

Aus der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und
Intensivtherapie der Medizinischen Fakultät der Universität
Rostock

Direktor: Herr Prof. Dr. med. D. A. Reuter

Atemgasmarker bei ventilatorassozierter Pneumonie

Inauguraldissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Rostock

Vorgelegt von
Ulrike Grigat
Rostock, August 2020

Gutachter

1. Prof. Dr. med. Dipl. Chem. Jochen Schubert D.E.A.A.
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie
Universitätsmedizin Rostock
2. Priv.-Doz. Dr. med. habil. Paul Stoll
Abteilung für Pneumologie und Interdisziplinäre Internistische Intensivmedizin
Zentrum für Innere Medizin
Universitätsmedizin Rostock
3. Prof. Dr. Michael Lalk
Institut für Biochemie
Universität Greifswald

Jahr der Einreichung: 2020

Jahr der Verteidigung: 2021

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	III
Abbildungsverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	VI
1. Einleitung	1
1.1. Pneumonie	1
1.2. Ventilatorassoziierte Pneumonie	2
1.3. Atemgasanalytik	3
2. Fragestellung und Ziel der Arbeit	6
3. Material und Methoden	7
3.1. Patienten	7
3.2. Probenahme und Präkonzentration	10
3.2.1. Probenahme für SPME	11
3.2.2. Präkonzentration mittels SPME	12
3.2.3. Probenahme und Präkonzentration mittels NTME	12
3.3. Analyse der volatilen organischen Substanzen mittels GC/MS	14
3.3.1. SPME	15
3.3.2. NTME	15
3.3.3. Kalibrierung, Identifikation und Quantifizierung der volatilen organischen Substanzen	16
3.4. Statistische Auswertung	18
4. Ergebnisse	19
4.1. SPME	19
4.1.1. Aceton	21
4.1.2. Isopren	22
4.1.3. Dimethylsulfid	23
4.1.4. Sevofluran	24
4.2. NTME	25
4.2.1. Aceton	27
4.2.2. Isopren	28
4.2.3. α -Pinen	29
4.2.4. Ethanol	30
4.2.5. Cyclohexan	31
4.2.6. 2,2,4,6,6-Pentamethylheptan	32

4.2.7. Propofol	33
4.3. Ergebnisse Verlaufspatient	34
5. Diskussion	39
6. Zusammenfassung	49
7. Thesen der Arbeit	50
Literaturverzeichnis	LI
Selbständigkeitserklärung	LXI
Danksagung	LXII
Lebenslauf	LXIII

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Pneumoniegruppe (VAP) mit Zuordnung von Diagnosen und operativem Eingriff (n=18).....	8
Tabelle 2: Kontrollgruppe (KON) mit Zuordnung von Diagnosen und operativem Eingriff (n=21).....	9
Tabelle 3: Konfigurationen der Präkonzentrationsmethoden und GC/MS	14
Tabelle 4: SPME: VOC mit Geradensteigung, R ² , LOD, LOQ, Detektionsbereiche in Ex- und Inspiration; n.d. = nicht detektiert (< LOD), d. = detektiert (LOD<VOC< LOQ)	20
Tabelle 5: NTME: VOC mit Geradensteigung, R ² , LOD, LOQ, Detektionsbereiche in Ex- und Inspiration; n.d. = nicht detektiert (< LOD), d. = detektiert (LOD<VOC< LOQ)	26

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Kapnogramm: (I: Inspiration, II: gemischt-expiratorische Phase, III: alveolare Phase/Plateau-Phase; IV: Inspiration)	11
Abbildung 2: NTD konnektiert mit 1ml Spritze	13
Abbildung 3: Schematische Darstellung NTD	13
Abbildung 4: Kalibriergerade und Geradengleichung von Aceton (Mittelwerte) mittels SPME	17
Abbildung 5: Kalibriergerade und Geradengleichung von Isopren (Mittelwerte) mittels NTME	18
Abbildung 6: Vergleich exspiratorischer und inspiratorischer Konzentrationen von Aceton mittels SPME (n VAP = 17, n KON = 21).....	21
Abbildung 7: Vergleich exspiratorischer und inspiratorischer Konzentrationen von Isopren mittels SPME (n VAP = 17, n KON = 21).....	22
Abbildung 8: Vergleich exspiratorischer und inspiratorischer Konzentrationen von Dimethylsulfid mittels SPME (n VAP = 17, n KON = 21)	23
Abbildung 9: Vergleich exspiratorischer und inspiratorischer Konzentrationen von Sevofluran mittels SPME (n VAP = 17, n KON = 21).....	24
Abbildung 10: Vergleich exspiratorischer und inspiratorischer Konzentrationen von Aceton mittels NTME (n VAP = 18, n KON = 21).....	27
Abbildung 11: Vergleich exspiratorischer und inspiratorischer Konzentrationen von Isopren mittels NTME (n VAP = 18, n KON = 21).....	28
Abbildung 12: Vergleich exspiratorischer und inspiratorischer Konzentrationen von α -Pinen mittels NTME (n VAP = 18, n KON = 21).....	29
Abbildung 13: Vergleich exspiratorischer und inspiratorischer Konzentrationen von Ethanol mittels NTME (n VAP = 18, n KON = 21).....	30
Abbildung 14: Vergleich exspiratorischer und inspiratorischer Konzentrationen von Cyclohexan mittels NTME (n VAP = 18, n KON = 21)	31
Abbildung 15: Vergleich exspiratorischer und inspiratorischer Konzentrationen von 2,2,4,6,6-Pentamethylheptan mittels NTME (n VAP = 18, n KON = 21)	32
Abbildung 16: Vergleich exspiratorischer und inspiratorischer Konzentrationen von Propofol mittels NTME (n VAP = 18, n KON = 21)	33
Abbildung 17: Exspiratorische Acetonkonzentrationen eines Patienten im zeitlichen Verlauf mittels SPME.....	34

Abbildung 18: Exspiratorische Isoprenkonzentrationen eines Patienten im zeitlichen Verlauf mittels SPME.....	34
Abbildung 19: Exspiratorische Dimethylsulfidkonzentrationen eines Patienten im zeitlichen Verlauf mittels SPME.....	35
Abbildung 20: Exspiratorische Sevoflurankonzentrationen eines Patienten im zeitlichen Verlauf mittels SPME.....	35
Abbildung 21: Exspiratorische Acetonkonzentrationen eines Patienten im zeitlichen Verlauf mittels NTME.....	36
Abbildung 22: Exspiratorische Isoprenkonzentrationen eines Patienten im zeitlichen Verlauf mittels NTME.....	36
Abbildung 23: Exspiratorische Ethanolkonzentrationen eines Patienten im zeitlichen Verlauf mittels NTME.....	37
Abbildung 24: Exspiratorische 2,2,4,6,6-Pentamethylheptankonzentrationen eines Patienten im zeitlichen Verlauf mittels NTME	37
Abbildung 25: Exspiratorische Propofolkonzentrationen eines Patienten im zeitlichen Verlauf mittels NTME.....	38

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACB/ACVB	Aorto-coronarer Bypass/Aorto-coronarer Venenbypass
AI	Aortenklappeninsuffizienz
AKE	Aortenklappenersatz
AST/AS	Aortenklappenstenose
CAP	Community-aquired pneumonia
CCE	Cholezystektomie
DES	Drug-eluting Stent (Medikamenten-beschichteter Stent)
EVD	Externe Ventrikeldrainage
GC/MS	Gaschromatographie/Massenspektrometrie
HAP	Hospital-aquired pneumonia
H&H	Hunt&Hess
ICB	Intrakranielle Blutung
ICP	Intracranial pressure (intrakranieller Druck)
KHK	Koronare Herzkrankheit
KÖF	Klappenöffnungsfläche
KON	Kontrollgruppe
LAA	Left atrial appendage (linkes Vorhofohr)
LIMA	Left internal mammary artery (A. thoracica interna sinistra)
LOD	Limit of detection (Nachweisgrenze)
LOQ	Limit of quantification (Bestimmungsgrenze)
MSD	Massenselektiver Detektor
NTD	Needle trap device
NTME	Needle trap micro extraction
PDMS	Polydimethylsiloxan
PEC	Plattenepithelcarzinom
PFO	persistierendes Foramen ovale
ppbV	Parts per billion by volume (Teile pro Milliarde)
RCA	Arteria coronaria dextra
RCX	Ramus circumflexus
RD	Ramus diagonalis

RIM	Ramus intermedius
RIVA	Ramus interventricularis anterior
RIVP	Ramus interventricularis posterior
RMO	Ramus marginalis obliquus
RPLD	Ramus posterolateris dexter
SAB	Subarachnoidalblutung
SDH	Subduralhämatom
SHT	Schädel-Hirn-Trauma
SPME	Solid phase micro extraction
STEMI	ST-elevating myocardial infarction (ST-Hebungsinfarkt)
TVT	Tiefe Venenthrombose
V.	Vene
V.a.	Verdacht auf
VAP	Ventilator-associated pneumonia (ventilatorassoziierte Pneumonie)
VHF	Vorhofflimmern
VOC	Volatile organic compound (flüchtige organische Substanz)
Z.n.	Zustand nach

1. Einleitung

1.1. Pneumonie

Pneumonien sind akute oder chronische Entzündungen der Lunge, welche den Alveolarraum oder das Interstitium betreffen und gehören zu den am häufigsten zum Tode führenden Infektionskrankheiten in den Industrieländern. Sie werden nach verschiedenen Einteilungsprinzipien unterschieden. Nach pathologisch-anatomischer Lokalisation erfolgt die Einteilung in alveolär und interstitiell sowie nach Ausdehnung in lobäre und lobuläre Pneumonien. In Unterscheidung der Ätiologie, z.B. infektiöser Genese oder nach Exposition gegenüber chemischen oder physikalischen Noxen ergeben sich Konsequenzen in der Therapie. Des Weiteren werden Pneumonien klinisch unter Berücksichtigung von Vorerkrankungen und dem Verlauf betrachtet. Die Infektion erfolgt meist aerogen über Tröpfcheninfektionen. Das Erregerspektrum unterscheidet sich je nachdem ob die Pneumonie ambulant oder im Krankenhaus erworben wurde und ist meist bakteriell bedingt [1]. Bei ambulant erworbenen Pneumonien (community-acquired pneumonia, CAP) finden sich Pneumokokken (*Streptococcus pneumoniae*), *Mycoplasma pneumoniae* und *Staphylococcus aureus* als typische Erreger [2]. Im Krankenhaus erworbene Pneumonien (nosokomial, hospital-acquired pneumonia, HAP) treten 48 Stunden nach Krankenhausaufnahme auf. Ursächlich sind gehäuft gramnegative Bakterien und antibiotikaresistente Keime, z.B. *Pseudomas aeruginosa* und Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* [1].

Diagnostiziert wird eine Pneumonie anhand radiologisch neu aufgetretener Infiltrate in Kombination mit Zeichen der systemischen Inflammation wie Fieber, Leukozytose oder -penie und purulentem Bronchialsekret bzw. Erregernachweis im Trachealsekret [3].

1.2. Ventilatorassoziierte Pneumonie

Die ventilatorassoziierte Pneumonie (ventilator-associated pneumonia, VAP) stellt eine der häufigsten nosokomialen Infektionen auf der Intensivstation dar und ist ursächlich für die Hälfte der auf Intensivstationen verabreichten Antibiotika [4]. Sie ist als eine Pneumonie definiert, welche 48-72 h nach endotrachealer Intubation und maschineller Beatmung auftritt [3]. VAP verursachen eine erhöhte Mortalität, Morbidität, längere Beatmungsdauer, längere Krankenhausverweildauer und dementsprechend höhere Kosten [5]. 9-27 % der mechanisch ventilierten Patienten entwickeln eine VAP. Das höchste Risiko besteht innerhalb der ersten fünf Tage nach Intubation [3]. Die attributable Mortalität beträgt 9 % [6].

VAP-Infektionen werden in Early- und Late-onset VAP unterteilt. Die Early-onset VAP entwickelt sich innerhalb der ersten vier Tage mit maschineller Beatmung und wird in der Regel durch antibiotikasensible Bakterien verursacht. Nach vier Tagen Beatmung entstehende ventilatorassoziierte Pneumonien werden als Late-onset bezeichnet und es finden sich häufig multiresistente Bakterienstämme [4].

Die Ausprägung der Pneumonie ist abhängig von Art und Weise der Inokulation, der Virulenz der Krankheitserreger und der Immunkompetenz des Patienten [3].

Als Hauprisikofaktor für die Entwicklung einer VAP gilt die maschinelle Beatmung über den Endotrachealtubus. Sekret aus dem Oropharynx oder dem Magen sammelt sich über der Trachealtubusmanschette (Cuff). Über Leckagen durch Faltenbildung entlang des Cuffs gelangen so Bakterien in den unteren Respirationstrakt und das pulmonale Parenchym. Diese Mikroaspirationen (stille Aspirationen) werden durch fehlende Schutzreflexe (Husten-, Schluck-, Niesreflex) im Rahmen der Sedierung und eine gestörte mukoziliäre Clearance begünstigt. Die Inhalation von infektiösem Material, z.B. kontaminiertem Wasser aus Verneblern, Befeuchtungs- und Schlauchsystemen, stellt eine weitere Infektionsquelle dar. Auch durch die Ausbildung keimbesiedelter Beläge (Biofilme) innerhalb des Tubus kommt es besonders nach Manipulationen wie

Absaugvorgängen oder im Rahmen von Bronchoskopien zur Ablösung und Inhalation von infektiösem Material. Infektionen über hämatogene Streuung aus infizierten Organen spielen eine untergeordnete Rolle bei der Ausbildung einer VAP [3], [4], [7], [8].

Neben zahlreichen Präventionsmaßnahmen wie zum Beispiel Händehygiene, Mundpflegeprogramme und subglottischen Absaugsystemen sind eine schnelle Diagnosefindung und Therapiebeginn entscheidend. Die Diagnose wird anhand oben genannter Kriterien gestellt. Zu berücksichtigen ist dabei, dass der radiologische Nachweis eines neu aufgetretenen Infiltrats wenig spezifisch für die Diagnose VAP ist. Auch andere Krankheitsentitäten wie zum Beispiel ARDS (acute respiratory distress syndrome), Herzinsuffizienz, Atelektasen und Lungenkontusionen zeigen ein ähnliches Bild. Somit ist die Diagnosestellung unspezifisch und in gewissem Maße von der Subjektivität des Untersuchers abhängig [3], [8].

1.3. Atemgasanalytik

Die Bedeutung des Geruchs der Ausatemluft zur Diagnosefindung von Erkrankungen war bereits zu Zeiten Hippokrates bekannt und wird auch heute z.B. in der Notfallmedizin genutzt, wenn keine laborchemische oder apparative Diagnostik verfügbar ist. Viele Krankheiten haben einen pathognomischen Geruch wie zum Beispiel süßlich-fruchtig beim entgleisten Diabetes mellitus [9] oder ammoniakähnlich bei schweren Nierenerkrankungen [10]. Erkrankungen der Leber fallen mit einem modrigen oder fischigen Geruch auf [11]. Daher ist es naheliegend, die chemische Zusammensetzung des exhalierter Atems mit physiologischen und pathophysiologischen Vorgängen im Körper in Verbindung zu bringen. Lavoisier konnte bereits 1784 nachweisen, dass Sauerstoff im Körper zu Kohlenstoffdioxid und Wärme umgesetzt wird [12]. 1857 gelang Petters der Nachweis von Aceton im Urin von Diabetespatienten. Er mutmaßte hierin die Ursache für den süßlich-fruchtigen Geruch. Den quantitativen Nachweis von Aceton in der Ausatemluft erbrachte Nebelthau um 1800 [13], [14].

Mit der Weiterentwicklung der Gaschromatographie in den 1980ern durch Linus Pauling konnten mehr als 250 der nur im Spurenbereich in der Ausatemluft vorhandenen flüchtigen organischen Verbindungen (volatile organic compounds, VOCs) detektiert werden [10], [15]. Seither stieg mit der technischen Weiterentwicklung die Zahl der nachweisbaren Substanzen deutlich an und die Atemgasanalytik als nichtinvasive Diagnostik gewinnt zunehmend an Bedeutung [16]–[18].

Das Spektrum dieser flüchtigen organischen Verbindungen reicht von Alkanen (Ethan, Propan, Pentan), Alkoholen (Ethanol, Propanol), Aldehyden (Acetaldehyd, Hexanal), ungesättigten Verbindungen (Isopren) bis zu aromatischen Verbindungen (Benzol-, Phenyldeivate) [16]. Die VOCs werden zum Teil endogen bei physiologischen und pathologischen Vorgängen produziert. So entstehen Alkane und einige Aldehyde bei der oxidativen Spaltung von Fettsäuren [19], [20]. Zu erhöhten Konzentrationen kommt es bei Zuständen mit vermehrter oxidativer Aktivität [21] wie Reperfusion nach Ischämie [22] oder Myokardinfarkt und Herzinsuffizienz [23]–[25]. Ebenso bei inflammatorischen Prozessen wie chronisch entzündlichen Darmerkrankungen lassen sich höhere Pentankonzentrationen nachweisen [26]. Aceton als Ketonkörper entsteht bei gesteigerter Lipolyse und lässt sich bei katabolen Stoffwechselzuständen oder unter Insulinmangel nachweisen [9]. Auch exogene zugeführte Substanzen, etwa durch Zigarettenrauchen, Alkoholkonsum oder die Einnahme von Medikamenten, verändern die Zusammensetzung der Ausatemluft [27]–[29].

