, der die Signifikanz ($p < 0,05$) im Vergleich der Kinder mit Kaliumchloridtherapie zu den Kindern ohne Kaliumchloridtherapie veranschaulicht.

5.2.1.6. Infectosoor

Bei den Analysen mit dem Antimykotikum Infectosoor konnten signifikante Ergebnisse erzielt werden. Im Vergleich zwischen der Leermessung und des Infectosoors zeigen sich 149 Peaks, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) voneinander unterscheiden, darunter der Peak P0. Er ist gekennzeichnet durch eine Sensitivität, Spezifität, einen positiven und negativen prädiktiven Wert von jeweils 99,9 %. Anhand des Peaks P1 kann mithilfe eines Entscheidungsbaumes eine eindeutige Unterscheidung zwischen dem Medikament Infectosoor und der Leermessung getroffen werden. Auch hier können 23 Peaks, die sich nicht signifikant ($p > 0,05$) voneinander unterscheiden, in beiden Klassen identifiziert werden.

Die Gegenüberstellung des Infectosoors mit den Windelproben von Frühgeborenen, die Infectosoor erhielten, erbringt 138 Peaks, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) voneinander unterscheiden. Für den Peak P1 zeigen sich eine Sensitivität, eine Spezifität, sowie ein positiver und negativer prädiktiver Wert von jeweils 99,9 %. Anhand des Peaks P1 kann unter Berücksichtigung des Entscheidungsbaums eine Unterscheidung der beiden Klassen durchgeführt werden. Der entsprechende Box-and-Whisker-Plot des Peaks P1 ist in Abbildung 30 dargestellt.

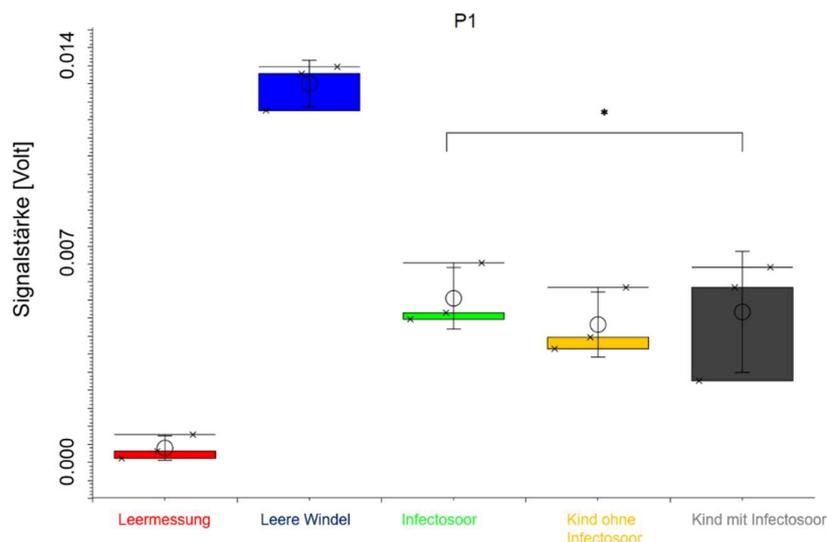


Abbildung 30: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich des Infectosors und den Proben der Kinder mit Infectosorthherapie. Exemplarisch dargestellt ist der Peak P1, der die Signifikanz ($p < 0,05$) im Vergleich des Infectosors zu den Kindern mit Infectosorthherapie veranschaulicht.

Auch hier können gleiche Peaks, die sich nicht signifikant ($p > 0,05$) voneinander unterscheiden, identifiziert werden: 37 Peaks sind in beiden Klassen nachweisbar. Betrachtet wurde anschließend der Vergleich zwischen Proben von Kindern mit und ohne Infectosorthherapie. Es wurden pro Klasse $n = 9$ Proben gewählt. Es zeigen sich zwei Peaks (P19 und P24), die sich in ihrer Signalintensität signifikant ($p < 0,05$) unterscheiden. Der Box-and-Whisker-Plots des Peaks P24 sind in Abbildung 31 dargestellt. Für den Peak P19 ergibt sich eine Sensitivität, Spezifität, ein positiver prädiktiver Wert und ein negativer prädiktiver Wert von jeweils 66,7 %, 99,9 %, 99,9 %, 75,0 %, für den Peak P24 jeweils 88,9 %, 66,7 %, 72,7 % und 85,7 %. Anhand des Entscheidungsbaums ist eine Unterscheidung zwischen mit und ohne Infectosor anhand des Peaks P19 und des Peaks P2 möglich.

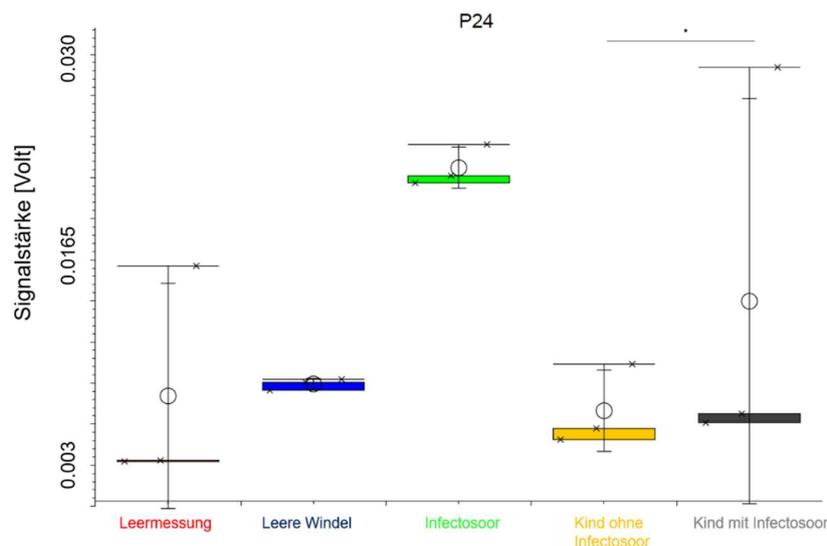


Abbildung 31: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich der Proben der Kinder mit bzw. ohne Infectosoortherapie. Exemplarisch dargestellt ist der Peak P24, der die Signifikanz ($p < 0,05$) im Vergleich der Kinder mit Infectosoortherapie zu den Kindern ohne Infectosoortherapie veranschaulicht.

5.2.1.7. Salvilipid

Bei der Gegenüberstellung zwischen den Leermessungen und den Messungen des Salvilipids können 167 Peaks gefunden werden, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) voneinander unterscheiden. Darunter ist der Peak P1, der durch eine Sensitivität, Spezifität, einen positiven und negativen prädiktiven Wert von jeweils 99,9 % gekennzeichnet ist. Mithilfe des zugehörigen Entscheidungsbaumes lässt sich das Medikament Salvilipid von der Leermessung anhand des Peaks P1 unterscheiden. Es können auch Peaks, die sich nicht signifikant ($p > 0,05$) voneinander unterscheiden, identifiziert werden: 17 Peaks sind in beiden Klassen nachweisbar.

Auch bei dem Vergleich des Salvilipids mit den Windelproben von Frühgeborenen, die Salvilipid erhalten haben, zeigen sich 123 Peaks, die sich in ihrer Signalstärke ($p < 0,05$) voneinander unterscheiden. Darunter befindet sich der Peak P1, für ihn zeigen sich eine Sensitivität, eine Spezifität, sowie ein positiver und negativer prädiktiver Wert von jeweils 99,9 %. Der zugehörige Box-and-Whisker-Plot dieses Peaks ist in Abbildung 32 dargestellt. Mithilfe des Entscheidungsbaums kann eine Unterscheidung der beiden Klassen anhand des dargestellten Peaks P1 erfolgen.

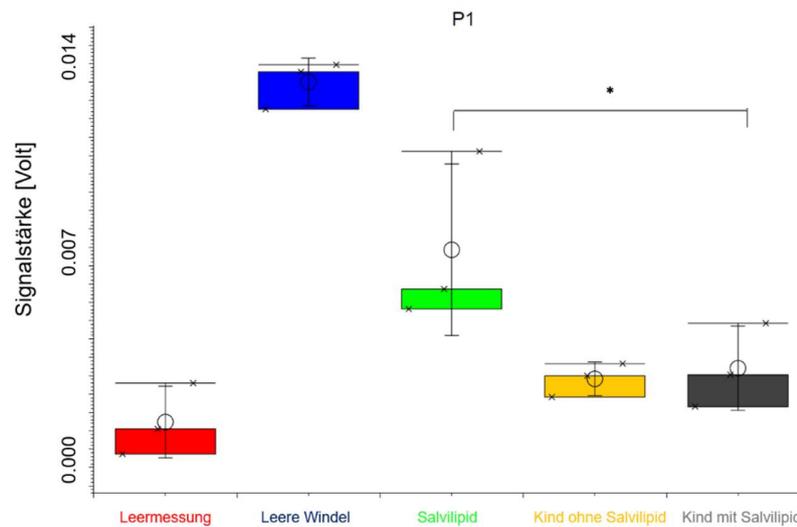


Abbildung 32: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich des Salvilipids und den Proben der Kinder mit Salvilipidtherapie. Exemplarisch dargestellt ist der Peak P1, der die Signifikanz ($p < 0,05$) im Vergleich des Salvilipids zu den Kindern mit Salvilipidtherapie veranschaulicht.

Insgesamt zeigen sich 61 gleiche Peaks zwischen Salvilipid und Salvilipid in der Windelprobe, die sich nicht signifikant ($p > 0,05$) in ihrer Signalstärke unterscheiden. Vergleicht man die Proben von Kindern mit und ohne Salvilipidgabe, so zeigen sich vier signifikante ($p < 0,05$) Peaks, darunter der Peak P52. Dieser wurde anhand seiner Sensitivität, Spezifität, seines positiven und negativen prädiktiven Wertes von 80,0 %, 99,9 %, 99,9 % und 83,3 % charakterisiert. Die Ergebnisse werden durch den Box-and-Whisker-Plot des Peaks P52 in Abbildung 33 verdeutlicht. Pro Klasse wurden $n = 5$ Proben gewählt.

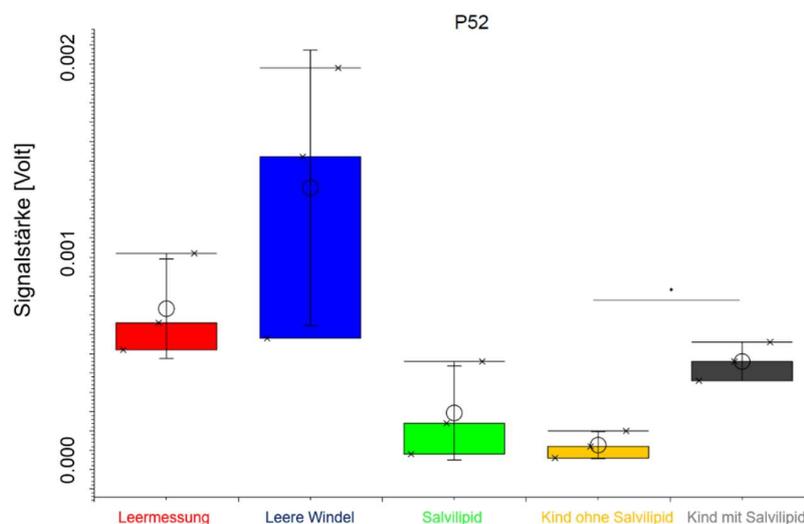


Abbildung 33: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich der Proben der Kinder mit bzw. ohne Salvilipidtherapie. Exemplarisch dargestellt ist der Peak P52, der die Signifikanz ($p < 0,05$) im Vergleich der Kinder mit Salvilipidtherapie zu den Kindern ohne Salvilipidtherapie veranschaulicht.

5.2.1.8. Theophyllin

Im Vergleich zwischen der Leermessung und des Theophyllins zeigen sich 129 Peaks, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) voneinander unterscheiden, darunter der Peak P1. Er wird gekennzeichnet durch eine Sensitivität, Spezifität, einen positiven und negativen prädiktiven Wert von jeweils 99,9 %. Anhand des Peaks P1 kann mithilfe eines Entscheidungsbaumes eine eindeutige Unterscheidung zwischen dem Medikament und der Leermessung getroffen werden. Auch hier können Peaks, die sich nicht signifikant ($p > 0,05$) voneinander unterscheiden, identifiziert werden: 55 Peaks sind in beiden Klassen nachweisbar.

Die Gegenüberstellung des Theophyllins mit den Windelproben von Frühgeborenen, die Theophyllin erhalten haben, erbringt 144 Peaks, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) voneinander unterscheiden, darunter der Peak P0. Für ihn zeigen sich eine Sensitivität, eine Spezifität, sowie ein positiver und negativer prädiktiver Wert von jeweils 99,9 %. Der Box-and-Whisker-Plot des Peaks P0 ist in Abbildung 34 dargestellt. Anhand des Peaks P0 kann unter Berücksichtigung des Entscheidungsbaums eine Unterscheidung der beiden Klassen durchgeführt werden.

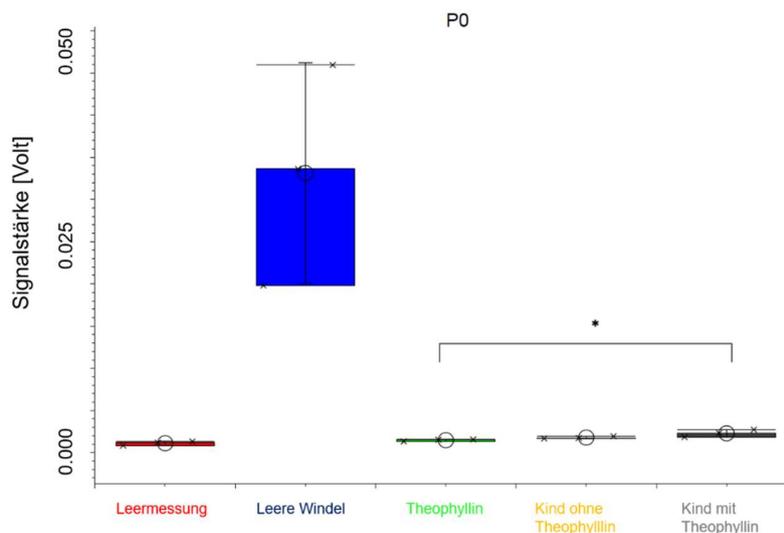


Abbildung 34: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich des Theophyllins und den Proben der Kinder mit Theophyllintherapie. Exemplarisch dargestellt ist der Peak P0, der die Signifikanz ($p < 0,05$) im Vergleich Theophyllins zu den Kindern mit Theophyllintherapie veranschaulicht.

Es können gleiche Peaks, die sich nicht signifikant ($p > 0,05$) voneinander unterscheiden, identifiziert werden: 40 Peaks sind in beiden Klassen nachweisbar. Betrachtet wurde anschließend der Vergleich zwischen Proben von Kindern mit und ohne Theophyllintherapie. Es wurden pro Klassen $n = 14$ Proben gewählt. Es zeigen sich zehn Peaks, die sich in ihrer Signalintensität signifikant ($p < 0,05$) bzw. sehr signifikant ($p < 0,01$) unterscheiden, darunter der Peak P55. Er besitzt eine Sensitivität, Spezifität, sowie einen positiven und negativen prädiktiven Wert von je 99,9 %, 78,6 %, 82,4 % und 99,9 %. Die Ergebnisse werden durch den Box-and-Whisker-Plot des Peaks P55 in Abbildung 35 verdeutlicht. Anhand des Entscheidungsbaums ist eine Unterscheidung anhand des Peaks P55 und des Peaks P14 möglich.

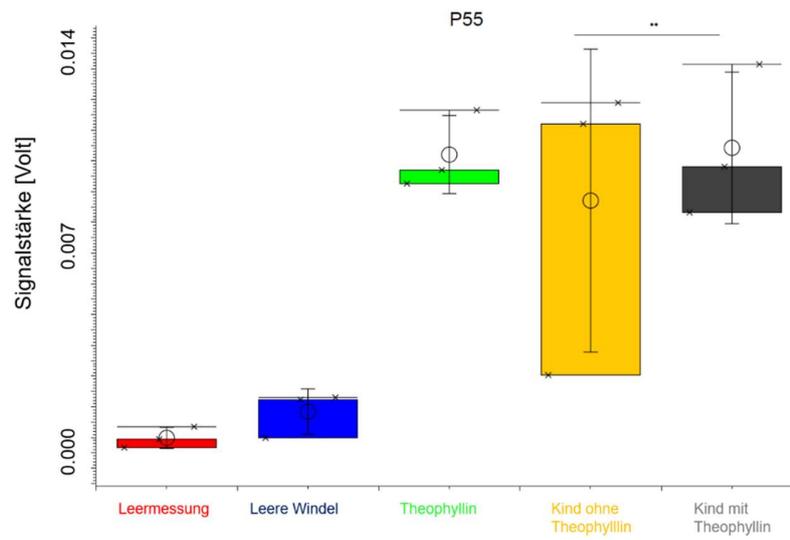


Abbildung 35: Box-and-Whisker-Plot zum Vergleich der Proben der Kinder mit bzw. ohne Theophyllintherapie. Exemplarisch dargestellt ist der Peak P55, der die Signifikanz ($p < 0,05$) im Vergleich der Kinder mit Theophyllintherapie zu den Kindern ohne Theophyllintherapie veranschaulicht.

5.3. Identifizierung von Individuen anhand eines VOCs-Fingerprints mittels MCC-IMS

Vergleicht man Proben von Vierlingen (mit $n = 10$ Proben pro Vierling) miteinander, so zeigen sich nach Bonferroni-Korrektur signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) in der Signalstärke. Ebenso finden sich Peaks bei vier Zwillingspaaren jeweils Peaks, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) und sehr signifikant ($p < 0,01$) voneinander unterscheiden. Des Weiteren werden die Ergebnisse des Vergleichs aller Individuen der Studie miteinander dargestellt, sowie der Vergleich männlicher und weiblicher Individuen.

5.3.1. Zwillingsspaar 1

Hierbei wurden zwei Klassen mit jeweils $n = 10$ Proben gebildet. Die erste Klasse besteht aus Windelproben des Probanden 028, die zweite Klasse aus Windelproben des Probanden 030. Es können sieben Peaks detektiert werden, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) nach Bonferroni-Korrektur voneinander unterscheiden. Die beste Trennung der beiden Klassen kann durch den Peak P68 vorgenommen werden. Dieser ist durch eine Sensitivität, Spezifität, einen positiven und negativen prädiktiven Wert von jeweils 99,9 % charakterisiert. Der entsprechende Box-and-Whisker-Plot in Abbildung 36 dargestellt.

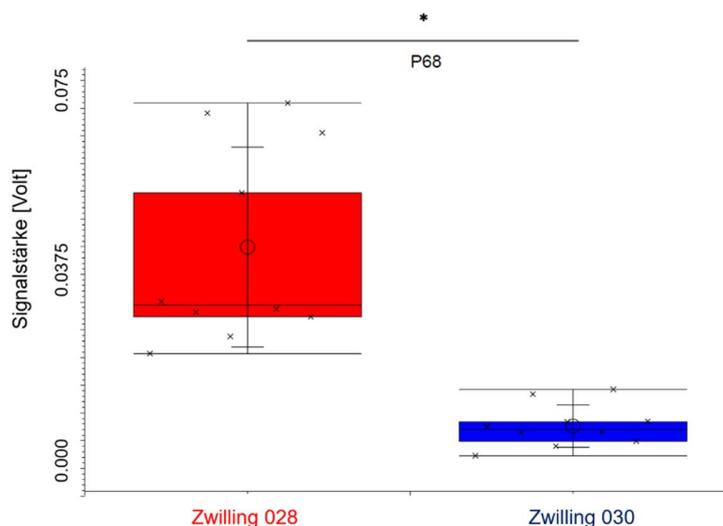


Abbildung 36: Vergleich der Proben des Zwilling 028 mit den Proben des Zwilling 030

Die Abbildung zeigt den Peak P68 nach IMS-Analyse. Dieser Peak unterscheidet signifikant ($p < 0,05$) nach Bonferroni-Korrektur zwischen den Proben der ersten Klasse („Zwilling 028“) und der zweiten Klasse („Zwilling 030“). Es wurden zwei Klassen mit jeweils $n = 10$ Proben gewählt. Die Sensitivität, Spezifität, sowie der positive und negative prädiktive Wert des Peaks P68 betragen jeweils 99,9 %.

Anhand des Entscheidungsbaumes in Abbildung 37 kann durch den Peak P68 eine eindeutige Unterscheidung zwischen Zwilling 028 und Zwilling 030 getroffen werden.



Abbildung 37: Entscheidungsbaum Zwillingpaar 1

Anhand des Entscheidungsbaumes kann durch den Peak P68 eine eindeutige Unterscheidung zwischen Zwilling 028 (bei einer Signalintensität $> 0,022$ V) und Zwilling 030 (bei einer Signalintensität $\leq 0,022$ V) getroffen werden.

Anhand der Vierfeldertafel, die in Tabelle 10 dargestellt ist, kann bezüglich des Vergleichs des ersten Zwillingspaars (Zwilling 028 und Zwilling 030) eine Vorhersage durch IMS-Analysen vorgenommen werden. Hierbei können alle zehn Proben des Zwillings 028 tatsächlich als Proben dieser Klasse erkannt werden, d.h. als richtig positiv klassifiziert werden. Es wurde keine Probe fälschlicherweise als Probe des Zwillings 030 identifiziert, das erklärt den Wert null für die falsch positiven Proben. Im Gegenzug können alle zehn Proben des Zwillings 030 auch dieser Klasse zugeordnet werden, was dem Wert für richtig negativ bestimmte Proben entspricht. Es wurden keine Proben des Zwillings 030 fälschlicherweise als Proben des Zwillings 028 klassifiziert, deshalb ist bei den falsch negativen Proben der Wert null vermerkt. Es wurden aber auch Peaks, die sich in ihrer Signalintensität nicht signifikant ($p > 0,05$) unterscheiden, gefunden: 68 Peaks sind sowohl bei Zwilling 028 als auch bei Zwilling 030 nachweisbar.

Tabelle 10: Vierfeldertafel des Vergleichs des Zwillingspaars 1

Die Tabelle zeigt die Vierfeldertafel zum Vergleich des Zwillings 028 mit dem Zwilling 030. Hierbei können alle zehn Proben des Zwillings 028 tatsächlich als Proben dieser Klasse erkannt werden. Zudem können alle zehn Proben des Zwillings 030 auch dieser Klasse zugeordnet werden.

	Zwilling 028	Zwilling 030		
Eigenschaft vorhergesagt	10	0	10	PPV = 100 %
Eigenschaft nicht vorhergesagt	0	10	10	NPV = 100 %
	10	10	20	
	Sensitivität = 100 %	Spezifität = 100 %		

5.3.2. Zwillingpaar 2

Hierbei zeigen sich ebenfalls signifikante ($p < 0,05$) Ergebnisse. Die erste Klasse bilden die Windelproben des Probanden 029, die zweite Klasse Windelproben des Probanden 031, wobei pro Klasse $n = 10$ Proben gewählt wurden. Es wurden zwei Peaks gefunden, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) nach

Bonferroni-Korrektur voneinander unterscheiden. Die beste Trennung ist durch die Peaks P15 und P67 möglich. Der Peak P15 zeigt eine Sensitivität, Spezifität, einen positiven und negativen prädiktiven Wert von jeweils 99,9 %, der Peak P67 jeweils 90,0 %, 99,9 %, 99,9 % und 90,9%. In Abbildung 38 zu sehen ist der Box-and-Whisker-Plot des Peaks P15, da dieser die höchsten Werte für Sensitivität; Spezifität, PPV und NPV aufweist.

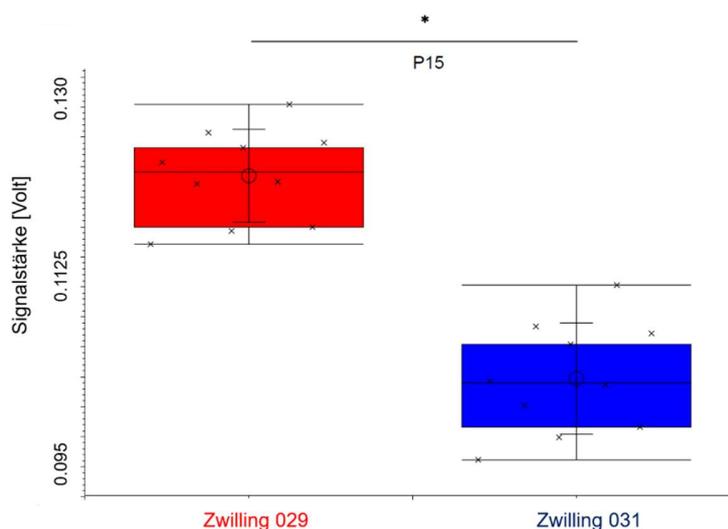


Abbildung 38: Vergleich der Proben des Zwillings 029 mit den Proben des Zwillings 031

Die Abbildung zeigt den Peak P15 nach IMS-Analyse. Dieser Peak unterscheidet signifikant ($p < 0,05$) nach Bonferroni-Korrektur zwischen den Proben der ersten Klasse („Zwilling 029“) und der zweiten Klasse („Zwilling 031“). Es wurden zwei Klassen mit jeweils $n = 10$ Proben gewählt. Die Sensitivität, Spezifität, sowie der positive und negative prädiktive Wert des Peaks P15 betragen jeweils 99,9 %.

Anhand des Entscheidungsbaumes in Abbildung 39 kann durch den Peak P15 eine eindeutige Unterscheidung zwischen Zwilling 029 und Zwilling 031 getroffen werden.

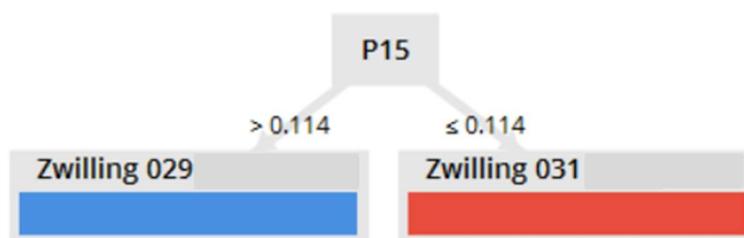


Abbildung 39: Entscheidungsbaum Zwillingspaar 2

Anhand des Entscheidungsbaumes kann durch den Peak P15 eine eindeutige Unterscheidung zwischen Zwilling 029 (bei einer Signalintensität $> 0,114$ V) und Zwilling 031 (bei einer Signalintensität $\leq 0,114$ V) getroffen werden.

Anhand der Vierfeldertafel in Tabelle 13 kann bezüglich des Vergleichs des Zwillingspaares 2 (Zwilling 029 und Zwilling 031) eine Vorhersage durch IMS-Analysen vorgenommen werden. Es können alle zehn Proben des Zwillings 029 tatsächlich als Proben dieser Klasse erkannt werden, d.h. als richtig positiv

klassifiziert werden. Hierbei wurde keine Probe fälschlicherweise als Probe des Zwilling 031 identifiziert, das erklärt den Wert null für die falsch positiven Proben. Im Gegenzug können alle zehn Proben des Zwilling 031 auch dieser Klasse zugeordnet werden, was dem Wert für richtig negativ bestimmte Proben entspricht. Es wurden keine Proben des Zwilling 031 fälschlicherweise als Proben des Zwilling 029 klassifiziert, deshalb ist bei den falsch negativen Proben der Wert null vermerkt. Es wurden aber auch Peaks, die sich in ihrer Signalintensität nicht signifikant ($p > 0,05$) unterscheiden, gefunden: 86 Peaks sind sowohl bei Zwilling 029 als auch bei Zwilling 031 nachweisbar.

Tabelle 11: Vierfeldertafel des Vergleichs des Zwillingspaars 2

Die Tabelle zeigt die Vierfeldertafel zum Vergleich des Zwilling 029 mit dem Zwilling 031. Hierbei können alle zehn Proben des Zwilling 029 tatsächlich als Proben dieser Klasse erkannt werden. Zudem können alle zehn Proben des Zwilling 031 auch dieser Klasse zugeordnet werden.

	Zwilling 029	Zwilling 031		
Eigenschaft vorhergesagt	10	0	10	PPV = 100 %
Eigenschaft nicht vorhergesagt	0	10	10	NPV = 100 %
	10	10	20	
	Sensitivität = 100 %	Spezifität = 100 %		

5.3.3. Zwillingpaar 3

Hierbei wurden ebenfalls zwei Klassen mit jeweils $n = 10$ Proben gebildet. Die erste Klasse besteht aus Windelproben des Probanden 021, die zweite Klasse aus Windelproben des Probanden 022. Es können 13 Peaks detektiert werden, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) nach Bonferroni-Korrektur voneinander unterscheiden. Der Peak P2 besitzt eine Sensitivität, Spezifität, einen positiven und negativen prädiktiven Wert von jeweils 99,9 %. Durch ihn kann die beste Trennung der beiden Klassen vorgenommen werden. Aus diesem Grund ist der Box-and-Whisker-Plot dieses Peaks in Abbildung 40 dargestellt.

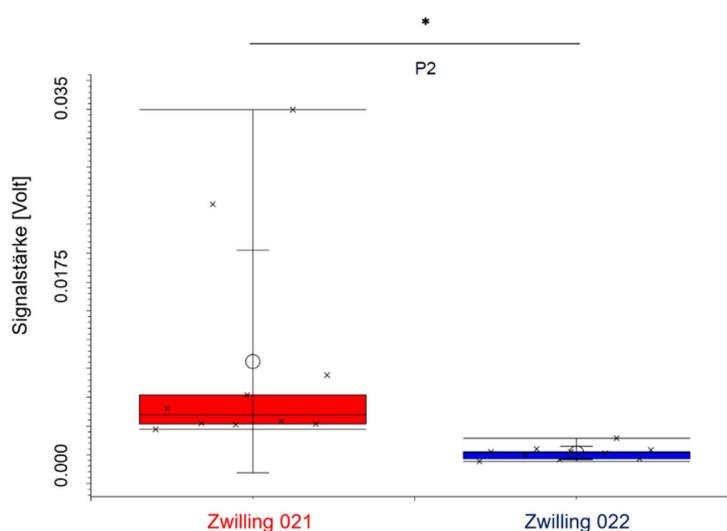


Abbildung 40: Vergleich der Proben des Zwillings 021 mit den Proben des Zwillings 022

Die Abbildung zeigt den Peak P2 nach IMS-Analyse. Dieser Peak unterscheidet signifikant ($p < 0,05$) nach Bonferroni-Korrektur zwischen den Proben der ersten Klasse („Zwilling 021“) und der zweiten Klasse („Zwilling 022“). Es wurden zwei Klassen mit jeweils $n = 10$ Proben gewählt. Die Sensitivität, Spezifität, sowie der positive und negative prädiktive Wert des Peaks P2 betragen jeweils 99,9 %.

Anhand des Entscheidungsbaumes in Abbildung 41 kann durch einen Peak (P2) eine Unterscheidung zwischen Zwilling 021 und Zwilling 022 getroffen werden.



