

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

**DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE MEDICHE GENERALI E SCIENZE DEI SERVIZI**

Ciclo 34

Settore Concorsuale: 06/G1

Settore Scientifico Disciplinare: MED/38

**STEWARDSHIP ANTIBIOTICA NEONATALE: VALUTAZIONE
DELL'ESPOSIZIONE ANTIMICROBICA NELLE SOSPETTE EARLY ONSET
SEPSIS (EOS)**

Presentata da: Dott.ssa Morena De Angelis

Coordinatore Dottorato

Prof. Fabio Piscaglia

Supervisore

Prof. Luigi Tommaso Corvaglia

Co-supervisore

Dott.ssa Maria Grazia Capretti

Esame finale anno 2022

INDICE

1. Abstract.....	3
2. Introduzione.....	4
2.1 Agenti patogeni.....	4
2.2 La prevenzione dell'infezione neonatale precoce da Streptococco di gruppo B.....	6
2.3 Profilassi antibiotica intrapartum.....	7
2.4 Fattori di rischio neonatali.....	10
2.5 Esami di laboratorio.....	11
2.6 Terapia antibiotica empirica e stewardship antimicrobica.....	13
3. Materiali e metodi.....	15
3.1 Scopo dello studio.....	15
3.2 Disegno dello studio.....	15
3.3 Metodi statistici.....	21
4. Risultati.....	22
5. Discussione.....	28
6. Conclusioni.....	31
7. Bibliografia.....	32

1. Abstract

Background: Le *early-onset sepsis* (EOS) sono infezioni batteriche invasive definite dalla presenza di batteri nel sangue e/o nel liquor cefalorachidiano che esordiscono nelle prime 72 ore di vita e causano in epoca neonatale mortalità e morbilità importanti.

Scopo: Determinare l'eccesso di trattamento antibiotico (Overtreatment index=OI) nei neonati di EG ≥ 34 settimane con sospetta sepsi ad esordio precoce. **Metodi:** Tutti i nati dal 1.01.2014 al 31.12.2018 di EG ≥ 34 settimane presso IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria e l'Ospedale Maggiore di Bologna che hanno ricevuto terapia antibiotica endovenosa nelle prime 168 ore di vita nel sospetto di EOS. Sono stati identificati 2 gruppi: EOS provata (N=7) ed EOS sospetta (N=465).

Risultati: L'incidenza di EOS è stata 0.22 su 1000 nati vivi, rispettivamente 0.12/1000 per *Streptococcus agalactiae* (GBS) e 0.06/1000 per *Escherichia coli* (E.coli). L'1.75% dei neonati ha ricevuto terapia antimicrobica empirica a largo spettro. L'OI è risultato 68. L'esposizione al trattamento antibiotico nella popolazione è stata di 85 giorni/1000 nati vivi. Tra i fattori di rischio materni, il tampone vagino-rettale (TVR) e l'urinocoltura positiva sono risultati associati al rischio di EOS provata (p=.017, p =.000). I valori di proteina C reattiva (PCR) al T0, T1 e T2 tra i due gruppi sono risultati significativi (p=.000). All'analisi multivariata è stata confermata la significatività delle variabili descritte. (TVR non noto OR=15.1, 95%CI 1.98-115.50, p =.009, urinocoltura positiva OR=30.1, 95%CI 3.6-252.1, p = .002, PCR T0 OR=1.6, 95% CI 1.29-2.07, p = .000.)

Conclusioni: L'individuazione precoce di fattori di rischio e la valutazione degli indici di flogosi in neonati sintomatici può ridurre l'OI e la durata della terapia antibiotica in casi di sepsi non confermata. L'uso appropriato degli antibiotici in questa popolazione è particolarmente importante poiché riduce lo sviluppo di germi multiresistenti. Nelle Terapie Intensive Neonatali, i programmi di stewardship antimicrobica dovrebbero guidare la gestione delle sepsi.

2. Introduzione

Le *early-onset sepsis* (EOS) sono infezioni batteriche invasive che esordiscono nelle prime 72 ore di vita e sono caratterizzate dalla trasmissione intrapartum di agenti patogeni che risiedono nel tratto genito-urinario materno. Il canale del parto è colonizzato da batteri aerobi e anaerobi che possono essere trasmessi verticalmente da un'infezione ascendente del liquido amniotico dopo la rottura delle membrane o durante il travaglio e il parto.^{1,2}

I microrganismi che più comunemente causano sepsi neonatale ad esordio precoce sono lo *Streptococcus agalactiae* (GBS) e l'*Escherichia coli*. (E.coli)