Für die Bestimmung der im Konzentrationsbereich von nmol/l (ppbV) vorliegenden volatilen organischen Substanzen sind Verfahren zur Präkonzentration notwendig. Im Rahmen dieser Studie kamen zwei verschiedene Präkonzentrationsverfahren zur Anwendung, die 1989 von Pawliszyn entwickelte Festphasen-Mikroextraktion (solid phase micro extraction, SPME) und die Nadelfallen-Mikroextraktion (needle trap micro extraction, NTME). Während SPME hauptsächlich auf der Einstellung eines Gleichgewichtes der VOC zwischen der Gasphase und der beschichteten Faser (Festphase) beruht [30], stellt NTME eine adsorptionsbasierte Präkonzentrationstechnik dar [31], [32].

Mikroextraktionstechniken wie SPME und NTME werden in vielen Bereichen eingesetzt, um flüchtige organische Substanzen zu detektieren und zu analysieren. Sie finden zum Beispiel Anwendung in der Umwelt- und Lebensmittelanalytik, Pharmakologie und Toxikologie [33]–[37].

In den letzten Jahren wurden bereits spezielle Sensoren für einige Substanzen in der Ausatemluft entwickelt. So lässt sich zum Beispiel bei Atemwegserkrankungen wie Asthma bronchiale das exhalierte Stickstoffmonoxid (NO) mittels NO-Sensor messen [38]. Durch *Helicobacter pylori* verursachte Magenschleimhautentzündungen können mit Hilfe des Harnstoff-Atemtests diagnostiziert werden [39].

Die Atemgasanalytik als nichtinvasives Untersuchungsverfahren stellt im Gegensatz zu invasiven Verfahren wie Blut- oder Gewebe-probenentnahmen ein schmerzfreies, für den Patienten ungefährliches Verfahren dar und lässt sich beliebig oft wiederholen.

2. Fragestellung und Ziel der Arbeit

Für die zielgerichtete Behandlung einer VAP spielt eine schnelle Diagnosefindung eine wichtige Rolle und unterliegt bisher den oben beschriebenen Limitationen. Die nichtinvasive Bestimmung von Atemgasmarkern bei VAP wäre ein entscheidender Fortschritt zur Verbesserung der Diagnosestellung und Therapie der VAP.

Ziel dieser Studie war es daher, VOC-Profile aus dem exhalierten Atemgas von Pneumoniepatienten zu bestimmen und folgende Fragestellungen zu beantworten.

1. Welche Präkonzentrationstechnik ist für die Bestimmung von VOC-Profilen bei ventilatorassozierter Pneumonie besser geeignet? Unterscheiden sich die Ergebnisse der VOC-Analyse aufgrund der verwendeten Mikroextraktionsmethoden (SPME oder NTME)?
2. Lassen sich VAP- und Kontrollpatienten anhand der VOC-Profile unterscheiden?
3. Wie verhalten sich die VOC-Profile eines Patienten, der eine VAP entwickelt, im zeitlichen Verlauf?

3. Material und Methoden

3.1. Patienten

Nach Zustimmung der Ethikkommission (Registriernr.: A 2011 07, Januar 2011) und Einverständnis der Patienten bzw. deren Angehörigen wurden 39 maschinell beatmete Patienten im Alter zwischen 26 und 89 Jahren auf der perioperativen Intensivstation von April 2011 bis November 2012 in die Beobachtungsstudie eingeschlossen. Mit erfasst wurden beatmete Patienten, die den im Folgenden aufgeführten Kriterien entsprachen und älter als 18 Jahre waren. Ausgeschlossen wurden Patienten mit ARDS (acute respiratory distress syndrome), Schwangere und Patienten unter 18 Jahren.

Patienten, die mit größter Wahrscheinlichkeit keine ventilatorassoziierte Pneumonie aufweisen, sind solche unmittelbar nach chirurgischen Eingriffen in der Phase der postoperativen Nachbeatmung. Daher wurden in die Kontrollgruppe (KON) Patienten nach Elektiveingriffen aus der Kardiochirurgie und Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie sowie nach Schädelhirntraumata eingeschlossen. Patienten, die längere Zeit beatmet werden müssen, entwickeln mit hoher Wahrscheinlichkeit eine VAP. Deshalb wurden für die VAP-Gruppe Patienten nach großen chirurgischen Eingriffen wie z.B. nach onkologischen Operationen oder auch intrakraniellen Blutungen rekrutiert. Für Verlaufsmessungen fanden bei einem Patienten der VAP-Gruppe prospektiv über einen Zeitraum von 15 Tagen wiederholt Atemgasmessungen statt.

Für jeden Patienten wurden anonymisiert Alter, Geschlecht, Haupt- und Nebendiagnosen, Beatmungsparameter, Blutgasanalyse, Laborparameter (Hämoglobin, Hämatokrit, Thrombozyten, Leukozyten, Blutzucker, Elektrolyte, Harnstoff, Kreatinin, Bilirubin), Medikation sowie mikrobiologische Befunde in einer Datenbank erfasst.

In Tabelle 1 sind die Patientencharakteristika, Diagnosen und operative Prozeduren der VAP-Gruppe zusammengefasst, in Tabelle 2 befinden sich die Angaben für die Kontrollgruppe.

Tabelle 1: Pneumoniegruppe (VAP) mit Zuordnung von Diagnosen und operativem Eingriff (n=18)

Alter	m/w	Hauptdiagnosen	OP-Prozeduren	VAP-Diagnose (klinisch/mikrobiologisch/ radiologisch)
36	w	Z.n. Reanimation	DES-Implantation RCA	+++
42	w	intrakranielle Blutung rechts	Kraniotomie, Hämatomausräumung, Anlage externe Ventrikeldrainage; Dekompressionskraniotomie	+++
53	w	traumatische SAB mit Hirnödem mit Mittellinienverlagerung		+++
64	w	Z.n. STEMI	ACB3(2) LIMA-->RIVA, V-->RCA, V-->RIM, Stammzelltransplantation, Herzhochocclusion	+++
65	m	Chondrosarkom suprajugulär rechts	Tumorradiokalexzision mit Eröffnung der Pleura, Resektion Rippe, Sternum, plastische Deckung	+++
66	w	akutes SDH rechts bei V.a. Z.n. hypertensiver Entgleisung	Kraniotomie + Hämatomausräumung rechts	++-
66	m	Hirnstammbleeding im Bereich der Pons	plastische Tracheotomie	+-+
69	m	Suizidversuch, versuchtes Erhängen		+++
72	m	Nierenzellkarzinom links	Tumornephrektomie links	+++
73	w	Sigmagangrân	Hartmann-OP, Descendostoma; Lavage, lokale blutstillung	+++
74	w	Aortenklappenstenose	Hämatomausräumung; biolog. AKE	+-+
75	w	ICB rechts mit Ventrikeleinbruch	Entlastung der Blutung über re frontale Kraniotomie und Einlage einer EVD	+++
77	m	Perforierte Gallenblase bei Cholezystitis	Cholezystektomie und Lavage	+++
77	w	zentrale Lungenembolie rechts, kleinere Embolien links mit Cor pulmonale und hochgradigem pulmonalen Hypertonus, TVT rechts	Angiograph. Katheterfragmentation, lokale Lyse links, lokale Lyse TVT rechts, transjuguläre Cavaschirmimplantation	+++
80	w	Sigmaperforation mit Einquadrantenperitonitis	Re-Laparotomie mit Neueinpflanzung Deszendostoma, Colon-Nachresektion, Appendektomie, Hartmann-OP	+++
82	m	SAB ohne Nachweis eines Aneurysmas	Ventrikeldrainage	+++
83	m	gedeckt perforiertes Bauchaortenaneurysma, Verwachsungsbauch	plastische Tracheostomie; Colektomie, Ileostomanalage, Lavage, Drainage, Adhäsionlyse; Laparotomie, Rohrprothese, 3xDünndarmübernähung	+++
89	m	Akutes subdurales Hämatom links	Kraniotomie mit Hämatonentlastung und Duraplastik, Revision bei Nachblutung	+++

Tabelle 2: Kontrollgruppe (KON) mit Zuordnung von Diagnosen und operativem Eingriff (n=21)

Alter	m/w	Hauptdiagnosen	OP-Prozeduren
26	m	Aortenklappeninsuffizienz III° bei bikuspider Klappe	Aortenklappenrekonstruktion mittels Raffung
38	m	SAB H&H5	Coiling, Bohrlochtrepanation, Anlage VD; Explorativlaparotomie, Darmdekompression, CCE, Relaparotomie, Lavage
48	w	PEC Mundboden	Tumor-Radikal-OP mit Neck-Diss. Radialislappen, Tracheotomie
49	m	Perikarditis constrictiva	Perikardektomie
52	m	Aneurysma der Aorta ascendens	Aorta-ascendens-Ersatz und Aortenklappenrekonstruktion
52	m	Aorta ascendens Aneurysma	Aorta-ascendens-Ersatz, biologischer Aortenklappenersatz
58	m	3-Gef.-KHK	ACVB: LIMA->RIVA, V->RPLD, PFO-Direktnaht
61	m	Mitralinsuffizienz III°	Mitralklappen-Rekonstruktion + Herzohrokklusion
61	m	SHT	Hämatomausräumung, ICP-Sondenanlage
63	m	Rezidiv Oropharynx-Ca	Tumorresektion, Radialislappen, Einlage Brachyherapiestäbchen
64	m	V.a. Cholesteatom Temporobasis re	Tumorresektion
68	m	Aorta ascendens Aneurysma	Aorta ascendens Prothese
68	m	ICB frontal re mit Ventrikeleinbruch	Anlage Ventrikeldrainage (im Schockraum)
68	w	3-Gefäß-KHK (90% RIVA, RD1: 75%, RCX: 90%, RCA: 50%)	ACB (LIMA->RIVA, Vene->RMO)
70	w	malignes Melanom (Rezidiv) + Strahlennekrosen	Resektion des Meningeoms supra- und infratentoriell, Duraplastik, Resektion Strahlennekrosen
75	m	KHK	ACB 4(3)fach LIMA->RIVA, V->RIM, V->RD, V->RCA
75	m	Koronare 3-Gef-KHK, VHF	4 (3) ACVB: LIMA-> RIVA, V->RD, V->RMO, V->RIVP, bivitiale Ablation, LAA-Verschluss
78	m	3-Gefäß-KHK (75%ige RiVA-, ostial und zentrale 50%ige RCA-Abgangsstenose; AST II-III°)	AKE, ACB (LIMA -> RIVA, Vene -> RMO)
78	w	3-Gefäß-KHK mit hochgradiger Bifurkationsstenose	3 (2) ACB-LimA -> RIVA, V-> RCA, V->RMO
80	m	Basilaristhrombose	
85	m	Kombiniertes Aortenklappenvitium AS III°, AI II-III°, KÖF 0.58cm2	AKE (transapikal)

3.2. Probenahme und Präkonzentration

Eine kontrollierte Atemgasprobenahme erfolgte unter standardisierten Bedingungen als Voraussetzung für valide und quantifizierbare Ergebnisse [40]. Die Patienten wurden druckkontrolliert mit den Intensivrespiratoren Servo i oder Evita 4 beatmet. Speziell angefertigte Edelstahl-T-Stücke wurden zur Probenahme tubusnah in den Exspirationsschenkel und am Beatmungsgerät in den Inspirationsschenkel eingebracht.

Im Rahmen dieser Studie wurden zwei verschiedene Präkonzentrationsverfahren eingesetzt, die Festphasen-Mikroextraktion (solid phase micro extraction, SPME) und die Nadelfallen-Mikroextraktion (needle trap micro extraction, NTME).

Insgesamt wurden von jedem Patienten vier exspiratorische und vier inspiratorische Proben entnommen. In Abbildung 1 ist die Probenahme im klinischen Setting dargestellt.

Je vier Proben (2 Ex, 2 Ins) wurden mittels SPME und vier Proben (2 Ex, 2 Ins) mittels NTME präkonzentriert.



Abbildung 1: manuelle Probenahme für die Präkonzentration mittels SPME (links) und NTME (rechts) bei kontrolliert beatmeten Patienten; adaptiert nach Miekisch et al. [41]

3.2.1. Probenahme für SPME

Aus dem Inspirationsschenkel wurde 15 ml Inspirationsgas mit einer gasdichtenen Glasspritze entnommen und die erste Probe verworfen. Die zweite Probe wurde für die Präkonzentration mittels SPME direkt in ein mit Stickstoff gespültes und zuvor evakuiertes gasdichtes 20 ml Glasrörchen mit Teflon-Silikonseptum (SPME-Vial, Gerstel GmbH & Co.KG, Mühlheim/Ruhr, Deutschland) überführt.

Die exspiratorische Probenahme erfolgte CO_2 -kontrolliert in der alveolaren Phase, der Plateauphase des Kapnogramms, über das zwischen Tubus und Kapnometer platzierte T-Stück. Durch die CO_2 -kontrollierte Abnahme wird eine Verdünnung volatiler Substanzen durch Totraumgas vermieden [41]–[43]. In Abbildung 2 ist der Verlauf des Kohlendioxidpartialdrucks in einem Atemzyklus dargestellt. Es wurden je 15 ml Ausatemluft in der alveolären Phase der Exspiration entnommen und die erste Probe verworfen. Die zweite wurde direkt in das zuvor gespülte und evakuierte SPME-Vial überführt.

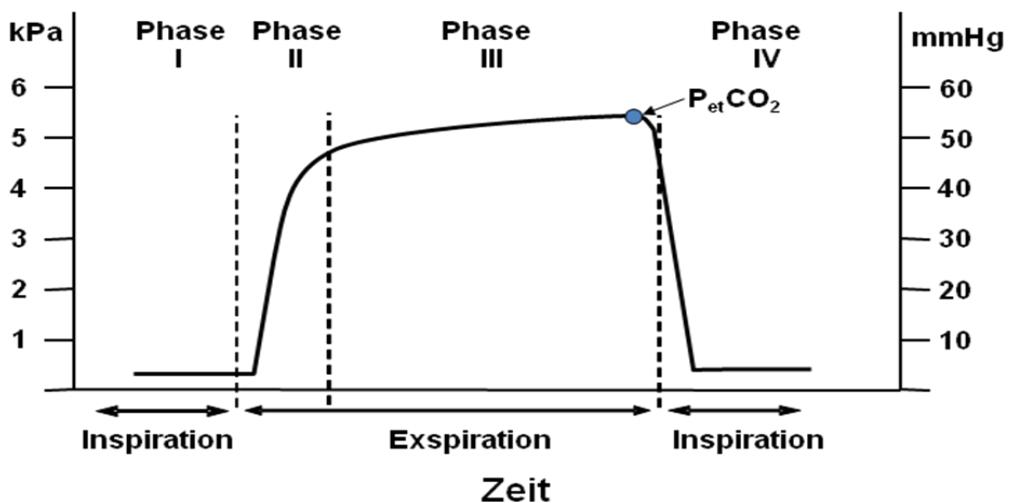


Abbildung 2: Kapnogramm: (I: Inspiration, II: gemischt-expiratorische Phase, III: alveolare Phase/Plateau-Phase; IV: Inspiration); adaptiert nach Miekisch et al. [41]

3.2.2. Präkonzentration mittels SPME

Die in den Atemgasproben enthaltenen flüchtigen Substanzen wurden mittels Festphasen-Mikroextraktion (solid phase micro extraction, SPME) präkonzentriert. Zur Anreicherung flüchtiger organischer Verbindungen wird die Gleichgewichtseinstellung der Analyten zwischen der Gasphase und der beschichteten Faser (Festphase) genutzt. Für die Messungen wurde eine mit Polydimethylsiloxan (PDMS) und Carboxen beschichtete Faser (75 µm, SIGMA, Bellefonte, PA, USA) verwendet. Diese wurde vor der ersten Nutzung im Injektor des Gaschromatographen eine Stunde lang bei 300 °C konditioniert. Unmittelbar vor der Verwendung erfolgte eine erneute Konditionierung über 30 Minuten bei 290 °C. In dieser Zeit wurde ein Gläschen im Schüttler des CombiPAL Autosamplers (CTC analytics AG, Zwingen, Schweiz) auf 42 °C erwärmt.

Die SPME-Faser wurde in das SPME-Probengefäß eingeführt und die flüchtigen organischen Verbindungen 7 Minuten lang auf der Faser angereichert. Anschließend wurde die Faser zurückgezogen und in den Injektor des Gaschromatographen überführt.

3.2.3. Probenahme und Präkonzentration mittels NTME

Die Probenahme mittels NTD (needle trap device) erfolgte bidirektional mit einer 1 ml Spritze (Transcoject®, Transcoject GmbH, Neumünster, Deutschland) über 20 Zyklen. Dazu wurde die Spritze mit der NTD konnektiert, über das Septum eines sterilen Luer-Verschlusses in das Beatmungssystem eingebracht und je 1 ml Atemgas entnommen. Um einen Druckausgleich in der Nadel sicher zu stellen, wurde der Spritzenstempel jeweils in oberer und unterer Stellung für zwei bis drei Sekunden gehalten. Ein Zyklus beinhaltet den Stempel innerhalb einer Sekunde in die obere und innerhalb einer Sekunde in die untere Stellung zu bringen. Somit beträgt das Probenvolumen pro Zyklus 1 ml. Dieser Vorgang wurde 20 Mal wiederholt und für jede Inspirations- und Exspirationsprobe so ein Probenvolumen von 20 ml gewonnen. Die Probenahme der Ausatemluft erfolgte CO₂-kontrolliert in der alveolären

Phase der Expiration. Anschließend wurden die Enden der NTD mit der Teflon-Kappe verschlossen, um Kontaminationen zu vermeiden.



Abbildung 3: 1 ml Einwegspritze mit NTD und Luer®Verschlusskappe adaptiert nach Miekisch et al. [41]

Die verwendeten Needle trap devices bestehen aus rostfreiem 22-gauge Stahlnadeln (Firma Shinwa Ltd., Japan) und können mit unterschiedlichen Adsorbentien gefüllt werden. Für diese Studie wurde ein Adsorptionsmaterial aus einem Copolymer aus Methacrylsäure, Ethylen-Glykol-Dimethacrylat (Packungslänge 2 cm, im Folgenden als Polymernadeln bezeichnet) verwendet. Die Adsorbentien werden durch einen Spiralverschluss in ihrer Position weniger als 1 mm vor der Nadelöffnung gehalten. Das Luerlock-Ende und die Nadelspitze werden durch eine Teflonkappe verschlossen.