Abbildung 41: Entscheidungsbaum Zwillingspaar 3

Anhand des Entscheidungsbaumes kann durch den Peak P2 eine eindeutige Unterscheidung zwischen Zwilling 021 (bei einer Signalintensität $> 0,004$ V) und Zwilling 022 (bei einer Signalintensität $\leq 0,004$ V) getroffen werden.

Anhand der Vierfeldertafel in Tabelle 12 kann bezüglich des Vergleichs des Zwillingspaares 3 (Zwilling 021 und Zwilling 022) eine Vorhersage durch IMS-Analysen vorgenommen werden: Hierbei können alle zehn Proben des Zwillings 021 tatsächlich als Proben dieser Klasse erkannt werden, d.h. als richtig positiv klassifiziert werden. Es wurde keine Probe fälschlicherweise als Probe des Zwillings 022 identifiziert, das erklärt den Wert null für die falsch positiven Proben. Im Gegenzug können alle zehn Proben des Zwillings 022 auch dieser Klasse zugeordnet werden, was dem Wert für richtig negativ bestimmte Proben entspricht. Es wurden keine Proben des Zwillings 022 fälschlicherweise als Proben des Zwillings 021 klassifiziert, deshalb ist bei den falsch negativen Proben der Wert null vermerkt. Es wurden aber auch Peaks, die sich in ihrer Signalintensität nicht signifikant ($p > 0,05$) unterscheiden, gefunden: 46 Peaks sind sowohl bei Zwilling 021 als auch bei Zwilling 022 nachweisbar

Tabelle 12: Vierfeldertafel des Vergleichs des Zwillingspaares 3

Die Tabelle zeigt die Vierfeldertafel zum Vergleich des Zwillings 021 mit dem Zwilling 022. Hierbei können alle zehn Proben des Zwillings 021 tatsächlich als Proben dieser Klasse erkannt werden. Zudem können alle zehn Proben des Zwillings 022 auch dieser Klasse zugeordnet werden.

	Zwilling 021	Zwilling 022		
Eigenschaft vorhergesagt	10	0	10	PPV = 100 %
Eigenschaft nicht vorhergesagt	0	10	10	NPV = 100 %
	10	10	20	
	Sensitivität = 100 %	Spezifität = 100 %		

5.3.4. Zwillingsspaar 4

Die erste Klasse bilden die Windelproben des Probanden 026, die zweite Klasse Windelproben des Probanden 027, wobei pro Klasse $n = 10$ Proben gewählt wurden. Es finden sich 24 Peaks, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) bis hoch signifikant ($p < 0,001$) voneinander unterscheiden. Durch den Peak P75 wird die beste Trennung erreicht. Er zeigt eine Sensitivität, Spezifität, einen positiven und negativen prädiktiven Wert von jeweils 99,9 %, 80,0 %, 83,3 % und 99,9 % in einem Signifikanzniveau mit $p < 0,001$. Der Box-and-Whisker-Plot dieses Peaks ist in Abbildung 42 gezeigt.

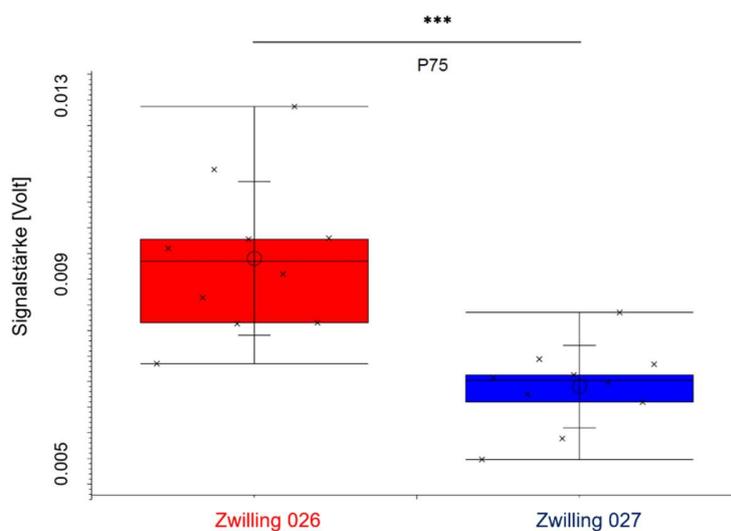


Abbildung 42: Vergleich der Proben des Zwillings 026 mit den Proben des Zwillings 027

Die Abbildung zeigt den Peak P75 nach IMS-Analyse. Dieser Peak unterscheidet hoch signifikant ($p < 0,001$) zwischen den Proben der ersten Klasse („Zwilling 026“) und der zweiten Klasse („Zwilling 027“). Es wurden zwei Klassen mit jeweils $n = 10$ Proben gewählt. Die Sensitivität, Spezifität, sowie der positive und negative prädiktive Wert des Peaks P75 betragen 99,9 %, 80 %, 83,3 % und 99,9 %.

Anhand des Entscheidungsbaumes in Abbildung 43 kann durch den Peak P75 eine Unterscheidung Zwilling 027 und zwischen Zwilling 026, bzw. Zwilling 027 getroffen werden. Durch den Peak P16 finden sich wiederum die Unterschiede in den Signalintensitäten zwischen Zwilling 026 und Zwilling 027.

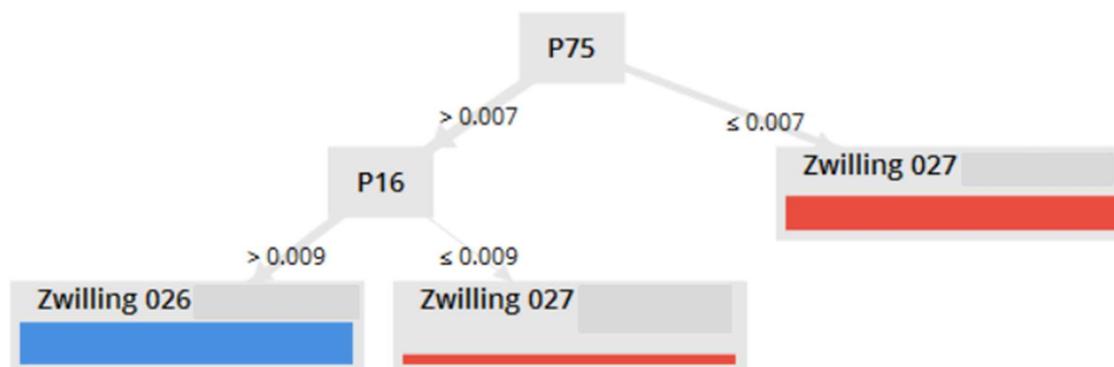


Abbildung 43: Entscheidungsbaum Zwillingspaar 4

Anhand des Entscheidungsbaumes kann durch den Peak P75 eine Unterscheidung Zwilling 027 (bei einer Signalintensität $\leq 0,007$ V) und zwischen Zwilling 026, bzw. Zwilling 027 (bei einer Signalintensität $> 0,007$ V) getroffen werden. Durch den Peak P16 finden sich wiederum die Unterschiede in den Signalintensitäten zwischen Zwilling 026 (bei einer Signalintensität $> 0,009$ V) und Zwilling 027 (bei einer Signalintensität $\leq 0,009$ V).

Anhand der Vierfeldertafel in Tabelle 13 kann bezüglich des Vergleichs des Zwillingspaares 4 (Zwilling 026 und Zwilling 027) eine Vorhersage durch IMS-Analysen erfolgen. Hierbei können alle zehn Proben des Zwillings 026 tatsächlich als Proben dieser Klasse erkannt werden, d.h. als richtig positiv klassifiziert werden. Es wurde keine Probe fälschlicherweise als Probe des Zwillings 027 identifiziert, das erklärt den Wert null für die falsch positiven Proben. Im Gegenzug können alle zehn Proben des Zwillings 027 auch dieser Klasse zugeordnet werden, was dem Wert für richtig negativ bestimmte Proben entspricht. Es wurden keine Proben des Zwillings 027 fälschlicherweise als Proben des Zwillings 026 klassifiziert, deshalb ist bei den falsch negativen Proben der Wert null vermerkt. Es wurden aber auch Peaks, die sich in ihrer Signalintensität nicht signifikant ($p > 0,05$) unterscheiden, gefunden: 87 Peaks sind sowohl bei Zwilling 026 als auch bei Zwilling 027 nachweisbar.

Tabelle 13: Vierfeldertafel des Vergleichs des Zwillingspaares 4

Die Tabelle zeigt die Vierfeldertafel zum Vergleich des Zwillings 026 mit dem Zwilling 027. Hierbei können alle zehn Proben des Zwillings 026 tatsächlich als Proben dieser Klasse erkannt werden. Zudem können alle zehn Proben des Zwillings 027 auch dieser Klasse zugeordnet werden.

	Zwilling 026	Zwilling 027		
Eigenschaft vorhergesagt	10	0	10	PPV = 100 %
Eigenschaft nicht vorhergesagt	0	10	10	NPV = 100 %
	10	10	20	
	Sensitivität = 100 %	Spezifität = 100 %		

5.3.5. Vierlinge

Zu diesem Vergleich wurden vier Klassen zu je $n = 10$ Proben gewählt. Alle Klassen bestehen aus Windelproben, die erste Klasse aus Proben des Probanden 028, die zweite Klasse aus Windelproben des Probanden 029, die Dritte von Proband 030 und die Vierte von Proband 031. Es können insgesamt 54 Peaks detektiert werden, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) nach Bonferroni-Korrektur voneinander unterscheiden. Die beste Trennung des Vierlings 1 von Vierling 2 kann durch den Peak P15 vorgenommen werden. Er besitzt eine Sensitivität, Spezifität, einen positiven und negativen prädiktiven Wert von jeweils 99,9 %. Es wurden aber auch Peaks, die sich in ihrer Signalintensität nicht signifikant ($p > 0,05$) unterscheiden, gefunden: 44 Peaks sind sowohl bei Vierling 1 als auch bei Vierling 2 nachweisbar. Durch den Peak P68 erfolgt die beste Trennung des Vierlings 1 von Vierling 3 mit einer Sensitivität, Spezifität, einem positiven und negativen prädiktiven Wert von jeweils 99,9 %. Es wurden aber auch Peaks, die sich in ihrer Signalintensität nicht signifikant ($p > 0,05$) unterscheiden, gefunden: 38 Peaks sind sowohl bei Vierling 1 als auch bei Vierling 3 nachweisbar. Bei dem Vergleich der Vierlinge 1 und 4 kann unter anderem der Peak P10 detektiert werden, ebenfalls mit einer Sensitivität, Spezifität, einem positiven und negativen prädiktiven Wert von jeweils 99,9 %. Es wurden aber auch Peaks, die sich in ihrer Signalintensität nicht signifikant ($p > 0,05$) unterscheiden, gefunden: 40 Peaks sind sowohl bei Vierling 1 als auch bei Vierling 4 nachweisbar. Die beste Trennung des Vierlings 2 von Vierling 3 kann durch den Peak P83 vorgenommen werden. Er besitzt eine Sensitivität, Spezifität, einen positiven und negativen prädiktiven Wert von jeweils 99,9 %, 90,0 %, 90,9 % und 99,9 %. Es wurden aber auch Peaks, die sich in ihrer Signalintensität nicht signifikant ($p > 0,05$) unterscheiden, gefunden: 46 Peaks sind sowohl bei Vierling 2 als auch bei Vierling 3 nachweisbar. Bei dem Vergleich der Vierlinge 2 und 4 zeigt der Peak P15 den größten Unterschied in der Signalintensität mit einer Sensitivität, Spezifität, einem positiven und negativen prädiktiven Wert von 99,9 %. Es wurden aber auch Peaks, die sich in ihrer Signalintensität nicht signifikant ($p > 0,05$) unterscheiden, gefunden: 54 Peaks sind sowohl bei Vierling 2 als auch bei Vierling 4 nachweisbar. Die Unterscheidung der Vierlinge 3 und 4 ist unter anderem am deutlichsten bei Peak P10, mit einer Sensitivität, Spezifität, einem positiven und negativen prädiktiven Wert von 99,9 %. Stellvertretend sind die Box-and-Whisker-Plots der Peaks P15, P68, P83 und P10 in Abbildung 44 abgebildet. Es wurden aber auch Peaks, die sich in ihrer Signalintensität nicht signifikant ($p > 0,05$) unterscheiden, gefunden: 32 Peaks sind sowohl bei Vierling 3 als auch bei Vierling 4 nachweisbar. Bei diesem Vergleich wurden alle Vierlinge untereinander verglichen, wobei in allen Vergleichen Peaks identifizierbar sind, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) nach Bonferroni-Korrektur unterscheiden. Um eine gute Übersicht in Abbildung 44 zu erhalten, wurde auf ein Ergänzen der Signifikanzlevel in den Grafiken verzichtet.

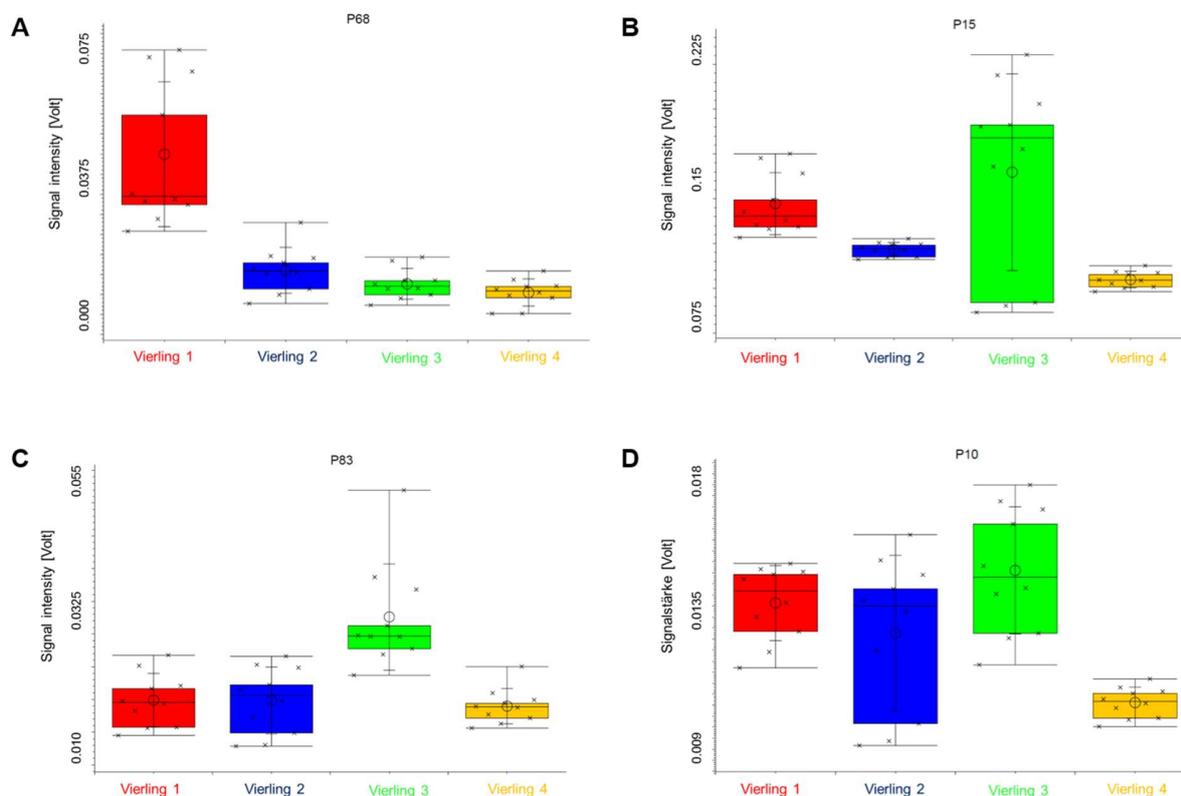


Abbildung 44: Vergleich der Proben der Vierlinge 1 bis 4

Die Abbildung zeigt die Peaks P68, P15, P83 und P10 nach IMS-Analyse. Bei diesem Vergleich wurden alle Vierlinge untereinander verglichen, wobei in allen Vergleichen Peaks identifizierbar sind, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) nach Bonferroni-Korrektur unterscheiden. Um eine gute Übersicht in Abbildung 44 zu erhalten, wurde auf ein Ergänzen der Signifikanzlevel in den Grafiken verzichtet. A Durch den Peak P68 erfolgt die beste Trennung zwischen Vierling 1 und 3 mit einer Sensitivität, Spezifität, einem positiven und negativen prädiktiven Wert von jeweils 99,9 %. B Durch den Peak P15 kann die beste Trennung des Vierlings 1 von 2 vorgenommen werden, mit einer Sensitivität, Spezifität, einem positiven und negativen prädiktiven Wert von jeweils 99,9 %. C Der Peak P83 ermöglicht die Unterscheidung zwischen Vierling 2 und 3 mit einer Sensitivität, Spezifität, einem positiven und negativen prädiktiven Wert von je 99,9 %. D Anhand des Peaks P10 kann mit einer Sensitivität, Spezifität und einem positiven und negativen prädiktiven Wert von jeweils 99,9 % zwischen Vierling 3 und 4 unterschieden werden.

Anhand des Entscheidungsbaumes in Abbildung 45 kann anhand dreier Peaks (P68, P33 und P15) eine Unterscheidung zwischen den Signalintensitäten der Proben von Vierlingen getroffen werden. Peak P68 und P33 lassen sich Vierling 1 bzw. Vierling 3 zuordnen. Eine Differenzierung zwischen Vierling 3 und Vierling 4 ist anhand des Peaks P15 möglich.

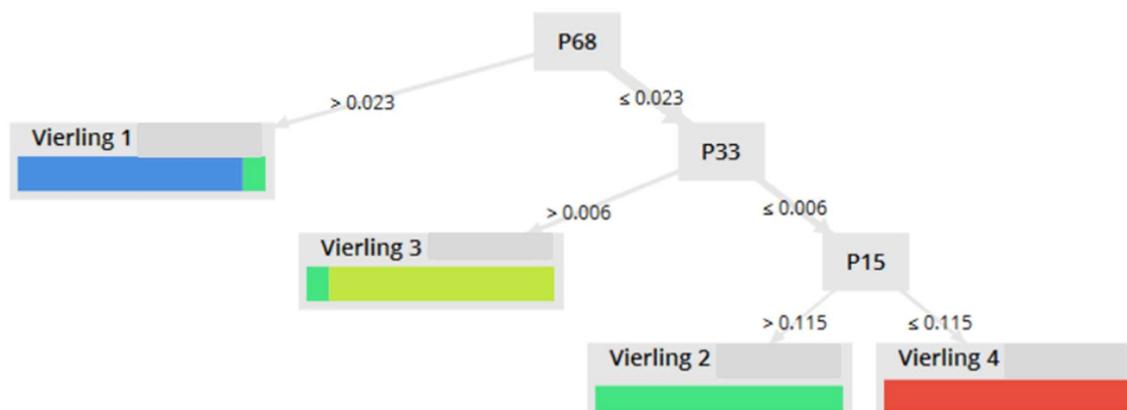


Abbildung 45: Entscheidungsbaum Vierlinge

Mithilfe des Entscheidungsbaumes kann anhand dreier Peaks (P68, P33 und P15) eine Unterscheidung zwischen den Signalintensitäten der Proben von Vierlingen getroffen werden. Peak P68 (bei einer Signalintensität $> 0,023$ V) und P33 (bei einer Signalintensität $> 0,006$ V) lassen sich Vierling 1 bzw. Vierling 3 zuordnen. Eine Differenzierung zwischen Vierling 3 (bei einer Signalintensität $> 0,115$ V) und Vierling 4 (bei einer Signalintensität $\leq 0,115$ V) ist anhand des Peaks P15 möglich.

5.3.6. Vergleich aller Probanden

Nun wurden alle Probanden untereinander verglichen. Hierbei wurden 12 Klassen mit jeweils $n = 10$ Proben gebildet. Stellvertretend wird der Vergleich des Probanden 024 mit Proband 033 gezeigt. Es zeigen sich 2 Peaks, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$) nach Bonferroni-Korrektur voneinander unterscheiden. Die beste Trennung der beiden Klassen kann durch die Peaks P0 und P149 vorgenommen werden. Die Peaks P0 und P149 besitzen eine Sensitivität, Spezifität, einen positiven und negativen prädiktiven Wert von jeweils 99,9 %. Um diesen Vergleich graphisch darzustellen, wurde in Abbildung 46 stellvertretend der Box-and-Whisker-Plot des Peaks P149 gewählt.

Bei diesem Beispiel werden alle Probanden untereinander verglichen, wobei sich bei allen Vergleichen untereinander Peaks zeigen, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$), sehr signifikant ($p < 0,01$) oder hoch signifikant ($p < 0,001$) unterscheiden. Um eine bessere Übersicht in Abbildung 46 zu wahren, wird darauf verzichtet, die entsprechenden Signifikanzlevels in die Grafik einzufügen.

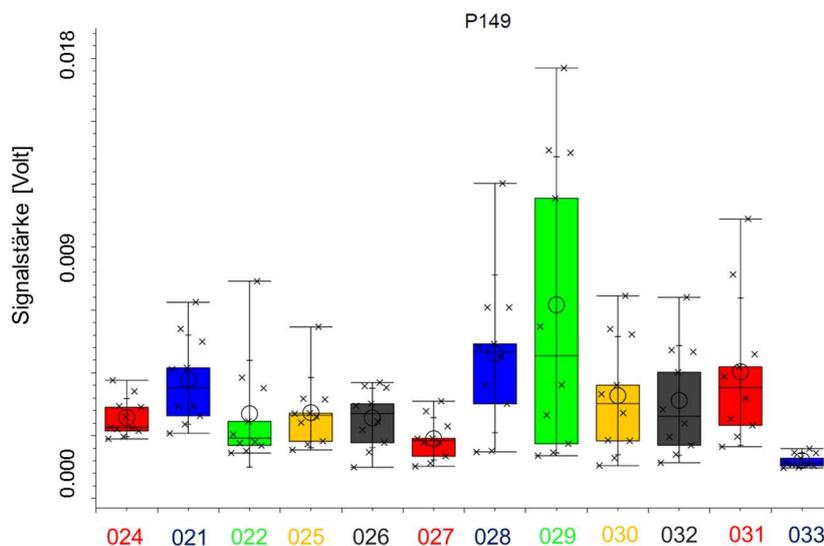


Abbildung 46: Vergleich der Proben aller Probanden miteinander

Die Abbildung zeigt den Peak P149 nach IMS-Analyse. Hier werden alle Probanden untereinander verglichen, wobei sich bei allen Vergleichen untereinander Peaks zeigen, die sich in ihrer Signalstärke signifikant ($p < 0,05$), sehr signifikant ($p < 0,01$) oder hoch signifikant ($p < 0,001$) unterscheiden. Um eine bessere Übersicht in dieser Abbildung zu ermöglichen, wurde darauf verzichtet, den entsprechenden Signifikanzlevel in die Grafik einzufügen. Der dargestellte Peak P149 unterscheidet signifikant ($p < 0,05$) nach Bonferroni-Korrektur zwischen den Proben aller Klassen. Es wurden insgesamt zwölf Klassen mit jeweils $n = 10$ Proben gewählt. Die Sensitivität, Spezifität, sowie der positive und negative prädiktive Wert des Peaks P149 betragen jeweils 99,9 %.

Anhand des Entscheidungsbaumes in Abbildung 47 kann anhand von elf Peaks eine Unterscheidung zwischen den Signalintensitäten der Proben aller Probanden getroffen werden. Durch den Peak P138 (bei einer Signalintensität $> 0,004$ V) lässt sich das Kind 21 von den restlichen Kindern unterscheiden. P15 ermöglicht bei einer Signalintensität $\leq 0,121$ V eine Unterscheidung des Kindes 31, bzw. P119 eine Unterscheidung des Kindes 25 bei einer Signalintensität $> 0,002$ V. Anhand des Peaks P100 (bei einer Signalintensität $\leq 0,012$ V) bzw. P10 (bei einer Signalintensität $\leq 0,003$ V) lässt sich eine Unterscheidung des Kindes 27 vornehmen, Peak P15 (bei einer Signalintensität $> 0,266$ V) wiederum eine Differenzierung des Kindes 33. Peak P130 (bei einer Signalintensität $> 0,002$ V) ermöglicht eine Differenzierung des Kindes 24. Kind 29 lässt sich bei einer Signalintensität $> 0,227$ V anhand des Peaks P139 differenzieren, Kind 28 wiederum anhand des Peaks P15 bei einer Signalintensität $\leq 0,175$ V. Durch den Peak P119 lassen sich Kind 30 (bei einer Signalintensität $> 0,001$ V) bzw. die Kinder 22 und 26 (bei einer Signalintensität $\leq 0,001$ V) zuordnen. Eine Differenzierung zwischen Kind 22 (bei einer Signalintensität $> 0,004$ V) und Kind 26 (bei einer Signalintensität $\leq 0,004$ V) ist anhand des Peaks P1 möglich.

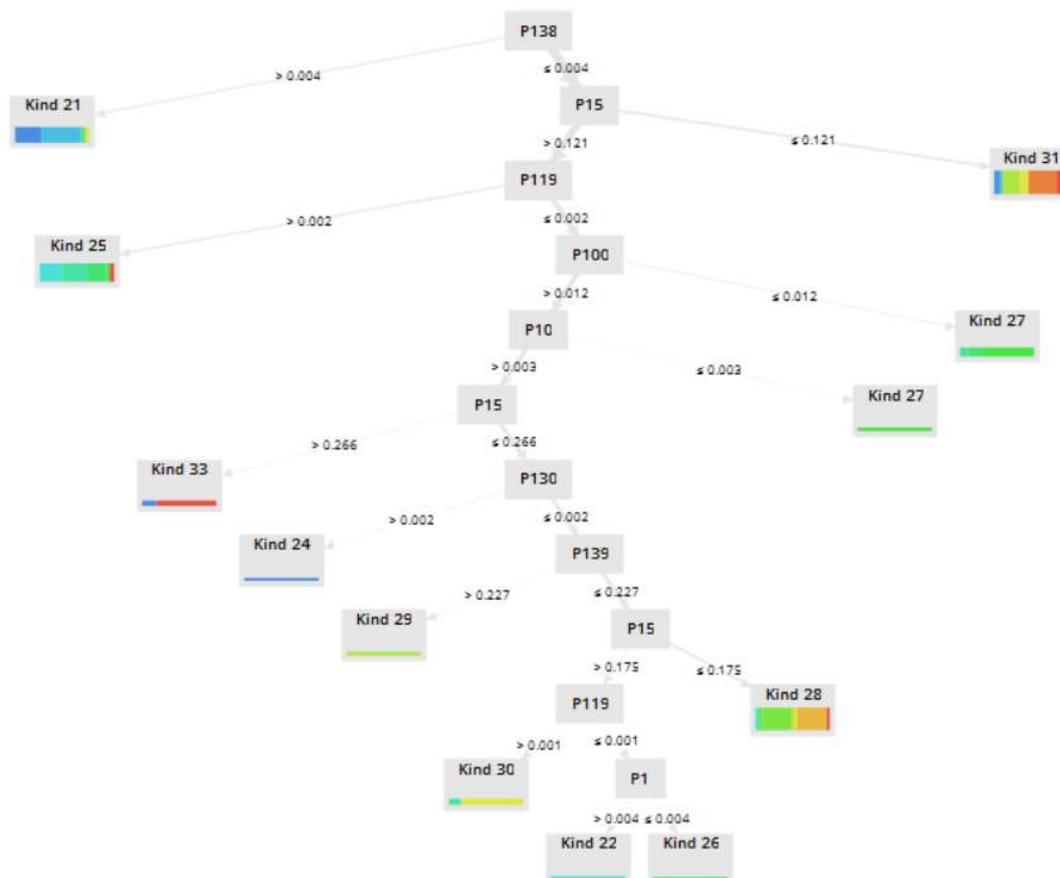


Abbildung 47: Entscheidungsbaum Vergleich aller Probanden

Mithilfe des Entscheidungsbaumes kann anhand von elf Peaks eine Unterscheidung zwischen den Signalintensitäten der Proben aller Probanden getroffen werden.

Durch den Peak P138 (bei einer Signalintensität $> 0,004$ V) lässt sich das Kind 21 von den restlichen Kindern (Signalintensität $\leq 0,004$ V) unterscheiden. P15 ermöglicht bei einer Signalintensität $\leq 0,121$ V eine Unterscheidung des Kindes 31, bzw. P119 eine Unterscheidung des Kindes 25 bei einer Signalintensität $> 0,002$ V.

Anhand des Peaks P100 (bei einer Signalintensität $\leq 0,012$ V) bzw. P10 (bei einer Signalintensität $\leq 0,003$ V) lässt sich eine Unterscheidung des Kindes 27 vornehmen, Peak P15 (bei einer Signalintensität $> 0,266$ V) wiederum eine Differenzierung des Kindes 33. Peak P130 (bei einer Signalintensität $> 0,002$ V) ermöglicht eine Differenzierung des Kindes 24.

Kind 29 lässt sich bei einer Signalintensität $> 0,227$ V anhand des Peaks P139 differenzieren, Kind 28 wiederum anhand des Peaks P15 bei einer Signalintensität $\leq 0,175$ V.

Durch den Peak P119 lassen sich Kind 30 (bei einer Signalintensität $> 0,001$ V) bzw. die Kinder 22 und 26 (bei einer Signalintensität $\leq 0,001$ V) zuordnen. Eine Differenzierung zwischen Kind 22 (bei einer Signalintensität $> 0,004$ V) und Kind 26 (bei einer Signalintensität $\leq 0,004$ V) ist anhand des Peaks P1 möglich.

5.3.7. Unterscheidung zwischen weiblichen und männlichen Individuen

Mit einer Anzahl von jeweils $n = 63$ pro Klasse wurden die Proben von männlichen und weiblichen Probanden verglichen. Hierbei zeigen sich ein sehr signifikanter ($p < 0,01$) Peak und fünf signifikante ($p < 0,05$) Peaks, die sich in ihrer Signalstärke voneinander unterscheiden. Der Peak mit der höchsten Signalintensität ist P151 mit einer Sensitivität, Spezifität, einem positiven und negativen prädiktiven Wert von 81,0 %, 49,2 %, 61,4 % und 72,1 %. Der entsprechende Box-and-Whisker-Plot ist in Abbildung 48 dargestellt.