Nel 1970 l'incidenza di EOS negli Stati Uniti era stimata 3-4 casi su 1000 nati vivi, dopo l'implementazione della profilassi antibiotica intrapartum l'incidenza nei neonati a termine è 0.5/1000 nati vivi.^{3,4} Recenti studi di sorveglianza negli Stati Uniti hanno rilevato che l'incidenza di EOS è 0.41 /1000 nati vivi per GBS e 0.28/1000 nati vivi per E.coli.⁵

2.1 Agenti patogeni

Lo *Streptococcus agalactiae* e l'*Escherichia coli* insieme rappresentano circa il 70% delle infezioni neonatali. Ulteriori patogeni da considerare, che rappresentano la restante minoranza di casi, sono streptococchi (più comunemente streptococchi di tipo viridans ma anche *Streptococcus pneumoniae*), *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.*, batteri Gram-negativi come *Enterobacter spp.*, *Haemophilus influenzae* e *Listeria monocytogenes*.

Lo Streptococco di gruppo B, fisiologico componente del microbiota intestinale e vaginale materno, è stato identificato come il principale agente eziologico delle infezioni neonatali nel 1970. Studi successivi hanno individuato, nella colonizzazione genitourinaria e gastrointestinale materna da GBS, il prerequisito per l'insorgenza dell'infezione neonatale. Lo stato di colonizzazione può essere intermittente, transitorio o persistente e si riscontra nel 10-30 % delle donne gravide a seconda della localizzazione geografica.^{6,7,8} Il microrganismo può così causare infezione del tratto urinario materno, infezione intraamniotica o endometrite che conseguentemente si associano a travaglio pretermine e infezioni neonatali.^{9,10} Le sepsi precoci si manifestano generalmente nelle prime 12-48 ore di vita (comunque entro i primi 7 giorni) con sintomi di infezione sistemica, polmonare e meningite.^{3,9,11} La trasmissione verticale dalla madre colonizzata al neonato avviene solitamente durante il travaglio o dopo la rottura delle membrane. Le seguenti condizioni sono associate ad un rischio più elevato di GBS EOS: la febbre materna intrapartum, la rottura prolungata del sacco amniotico (≥ 18 ore), il parto pretermine (< 37 settimane), la batteriuria da GBS durante la

gravidanza e il dato anamnestico di un precedente figlio affetto da infezione neonatale invasiva.
12,13,14,15,16

Il tasso di trasmissione neonatale delle donne colonizzate è del 50%. In assenza di profilassi antibiotica intrapartum, l'1-2% di quei neonati svilupperà GBS EOS^{17,18}. Tra tutti i casi di GBS EOS, il 72% si verifica nei neonati a termine.^{12,19} Tuttavia, i tassi di mortalità e morbilità correlati allo GBS, sono notevolmente più elevati tra i neonati pretermine (mortalità 19.2% contro 2.1% rispettivamente).¹² La presenza di batteriuria da GBS durante la gravidanza in tutti i trimestri di gestazione è indice di una forte colonizzazione vagino-rettale.

L' *Escherichia coli* è la seconda causa di sepsi neonatale precoce e rappresenta circa il 24% di tutti gli episodi di EOS, nell' 81% dei casi si verifica in neonati pretermine.²⁰ Il tasso di incidenza sulla popolazione nelle Terapie Intensive Neonatali negli Stati Uniti è di 0.28/1.000 nati vivi.⁵ L' *E. coli* colonizza frequentemente il canale vaginale materno e il passaggio al neonato avviene nel peripartum. L'EOS secondaria a infezione da *E. coli* si presenta spesso con batteriemia che può essere associata o meno a meningite, fino a condurre ad un quadro di shock settico con caratteristiche cliniche conseguenti all'endotossiemia. Sebbene la struttura antigenica di *E. coli* sia varia e complessa, alcuni fattori di virulenza sono stati caratteristicamente identificati come specifici nelle sepsi neonatali. L'antigene capsulare K1 presente in alcuni ceppi è strettamente legato alla meningite neonatale ed è il fattore di virulenza maggiormente descritto in letteratura. I neonati infettati con ceppi antigenici K1 hanno una maggiore morbilità e mortalità rispetto ai neonati infettati con altri ceppi²¹ e la gravità della malattia è correlata alla quantità e alla persistenza dell'antigene K1 nel liquor cefalorachidiano.