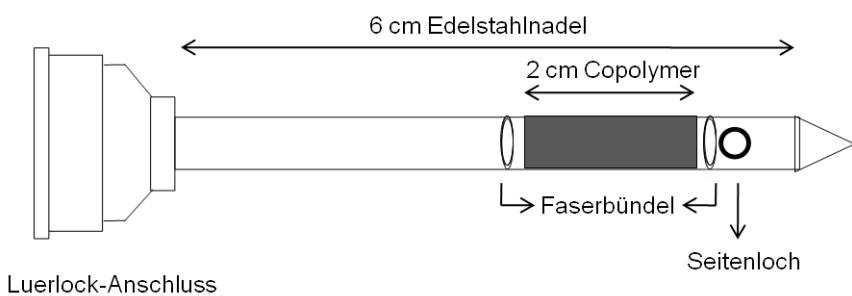


Abbildung 4: Schematische Darstellung des NTD adaptiert nach Trefz et al. [32]

Vor der ersten Nutzung wurden die NTD in einer Ausheizstation (PAS Technology, Magdala, Deutschland) bei 195 °C über 20 Stunden bei einem kontinuierlichen Heliumfluss konditioniert, um mögliche Kontaminationen zu eliminieren. Eine erneute Konditionierung fand

unmittelbar vor der Nutzung über 30 Minuten statt. Nach den Probenahmen wurden die Polymernadeln mit Hilfe eines CONCEPT-Autosamplers (PAS Technology, Magdala, Deutschland) in den beheizten Injektor überführt und anschließend mittels GC-MS analysiert.

3.3. Analyse der volatilen organischen Substanzen mittels GC/MS

Die präkonzentrierten Substanzen wurden im Injektor thermisch von NTD und SPME-Faser desorbiert, gaschromatographisch getrennt und massenspektrometrisch detektiert. Zur Durchführung der Analyse wurde je ein Gaschromatograph in Kombination mit einem Massenselektiven Detektor (AGILENT 7980A/5975C inert XL MSD, Santa Clara, CA, USA) genutzt. In der Tabelle 3 sind ausgewählte analytische Parameter beider GC/MS-Systeme dargestellt.

Die Identifizierung erfolgte über Retentionszeit und Massenspektrum, die Quantifizierung über die m/q Spuren der einzelnen Substanzen im Vergleich mit Referenzsubstanzen unterschiedlicher Konzentrationen.

Tabelle 3: Konfigurationen der Präkonzentrationsmethoden und GC/MS

	SPME	NTME
Nadel-/Fasermaterial	1cm Car/PDMS, 75µm	Polymer
Injektortemperatur	290C°	200C°
Gesamtflussrate	52,7ml/min	52,5ml/min
Trägerflussrate	1,7ml/min	1,5ml/min
Säulenmaterial	CP-Pora Bond Q Fused Silica (25mx0,32mmx5µm)	RTX-624 (60mx0,32mmx1,8µm)
Ionisationsenergie	70eV	70eV
Ionenquellentemperatur	230C°	250°C

3.3.1. SPME

Nach Überführung der Faser in den Injektor des Gaschromatographen erfolgte die thermische Desorption bei 290 °C. Mit Hilfe des Trägergases Helium wurden die Substanzen auf die Trennsäule überführt. Die Injektion erfolgte in den ersten 60 Sekunden im Spittless-Modus und anschließend im Splitverhältnis 1:30. Die Ausgangstemperatur des GC-Programms startete bei 90 °C und wurde dort für sechs Minuten belassen. Dann wurde die Temperatur mit einer Rate von 15 °C pro Minute auf 120 °C angehoben, danach mit einer Rate von 10 °C pro Minute auf 140 °C und dann mit einer Rate von 15 °C pro Minute auf 260 °C erhöht. Entsprechend ihrer physikochemischen Eigenschaften wurden die VOCs unterschiedlich auf der GC-Säule retiniert und dadurch aufgetrennt.

Im Massenspektrometer erfolgte die Ionisation der Verbindungen durch Elektronenstoßionisation (EI, 70 eV) und die Detektion mit einer Scan-Rate von 2,73 Scans/s in einem Bereich von 35-300 Th. Die Auf trennung der Ionen erfolgte anhand ihres Masse/Ladungsverhältnisses.

3.3.2. NTME

Die Polymer-NTD wurden im Injektor des Gaschromatographen bei 200 °C über 30 Sekunden thermisch desorbiert. Das obere Luerlock-Ende blieb durch eine Teflonkappe verschlossen und die Nadel wurde über die ganze Länge durch das Septum in den Injektor des Gaschromatographen eingeführt. Die Teflonkappe auf der Nadelspitze wurde kurz vor Injektion automatisch entfernt. Die Injektion erfolgte in den ersten 30 Sekunden im Spittless-Modus und anschließend im Splitverhältnis 1:30. Die Ausgangstemperatur des GC-Programms startete bei 40 °C und wurde dort für fünf Minuten belassen. Dann wurde die Temperatur mit einer Rate von 8 °C pro Minute auf 120 °C angehoben, danach mit einer Rate von 10 °C pro Minute auf 220 °C und dann mit einer Rate von 20 °C pro Minute auf 240 °C erhöht.

Die Analyten wurden im Massenspektrometer durch Elektronenstoßionisation (EI, 70 eV) ionisiert und mit einer Scan-Rate von

3,31 Scans/s in einem Messbereich von 35-250 Th entsprechend ihres Masse-/Ladungsverhältnisses detektiert.

3.3.3. Kalibrierung, Identifikation und Quantifizierung der volatilen organischen Substanzen

Die vorläufige Substanzzuordnung aus den Proben erfolgte im Vergleich mit Spektren der in der Referenzbibliothek (NIST 2005 Gatesburg, PA, USA) hinterlegten Massenspektren. Im Anschluss wurden die Retentionszeiten und Massenspektren relevanter Substanzen mit Reinsubstanzen verifiziert. Die quantitative Auswertung relevanter VOCs erfolgte über die Bestimmung des Integrals ausgewählter m/q Verhältnisse im Chromatogramm mit der AGILENT MSD ChemStation Software (Version E.02.00.493) im Vergleich mit den Ergebnissen der Kalibrationsgeraden.

Für die Präkonzentration mittels SPME wurden mehrfach Gasstandards der potentiellen Markersubstanzen in Konzentrationsbereichen zwischen 0,54 ppbV und 141,33 ppbV (entspricht 0,02-6,31 nmol/l) vorbereitet. Zur Kalibrierung und Bestimmung der Nachweis- (limit of detection (LOD)) und Bestimmungsgrenzen (limit of quantification (LOQ)) wurden elf Verdünnungsstufen mit 22 Referenzsubstanzen erzeugt.

Zur Herstellung der Kalibrierstandards wurden Referenzsubstanzen verwendet. Definierte Volumina dieser Referenzmaterialien wurden in eine zuvor evakuierte Gasmaus überführt und diese mit Stickstoff belüftet. 50 µl dieses Gasgemisches wurden aus der Gasmaus in einen zuvor mit einem Liter Stickstoff gefüllten Tedlar-Beutel überführt. Dieser Kalibierstandard wurde weiter in mit Stickstoff gefüllte Tedlar-Beutel verdünnt und so verschiedene Konzentrationen hergestellt. Aus diesen wurden jeweils 15 ml Gas entnommen und direkt in die evakuierten SPME-Vials überführt. Der Druck in den Vials wurde mit Stickstoff ausgeglichen. Anschließend wurden die Kalibrierstandards in gleicher Weise wie die Patientenproben mittels SPME präkonzentriert und mit GC/MS aufgetrennt, identifiziert und quantifiziert.

Anhand des Signal-Rausch-Verhältnisses (signal-noise-ratio, S/N) wurden LOD und LOQ bestimmt. Mit reinem Stickstoff gefüllte Vials wurde als Leerproben verwendet, um das Rauschen experimentell zu ermitteln. Definiert wurde LOD als S/N von 3 und LOQ als S/N von 10.

Exemplarisch ist die so generierte Kalibriergerade von Aceton in Abbildung 5 dargestellt.

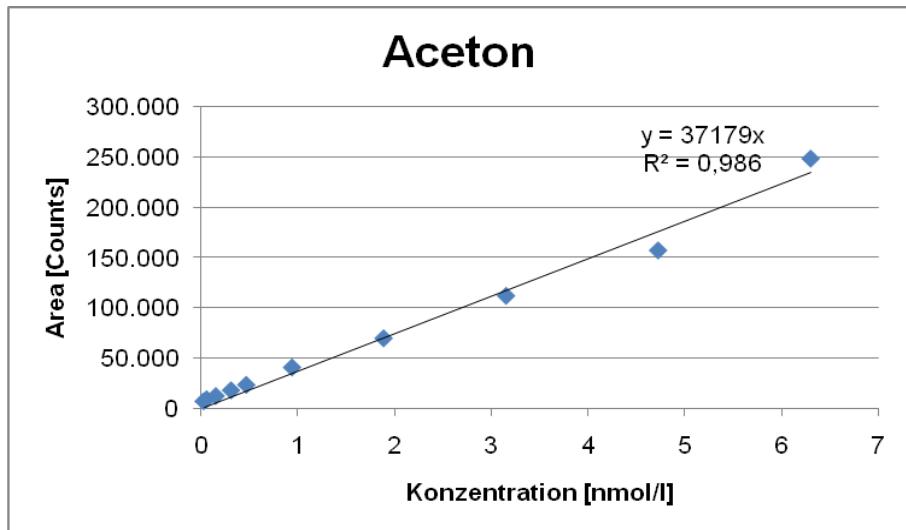


Abbildung 5: Kalibriergerade und Geradengleichung von Aceton (Mittelwerte) mittels SPME

Für die Präkonzentration mittels NTME wurden Gasstandards der potentiellen Markersubstanzen in Konzentrationsbereichen zwischen 0,57 ppbV und 106 pbV (entspricht 0,03-4,73 nmol/l) vorbereitet. Es wurden fünf Verdünnungsstufen mit 26 Referenzsubstanzen erzeugt.

Zur Herstellung der Kalibrierstandards wurden Referenzsubstanzen verwendet. Definierte Volumina dieser Referenzmaterialien wurden in eine zuvor evakuierte Gasmaus überführt und diese mit Stickstoff belüftet. 50 µl dieses Gasgemisches wurden aus der Gasmaus in einen zuvor mit einem Liter Stickstoff gefüllten Tedlar-Beutel überführt. Dieser Kalibierstandard wurde weiter in mit Stickstoff gefüllte Tedlar-Beutel verdünnt und so verschiedene Konzentrationen hergestellt.

Anschließend wurden die Kalibrierstandards in gleicher Weise wie die Patientenproben mittels NTME präkonzentriert und mit GC/MS aufgetrennt, identifiziert und quantifiziert.

Als Leerproben wurden konditionierte NTD ohne weitere Probenahme verwendet.

Exemplarisch ist die so generierte Kalibriergerade von Isopren in Abbildung 6 dargestellt.

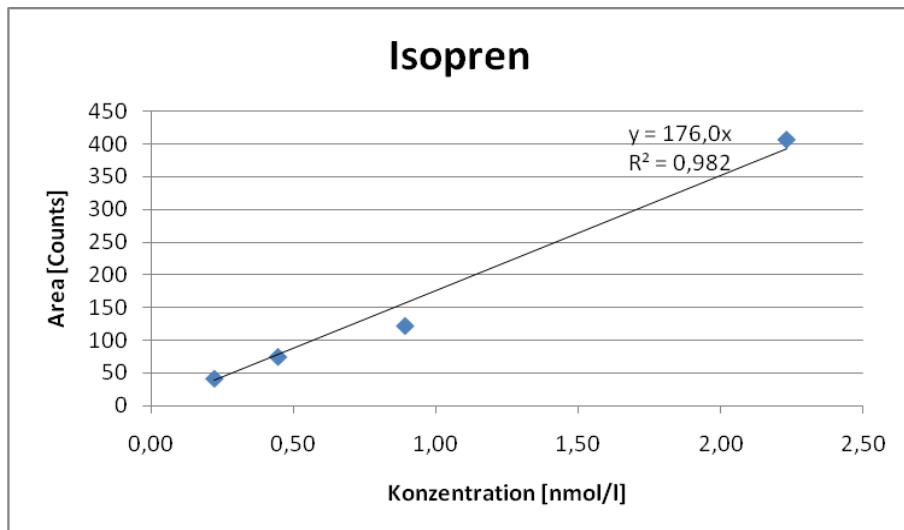


Abbildung 6: Kalibriergerade und Geradengleichung von Isopren (Mittelwerte) mittels NTME

3.4. Statistische Auswertung

Zur statistischen Analyse der Ergebnisse aus den Konzentrationsbestimmungen der volatilen organischen Verbindungen wurde SigmaPlot13.0 verwendet. Waren die erhobenen Werte normalverteilt fand der t-Test Anwendung. Lag keine Normalverteilung vor wurde der Mann-Whitney Rank Sum Test zur statistischen Analyse verwendet.

4. Ergebnisse

4.1. SPME

Mit der Mikroextraktionstechnik SPME konnten 29 volatile organische Substanzen im Exspirationsgas nachgewiesen werden. 8 VOCs lagen unterhalb von LOD und LOQ und wurden daher für die weitere Betrachtung ausgeschlossen. Die Nachweisgrenzen (LOD) lagen im Bereich von 0,006 nmol/l bis 188,294 nmol/l und die Bestimmungsgrenzen (LOQ) zwischen 0,014 nmol/l bis 424,381 nmol/l. Tabelle 4 zeigt eine Übersicht der nachgewiesenen Substanzen mit den zugehörigen LOD, LOQ sowie Detektionsbereichen der untersuchten Proben. In den Abbildungen 7 bis 10 werden ausgewählte Substanzen im Einzelnen betrachtet. Dabei wurden für die Präkonzentration mittels SPME 17 VAP-Patienten und 21 KON-Patienten eingeschlossen.

Tabelle 4: SPME: VOC mit Geradensteigung, R², LOD, LOQ, Detektionsbereiche in Ex- und Inspiration; n.d. = nicht detektiert (< LOD), d. = detektiert (LOD<VOC< LOQ)

VOC	Geradensteigung	R ²	LOD (nmol/l)	LOQ (nmol/l)	Detektionsbereich Expiration (nmol/l)	Detektionsbereich Inspiration (nmol/l)
Aceton	34989	0,999	0,513	1,296	3,92-1006,07	0,58-326,51
Isopren	49978	0,999	0,083	0,237	1,47-21,59	0,84-4,31
Dimethylsulfid	2494	0,997	0,443	1,0514	0,61-9,38	d.
2-Butanon	53839	0,999	0,028	0,064	0,03-0,84	0,03-1,02
2-Butenal	14376	0,994	0,013	0,035	n.d.	n.d.
Acrolein	7987,1	0,999	0,393	1,165	d.	d.
Acetonitril	8632,4	0,969	1,16	3,341	1,23-3,8	d.
Benzol	159695	0,993	0,272	0,682	d.	n.d.
Chlorobenzol	41954	0,989	0,006	0,014	n.d.	n.d.
1,2-Dichlorobenzol	115265	0,999	0,714	1,787	n.d.	n.d.
Butanal	13678	0,999	0,077	0,205	d.	d.
Heptanal	6295,3	0,993	0,239	0,517	n.d.	n.d.
Hexanal	14662	0,985	0,154	0,374	d.	d.
Octanal	1835,4	0,915	0,962	2,274	n.d.	n.d.
o-Xylool	102903	0,998	0,096	0,236	n.d.	n.d.
Pentanal	14091	0,999	0,099	0,247	d.	d.
Propanal	12237	0,998	0,225	0,577	0,24-0,66	0,23-1,06
Toluol	190239	0,978	0,637	1,636	n.d.	n.d.
Acetaldehyd	2681,3	0,932	2,871	7,723	d.	4,16-27,07
Butan	26205	0,997	0,092	0,24	0,1-16,77	0,1-5,77
Hexan	9828,8	0,997	0,278	0,795	0,28-42,68	0,37-29,37
Pentan	7153,5	0,997	0,196	0,572	0,22-0,71	d.
Propan	13948	0,943	0,081	0,211	n.d.	n.d.
Benzaldehyd	298,91	0,881	188,294	424,381	199,52-243,74	n.d.
Methylcyclopentan	6104,3	0,996	0,723	2,088	0,84-133,46	0,85-97,64
Pyridin	1377,7	0,979	63,228	144,247	66,62-260,35	75,77-183,12
Trichloromethan	8880,4	0,999	0,129	0,358	0,13-0,49	d.
Sevofluran	1327,4	0,996	0,018	0,039	0,30-141977,98	0,15-19328,65

4.1.1. Aceton

Die Abbildung 7 zeigt die mittels SPME bestimmten exspiratorischen und inspiratorischen Konzentrationen von Aceton mit Median, 25 %- und 75 %-Perzentile im Vergleich der Pneumonie- und Kontrollgruppe. Es liegt ein signifikanter Unterschied in den Exspirationen zwischen den Gruppen vor. Die inspiratorischen Konzentrationen zeigen keinen signifikanten Unterschied.