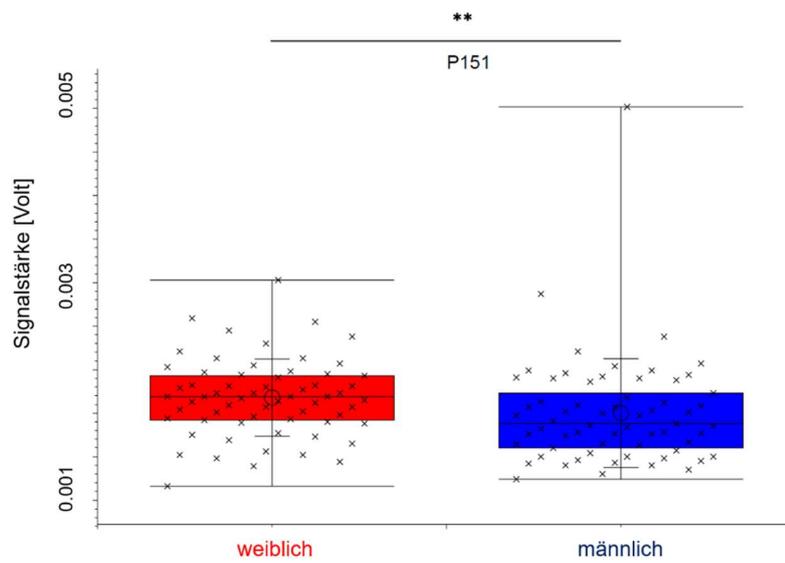


Abbildung 48: Vergleich der Proben von weiblichen und männlichen Probanden

Die Abbildung zeigt den Peak P151 nach IMS-Analyse. Dieser Peak unterscheidet sehr signifikant ($p < 0,01$) zwischen den Proben der ersten Klasse („weiblich“) und der zweiten Klasse („männlich“). Es wurden zwei Klassen mit jeweils $n = 63$ Proben gewählt. Die Sensitivität, Spezifität, einem positiven und negativen prädiktiven Wert des Peaks P151 betragen 81,0 %, 49,2 %, 61,4 % und 72,1 %.

Eine klare Unterscheidung der beiden Klassen anhand des Entscheidungsbaums ist nur begrenzt möglich (siehe Abbildung 49).

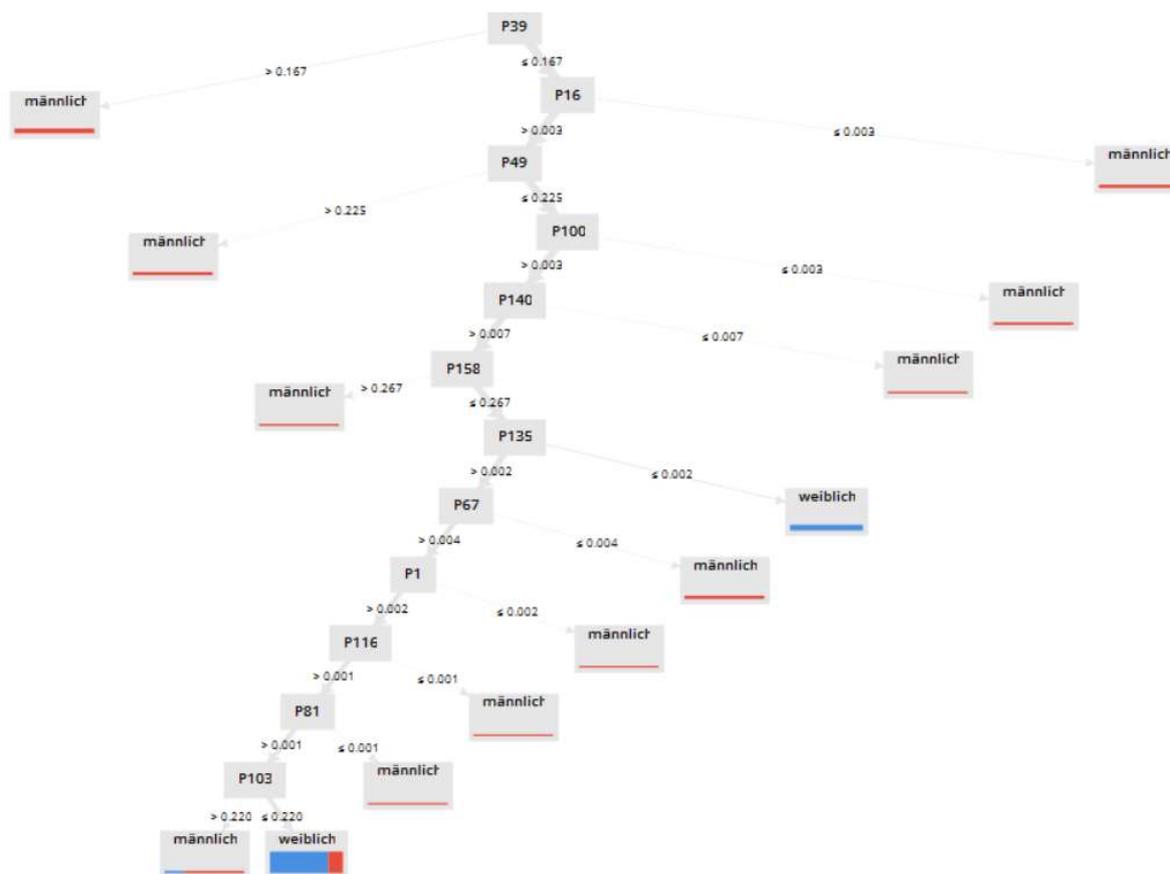


Abbildung 49: Entscheidungsbaum Vergleich männlich - weiblich

Eine klare Unterscheidung zwischen männlich und weiblich anhand des Entscheidungsbaums ist nur eingeschränkt möglich.

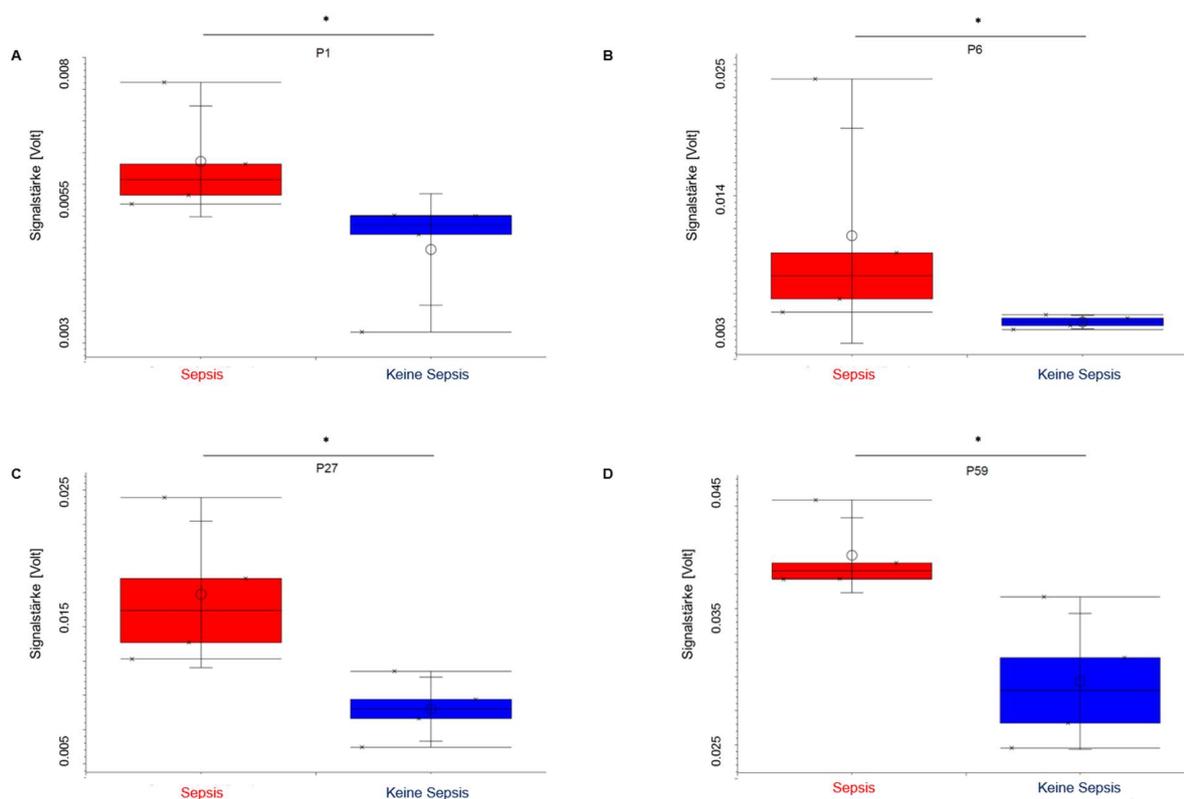
5.4. Nicht-invasive Sepsisdiagnostik mittels MCC-IMS

Es wurde ein Proband betrachtet, der im Verlauf der Studie zweimal eine mikrobiologisch bestätigte Sepsis ausbildete. Für diese Analysen wurden Tage, an welchen das Kind ohne Infektion war, mit Tagen verglichen, an welchen sich eine Sepsis entwickelt hat. Pro Klasse wurden $n = 4$ Proben gewählt. Hierbei zeigen sich signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede in der Signalstärke von fünf Peaks. Durch die Peaks P1, P6, P27, P59 und P85 wird die beste Trennung erreicht.

Tabelle 14 charakterisiert die oben genannten Peaks anhand ihrer Sensitivität, Spezifität und ihres positiven und negativen prädiktiven Wertes. Mithilfe der Peaks P1, P6, P27 und P59 kann die beste Unterscheidung zwischen gesunden und kranken Tagen getroffen werden. Deshalb sind für diese Peaks die Box-and-Whisker-Plots in Abbildung 50 dargestellt.

Tabelle 14: Charakterisierung der Peaks P1, P6, P27, P59 und P85

Peak	Sensitivität	Spezifität	Positiver prädikativer Wert	Negativer prädikativer Wert
P1	99,9 %	99,9 %	99,9 %	99,9 %
P6	99,9 %	99,9 %	99,9 %	99,9 %
P27	99,9 %	99,9 %	99,9 %	99,9 %
P59	99,9 %	99,9 %	99,9 %	99,9 %
P85	99,9 %	99,9 %	99,9 %	99,9 %

**Abbildung 50: Vergleich der Proben mit und ohne Sepsis**

Die Abbildung zeigt die Peak P1, P6, P27 und P59 nach IMS-Analyse. Diese Peaks unterscheiden signifikant ($p < 0,05$) zwischen den Proben der ersten Klasse („Sepsis“) und der zweiten Klasse („keine Sepsis“). Es wurden zwei Klassen mit jeweils $n = 4$ Proben gewählt. Die Sensitivität, Spezifität, der positive und negative prädiktive Wert der dargestellten Peaks sind

Tabelle 14 zu entnehmen. Anhand der Vierfeldertafel in Tabelle 17 kann bezüglich oben genannter Fragestellung eine Vorhersage durch IMS-Analysen vorgenommen werden.

Anhand des Entscheidungsbaumes in Abbildung 51 kann durch den Peak P1 eine eindeutige Unterscheidung zwischen Proben von Tagen mit Sepsis und Tagen ohne Sepsis getroffen werden.

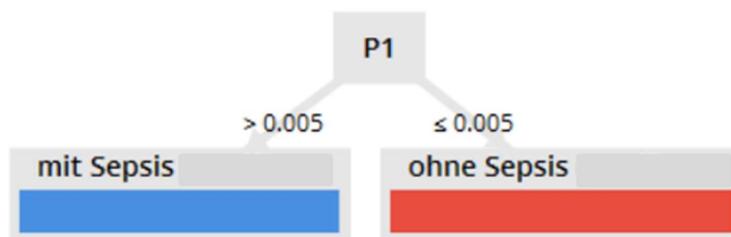


Abbildung 51: Entscheidungsbaum „Sepsis“

Anhand des Entscheidungsbaumes kann durch den Peak P1 eine eindeutige Unterscheidung zwischen Proben von Tagen mit Sepsis (bei einer Signalintensität $> 0,005$ V) und Tagen ohne Sepsis (bei einer Signalintensität $\leq 0,005$ V) getroffen werden.

Anhand der Vierfeldertafel in Tabelle 15 kann bezüglich oben genannter Fragestellung eine Vorhersage durch IMS-Analysen vorgenommen werden. Die Tabelle zeigt die Vierfeldertafel zum Vergleich der Tage mit und ohne Sepsis. Es können alle vier Proben der Tage mit Sepsis tatsächlich als Proben dieser Klasse erkannt werden, d.h. als richtig positiv klassifiziert werden. Es wurde keine Probe fälschlicherweise als Probe der Tage ohne Sepsis identifiziert, das erklärt den Wert null für die falsch positiven Proben. Im Gegenzug können alle vier Proben der Tage ohne Sepsis auch dieser Klasse zugeordnet werden, was dem Wert für richtig negativ bestimmte Proben entspricht. Es wurden keine Proben der Tage ohne Sepsis fälschlicherweise als Proben der Tage mit Sepsis klassifiziert, deshalb ist bei den falsch negativen Proben der Wert null vermerkt.

Tabelle 15: Vierfeldertafel Sepsis

Die Tabelle zeigt die Vierfeldertafel zum Vergleich der Tage mit und ohne Sepsis. Hierbei können alle vier Proben der Tage mit Sepsis tatsächlich als Proben dieser Klasse erkannt werden. Zudem können alle vier Proben der Tage ohne Sepsis auch dieser Klasse zugeordnet werden.

	Mit Sepsis	Ohne Sepsis		
Eigenschaft vorhergesagt	4	0	4	PPV = 100 %
Eigenschaft nicht vorhergesagt	0	4	4	NPV = 100 %
	4	4	8	
	Sensitivität = 100 %	Spezifität = 100 %		

5.5. Vergleich der Peaks der MCC-IMS-Analyse mit der Substanzdatenbank der Firma B. Braun

In der Substanzdatenbank der Firma B. Braun wurden Peaks, die bereits als chemische Substanzen identifiziert wurden, gesammelt. Diese wurden mit den in der vorliegenden Arbeit detektierten Peaks abgeglichen. Die Tabelle 16 stellt eine Übersicht über die Peaks dar, für die eine Zuordnung chemischer Substanzen vorgenommen werden konnte.

Tabelle 16: Zuordnung ausgesuchter Peaks zu Substanzen der Datenbank

P96	Cyclohexanol
P179	2-Methylthio-Ethanol,
P43	p-Xylen
P9	2-Pentyl-Furan
P17	2,3-Butanediol
P91	2-Hexanon
P184	2-Ethyl-1-Hexanol
P32	Benzonitril
P156	1-Butanal
P161	(-)-Carvon
P52	5-Methy-2-1-Methylethyl-Cyclohexanol
P183	Butanal

5.6. Ergebnisse der Analysen mittels *Cyranose® 320*

5.6.1. Unterscheidung von vier unterschiedlichen Windeln

Für die Betrachtung der Unterscheidung vierer verschiedener Windeln wurden jeweils vier Klassen mit $n = 10$ Messungen gewählt. Die vier verschiedenen Windeln können jeweils signifikant in einem Konfidenzintervall $> 95,0 \%$ mit $p < 0,05$ voneinander unterschieden werden. Der Kreuzvalidierungswert (CVV) und die Charakterisierung der Klassen anhand ihrer Mahalanobis-Distanz (MD) ist in Tabelle 17 abgebildet. Hierbei zeigen sich stets für alle Vergleiche Werte der MD größer als 1,96. Die Ergebnisse der linearen Diskriminanzanalyse (LD) sind in Abbildung 52 graphisch dargestellt.

Tabelle 17: Charakterisierung der Klassen anhand ihrer Mahalanobis-Distanz (MD; signifikante Ergebnisse in Fettdruck) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) in Klammern, Vergleich vier unterschiedlicher Windeln

	Windel 2	Windel 3	Windel 4
Windel 1	2.604 (100 % of 100)	2.675 (100 % of 100)	2.736 (100 % of 100)
Windel 2	-	2.749 (100 % of 100)	2.570 (99,5 % of 100)
Windel 3	-	-	2.702 (100 % of 100)

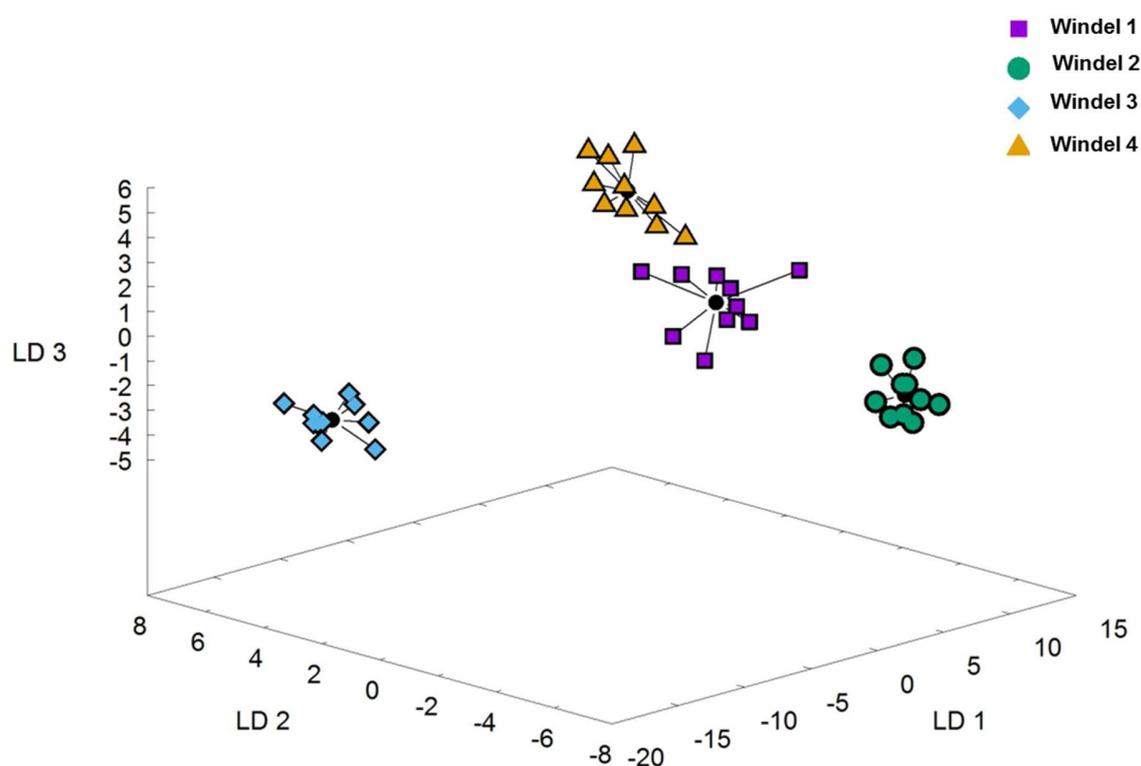


Abbildung 52: Graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse des Vergleichs vier verschiedener Windeln (n = 10 Messungen pro Windel) mittels GnuPlot.

Mithilfe der Mahalanobis-Distanz (MD) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) können die Windeln signifikant voneinander unterschieden werden.

5.6.2. Vergleich wenig Stuhl (S1), viel Stuhl (S2), Urin und leere Windeln

In weiteren Analysen wurde der Vergleich zwischen verschiedenen Stuhlkategorien (Stuhl (S): S1 = wenig Stuhl, entspricht bezüglich der Stuhlklassifikation der Menge 1, S2 = viel Stuhl, entspricht bezüglich der Stuhlklassifikation ab einschließlich Menge 2, Stuhlklassifikation siehe Abbildung 1) Urin und leeren Windeln durchgeführt. Dafür wurden vier Klassen gewählt. Für die Klasse S1 wurden n = 47 Messungen,

für die Klasse S2 n = 103 Messungen, für die Klasse Urin n = 45 Messungen und für die Klasse leere Windeln n = 6 Messungen durchgeführt. Die Mahalanobis-Distanzen der Klassen zueinander sind in Tabelle 18 abgebildet, ebenso wie die Kreuzvalidierungswerte (CVV) in Klammern. Betrachtet man die beiden Klassen der Windeln mit Stuhl (S1 und S2) sowie Urin, so lassen sich keine signifikanten Ergebnisse erkennen. Es zeigen sich jedoch signifikante Ergebnisse bei dem Vergleich der leeren Windeln mit den jeweiligen Klassen S1, S2 und Urin. Diese sind in Tabelle 19 anhand ihrer Sensitivität, Spezifität, ihrem positiven und negativen prädiktiven Wert genauer bezeichnet. In Abbildung 53 ist die graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse aufgeführt.

Tabelle 18: Charakterisierung der Werte anhand ihrer Mahalanobis-Distanz (MD; signifikante Ergebnisse in Fettdruck) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) in Klammern; Vergleich wenig Stuhl (S1), viel Stuhl (S2), Urin und leere Windel

	S1	S2	Urin
Leer	2.690 (90,07 % of 282)	2.361 (82,20 % of 618)	2.013 (99,63 % of 270)
S1	-	1.098 (58,85 % of 4841)	1.425 (68,23 % of 2115)
S2	-	-	1.018 (57,35 % of 4635)

Tabelle 19: Charakterisierung der Vergleiche leere Windel zu Windeln mit S1, S2 und Urin

Betrachtete Klassen	Sensitivität	Spezifität	Positiver prädiktiver Wert	Negativer prädiktiver Wert
leer - S1	100 %	98,0 %	86,0 %	100 %
leer - S2	83,0 %	100 %	100 %	99,0 %
leer – Urin	100 %	100 %	100 %	100 %

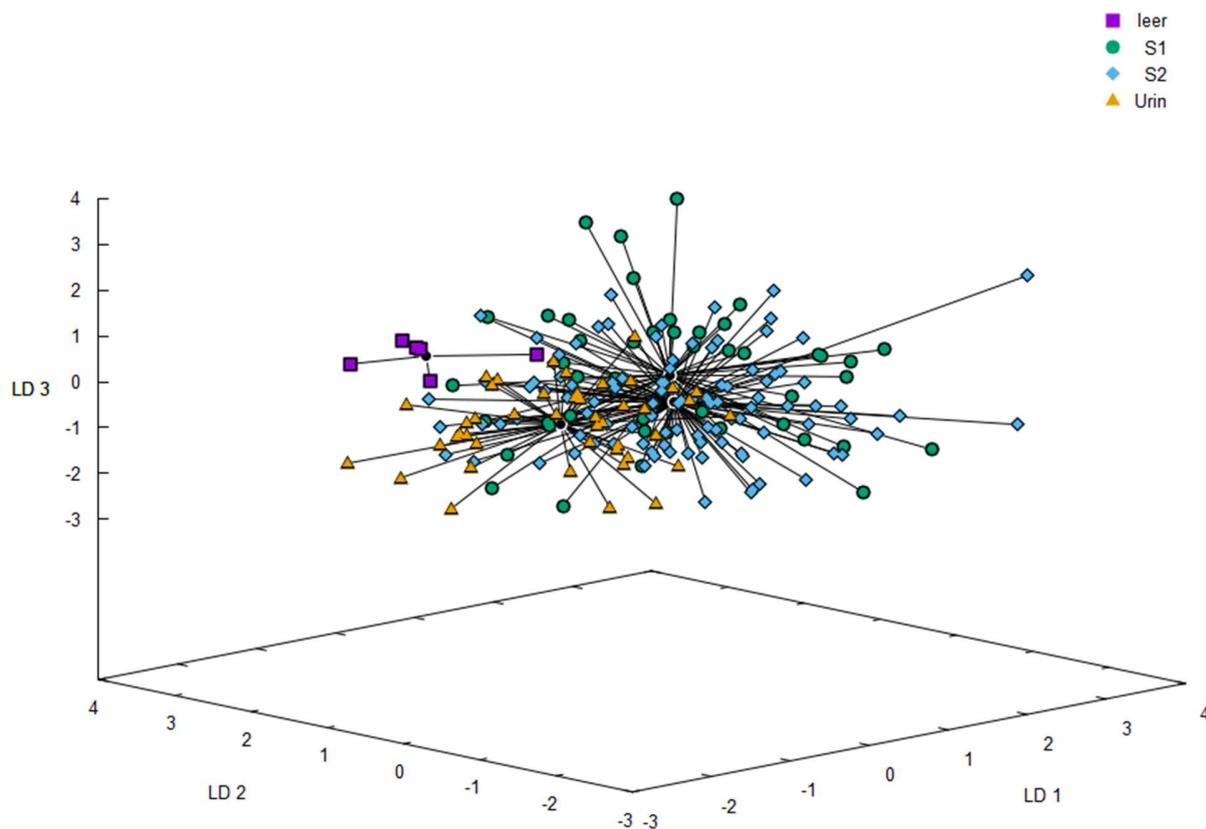


Abbildung 53: Graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse des Vergleichs leere Windel, Urin, Stuhl S1 und S2 (Klasse S1 mit $n = 47$ Messungen, Klasse S2 mit $n = 103$ Messungen, Klasse Urin mit $n = 45$ Messungen und Klasse leere Windeln mit $n = 6$ Messungen) mittels GnuPlot.

Mithilfe der Mahalanobis-Distanz (MD) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) können die leeren Windeln signifikant von Proben mit wenig Stuhl (S1), viel Stuhl (S2) und Urin unterschieden werden.

5.6.3. Vergleich Stuhl, Urin und leere Windeln

Für diese Betrachtung wurden jeweils 3 Klassen gewählt, eine Klasse mit leeren Windeln sowie zwei weitere Klassen mit jeweils Stuhl- und Urinproben. Pro Klasse wurden eine Anzahl von 150 Messungen von Stuhlproben, 45 Messungen von Urinproben und 6 Messungen von leeren Windeln durchgeführt. Es wurde eine Charakterisierung der Vergleiche der Klassen zueinander anhand ihrer Mahalanobis-Distanz (MD) durchgeführt und in Tabelle 20 abgebildet. In dieser Tabelle sind auch die Kreuzvalidierungswerte (CVV) dargestellt. Hierbei zeigen sich signifikante Unterschiede im Vergleich der leeren Windeln mit den Windeln mit Stuhl. Analog dazu sind ebenfalls signifikante Ergebnisse im Vergleich der leeren Windeln mit Windeln mit Urin zu vermerken. Die Charakterisierung anhand der Sensitivität, Spezifität, des positiven und negativen prädiktiven Wertes sind Tabelle 21 zu entnehmen. Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Windeln mit Urin und Stuhl anhand der MD. Die Ergebnisse wurden mithilfe eines Plots in Abbildung 54 graphisch dargestellt.

Tabelle 20: Charakterisierung der Klassen zueinander anhand ihrer Mahalanobis-Distanz (MD; signifikante Ergebnisse in Fettdruck) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) in Klammern; Vergleich von Stuhl – und Urinproben und leeren Windeln

	Stuhl	Urin
Leer	2.416 (49,94 % of 900)	2.013 (99,63 % of 270)
Stuhl	-	1.043 (57,50 % of 6750)

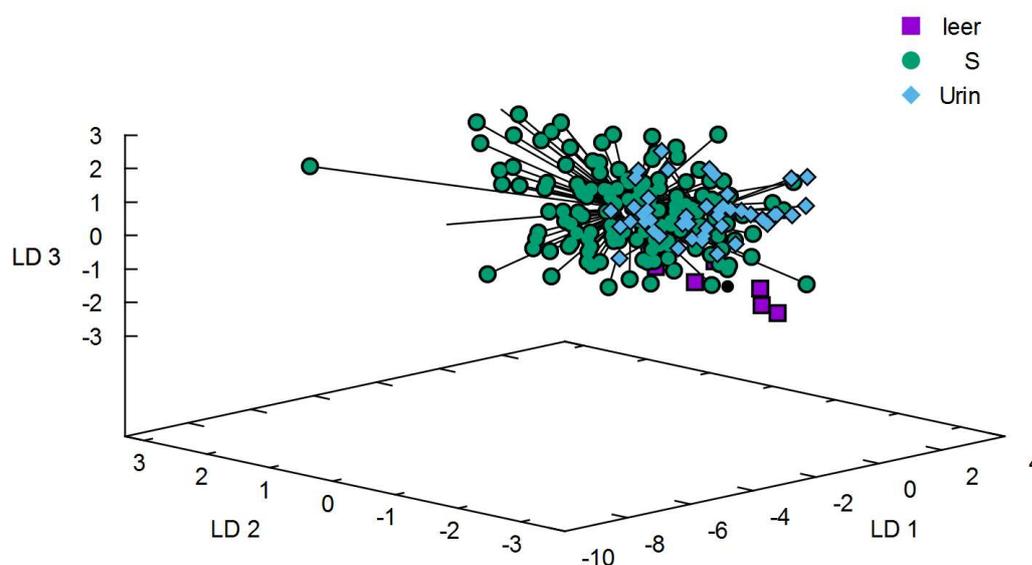


Abbildung 54: Graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse des Vergleichs Stuhl, Urin, leere Windel (n = 150 Messungen der Stuhlproben, n = 45 Messungen der Urinproben, bzw. n = 6 Messungen der leeren Windeln) mittels GnuPlot. Mithilfe der Mahalanobis-Distanz (MD) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) können die leeren Windeln signifikant von Proben mit Stuhl bzw. Urin unterschieden werden.

Tabelle 21: Charakterisierung der Vergleiche leere Windel zu Windeln mit Stuhl und Urin

Betrachtete Klassen	Sensitivität	Spezifität	Positiver prädiktiver Wert	Negativer prädiktiver Wert
leer – Stuhl	50,0 %	100 %	100 %	98,0 %
leer – Urin	100 %	100 %	100 %	100 %

5.6.4. Vergleich Unacid/ kein Unacid und leere Windeln

Des Weiteren wurden Stuhlproben von Kindern, die Unacid erhalten haben mit Proben ohne Unacidgabe verglichen, eine weitere Klasse bilden leere Windeln als Vergleich. Insgesamt wurden folglich drei Klassen mit jeweils n = 14 Messungen (bzw. Klasse „leere Windel mit n = 6) gewählt. Die Mahalanobis-Distanzen

der Klassen zueinander und die Kreuzvalidierungswerte (CVV) sind in Tabelle 22 dargestellt. In dieser Tabelle sind. Vergleicht man die Klasse mit Unacid sowie die Klasse ohne Unacid, so lassen sich keine signifikanten Ergebnisse in der MD erkennen. Es zeigen sich jedoch signifikante Ergebnisse bei dem Vergleich der leeren Windeln mit den Klassen Unacid/ kein Unacid. Anhand ihrer Sensitivität, Spezifität, ihrem positiven und negativen prädiktiven Wert sind diese in Tabelle 23 charakterisiert. Die Ergebnisse sind in Abbildung 55 graphisch dargestellt.