La *Listeria monocytogenes* rappresenta il 5% di EOS nei neonati prematuri; l'incidenza complessiva varia da 2 a 13/100.000 nati vivi, negli Stati Uniti e in Europa.^{22,23} L'infezione da *Listeria monocytogenes* durante la gravidanza può portare inoltre a morte intrauterina, sepsi a esordio tardivo associata a meningite. I reperti materni possono includere corioamnionite con ascessi placentari. Il 70% delle infezioni sostenute da *Listeria monocytogenes* si verifica in neonati di età gestazionale <35 settimane.²³

I neonati pretermine risultano maggiormente esposti all'infezione invasiva a causa della diminuita risposta immune cellulo-mediata, alla ridotta produzione di interferon gamma (IFN) e dell'interleuchina-12 (IL-12), chemiotassi immatura, ridotta funzionalità dei fagociti oltre alla diminuzione del numero e della funzione delle cellule natural Killer (NK).²⁴

I batteri Gram-negativi, tranne *E. coli*, sono cause meno frequenti di EOS ma restano agenti eziologici causativi di late onset sepsis (LOS); la loro crescente importanza deriva dalla emergente resistenza agli antimicrobici. Le Enterobacteriaceae, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., e *Serratia* spp. possiedono capsule di polisaccaridi che contribuiscono alla loro virulenza prevenendo l'opsonizzazione, la fagocitosi e la lisi batterica. *Citrobacter* spp. e *Cronobacter sakasakii*

rappresentano circa il 5% dei casi di sepsi batterica nei neonati very low birth weight (VLBW) e possono causare meningite con ascessi cerebrali portando a sequele neurologiche significative.²⁵

Lo *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*), compreso lo *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente e gli stafilococchi coagulasi-negativi (CoNS), sono cause più frequenti di sepsi nosocomiale a esordio tardivo nel periodo neonatale specialmente nei neonati VLBW. Tra i CoNS il più comunemente associato a sepsi nei neonati pretermine è lo *Staphylococcus epidermidis*, responsabile del 60-93% delle infezioni.²⁶

2.2 La prevenzione dell'infezione neonatale precoce da Streptococco di gruppo B

La colonizzazione vagino-rettale con GBS all'inizio del travaglio è il più importante fattore di rischio per sepsi. La strategia dello screening universale per l'identificazione di donne candidate alla profilassi antibiotica intrapartum (PAI), si è dimostrata superiore a tutti i protocolli di rischio utilizzati in epoche antecedenti. La revisione delle linee guida per la prevenzione della malattia da GBS a esordio precoce, pubblicata nel 2002, raccomandava per la prima volta lo screening universale basato sull'esecuzione della coltura vagino-rettale antepartum.²⁷ Le recenti indicazioni derivano dalle raccomandazioni dei Centers of Disease Control and Prevention (2010)²⁸, dell'American Academy of Pediatrics (2019)²⁹ e dell'American College of Obstetricians and Gynecologists (2020)³⁰.

L'esecuzione del tampone vagino-rettale è raccomandata tra 36 settimane + 0 e 37 settimane + 6 giorni, tranne che nei seguenti casi:

1) Il riscontro in gravidanza di batteriuria per GBS

Le indicazioni per il trattamento della batteriuria da SGB prenatale dipendono dalla quantificazione delle colonie batteriche da SGB e dalla presenza o assenza di sintomi. Il trattamento è raccomandato per le donne sintomatiche. È stato dimostrato che il trattamento della batteriuria asintomatica, definita come 10^5 unità formanti colonia (CFU)/mL riduce i rischi di pielonefrite, peso alla nascita inferiore a 2.500 grammi e parto pretermine (<37 settimane di gestazione). Nelle donne asintomatiche il trattamento della batteriuria da SGB, come per la batteriuria dovuta ad altri organismi, è raccomandato solo se i risultati del test indicano un livello di $\geq 10^5$ CFU/mL.^{31,32} Non è stata trovata alcuna correlazione tra concentrazioni di batteriuria da SGB inferiori a 10^5 CFU/mL e parto pretermine.³³ Inoltre, non ci sono prove che il trattamento prenatale di donne asintomatiche con batteriuria da GBS inferiore a $< 10^5$ CFU /ml fornisca migliori esiti materni o neonatali. Gli antibiotici non eliminano completamente il GBS dal tratto genito-urinario e gastrointestinale, e anche tra le donne che ricevono un trattamento per la batteriuria da GBS durante la gravidanza, è tipica la ricolonizzazione dopo un ciclo di antibiotici.³⁴ Tuttavia, in assenza di sintomi, una carica <

10⁵ CFU /ml non richiede il trattamento antibiotico in corso di gravidanza ma è un'indicazione alla profilassi antibiotica intrapartum. La batteriuria, indipendentemente dalla carica batterica, è comunque l'espressione di una colonizzazione materna intensa.³⁵

2) Precedente figlio affetto da infezione invasiva da SGB

Anche questa circostanza è associata a rischio elevato di EOS e richiede la somministrazione della profilassi antibiotica intrapartum indipendentemente dall'esito dell'eventuale tampone vagino-rettale.