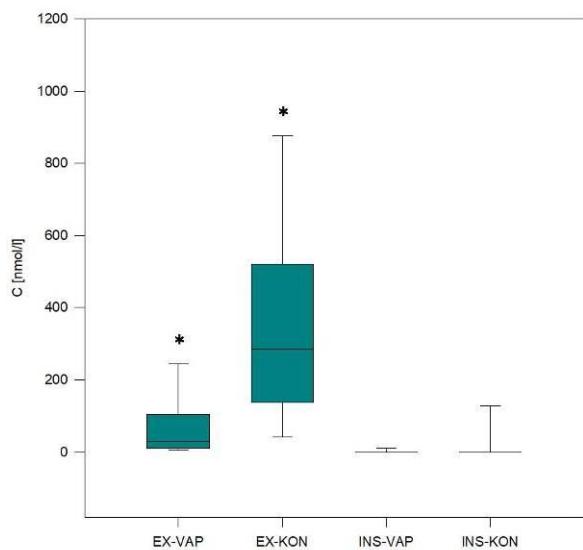


Abbildung 7: Vergleich der mittels SPME bestimmten exspiratorischen und inspiratorischen Konzentrationen von Aceton (n VAP = 17, n KON = 21)

4.1.2. Isopren

In Abbildung 8 sind die mittels SPME bestimmten exspiratorischen und inspiratorischen Konzentrationen von Isopren dargestellt. Es zeigten sich normalverteilte Werte. Aus Gründen der Homogenität der Darstellung wurden ebenfalls Boxplots anstelle von Scatterplots verwendet. Ein signifikanter Unterschied konnte in Exspiration und Inspiration nicht nachgewiesen werden.

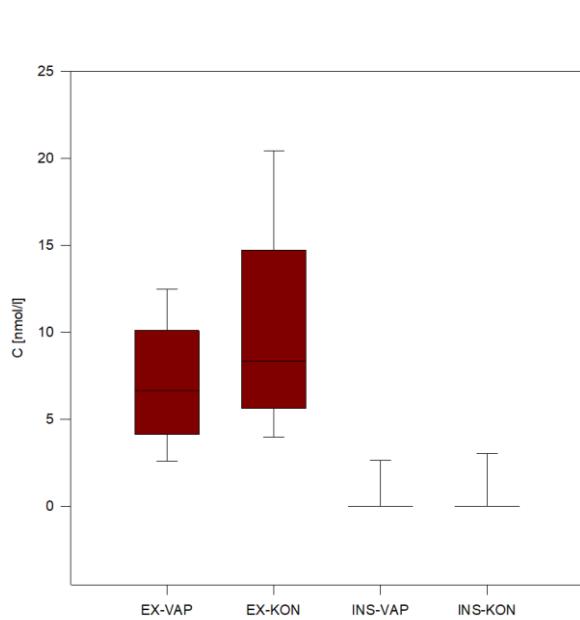


Abbildung 8: Vergleich der mittels SPME bestimmten exspiratorischen und inspiratorischen Konzentrationen von Isopren (n VAP = 17, n KON = 21)

4.1.3. Dimethylsulfid

Die mittels SPME ermittelten exspiratorischen und inspiratorischen Konzentrationen von Dimethylsulfid mit Median, 25 %- und 75 %-Perzentile zeigt Abbildung 9. Es liegt ein signifikanter Unterschied zwischen Pneumonie- und Kontrollgruppe vor.

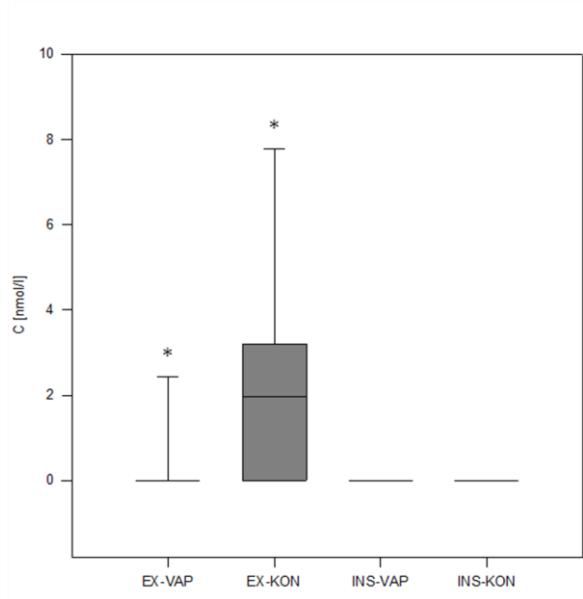


Abbildung 9: Vergleich der mittels SPME bestimmten exspiratorischen und inspiratorischen Konzentrationen von Dimethylsulfid (n VAP = 17, n KON = 21)

4.1.4. Sevofluran

In Abbildung 10 sind die Konzentrationen von Ex- und Inspiration, welche mittels SPME bestimmt wurden, von Sevofluran zu sehen. Dargestellt sind Median, 25 %- und 75 %-Perzentile. Im Vergleich der Pneumonie- und Kontrollgruppe zeigt sich ein statistisch signifikanter Unterschied in den exspiratorischen Konzentrationen.

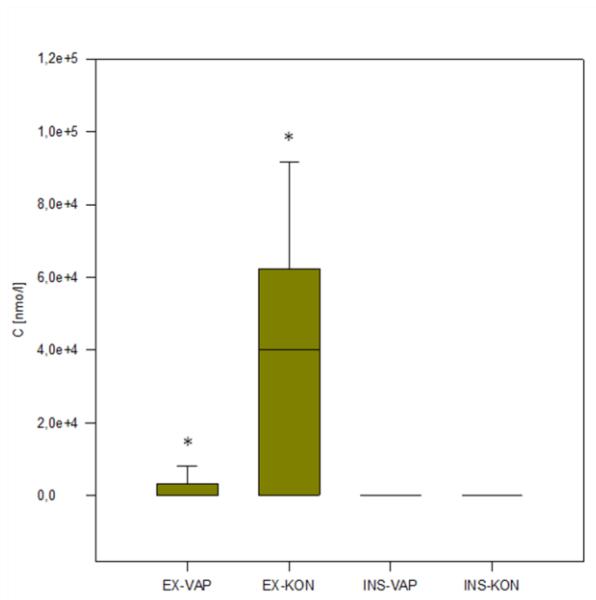


Abbildung 10: Vergleich der mittels SPME bestimmten exspiratorischen und inspiratorischen Konzentrationen von Sevofluran (n VAP = 17, n KON = 21)

4.2. NTME

27 volatile organische Substanzen konnten mittels NTME bestimmt werden. 8 VOCs lagen unterhalb von LOD und LOQ und wurden daher für die weitere Betrachtung ausgeschlossen. Die Nachweisgrenzen (LOD) lagen im Bereich von 0,001 nmol/l bis 6,41 nmol/l und die Bestimmungsgrenzen (LOQ) zwischen 0,003 nmol/l bis 18,088 nmol/l. Tabelle 5 zeigt eine Übersicht der nachgewiesenen Substanzen mit den zugehörigen LOD, LOQ sowie Detektionsbereichen in In- und Expirationen. In den Abbildungen 11 bis 17 sind ausgewählte Substanzen im Einzelnen zu sehen. Dabei wurden für die Präkonzentration mittels NTME 18 VAP-Patienten und 21 KON-Patienten eingeschlossen.

Tabelle 5: NTME: VOC mit Geradensteigung, R², LOD, LOQ, Detektionsbereiche in Ex- und Inspiration; n.d. = nicht detektiert (< LOD), d. = detektiert (LOD<VOC< LOQ)

VOC	Geradensteigung	R ²	LOD (nmol/l)	LOQ (nmol/l)	Detektionsbereich Expiration (nmol/l)	Detektionsbereich Inspiration (nmol/l)
Aceton	835,2	0,991	0,524	1,245	1,67-904,37	0,53-305,02
Isopren	174,27	0,983	0,241	0,542	2,11-44,38	0,55-3,71
Dimethylsulfid	3038,9	0,984	0,003	0,011	n.d.	n.d.
2-Butanon	598,52	0,995	0,183	0,473	d.	n.d.
2-Butenal	429,76	0,998	0,091	0,23	n.d.	n.d.
Acrolein	51,765	0,855	1,385	3,044	d.	n.d.
Acetonitril	209,89	0,998	0,271	0,663	0,3-7,82	n.d.
Benzol	2731,7	0,999	0,069	0,165	0,08-0,24	0,09-0,18
Chlorobenzol	6432,8	0,999	0,002	0,005	n.d.	n.d.
1,2-Dichlorobenzol	9063,9	0,996	0,001	0,003	n.d.	n.d.
Butanal	324,43	0,936	0,209	0,562	n.d.	n.d.
Heptanal	1465,5	0,999	0,212	0,582	d.	d.
Hexanal	1196,7	0,998	1,26	3,38	n.d.	n.d.
Octanal	1451,2	0,952	0,069	0,176	0,07-0,24	0,08-0,51
o-Xylool	8994,3	0,999	0,005	0,012	d.	d.
Pentanal	695,43	0,966	0,287	0,783	n.d.	n.d.
Propanal	551,6	0,994	0,473	1,073	0,51-1,14	d.
Toluol	6529,4	0,999	0,037	0,096	0,04-0,24	d.
Ethanol	66,276	0,819	6,41	18,088	6,9-1598,26	d.
α-Pinen	6768,1	0,999	0,005	0,013	0,01-0,02	0,01-0,02
Cyclohexan	2402,1	0,985	0,018	0,045	0,02-0,64	0,02-1,46
2,2,4,6,6-Pentamethylheptan	5942,1	0,994	0,005	0,012	0,03-28,62	0,01-19,23
Nonanal	1533	0,955	1,972	5,253	d.	d.
Decanal	1390,4	0,966	0,34	0,92	d.	d.
Cyclopentanon	252,13	0,987	0,203	0,676	0,26-1,4	d.
1,2,4-Trichlorobenzen	7528,7	0,981	0,002	0,004	n.d.	n.d.
Propofol	1809,1	0,8332	0,037	0,081	0,1-6,67	0,11-0,63

4.2.1. Aceton

Die mittels NTME bestimmten inspiratorischen und exspiratorischen Konzentrationen von Aceton mit Median, 25 %- und 75 %-Perzentile sind in Abbildung 11 dargestellt. Zwischen den verschiedenen Gruppen findet sich für die Expirationen ein statistisch signifikanter Unterschied.

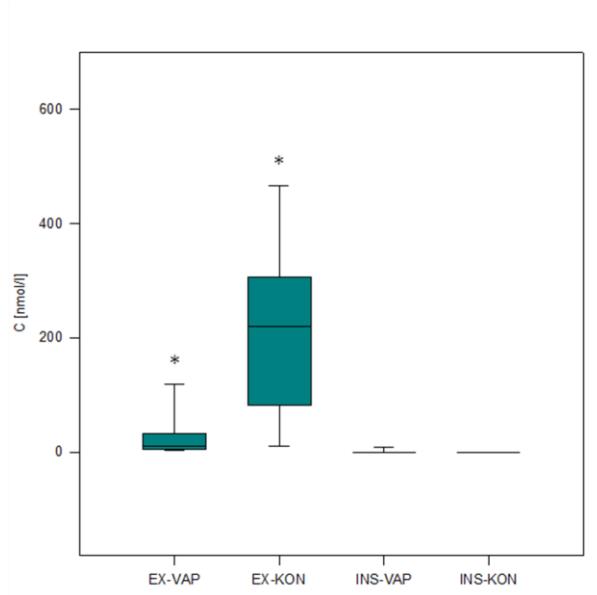


Abbildung 11: Vergleich der mittels NTME bestimmten exspiratorischen und inspiratorischen Konzentrationen von Aceton (n VAP = 18, n KON = 21)

4.2.2. Isopren

Die Abbildung 12 zeigt die mittels NTME ermittelten Konzentrationen aus Ex- und Inspiration von Isopren. Im Vergleich von Pneumonie- und Kontrollgruppe findet sich kein signifikanter Unterschied. Dargestellt sind der Median, 25 %- und 75 %-Perzentile.

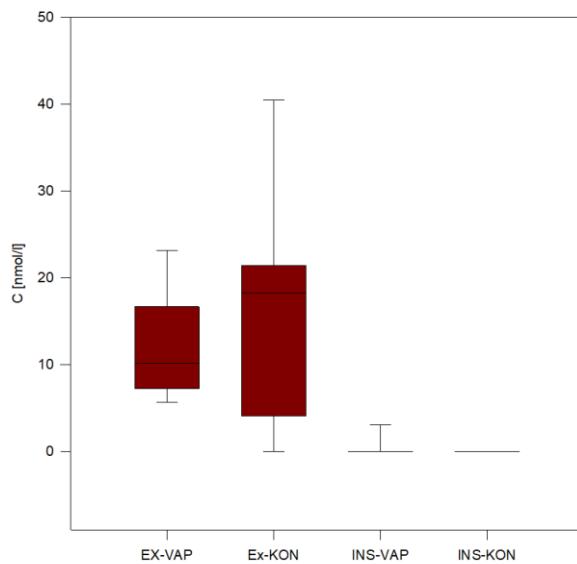


Abbildung 12: Vergleich der mittels NTME bestimmten exspiratorischen und inspiratorischen Konzentrationen von Isopren (n VAP = 18, n KON = 21)

4.2.3. α -Pinen

Die mittels NTME bestimmten exspiratorischen und inspiratorischen Konzentrationen von α -Pinen sind mit Median, 25 %- und 75 %-Perzentile in Abbildung 13 dargestellt. Statistisch besteht ein signifikanter Unterschied zwischen VAP- und Kontrollgruppe in den Exspirationskonzentrationen.

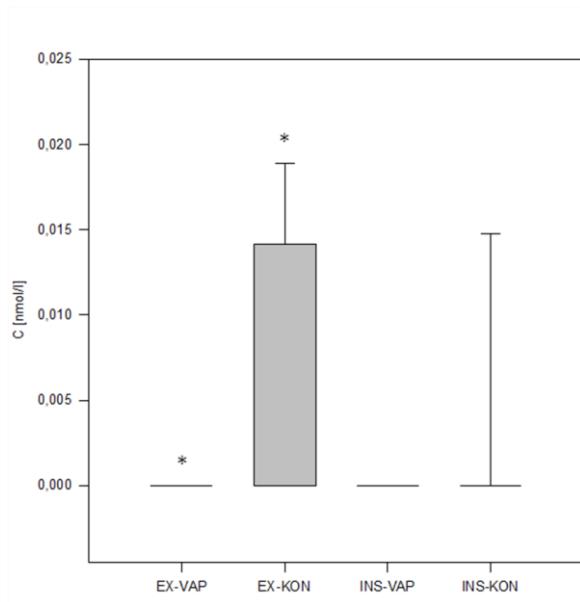


Abbildung 13: Vergleich der mittels NTME bestimmten exspiratorischen und inspiratorischen Konzentrationen von α -Pinen (n VAP = 18, n KON = 21)

4.2.4. Ethanol

In Abbildung 14 sind Median, 25 %- und 75 %-Perzentile für die mittels NTME bestimmten inspiratorischen und exspiratorischen Konzentrationen der verschiedenen Gruppen für Ethanol zu sehen. Ein statistisch signifikanter Unterschied besteht für die Exspirationen.

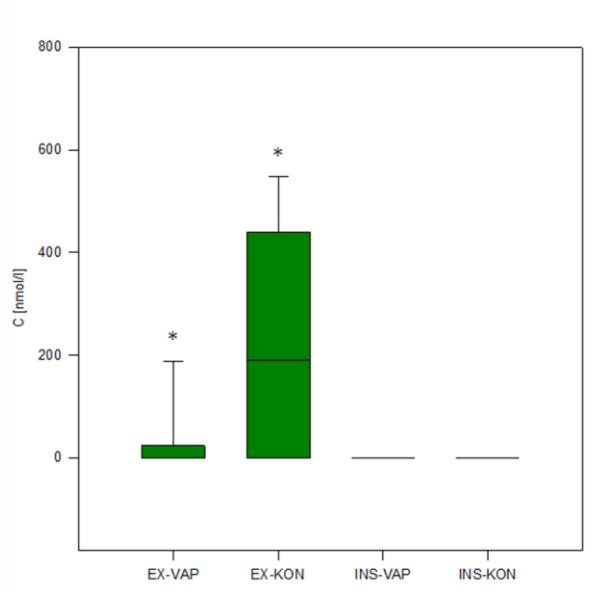


Abbildung 14: Vergleich der mittels NTME bestimmten exspiratorischen und inspiratorischen Konzentrationen von Ethanol (n VAP = 18, n KON = 21)

4.2.5. Cyclohexan

Die mittels NTME bestimmten Ex- und Inspirationskonzentrationen für Cyclohexan stellt Abbildung 15 mit Median, 25 %- und 75 %-Perzentile dar. Es zeigt sich ein signifikanter Unterschied in den exspiratorischen Konzentrationen zwischen Pneumonie- und Kontrollgruppe.

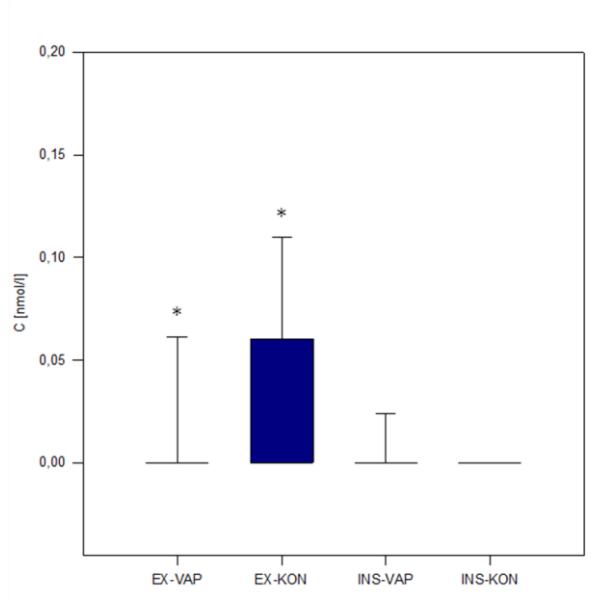


Abbildung 15: Vergleich der mittels NTME bestimmten exspiratorischen und inspiratorischen Konzentrationen von Cyclohexan (n VAP = 18, n KON = 21)

4.2.6. 2,2,4,6,6-Pentamethylheptan

Abbildung 16 zeigt Median, 25 %- und 75 %-Perzentile für die mittels NTME ermittelten exspiratorischen und inspiratorischen Konzentrationen von 2,2,4,6,6-Pentamethylheptan. Zwischen den Gruppen besteht ein statistisch signifikanter Unterschied in den Exspirationskonzentrationen.