Tabelle 22: Charakterisierung der Klassen zueinander anhand ihrer Mahalanobis-Distanz (MD; signifikante Ergebnisse in Fettdruck) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) in Klammern;

Betrachtet werden die Messungen der leeren Windeln, sowie mit Proben von Kindern, die Unacid erhalten haben, bzw. kein Unacid.

	mit Unacid	leere Windel
kein Unacid	1.148 (40,56 % of 196)	2.355 (100 % of 84)
mit Unacid	-	2.418 (94,64 % of 84)

Tabelle 23: Charakterisierung des Vergleichs leere Windel zu Windeln mit/ ohne Unacid

Betrachtete Klassen	Sensitivität	Spezifität	Positiver prädiktiver Wert	Negativer prädiktiver Wert
Leer- mit Unacid	100 %	100 %	100 %	100 %
leer – ohne Unacid	100 %	100 %	100 %	100 %

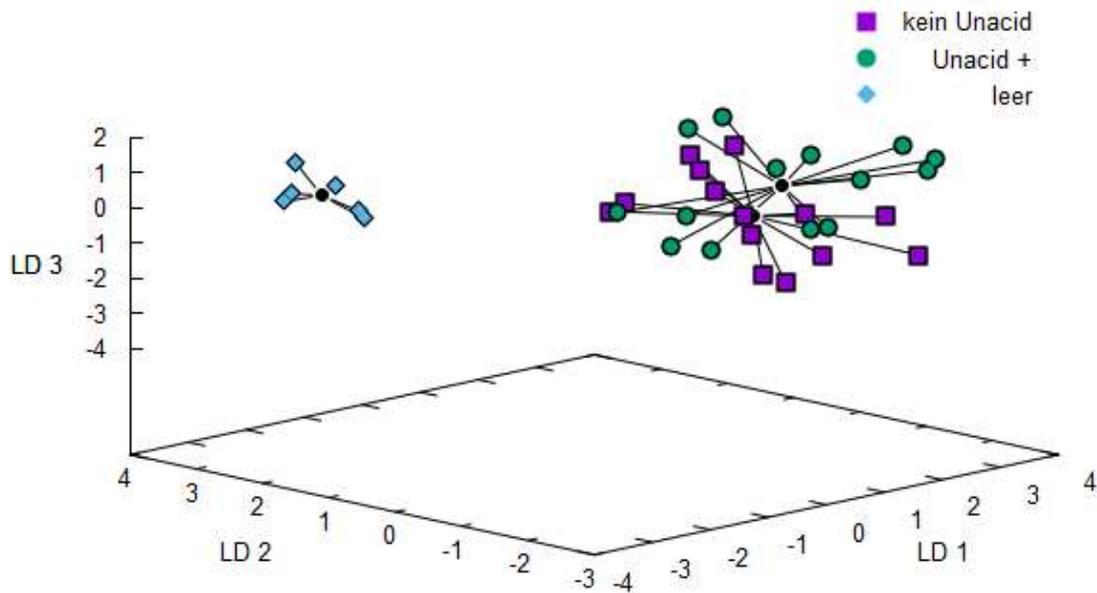


Abbildung 55: Graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse des Vergleich mit Unacid/ ohne Unacid/ leere Windel (Proben mit Unacid, bzw. ohne Unacid jeweils n = 14 Messungen, bzw. n = 6 Messungen in der Klasse „leere Windel“) mittels GnuPlot.

Mithilfe der Mahalanobis-Distanz (MD) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) können Proben mit Unacid bzw. ohne Unacid signifikant von leeren Windeln unterschieden werden.

5.6.5. Vergleich Vierlinge

Für den Vergleich von Vierlingen untereinander wurden vier Klassen zu jeweils n = 20 Messungen analysiert. Es wurde eine Charakterisierung der Klassen zueinander anhand ihrer Mahalanobis-Distanz (MD) durchgeführt (siehe Tabelle 24). In dieser Tabelle sind auch die Kreuzvalidierungswerte (CVV) in Klammern dargestellt. Hierbei zeigen sich signifikante Unterschiede im Vergleich des Vierlings 1 zu den Vierlingen 2, 3 und 4. Auch Vierling 2 ist von Vierling 3 signifikant unterscheidbar. Bei dem Vergleich der Vierlinge 2 und 4, sowie der Vierlinge 2 und 3 zeigen sich jedoch keine signifikanten Ergebnisse anhand der MD. Die Charakterisierung anhand der Sensitivität, Spezifität, des positiven und negativen prädiktiven Wertes sind der Tabelle 25 zu entnehmen. Die graphische Darstellung der Ergebnisse ist in Abbildung 56 abgebildet.

Tabelle 24: Charakterisierung der Klassen zueinander anhand ihrer Mahalanobis-Distanz (MD; signifikante Ergebnisse in Fettdruck) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) in Klammern; Vergleich „Vierlinge“

	Vierling 2	Vierling 3	Vierling 4
Vierling 1	2.126 (97,88 % of 400)	2.152 (99,25 % of 400)	2.534 (100 % of 400)
Vierling 2	-	2.081 (86,88 % of 400)	1.807 (86,88 % of 400)
Vierling 3	-	-	1.934 (94,12 % of 400)

Tabelle 25: Charakterisierung des Vergleichs „Vierlinge“

Betrachtete Klassen	Sensitivität	Spezifität	Positiver prädiktiver Wert	Negativer prädiktiver Wert
V1 – V2	100 %	100 %	100 %	100 %
V1 – V3	100 %	100 %	100 %	100 %
V1 – V4	100 %	100 %	100 %	100 %
V2 – V3	90,0 %	95,0 %	95,0 %	90,0 %
V2 – V4	95,0 %	100 %	100 %	95,0 %
V3 – V4	100 %	100 %	100 %	100 %

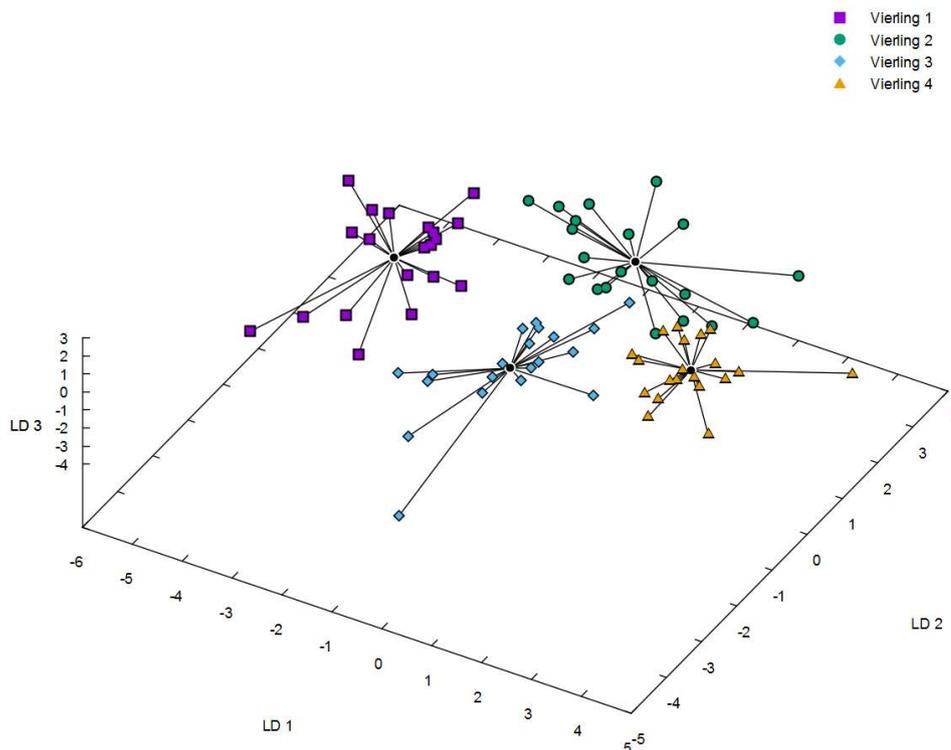


Abbildung 56: Graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse des Vergleichs „Vierlinge“ (jeweils $n = 20$ Messungen pro Klasse) mittels GnuPlot, wobei die Mahalanobis-Distanz (MD) und der Kreuzvalidierungswertes (CVV) bestimmt wurden.

Hierbei zeigen sich signifikante Unterschiede im Vergleich des Vierlings 1 zu den Vierlingen 2, 3 und 4. Auch Vierling 2 ist von Vierling 3 signifikant unterscheidbar. Bei dem Vergleich der Vierlinge 2 und 4, sowie der Vierlinge 2 und 3 zeigen sich keine signifikanten Ergebnisse anhand der MD.

5.6.6. Vergleich Zwillingsspaar 1 und leere Windeln

In einer weiteren Analyse wurden die Proben des Zwillingsspaars 1 miteinander, sowie mit leeren Windeln verglichen. Hierfür wurden drei Klassen zu jeweils $n = 20$ Messungen (bzw. Klasse „leere Windel mit $n = 6$) ausgewertet und anhand ihrer Mahalanobis-Distanz (MD) charakterisiert (siehe Tabelle 26). In dieser Tabelle sind auch die Kreuzvalidierungswerte (CVV) in Klammern dargestellt. Hierbei zeigen sich signifikante Unterschiede in den Proben der Zwillinge 028 und 030. Es zeigt sich ebenfalls, dass sich die Proben des Zwillingsspaars und die leeren Windeln signifikant voneinander unterscheiden. Die Charakterisierung anhand der Sensitivität, Spezifität, des positiven und negativen prädiktiven Wertes ist in der Tabelle 27 dargestellt. Die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgt in Abbildung 57.

Tabelle 26: Charakterisierung der Klassen zueinander anhand ihrer Mahalanobis-Distanz (MD; signifikante Ergebnisse in Fettdruck) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) in Klammern; Vergleich „Zwillingspaar 1“

	Zwilling 030	Leer
Zwilling 028	2.025 (99,25 % of 400)	3.090 (100 % of 120)
Zwilling 030	-	3.098 (100 % of 120)

Tabelle 27: Charakterisierung des Vergleichs „Zwillingspaar 1“

Betrachtete Klassen	Sensitivität	Spezifität	Positiver prädiktiver Wert	Negativer prädiktiver Wert
Z 028 – Z 030	100 %	100 %	100 %	100 %
Z 028 – leer	100 %	100 %	100 %	100 %
Z 030 – leer	100 %	100 %	100 %	100 %

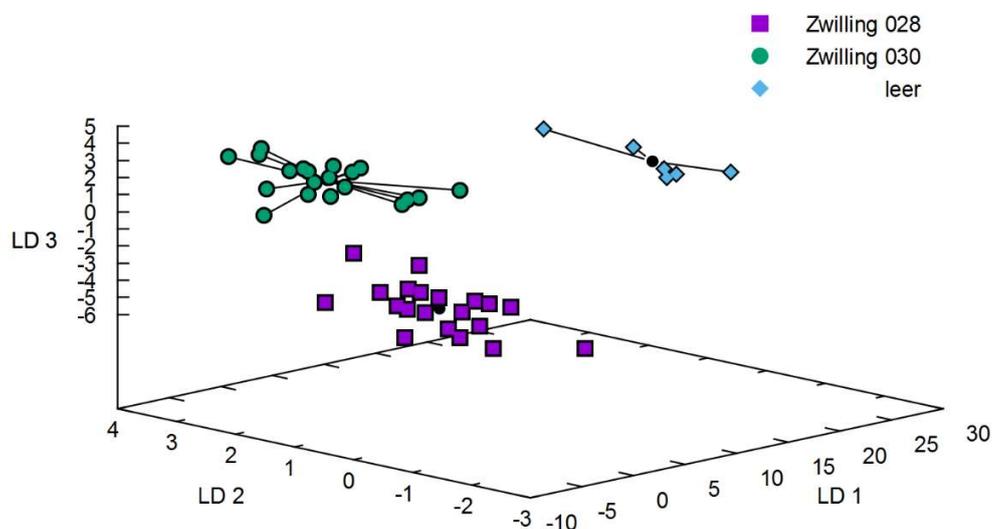


Abbildung 57: Graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse des Vergleichs „Zwillingspaar 1“ (Zwilling 028 und Zwilling 030 jeweils n = 20 Messungen, bzw. n = 6 Messungen in der Klasse „leere Windel“) mittels GnuPlot.

Mithilfe der Mahalanobis-Distanz (MD) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) können die Zwillinge 028 und 030 signifikant voneinander unterschieden werden, es zeigen sich auch signifikante Unterschiede zwischen den leeren Windeln und dem Zwillingspaar 1.

5.6.7. Vergleich Zwillingspaar 2 und leere Windeln

Bei dem Vergleich der Proben des Zwillingspaars 2 und den leeren Windeln wurden pro Klasse ebenfalls $n = 20$ Messungen (bzw. Klasse „leere Windel mit $n = 6$) gewählt. In Tabelle 28 ist neben den Kreuzvalidierungswerten (CVV), die in Klammern angegeben sind, die Auswertung anhand der Mahalanobis-Distanz (MD) dargestellt. Diese ergibt signifikante Unterschiede zwischen den leeren Windeln und den Windeln des Zwillingspaars. Es kann jedoch nicht zwischen Zwilling 029 und Zwilling 031 unterschieden werden. In Tabelle 29 ist die Charakterisierung anhand Sensitivität, Spezifität, positivem und negativem prädiktiven Wert vorgenommen. Die zugehörige Grafik ist in Abbildung 58 dargestellt.

Tabelle 28: Charakterisierung der Klassen zueinander anhand ihrer Mahalanobis-Distanz (MD; signifikante Ergebnisse in Fettdruck) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) in Klammern; Vergleich „Zwillingspaar 2“

	Zwilling 031	leere Windel
Zwilling 029	1.816 (86,88 % of 400)	3.048 (100 % of 120)
Zwilling 031	-	3.070 (100 % of 120)

Tabelle 29: Charakterisierung des Vergleichs „Zwillingspaar 2“

Betrachtete Klassen	Sensitivität	Spezifität	Positiver prädiktiver Wert	Negativer prädiktiver Wert
Z 029 – Z 031	95,0 %	100 %	100 %	95,0 %
Z 029 – leer	100 %	100 %	100 %	100 %
Z 031 – leer	100 %	100 %	100 %	100 %

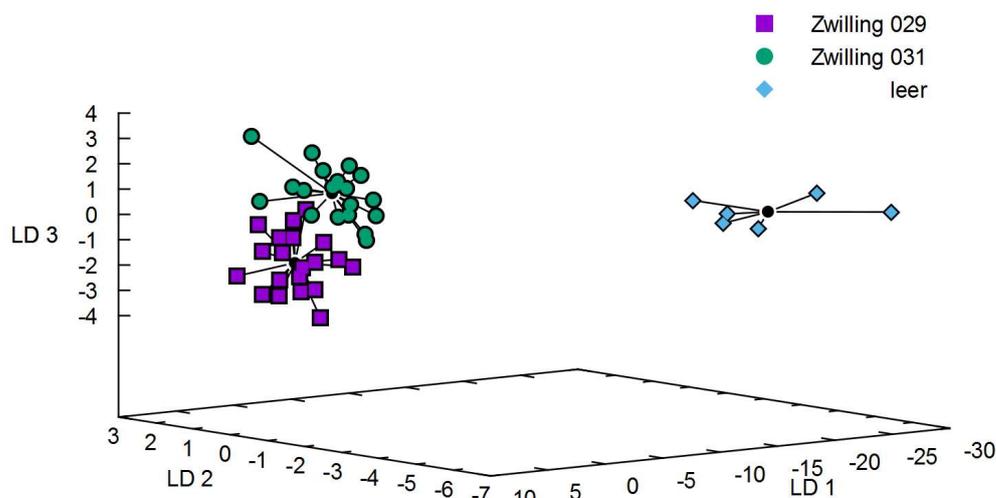


Abbildung 58: Graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse des Vergleichs „Zwillingpaar 2“ (Zwilling 029 und Zwilling 031 jeweils $n = 20$ Messungen, bzw. $n = 6$ Messungen in der Klasse „leere Windel“) mittels GnuPlot. Mithilfe der Mahalanobis-Distanz (MD) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) kann die Proben des Zwillingspaars 2 signifikant von leeren Windeln unterschieden werden.

5.6.8. Vergleich Zwillingpaar 3 und leere Windeln

Die Proben eines weiteren Zwillingspaars wurden untereinander, sowie mit leeren Windeln verglichen. Insgesamt wurden drei Klassen gebildet, wobei pro Klasse eine Anzahl von 21 Messungen (bzw. Klasse „leere Windel mit $n = 6$) festgelegt wurde. Anhand der Mahalanobis-Distanz (MD) sind diese charakterisiert und sind in Tabelle 30 dargestellt. In dieser Tabelle sind auch die Kreuzvalidierungswerte (CVV) in Klammern dargestellt. Sowohl im Vergleich der beiden Zwillinge, als auch im Vergleich zu den leeren Proben zeigen sich signifikante Unterschiede. Die Werte für die Sensitivität, Spezifität, sowie den positiven und negativen prädiktiven Wertes sind in Tabelle 31 dargestellt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 59 graphisch dargestellt.

Tabelle 30: Charakterisierung der Klassen zueinander anhand ihrer Mahalanobis-Distanz (MD; signifikante Ergebnisse in Fettdruck) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) in Klammern; Vergleich „Zwillingpaar 3“

	Zwilling 027	leere Windel
Zwilling 026	1.979 (97,17 % of 441)	3.150 (100 % of 126)
Zwilling 027	-	3.128 (98,81 % of 126)

Tabelle 31: Charakterisierung des Vergleichs „Zwillingspaar 3“

Betrachtete Klassen	Sensitivität	Spezifität	Positiver prädiktiver Wert	Negativer prädiktiver Wert
Z 026 – Z 27	100 %	100 %	100 %	100 %
Z 026 – leer	100 %	100 %	100 %	100 %
Z 027 – leer	100 %	100 %	100 %	100 %

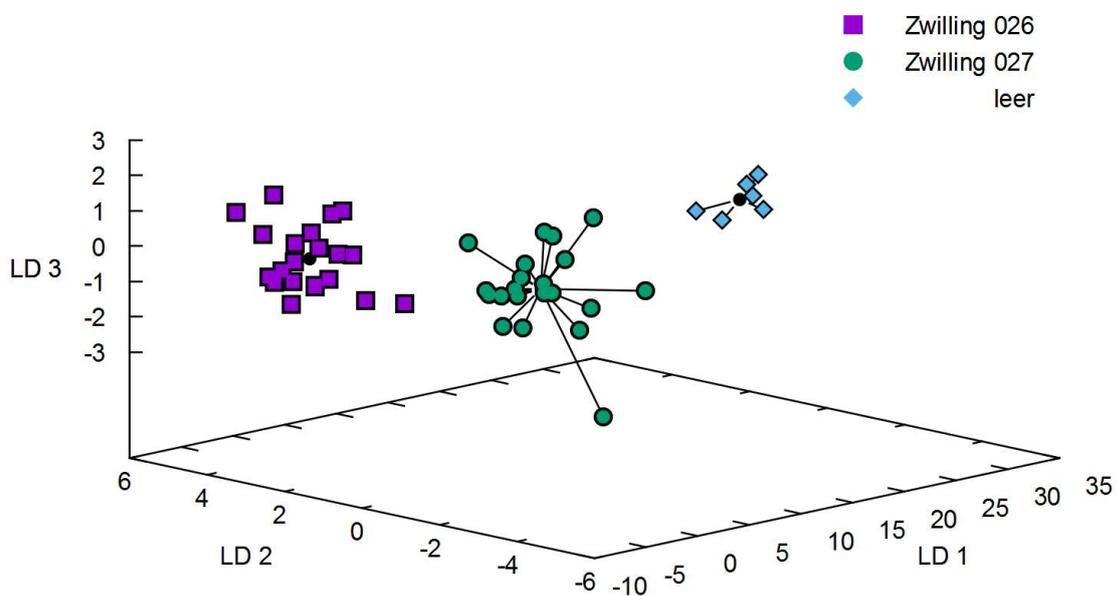


Abbildung 59: Graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse des Vergleichs „Zwillingspaar 3“ (Zwilling 026 und Zwilling 027 jeweils $n = 20$ Messungen, bzw. $n = 6$ Messungen in der Klasse „leere Windel“) mittels GnuPlot.

Mithilfe der Mahalanobis-Distanz (MD) und des Kreuzvalidierungswertes (CVV) können die Zwillinge 026 und 027 signifikant voneinander unterschieden werden, es zeigen sich auch signifikante Unterschiede zwischen den leeren Windeln und dem Zwillingspaar 3.

6. Diskussion

6.1. Diskussion der Hauptergebnisse

Für diese Arbeit wurde von 12 Frühgeborenen über einen Zeitraum von 14 Tagen täglich eine Windel gesammelt. Zuerst musste eine geeignete Analyseverfahren für die Anwendung der *Cyranose*® 320 und des MCC-IMS etabliert werden, die die Messung der Windelproben ermöglicht. Ziel der Arbeit war es, nicht-invasiv gewonnene Bioproben hinsichtlich ihres VOCs-Profiles zu analysieren. Dabei sollte überprüft werden, ob mögliche Biomarker für Infektionen und andere Krankheitszustände zu identifizieren sind. Durch die vorliegende Arbeit konnte gezeigt werden, dass sowohl die multikapillarsäulengekoppelte Ionenmobilitätsspektrometrie, als auch die *Cyranose*® 320 großes Potential in der nicht-invasiven Diagnostik zeigen. Vielversprechend ist, dass eine Unterscheidung zwischen einem gesunden Kind und einem an Sepsis erkrankten Kind vorgenommen werden konnte. Des Weiteren erlaubten die Analysen durch MCC-IMS und *Cyranose*® 320 eine Klassifikation des Windelinhaltes in Stuhl und Urin. Daneben konnte zwischen leeren und vollen Windeln unterschieden werden. Durch diese Erkenntnisse könnte die Entwicklung eines Sensors initiiert werden, der im Sinne des Prinzips des *Minimal Handlings*, bedarfsgerechtes Windelwechseln ermöglicht. Neben dieser Anwendung erscheinen die in dieser Arbeit verwendeten Methoden, vor allem das MCC-IMS, für einen Einsatz im Medikamentenmonitoring geeignet. Die Erkenntnis, dass sogar genetisch gleiche Individuen mittels MCC-IMS voneinander unterschieden werden können, lässt die Idee eines interindividuell spezifischen „*VOCs-Fingerprints*“ aufkommen und sollte weiterverfolgt werden.

6.2. Diskussion bisheriger diagnostischer Möglichkeiten

Vorteile nicht-invasiver Diagnostik

Invasive Maßnahmen bergen eine Vielzahl an Risiken für Frühgeborene. Neben der Entstehung von Anämien sind negative Folgen auf die psychomotorische Entwicklung zu beachten. Bei den ohnehin anämiegefährdeten Frühgeborenen muss der Blutverlust durch Blutentnahmen berücksichtigt werden. Das Blutvolumen von Frühgeborenen liegt nur bei etwa 90-105 ml/kg Körpergewicht, das entspricht bei einem Geburtsgewicht von 1000 g nur 100 ml. In den ersten beiden Wochen auf der Intensivstation muss sich ein *Very Preterm*- Frühgeborenes statistisch 4,1 Venenpunktionen unterziehen (COURTOIS et al., 2016). In der Klinik für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie der Universität des Saarlandes werden für eine Standardlaboruntersuchung 1- 1,25 ml Blut pro Entnahme benötigt. Wird bei Verdacht auf eine Blutstrominfektion eine Blutkultur erforderlich, wird für diese zusätzlich etwa 1 ml Blut abgenommen. Dies

macht deutlich, dass kleine Mengen an entnommenem Blut einen Einfluss auf das Blutvolumen der Kinder haben und es schon bei geringsten Mengen bereits zu einer relevanten Anämie kommen kann (FIKAC, 2019; MAIER, OBLADEN, 2011; OBLADEN et al., 1988; ORLIKOWSKY, 2017; SPEER, 2019; WANG, 2016). Des Weiteren ist in Einzelfällen die Entstehung einer Calcaneusosteomyelitis durch repetitive Fersenblutentnahmen beobachtet worden (BLUMENFELD et al., 1979; GOLDBERG et al., 1981; NOURELDEIN, GOWDA, 2018). Deshalb sollte möglichst restriktiv mit Blutentnahmen verfahren werden, ein gänzlich Ersetzen der Venenpunktion wäre erstrebenswert.

Ein weiterer Vorteil der nicht-invasiven Diagnostik ist die Vermeidung von Schmerzen, da sich diese negativ auf die Frühgeborenen und ihre Entwicklung auswirken können. Zur bewussten Wahrnehmung von Schmerzen muss die thalamokortikale Projektionsbahn vollständig entwickelt sein, dies geschieht in der 24.- 26. Schwangerschaftswoche (MENKE et al., 2012; ZERNIKOW et al., 2015). Somit sind auch Frühgeborene in der Lage Schmerzen zu empfinden. Postnatal sind Frühgeborene zahlreichen Stressfaktoren wie Kälte, Lärm, Licht, Trennung von der Mutter und Schmerz beispielsweise durch Intubation und Punktionen ausgesetzt. Diese Vielzahl an Stressoren kann zu vegetativen Reaktionen wie Bradykardien und Tachy- bzw. Apnoen führen. Addiert man diese Stressfaktoren zu der neurologischen Unreife, lässt sich erklären, dass Frühgeborene häufig nicht fähig sind, adäquat Schmerzen zu verarbeiten, wodurch sich vermehrt Hyperalgesien beobachten lassen (MENKE et al., 2012). In einer Studie wurde bei 136 *Very Low Birth Weight* -Frühgeborenen in einem Gestationsalter von 32 Wochen eine Fersenblutentnahme durchgeführt. Die Schmerzreaktionen wurden durch das Verhalten des Kindes, mittels eines auf der Kindesmimik basierenden Bewertungssystems (NFCS, *Neonatal Facial Coding Systeme*) und durch Veränderungen in der Herzfrequenzvariabilität, ausgehend vom Ruhepuls, quantifiziert. Hierbei zeigte sich, dass der Faktor „wiederholte schmerzhafte Interventionen seit Geburt“ bei Frühgeborenen zu einer Veränderung des Verhaltens und der autonomen Schmerzreaktion beim Setzen des Schmerzreizes führte (GRUNAU et al., 2001). Auch in der Studie von Grunau et al. wurde ein negativer Einfluss von schmerzhaften Eingriffen bei ehemaligen *Very Preterm*-Frühgeborenen auf kognitive und motorische Fähigkeiten gefunden. Hierzu wurden insgesamt 211 Kinder, davon 137 ehemalige Frühgeborene und 74 Kinder der Kontrollgruppe, mithilfe der *Bayley Scales of Infant Development* (2. Edition), des *Mental Development Index* und des *Psychomotor Development Index* getestet. Die Tests fanden zu zwei Zeitpunkten, im Alter von 8 Monaten und 18 Monaten, bzw. entweder zu dem frühen oder dem späteren Zeitpunkt statt (GRUNAU et al., 2009). Auch laut Vinall et al. korrelierte die Anzahl an invasiven Eingriffen bei *Very Preterm*-Frühgeborenen mit Veränderungen der Mikrostruktur der weißen Substanz im Schulalter, die magnetresonanztomographisch nachweisbar sind. Die mikrostrukturellen Veränderungen wurden an einem verminderten Wert für die fraktionale Anisotropie der weißen Substanz festgemacht. Für diese Studie wurden 50 ehemalige *Very Preterm*-Frühgeborene in einem durchschnittlichen Alter von 7,6 Jahren einer

Magnetresonanztomographie (MRT)-Untersuchung sowie einem kognitiven Test (Wechsler-Intelligenztest für Kinder) unterzogen (VINALL et al., 2014).

Zusammenfassend lässt sich ein negativer Einfluss von invasiven Prozeduren auf Neonaten statieren. Um das bestmögliche Ergebnis für die Kinder, auch bezüglich ihres weiteren Lebensweges, zu erreichen, muss eine Veränderung des derzeitigen Diagnostikregimes erfolgen. Deshalb scheint besonders in der Neonatologie die Entwicklung neuartiger, nicht-invasiver Verfahren sinnvoll, auch um eine Restriktion der Blutentnahmen voranzutreiben. Zudem muss beachtet werden, dass, wie bereits in der Einleitung thematisiert, die heutigen diagnostischen Möglichkeiten sehr unspezifisch sind. Neue Chancen bieten die *Cyranose® 320* und das MCC-IMS.

6.3. Diskussion der Ergebnisse

6.3.1. Einsatz des MCC-IMS im Medikamenten-Monitoring

Bei den Messungen der verschiedenen Medikamente zeigten sich signifikanten Ergebnisse: Zum einen konnte zwischen leerer Flasche und der mit dem puren Medikament gefüllten Flasche unterschieden werden (siehe 5.2). Dies zeigt, dass generell Medikamente mittels MCC-IMS detektierbar sind. Des Weiteren bestätigen die Versuche, dass sich die VOCs-Profile von puren Medikamenten von den jeweiligen Profilen im Stuhl und Urin der Kinder, die das entsprechende Medikament erhalten haben, unterscheiden (siehe 5.2). Dies lässt sich zum einen dadurch erklären, dass vom Stuhl und Urin selbst VOCs stammen. Zum anderen muss berücksichtigt werden, dass viele Medikamente im Körper metabolisiert werden, bevor sie ausgeschieden werden. Es könnte folglich möglich sein, die VOCs der Metaboliten nachzuweisen. Ein Beispiel hierfür ist Heparin. Es wird teils im retikuloendothelialen System der Leber, teils in der Niere abgebaut und überwiegend als depolymerisiertes, inaktiviertes Heparin über den Urin eliminiert (HERDEGEN, 2013; OSTHAUS, ZUZAN, 2013). Neben den unterschiedlichen Peaks sind aber auch gleiche Peaks in beiden Teilversuchen detektierbar. Vergleicht man die Leermessungen mit den Messungen des puren Medikamentes, so lassen sich die gleichen Peaks eventuell auf etwaige Rückstände der Reinigung, bzw. auf den Deckel des Laborglases, der aus Polypropylen besteht, zurückführen. Eher unwahrscheinlich ist, dass die leeren Laborgläser, die zur Messung der Proben benötigt werden, das VOCs-Profil beeinflussen. Denn diese sind aus Glas, welches als inertes Material bekannt ist und mit den hier eingesetzten Materialien kaum chemische Wechselwirkungen eingeht (BRAUER, 2015; RATNER et al., 2004). Vielversprechend ist, dass im Vergleich zwischen den Messungen des puren Medikamentes und den Messungen der Stuhl- und Urinproben von Kindern, die die jeweiligen Medikamente erhalten haben, ebenfalls gleiche Peaks existieren. Mutmaßlich lassen sich diese identifizierten Peaks auf die Einnahme des Medikamentes, genauer

gesagt auf die nicht-metabolisierten Bestandteile des Medikaments, zurückführen und bilden die Grundlage für weitere Untersuchungen zur eindeutigen Identifikation volatiler Biomarker. Hierbei muss jedoch einschränkend darauf hingewiesen werden, dass bei diesen Teilversuchen nur eine sehr geringe Stichprobenmenge vorliegt, sodass es sich hierbei vor allem um Tendenzen handelt. Um verlässliche Aussagen treffen zu können, ist folglich eine Fortführung der Versuche mit einer höheren Anzahl an Messungen pro Klasse und mit einem vergrößerten Probandenkollektiv indiziert. Zudem müssen weitere Einflussfaktoren, wie z.B. weitere Medikamentengabe und Fütterungsmodus berücksichtigt werden in der Übertragung der Ergebnisse.