Numerosi studi hanno documentato che l'accuratezza del test nel predire lo stato di colonizzazione materna diminuisce se l'intervallo di tempo tra l'esecuzione del tampone e il parto supera le 5 settimane (finestra ottimale)²⁸⁻³⁰.

Se il parto avviene al di fuori della finestra ottimale, può essere presa in considerazione la ripetizione dell'esame qualora il precedente tampone sia risultato negativo.

Non è necessaria la profilassi nelle gravide colonizzate in cui viene effettuato un taglio cesareo fuori travaglio e a membrane integre. L'esecuzione dello screening risulta comunque consigliato nelle raccomandazioni delle società scientifiche in tutte le donne candidate al taglio cesareo elettivo, poiché la rottura del sacco amniotico può verificarsi prima dell'intervento chirurgico. La presenza di un tampone negativo esclude la necessità di eseguire la profilassi materna in caso di rottura delle membrane ≥ 18 ore o di parto pretermine (prima di 37 settimane complete di gestazione).

Sebbene sia raccomandata un'esposizione antibiotica intrapartum superiore o uguale alle 4 ore è stato dimostrato che 2 ore di esposizione agli antibiotici riducono la conta delle colonie vaginali da GBS e la frequenza di sepsi neonatale.

2.3 Profilassi antibiotica intrapartum

La profilassi antibiotica intrapartum previene l'infezione neonatale poiché riduce temporaneamente la densità della colonizzazione materna, previene la colonizzazione di cute e mucose del neonato e consente il raggiungimento di concentrazioni killing di farmaco ($>$ MIC degli antibiotici per lo Streptococco) nel circolo neonatale. In assenza di tali interventi circa il 50% dei neonati risulta colonizzato al momento del parto e di questi dall'1 al 2% manifesta un'infezione sistemica. L'implementazione di queste misure di prevenzione ha comportato negli Stati Uniti una riduzione dell'incidenza di infezioni precoci da GBS da 1.8 casi/1000 nati vivi nel 1990 a 0.23 casi/1000 nati vivi nel 2015.¹²

La Penicillina G rimane la molecola di prima scelta per la PAI a causa del suo ristretto spettro d'azione, di efficacia nei confronti di batteri Gram positivi e della ridotta capacità di selezionare

ceppi resistenti in seno alla flora microbica del tratto genitale. La Penicillina G attraversa rapidamente la placenta, raggiunge la concentrazione massima nel sangue cordonale entro 1 ora dalla somministrazione e declina rapidamente entro 4 ore, riflettendone la rapida eliminazione da parte del rene fetale nel liquido amniotico.

L'Ampicillina ha uno spettro d'azione più ampio rispetto alla penicillina G ma è considerata una buona alternativa ad essa. I dosaggi raccomandati di penicillina e ampicillina consentono di ottenere concentrazioni del farmaco superiori alla MIC per lo Streptococco di Gruppo B nel sangue fetale e nel liquido amniotico con basso rischio di effetti tossici nella madre.³⁶

La cefazolina, cefalosporina di prima generazione, è raccomandata per la profilassi intrapartum in gravide allergiche alla penicillina con “basso rischio” di reazioni anafilattiche. La sua configurazione molecolare le conferisce una scarsa cross-reattività con la penicillina, rendendola pertanto il trattamento di prima scelta in tali circostanze. Essa presenta caratteristiche farmacocinetiche simili alla penicillina e raggiunge alte concentrazioni nel liquido amniotico e nel sangue cordonale. La sensibilità del GBS alla cefazolina è rimasta inalterata nel tempo.^{37,38,39}

La Clindamicina è indicata in alternativa alla penicillina nelle pazienti ad “alto rischio” di anafilassi o di reazioni avverse a insorgenza ritardata, esclusivamente nei casi in cui la sensibilità del microrganismo isolato è stata documentata dall'antibiogramma. La clindamicina viene metabolizzata a livello epatico ed è scarsamente escreta nelle urine fetali. I dosaggi raccomandati del farmaco producono livelli terapeutici sia nel sangue materno sia in quello cordonale ma essa raggiunge concentrazioni significative nel liquido amniotico solo dopo la somministrazione di dosi multiple del farmaco.⁴⁰⁻⁴¹

La Vancomicina rimane l'unica opzione per la profilassi intrapartum della gravida colonizzata da microrganismo resistente alla clindamicina e ad “alto rischio” di anafilassi.^{42,43}

Nella **tabella 1** sono riassunte le indicazioni dell'American College of Obstetricians and Gynaecologists Committee (ACOG) alla profilassi materna intrapartum.³⁰