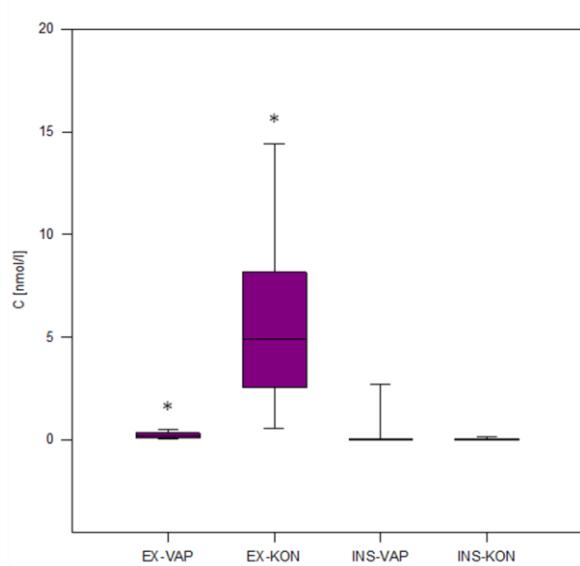


Abbildung 16: Vergleich der mittels NTME bestimmten exspiratorischen und inspiratorischen Konzentrationen von 2,2,4,6,6-Pentamethylheptan (n VAP = 18, n KON = 21)

4.2.7. Propofol

In Abbildung 17 sind die mittels NTME bestimmten exspiratorischen und inspiratorischen Konzentrationen von Propofol mit Median, 25 %- und 75 %-Perzentile zu sehen. Es lässt sich kein statisch signifikanter Unterschied finden.

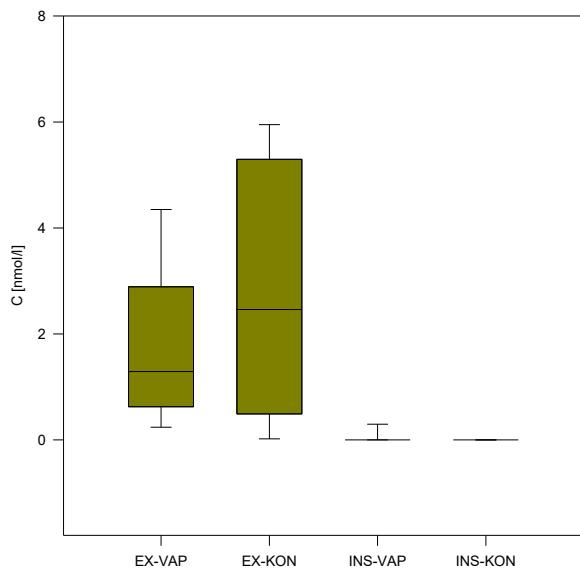


Abbildung 17: Vergleich der mittels NTME bestimmten exspiratorischen und inspiratorischen Konzentrationen von Propofol (n VAP = 18, n KON = 21)

4.3. Ergebnisse Verlaufspatient

Bei einem Patienten, welcher im Verlauf eine VAP entwickelte, fanden über den Behandlungsverlauf prospektiv wiederholt Atemgasmessungen statt. In den Abbildungen 18 bis 22 sind die mittels SPME bestimmten exspiratorischen Konzentrationen von Aceton, Isopren, Dimethylsulfid und Sevofluran im zeitlichen Verlauf dargestellt. Die Abbildungen 23 bis 27 zeigen den zeitlichen Verlauf der mittels NTME bestimmten exspiratorischen Konzentrationen von Aceton, Isopren, Ethanol, 2,2,4,6,6-Pentamethylheptan und Propofol.

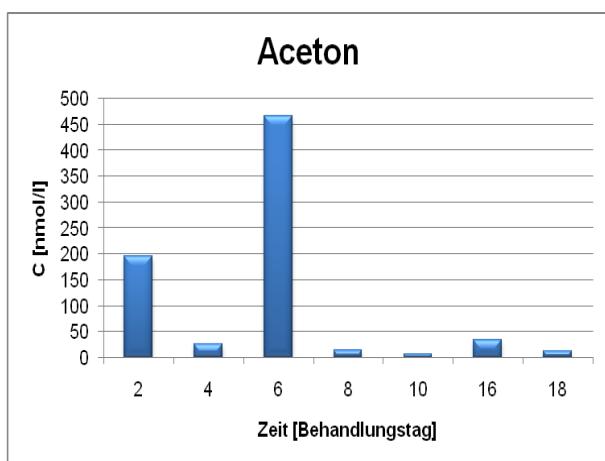


Abbildung 18: Mittels SPME bestimmte exspiratorische Acetonkonzentrationen eines Patienten im zeitlichen Verlauf

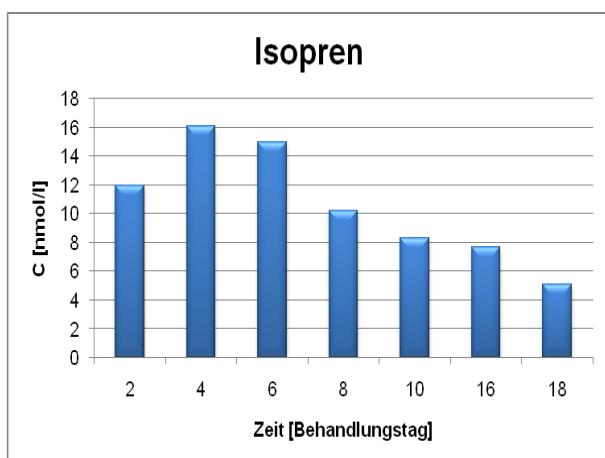


Abbildung 19: Mittels SPME bestimmte exspiratorische Isoprenkonzentrationen eines Patienten im zeitlichen Verlauf

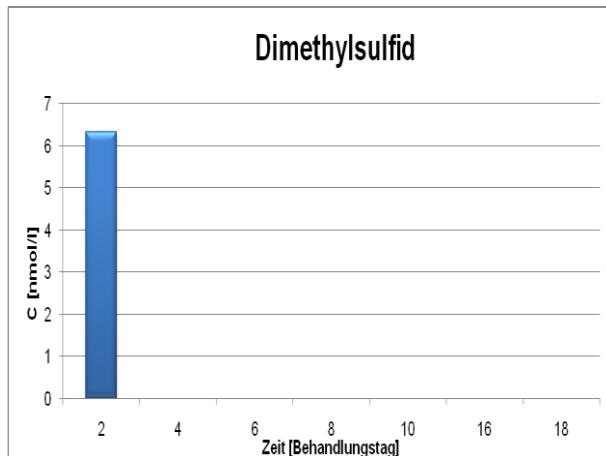


Abbildung 20: Mittels SPME bestimmte exspiratorische Dimethylsulfidkonzentrationen eines Patienten im zeitlichen Verlauf

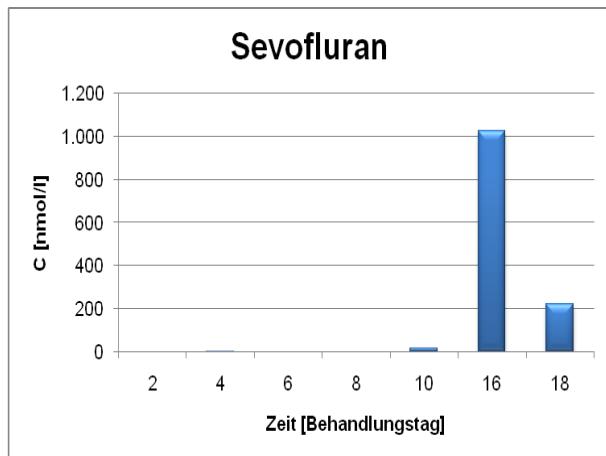


Abbildung 21: Mittels SPME bestimmte exspiratorische Sevoflurankonzentrationen eines Patienten im zeitlichen Verlauf

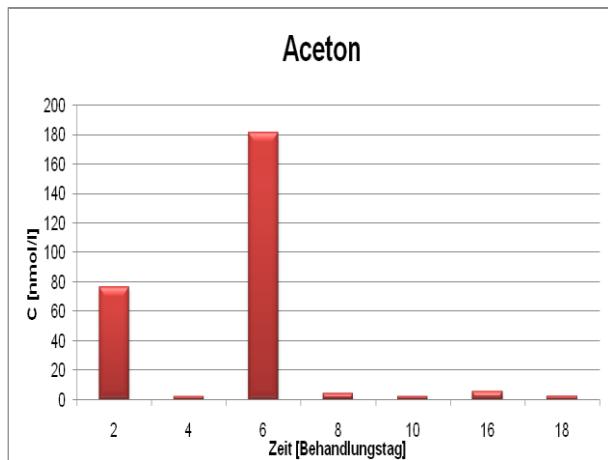


Abbildung 22: Mittels NTME bestimmte exspiratorische Acetonkonzentrationen eines Patienten im zeitlichen Verlauf

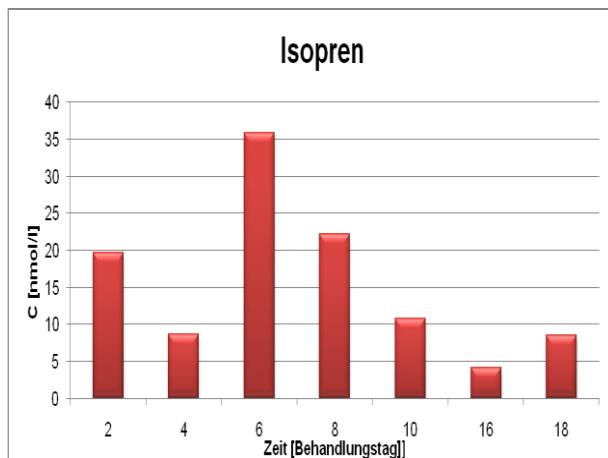


Abbildung 23: Mittels NTME bestimmte exspiratorische Isoprenkonzentrationen eines Patienten im zeitlichen Verlauf

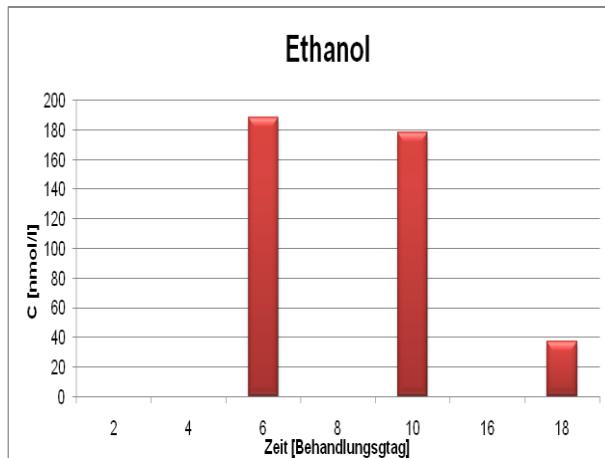


Abbildung 24: Mittels NTME bestimmte exspiratorische Ethanolkonzentrationen eines Patienten im zeitlichen Verlauf

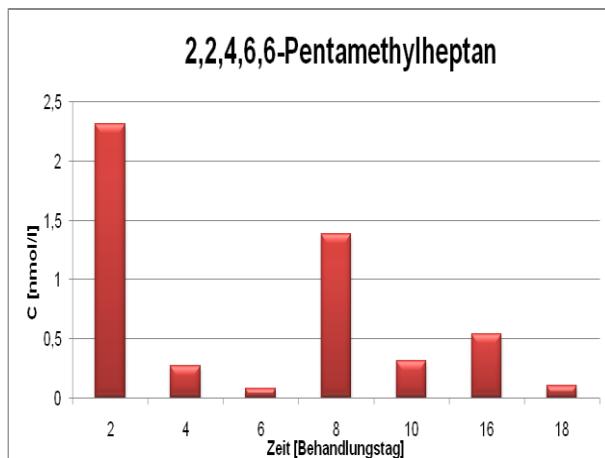


Abbildung 25: Mittels NTME bestimmte exspiratorische 2,2,4,6,6-Pentamethylheptankonzentrationen eines Patienten im zeitlichen Verlauf

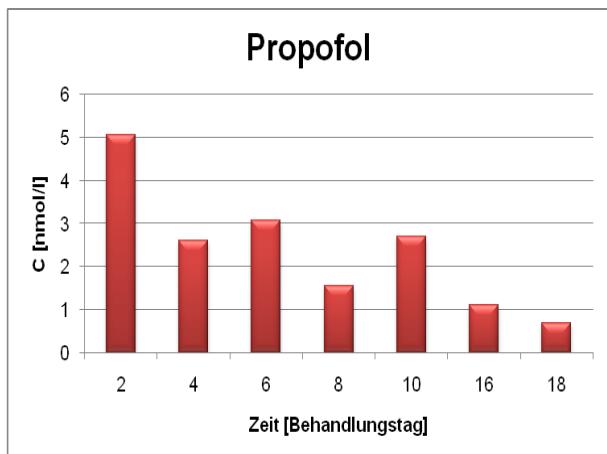


Abbildung 26: Mittels NTME bestimmte exspiratorische Propofolkonzentrationen eines Patienten im zeitlichen Verlauf

5. Diskussion

Der Fokus der durchgeführten Pilot-Studie lag auf der Erstellung volatiler Atemgas-Profile von Pneumoniepatienten und Kontrollpatienten mit den Präkonzentrationsmethoden SPME und NTME in Kombination mit GC/MS. Mit beiden Präkonzentrationstechniken ließen sich im Atemgas 36 VOCs aus verschiedenen Substanzklassen im Spurenbereich nachweisen. Das Spektrum umfasst Ketone (Aceton, 2-Butanon), ungesättigte Verbindungen (Isopren), Alkohole (Ethanol), schwefelhaltige Verbindungen (Dimethylsulfid), Aldehyde (Acetaldehyd, Propanal), Alkane (Butan, Cyclohexan) aromatische Verbindungen (Pyridin, Benzol, Toluol) sowie Terpene (α -Pinen) und Nitrile (Acetonitril). Anästhetika wie Propofol und Sevofluran konnten ebenfalls bestimmt werden.

Das erfasste Substanzspektrum ähnelt sich bei beiden Methoden. 18 Substanzen, darunter Aceton, Isopren, Acetonitril und Propanal konnten sowohl mit SPME als auch mittels NTME oberhalb ihres jeweiligen LOQ analysiert werden. 9 Substanzen wurden ausschließlich mittels SPME sowie 9 Substanzen nur mit NTME nachgewiesen. Für beide Präkonzentrationstechniken zeigten sich nach Kalibrierung hohe Determinationskoeffizienten und es ließen sich niedrige Detektions- und Quantifizierungsgrenzen bestimmen. Beide Techniken ermöglichen eine Atemgasanalyse mit hoher Sensitivität [31], [44], [45]. Die NTME-Methode besitzt eine höhere Selektivität bei der Erfassung von Alkoholen, wie bereits von Oertel et al. beschrieben [46]. Dieses Ergebnis konnte durch unsere Untersuchungen bestätigt werden. Auch in anderen Studien wurden Alkohole mittels SPME mit dem hier genutzten Fasermaterial nicht oder nur eingeschränkt erfasst [46], [47].

SPME und NTME ermöglichen die Analyse kleiner Probenvolumina, eine schnelle und einfache Probenvorbereitung sowie die laborunabhängige Probenahme vor Ort. Mit NTME ist die Probenahme und Präkonzentration in einem Schritt möglich [41]. Für SPME als passive Präkonzentrations-technik ist die Extraktionskapazität durch die Konzentration des Analyten und dessen Diffusionskoeffizienten, welcher durch die physikochemischen Eigenschaften des Analyten und des Sorbens definiert wird, limitiert [41],

[48], [49]. Im Gegensatz zur NTME kann mit SPME als distributionsbasierter Methode die Sensitivität nicht durch Erhöhung des Probevolumens gesteigert werden. NTME ist zudem robuster, da sich das Sorbens innerhalb der Nadel befindet, und auch die Lagerungsstabilität der adsorbierten Analyte zeigt Vorteile gegenüber SPME [31], [32], [41], [46].

Trefz et al. wiesen für die in dieser Studie verwendeten Polymernadeln sehr gute Ergebnisse in Hinsicht auf Reproduzierbarkeit, Wiederverwendung und Sensitivität für die untersuchten Verbindungen nach. Deshalb sind Polymernadeln für eine Übersichtsuntersuchung eines Patientenkollektivs gut geeignet. Für die gezielte Analyse, zum Beispiel von Aldehyden im Atemgas, wurden Vorteile für andere Packungsmaterialien (z.B. PDMS/Carboback X/Carboxen 1000) gezeigt [32].

Mikroextraktionstechniken wie SPME und NTME stellen punktuelle Probenahmetechniken dar. Unter Berücksichtigung der jeweiligen Limitationen und der jeweiligen Fragestellung sind diese Techniken gut geeignet, um die nur im Spurenbereich vorliegenden volatilen organischen Substanzen im Atemgas zu analysieren [46]. In Kombination sind sie für das ungerichtete Screening (untargeted screening) eines VOC-Profiles von Pneumonie- und Kontrollpatienten von Vorteil. Für weitergehende gezielte Untersuchungen überwiegen die oben ausgeführten Vorteile (Selektivität, Volumenabhängigkeit, Robustheit, Lagerungsstabilität) der NTME.