Dennoch eröffnen die Ergebnisse eine neue Möglichkeit im nicht-invasiven Therapiemonitoring. In der Anästhesie ist die intraoperative Messung der Propofol-Konzentration in der Ausatemluft mittels MCC-IMS bereits im Einsatz. Seit 2017 ist das Monitoringgerät für Propofol (*Exhaled Breath Monitor*, EDMON, B. Braun Melsungen AG, Dortmund, Deutschland) ein in der Europäischen Union zugelassenes Medizinprodukt. Hierbei korreliert die ionenmobilitätsspektrometrisch nachgewiesene Konzentration mit dem berechneten Plasma-Propofolspiegel (BUCHINGER et al., 2013; KREUDER et al., 2011; PERL et al., 2009). Durch eine Weiterführung in Folgearbeiten mit höheren Fallzahlen sollte die Methode weiterentwickelt werden, sodass zukünftig eine Quantifizierung der jeweiligen Wirkstoffkonzentrationen möglich wird. Wünschenswert wäre zukünftig ein Monitoring für z.B. Aminoglykosidantibiotika wie Gentamicin. Die Gabe muss durch eine Bestimmung des Gentamicin-Serumspiegels überwacht werden. Konzentrationen unterhalb der minimalen Hemmkonzentration können eine Selektion antibiotikaresistenter Bakterienstämme begünstigen (HÜBNER et al., 2007). Dosierungen des Medikamentes oberhalb der therapeutischen Breite können eine Oto- und Nephrotoxizität zur Folge haben (MEES, 1986; SACK, FREIESLEBEN, 1975; SACK et al., 1976). Deshalb sollte optimalerweise eine Stunde vor der Gentamicin-Gabe, sowie eine Stunde danach eine Bestimmung des Gentamicin-Serumspiegels erfolgen (BARZA, LAUERMAN, 1978; CRAIG, 1998; MAIER, 2017). Weitere Medikamente, die in der Neonatologie im Blut überwacht werden sollten, sind Indometacin, Coffein, Phenobarbital, Phenytoin, Theophyllin, Tobramycin und Vancomycin (MAIER, 2017). Bedenkt man, dass bei Frühgeborenen aus bekannten Gründen restriktiv mit Blutentnahmen verfahren werden sollte, sind regelmäßige Medikamenten-Serumspiegelbestimmungen bei oben genannten Medikamenten obsolet. Dennoch wäre ein Monitoring wünschenswert, um Komplikationen wie Blutungen oder Intoxikationen zu vermeiden.

Ferner sollte eine Entwicklung eines im Inkubator befindlichen Sensors, der in der Lage ist, die Wirkstoffkonzentrationen zu analysieren, initiiert werden. Die gewonnenen Informationen könnten an das ärztliche und pflegerische Personal übermittelt werden. Somit könnte bei jeweiligen Medikamentenspiegeln, die außerhalb des Normbereichs liegen, adäquat reagiert werden.

6.3.2. Minimal handling – intelligenter Inkubator

Während des stationären Aufenthaltes durchlaufen Frühgeborene neben schmerzhaften Interventionen auch nicht-invasive Eingriffe. Dass bereits geringe Einflüsse, wie z.B. das Windelwechseln ein großes Stresspotential für Frühgeborene bergen, wurde in Untersuchungen von Mörelius et al. und Lyngstad et al. gezeigt (LYNGSTAD et al., 2014; MÖRELIUS et al., 2006). Beim Windelwechseln zeigte sich eine erhöhte Leitfähigkeit der Haut (LYNGSTAD et al., 2014), 30 Minuten nach dem Windelwechseln wurde ein erhöhter Cortisolspiegel gemessen (MÖRELIUS et al., 2006). Beide körperliche Reaktionen sind mit einem erhöhten Stresslevel assoziiert. Dabei muss bedacht werden, dass vermehrter Stress bei Frühgeborenen laut Grunau et al. langfristig negative Auswirkungen auf die psychosoziale Entwicklung der Kinder haben kann (GRUNAU et al., 2004). Zudem ist das Öffnen des Inkubators und die Berührung des Kindes mit einer Kontaminations- und Infektionsgefahr assoziiert (CADOT et al., 2019; GOEDICKE-FRITZ et al., 2017).

Durch die vorliegende Arbeit wurde die neue Erkenntnis erlangt, dass mittels MCC-IMS im Rahmen dieser Machbarkeitsstudie eine volle von einer leeren Windel unterschieden werden kann. Sogar eine Klassifizierung des Inhalts in Stuhl und Urin ist möglich (siehe 5.1.3). Zum Zeitpunkt der Probensammlung erfolgte das Windelwechseln in den neonatologischen Stationen mehrmals täglich zu festen Zeitpunkten, unabhängig davon, ob die Windel voll oder leer war. Da aber jedweder exogener Einfluss, wie oben genauer beschrieben, für Frühgeborene problematisch ist, wäre ein bedarfsgerechtes Windelwechseln wünschenswert. Angesichts der Erkenntnis, dass eine volle Windel durch MCC-IMS identifiziert werden kann, ist die Entwicklung eines Sensors möglich, der am Inkubator angebracht werden könnte. Dieser könnte darüber entscheiden, ob ein Windelwechseln erforderlich ist. Ziel ist es, ein unnötiges Wechseln zu vermeiden und somit einen Vorteil für Frühgeborene erlangen.

Das langfristige Ziel ist die Entwicklung eines intelligenten Inkubators, der auch das Monitoring der Vitalfunktionen übernimmt. Denn bei aktiven Frühgeborenen sind Artefakte und Fehlalarme beim bisherigen Monitoring häufig. Es ist jedoch bekannt, dass laute Geräusche wie Alarme, das Stresslevel der Frühgeborenen erhöhen und somit negative Auswirkungen auf das respiratorische und kardiovaskuläre System haben (JOHNSON et al., 2017; POETS, 2018; WACHMAN, LAHAV, 2011). Diese Störfaktoren sollten folglich zukünftig schrittweise reduziert werden, um Langzeitfolgen für die Frühgeborenen zu vermindern. Durch die Bewegungen der Kinder werden häufig Verkabelungen abgerissen und infolgedessen nur noch unzureichende Signale aufgezeichnet, was zu einer Verminderung der Überwachungszeit sowie zu Fehlalarmen führen kann. Außerdem entstehen durch die zahlreichen invasiven und nicht-invasiven Prozeduren bei Frühgeborenen Hautverletzungen. Durch die Kabel, die für den Anschluss an die Überwachungsmonitore nötig sind, sind Drucknekrosen möglich und beim Abziehen der Klebepatches kann es aufgrund der empfindlichen Haut der Frühgeborenen ebenfalls zu Verletzungen kommen (ABBAS et al.,

2011; CARTLIDGE et al., 1990; CHUNG et al., 2019; GALENA, 1992; MONY et al., 2018). Ein Ansatz wurde durch Chung et al. durch die Entwicklung kabelloser Patches verfolgt. Sie sind in der Lage ein EKG sowie mittels Photoplethysmographie neben der Sauerstoffsättigung beispielsweise die Körpertemperatur zu messen und aufzuzeichnen (CHUNG et al., 2019). Zudem gibt es neue Ansätze, mittels Sensortechnologie die Atembewegung der Frühgeborenen aufzuzeichnen, zu analysieren und davon eine Schätzung der aktuellen Atemfrequenz abzuleiten (BELTRÃO et al., 2022).

In einer Studie von Steinbach et al. konnten bei der VOCs-Analyse der Inkubatoratmosphäre drei Peaks identifiziert werden, die einen leeren Inkubator von einem Inkubator, in dem sich ein Kind befindet, unterscheiden. Es wurde jedoch auch darauf aufmerksam gemacht, dass Einfluss- und Störfaktoren, wie z.B. Händedesinfektionsmittel berücksichtigt werden müssen (STEINBACH et al., 2019). Gerade Händedesinfektionsmittel sind etwa 30 min nach Gebrauch immer noch in geringen Mengen in der Inkubatoratmosphäre nachweisbar und müssen berücksichtigt werden (HSIEH et al., 2018).

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen neue Perspektiven auf und sind somit ein maßgeblicher Bestandteil bei der Entwicklung eines intelligenten, berührungslosen Inkubators. Ein entsprechender Sensor, der angibt, ob ein Windelwechsel indiziert ist oder der die Medikamentenspiegel überwacht, könnte in diesem integriert werden und künftig eine Stressreduktion für die Frühgeborenen bedeuten.

6.3.3. VOCs-Fingerprint

Durch die Ergebnisse konnte die Hypothese bestätigt werden, dass jedes Individuum ein persönliches VOCs-Profil aufweist (siehe 5.3). Sogar bei genetisch gleichen Individuen zeigten sich Unterschiede in der Verteilung der VOCs. Angesichts dieser Ergebnisse liegt die Schlussfolgerung nahe, dass für jeden Menschen ein individueller VOCs-Fingerprint zu bestimmen ist. Etwaige Einflussfaktoren auf die untersuchten Bioproben Stuhl und Urin, wie Ernährung und Erkrankungen, sind bisher im pädiatrischen Patientengut nur wenig erforscht und müssen in weiteren Studien identifiziert werden. Es wurde jedoch bereits bei erwachsenen Probanden der Einfluss des Lebensstils auf das VOCs-Profil von Stuhlproben untersucht: Hierbei beeinflussten die Faktoren Rauchen, Vegetarismus und ein niedriger *Body Mass Index* die Stuhlzusammensetzung am stärksten (BOSCH et al., 2019). Außerdem muss geklärt werden, ob sich die VOCs-Zusammensetzung im Laufe des Lebens verändert oder ob sie weitestgehend konstant bleibt. In einer Studie von Zlatkis et al. konnte gezeigt werden, dass das VOCs-Profil des Urins eines Individuums über einen Zeitraum hinweg relativ konstant bleibt (ZLATKIS et al., 1973). Es müssen aber wahrscheinlich auch zirkadiane Schwankungen verschiedener Substanzen, wie z.B. Dimethylamin, berücksichtigt werden (SCHAEFER et al., 2010; TSIKAS et al., 2007). Um die Methode zu erproben, sollte ein größeres Probandenkollektiv gewählt werden. Auch der Einschluss älterer Kinder und erwachsener Probanden in die Studie sollte erfolgen.

Ein Einflussfaktor auf die VOCs-Analysen des Urins könnte das Geschlecht sein. Der durchgeführte Vergleich zwischen dem VOCs-Profil der Stuhl- und Urinproben weiblicher und männlicher Individuen zeigte signifikante Unterschiede. Auch Rhodes et al. konnte geschlechtsspezifische Unterschiede bei gaschromatographischen Analysen von Urinproben finden (RHODES et al., 1981). Ein Einfluss von Geschlechtshormonen kann in diesem Zusammenhang diskutiert werden. Bei erwachsenen Frauen konnten Unterschiede im VOCs-Profil des Urins bei Ovulation gezeigt werden (DISKIN et al., 2003; SMITH et al., 2006), ebenso während der Menstruation (KWAK, PRETI, 2013). Hierzu wurde in einer Studie von Shimizu et al. gezeigt, dass bei menstruierenden Frauen erhöhte Trimethylamin-Spiegel im Urin nachweisbar sind (KWAK, PRETI, 2013; SHIMIZU et al., 2007).

Für diese Fragestellung eines *VOCs-Fingerprints* ist neben der VOCs-Analyse im Stuhl und Urin eine Erprobung an VOCs in der Ausatemluft interessant. In der Ausatemluftanalyse konnten eine Vielzahl an VOCs identifiziert werden, die jedoch nicht alle von klinischer Relevanz sind und sich als Biomarker eignen. Es müssen verschiedene Einflussfaktoren berücksichtigt werden: Neben der Produktion von VOCs durch Mikroorganismen können die VOCs-Analysen der Ausatemluft durch Rauchen, Lebensmittel und Medikamenteneinnahme, beeinflusst werden (HORSCH et al., 2019; HORVÁTH et al., 2017; PLEIL, STIEGEL, 2013; SMOLINSKA et al., 2014).

Dabei stellt sich die Frage, ob auch ein personenspezifisches Exhalom nachweisbar ist. Zu der Überlegung, ob für bestimmte Erkrankungen ein spezifisches Exhalom bzw. spezifische Biomarker zu finden ist, wurden bereits VOCs-Analysen in der Ausatemluft durchgeführt. In verschiedenen Gebieten wurde dies bereits erprobt, wie z.B. bei der Diagnostik von Bronchialkarzinomen (DARWICHE et al., 2011; THRIUMANI et al., 2018), *Asthma bronchiale* und Cystischer Fibrose (CF), sowie bei infektiologischen Fragestellungen wie der Detektion von SARS-CoV-2 und Influenza (DALLINGA et al., 2010; SCHLEICH et al., 2019; SNITZ et al., 2021; VAN MASTRIGT et al., 2016; VAN VLIET et al., 2017; VAN VLIET et al., 2016; WINTJENS et al., 2020). Auch die Detektion von Propofol (BUCHINGER et al., 2013; KREUDER et al., 2011; PERL et al., 2009) bzw. Sevofluran (Kunze, 2015) in der Ausatemluft konnte durchgeführt werden. Passend dazu wurde ein Gerät („Edmon“, *Exhaled Drug Monitor*) entwickelt, der eine Echtzeitmessung von Propofol in der Ausatemluft ermöglicht und kommerziell erhältlich ist (MAURER et al., 2018; WIRTZ et al., 2019).

6.3.4. Sepsisdiagnostik ohne Blutentnahme

Die frühzeitige und sichere Diagnostik einer Sepsis ist trotz ihrer klinischen Bedeutung nach wie vor problematisch. Gerade dieses Krankheitsbild zeigt sich häufig nur durch unspezifische Zeichen. Die Diagnostik ist folglich komplex und ungenau. Infolgedessen erfolgt die Diagnosestellung häufig mit einer

gewissen Latenz, was eine Therapieverzögerung und damit eine Verschlechterung der Prognose bedeutet. Eine Früherkennung könnte somit Leben retten. Die diagnostischen Möglichkeiten bei bakteriellen Infektionen bzw. Sepsis sind laborchemisch und mittels Blutkulturen oft unbefriedigend und nicht ausreichend für eine schnelle und zuverlässige Diagnose (CAMACHO-GONZALEZ et al., 2013; FRANZ et al., 2004; HANDRICK, HUPPERTZ, 2018a; THOMAS et al., 2010; ZEMLIN, 2015; ZEMLIN et al., 2018).

Doch die Ergebnisse dieser Arbeit haben Potential, die bisher insuffiziente Diagnostik zu revolutionieren. Es zeigten sich signifikante Unterschiede in der Auswertung von Bioproben von einem Frühgeborenen mit Sepsis und ohne Sepsis (siehe 5.4). Die Ergebnisse stellen eine Hypothesenverifikation zur Anwendung bei Menschen dar, denn im Tiermodell wurde bereits gezeigt, dass sich das VOCs-Profil der Ausatemluft bei Sepsis verändert (FINK et al., 2015). Hierbei unterschied sich die VOCs-Zusammensetzung von Ratten mit Sepsis im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe. Diese Ergebnisse sind vielversprechend und bedeuten einen Schritt in Richtung nicht-invasiver Diagnostik. Einschränkend muss jedoch beachtet werden, dass bei dem vorliegenden Versuch eine geringe Anzahl ($n = 4$ pro Klasse) an Messungen durchgeführt wurde. Deswegen sollten die Versuche mit höherer Probandenzahl fortgeführt werden.

Ähnliche Studien, die die VOCs-Analyse mittels MCC-IMS in Stuhl und Urin adressieren, liegen bisher nicht vor. Es ist bisher unklar, worauf die Veränderungen in der VOCs-Zusammensetzung bei Sepsis beruhen. Ein möglicher Erklärungsansatz ist, dass es durch die medikamentöse Therapie bei Sepsis zu einer Veränderung im VOCs-Profil kommt. Denn neben einer supportiven Therapie wird nach Diagnosestellung eine empirische antibiotische Therapie begonnen, die nach Vorliegen eines Antibiotogramms angepasst wird. Die Auswahl der Antibiotika erfolgt nach Berücksichtigung von Risikofaktoren (nosokomial oder ambulant akquiriert) und Zeitpunkt des Auftretens (*Early/ Late Onset-Sepsis*) (SCHULZE et al., 2013). Hierbei gibt es wiederum verschiedene mögliche Begründungen für die Veränderungen des VOCs-Profiles: Zum einen könnten die Medikamente an sich detektiert werden, eine andere Möglichkeit ist die Veränderung des Mikrobioms durch Antibiotika. Neben dem Einfluss der Medikamente muss jedoch auch diskutiert werden, ob möglicherweise die pathogenen Erreger selbst Substanzen emittieren, die mittels MCC-IMS wahrgenommen werden können, da sich in mehreren Studien gezeigt hat, dass auch Bakterien in der Lage sind, VOCs zu produzieren (JUNGER et al., 2012; MADDULA et al., 2009). Denkbar wäre auch eine Veränderung des enteralen Mikrobioms durch die Erreger, die sich mittels elektronischer Nasen nachweisen lassen. Da es sich bei der vorliegenden Studie lediglich um eine Beobachtungsstudie handelt, bleiben die genauen Mechanismen der VOCs-Veränderungen ungeklärt.

Nichtsdestotrotz ist neben der Diagnosestellung einer Sepsis auch eine direkte Erregeridentifikation anhand des VOCs-Profiles wünschenswert. Zudem muss an die Möglichkeit eines Antibiotogramms bei resistenten

Erregern gedacht werden, das optimalerweise ebenfalls mithilfe von VOCs-Analysen zu erstellen ist. In Studien konnten bestimmte VOCs bereits Bakterien und Pilzen zugeordnet werden (BOS et al., 2013; CHAMBERS et al., 2011; JUNGER et al., 2012). Wäre diese Zuordnung anhand von VOCs-Analysen möglich, könnte eine schnelle und individuelle antibiotische Therapie eingeleitet werden, sodass beispielsweise auch der Einsatz von Breitspektrum-Antibiotika reduziert werden könnte (KAPPSTEIN, 2007; PATERSON, 2004). Die positiven Effekte hiervon wären die Reduktion der Selektion therapieresistenter Mutationen, sowie ein schnellerer Erfolg der Antibiotika und damit einhergehend eine schnelle Beschwerdelinderung und Prognoseverbesserung (SHANKAR, BALASUBRAMANIAM, 2014; WIEDEMANN, 2007).

6.3.5. Zuordnung biochemischer Substanzen zu den einzelnen Peaks

In Kooperation mit der Firma B. Braun Melsungen AG; Center of Competence Breath Analysis, Dortmund, insbesondere Frau A. Wulff und Herrn Prof. Dr. J.I. Baumbach, konnte für einzelne Peaks der MCC-IMS-Analysen mithilfe einer auf GC-MS-basierender Referenzdatenbank eine mögliche Zuordnung zu verschiedenen Substanzen vorgenommen werden. Eine Übersicht darüber ist in Tabelle 16 einsehbar. In der aktuellen Literatur standen die Substanzen 2-Methylthio-Ethanol, 2-Pentyl-Furan, 2-Hexanon, Benzonitril und Butanal im Zusammenhang mit Bakterienmetaboliten bzw. Krankheiten wie Sepsis.

Die Substanz 2-Methylthio-Ethanol, die in den Messungen dieser Arbeit dem Peak P179 zugeordnet wurde, fand sich in Zusammenhang mit durch MCC-IMS durchgeführten VOCs-Analysen mit Bakterienstämmen von *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus* und *Streptococcus agalactiae*. Daneben war die Substanz Benzonitril (entspricht dem Peak P32 dieser Arbeit) mit den Bakterienstämmen von *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus epidermidis* und *Streptococcus pneumoniae* assoziiert (JUNGER et al., 2012). 2-Pentyl-Furan (entspricht Peak P9) wurde in verschiedenen Untersuchungen als Biomarker für *Aspergillus* identifiziert (BOS et al., 2013; CHAMBERS et al., 2011; SYHRE et al., 2008). Mittels MCC-IMS wurde eine Analyse der VOCs von *Escherichia coli* durchgeführt, dabei wurde 2-Hexanon (entspricht Peak P91) detektiert (MADDULA et al., 2009). Des Weiteren konnten sowohl 2-Hexanon, als auch Butanal bei Untersuchungen im Vergleich verschiedener Krankheitszustände bei Ratten (Endotoxinschock gegen Kontrollgruppe, Endotoxinschock gegen Septischer Schock) in veränderten Konzentrationen gefunden werden (FINK et al., 2015). Zudem wurde bei Patienten mit NEC im Vergleich zu einer Kontrollgruppe Veränderungen in der Konzentration von Aminosäuren und Aminoalkoholen gefunden (DEIANOVA et al., 2022).

Bei VOCs-Analysen von Urinproben fanden sich Ketone, Alkohol, Furan, Pyrrol und Sulphid. Die in den Proben identifizierte Substanz 5-Pentyl-Furan (Tabelle 16) könnte also auch dem Urin zuzuordnen sein.

Diese Ergebnisse zeigen, dass durch die Analysen der Stuhl- und Urinproben mit hoher Wahrscheinlichkeit Substanzen detektierbar sind, die in Zusammenhang mit Bakterien bzw. Pilzen und somit möglichen Pathogenen stehen. Zukünftig könnte es also möglich sein, anhand der Stuhl- und Urinproben Krankheitserreger zu identifizieren und eine schnelle und adäquate Therapie einzuleiten.

Die Versuche sollten in Folgearbeiten weitergeführt werden und um verschiedene Versuche erweitert werden: Parallel zu den MCC-IMS-Messungen könnten Stuhl- bzw. Urinkulturen der Bioproben angelegt werden. Diese könnten bebrütet werden und zum einen konventionell ausgewertet werden, zum anderen könnte eine VOCs-Analyse der auf den Agarplatten wachsenden Bakterien mittels MCC-IMS erfolgen. Durch den Vergleich beider Ansätze könnten Rückschlüsse auf die Bakterienpopulation in den Proben geschlossen werden. Etwaige Veränderungen des enteralen Mikrobioms eines Probanden, die im Laufe der Untersuchungen auftreten, könnten geprüft werden, sowie Einfluss- und Störfaktoren identifiziert werden, um eine präzise Erkennung von Krankheitszuständen zu ermöglichen.

6.4. Ausblick: Intelligenter Inkubator und neue diagnostische Möglichkeiten

Zukünftig könnte die Diagnostik und die Abläufe in der Neonatologie durch Verfahren wie MCC-IMS und *Cyranose® 320* revolutioniert werden. Alle möglichen Anwendungen des MCC-IMS, z.B. im Therapiemonitoring, in der Pflege und in der Krankheits(früh)erkennung, könnten in einem Projekt zusammengefasst werden, das die Entwicklung eines „intelligenten Inkubators“ als Ziel hat.

6.4.1. Stuhlanalysen

Bei der Fortführung der Stuhlanalysen, erscheint eine Erprobung der Methoden bei anderen Krankheitsentitäten vielversprechend. Besonders bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen wie *Colitis ulcerosa* und *Morbus Crohn* wäre der Einsatz für eine einfache und nicht-invasive Diagnosestellung ohne die Notwendigkeit einer Endoskopie und Biopsien denkbar. Zum anderen könnte das MCC-IMS als Verlaufsparemeter und als Marker für die Krankheitsaktivität genutzt werden. Bei einer Studie von Bosch et al. konnten mittels *Field Asymmetric-IMS* Stuhlproben von Probanden mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung von einer gesunden Kontrollgruppe unterschieden werden (BOSCH et al., 2018). Da es dazu auch Studien mithilfe der *Cyranose® 320* gibt, sollte diese Fragestellung auch mittels MCC-IMS nachgegangen werden (DE MEIJ et al., 2014). Parallel dazu wurde die *Cyranose® 320* in der Detektion Nekrotisierender Enterokolitis erprobt (DE MEIJ et al., 2015). Zudem zeigten sich mittels *high-performance*

liquid - Chromatographie ebenfalls Unterschiede im Profil bei Kindern mit NEC (DEIANOVA et al., 2022). Versuche mittels MCC-IMS sollten bei dieser mit bisherigen Mitteln schwierig zu diagnostizierender Erkrankung ebenfalls initiiert werden.

Doch es ergeben sich auch Chancen für die Diagnostik weiterer Erkrankungen: Berkhout et al. zeigten, dass sich bei Patienten mit Bronchopulmonaler Dysplasie im Vergleich zur Kontrollgruppe Veränderungen im VOCs-Profil des Stuhls finden lassen (BERKHOUT et al., 2018). Bei der Genese von kolorektalem Karzinom wird auch dem enteralen Mikrobiom eine große Bedeutung beigemessen, es zeigten sich Unterschiede des Mikrobioms zwischen gesunden Probanden und Patienten, die an kolorektalem Karzinom erkrankt sind (WANG et al., 2015; WEIR et al., 2013). Das MCC-IMS könnte in der Verwendung der VOCs-Analyse des enteralen Mikrobioms betrachtet werden und so z.B. die Indikation für den Einsatz von Probiotika gestellt werden. In mehreren Studien wurde gezeigt, dass durch regelmäßige Probiotikungabe das Risiko, an Nekrotisierender Enterokolitis zu erkranken, reduziert wird (BIN-NUN et al., 2005; DESHPANDE et al., 2007). Eine interessante Fragestellung wäre, ob sich durch die Probiotika-Gabe Veränderungen im VOCs-Profil von Stuhlproben ergeben. Des Weiteren könnte geprüft werden, ob man auf der Grundlage einer VOCs-Analyse eine Indikation zur Behandlung mit Probiotika stellen könnte, wenn dabei eine Dysbalance erkenntlich werden würde.

Als Risikofaktoren für die Pseudomembranöse Kolitis lässt sich eine antibiotische Behandlung mit u.a. Cephalosporinen, Aminoglykosiden und Clindamycin stratifizieren. Dadurch wird das enterale Mikrobiom supprimiert, sodass sich das Bakterium *Clostridium difficile* ausbreiten kann. Dies führt zu starker Diarrhö und kann viele Komplikationen nach sich ziehen, wie z.B. ein toxisches Megakolon. Mittels Stuhlkultur kann die Erkrankung diagnostiziert werden (HANDRICK, HUPPERTZ, 2018b; ZEUZEM et al., 2018). Es könnte in weiteren Studien mit einem erweiterten Patientenkollektiv untersucht werden, ob es mithilfe des MCC-IMS möglich ist, eine Pseudomembranöse Kolitis anhand eines veränderten VOCs-Profiles im Stuhl zu erkennen. Ein Einsatz des MCC-IMS könnte z.B. zur Früherkennung erwogen werden. Ein Einsatz des MCC-IMS im Sinne eines Screeninggerätes, das bestimmt, wann der kritische Punkt erreicht ist, an dem die Darmflora so weit geschädigt ist, dass *Clostridium difficile* den Darm überwuchern könnte, könnte somit erkannt werden. Dies hätte ein sofortiges Absetzen der auslösenden Antibiotika zur Folge. Somit ließe sich der Einsatz weiterer Antibiotika in therapeutischer Intention (Vancomycin, Metronidazol oder Fidaxomicin) vermeiden (HOF, 2017).

6.4.2. Urinanalysen

Denkbar wären auch weitere Urin-Analysen mittels MCC-IMS um verschiedene Fragestellungen zu klären: Bei Probanden mit Infektionen und Pathologien der ableitenden Harnwege könnten beispielsweise etwaige Veränderungen des VOCs-Profiles detektiert werden (SETHI et al., 2013). Bei Untersuchungen mit der

elektronischen Nase „ChemPro 100i“ (EnviroNics Inc., Mikkeli, Finland) ist es bereits gelungen, pathogene Erreger im Urogenitaltrakt voneinander zu unterscheiden. Es wäre sinnvoll, diese Erkenntnisse auch unter Verwendung des MCC-IMS zu überprüfen (ROINE et al., 2014). Dadurch könnte eine schnelle Erregeridentifikation bei Harnwegsinfekten erfolgen, was eine adäquate Behandlung ermöglicht. Gerade bei Bakterien, die dafür bekannt sind, verschiedene Substanzen wie Urease und Nitrit zu produzieren, können interessante Ergebnisse erwartet werden (MCLEAN et al., 1988). Hayward et al. konnten im Urin mittels GC die Bakterien *Escherichia coli* und *Proteus species* voneinander unterschieden werden (HAYWARD, JEAUVONS, 1977). Eine Unterscheidung zwischen mit Bakterien infizierten und sterilen Urinproben war ebenfalls möglich (AATHITHAN et al., 2001). Banday et al. gelang es, mittels GC-MS zwischen gesunden Probanden und Probanden mit Tuberkulose zu unterscheiden, wobei bestimmte Substanzen identifiziert werden konnten, die bei Patienten mit Tuberkulose signifikant erhöht waren (BANDAY et al., 2011).

In Urinproben können Substanzen enthalten sein, die Auskunft über die Stoffwechsellage des Körpers geben, wie z.B. bei Diabetes mellitus. Mittels elektronischer Nase, die mit Nano-Gas-Sensoren arbeitet, konnten in einer Studie von Seesaard et al. anhand von sechs VOCs im Urin, die als Biomarker für Diabetes mellitus eingestuft wurden, Diabetiker von Probanden mit normaler Glucosetoleranz unterschieden werden (SEESAARD et al., 2016). Sinnvoll wäre folglich in diesem Zusammenhang eine VOCs-Analyse mittels MCC-IMS bei Diabetes-Patienten.

Auch in der Detektion urogenitaler Tumoren scheint die VOCs- Analyse von Urin vielversprechend, wie bei Blasenkarzinom (WEBER et al., 2011), Prostatakarzinom (KHALID et al., 2015) und Nierenzellkarzinom (GAO, LEE, 2019; MONTEIRO et al., 2014). Anhand der VOCs-Analyse des Urins konnte auch in mehreren Studien zwischen Patienten mit kolorektalem Karzinom und einer gesunden Kontrollgruppe differenziert werden (ARASARADNAM et al., 2014; MA et al., 2009; MCFARLANE et al., 2019; TYAGI et al., 2021).

Jedoch sind auch bei Urinanalysen verschiedene Einflussfaktoren zu berücksichtigen, wie z.B. Ernährung, Pflegemittel und Medikamente (KWAK, PRETI, 2013; PAULING et al., 1971; SHIRASU, TOUHARA, 2011). Bei Urinanalysen konnten bei einigen Probanden nach Konsum von Spargel verschiedene geruchsintensive Substanzen identifiziert werden (PELCHAT et al., 2010). Diese Einflüsse müssen bei Analysen, gerade bei Kindern jenseits des Säuglingsalters und erwachsenen Probanden, genau identifiziert werden und beachtet werden.