Table 1. Indications for Intrapartum Antibiotic Prophylaxis to Prevent Neonatal Group B Streptococcal Early-Onset Disease

Intrapartum GBS Prophylaxis Indicated	Intrapartum GBS Prophylaxis Not Indicated
<p>Maternal history</p> <ul style="list-style-type: none"> • Previous neonate with invasive GBS disease 	<ul style="list-style-type: none"> • Colonization with GBS during a previous pregnancy (unless colonization status in current pregnancy is unknown at onset of labor at term)
<p>Current pregnancy</p> <ul style="list-style-type: none"> • Positive GBS culture obtained at 36 0/7 weeks of gestation or more during current pregnancy (unless a cesarean birth is performed before onset of labor for a woman with intact amniotic membranes) • GBS bacteriuria during any trimester of the current pregnancy 	<ul style="list-style-type: none"> • Negative vaginal–rectal GBS culture obtained at 36 0/7 weeks of gestation or more during the current pregnancy • Cesarean birth performed before onset of labor on a woman with intact amniotic membranes, regardless of GBS colonization status or gestational age
<p>Intrapartum</p> <ul style="list-style-type: none"> • Unknown GBS status at the onset of labor (culture not done or results unknown) and any of the following: <ul style="list-style-type: none"> ○ Birth at less than 37 0/7 weeks of gestation ○ Amniotic membrane rupture 18 hours or more ○ Intrapartum temperature 100.4°F (38.0°C) or higher* ○ Intrapartum NAAT result positive for GBS ○ Intrapartum NAAT result negative but risk factors develop (ie, less than 37 0/7 weeks of gestation, amniotic membrane rupture 18 hours or more, or maternal temperature 100.4°F (38.0°C) or higher ○ Known GBS positive status in a previous pregnancy 	<ul style="list-style-type: none"> • Negative vaginal–rectal GBS culture obtained at 36 0/7 weeks of gestation or more during the current pregnancy, regardless of intrapartum risk factors • Unknown GBS status at onset of labor, NAAT result negative and no intrapartum risk factors present (ie, less than 37 0/7 weeks of gestation, amniotic membrane rupture 18 hours or more, or maternal temperature 100.4°F (38°C) or higher

La corioamnionite è l'infezione del corion, dell'amnios, del liquido amniotico, della placenta o può derivare dall'associazione di tali condizioni. L'eziologia è polimicrobica, ed è prevalentemente causata dall'invasione per via ascendente della cavità amniotica da parte di batteri aerobi e anaerobi presenti nel tratto genitale materno. Talvolta l'infezione origina per via ematogena nel corso di infezioni del torrente circolatorio materno o rappresenta la complicità di procedure invasive quali l'amniocentesi o il prelievo dei villi coriali.

Ai fini della diagnosi di infezione intra-amniotica, l'American College of Obstetricians and Gynaecologists Committee distingue tre possibili scenari clinici:

- *La febbre materna isolata*: un singolo episodio di febbre $\geq 39^{\circ}\text{C}$ oppure il riscontro di febbre tra 38°C e 38.9°C in due misurazioni successive della temperatura eseguite a distanza di 30 minuti.
- *L'infezione intramniotica sospetta*: febbre materna intrapartum $\geq 39^{\circ}\text{C}$ in una singola misurazione oppure febbre materna tra 38°C e 39°C in due misurazioni successive a distanza di 30 minuti e uno o più dei seguenti segni clinici: leucocitosi materna, secrezioni purulente a livello dell'ostio cervicale, tachicardia fetale.
- *La corioamnionite certa*: positività dell'esame del liquido amniotico (presenza di qualsiasi batterio alla colorazione di Gram, coltura positiva, glicemia $< 15 \text{ mg/dL}$, conta leucocitaria $> 30 \text{ cellule}/\mu\text{L}$) o presenza di segni di infezione o infiammazione all'esame istologico della placenta eseguito dopo il parto. L'infezione aumenta il rischio di complicanze ostetriche e di problemi nel feto e nel neonato mentre il trattamento antibiotico intrapartum riduce la morbilità materna, la durata della degenza ospedaliera e l'incidenza di infezioni neonatali. Per tale ragione si raccomanda la somministrazione di antibiotici intrapartum ogni volta vi sia il sospetto di infezione intramniotica.