Aceton gehört neben Acetoacetat und β -Hydroxybutyrat zur Gruppe der Ketonkörper. Im Rahmen kataboler Stoffwechselzustände wird über die Ketogenese die Energieversorgung des Gehirns sichergestellt. Aceton entsteht dabei durch die Decarboxylierung von Acetoacetat unter Freisetzung von Kohlenstoffdioxid. Dieser Vorgang findet sowohl nicht-enzymatisch als auch katalysiert durch die Acetoacetatedecarboxylase statt. Diese wird zum Beispiel bei Hungerzuständen induziert und durch Aceton selbst gehemmt [50], [51]. Bei Patienten mit Diabetes mellitus konnten ebenfalls erhöhte Acetonkonzentrationen nachgewiesen werden. Bedingt durch den absoluten beziehungsweise relativen Insulinmangel

beim Diabetes mellitus kann Glucose nicht von den Zellen aufgenommen und verwertet werden. In der Folge kommt es zu einer gesteigerten Lipolyse und es fallen vermehrt Ketonkörper an [52]–[54].

Metabolische Dysfunktion und anaerobe Stoffwechselwege spielen in der Intensivmedizin eine wichtige Rolle. Wie von Schnabel et al. [55] beschrieben lagen auch in dieser Studie die mittels SPME und NTME bestimmten exspiratorischen Acetonkonzentrationen der Kontrollgruppe signifikant höher als die in der Pneumoniegruppe. Dies kann auf der bei inflammatorischen Prozessen reduzierten Ketogenese beruhen [56]. Auch erhöhte Laktatwerte im Rahmen von septischen Geschehen können die Lipolyse hemmen und in der Folge fallen weniger Ketonkörper an [57], [58]. In der Kontrollgruppe befanden sich zudem größtenteils Patienten nach elektiven operativen Eingriffen und somit in einem Zustand mehrstündiger Nahrungskarenz. Auf Grund dessen lässt sich wie oben beschrieben eine gesteigerte Ketogenese in dieser Gruppe vermuten. In der Pneumoniegruppe hingegen wurden die Patienten auf der Intensivstation enteral oder parenteral ernährt.

Bei der Untersuchung kardiochirurgischer Patienten ließ sich Aceton als Marker für metabolischen Stress durch Pabst et al. identifizieren. Sowohl während als auch nach der extrakorporalen Zirkulation wurden hohe Acetonkonzentrationen nachgewiesen und in Zusammenhang mit dem erhöhten Katecholaminbedarf gebracht. Endogen und therapeutisch zugeführte Katecholamine steigern die Lipolyse und damit die Ketogenese [59]. Dieser Effekt bestätigte sich in der Kontrollgruppe.

Eine positive Korrelation zwischen exhaliertem Aceton und im Blut gemessenen Konzentrationen des C-reaktiven Proteins als Entzündungsmarker wurde ebenfalls beschrieben [59]. Auch hier liegt im Rahmen von Entzündungsvorgängen ein erhöhter Katecholaminbedarf vor. Dies ließ sich in der Pneumoniegruppe jedoch nicht bestätigen.

Isopren ist ein farbloser organischer Kohlenwasserstoff, der industriell in der Kunststoffherstellung genutzt wird, und stellt einen der wichtigsten endogen produzierten Kohlenwasserstoffe dar [60]. Er entsteht als Zwischenprodukt des Mevalonatstoffwechselwegs während der

Cholesterolbiosynthese und wird sowohl von Menschen als auch von Tieren und Pflanzen produziert [61]–[65].

Isopren weist deutliche inter- und intraindividuelle Schwankungen auf. Es wurden Blutkonzentrationen zwischen 15-70 nmol/l gemessen [66] bei einer endogenen Produktionsrate zwischen 0,15-0,34 µmol/kg/h [51], [62]. Auch altersabhängig unterscheidet sich die Isoprenkonzentration im Atemgas. Es wurden geringere Konzentrationen bei Kindern gemessen [67], [68]. Ebenso besteht eine zirkadiane Rhythmik mit einem Maximum um 6 Uhr morgens und einem Minimum um 6 Uhr abends [63].

Ein zugrunde liegender Mechanismus bei inflammatorischen Prozessen ist die Lipidperoxidation von Membranen durch die Reaktion mit reaktiven Sauerstoffspezies. In der Literatur wurde ein Zusammenhang zwischen der abgeatmeten Isoprenkonzentration und oxidativem Stress der Lunge und anderen Organsystemen beschrieben. Foster et al. konnten eine erhöhte Isoprenelimination nach Ozonexposition nachweisen [69]. Die Aktivierung der Cholesterolbiosynthese zu Beginn der Membranrekonstruktion nach oxidativem Stress wird als Ursache angenommen. Mendis et al. beschrieben höhere Isoprenkonzentrationen bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt und vermuteten einen Zusammenhang mit der Aktivierung neutrophiler Granulozyten [70]. Im Kontrast dazu wurden bei ARDS-Patienten signifikant niedrigere Isoprenkonzentrationen nachgewiesen. Die mögliche Ursache wurde im Abbau des Isoprens durch reaktive Sauerstoffspezies im Rahmen der entzündlichen Aktivität gesehen [64], [71].

Auf Grund des niedrigen Blut/Gas-Verteilungskoeffizienten und des geringen Siedepunktes wird die Isoprenelimination durch die alveolare Ventilation und Perfusion beeinflusst. Pabst et al. konnten eine positive Korrelation zwischen Herzzeitvolumen und der Isoprenkonzentration während kardiochirurgischen Operationen aufzeigen [59]. Zu Beginn physischer Belastung konnte dieser Effekt ebenfalls festgestellt werden, mit einem danach folgenden Konzentrationsabfall [51], [72], [73]. King et al. beschrieben die Muskulatur als möglichen Isoprenspeicher [74], [75]. Daraus lässt sich schließen, dass zum Beispiel eine Katecholamintherapie oder Änderungen der Beatmungsparameter Einfluss auf die

Isoprenelimination nehmen. Des Weiteren wurden geringere Isoprenkonzentrationen unter Anästhesie beschrieben [59], [76].

Die große Variabilität der Isoprenelimination spiegelt sich auch in dieser Studie wider, es ließ sich kein signifikanter Unterschied zwischen der Pneumonie- und der Kontrollgruppe feststellen. Aufgrund der zahlreichen Einflussfaktoren scheint Isopren nicht als Marker für eine ventilatorassoziierte Pneumonie in Frage zu kommen.

Aldehyde entstehen während verschiedener Stoffwechselwege und spielen bei funktionellen Prozessen eine Rolle. Als zytotoxische Zwischenprodukte werden sie in Verbindung mit Vorgängen bei der Signaltransduktion, Genregulation und Zellproliferation gebracht. Die Metabolisierung von Alkohol und die Reduktion von Hydroperoxid während der Lipidperoxidation sind als Quellen für Aldehyde beschrieben. Exogen finden sich Aldehyde im Tabakrauch und entstehen ebenfalls bei dessen Verstoffwechselung [77], [78]. Fuchs et al. konnten für einige Aldehyde signifikant höhere Konzentrationen im Atemgas von Bronchialkarzinompatienten nachweisen. Als mögliche Ursache wurde eine erhöhte oxidative Aktivität im Tumorgewebe selbst als auch in der Abwehrreaktion des Körpers im Rahmen einer lokalen Inflammationsreaktion gesehen [79]. Poli et al. konnten eine vermehrte Exhalation von Aldehyden bei Lungenkrebspatienten bestätigen [80].

In dieser Studie wurden Propanal und Octanal in beiden Gruppen ohne signifikanten Unterschied nachgewiesen. Eine gesteigerte Konzentration in der VAP-Gruppe aufgrund des vermehrten oxidativen Stresses konnte nicht gezeigt werden.

Schwefelhaltige Verbindungen wie **Dimethylsulfid** entstehen beim inkompletten Metabolismus von schwefelhaltigen Aminosäuren und sind für den typischen Foetor hepaticus bei lebererkrankten Patienten verantwortlich [81]–[83]. Durch gramnegative Bakterien in der Mundhöhle wird ebenfalls Dimethylsulfid produziert und äußert sich in unangenehmen Mundgeruch [84]. Die mittels SPME bestimmten exspiratorischen Konzentrationen von Dimethylsulfid zeigten einen signifikanten

Unterschied der Kontrollgruppe im Vergleich zur Pneumoniegruppe. Eine mögliche Ursache kann in den intensiveren Mundpflegeprogrammen zur VAP-Prävention auf der Intensivstation liegen [8]. Auch die Nahrungskarenz vor elektiven Operationen kann eine vermehrte Dimethylsulfid-Entstehung begründen, da bereits durch Mundspülungen eine signifikante Reduktion von Dimethylsulfid erreicht wird [84]. Der Unterschied scheint also im dentalen Status begründet zu sein und eignet sich nicht zur Abgrenzung einer Pneumonie.

Mittels NTME ließ sich **Ethanol** mit signifikant höheren exspiratorischen Konzentrationen in der Kontrollgruppe nachweisen. Der Großteil der Patienten in der Kontrollgruppe unterzog sich elektiven Operationen. Die im OP zur großflächigen Hautdesinfektion verwendeten herkömmlichen Desinfektionsmittel sind alkoholhaltig, sodass hier der Ursprung der höheren Ethanolkonzentrationen zu sehen ist [85]. Endogen kann Ethanol durch die Fermentation von Kohlenhydraten durch Pilze und Hefen im Darm entstehen. Hierzu sind ein Ungleichgewicht der Darmflora zugunsten dieser Mikroorganismen, zum Beispiel bei Immunsuppression oder nach antibiotischer Therapie, sowie eine kohlenhydratreiche Ernährung Voraussetzung. Auch dann wird jedoch der Großteil des Ethanol über den First-Pass-Effekt in der Leber abgebaut [86]–[89]. Anamnestisch fand sich kein Hinweis auf eine vorherige antiinfektive Therapie, Immunsuppression oder Darmveränderungen, weshalb von einem exogenen Ursprung des Ethanol ausgegangen werden kann.

α-Pinen ist Bestandteil ätherischer Öle und in Nadelhölzern und Kräutern enthalten. Terpene werden in der Aroma- und Lebensmittelindustrie sowie in der Kunststoffherstellung und Naturheilkunde verwendet [90], [91]. Ein endogener Produktionsweg ist in der Literatur nicht beschrieben.

Die höheren Konzentrationen in der Kontrollgruppe lassen sich am ehesten als eine Kontamination aus den Beatmungsschläuchen werten, welche durch Auswaschphänomene nach längerer Beatmungsdauer in der Pneumoniegruppe nicht mehr nachweisbar waren. Bei der Atemgasuntersuchung von niereninsuffizienten Patienten fanden

Mochalski et al. Terpene ebenfalls als Kontaminationen aus den Dialysatorstoffen [92].

Cyclohexan als Bestandteil von Erdöl wird industriell als Lösungsmittel und als Ausgangsstoff für Polyamidsynthesen wie Nylon verwendet. Als zyklisches Alkan wurde Cyclohexan von Mochalski et al. ebenfalls als Kontamination aus dem Material von Dialyseschläuchen bei niereninsuffizienten Patienten nachgewiesen [92]. De Gennaro et al. fanden Cyclohexan als Metaboliten von ϵ -Caprolactam in höherer Konzentration bei Patienten mit malignem Pleuramesotheliom und nach Asbestexposition im Vergleich zu gesunden Probanden und vermuten einen Zusammenhang mit der Tumorgenese [93]. Phillips et al. fanden Cyclohexan im Atemgas von Lungenkarzinompatienten und führten dies auf eine höhere Aktivität reaktiver Sauerstoffspezies im Tumorgewebe zurück [94]. In anderen Untersuchungen mit Lungenkarzinomen wurde Cyclohexan nicht nachgewiesen [95], [96]. Die höheren Konzentrationen in der Kontrollgruppe lassen sich eher als Kontamination werten.

2,2,4,6,6-Pentamethylheptan findet sich in Lösungs- und Reinigungsmitteln [85] und wurde von Mieth et al. als Verunreinigung aus dem Beatmungssystem beschrieben [97]. Caldeira et al. fanden erhöhte Konzentrationen bei Patienten mit allergischem Asthma und brachten diese in Zusammenhang mit oxidativem Stress und Lipidperoxidation im Rahmen der inflammatorischen Reaktion [98]. Unter Einlungenventilation von Lungenkarzinompatienten wurde ebenfalls eine erhöhte Elimination festgestellt. Dies unterstützt die oben genannte These, da es nach Reventilation der zuvor unbelüfteten Lunge zur Reperfusion mit konsekutiver Bildung freier Radikale und Lipidperoxidation kommt [99]. Bei Patienten mit nicht kleinzelligem Bronchialkarzinom sind ebenfalls höhere 2,2,4,6,6-Pentamethylheptankonzentrationen beschrieben [95]. Dieser Zusammenhang konnte in dieser Studie nicht gezeigt werden. Die höheren Eliminationen in der Kontrollgruppe sind eher Kontaminationen zuzuordnen.

Die Anästhetika **Propofol** und **Sevofluran** ließen sich mit den Präkonzentrationstechniken in beiden Gruppen nachweisen und unterschieden sich nicht signifikant. Propofol dient zur Narkoseinduktion und Aufrechterhaltung der Sedierung auf der Intensivstation. Sevofluran wird typischerweise zur Narkoseaufrechterhaltung und –steuerung intraoperativ genutzt. Da der Fokus der durchgeführten Studie auf der Erstellung von VOC-Profilen bei Pneumoniepatienten lag, wurden die Anästhetika nicht eingehender betrachtet.

Bei dem Verlaufspatienten, welcher am 4. Behandlungstag eine pneumogene Sepsis entwickelte, wurden die Konzentrationsänderungen der untersuchten VOCs im zeitlichen Verlauf betrachtet. Mit beiden Präkonzentrationsmethoden konnte eine ähnliche Dynamik der VOCs dargestellt werden.

Am 6. Behandlungstag zeigten die Acetonkonzentrationen einen deutlichen Peak. Dieser Acetonanstieg korrelierte mit der Ausbildung einer Gastroparese und eines paralytischen Ileus des Patienten. Eine suffiziente Resorption der enteralen Ernährung war nicht gegeben und in Folge ist eine gesteigerte Ketogenese wahrscheinlich. Ein Anstieg der Acetonkonzentrationen am 4. Behandlungstag im Rahmen des septischen Schocks mit ausgeprägtem Katecholaminbedarf [59] konnte nicht gezeigt werden. Die in der Sepsis typischerweise hochregulierte Lipolyse aufgrund der Insulinresistenz spiegelt sich nicht wider [100]. Dies lässt sich sowohl durch die Inhibition der Ketogenese während inflammatorischer Prozesse als auch durch eine gehemmte Lipolyse, resultierend aus hohen Laktatwerten, erklären [56]–[58].

Betrachtet man die Isoprenkonzentrationen im zeitlichen Verlauf ist eine Konzentrationsabnahme mit einem Peak am 4. beziehungsweise 6. Behandlungstag zu beobachten. Eine Aktivierung neutrophiler Granulozyten während der septischen Einschwemmung sowie eine Steigerung der Cholesterolbiosynthese zur Membranrekonstruktion ist anzunehmen [69], [70]. Auch das gesteigerte Herzzeitvolumen bei deutlich erhöhten Herzfrequenzen zieht eine vermehrte Isoprenelimination nach sich [51], [59]. Die im späteren Krankheitsstadium niedrigeren

Isoprenkonzentrationen wurden auch bei ARDS-Patienten beobachtet und ein Abbau durch reaktive Sauerstoffspezies vermutet [64], [71]. Der generelle katabole Metabolismus während der Sepsis führt auch zu einer gesteigerten Proteolyse [100]. So ist im Verlauf ein verminderter Isoprenspeicher anzunehmen [74], [75].

Dimethylsulfid konnte nur zu Beginn der Behandlung nachgewiesen werden. Dies lässt sich mit den intensiven Mundpflegeprogrammen auf der Intensivstation [8] und einer daraus resultierenden Auswaschkinetik im Verlauf begründen.

Die verzeichneten Ethanolpeaks lassen sich in Zusammenhang mit operativen Prozeduren bringen. So wurde der Patient zum Beispiel am 10. Behandlungstag explorativ laparotomiert. Ähnlich wie in der Kontrollgruppe ließen sich so postoperativ höhere Ethanolkonzentrationen verzeichnen und ein Zusammenhang mit der Hautdesinfektion herstellen. Der Konzentrationsverlauf von 2,2,4,6,6-Pentamethylheptan deckt sich mit der oben formulierten Hypothese, dass es sich um Verunreinigungen aus dem Beatmungssystem handelt [97]. Der von Caldeira et al. formulierte Zusammenhang mit oxidativem Stress und Lipidperoxidation im Rahmen der inflammatorischen Reaktion [98] wurde durch einen fehlenden Konzentrationsanstieg während der pneumogenen Sepsis nicht bestätigt. Die Sevoflurankonzentrationen korrelieren mit den operativen Prozeduren und zeigen, dass es auch nach Beendigung der Zufuhr noch über einen längeren Zeitraum nachweisbar ist.

Die Propofolkonzentrationen stehen im Zusammenhang mit der Sedierung auf der Intensivstation und der Narkosevertiefung während operativen Eingriffen. Eine Reduktion der Konzentration zum Ende des Beobachtungszeitraumes könnte im Rahmen der Entwöhnung (Weaning) vom Beatmungsgerät begründet sein.

Obwohl in zahlreichen Studien potentielle Atemgasmarker für im Krankenhaus erworbene Pneumonien vorgeschlagen wurden, blieben die Sensitivität und Spezifität für diagnostische Tests unbefriedigend. Weder wurden diese potentiellen Marker in prospektiven, verblindeten und randomisierte Studien bestätigt noch hat es eine dieser potentiellen

Markersubstanzen in die klinische Praxis geschafft [101]. Dennoch zeigen die Ergebnisse dieser Pilot-Studie, dass die Atemgasanalytik eher für Verlaufsbeobachtungen als für eine primäre Diagnostik geeignet ist. In der dynamischen Situation eines Intensivpatienten kann die Erfassung der schnell eintretenden Zustandsänderungen wertvolle Impulse für die Anpassung der Therapie liefern. Einen Ausblick hierfür stellen aktuelle Entwicklungen in der Echtzeit-Massenspektrometrie dar, welche eine Aufnahme kontinuierlicher VOC-Profile über längere Zeiträume mit hoher Sensitivität und Selektivität ermöglichen. Wenn es gelänge, spezifische VOCs zu detektieren, könnten zukünftig elektrochemische Sensorsysteme als nichtinvasive Point-of-Care-Anwendungen am Patientenbett einen vielversprechenden Ansatz für ein Monitoring während einer VAP-Therapie bieten.

6. Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Pilot-Studie sollte untersucht werden, ob die nichtinvasive Bestimmung von Atemgasmarkern bei VAP einen entscheidenden Fortschritt zur Verbesserung der Diagnosestellung und Therapie der VAP ermöglicht.

Die Kombination der beiden Präkonzentrationsmethoden SPME und NTME ermöglichte die quantitative Bestimmung einer großen Anzahl von VOCs verschiedenster chemischer Klassen in der Atemluft von beatmeten Patienten. Unter Berücksichtigung der jeweiligen Limitationen überwiegen die Vorteile der NTME für zielgerichtete Untersuchungen von VOC-Profilen.

Im Atemgas von Pneumonie- und Kontrollpatienten fanden sich Unterschiede in den VOC-Konzentrationsprofilen. Bei genauerer Betrachtung spiegeln diese eher die metabolischen und inflammatorischen Auswirkungen einer Intensivlangzeitbehandlung als die Entwicklung einer ventilatorassoziierten Pneumonie wider.

Dies wird ebenfalls bei der Untersuchung des VOC-Profil im Verlauf einer ventilatorassoziierten Pneumonie deutlich. Während der Behandlung aufgetretene Komplikationen und Therapiemaßnahmen zeigen die deutlichsten Effekte auf den Konzentrationsverlauf der VOCs.

Als nichtinvasives, beliebig oft wiederholbares und für den Patienten ungefährliches Verfahren bietet die Atemgasanalytik vor allem Vorteile in der Beobachtung von Krankheitsverläufen und dem Monitoring von Therapiemaßnahmen.

7. Thesen der Arbeit

1. Die beiden untersuchten Präkonzentrationstechniken, SPME und NTME in Kombination mit GC/MS, ermöglichen die quantitative Analyse von VOCs mit hoher Sensitivität.
2. Aufgrund der Volumenabhängigkeit überwiegen für gezielte Fragestellungen die Vorteile der NTME.
3. Mit beiden Präkonzentrationsmethoden wurde ein ähnliches Substanzspektrum nachgewiesen.
4. NTME zeigte eine höhere Selektivität im Nachweis von Alkoholen.
5. Die als Kontaminationen nachgewiesenen VOCs (z.B. Ethanol, Dimethylsulfid) zeigten eine typische Auswaschkinetik.
6. Unterschiede in den Konzentrationsprofilen endogener volatiler organischer Verbindungen im Atemgas von Pneumonie- und Kontrollpatienten konnten nachgewiesen werden.
7. Diese Unterschiede spiegeln eher die metabolischen und inflammatorischen Auswirkungen einer Intensivlangzeitbehandlung als die Entwicklung einer ventilatorassoziierten Pneumonie wider.
8. In den während eines Krankheitsverlaufs bestimmten VOC-Profilen zeigten sich keine relevanten Unterschiede, welche Rückschlüsse auf eine Pneumonie zugelassen hätten.
9. Als nichtinvasives, beliebig oft wiederholbares und für den Patienten ungefährliches Verfahren bietet die Atemgasanalytik vor allem Vorteile beim Monitoring von Therapiemaßnahmen.

Literaturverzeichnis

- [1] G. Herold, Hrsg., Innere Medizin 2011: eine vorlesungsorientierte Darstellung ; unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung ; mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis. Köln: Selbstverl, 2011:361-368.
- [2] A. C. Rider und B. W. Frazee, „Community-Acquired Pneumonia“, *Emerg. Med. Clin. North Am.*, Bd. 36, Nr. 4, S. 665–683, Nov. 2018, doi: 10.1016/j.emc.2018.07.001.
- [3] A. A. Kalanuria, W. Zai, W. Zai, und M. Mirski, „Ventilator-associated pneumonia in the ICU“, *Crit. Care Lond. Engl.*, Bd. 18, Nr. 2, S. 208, März 2014, doi: 10.1186/cc13775.
- [4] J. D. Hunter, „Ventilator associated pneumonia“, *BMJ*, Bd. 344, S. e3325, Mai 2012, doi: 10.1136/bmj.e3325.
- [5] M. Klompas, „Does This Patient Have Ventilator-Associated Pneumonia?“, *JAMA*, Bd. 297, Nr. 14, S. 1583, Apr. 2007, doi: 10.1001/jama.297.14.1583.
- [6] W. G. Melsen, M. M. Rovers, M. Koeman, und M. J. M. Bonten, „Estimating the attributable mortality of ventilator-associated pneumonia from randomized prevention studies“:, *Crit. Care Med.*, Bd. 39, Nr. 12, S. 2736–2742, Dez. 2011, doi: 10.1097/CCM.0b013e3182281f33.
- [7] P. S. Zolfaghari und D. L. A. Wyncoll, „The tracheal tube: gateway to ventilator-associated pneumonia“, *Crit. Care Lond. Engl.*, Bd. 15, Nr. 5, S. 310, 2011, doi: 10.1186/cc10352.
- [8] M. Deja, T. Trefzer, und C. Geffers, „Prävention der ventilatorassoziierten Pneumonie – Was ist evidenzbasiert?“, *AINS - Anästhesiol. · Intensivmed. · Notfallmedizin · Schmerzther.*, Bd. 46, Nr. 09, S. 560–567, Sep. 2011, doi: 10.1055/s-0031-1286606.
- [9] P. Kaufmann, K. H. Smolle, S. Fleck, und A. Lueger, „[Ketoacidotic diabetic metabolic dysregulation: pathophysiology, clinical aspects, diagnosis and therapy]“, *Wien. Klin. Wochenschr.*, Bd. 106, Nr. 5, S. 119–127, 1994.
- [10] L. Pauling, A. B. Robinson, R. Teranishi, und P. Cary, „Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography“, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, Bd. 68, Nr. 10, S. 2374–2376, Okt. 1971, doi: 10.1073/pnas.68.10.2374.
- [11] C. S. J. Probert, I. Ahmed, T. Khalid, E. Johnson, S. Smith, und N. Ratcliffe, „Volatile organic compounds as diagnostic biomarkers in

- gastrointestinal and liver diseases“, J. Gastrointest. Liver Dis. JGLD, Bd. 18, Nr. 3, S. 337–343, Sep. 2009.
- [12] T. H. Risby und S. F. Solga, „Current status of clinical breath analysis“, Appl. Phys. B, Bd. 85, Nr. 2–3, S. 421–426, Nov. 2006, doi: 10.1007/s00340-006-2280-4.
 - [13] A. Amann u. a., „The human volatilome: volatile organic compounds (VOCs) in exhaled breath, skin emanations, urine, feces and saliva“, J. Breath Res., Bd. 8, Nr. 3, S. 034001, Sep. 2014, doi: 10.1088/1752-7155/8/3/034001.
 - [14] J. Müller, „Ueber die Ausscheidungsstätten des Acetons und die Bestimmung desselben in der Athemluft und den Hautausdünstungen des Menschen“, Arch. Für Exp. Pathol. Pharmakol., Bd. 40, Nr. 5–6, S. 351–362, Feb. 1898, doi: 10.1007/BF01825265.
 - [15] Roy. Teranishi, T. R. Mon, A. B. Robinson, Paul. Cary, und Linus. Pauling, „Gas chromatography of volatiles from breath and urine“, Anal. Chem., Bd. 44, Nr. 1, S. 18–20, Jan. 1972, doi: 10.1021/ac60309a012.
 - [16] Schubert und K. Geiger, „Bedeutung und Perspektiven der Atemgasanalytik“, Ains · Anästhesiol. · Intensivmed. · Notfallmedizin · Schmerzther., Bd. 34, Nr. 7, S. 391–395, Juli 1999, doi: 10.1055/s-1999-197.
 - [17] A. Amann u. a., „Analysis of exhaled breath for disease detection“, Annu. Rev. Anal. Chem. Palo Alto Calif, Bd. 7, S. 455–482, 2014, doi: 10.1146/annurev-anchem-071213-020043.
 - [18] B. de Lacy Costello u. a., „A review of the volatiles from the healthy human body“, J. Breath Res., Bd. 8, Nr. 1, S. 014001, März 2014, doi: 10.1088/1752-7155/8/1/014001.
 - [19] C. M. Frank Kneepkens, G. Lepage, und C. C. Roy, „The potential of the hydrocarbon breath test as a measure of lipid peroxidation“, Free Radic. Biol. Med., Bd. 17, Nr. 2, S. 127–160, Aug. 1994, doi: 10.1016/0891-5849(94)90110-4.
 - [20] S. Morita, M. T. Snider, und Y. Inada, „Increased N-pentane excretion in humans: a consequence of pulmonary oxygen exposure“, Anesthesiology, Bd. 64, Nr. 6, S. 730–733, Juni 1986, doi: 10.1097/00000542-198606000-00009.
 - [21] E. Aghdassi und J. P. Allard, „Breath alkanes as a marker of oxidative stress in different clinical conditions“, Free Radic. Biol. Med., Bd. 28, Nr. 6, S. 880–886, März 2000, doi: 10.1016/S0891-5849(00)00189-1.

- [22] M. Kazui u. a., „Breath ethane: A specific indicator of free-radical-mediated lipid peroxidation following reperfusion of the ischemic liver“, Free Radic. Biol. Med., Bd. 13, Nr. 5, S. 509–515, Nov. 1992, doi: 10.1016/0891-5849(92)90145-7.
- [23] S. Mendis, P. A. Sobotka, F. L. Leia, und D. E. Euler, „Breath pentane and plasma lipid peroxides in ischemic heart disease“, Free Radic. Biol. Med., Bd. 19, Nr. 5, S. 679–684, Nov. 1995, doi: 10.1016/0891-5849(95)00053-Z.
- [24] P. A. Sobotka, M. D. Brottman, Z. Weitz, A. J. Birnbaum, J. L. Skosey, und E. J. Zarling, „Elevated breath pentane in heart failure reduced by free radical scavenger“, Free Radic. Biol. Med., Bd. 14, Nr. 6, S. 643–647, Juni 1993, doi: 10.1016/0891-5849(93)90145-K.
- [25] Z. W. Weitz, A. J. Birnbaum, J. L. Skosey, P. A. Sobotka, und E. J. Zarling, „High breath pentane concentrations during acute myocardial infarction“, The Lancet, Bd. 337, Nr. 8747, S. 933–935, Apr. 1991, doi: 10.1016/0140-6736(91)91569-G.
- [26] J. Kokoszka, R. L. Nelson, W. I. Swedler, J. Skosey, und H. Abcarian, „Determination of inflammatory bowel disease activity by breath pentane analysis“, Dis. Colon Rectum, Bd. 36, Nr. 6, S. 597–601, Juni 1993, doi: 10.1007/bf02049868.
- [27] M. Grossherr, B. Varadarajan, L. Dibbelt, P. Schmucker, H. Gehring, und A. Hengstenberg, „Time course of ethanol and propofol exhalation after bolus injection using ion molecule reaction-mass spectrometry“, Anal. Bioanal. Chem., Bd. 401, Nr. 7, S. 2063–2067, Okt. 2011, doi: 10.1007/s00216-010-4042-8.
- [28] J. Taucher, A. Lagg, A. Hansel, W. Vogel, und W. Lindinger, „Methanol in human breath“, Alcohol. Clin. Exp. Res., Bd. 19, Nr. 5, S. 1147–1150, Okt. 1995, doi: 10.1111/j.1530-0277.1995.tb01593.x.
- [29] B. Buszewski, A. Ulanowska, T. Ligor, N. Denderz, und A. Amann, „Analysis of exhaled breath from smokers, passive smokers and non-smokers by solid-phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry“, Biomed. Chromatogr. BMC, Bd. 23, Nr. 5, S. 551–556, Mai 2009, doi: 10.1002/bmc.1141.
- [30] E. Boyaci u. a., „Sample preparation with solid phase microextraction and exhaustive extraction approaches: Comparison for challenging cases“, Anal. Chim. Acta, Bd. 873, S. 14–30, Mai 2015, doi: 10.1016/j.aca.2014.12.051.
- [31] I.-Y. Eom, A.-M. Tugulea, und J. Pawliszyn, „Development and application of needle trap devices“, J. Chromatogr. A, Bd. 1196–1197, S. 3–9, Juli 2008, doi: 10.1016/j.chroma.2008.02.090.

- [32] P. Trefz, S. Kischkel, D. Hein, E. S. James, J. K. Schubert, und W. Miekisch, „Needle trap micro-extraction for VOC analysis: effects of packing materials and desorption parameters“, *J. Chromatogr. A*, Bd. 1219, S. 29–38, Jan. 2012, doi: 10.1016/j.chroma.2011.10.077.
- [33] E. Mesarchaki, N. Yassaa, D. Hein, H. E. Lutterbeck, C. Zindler, und J. Williams, „A novel method for the measurement of VOCs in seawater using needle trap devices and GC–MS“, *Mar. Chem.*, Bd. 159, S. 1–8, Feb. 2014, doi: 10.1016/j.marchem.2013.12.001.
- [34] W.-H. Cheng, H.-L. Huang, und M.-H. Chuang, „Use of passive SPME sampling devices to determine exposure of oil painters to organic compounds“, *J. Air Waste Manag. Assoc.* 1995, Bd. 70, Nr. 3, S. 253–259, März 2020, doi: 10.1080/10962247.2019.1694090.
- [35] I. Ueta, N. A. Razak, A. Mizuguchi, S. Kawakubo, Y. Saito, und K. Jinno, „Needle-type extraction device for the purge and trap analysis of 23 volatile organic compounds in tap water“, *J. Chromatogr. A*, Bd. 1317, S. 211–216, Nov. 2013, doi: 10.1016/j.chroma.2013.07.011.
- [36] G. Frison, L. Tedeschi, S. Maietti, und S. D. Ferrara, „Determination of midazolam in human plasma by solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry“, *Rapid Commun. Mass Spectrom. RCM*, Bd. 15, Nr. 24, S. 2497–2501, 2001, doi: 10.1002/rcm.536.
- [37] M. Yonamine, N. Tawil, R. L. de M. Moreau, und O. A. Silva, „Solid-phase micro-extraction-gas chromatography-mass spectrometry and headspace-gas chromatography of tetrahydrocannabinol, amphetamine, methamphetamine, cocaine and ethanol in saliva samples“, *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.*, Bd. 789, Nr. 1, S. 73–78, Juni 2003, doi: 10.1016/s1570-0232(03)00165-x.
- [38] P. E. Silkoff, M. Carlson, T. Bourke, R. Katial, E. Ogren, und S. J. Szefler, „The Aerocrine exhaled nitric oxide monitoring system NIOX is cleared by the US Food and Drug Administration for monitoring therapy in asthma“, *J. Allergy Clin. Immunol.*, Bd. 114, Nr. 5, S. 1241–1256, Nov. 2004, doi: 10.1016/j.jaci.2004.08.042.
- [39] Q. Zhou, L. Li, Y. Ai, Z. Pan, M. Guo, und J. Han, „Diagnostic accuracy of the ¹⁴C-urea breath test in *Helicobacter pylori* infections: a meta-analysis“, *Wien. Klin. Wochenschr.*, Bd. 129, Nr. 1–2, S. 38–45, Jan. 2017, doi: 10.1007/s00508-016-1117-3.
- [40] W. Miekisch, S. Kischkel, A. Sawacki, T. Liebau, M. Mieth, und J. K. Schubert, „Impact of sampling procedures on the results of breath analysis“, *J. Breath Res.*, Bd. 2, Nr. 2, S. 026007, Juni 2008, doi: 10.1088/1752-7155/2/2/026007.

- [41] W. Miekisch, P. Trefz, A. Bergmann, und J. K. Schubert, „Microextraction techniques in breath biomarker analysis“, Bioanalysis, Bd. 6, Nr. 9, S. 1275–1291, Mai 2014, doi: 10.4155/bio.14.86.
- [42] T. Birken, J. Schubert, W. Miekisch, und G. Nöldge-Schomburg, „A novel visually CO₂ controlled alveolar breath sampling technique“, Technol. Health Care Off. J. Eur. Soc. Eng. Med., Bd. 14, Nr. 6, S. 499–506, 2006.
- [43] J. K. Schubert, K. H. Spittler, G. Braun, K. Geiger, und J. Guttmann, „CO(2)-controlled sampling of alveolar gas in mechanically ventilated patients“, J. Appl. Physiol. Bethesda Md 1985, Bd. 90, Nr. 2, S. 486–492, Feb. 2001, doi: 10.1152/jappl.2001.90.2.486.
- [44] H. L. Lord, W. Zhan, und J. Pawliszyn, „Fundamentals and applications of needle trap devices: a critical review“, Anal. Chim. Acta, Bd. 677, Nr. 1, S. 3–18, Sep. 2010, doi: 10.1016/j.aca.2010.06.020.
- [45] X. Li, G. Ouyang, H. Lord, und J. Pawliszyn, „Theory and validation of solid-phase microextraction and needle trap devices for aerosol sample“, Anal. Chem., Bd. 82, Nr. 22, S. 9521–9527, Nov. 2010, doi: 10.1021/ac1022265.
- [46] P. Oertel u. a., „Evaluation of needle trap micro-extraction and solid-phase micro-extraction: Obtaining comprehensive information on volatile emissions from in vitro cultures“, Biomed. Chromatogr. BMC, Bd. 32, Nr. 10, S. e4285, Okt. 2018, doi: 10.1002/bmc.4285.
- [47] A. Bergmann u. a., „In Vivo Volatile Organic Compound Signatures of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*“, PloS One, Bd. 10, Nr. 4, S. e0123980, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0123980.
- [48] M. Heidari, S. G. Attari, und M. Rafieiemam, „Application of solid phase microextraction and needle trap device with silica composite of carbon nanotubes for determination of perchloroethylene in laboratory and field“, Anal. Chim. Acta, Bd. 918, S. 43–49, Apr. 2016, doi: 10.1016/j.aca.2016.03.009.
- [49] R. M. Smith, „Before the injection—modern methods of sample preparation for separation techniques“, J. Chromatogr. A, Bd. 1000, Nr. 1–2, S. 3–27, Juni 2003, doi: 10.1016/S0021-9673(03)00511-9.
- [50] M. P. Kalapos, „Possible physiological roles of acetone metabolism in humans“, Med. Hypotheses, Bd. 53, Nr. 3, S. 236–242, Sep. 1999, doi: 10.1054/mehy.1998.0752.
- [51] J. King u. a., „Isoprene and acetone concentration profiles during exercise on an ergometer“, J. Breath Res., Bd. 3, Nr. 2, S. 027006, Juni 2009, doi: 10.1088/1752-7155/3/2/027006.