6.4.3. Ausatemluftanalysen

Um die Anwendung des MCC-IMS und der elektronischen Nase auszubauen, wäre auch die Untersuchung von Pathologien in der Ausatemluft interessant, z.B. bei Asthmatikern und Patienten mit Cystischer Fibrose (CF). Mithilfe der GC-MS konnten bereits vielversprechende Ergebnisse auf dem Gebiet der pädiatrischen Pneumologie erzielt werden. Kinder mit *Asthma bronchiale* konnten von einer gesunden Kontrollgruppe unterschieden werden. Mittels *Broadband Quantum Cascade Laser Spectroscopy* konnten Kinder mit Asthma von Kindern mit CF differenziert werden (DALLINGA et al., 2010; VAN MASTRIGT et al., 2016). Bei CF sind vor allem die chronische Besiedlung mit multiresistenten Keimen ein Problem. Durch das MCC-IMS könnte eine Analyse des Exhaloms erfolgen. Daneben wäre eine genaue und schnelle Identifikation der Erreger, die sich im Bronchialtrakt befinden, wie beispielsweise *Pseudomonas aeruginosa*, erstrebenswert. Dadurch könnte eine gezielte Therapie ermöglicht und somit die Entwicklung weiterer multiresistenter Keime vermindert werden (KÖHNLEIN, WELTE, 2014; SCHWARZ et al., 2018). Von Levan et al. konnte das bakterielle Lipid 12,13-diHOME im Stuhl mit einem erhöhten Risiko für Asthma in Verbindung bringen (LEVAN, 2018; LEVAN et al., 2019). Auch bereits andere Autoren gehen von einem Einfluss des enteralen Mikrobioms auf die Genese von Asthma und allergischen Erkrankungen aus (ARRIETA et al., 2015; FUJIMURA, LYNCH, 2015; JOHNSON et al., 2005). Deshalb wäre es interessant, ob mögliche Biomarker für Asthma im Stuhl mittels MCC-IMS identifiziert werden können. Weitere infektiologische Fragestellungen könnten, wie die Detektion pathogener Viren, durch VOCs-Analyse identifiziert werden und bergen somit u.a. in der Eindämmung von Pandemien ein großes Potential (STEPPERT et al., 2020; STEPPERT et al., 2021). In VOC-Analysen der Ausatemluft konnte Influenza und SARS-CoV-2 nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse können zur Entwicklung eines nicht-invasiven Screeningtools auf hoch ansteckende Infektionserkrankungen beitragen, das schnell Infizierte detektieren kann.

Aber auch bei malignen Erkrankungen zeigen VOCs-Analysen in der Ausatemluft Einsatzmöglichkeiten auf: Bei der massenspektrometrischen Analyse der Ausatemluft-VOCs fanden Fu et al. bei Probanden mit bekanntem Bronchialkarzinom eine gegenüber gesunden Kontrollgruppen (Raucher und Nichtraucher) und Patienten mit benignen Lungentumoren signifikant erhöhte Konzentration an den Substanzen 2-Butanon, 2-Hydroxyacetaldehyd, 3-Hydroxy-2-Butanon und 4-Hydroxyhexenal (FU et al., 2014). Bereits durch Song et al. wurde u.a. 3-Hydroxy-2-Butanon bei Ausatemanalysen von Probanden mit Bronchialkarzinom in signifikant erhöhter Konzentration gegenüber einer gesunden Kontrollgruppe gefunden (SONG et al., 2010). Außerdem wurde durch MCC-IMS-Analysen bei Patienten mit Bronchialkarzinom eine unterschiedliche VOCs-Zusammensetzung auf der mit Tumor befallenen Seite im Vergleich zur nicht betroffenen Seite gefunden (DARWICHE et al., 2011) (siehe 3.4.2).

Aber auch in hepatologischen Fragestellungen gibt es erste Studien: Eng et al. zeigten beispielsweise, dass sich durch die Ausatemluft-VOCs-Analyse mittels *Selected Ion Flow Tube*- Massenspektrometrie Kindern

mit chronischer Leberinsuffizienz von einer gesunden Kontrollgruppe differenzieren lassen (ENG et al., 2015).

Einen großen Stellenwert haben die Ausatemluftanalysen auch in der Intensivmedizin und Anästhesie: Hüppe et al. haben mittels MCC-IMS Ausatemluftanalysen auf der Intensivstation durchgeführt. Es wurden Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz, die im Verlauf der Messungen therapeutisch hämodialysiert wurden, mit einer Kontrollgruppe mit normaler Nierenfunktion verglichen: Dabei zeigten sich bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz von insgesamt 60 Peaks 45 Signale, die im Vergleich zur Kontrollgruppe in ihrer Signalintensität signifikant erhöht waren. 34 Signale wurden während der Hämodialyse in abgeschwächter Intensität abgegeben (HÜPPE et al., 2019). Es wurden ebenfalls intraoperative MCC-IMS-Analysen der Ausatemluft durchgeführt, wobei die Propofolkonzentration der Ausatemluft gemessen wurde (BUCHINGER et al., 2013; KREUDER et al., 2011; PERL et al., 2009); vgl. 6.3.1).

Die VOCs-Analysen von Stuhl, Urin und der Ausatemluft zeigen also in vielen Gebieten ein enormes Potential. Die Fortführung der Versuche mit Stuhl- und Urinproben ist indiziert und sollte in größerem Umfang und an einem größeren Patientenkollektiv erfolgen. Ebenfalls zu erwägen ist die Etablierung von Ausatemluftanalysen.

6.5. Diskussion der Methodik

6.5.1. Probenentnahme und Einfluss auf Stuhl- und Urinproben

Die Studie wurde am Universitätsklinikum des Saarlandes in der Klinik für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie durchgeführt. Als Proben dienten Windeln von Frühgeborenen. Vorteilhaft an der Verwendung von Windeln ist, dass sie als Abfallprodukte jeden Tag mehrmals anfallen und jeweils im Abstand von drei Stunden gewechselt werden. Durch das Sammeln der Windel entsteht kein zusätzlicher Stress und es besteht keine zusätzliche Infektionsgefahr für die Frühgeborenen. Allerdings muss berücksichtigt werden, dass sich nicht zwangsläufig zu allen Zeitpunkten des Windelwechsels auch Stuhl und Urin in der Windel befinden. Des Weiteren muss beachtet werden, dass die Windeln vom Pflegepersonal oder den Eltern gewechselt wurden und dabei häufig Feuchttücher verwendet wurden, die in die Windel eingelegt wurden. Deshalb sollten in Folgearbeiten mögliche Einflüsse der Pflegeutensilien berücksichtigt werden. Auch bei den verwendeten Desinfektionsmitteln sollte abgeklärt werden, ob sich diese auf das VOCs-Profil auswirken (STEINBACH et al., 2019).

Für weitere Untersuchungen zu beachten wäre, ob das Kind an einer Windeldermatitis leidet, die mit *Candida albicans* und *Staphylococcus aureus* assoziiert ist. Sie ist eine der häufigsten dermatologischen Erkrankungen im Kindesalter, ihre Genese ist multifaktoriell (ADAM, 2008; FÖLSTER-HOLST et al., 2011). Mögliche Einflüsse der auslösenden Mikroorganismen auf das VOCs-Profil müssten evaluiert werden. Bei Untersuchungen mit der *Cyranose® 320* konnte gezeigt werden, dass es Unterschiede im VOCs-Profil zwischen direkt nach der Sammlung gemessenen Stuhlproben und nach drei Stunden bei Raumtemperatur gelagerten Proben gibt (BERKHOUT et al., 2016). Da es möglicherweise, in der Zeit zwischen den Windelwechseln zu Veränderungen aufgrund enzymatischer und bakterieller Prozesse in Stuhl und Urin kommt, sollte der Einfluss der Liegedauer des Kinders in Urin und Stuhl auf das VOCs-Profil bei MCC-IMS-Messungen überprüft werden. Ein möglicher Einflussfaktor auf das VOCs-Profil müsste ebenfalls in weiteren Studien überprüft werden: Stillen oder Flaschennahrung. Denn El Manouni El Hassini et al. fanden bei VOCs-Analysen mit der *Cyranose® 320* signifikante Unterschiede in den Stuhlproben von gestillten Kindern und Kindern, die mit Formula-Milch gefüttert wurden (EL MANOUNI EL HASSANI et al., 2018). Dieser Einfluss sollte also in nachfolgenden Studien mit MCC-IMS überprüft werden.

Betrachtet man die Gegebenheiten bei Untersuchungen des Mikrobioms, ist es wichtig, dass bei der Sammlung der Stuhlproben die mikrobielle Besiedlung erhalten bleibt. Die Bedingungen für Sammlung und Lagerung sollten vergleichbar sein und die Bioproben optimal über einen längeren Zeitraum konservieren (SINHA et al., 2015; WONG et al., 2017; WU et al., 2019). In dieser Arbeit wurden die Windeln nach *Standard Operating Procedure (SOP)* gesammelt und verarbeitet, sodass die Bedingungen diesbezüglich

weitestgehend konstant gehalten werden können. Auch die Lagerung der Proben bei -80 °C, wie hier durchgeführt, wird als besonders günstig für mikrobielle Proben angesehen (DOMINIANNI et al., 2014).

In diesem Zusammenhang wäre auch interessant zu überprüfen, ob der Geburtsmodus (*Sectio Caesarea* oder vaginale Geburt) das VOCs-Profil beeinflusst. In einigen Studien wurde gezeigt, dass die Entwicklung des kindlichen, enteralen Mikrobioms abhängig vom Geburtsmodus ist (DOMINGUEZ-BELLO et al., 2010; FANARO et al., 2003; PENDERS et al., 2014; PENDERS et al., 2006). Als möglicher Grunde wird angenommen, dass die Kinder bei einer spontanen Geburt primär dem vaginalen und enteralen Mikrobiom der Mutter ausgesetzt sind, bei einer Geburt mittels Sectio stehen der Kontakt mit Krankenhausmitarbeitern und der Klinikumgebung im Vordergrund (FANARO et al., 2003; PENDERS et al., 2014).

6.5.2. Methoden

Das MCC-IMS und die *Cyranose*® 320, die in dieser Arbeit zur Probenanalyse verwendet wurden, stellen sich als sehr empfindliche Messgeräte dar. Das MCC-IMS ist in der Lage, Stoffe bereits in geringen Konzentrationen (pg/l) zu detektieren, was sie einerseits zu einer sehr präzisen Methode, andererseits aber auch sehr anfällig für Störfaktoren macht. Bereits geringe Spuren eines Duftstoffes können einen Einfluss auf die Messungen haben und die Ergebnisse verfälschen. Dies macht die Messungen sehr aufwendig. Um äußere Einflüsse zu minimieren, wurden verschiedene Maßnahmen getroffen. Zum einen wurden vor den Messungen alle Schläuche und Glasflaschen nach einem standardisierten Verfahren gemäß SOP gereinigt (siehe 4.3.5). Die Messungen wurden in einem separaten, geschlossenen Raum mit Lüftungsanlage unter gleichbleibenden Bedingungen durchgeführt. Des Weiteren erfolgten die *Headspace*-Messungen in einem weitestgehend geschlossenen System aus Schläuchen und Glasflaschen, sodass auch hier die äußeren Einflüsse reduziert wurden. Das gesamte System wurde mit ultrareiner synthetischer Luft durchgespült. Einschränkend ist darauf hinzuweisen, dass bei der Einlage der Probe in die kleine Glasflasche das geschlossene System für wenige Sekunden geöffnet wird. Um dies auszugleichen, wurden die leeren Glasflaschen vor der Probeneingabe mit synthetischer Luft befüllt, sodass durch das Öffnen kein Einfluss auf die Messungen zu erwarten ist.

Nach den Messungen zeigte sich bei stark mit Urin und Stuhl befüllten Windeln eine hohe Peakintensität, sowie Überlagerungen, die die darauffolgenden Messungen negativ beeinflussten. Um die Messungen trotz etwaiger Überlagerungen aufgrund hoher Signalintensitäten bestimmter Peaks auswerten zu können, wurde jede Probe auf zwei verschiedenen Arten analysiert (siehe 4.3.3): Im ersten Durchgang des Messzyklus pur und nach einer Reinigungsprozedur mittels „Feuchter Null“ (FN) mit 1 ml *Ultra Pure Water* verdünnt. Auf diese Weise konnten Verunreinigungen und Überlagerungen vermindert werden. Dabei ist eine abschließende Bewertung, welche Methode präferiert werden sollte, schwierig. Zum einen muss erwähnt werden, dass die verdünnten Proben insgesamt geringere Signalintensitäten zeigten, aber auch neue Peaks

hervorbrachten. Es muss diskutiert werden, ob durch die Verdünnung eventuell relevante Signale abgefangen werden. Außerdem ist hierbei unklar, ob in der Verdünnung neu aufgetretene Peaks aufgrund des *Ultra Pure Waters* an sich zustande kommen oder dadurch entstehen, dass die sehr intensiven Peaks vermindert werden und sich auf diese Weise auch neue, weniger intensive Peaks zeigen. Ebenfalls möglich wäre die Generierung neuer Peaks durch die Reaktion des Lösemittels *Ultra Pure Water* mit einzelnen Substanzen des Stuhls und Urins.

Aufgrund der Überlagerungen wurde nach der Messung einer Probe auch mindestens eine Spülung des MCC-IMS mittels "Feuchter Null"-Programm (FN) durchgeführt. Dadurch konnten die Qualität und somit die Vergleichbarkeit der Messungen konstant hochgehalten werden. Um die Methode für weitere Versuche zu verbessern, könnten Änderungen im Messablauf, sowie in Messeinstellungen und -sequenz vorgenommen werden. Ein kontinuierlicher Zufluss der synthetischen Luft in die große Laborflasche (siehe Abbildung 9) erscheint sinnvoll, um möglichen Zustrom der Umgebungsluft zu minimieren. Bei Betrachtung der Messsequenz könnten zwei Änderungen vorgenommen werden. Zum einen könnte die Gasflussrate (*Flow Sample*) von bisher 100 ml/min auf 300 ml/min erhöht werden. Diese dient dem Spülen der Probenschleife und -zuführung. Durch diese gesteigerte Flussrate könnten Überlagerungen und Verunreinigungen der aufeinanderfolgenden Messungen vermieden werden. Außerdem sollte überprüft werden, ob die Spülungen mittels FN zu reduzieren sind, um die Dauer der Messsequenz verkürzen zu können und somit schnellere Ergebnisse zu erlangen. Daneben könnte das Einfügen einer Pause in die Sequenz, nachdem die Probe eingebracht wurde, überlegt werden. Auf diese Weise könnte der Rückfluss des Gerätes ausgenutzt werden. Die Probenschleife und die Probenzuführung werden bereits kontinuierlich in Abhängigkeit der Gasflussrate durchgespült wird. Durch eine längere Pause in der Sequenz (etwa 15-30 Minuten) könnte die Intensität der im Laborglas befindlichen Probe weiter reduziert werden, da in dieser Zeit der Rückfluss des Gerätes ausgenutzt werden kann und somit eine längere Durchspülung mit synthetischer Luft erfolgen würde. Infolgedessen wird erwartet, dass Überlagerungen vermieden werden und die Probenintensität abgemildert wird, was auch mit einer geringeren Verschmutzung der Probenschleife und -zuführung einhergeht. Insgesamt wird ein qualitativ besseres Ergebnis für die Folgemessungen erwartet. Weitere positive Folgen sind möglich: Zunächst könnte das Spülen mittels FN reduziert werden und somit die Messsequenz verkürzt werden. Des Weiteren ist zu überlegen ist, ob durch diese Veränderungen eine Verdünnung der Proben wegfallen kann.

In 3.4.1 wurde bereits angesprochen, dass neben MCC-IMS und *Cyranose® 320* verschiedene Studien zur VOCs-Analyse mittels GC-MS durchgeführt wurden. Die Methoden MCC-IMS und GC-MS unterscheiden sich in verschiedenen Punkten voneinander: Betrachtet man das benötigte Gas, so wird für die GC-MS ein Inertgas, d.h. ein Gas, das sehr reaktionsträge ist, gebraucht (WINNIKE et al., 2015). Für das in dieser Arbeit verwendete MCC-IMS hingegen wird nur eine definiert zusammengesetzte, synthetische Luft

benötigt, die einen preislichen Vorteil bietet (BAUMBACH, 2006). Bei der GC-MS wird die komplette Probe in die Gasphase überführt. Deshalb müssen die Proben bevor sie in das GC-MS injiziert werden können, aufgereinigt werden. Somit ist neben den hohen laufenden Kosten auch ein hoher Arbeitsaufwand bei der GC-MS zu konstatieren. Bei der MCC-IMS können auch unreine Substanzen, wie im Fall dieser Arbeit Stuhlproben, gemessen werden, denn dabei werden lediglich die VOCs der Proben eingesogen, es muss folglich nicht die gesamte Probe wie bei der GC-MS injiziert werden (BAUMBACH, 2006; CUMERAS et al., 2015a). Zur Analyse der Proben müssen diese bei beiden Verfahren zuerst in eine Gasphase überführt werden. Dies wird bei der GC-MS meist durch einen Säulenofen umgesetzt, der etwa eine Temperatur von 300 °C erreicht (GEY, 2015). Bei der Verwendung der MCC-IMS wird die Probe außerhalb des Gerätes in einem Wasserbad erwärmt. Dies stellt bei diesem Versuchsaufbau quasi physiologische Bedingungen dar, da das Wärmebad, wie der menschliche Körper, bei 37 °C temperiert ist.

Nach Überführen in die Gasphase erfolgt bei beiden Verfahren eine Ionisierung der sich in der Probe befindlichen Teilchen. Bei dieser Ionisierung lassen sich ebenfalls Unterschiede finden, so wird bei der MCC-IMS mit einem β -Strahler (^{63}Ni -Betastrahler, Aktivität: 95 MBq) verwendet. Bei GC-MS gibt es verschiedene Verfahren, wie z.B. Elektronenstoßionisation oder chemische Ionisation (AURICH, RINZE, 2013; GEY, 2015; SALZER et al., 2016).

Es gibt auch die Möglichkeit, beide Verfahren zu koppeln, sodass die Methode der Pyrolyse-Gaschromatographie-Ionenmobilitätsspektrometrie-Massenspektrometrie entsteht. Hierbei wird eine Gaschromatographie-Säule zur Vortrennung genutzt, danach wird die Probe zur Analyse in ein TOF-MS sowie in ein IMS geleitet. Eine Probe kann so unter gleichen Bedingungen nach Vortrennung mittels GC mit zwei verschiedenen Verfahren analysiert werden. Vorteilhaft hierbei ist, dass die Proben nach gaschromatographischer Vortrennung mit gleicher Retentionszeit zu den weiteren Analyseverfahren MS und IMS gelangen (CUMERAS et al., 2015b; SNYDER et al., 2004).

Um eine Substanzdatenbank für MCC-IMS aufzubauen und entsprechende Peaks bestimmten biochemischen Substanzen zuordnen zu können, besteht die Möglichkeit die Proben ebenfalls mittels GC-MS zu analysieren und mit den bereits etablierten Datenbanken anzugleichen. Da die Methode der GC-MS schon längere Zeit etabliert ist, existieren hierfür bereits zahlreiche Substanzdatenbanken (JÜNGER et al., 2010; MADDULA et al., 2012). Die Vorteile des MCC-IMS für diese Arbeit waren, dass eine *Bedside*-Diagnostik prinzipiell möglich ist. Das Gerät kann im Gegensatz zum GC-MS mobil auf einem Wagen mit einer 10 l- Flasche synthetischer Luft betrieben werden, durch einen Akku ist auch der Betrieb ohne Anschluss an das Stromnetz möglich (STEINBACH et al., 2019). Die Messungen sind mit einer Dauer von 37,5 min pro Messsequenz verbunden. In der Zusammenschau oben genannter Punkte, ist die Verwendung der GC-MS ist für die Fragestellung jedoch nicht umsetzbar.

Vergleicht man die *Cyranose® 320* mit dem MCC-IMS, so lassen sich viele Punkte kontrovers diskutieren. Hierbei sind verschiedene Funktionsweisen zu beachten: Das Prinzip der *Cyranose® 320* beruht darauf, dass die 32 Sensoren, verschieden stark aktiviert werden. Diese Aktivierung hängt von der Zusammensetzung der jeweiligen Probe ab. Hierbei werden bestimmte Muster aufgezeichnet, die typisch für die Probe sind und die wiedererkannt werden können (NAGLE et al., 1998; PEARCE et al., 2006; THALER, HANSON, 2005). Es ist jedoch nicht möglich, eine qualitative Analyse der exakten Substanzen, aus welchen sich die Probe zusammensetzt, vorzunehmen. Einzelsubstanzen sind somit nicht identifizierbar (siehe 4.4.1). Dem entgegen steht das Prinzip des MCC-IMS. Hierbei stellen die aufgezeichneten Spektren primär auch bestimmte Muster dar. Die darin enthaltenen Peaks lassen sich aber neben der quantitativen Aufzeichnung auch qualitativ zuordnen. Diese Zuordnung ist jedoch nur möglich, wenn eine MCC-IMS-Datenbank bereits etabliert ist (siehe 4.3.1). Sowohl mit der *Cyranose® 320*, als auch mit dem MCC-IMS ist eine *Bedside*-Diagnostik möglich. Es muss jedoch eingeräumt werden, dass die *Cyranose® 320* aufgrund ihrer Größe und Handlichkeit, obwohl sie auf die Spülung mittels synthetischer Luft angewiesen ist, vorteilhaft für die Diagnostik im Patientenzimmer ist. Die Anschaffungskosten des MCC-IMS sind, verglichen mit der *Cyranose® 320*, um ein Vielfaches höher. Betrachtet man die Messdauer, so lässt sich ein klarer Vorteil für die *Cyranose® 320* mit einer Messdauer von etwa einer Minute pro Probe statieren. Hierbei ist es sogar möglich, das Ergebnis direkt am Bildschirm des Gerätes abzulesen, wohingegen die MCC-IMS-Messungen pro Sequenz 37,5 Minuten in Anspruch nehmen und erst nach aufwändiger Analyse verwendet werden können. Allerdings müssen für beide Methoden die möglichen Einflussfaktoren berücksichtigt werden, für die Messungen auf Station wären diese vor allem Desinfektionsmittel, Pflegepersonal, Eltern und Pflegeprodukte der Kinder. Um eine Methode zur Identifikation von Biomarkern für Erkrankungen zu entwickeln, ist es sinnvoll, primär die MCC-IMS zu verwenden, denn nur durch diese ist eine qualitative VOCs-Analyse gewährleistet, d.h. es ist nur damit möglich, den einzelnen Peaks bestimmte Substanzen der Substanzdatenbank zuzuordnen.

7. Literaturverzeichnis

1. Aathithan S, Plant JC, Chaudry AN, French GL (2001) Diagnosis of Bacteriuria by Detection of Volatile Organic Compounds in Urine Using an Automated Headspace Analyzer with Multiple Conducting Polymer Sensors. *Journal of Clinical Microbiology* 39:2590-2593
2. Abbas AK, Heimann K, Jergus K, Orlikowsky T, Leonhardt S (2011) Neonatal non-contact respiratory monitoring based on real-time infrared thermography. *Biomedical engineering online* 10:93
3. Adak MF, Yumusak N (2016) Classification of E-Nose Aroma Data of Four Fruit Types by ABC-Based Neural Network. *Sensors (Basel)* 16:304
4. Adam R (2008) Skin Care of the Diaper Area. *Pediatric Dermatology* 25:427-433
5. Arasaradnam RP, McFarlane MJ, Ryan-Fisher C, Westenbrink E, Hodges P, Thomas MG, Chambers S, O'Connell N, Bailey C, Harmston C (2014) Detection of colorectal cancer (CRC) by urinary volatile organic compound analysis. *PloS one* 9:e108750
6. Arrieta M-C, Stiemsma LT, Dimitriu PA, Thorson L, Russell S, Yurist-Doutsch S, Kuzeljevic B, Gold MJ, Britton HM, Lefebvre DL (2015) Early infancy microbial and metabolic alterations affect risk of childhood asthma. *Science translational medicine* 7:307ra152-307ra152
7. Aurich HG, Rinze P (2013) *Chemisches Praktikum für Mediziner*, Springer-Verlag).
8. Banday KM, Pasikanti KK, Chan EC, Singla R, Rao KV, Chauhan VS, Nanda RK (2011) Use of urine volatile organic compounds to discriminate tuberculosis patients from healthy subjects. *Anal Chem* 83:5526-5534
9. Barker DP, Rutter N (1995) Exposure to invasive procedures in neonatal intensive care unit admissions. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 72:F47-48
10. Barza M, Lauermann M (1978) Why monitor serum levels of gentamicin? *Clinical Pharmacokinetics* 3:202-215
11. Baumbach JI (2006) Process analysis using ion mobility spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 384:1059-1070
12. Baumbach JI (2009) Ion mobility spectrometry coupled with multi-capillary columns for metabolic profiling of human breath. *J Breath Res* 3:034001
13. Beltrão G, Stutz R, Hornberger F, Martins WA, Tatarinov D, Alae-Kerahroodi M, Lindner U, Stock L, Kaiser E, Goedicke-Fritz S, Schroeder U, R BSM, Zemlin M (2022) Contactless radar-based breathing monitoring of premature infants in the neonatal intensive care unit. *Sci Rep* 12:5150
14. Benjamin DK, DeLong E, Cotten CM, Garges HP, Steinbach WJ, Clark RH (2004) Mortality following blood culture in premature infants: increased with Gram-negative bacteremia and candidemia, but not Gram-positive bacteremia. *J Perinatol* 24:175-180
15. Berkhout D, Benninga M, van Stein R, Brinkman P, Niemarkt H, de Boer N, de Meij T (2016) Effects of sampling conditions and environmental factors on fecal volatile organic compound analysis by an electronic nose device. *Sensors* 16:1967
16. Berkhout DJC, Niemarkt HJ, Benninga MA, Budding AE, van Kaam AH, Kramer BW, Pantophlet CM, van Weissenbruch MM, de Boer NKH, de Meij TGJ (2018) Development of severe bronchopulmonary dysplasia is associated with alterations in fecal volatile organic compounds. *Pediatr Res* 83:412-419
17. Bijland LR, Bomers MK, Smulders YM (2013) Smelling the diagnosis: a review on the use of scent in diagnosing disease. *Neth J Med* 71:300-307
18. Bin-Nun A, Bromiker R, Wilschanski M, Kaplan M, Rudensky B, Caplan M, Hammerman C (2005) Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates. *The Journal of pediatrics* 147:192-196
19. Blencowe H, Cousens S, Oestergaard MZ, Chou D, Moller AB, Narwal R, Adler A, Vera Garcia C, Rohde S, Say L, Lawn JE (2012) National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates

- in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications. *Lancet* 379:2162-2172
20. Blumenfeld TA, Turi GK, Blanc WA (1979) Recommended site and depth of newborn heel skin punctures based on anatomical measurements and histopathology. *Lancet* 1:230-233
 21. Bos LD, Sterk PJ, Schultz MJ (2013) Volatile metabolites of pathogens: a systematic review. *PLoS Pathog* 9:e1003311
 22. Bosch S, El Manouni El Hassani S, Covington JA, Wicaksono AN, Bomers MK, Benninga MA, Mulder CJ, De Boer NK, De Meij TG (2018) Optimized sampling conditions for fecal volatile organic compound analysis by means of field asymmetric ion mobility spectrometry. *Analytical chemistry* 90:7972-7981
 23. Bosch S, Lemmen JP, Menezes R, van der Hulst R, Kuijvenhoven J, Stokkers PC, de Meij TG, de Boer NK (2019) The influence of lifestyle factors on fecal volatile organic compound composition as measured by an electronic nose. *J Breath Res* 13:046001
 24. Brauer DS (2015) Bioaktive Gläser: Struktur und Eigenschaften. *Angewandte Chemie* 127:4232-4254
 25. Brekelmans MP, Fens N, Brinkman P, Bos LD, Sterk PJ, Tak PP, Gerlag DM (2016) Smelling the Diagnosis: The Electronic Nose as Diagnostic Tool in Inflammatory Arthritis. A Case-Reference Study. *PLoS One* 11:e0151715
 26. Brunkhorst FM, Schmitz RP (2013) Leitliniengerechte Blutkulturdiagnostik bei Sepsis. *intensiv* 21:261-263
 27. Buchinger H, Kreuer S, Hellbrück R, Wolf A, Fink T, Volk T, Bödeker B, Maddula S, Baumbach J (2013) Minimal retarded Propofol signals in human breath using ion mobility spectrometry. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry* 16:185-190
 28. Buijck M, Berkhout DJ, de Groot EF, Benninga MA, van der Schee MP, Kneepkens CM, de Boer NK, de Meij TG (2016) Sniffing Out Paediatric Gastrointestinal Diseases: The Potential of Volatile Organic Compounds as Biomarkers for Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 63:585-591
 29. Cadot L, Bruguere H, Jumas-Bilak E, Didelot MN, Masnou A, de Barry G, Cambonie G, Parer S, Romano-Bertrand S (2019) Extended spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* outbreak reveals incubators as pathogen reservoir in neonatal care center. *Eur J Pediatr* 178:505-513
 30. Camacho-Gonzalez A, Spearman PW, Stoll BJ (2013) Neonatal infectious diseases: evaluation of neonatal sepsis. *Pediatr Clin North Am* 60:367-389
 31. Carr R (2000) Neutrophil production and function in newborn infants. *Br J Haematol* 110:18-28
 32. Cartledge P, Fox P, Rutter N (1990) The scars of newborn intensive care. *Early human development* 21:1-10
 33. Chambers ST, Bhandari S, Scott-Thomas A, Syhre M (2011) Novel diagnostics: progress toward a breath test for invasive *Aspergillus fumigatus*. *Medical mycology* 49:S54-S61
 34. Cheverud JM (2001) A simple correction for multiple comparisons in interval mapping genome scans. *Heredity* 87:52-58
 35. Chinedu U, Ebenebe, Hesse F, Blohm ME, Jung R, Kunzmann S, Singer D (2019) Diagnostic accuracy of interleukin-6 for early-onset sepsis in preterm neonates. *J Matern Fetal Neonatal Med*:1-201
 36. Christoph J, Dame C, Eckmanns T, Gärtner B, Geffers C, Gille C, Haertel C, Haller S, Hartl D, Kraus-Haas M (2013) Risikocharakterisierung intensivmedizinisch behandelter Früh- und Neugeborener und Daten zur Ist-Situation in deutschen neonatologischen Intensivpflegestationen 2013–Fachliche Erläuterungen zu folgender Empfehlung: Praktische Umsetzung sowie krankenhaushygienische und infektionspräventive Konsequenzen des mikrobiellen Kolonisationsscreenings bei intensivmedizinisch behandelten Früh- und Neugeborenen Ergänzende Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut, Berlin zur Implementierung der Empfehlungen zur Prävention nosokomialer Infektionen bei neonatologischen Intensivpflegepatienten mit einem Geburtsgewicht unter 1.500 g aus dem Jahr 2007 und 2012 (*Epidemiologisches Bulletin* 42/2013). *Epid Bull* 42:1-52

37. Chung HU, Kim BH, Lee JY, Lee J, Xie Z, Ibler EM, Lee K, Banks A, Jeong JY, Kim J (2019) Binodal, wireless epidermal electronic systems with in-sensor analytics for neonatal intensive care. *Science* 363:eau0780
38. Courtois E, Cimerman P, Dubuche V, Goiset MF, Orfèvre C, Lagarde A, Sgaggero B, Guiot C, Goussot M, Huraux E, Nanquette MC, Butel C, Ferreira AM, Lacoste S, Séjourné S, Jolly V, Lajoie G, Maillard V, Guedj R, Chappuy H, Carbajal R (2016) The burden of venipuncture pain in neonatal intensive care units: EIPPAIN 2, a prospective observational study. *Int J Nurs Stud* 57:48-59
39. Craig WA (1998) Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Parameters: Rationale for Antibacterial Dosing of Mice and Men. *Clinical Infectious Diseases* 26:1-10
40. Cumeras R, Figueras E, Davis CE, Baumbach JI, Gràcia I (2015a) Review on ion mobility spectrometry. Part 1: current instrumentation. *Analyst* 140:1376-1390
41. Cumeras R, Figueras E, Davis CE, Baumbach JI, Gràcia I (2015b) Review on ion mobility spectrometry. Part 2: hyphenated methods and effects of experimental parameters. *Analyst* 140:1391-1410
42. Dallinga JW, Robroeks CM, van Berkel JJ, Moonen EJ, Godschalk RW, Jöbsis Q, Dompeling E, Wouters EF, van Schooten FJ (2010) Volatile organic compounds in exhaled breath as a diagnostic tool for asthma in children. *Clin Exp Allergy* 40:68-76
43. Darwiche K, Baumbach JI, Sommerwerck U, Teschler H, Freitag L (2011) Bronchoscopically obtained volatile biomarkers in lung cancer. *Lung* 189:445-452
44. de Lacy Costello B, Amann A, Al-Kateb H, Flynn C, Filipiak W, Khalid T, Osborne D, Ratcliffe NM (2014) A review of the volatiles from the healthy human body. *J Breath Res* 8:014001
45. De Meij T, De Boer N, Benninga MA, Lentferink YE, de Groot E, van de Velde ME, van Bodegraven AA, van der Schee MP (2014) Faecal gas analysis by electronic nose as novel, non-invasive method for assessment of active and quiescent paediatric inflammatory bowel disease: Proof of principle study. *J Crohns Colitis*:00285-00282
46. de Meij TG, van der Schee MP, Berkhout DJ, van de Velde ME, Jansen AE, Kramer BW, van Weissenbruch MM, van Kaam AH, Andriessen P, van Goudoever JB, Niemarkt HJ, de Boer NK (2015) Early Detection of Necrotizing Enterocolitis by Fecal Volatile Organic Compounds Analysis. *J Pediatr* 167:562-567.e561
47. Deianova N, El Manouni El Hassani S, Struijs EA, Jansen EEW, Bakkali A, van de Wiel MA, de Boode WP, Hulzebos CV, van Kaam AH, Kramer BW, d'Haens E, Vijlbrief DC, van Weissenbruch MM, de Jonge WJ, Benninga MA, Niemarkt HJ, de Boer NKH, de Meij TGJ (2022) Fecal amine metabolite analysis before onset of severe necrotizing enterocolitis in preterm infants: a prospective case-control study. *Sci Rep* 12:12310
48. Deshmukh S, Bandyopadhyay R, Bhattacharyya N, Pandey RA, Jana A (2015) Application of electronic nose for industrial odors and gaseous emissions measurement and monitoring--An overview. *Talanta* 144:329-340
49. Deshpande G, Rao S, Patole S (2007) Probiotics for prevention of necrotising enterocolitis in preterm neonates with very low birthweight: a systematic review of randomised controlled trials. *The Lancet* 369:1614-1620
50. Diskin AM, Spanel P, Smith D (2003) Increase of acetone and ammonia in urine headspace and breath during ovulation quantified using selected ion flow tube mass spectrometry. *Physiol Meas* 24:191-199
51. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, Knight R (2010) Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107:11971-11975
52. Dominianni C, Wu J, Hayes RB, Ahn J (2014) Comparison of methods for fecal microbiome biospecimen collection. *BMC microbiology* 14:103
53. Eber SW (2014). *Erkrankungen der Erythrozyten*. In *Therapie der Krankheiten im Kindes- und Jugendalter* (Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg), pp. 425-448.