Le principali misure ostetriche, necessarie per un'efficace prevenzione delle sepsi neonatali precoci sostenute da GBS sono:

- screening vagino-rettale prenatale universale
- individuazione dei fattori di rischio materno-fetali
- somministrazione di una corretta profilassi antibiotica intrapartum

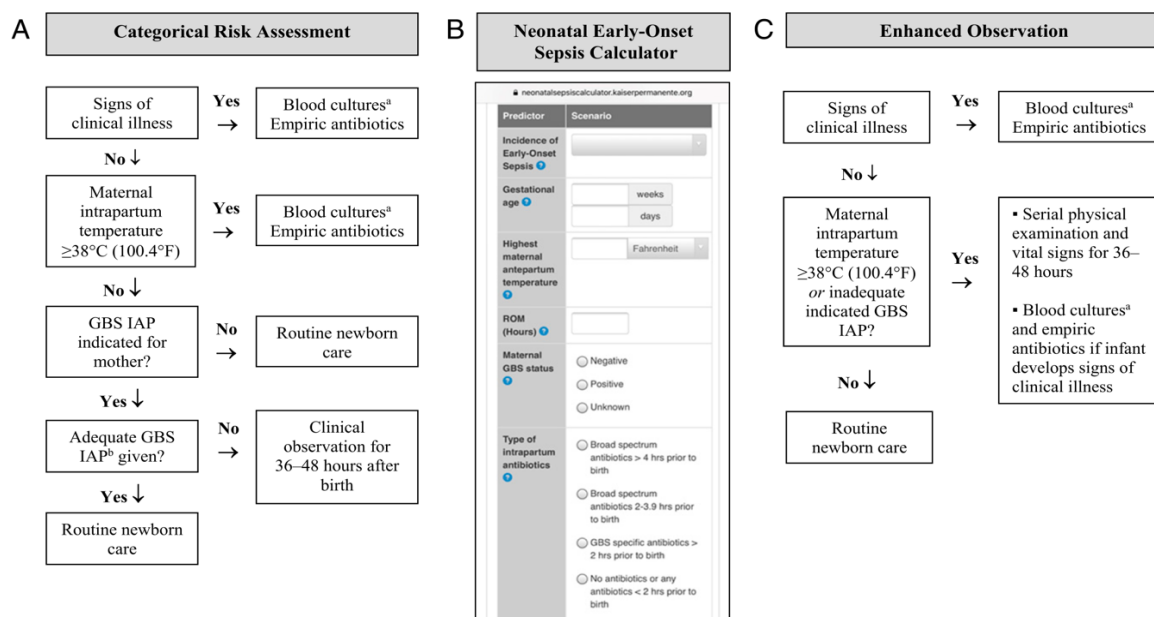
2.4 Fattori di rischio neonatali

I fattori neonati più frequentemente associati a sepsi precoce sono la prematurità e il basso peso alla nascita. L'incidenza e la mortalità sono maggiori quando si considerano esclusivamente i neonati con peso alla nascita molto basso (VLBW); l'incidenza è stimata tra 26/1000 e 8/1000 nati vivi nei neonati prematuri di peso compreso tra 1000 g e 1500 g. I neonati pretermine di basso peso hanno un'incidenza di infezione da 3 a 10 volte maggiore rispetto ai neonati a termine e di peso adeguato.

44

Attualmente sono presenti in letteratura 3 strategie che vengono attuate al fine di individuare precocemente i neonati che, sulla base di fattori codificati, devono essere sottoposti ad approfondimento clinico-laboratoristico e necessitano di trattamento antimicrobico empirico a largo spettro. Ogni centro ha identificato in base alle risorse presenti un modello standardizzato. Secondo l'American Academy of Pediatrics (AAP) nessuna strategia può identificare prontamente tutti i neonati che svilupperanno EOS o evitare il trattamento di un numero considerevole di bambini che non sono realmente infetti.

Nella **figura 1** sono rappresentati i tre modelli utilizzati nei neonati esposti al rischio di EOS (figura tratta da “*Management of Infants at Risk for Group B Streptococcal Disease*”. (AAP 2019) ²⁸



Secondo i Centers of Disease Control and Prevention (CDC) tutti i neonati asintomatici nati da madre con sospetta corioamnionite devono iniziare una terapia antibiotica empirica fino a esclusione dell'EOS, mentre quelli da madre con chemioprolassi < 4 ore e rottura prolungata delle membrane (> 18 ore) o parto pretermine (< 37 settimane di gestazione) devono eseguire esami ematici (conta assoluta e differenziale dei globuli bianchi, conta piastrinica, emocoltura) per escludere l'infezione. (categorical risk assessment)

Una seconda strategia (approccio multivariato) utilizza un modello matematico (sepsis calculator) predittivo del rischio in base all'integrazione di dati sulle condizioni cliniche neonatali e sui singoli fattori di rischio materni. Alcuni di questi (durata della rottura delle membrane, febbre materna, corioamnionite) non sono considerati come variabili dicotomiche ma continue. Questo approccio impone una sorveglianza clinica nel postpartum e una valutazione clinica serrata nelle prime 12 ore dopo la nascita. In uno studio statunitense si è verificata la riduzione del numero dei prelievi di sangue (dal 14.5% al 4.9%) e degli antibiotici empirici in prima giornata (dal 5 al 2.6 %) ⁴⁵.