- [52] M. P. Kalapos, „On the mammalian acetone metabolism: from chemistry to clinical implications“, *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gen. Subj.*, Bd. 1621, Nr. 2, S. 122–139, Mai 2003, doi: 10.1016/S0304-4165(03)00051-5.
- [53] V. Saasa, M. Beukes, Y. Lemmer, und B. Mwakikunga, „Blood Ketone Bodies and Breath Acetone Analysis and Their Correlations in Type 2 Diabetes Mellitus“, *Diagnostics*, Bd. 9, Nr. 4, S. 224, Dez. 2019, doi: 10.3390/diagnostics9040224.
- [54] P. R. Galassetti u. a., „Breath Ethanol and Acetone as Indicators of Serum Glucose Levels: An Initial Report“, *Diabetes Technol. Ther.*, Bd. 7, Nr. 1, S. 115–123, Feb. 2005, doi: 10.1089/dia.2005.7.115.
- [55] R. Schnabel u. a., „Analysis of volatile organic compounds in exhaled breath to diagnose ventilator-associated pneumonia“, *Sci. Rep.*, Bd. 5, S. 17179, Nov. 2015, doi: 10.1038/srep17179.
- [56] T. C. Vary, J. H. Siegel, T. Nakatani, T. Sato, und H. Aoyama, „A biochemical basis for depressed ketogenesis in sepsis“, *J. Trauma*, Bd. 26, Nr. 5, S. 419–425, Mai 1986, doi: 10.1097/00005373-198605000-00002.
- [57] E. D. Pruett, „FFA mobilization during and after prolonged severe muscular work in men“, *J. Appl. Physiol.*, Bd. 29, Nr. 6, S. 809–815, Dez. 1970, doi: 10.1152/jappl.1970.29.6.809.
- [58] A. E. Boyd, S. R. Giamber, M. Mager, und H. E. Lebovitz, „Lactate inhibition of lipolysis in exercising man“, *Metabolism*, Bd. 23, Nr. 6, S. 531–542, Juni 1974, doi: 10.1016/0026-0495(74)90081-X.
- [59] F. Pabst, W. Miekisch, P. Fuchs, S. Kischkel, und J. K. Schubert, „Monitoring of oxidative and metabolic stress during cardiac surgery by means of breath biomarkers: an observational study“, *J. Cardiothorac. Surg.*, Bd. 2, S. 37, Sep. 2007, doi: 10.1186/1749-8090-2-37.
- [60] D. Gelmont, R. A. Stein, und J. F. Mead, „Isoprene — The main hydrocarbon in human breath“, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Bd. 99, Nr. 4, S. 1456–1460, Apr. 1981, doi: 10.1016/0006-291X(81)90782-8.
- [61] B. G. Stone, T. J. Besse, W. C. Duane, C. D. Evans, und E. G. DeMaster, „Effect of regulating cholesterol biosynthesis on breath isoprene excretion in men“, *Lipids*, Bd. 28, Nr. 8, S. 705–708, Aug. 1993, doi: 10.1007/BF02535990.
- [62] R. D. Taalman, „Isoprene: background and issues“, *Toxicology*, Bd. 113, Nr. 1–3, S. 242–246, Okt. 1996, doi: 10.1016/0300-483x(96)03452-x.

- [63] W. Miekisch, J. K. Schubert, und G. F. E. Nöldge-Schomburg, „Diagnostic potential of breath analysis--focus on volatile organic compounds“, *Clin. Chim. Acta Int. J. Clin. Chem.*, Bd. 347, Nr. 1–2, S. 25–39, Sep. 2004, doi: 10.1016/j.cccn.2004.04.023.
- [64] J. K. Schubert, W. Miekisch, K. Geiger, und G. F. E. Nöldge-Schomburg, „Breath analysis in critically ill patients: potential and limitations“, *Expert Rev. Mol. Diagn.*, Bd. 4, Nr. 5, S. 619–629, Sep. 2004, doi: 10.1586/14737159.4.5.619.
- [65] B. Buszewski, M. Kęsy, T. Ligor, und A. Amann, „Human exhaled air analytics: biomarkers of diseases“, *Biomed. Chromatogr.*, Bd. 21, Nr. 6, S. 553–566, Juni 2007, doi: 10.1002/bmc.835.
- [66] A. Cailleux, M. Cogny, und P. Allain, „Blood isoprene concentrations in humans and in some animal species“, *Biochem. Med. Metab. Biol.*, Bd. 47, Nr. 2, S. 157–160, Apr. 1992, doi: 10.1016/0885-4505(92)90019-U.
- [67] N. Nelson, V. Lagesson, A. R. Nosratabadi, J. Ludvigsson, und C. Tagesson, „Exhaled isoprene and acetone in newborn infants and in children with diabetes mellitus“, *Pediatr. Res.*, Bd. 44, Nr. 3, S. 363–367, Sep. 1998, doi: 10.1203/00006450-199809000-00016.
- [68] J. Taucher, A. Hansel, A. Jordan, R. Fall, J. H. Futrell, und W. Lindinger, „Detection of isoprene in expired air from human subjects using proton-transfer-reaction mass spectrometry“, *Rapid Commun. Mass Spectrom. RCM*, Bd. 11, Nr. 11, S. 1230–1234, 1997, doi: 10.1002/(SICI)1097-0231(199707)11:11<1230::AID-RCM3>3.0.CO;2-Z.
- [69] W. M. Foster, L. Jiang, P. T. Stetkiewicz, und T. H. Risby, „Breath isoprene: temporal changes in respiratory output after exposure to ozone“, *J. Appl. Physiol. Bethesda Md 1985*, Bd. 80, Nr. 2, S. 706–710, Feb. 1996, doi: 10.1152/jappl.1996.80.2.706.
- [70] S. Mendis, P. A. Sobotka, und D. E. Euler, „Expired hydrocarbons in patients with acute myocardial infarction“, *Free Radic. Res.*, Bd. 23, Nr. 2, S. 117–122, Aug. 1995, doi: 10.3109/10715769509064026.
- [71] J. K. Schubert, W. P. Müller, A. Benzing, und K. Geiger, „Application of a new method for analysis of exhaled gas in critically ill patients“, *Intensive Care Med.*, Bd. 24, Nr. 5, S. 415–421, Mai 1998, doi: 10.1007/s001340050589.
- [72] T. Karl u. a., „Human breath isoprene and its relation to blood cholesterol levels: new measurements and modeling“, *J. Appl. Physiol.*, Bd. 91, Nr. 2, S. 762–770, Aug. 2001, doi: 10.1152/jappl.2001.91.2.762.

- [73] K. A. Cope, M. T. Watson, W. M. Foster, S. S. Sehnert, und T. H. Risby, „Effects of ventilation on the collection of exhaled breath in humans“, *J. Appl. Physiol.*, Bd. 96, Nr. 4, S. 1371–1379, Apr. 2004, doi: 10.1152/japplphysiol.01034.2003.
- [74] J. King u. a., „Physiological modeling of isoprene dynamics in exhaled breath“, *J. Theor. Biol.*, Bd. 267, Nr. 4, S. 626–637, Dez. 2010, doi: 10.1016/j.jtbi.2010.09.028.
- [75] J. King u. a., „Breath isoprene: muscle dystrophy patients support the concept of a pool of isoprene in the periphery of the human body“, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Bd. 423, Nr. 3, S. 526–530, Juli 2012, doi: 10.1016/j.bbrc.2012.05.159.
- [76] A. Cailleux, X. Moreau, A. Delhumeau, und P. Allain, „Decrease of Isoprene Concentrations in Blood During General Anesthesia“, *Biochem. Med. Metab. Biol.*, Bd. 49, Nr. 3, S. 321–325, Juni 1993, doi: 10.1006/bmmb.1993.1033.
- [77] M. Hakim u. a., „Volatile Organic Compounds of Lung Cancer and Possible Biochemical Pathways“, *Chem. Rev.*, Bd. 112, Nr. 11, S. 5949–5966, Nov. 2012, doi: 10.1021/cr300174a.
- [78] H. Haick, Y. Y. Broza, P. Mochalski, V. Ruzsanyi, und A. Amann, „Assessment, origin, and implementation of breath volatile cancer markers“, *Chem. Soc. Rev.*, Bd. 43, Nr. 5, S. 1423–1449, März 2014, doi: 10.1039/c3cs60329f.
- [79] P. Fuchs, C. Loeseken, J. K. Schubert, und W. Miekisch, „Breath gas aldehydes as biomarkers of lung cancer“, *Int. J. Cancer*, S. NANA, 2009, doi: 10.1002/ijc.24970.
- [80] D. Poli u. a., „Determination of aldehydes in exhaled breath of patients with lung cancer by means of on-fiber-derivatisation SPME-GC/MS“, *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.*, Bd. 878, Nr. 27, S. 2643–2651, Okt. 2010, doi: 10.1016/j.jchromb.2010.01.022.
- [81] A. Tangerman, MariaT. Meuwese-Arends, und JanB. M. J. Jansen, „Cause and composition of foetor hepaticus“, *The Lancet*, Bd. 343, Nr. 8895, S. 483, Feb. 1994, doi: 10.1016/S0140-6736(94)92729-4.
- [82] J. Dadamio u. a., „Breath biomarkers of liver cirrhosis“, *J. Chromatogr. B*, Bd. 905, S. 17–22, Sep. 2012, doi: 10.1016/j.jchromb.2012.07.025.
- [83] A. De Vincentis, U. Vespasiani-Gentilucci, A. Sabatini, R. Antonelli-Incalzi, und A. Picardi, „Exhaled breath analysis in hepatology: State-of-the-art and perspectives“, *World J. Gastroenterol.*, Bd. 25, Nr. 30, S. 4043–4050, Aug. 2019, doi: 10.3748/wjg.v25.i30.4043.

- [84] S. Rassameemasmaung, P. Phusudsawang, und V. Sangalungkarn, „Effect of Green Tea Mouthwash on Oral Malodor“, ISRN Prev. Med., Bd. 2013, S. 1–6, 2013, doi: 10.5402/2013/975148.
- [85] T. Hüppe u. a., „Volatile organic compounds in ventilated critical care patients: a systematic evaluation of cofactors“, BMC Pulm. Med., Bd. 17, Nr. 1, S. 116, Dez. 2017, doi: 10.1186/s12890-017-0460-0.
- [86] B. K. Logan und A. W. Jones, „Endogenous ethanol ,auto-brewery syndrome‘ as a drunk-driving defence challenge“, Med. Sci. Law, Bd. 40, Nr. 3, S. 206–215, Juli 2000, doi: 10.1177/002580240004000304.
- [87] M. Simic, N. Ajudovic, I. Veselinovic, M. Mitrovic, und M. Djurendic-Brenesel, „Endogenous ethanol production in patients with Diabetes Mellitus as a medicolegal problem“, Forensic Sci. Int., Bd. 216, Nr. 1–3, S. 97–100, März 2012, doi: 10.1016/j.forsciint.2011.09.003.
- [88] F. Malik, P. Wickremesinghe, und J. Saverimuttu, „Case report and literature review of auto-brewery syndrome: probably an underdiagnosed medical condition“, BMJ Open Gastroenterol., Bd. 6, Nr. 1, S. e000325, 2019, doi: 10.1136/bmjgast-2019-000325.
- [89] P. Trefz, S. C. Schmidt, P. Sukul, J. K. Schubert, W. Miekisch, und D.-C. Fischer, „Non-Invasive Assessment of Metabolic Adaptation in Paediatric Patients Suffering from Type 1 Diabetes Mellitus“, J. Clin. Med., Bd. 8, Nr. 11, Okt. 2019, doi: 10.3390/jcm8111797.
- [90] A. A. Falk, M. T. Hagberg, A. E. Löf, E. M. Wigaeus-Hjelm, und Z. P. Wang, „Uptake, distribution and elimination of alpha-pinene in man after exposure by inhalation“, Scand. J. Work. Environ. Health, Bd. 16, Nr. 5, S. 372–378, Okt. 1990, doi: 10.5271/sjweh.1771.
- [91] B. Salehi u. a., „Therapeutic Potential of α - and β -Pinene: A Miracle Gift of Nature“, Biomolecules, Bd. 9, Nr. 11, 14 2019, doi: 10.3390/biom9110738.
- [92] P. Mochalski, J. King, M. Haas, K. Unterkofler, A. Amann, und G. Mayer, „Blood and breath profiles of volatile organic compounds in patients with end-stage renal disease“, BMC Nephrol., Bd. 15, Nr. 1, S. 43, Dez. 2014, doi: 10.1186/1471-2369-15-43.
- [93] G. de Gennaro u. a., „Chemical characterization of exhaled breath to differentiate between patients with malignant pleural mesothelioma from subjects with similar professional asbestos exposure“, Anal. Bioanal. Chem., Bd. 398, Nr. 7–8, S. 3043–3050, Dez. 2010, doi: 10.1007/s00216-010-4238-y.

- [94] M. Phillips u. a., „Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: a cross-sectional study“, *The Lancet*, Bd. 353, Nr. 9168, S. 1930–1933, Juni 1999, doi: 10.1016/S0140-6736(98)07552-7.
- [95] D. Poli u. a., „Exhaled volatile organic compounds in patients with non-small cell lung cancer: cross sectional and nested short-term follow-up study“, *Respir. Res.*, Bd. 6, Nr. 1, S. 71, Dez. 2005, doi: 10.1186/1465-9921-6-71.
- [96] M. Ligor u. a., „Determination of volatile organic compounds in exhaled breath of patients with lung cancer using solid phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry“, *Clin. Chem. Lab. Med.*, Bd. 47, Nr. 5, Jan. 2009, doi: 10.1515/CCLM.2009.133.
- [97] M. Mieth u. a., „Automated Needle Trap Heart-Cut GC/MS and Needle Trap Comprehensive Two-Dimensional GC/TOF-MS for Breath Gas Analysis in the Clinical Environment“, *Anal. Chem.*, Bd. 82, Nr. 6, S. 2541–2551, März 2010, doi: 10.1021/ac100061k.
- [98] M. Caldeira u. a., „Allergic asthma exhaled breath metabolome: A challenge for comprehensive two-dimensional gas chromatography“, *J. Chromatogr. A*, Bd. 1254, S. 87–97, Sep. 2012, doi: 10.1016/j.chroma.2012.07.023.
- [99] C. Wang u. a., „Exhaled volatile organic compounds as lung cancer biomarkers during one-lung ventilation“, *Sci. Rep.*, Bd. 4, S. 7312, Dez. 2014, doi: 10.1038/srep07312.
- [100] L. Van Wyngene, J. Vandewalle, und C. Libert, „Reprogramming of basic metabolic pathways in microbial sepsis: therapeutic targets at last?“, *EMBO Mol. Med.*, Bd. 10, Nr. 8, 2018, doi: 10.15252/emmm.201708712.
- [101] J. Schubert et al in J. Beauchamp, C. Davis, und J. Pleil, **BREATHBORNE BIOMARKERS AND THE HUMAN VOLATILOME**, 2. Aufl. S.l.: ELSEVIER, 2020:289-303.

Selbständigkeitserklärung

Ich bestätige, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel „Atemgasmarker bei ventilatorassozierter Pneumonie“ selbstständig und ohne Verwendung anderer als der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Rostock, 10.08.2020

Ulrike Grigat

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Jochen Schubert und Dr. Wolfram Miekisch für die hervorragende und umfassende Betreuung und Unterstützung in allen Phasen dieser Arbeit.

Besonderer Dank gilt auch Dr. Patricia Fuchs für ihren engagierten und unermüdlichen Einsatz in all den Jahren.

Weiterhin bedanke ich mich bei Dr. Phillip Trefz, Dr. Andreas Bergmann, Janet Hofmann und der gesamten Arbeitsgruppe ROMBAT für die tatkräftige Unterstützung und gute Zusammenarbeit bei der Durchführung dieser Studie.

Meiner Familie und meinen Freunden gilt mein herzlicher Dank für die unendliche Geduld, liebevolles Verständnis und moralische Unterstützung während der gesamten Zeit der Erstellung dieser Dissertation.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Grigat
Vorname: Ulrike

Studium

2007-2013	Studium der Humanmedizin an der Universität Rostock
09/2009	Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
10/2013	Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Beruflicher Werdegang

05/2014-dato	Assistenzärztin an der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie Universität Rostock
--------------	---

Dissertation

10/2010	Beginn der Promotion „Atemgasmarker bei ventilatorassozierter Pneumonie“ in der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie der Universität Rostock
09/2012	Posterpräsentation „Exhaled breath biomarkers in patients with ventilator associated pneumonia (VAP)“ Kongress der European Respiratory Society, Wien