54. El Manouni El Hassani S, Niemarkt HJ, Said H, Berkhout DJC, van Kaam AH, van Lingen RA, Benninga MA, de Boer NKH, de Meij TGJ (2018) Fecal Volatile Organic Compounds in Preterm Infants Are Influenced by Enteral Feeding Composition. *Sensors (Basel)* 18
55. El Manouni El Hassani S, Berkhout DJC, Niemarkt HJ, Mann S, de Boode WP, Cossey V, Hulzebos CV, van Kaam AH, Kramer BW, van Lingen RA, van Goudoever JB, Vijlbrief DC, van Weissenbruch MM, Benninga MA, de Boer NKH, de Meij TGJ (2019) Risk Factors for Late-Onset Sepsis in Preterm Infants: A Multicenter Case-Control Study. *Neonatology* 116:42-51
56. Eng K, Alkhoury N, Cikach F, Patel N, Yan C, Grove D, Lopez R, Rome E, Dweik RA (2015) Analysis of breath volatile organic compounds in children with chronic liver disease compared to healthy controls. *Journal of Breath Research* 9:026002
57. Fanaro S, Chierici R, Guerrini P, Vigi V (2003) Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta paediatrica* 92:48-55
58. Feuerherd M, Sippel AK, Erber J, Baumbach JI, Schmid RM, Protzer U, Voit F, Spinner CD (2021) A proof of concept study for the differentiation of SARS-CoV-2, hCoV-NL63, and IAV-H1N1 in vitro cultures using ion mobility spectrometry. *Scientific Reports* 11:20143
59. Fikac L (2019) Neonatal Blood Loss Risks. *Crit Care Nurs Q* 42:202-204
60. Fink T, Wolf A, Maurer F, Albrecht FW, Heim N, Wolf B, Hauschild AC, Bödeker B, Baumbach JI, Volk T, Sessler DI, Kreuer S (2015) Volatile organic compounds during inflammation and sepsis in rats: a potential breath test using ion-mobility spectrometry. *Anesthesiology* 122:117-126
61. Fölster-Holst R, Buchner M, Proksch E (2011) Windeldermatitis. *Der Hautarzt* 62:699
62. Förster-Waldl E, Sadeghi K, Tamandl D, Gerhold B, Hallwirth U, Rohrmeister K, Hayde M, Prusa AR, Herkner K, Boltz-Nitulescu G (2005) Monocyte toll-like receptor 4 expression and LPS-induced cytokine production increase during gestational aging. *Pediatric research* 58:121
63. Franz A, Steinbach G, Kron M, Pohlandt F (2001) Interleukin-8: a valuable tool to restrict antibiotic therapy in newborn infants. *Acta paediatrica* 90:1025-1032
64. Franz AR, Kron M, Pohlandt F, Steinbach G (1999) Comparison of procalcitonin with interleukin 8, C-reactive protein and differential white blood cell count for the early diagnosis of bacterial infections in newborn infants. *The Pediatric infectious disease journal* 18:666-671
65. Franz AR, Bauer K, Schalk A, Garland SM, Bowman ED, Rex K, Nyholm C, Norman M, Bougateg A, Kron M (2004) Measurement of interleukin 8 in combination with C-reactive protein reduced unnecessary antibiotic therapy in newborn infants: a multicenter, randomized, controlled trial. *Pediatrics* 114:1-8
66. Fu X-A, Li M, Knipp RJ, Nantz MH, Bousamra M (2014) Noninvasive detection of lung cancer using exhaled breath. *Cancer medicine* 3:174-181
67. Fujimura Kei E, Lynch Susan V (2015) Microbiota in Allergy and Asthma and the Emerging Relationship with the Gut Microbiome. *Cell Host & Microbe* 17:592-602
68. Galena HJ (1992) Complications occurring from diagnostic venipuncture. *J Fam Pract* 34:582-584
69. Gao Q, Lee W-Y (2019) Urinary metabolites for urological cancer detection: a review on the application of volatile organic compounds for cancers. *American journal of clinical and experimental urology* 7:232
70. Gastmeier P, Geffers C, Schwab F, Fitzner J, Obladen M, Rüden H (2004) Development of a surveillance system for nosocomial infections: the component for neonatal intensive care units in Germany. *J Hosp Infect* 57:126-131
71. Gaynes RP, Martone WJ, Culver DH, Emori TG, Horan TC, Banerjee SN, Edwards JR, Jarvis WR, Tolson JS, Henderson TS (1991) Comparison of rates of nosocomial infections in neonatal intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System. *Am J Med* 91:192S-196S
72. Gey MH (2015) *Instrumentelle Analytik und Bioanalytik: Biosubstanzen, Trennmethoden, Strukturanalytik, Applikationen*, Springer-Verlag.
73. Goedicke-Fritz S, Hartel C, Krasteva-Christ G, Kopp MV, Meyer S, Zemlin M (2017) Preterm Birth Affects the Risk of Developing Immune-Mediated Diseases. *Front Immunol* 8:1266

74. Goedicke-Fritz S, Werner T, Niemarkt HJ, Wolfs TGAM, Baumbach JI, Kemp MW, Jobe AH, Rogosch T, Bous M, Kaiser E, Stutz R, Meyer S, Maier RF, Koczulla AR, Spiller OB, Kramer BW, Zemlin M (2021) Detection of Volatile Organic Compounds as Potential Novel Biomarkers for Chorioamnionitis - Proof of Experimental Models. *Front Pediatr* 9:698489
75. Goldberg I, Shauer L, Klier I, Seelenfreund M (1981) Neonatal osteomyelitis of the calcaneus following a heel pad puncture: a case report. *Clin Orthop Relat Res*:195-197
76. Göpel W (1998) Chemical imaging: I. Concepts and visions for electronic and bioelectronic noses. *Sensors and Actuators B: Chemical* 52:125-142
77. Göpel W, Ziegler C, Breer H, Schild D, Apfelbach R, Joerges J, Malaka R (1998) Bioelectronic noses: a status report. Part I. *Biosens Bioelectron* 13:479-493
78. Graham PL, Della-Latta P, Wu F, Zhou J, Saiman L (2007) The gastrointestinal tract serves as the reservoir for Gram-negative pathogens in very low birth weight infants. *Pediatr Infect Dis J* 26:1153-1156
79. Grunau RE, Oberlander TF, Whitfield MF, Fitzgerald C, Lee SK (2001) Demographic and therapeutic determinants of pain reactivity in very low birth weight neonates at 32 Weeks' postconceptional Age. *Pediatrics* 107:105-112
80. Grunau RE, Weinberg J, Whitfield MF (2004) Neonatal procedural pain and preterm infant cortisol response to novelty at 8 months. *Pediatrics* 114:e77
81. Grunau RE, Whitfield MF, Petrie-Thomas J, Synnes AR, Cepeda IL, Keidar A, Rogers M, Mackay M, Hubber-Richard P, Johannesen D (2009) Neonatal pain, parenting stress and interaction, in relation to cognitive and motor development at 8 and 18 months in preterm infants. *Pain* 143:138-146
82. Haalboom M, Gerritsen JW, van der Palen J (2019) Differentiation between infected and non-infected wounds using an electronic nose. *Clin Microbiol Infect*
83. Haddad R, Medhanie A, Roth Y, Harel D, Sobel N (2010) Predicting odor pleasantness with an electronic nose. *PLoS Comput Biol* 6:e1000740
84. Handrick W, Huppertz H-I (2018a). Bakterielle Infektionen. In *Duale Reihe Pädiatrie*, Gortner L, S Meyer, eds. (Georg Thieme Verlag).
85. Handrick W, Huppertz H-I (2018b). Clostridium difficile (Enterokolitis). In *Duale Reihe Pädiatrie*, Gortner L, S Meyer, eds. (Georg Thieme Verlag).
86. Hayward N, Jeavons T (1977) Assessment of technique for rapid detection of Escherichia coli and Proteus species in urine by head-space gas-liquid chromatography. *Journal of clinical microbiology* 6:202-208
87. Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, Hermanns HM, Muller-Newen G, Schaper F (2003) Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochem J* 374:1-20
88. Heinrich PC, Müller M, Graeve L (2014) Löffler/Petrides *Biochemie und Pathobiochemie*, Springer-Verlag).
89. Herdegen T (2013). Heparine. In *Kurzlehrbuch Pharmakologie und Toxikologie*, Herdegen T, ed. (Georg Thieme Verlag).
90. Hof H (2017). Clostridium difficile. In *Duale Reihe Medizinische Mikrobiologie*, Hof H, R Dörries, eds. (Georg Thieme Verlag).
91. Horsch S, Baumbach JI, Rahnenfuhrer J (2019) Statistical analysis of MCC-IMS data for two group comparisons-an exemplary study on two devices. *J Breath Res* 13:036011
92. Horváth I, Barnes PJ, Loukides S, Sterk PJ, Högman M, Olin A-C, Amann A, Antus B, Baraldi E, Bikov A (2017) A European Respiratory Society technical standard: exhaled biomarkers in lung disease. *European Respiratory Journal* 49:1600965
93. Hosfield BD, Drucker NA, Pecoraro AR, Shelley WC, Li H, Baxter NT, Hawkins TB, Markel TA (2021) The assessment of microbiome changes and fecal volatile organic compounds during experimental necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 56:1220-1225
94. Howson CP, Kinney MV, McDougall L, Lawn JE, Group BTSPBA (2013) Born too soon: preterm birth matters. *Reprod Health* 10 Suppl 1:S1

95. Hsieh S, Sapkota A, Wood R, Bearer C, Kapoor S (2018) Neonatal ethanol exposure from ethanol-based hand sanitisers in isolettes. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 103:F55-f58
96. Hübner N-O, Sciermoch K, Kramer A (2007) Vergleich von Methoden zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration und Schlussfolgerungen zur Weiterentwicklung der Methoden. *GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär* 2
97. Hüppe T, Klasen R, Maurer F, Meiser A, Groesdonk H-V, Sessler DI, Fink T, Kreuer S (2019) Volatile Organic Compounds in Patients With Acute Kidney Injury and Changes During Dialysis*. *Critical Care Medicine* 47:239-246
98. Isaacman DJ, Karasic RB, Reynolds EA, Kost SI (1996) Effect of number of blood cultures and volume of blood on detection of bacteremia in children. *J Pediatr* 128:190-195
99. Jendryny P, Twele F, Meller S, Schulz C, von Köckritz-Blickwede M, Osterhaus ADME, Ebbers H, Ebbers J, Pilchová V, Pink I, Welte T, Manns MP, Fathi A, Addo MM, Ernst C, Schäfer W, Engels M, Petrov A, Marquart K, Schotte U, Schalke E, Volk HA (2021) Scent dog identification of SARS-CoV-2 infections in different body fluids. *BMC Infect Dis* 21:707
100. Jiang C, Sun M, Wang Z, Chen Z, Zhao X, Yuan Y, Li Y, Wang C (2016) A Portable Real-Time Ringdown Breath Acetone Analyzer: Toward Potential Diabetic Screening and Management. *Sensors (Basel)* 16
101. Johnson CC, Ownby DR, Alford SH, Havstad SL, Williams LK, Zoratti EM, Peterson EL, Joseph CLM (2005) Antibiotic exposure in early infancy and risk for childhood atopy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 115:1218-1224
102. Johnson KR, Hagadorn JI, Sink DW (2017) Alarm safety and alarm fatigue. *Clinics in perinatology* 44:713-728
103. Jones SA, Novick D, Horiuchi S, Yamamoto N, Szalai AJ, Fuller GM (1999) C-reactive protein: a physiological activator of interleukin 6 receptor shedding. *Journal of Experimental Medicine* 189:599-604
104. Jones SA (2005) Directing Transition from Innate to Acquired Immunity: Defining a Role for IL-6. *The Journal of Immunology* 175:3463-3468
105. Junger M, Vautz W, Kuhns M, Hofmann L, Ulbricht S, Baumbach JI, Quintel M, Perl T (2012) Ion mobility spectrometry for microbial volatile organic compounds: a new identification tool for human pathogenic bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol* 93:2603-2614
106. Jünger M, Bödeker B, Baumbach JI (2010) Peak assignment in multi-capillary column-ion mobility spectrometry using comparative studies with gas chromatography-mass spectrometry for VOC analysis. *Analytical and bioanalytical chemistry* 396:471-482
107. Kappstein I (2007) Surveillance resistenter Erreger und rationaler Einsatz von Antibiotika. *Krankenhhyg up2date* 2:197-218
108. Khalid T, Aggio R, White P, Costello BDL, Persad R, Al-Kateb H, Jones P, Probert CS, Ratcliffe N (2015) Urinary volatile organic compounds for the detection of prostate cancer. *PloS one* 10:e0143283
109. Köhnlein T, Welte T (2014) Mukoviszidose (Zystische Fibrose). *Der Pneumologe* 11:65-76
110. Koletzko S, Otte S, Klucker E (2017). Stuhltests in der pädiatrischen Gastroenterologie. In *Monatsschr Kinderheilkd (Springer Medizin)*, pp. 572-580
111. Kowalski A, Enck P (2010) Statistische Methoden bei Mehrfachtestung—die Bonferroni-Korrektur. *PPmP-Psychotherapie· Psychosomatik· Medizinische Psychologie* 60:286-287
112. Kreuder A-E, Buchinger H, Kreuer S, Volk T, Maddula S, Baumbach JI (2011) Characterization of propofol in human breath of patients undergoing anesthesia. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry* 14:167-175
113. Kunze N, Weigel C, Vautz W, Schwerdtfeger K, Junger M, Quintel M, Perl T (2015) Multi-capillary column-ion mobility spectrometry (MCC-IMS) as a new method for the quantification of occupational exposure to sevoflurane in anaesthesia workplaces: an observational feasibility study. *J Occup Med Toxicol* 10:12
114. Kwak J, Preti G (2013). *Challenges in the Investigation of Volatile Disease Biomarkers in Urine* (Elsevier: Amsterdam, The Netherlands), pp. 394-404

115. Levan SR (2018) Neonatal gut-microbiome-derived 12, 13 DiHOME impedes tolerance and promotes childhood atopy and asthma, UCSF.
116. Levan SR, Starnes KA, Lin DL, Panzer AR, Fukui E, McCauley K, Fujimura KE, McKean M, Ownby DR, Zoratti EM, Boushey HA, Cabana MD, Johnson CC, Lynch SV (2019) Elevated faecal 12,13-diHOME concentration in neonates at high risk for asthma is produced by gut bacteria and impedes immune tolerance. *Nature Microbiology*
117. Levy O (2007) Innate immunity of the newborn: basic mechanisms and clinical correlates. *Nature Reviews Immunology* 7:379
118. Liao YH, Wang ZC, Zhang FG, Abbod MF, Shih CH, Shieh JS (2019) Machine Learning Methods Applied to Predict Ventilator-Associated Pneumonia with *Pseudomonas aeruginosa* Infection via Sensor Array of Electronic Nose in Intensive Care Unit. *Sensors (Basel)* 19
119. Liu L, Oza S, Hogan D, Chu Y, Perin J, Zhu J, Lawn JE, Cousens S, Mathers C, Black RE (2016) Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000-15: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals. *Lancet* 388:3027-3035
120. Lyngstad LT, Tandberg BS, Storm H, Ekeberg BL, Moen A (2014) Does skin-to-skin contact reduce stress during diaper change in preterm infants? *Early Hum Dev* 90:169-172
121. Ma Y-L, Qin H-L, Liu W-J, Peng J-Y, Huang L, Zhao X-P, Cheng Y-Y (2009) Ultra-high performance liquid chromatography–mass spectrometry for the metabolomic analysis of urine in colorectal cancer. *Digestive diseases and sciences* 54:2655-2662
122. Maddula S, Blank LM, Schmid A, Baumbach JI (2009) Detection of volatile metabolites of *Escherichia coli* by multi capillary column coupled ion mobility spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 394:791-800
123. Maddula S, Rupp K, Baumbach JI (2012) Recommendation for an upgrade to the standard format in order to cross-link the GC/MSD and the MCC/IMS data. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry* 15:79-81
124. Maier R (2017) 18.1 Pharmakokinetik und Pharmakodynamik. *Neugeborenenintensivmedizin: Evidenz und Erfahrung*:463
125. Maier RF, Obladen M (2011). *Neugeborenenintensivmedizin*. In: (Springer).
126. Mann HB, Whitney DR (1947) On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *The annals of mathematical statistics*:50-60
127. Maurer F, Sippel A-K, Kochardt D, Baumbach JI, Volk T, Kreuer S (2018) Analytical Validation of the Exhaled Drug Monitor-EDMON-Designed for Real Time Measurement of Exhaled Propofol.
128. McFarlane M, Millard A, Hall H, Savage R, Constantinidou C, Arasaradnam R, Nwokolo C (2019) Urinary volatile organic compounds and faecal microbiome profiles in colorectal cancer. *Colorectal Dis*
129. McLean RJC, Nickel JC, Cheng KJ, Costerton JW, Banwell JG (1988) The Ecology and Pathogenicity of Urease-Producing Bacteria in the Urinary Tract. *CRC Critical Reviews in Microbiology* 16:37-79
130. Mees K (1986) Medikament-Nebenwirkungen auf das Hörorgan*. *Laryngo-Rhino-Otol* 65:363-370
131. Menke A, Hechler A, Zernikow B (2012). Schmerzen bei Frühgeborenen, Kindern und Jugendlichen. In *Schmerzmanagement in der Pflege*, Thomm M, ed. (Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg), pp. 201-215.
132. Monteiro M, Carvalho M, Henrique R, Jeronimo C, Moreira N, de Lourdes Bastos M, de Pinho PG (2014) Analysis of volatile human urinary metabolome by solid-phase microextraction in combination with gas chromatography–mass spectrometry for biomarker discovery: Application in a pilot study to discriminate patients with renal cell carcinoma. *European Journal of Cancer* 50:1993-2002
133. Mony PK, Thankachan P, Bhat S, Rao S, Washington M, Antony S, Thomas A, Nagarajarao SC, Rao H, Amrutur B (2018) Remote biomonitoring of temperatures in mothers and newborns: design, development and testing of a wearable sensor device in a tertiary-care hospital in southern India. *BMJ innovations* 4:60-67

134. Mörelius E, Hellström-Westas L, Carlén C, Norman E, Nelson N (2006) Is a nappy change stressful to neonates? *Early Hum Dev* 82:669-676
135. Morrow LA, Wagner BD, Ingram DA, Poindexter BB, Schibler K, Cotten CM, Dagle J, Sontag MK, Mourani PM, Abman SH (2017) Antenatal Determinants of Bronchopulmonary Dysplasia and Late Respiratory Disease in Preterm Infants. *Am J Respir Crit Care Med* 196:364-374
136. Murken J (2006) *Humangenetik*, Georg Thieme Verlag).
137. Nagle HT, Gutierrez-Osuna R, Schiffman SS (1998) The how and why of electronic noses. *IEEE spectrum* 35:22-31
138. Neerinx AH, Vijverberg SJH, Bos LDJ, Brinkman P, van der Schee MP, de Vries R, Sterk PJ, Maitland-van der Zee AH (2017) Breathomics from exhaled volatile organic compounds in pediatric asthma. *Pediatr Pulmonol* 52:1616-1627
139. Noureldein M, Gowda H (2018) Question 2: Is it safe to use the centre of the heel for obtaining capillary blood samples in neonates? *Arch Dis Child* 103:401-404
140. Obladen M, Sachsenweger M, Stahnke M (1988) Blood sampling in very low birth weight infants receiving different levels of intensive care. *Eur J Pediatr* 147:399-404
141. Obladen M (2017). Normale und gestörte Adaptation. In *Neugeborenenintensivmedizin* (Springer), pp. 1-32.
142. Orlikowsky T (2017). Tag 1: Neonatologie. In *Pädiatrie in 5 Tagen* (Springer), pp. 15-54.
143. Osthaus WA, Zuzan O (2013). Wirkstoffprofile. In *Checkliste Intensivmedizin*, Leuwer M, G Marx, H-J Trappe, O Zuzan, eds. (Georg Thieme Verlag).
144. Pagonas N, Vautz W, Seifert L, Slodzinski R, Jankowski J, Zidek W, Westhoff TH (2012) Volatile organic compounds in uremia. *PLoS One* 7:e46258
145. Pape H-C, Kurtz A, Silbernagl S (2018) *Physiologie*, Georg Thieme Verlag).
146. Paterson DL (2004) „Collateral damage” from cephalosporin or quinolone antibiotic therapy. *Clin Infect Dis* 38 (Suppl 4):S341-345
147. Pauling L, Robinson AB, Teranishi R, Cary P (1971) Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 68:2374-2376
148. Pearce TC, Schiffman SS, Nagle HT, Gardner JW (2006) *Handbook of machine olfaction: electronic nose technology*, John Wiley & Sons).
149. Pelchat ML, Bykowski C, Duke FF, Reed DR (2010) Excretion and Perception of a Characteristic Odor in Urine after Asparagus Ingestion: a Psychophysical and Genetic Study. *Chemical Senses* 36:9-17
150. Peled N, Fuchs V, Kestenbaum EH, Oscar E, Bitran R (2021) An Update on the Use of Exhaled Breath Analysis for the Early Detection of Lung Cancer. *Lung Cancer (Auckl)* 12:81-92
151. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, van den Brandt PA, Stobberingh EE (2006) Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 118:511-521
152. Penders J, Gerhold K, Thijs C, Zimmermann K, Wahn U, Lau S, Hamelmann E (2014) New insights into the hygiene hypothesis in allergic diseases. *Gut Microbes* 5:239-244
153. Perl T, Carstens E, Hirn A, Quintel M, Vautz W, Nolte J, Jünger M (2009) Determination of serum propofol concentrations by breath analysis using ion mobility spectrometry. *British journal of anaesthesia* 103:822-827
154. Pleil JD, Stiegel MA (2013). *Evolution of environmental exposure science: using breath-borne biomarkers for “discovery” of the human exposome* (ACS Publications)
155. Poets CF (2018) Reducing alarms in the NICU. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 103:F297-f298
156. Poulton J, Tarlow MJ (1987) Diagnosis of rotavirus gastroenteritis by smell. *Arch Dis Child* 62:851-852
157. Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, Lemons JE (2004) *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*, Elsevier).

158. Rhodes G, Miller M, McConnell ML, Novotny M (1981) Metabolic abnormalities associated with diabetes mellitus, as investigated by gas chromatography and pattern-recognition analysis of profiles of volatile metabolites. *Clinical Chemistry* 27:580-585
159. Roine A, Saviak T, Kumpulainen P, Karjalainen M, Tuokko A, Aittoniemi J, Vuento R, Lekkala J, Lehtimäki T, Tammela TL, Oksala NK (2014) Rapid and accurate detection of urinary pathogens by mobile IMS-based electronic nose: a proof-of-principle study. *PLoS One* 9:e114279
160. Ruzsanyi V, Baumbach JI, Sielemann S, Litterst P, Westhoff M, Freitag L (2005) Detection of human metabolites using multi-capillary columns coupled to ion mobility spectrometers. *J Chromatogr A* 1084:145-151
161. Sack K, Freiesleben H (1975) Experimentelle Untersuchungen zur potentiellen Nephrotoxizität von Tobramycin, Gentamicin und Sisomicin. *Infection* 3:S 40-S 49
162. Sack K, Freiesleben H, Züllich B, Beck H, Schulz E (1976) Nebenwirkungen von Aminoglykosiden: Nephrotoxizität. *Infection* 4:231-238
163. Salzer R, Thiele S, Zimmerer C, Zuern A (2016). Gaschromatographie im Detail, unter http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/3/anc/croma/gc_detail1.vlu.html (abgerufen am 22.07.2019)
164. Samuels N, van de Graaf RA, de Jonge RCJ, Reiss IKM, Vermeulen MJ (2017) Risk factors for necrotizing enterocolitis in neonates: a systematic review of prognostic studies. *BMC Pediatr* 17:105
165. Saviak T, Kiiski JP, Nieminen MK, Tamminen NN, Roine AN, Kumpulainen PS, Hokkinen LJ, Karjalainen MT, Vuento RE, Aittoniemi JJ, Lehtimäki TJ, Oksala NK (2018) Electronic Nose in the Detection of Wound Infection Bacteria from Bacterial Cultures: A Proof-of-Principle Study. *Eur Surg Res* 59:1-11
166. Schaefer ML, Wongravee K, Holmboe ME, Heinrich NM, Dixon SJ, Zeskind JE, Kulaga HM, Brereton RG, Reed RR, Trevejo JM (2010) Mouse urinary biomarkers provide signatures of maturation, diet, stress level, and diurnal rhythm. *Chem Senses* 35:459-471
167. Schleich FN, Zanella D, Stefanuto PH, Bessonov K, Smolinska A, Dallinga JW, Henket M, Paulus V, Guissard F, Graff S, Moermans C, Wouters EFM, Van Steen K, van Schooten FJ, Focant JF, Louis R (2019) Exhaled Volatile Organic Compounds are Able to Discriminate between Neutrophilic and Eosinophilic Asthma. *Am J Respir Crit Care Med*
168. Schulze A, Kramer A, Schubert S (2013). Bakterielle Sepsis des Neugeborenen. In *Infektionserkrankungen der Schwangeren und des Neugeborenen*, Friese K, I Mylonas, A Schulze, eds. (Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg), pp. 603-613.
169. Schwarz C, Schulte-Hubbert B, Bend J, Abele-Horn M, Baumann I, Bremer W, Brunsmann F, Dieninghoff D, Eickmeier O, Ellemunter H (2018) S3-Leitlinie: Lungenerkrankung bei Mukoviszidose–Modul 2: Diagnostik und Therapie bei der chronischen Infektion mit *Pseudomonas aeruginosa*. *Pneumologie* 72:347-392
170. Seesaard T, Sriprapradang C, Kitiyakara T, Kerdcharoen T (2016). Self-screening for diabetes by sniffing urine samples based on a hand-held electronic nose. Paper presented at: 2016 9th Biomedical Engineering International Conference (BMEiCON).
171. Sethi S, Nanda R, Chakraborty T (2013) Clinical application of volatile organic compound analysis for detecting infectious diseases. *Clin Microbiol Rev* 26:462-475
172. Shankar PR, Balasubramaniam R (2014) Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. *Australasian Medical Journal (Online)* 7:237
173. Shimizu M, Cashman JR, Yamazaki H (2007) Transient trimethylaminuria related to menstruation. *BMC Med Genet* 8:2
174. Shirasu M, Touhara K (2011) The scent of disease: volatile organic compounds of the human body related to disease and disorder. *The Journal of Biochemistry* 150:257-266
175. Simon A, Exner M (2014) Prävention nosokomialer Infektionen bei intensivmedizinisch behandelten Frühgeborenen. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 162:403-410
176. Sinha R, Abnet CC, White O, Knight R, Huttenhower C (2015) The microbiome quality control project: baseline study design and future directions. *Genome biology* 16:276-276