Una terza strategia, raccomandata in alcuni centri del nord Italia, si basa su valutazioni cliniche nelle prime 48 ore di vita (osservazione clinica ripetuta, Serial Physical Examination - SPE). Questa strategia in alcuni studi sembra ridurre ancor più drasticamente l'uso degli esami di laboratorio e degli antibiotici empirici. ⁴⁶ In Emilia-Romagna è attualmente attiva una rete di sorveglianza delle infezioni sia precoci che tardive sostenute da GBS. I clinici della rete hanno creato nel 2009 un approccio che limita il ricorso a esami ematici e riduce gli antibiotici non necessari nei neonati (a termine o lievemente pretermine) a rischio di EOS. L'approccio prevede che i neonati con profilassi inadeguata siano sottoposti a valutazioni dei parametri vitali durante le prime 48 ore di vita, senza ricorso a valutazioni laboratoristiche. Questa strategia tiene conto del fatto che i sintomi clinici precedono e sono più sensibili dei test di laboratorio.⁴⁷

2.5 Esami di laboratorio

I test di laboratorio da soli non sono né abbastanza sensibili né specifici per identificare i neonati con sepsi certa o guidare il processo terapeutico decisionale. La necessità di valutazione precoce dei fattori di rischio materni e neonatali, uniti alla determinazione di misure di controllo stratificando i livelli di rischio, possono aiutare a riconoscere quali neonati necessitano del trattamento antibiotico empirico a largo spettro.

Per sepsi neonatale provata si identificano tutti i casi di sepsi con emocoltura e/o presenza del patogeno nel liquor cefalorachidiano. Poiché alcuni organismi potrebbero essere rilevati solo nel liquido cerebrospinale e non nel sangue, al momento della valutazione della sepsi nei neonati sintomatici, la valutazione dovrebbe includere anche l'esame chimico-fisico e colturale del liquor cefalorachidiano ottenuto mediante rachicentesi. La decisione è tuttavia condizionata dalle

condizioni cliniche neonatali. L'emocoltura è indicata in tutti i neonati con sospetta sepsi prima dell'inizio del trattamento antimicrobico. È stato dimostrato che un volume di sangue di 0.5 ml è insufficiente per rilevare livelli di batteriemia adeguati, mentre il prelievo di 1 ml di sangue per emocoltura raddoppia la probabilità di esame colturale positivo.⁴⁸

Gli esami di laboratorio includono il dosaggio della proteina C reattiva (PCR) e della procalcitonina (PCT); questi sono i due reagenti di fase acuta più comunemente studiati nella sepsi neonatali anche tardive. I livelli di PCR aumentano entro 6-8 h dall'infezione e raggiungono il picco a 24 ore. L'infiammazione innesca il rilascio di IL-6, che stimola un aumento delle concentrazioni di PCR. A seconda degli studi, i singoli valori di PCR variano da 0,2 a 95 mg/litro (mediana 10 mg/litro) hanno un intervallo di sensibilità dal 41 al 96% e un intervallo di specificità dal 72 al 100% per la sepsi neonatale.⁴⁹ Nella maggior parte degli studi pubblicati il cutoff per la PCR è 1 mg/dl. Il valore di PCR predittivo migliore si ha se misurata entro 24-48 ore dall'inizio dell'infezione ma il trend in aumento risulta un predittore ancora più efficace rispetto ai singoli valori misurati. È stato dimostrato che due determinazioni normali della PCR (da 8 a 24 ore dopo la nascita e 24 ore dopo la prima rilevazione) hanno un valore predittivo negativo del 99.7% e un rapporto di probabilità negativo di 0.15 per la sepsi neonatale accertata.⁵⁰ Pertanto, valori di PCR ripetutamente normali, escludono con forte evidenza la probabilità di sepsi neonatale certa e possono consentire la sospensione in sicurezza del trattamento antibiotico.