177. Smith D, Ismail KM, Diskin AM, Chapman G, Magnay JL, Spanel P, O'Brien S (2006) Increase of acetone emitted by urine in relation to ovulation. *Acta Obstet Gynecol Scand* 85:1008-1011
178. Smith PB, Benjamin DK, Cotten CM, Schultz E, Guo R, Nowell L, Smithwick ML, Thornburg CD (2008) Is an increased dwell time of a peripherally inserted catheter associated with an increased risk of bloodstream infection in infants? *Infect Control Hosp Epidemiol* 29:749-753
179. Smolinska A, Hauschild A-C, Fijten R, Dallinga J, Baumbach J, Van Schooten F (2014) Current breathomics—a review on data pre-processing techniques and machine learning in metabolomics breath analysis. *Journal of breath research* 8:027105
180. Snitz K, Andelman-Gur M, Pinchover L, Weissgross R, Weissbrod A, Mishor E, Zoller R, Linetsky V, Medhanie A, Shushan S, Jaffe E, Sobel N (2021) Proof of concept for real-time detection of SARS CoV-2 infection with an electronic nose. *PLoS One* 16:e0252121
181. Snyder AP, Dworzanski JP, Tripathi A, Maswadeh WM, Wick CH (2004) Correlation of mass spectrometry identified bacterial biomarkers from a fielded pyrolysis-gas chromatography-ion mobility spectrometry biodetector with the microbiological gram stain classification scheme. *Analytical chemistry* 76:6492-6499
182. Song G, Qin T, Liu H, Xu GB, Pan YY, Xiong FX, Gu KS, Sun GP, Chen ZD (2010) Quantitative breath analysis of volatile organic compounds of lung cancer patients. *Lung Cancer* 67:227-231
183. Speer CP (2019). Neonatologie. In Pädiatrie, Speer CP, M Gahr, J Dötsch, eds. (Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg), pp. 77-133.
184. Steinbach J, Goedicke-Fritz S, Tutdibi E, Stutz R, Kaiser E, Meyer S, Baumbach JI, Zemlin M (2019) Bedside measurement of volatile organic compounds in the atmosphere of neonatal incubators using ion mobility spectrometry. *Frontiers in pediatrics* 7
185. Steppert C, Steppert I, Bollinger T, Sterlacci W (2020) Rapid non-invasive detection of Influenza-A-infection by multicapillary column coupled ion mobility spectrometry. *J Breath Res* 15:011001
186. Steppert C, Steppert I, Sterlacci W, Bollinger T (2021) Rapid detection of SARS-CoV-2 infection by multicapillary column coupled ion mobility spectrometry (MCC-IMS) of breath. A proof of concept study. *J Breath Res*
187. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, Lemons JA, Donovan EF, Stark AR, Tyson JE, Oh W, Bauer CR, Korones SB, Shankaran S, Laptook AR, Stevenson DK, Papile LA, Poole WK (2002) Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics* 110:285-291
188. Syhre M, Scotter JM, Chambers ST (2008) Investigation into the production of 2-Pentylfuran by *Aspergillus fumigatus* and other respiratory pathogens in vitro and human breath samples. *Medical Mycology* 46:209-215
189. Tenney JH, Reller LB, Mirrett S, Wang WL, Weinstein MP (1982) Controlled evaluation of the volume of blood cultured in detection of bacteremia and fungemia. *J Clin Microbiol* 15:558-561
190. Thaler ER, Hanson CW (2005) Medical applications of electronic nose technology. *Expert Review of Medical Devices* 2:559-566
191. Thaler ER, Huang D, Giebeig L, Palmer J, Lee D, Hanson CW, Cohen N (2008) Use of an electronic nose for detection of biofilms. *Am J Rhinol* 22:29-33
192. Thomas BN, Karen MP, Soora W, David D, Gabriel JE (2010) Interpreting complete blood counts soon after birth in newborns at risk for sepsis. *Pediatrics* 126:903
193. Thriamani R, Zakaria A, Hashim YZH-Y, Jeffree AI, Helmy KM, Kamarudin LM, Omar MI, Shakaff AYM, Adom AH, Persaud KC (2018) A study on volatile organic compounds emitted by in-vitro lung cancer cultured cells using gas sensor array and SPME-GCMS. *BMC cancer* 18:362-362
194. Tirzite M, Bukovskis M, Strazda G, Jurka N, Taivans I (2018) Detection of lung cancer with electronic nose and logistic regression analysis. *J Breath Res* 13:016006
195. Tsikas D, Thum T, Becker T, Pham VV, Chobanyan K, Mitschke A, Beckmann B, Gutzki FM, Bauersachs J, Stichtenoth DO (2007) Accurate quantification of dimethylamine (DMA) in human urine by gas chromatography-mass spectrometry as pentafluorobenzamide derivative: evaluation of

- the relationship between DMA and its precursor asymmetric dimethylarginine (ADMA) in health and disease. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 851:229-239
196. Tyagi H, Daulton E, Bannaga AS, Arasaradnam RP, Covington JA (2021) Non-Invasive Detection and Staging of Colorectal Cancer Using a Portable Electronic Nose. *Sensors (Basel)* 21
 197. V A B, Subramoniam M, Mathew L (2021) Noninvasive detection of COPD and Lung Cancer through breath analysis using MOS Sensor array based e-nose. *Expert Rev Mol Diagn*:1-11
 198. Valdez Sandoval P, Hernández Rosales P, Quiñones Hernández DG, Chavana Naranjo EA, García Navarro V (2019) Intraventricular hemorrhage and posthemorrhagic hydrocephalus in preterm infants: diagnosis, classification, and treatment options. *Childs Nerv Syst*
 199. van Mastrigt E, Reyes-Reyes A, Brand K, Bhattacharya N, Urbach HP, Stubbs AP, de Jongste JC, Pijnenburg MW (2016) Exhaled breath profiling using broadband quantum cascade laser-based spectroscopy in healthy children and children with asthma and cystic fibrosis. *J Breath Res* 10:026003
 200. Van Vliet D, Smolinska A, Jöbsis Q, Rosias PP, Muris JW, Dallinga JW, van Schooten FJ, Dompeling E (2016) Association between exhaled inflammatory markers and asthma control in children. *J Breath Res* 10:016014
 201. van Vliet D, Smolinska A, Jöbsis Q, Rosias P, Muris J, Dallinga J, Dompeling E, van Schooten FJ (2017) Can exhaled volatile organic compounds predict asthma exacerbations in children? *J Breath Res* 11:016016
 202. Vinall J, Miller SP, Bjornson BH, Fitzpatrick KP, Poskitt KJ, Brant R, Synnes AR, Cepeda IL, Grunau RE (2014) Invasive procedures in preterm children: brain and cognitive development at school age. *Pediatrics* 133:412-421
 203. Wachman EM, Lahav A (2011) The effects of noise on preterm infants in the NICU. *Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition* 96:F305-F309
 204. Walsh V, McGuire W (2019) Immunonutrition for Preterm Infants. *Neonatology* 115:398-405
 205. Wang M (2016) Iron Deficiency and Other Types of Anemia in Infants and Children. *Am Fam Physician* 93:270-278
 206. Wang X, Wang J, Rao B, Deng L, Huang Y, Zeng G, Chen C (2015) Differences between colorectal cancer patients and healthy people in fecal microbiota and metabolites. *Zhonghua wei chang wai ke za zhi= Chinese journal of gastrointestinal surgery* 18:1106-1110
 207. Weber CM, Cauchi M, Patel M, Bessant C, Turner C, Britton LE, Willis CM (2011) Evaluation of a gas sensor array and pattern recognition for the identification of bladder cancer from urine headspace. *Analyst* 136:359-364
 208. Weir TL, Manter DK, Sheflin AM, Barnett BA, Heuberger AL, Ryan EP (2013) Stool microbiome and metabolome differences between colorectal cancer patients and healthy adults. *PloS one* 8:e70803
 209. Wiedemann B (2007) Antibiotikaaanwendung und Resistenzentwicklung. *Krankenhaushygiene up2date* 2:21-33
 210. Winnike JH, Wei X, Knagge KJ, Colman SD, Gregory SG, Zhang X (2015) Comparison of GC-MS and GC×GC-MS in the analysis of human serum samples for biomarker discovery. *Journal of proteome research* 14:1810-1817
 211. Wintjens AGWE, Hintzen KFH, Engelen SME, Lubbers T, Savelkoul PHM, Wesseling G, van der Palen JAM, Bouvy ND (2020) Applying the electronic nose for pre-operative SARS-CoV-2 screening. *Surg Endosc*
 212. Wirtz LM, Kreuer S, Volk T, Hüppe T (2019) Moderne Atemgasanalysen. *Medizinische Klinik - Intensivmedizin und Notfallmedizin* 114:655-660
 213. Wong WSW, Clemency N, Klein E, Provenzano M, Iyer R, Niederhuber JE, Hourigan SK (2017) Collection of non-meconium stool on fecal occult blood cards is an effective method for fecal microbiota studies in infants. *Microbiome* 5:114-114
 214. Wu WK, Chen CC, Panyod S, Chen RA, Wu MS, Sheen LY, Chang SC (2019) Optimization of fecal sample processing for microbiome study - The journey from bathroom to bench. *J Formos Med Assoc* 118:545-555

215. Zea-Vera A, Ochoa TJ (2015) Challenges in the diagnosis and management of neonatal sepsis. *J Trop Pediatr* 61:1-13
216. Zemlin M (2015) Klinische, mikrobiologische und laborchemische Diagnostik bakterieller Infektionen bei Früh- und Reifgeborenen. *Neonatalogie Scan* 04:317-334
217. Zemlin M, Berger A, Franz A, Gille C, Härtel C, Küster H, Müller A, Pohlandt F, Simon A, Merz W (2018). S2k- Leitlinie: Bakterielle Infektionen bei Neugeborenen (awmf.org)
218. Zernikow B, Hünseler C, Roth B, Michel E (2015). Klinisch-pharmakologische Grundlagen der Schmerztherapie. In *Schmerztherapie bei Kindern, Jugendlichen und jungen Erwachsenen*, Zernikow B, ed. (Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg), pp. 105-158.
219. Zeuzem S, Schöffauer M, Rösch W (2018). Pseudomembranöse (Entero-)Kolitis. In *Duale Reihe Innere Medizin*, Arastéh K, H-W Baenkler, C Bieber, R Brandt, TT Chatterjee, T Dill, T Ditting, M Duckert, W Eich, S Ernst, *et al.*, eds. (Georg Thieme Verlag).
220. Zlatkis A, Bertsch W, Lichtenstein HA, Tishbee A, Shunbo F, Liebich HM, Coscia AM, Fleischer N (1973) Profile of volatile metabolites in urine by gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 45:763-767

8. Danksagung

Die Erstellung dieser Arbeit wäre ohne verschiedene Personen, denen ich an dieser Stelle besonders danken möchte, nicht möglich gewesen.

Allen voran danke ich meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. Michael Zemlin für das Überlassen des spannenden Themas meiner Promotionsarbeit, sowie für die fortwährende Unterstützung während der gesamten Laborzeit und darüber hinaus.

Zudem geht ein großes Dankeschön an meine Betreuerin Dr. Sybille Goedicke-Fritz, auf die ich mich immer verlassen konnte, und die mir immer mit hilfreichen Diskussionen zur Seite stand. Danke, dass Du mir so viel ermöglicht hast und alle meine Ideen ernst genommen hast!

Außerdem möchte ich Dr. Regine Stutz, Dr. Elisabeth Kaiser und Ellen Maurer für die ständige Hilfsbereitschaft und Offenheit für alle Diskussionen danken. Danke, dass Ihr immer ein offenes Ohr für mich hattet, ohne euch wäre so vieles nicht möglich geworden. Danke für die schöne Zeit im Labor.

Zudem möchte ich Herrn Professor Dr. Jörg Ingo Baumbach von der Technischen Universität Dortmund (ehem. Center of Competence Breath Analysis Dortmund) danken, der mich in meiner Datenauswertung unterstützt hat und auch sonst mit Rat und Tat zur Seite stand.

Ein großer Dank geht auch an Herrn Privatdozenten Dr. Erol Tutdibi, der neben der Patienten- bzw. Elternaufklärung immer hilfsbereit zur Seite stand und für Diskussionen offen war.

Danken möchte ich auch meinen FreundInnen, insbesondere Sr. Sajeeva Moongathottathil und meinem Freund, die immer an mich geglaubt und mich in meinen Vorhaben bestärkt haben.

Besonders danken möchte ich meiner gesamten Familie, meinen Großeltern, auch wenn Sie heute nicht mehr alle bei uns sind, und insbesondere meinen Eltern, Sabine und Dieter Bous, die mich auf meinem bisherigen Lebensweg pausenlos unterstützten, die mir alles ermöglichten und denen diese Arbeit gewidmet ist. Danke, dass es Euch gibt!

9. Publikationen

Publikationen von Ergebnissen dieser Arbeit

Bous M., Tutdibi E., Nourkami-Tutdibi N., Kaiser, E., Stutz, R., Meyer S., Baumbach, J.I., Zemlin, M., Goedicke-Fritz, S.: Patterns of volatile organic compounds in excrements of preterm neonates detected by ion mobility spectrometry coupled to multicapillary columns – proof of experimental models, European Journal of Clinical Investigation, 2022.

Impact factor 2021 : 5,722.

Kongressbeiträge von Ergebnissen dieser Arbeit

Bous M., Goedicke-Fritz S., Stutz R., Kaiser E., Wulff A., Baumbach J.I., Zemlin M.: Messung volatiler organischer Substanzen mittels multikapillarsäulengekoppelter Ionenmobilitätsspektrometrie: Potential zur nicht-invasiven Diagnostik in der Neonatologie, Posterpräsentation und Kurzvortrag beim Kongress der DGKJ (Deutsche Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin) 2019, München.

Bous M., Goedicke-Fritz S., Kaiser E., Stutz R., Wulff A., Baumbach J.I., Zemlin M.: Messung volatiler organischer Substanzen mittels multikapillarsäulengekoppelter Ionenmobilitätsspektrometrie: Potential zur nicht-invasiven Diagnostik in der Neonatologie, Online-Posterpräsentation beim Kongress der DGKJ (Deutsche Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin) 2020.

Bous M., Goedicke-Fritz S., Kaiser E., Stutz R., Wulff A., Baumbach J.I., Zemlin M.: Detection of volatile organic compounds using ion mobility spectrometry coupled to multicapillary columns in neonatology, Online-Posterpräsentation und Kurzvortrag beim Kongress Excellence in Paediatrics 2020.

Bous M., Kaiser E., Stutz R., Wulff A., Baumbach J.I., Zemlin M., Goedicke-Fritz S.: Detecting volatile organic compounds in diapers of preterm infants using ion mobility spectrometry coupled to multicapillary columns: a proof of principle study, Online- Vortrag beim Kongress der ESPNIC (European Society of Pediatric and Neonatal Intensive Care) 2021.

Bous M., Kaiser E., Stutz R., Wulff A., Baumbach J.I., Zemlin M., Goedicke-Fritz S.: Mikrobiom-Analysen durch volatile organische Verbindungen mittels multikapillarsäulengekoppelter Ionenmobilitätsspektrometrie: Eine Proof-of-principle-Studie, Online-Posterpräsentation und Kurzvortrag beim Kongress der GNPI (Gesellschaft für pädiatrische Intensivmedizin) 2021.

Bous M., Kaiser E., Stutz R., Wulff A., Baumbach J.I., Zemlin M., Goedicke-Fritz S.: Smelling the gut microbioma using ion mobility spectrometry coupled to multi-capillary columns in neonatology: a proof-of-principle study, Online-Vortrag beim Kongress Excellence in Paediatrics 2021.

Weitere Publikationen

Goedicke-Fritz S., Werner T., Niemarkt H.J., Wolfs T., Baumbach J.I., Kemp M., Jobe A.H., Rogosch T., **Bous M.**, Kaiser E., Stutz R., Meyer S., Maier R.F., Koczulla A.R., Spiller O.B., Kramer B.W., Zemlin M.: Detection of volatile organic compounds as potential novel biomarkers for chorioamnionitis -proof of experimental models, *Frontiers in Pediatrics*, 2021.

Impact factor : 3,569.

Kaiser E., Stutz R., Goedicke-Fritz S., **Bous M.**, Zemlin M., Adams C.: Noise and Critical sound levels during non-invasive ventilation of a preterm infant in the incubator, *Klinische Pädiatrie*, 2022.

Impact factor 2021 : 1,236.

Weitere Kongressbeiträge

Bous M., Goedicke-Fritz S., Werner T., Niemarkt H.J., Wolfs T. G. A. M, Baumbach J.I., Kemp M.W., Job A.H., Rogosch T., Kaiser E., Stutz R., Meyer S., Maier R.F., Koczulla A.R., Spiller O.B., Kramer B.W., Zemlin M.: Detection of Volatile Organic Compounds as Potential Novel Biomarkers for Chorioamnionitis – Proof of Experimental Model, Online-Vortrag beim Kongress Excellence in Paediatrics 2021.

Bous M., Goedicke-Fritz S., Werner T., Niemarkt H.J., Wolfs T. G. A. M, Baumbach J.I., Kemp M.W., Job A.H., Rogosch T., Kaiser E., Stutz R., Meyer S., Maier R.F., Koczulla A.R., Spiller O.B., Kramer B.W., Zemlin M.: Infektionen riechen? Detektion volatiler organischer Verbindungen als potentielle Biomarker der Chorioamnionitis, Vortrag bei der GNPI-Jahrestagung 2022, Aachen.

Bous M., Steinbach J., Tutdibi E., Kaiser E., Stutz R., Meyer S., Baumbach J.I., Zemlin M., Goedicke-Fritz S.: Messung volatiler organischer Verbindungen im Inkubator mittels multikapillarsäulengekoppelter Ionenmobilitätsspektrometrie: Potential zur nicht-invasiven Diagnostik in der Neonatologie, Posterpräsentation beim Kongress für Kinder- und Jugendmedizin der DGKJ 2022, Düsseldorf.

Bous M., Schmitt C., Dickmann H., Tenbruck S., Tutdibi E., Nourkami-Tutdibi N., Stutz R., Kaiser E., Hans M.C., Haj Hamoud B., Solomayer E., Zemlin M., Goedicke-Fritz S.: Das Lockdown-Projekt: Auswirkungen des Lockdowns in Deutschland auf die Modulation von Immunantworten im frühen Kindesalter, Posterpräsentation beim Kongress für Kinder- und Jugendmedizin der DGKJ 2022, Düsseldorf.

10. Lebenslauf

11. Anhang

11.1. Tabellarische Darstellung des klinikinternen Layer „190222_Zemlin_003_Q_layer“

Name	1/K0	RT	RT radius	Name	1/K0	RT	RT radius
P0	0.761	105.5	8.7	P86	0.792	57.5	5.4
P1	0.761	134.5	10.1	P87	0.724	57.5	5.3
P2	0.775	56.5	5.6	P88	1.089	32.8	4.0
P3	0.758	57.0	5.6	P89	0.576	1.5	2.1
P4	0.728	56.5	5.6	P90	0.601	1.5	2.1
P5	0.686	17.0	3.0	P91	0.578	7.0	2.4
P6	0.652	9.0	2.5	P92	0.620	27.7	3.7
P7	0.628	13.5	2.8	P93	0.681	7.6	2.4
P8	0.635	21.5	3.2	P94	0.720	50.1	5.0
P9	0.620	25.0	3.4	P95	0.504	1.0	2.0
P10	0.576	34.5	3.8	P96	0.762	11.6	2.7
P11	0.549	46.5	4.8	P97	0.608	8.5	2.4
P12	0.569	6.0	2.3	P98	0.741	57.6	5.3
P13	0.538	6.0	2.5	P99	0.710	33.0	4.0
P14	0.493	4.5	2.3	P99.9	0.515	4.5	2.3
P15	0.450	3.0	2.0	P101	0.533	14.5	3.0
P16	0.706	27.1	3.7	P102	0.904	45.3	4.7
P17	0.567	16.6	3.1	P103	0.546	21.0	3.3
P18	0.506	1.5	2.1	P104	0.788	49.0	4.9
P19	0.534	1.5	2.1	P105	0.523	4.0	2.2
P20	0.513	82.0	6.6	P106	0.601	18.5	3.0
P21	0.529	53.0	5.1	P107	0.544	7.0	2.4
P22	0.589	39.5	4.4	P108	0.450	20.5	3.5
P23	0.584	12.5	2.6	P109	0.530	38.5	4.2
P24	0.605	11.5	2.9	P110	0.646	13.5	2.8
P25	0.480	0.5	2.0	P111	0.719	18.0	3.0
P26	0.555	1.0	2.1	P112	0.652	6.5	2.4
P27	0.579	24.5	3.3	P113	0.743	133.5	9.5
P28	0.531	9.5	2.5	P114	0.785	158.5	11.4
P29	0.695	33.0	4.0	P115	1.035	158.0	11.3
P30	0.683	27.5	3.6	P116	0.798	13.5	2.6
P31	0.720	27.5	3.6	P117	0.873	33.0	3.8
P32	0.590	20.5	3.3	P118	0.698	131.0	9.8
P33	0.589	16.0	2.9	P119	0.731	159.0	11.4
P34	0.590	11.0	2.6	P120	0.610	37.5	4.3
P35	0.723	21.5	3.2	P121	0.630	18.5	3.0
P36	0.782	27.0	3.6	P122	0.901	30.5	3.8
P37	0.577	70.5	6.2	P123	0.745	6.5	2.4
P38	0.549	83.0	6.6	P124	0.448	11.0	2.8
P39	0.591	7.0	2.4	P125	0.797	8.0	2.4
P40	0.577	11.5	2.6	P126	0.903	7.5	2.3
P41	0.771	45.0	4.7	P127	0.665	7.5	2.6
P42	0.677	33.0	4.2	P128	0.573	46.0	4.8
P43	0.513	12.5	2.9	P129	0.999	28.0	3.8

P44	0.513	12.5	2.8	P130	0.716	157.8	11.4
P45	0.598	41.5	4.8	P131	0.644	83.6	6.9
P46	0.621	7.0	2.5	P132	0.687	34.0	3.9
P47	0.603	45.5	4.8	P133	0.764	21.0	3.2
P48	0.665	13.5	2.7	P134	0.664	34.0	3.9
P49	0.627	27.5	3.6	P135	0.761	6.0	2.3
P50	0.619	34.0	4.3	P136	0.760	2.0	2.1
P51	0.618	59.7	5.6	P137	0.533	47.5	4.6
P52	0.604	260.6	17.7	P138	0.827	24.1	3.5
P53	0.748	225.7	15.6	P139	0.491	5.5	2.4
P54	0.887	112.4	8.4	P140	0.727	57.0	5.4
P55	0.618	126.7	9.7	P141	0.593	8.5	2.5
P56	0.550	30.5	3.7	P142	0.566	13.0	2.7
P57	0.509	7.0	2.5	P143	0.576	2.0	2.1
P58	0.563	18.0	3.1	P144	0.653	10.5	2.6
P59	0.733	57.0	5.4	P145	0.612	14.0	2.7
P60	0.581	39.5	4.4	P146	0.550	11.0	2.5
P61	0.885	32.0	3.7	P147	0.603	22.5	3.3
P62	0.731	132.0	9.7	P148	0.710	8.0	2.5
P63	0.652	27.5	3.7	P149	0.756	104.0	8.6
P64	0.695	25.0	3.6	P150	0.747	56.5	5.5
P65	0.614	19.5	3.0	P151	0.944	56.5	5.3
P66	0.652	3.0	2.1	P152	0.637	29.5	3.7
P67	0.686	4.0	2.2	P153	0.533	4.5	2.2
P68	0.632	27.0	3.6	P154	0.575	23.0	3.2
P69	0.753	32.5	3.9	P155	0.555	45.5	4.6
P70	0.753	32.5	3.9	P156	0.579	4.5	2.3
P71	0.625	57.0	5.3	P157	0.584	7.0	2.4
P72	0.609	4.5	2.3				
P73	0.584	4.0	2.2				
P74	0.710	4.5	2.2				
P75	0.629	3.5	2.1				
P76	0.624	3.5	2.1				
P77	0.642	53.0	5.1				
P78	0.642	53.0	5.1				
P79	0.739	20.5	3.1				
P80	0.767	32.5	3.8				
P81	0.757	26.5	3.4				
P82	0.568	9.5	2.7				
P83	0.551	6.5	2.4				
P84	0.716	10.5	2.6				
P85	0.854	43.5	4.5				

11.2. Einverständniserklärung

<p>Universität des Saarlandes, Klinik für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie Gebäude 9 66421 Homburg</p>	 <p>UNIVERSITÄT DES SAARLANDES</p>
	<p>Univ.-Prof. Dr. Michael Zemlin</p> <p>Klinik für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie 66421 Homburg</p> <p>T: +49 6841 16 28301 F: +49 6841 16 28310 michael.zemlin@uks.eu</p>
<p>Einwilligung zur Beobachtungs-Studie</p>	
<p>Nicht-invasive Diagnostik in der Neonatologie: Pilotstudie zur berührungsfreien Überwachung von Vitalparametern und zur Messung der volatilen organischen Verbindungen in der Inkubatoratmosphäre von Neugeborenen</p>	
<p>Ich wurde von dem behandelnden Arzt _____ (Name des behandelnden Arztes)</p>	
<p>meines Kindes _____ (Name des Patienten) (Geburtsdatum)</p>	
<p>vollständig über Wesen, Bedeutung und Tragweite der Studie mit dem o. g. Titel aufgeklärt. Ich habe den Aufklärungstext gelesen und verstanden. Ich hatte die Möglichkeit, Fragen zu stellen, und habe die Antworten verstanden und akzeptiere sie. Der behandelnde Arzt meines Kindes hat mich über die Studie ausreichend informiert. Ich hatte ausreichend Zeit, mich zur Teilnahme an dieser Studie zu entscheiden und weiß, dass die Teilnahme an dieser Studie freiwillig ist. Ich weiß, dass ich jederzeit und ohne Angaben von Gründen diese Zustimmung widerrufen kann, ohne dass sich dieser Entschluss nachteilig auf die spätere Behandlung meines Kindes auswirken wird.</p>	
<p>Mir ist bekannt, dass die Daten meines Kindes durch Zuordnung von Nummern in pseudonymisierter Form gespeichert werden und dass ich ein Einsichts- und Lösungsrecht entsprechend Datenschutzgrundverordnung habe. Ansprechpartner sind die u.g. Mitarbeiter.</p>	
<p>Ich habe eine Kopie der Patienteninformation und dieser Einwilligungserklärung erhalten. Ich erkläre hiermit die Teilnahme meines Kindes an dieser Studie und das Einverständnis des/der weiteren Sorgeberechtigten.</p>	
<p>_____ Ort, Datum</p>	<p>_____ Unterschrift des/der Sorgeberechtigten</p>
<p>_____ Ort, Datum</p>	<p>_____ Unterschrift des aufklärenden Arztes</p>
<p>Prof. Dr. Michael Zemlin Direktor der Klinik für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie Tel.: 06841-16 28301</p>	<p>PD. Dr. Erol Tutdibi Oberarzt Klinik für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie Tel.: 06841-16 28374</p>
	<p>Dr. Sybille Goedicke-Fritz Leiterin Forschungslabor Klinik für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie Tel.: 06841-16 28412</p>
<p>Einverständnis Beobachtungsstudie Version 1.3; 23.07.2019</p>	

11.3. Ethikvotum der Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes

VCC 10224

Ärztekammer
des Saarlandes

Körperschaft
des öffentlichen Rechts



Ethik-Kommission
Geschäftsstelle

Faktoreistraße 4
66111 Saarbrücken

Telefon Durchwahl (06 81) 40 03 - 216, -218
Telefax (06 81) 40 03 - 394

E-Mail: ethikkommission@saarland.de
Internet: www.aerztekammer-saarland.de

Kernarbeitszeit: Mo. bis Do. 9.00 bis 11.30 Uhr und
13.30 bis 15.15 Uhr, Fr. 9.00 bis 12.00 Uhr

Ärztekammer des Saarlandes · Postfach 10 02 62 · 66002 Saarbrücken
Ethik-Kommission

Herrn Professor
Dr. med. Michael Zemlin
Direktor der Klinik für
Allg. Pädiatrie und Neonatologie
Universitätsklinikum des Saarlandes
66421 Homburg

Unser Zeichen: 276/17 Ihr Schreiben vom: Ihr Zeichen: Datum: 22. Dez. 2017

Nichtinvasive Diagnostik in der Neonatologie: Pilotstudie zur Messung der volatilen organischen Verbindungen in der Inkubator-Atmosphäre von Frühgeborenen

Unsere Kenn-Nr. 276/17 (bitte stets angeben!)

EINGEGANGEN
28. Dez. 2017
Erl.....

Sehr geehrter Herr Kollege Zemlin!

Wir nehmen Bezug auf Ihr Schreiben vom 14.12.2017, Eingang hier: 20.12.2017, mit dem uns die o.g. Studie zur Beurteilung vorgelegt wird.

Die Unterlagen wurden entsprechend § 6 unseres Statuts vom stellvertretenden Vorsitzenden geprüft, es ist keine Beratung durch die gesamte Kommission erfolgt.

Gegen die Durchführung der o. g. Studie im Prüfzentrum Homburg/ Klinik für Allg. Pädiatrie und Neonatologie - Herrn Professor Zemlin, bestehen weder berufsrechtliche noch ethische Bedenken.

Wir machen darauf aufmerksam, dass die Ethik-Kommission mit ihrer Stellungnahme lediglich eine Hilfestellung bei der Beurteilung ethischer und rechtlicher Gesichtspunkte eines geplanten Forschungsvorhabens gibt. Verantwortlich für die Planung und Durchführung bleibt der zuständige ärztliche Leiter des Forschungsvorhabens.

Bei Änderungen des Forschungsvorhabens vor oder während der Durchführung bedarf es nochmals eines entsprechenden Antrages vor der Änderung. Bei Änderungen sollten sowohl die Antrags-Nummer als auch die geänderten Passagen in den betreffenden Unterlagen deutlich gekennzeichnet sein, da andernfalls keine zügige Bearbeitung möglich ist. Auch müssen neu teilnehmende Prüfzentren der Ethik-Kommission gemeldet werden.

Wir machen ausdrücklich darauf aufmerksam, dass bei erkennbarer Trendwende mit negativem Ergebnis das Forschungsvorhaben abzubrechen ist.

-1-

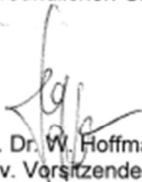
Die Ethik-Kommission bei der Ärztekammer des Saarlandes ist unter Beachtung der internationalen Richtlinien der ICH, GCP u. der 12. Novelle AMG tätig, nach Landesrecht (Saarländisches Heilberufekammergesetz, § 5 Abs. 1) anerkannt und beim Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte gem. § 22 des Medizinproduktegesetzes sowie beim Bundesamt für Strahlenschutz nach § 92 der Strahlenschutzverordnung und nach § 28g der Röntgenverordnung registriert.

Commerzbank Saarbrücken Kto.-Nr. 53 89 200 BLZ 590 400 00	DI. Apotheker- und Ärztebank Saarbrücken Kto.-Nr. 0 091 926 209 BLZ 590 906 26	Postbank Saarbrücken Kto.-Nr. 95 15 966 BLZ 590 100 66	Bank 1 Saar Saarbrücken Kto.-Nr. 157 5007 BLZ 591 900 00
---	--	--	--

-2-

Wir wünschen für die vorgesehene Aufgabe viel Erfolg und wären zur gegebenen Zeit für die Übersendung eines Abschlussberichtes dankbar.

Mit freundlichen Grüßen



Prof. Dr. W. Hoffmann
Stellv. Vorsitzender