La procalcitonina è un propeptide della calcitonina prodotto principalmente da monociti ed epatociti ed è significativamente elevato durante le infezioni in neonati, bambini e adulti.⁵¹ L'emivita è di circa 24 ore nel sangue periferico. Il livello normale in neonati a 72 h di vita è solitamente 0,1 ng/ml.⁵² Sebbene la procalcitonina sia stata utilizzata principalmente in contesti di ricerca, il suo impiego nella pratica clinica è attualmente più diffuso soprattutto nella diagnosi delle sepsi tardive. In generale la procalcitonina è più sensibile per la diagnosi precoce della sepsi rispetto alla PCR. È più probabile che il livello di procalcitonina sia elevato durante le infezioni batteriche rispetto a quelle virali e diminuisce rapidamente con una terapia antimicrobica appropriata. Tuttavia, un aumento fisiologico della concentrazione di procalcitonina si verifica entro le prime 24-72 ore dalla nascita e livelli sierici elevati possono verificarsi in condizioni non infettive (neonati con distress respiratorio, instabilità emodinamica).

Le citochine proinfiammatorie, in particolare l'interleuchina 6 (IL6) e l'interleuchina 8 (IL8), aumentano entro 2-4 ore in risposta all'agente patogeno e i livelli raggiungono un picco a 6-8 ore. Diversi studi hanno riportato che IL6 ha una sensibilità superiore alla PCR^{53,54} con sensibilità e specificità rispettivamente del 79% e 84%.⁵⁵ L'utilizzo di IL8 come marker precoce di sepsi neonatale è stato valutato in altri studi dimostrando sensibilità dell'81%-92% e specificità del 70%-94% se utilizzati valori di cutoff di 70-90 ng/mL.^{56,57} Gli studi che hanno associato l'uso di citochine con altri marcatori hanno dimostrato una migliore accuratezza diagnostica.^{53,56}

Sebbene la misurazione delle singole citochine e il loro ruolo nella risposta infiammatoria abbiano un potenziale nel contesto della diagnosi precoce dell'infezione, il campionamento accurato richiede apparecchiature specializzate che non sono largamente disponibili al di fuori del contesto di protocolli di ricerca. Attualmente il tempo necessario per l'esecuzione dei test è di 1.5-6 ore, un intervallo di tempo poco applicabile alla pratica clinica.

La presepsina è stata recentemente riconosciuta come un biomarcatore potenzialmente rilevante nella diagnostica delle sepsi.⁵⁸ I dati di una recente meta-analisi che includeva 783 bambini provenienti da undici studi hanno evidenziato sia un'elevata sensibilità del test 91% (95% CI 87%–93%) che un'elevata specificità di 91 % (95% CI 88%–94%).⁵⁹ Altri studi hanno dimostrato prestazioni migliorative della presepsina rispetto a PCR e procalcitonina mostrando un'AUC complessiva di 0.975 rispetto a 0.858 per PCR e 0.78 per procalcitonina.⁵⁹ Livelli di presepsina nel sangue cordonale >1.370 pg/mL è risultato essere un predittore indipendente di EOS nel contesto della rottura prematura delle membrane, con un OR di 12.6 (95% CI 2.5–28.1 , P=.000).⁶⁰ Sono stati misurati livelli normali di presepsina sia in neonati sani a termine che pretermine.⁶¹ I valori di cutoff utilizzati in vari studi, volti a valutarne la capacità diagnostica, hanno identificato un range molto variabile: da un minimo di 539 pg/mL a 1.800 ng/ml. Uno dei vantaggi della presepsina come marker diagnostico è la disponibilità di test automatizzati che utilizzano la chemiluminescenza in grado di fornire risultati in appena 15 minuti su campioni di sangue di soli 0,1 ml.⁶¹ Sebbene la presepsina mostri grandi interesse scientifico, attualmente l'identificazione di livelli di cutoff affidabili e la sua utilità nel guidare processo decisionale restano ancora in fieri e oggetto di studio.

2.6 Terapia antibiotica empirica e stewardship antimicrobica

Il trattamento delle infezioni neonatali può essere suddiviso in terapia antimicrobica per i patogeni sospetti (empirici) o noti (definitivi).

In generale, la terapia empirica dovrebbe essere guidata dai modelli di resistenza antimicrobica dei patogeni isolati nelle Terapie Intensive Neonatali. Il trattamento empirico iniziale delle infezioni batteriche a esordio precoce, è caratterizzato dall'associazione nella quasi totalità dei casi tra penicillina e aminoglicoside.⁶² A volte si associano cefalosporine di terza o quarta generazione nel sospetto di meningite sostenuta da batteri Gram-negativi. Le infezioni dovute a bacilli Gram-negativi produttori di lattamasi ad ampio spettro, richiedono l'utilizzo di carbapenemi come il meropenem. La durata del trattamento per la sepsi provata varia da 10 a 14 giorni in base all'organismo isolato e, in caso di meningite, la durata può essere uguale o superiore a 21 giorni.

La diffusione della resistenza agli antibiotici, dovuta all'eccessivo uso di tali molecole in tutto il mondo, rappresenta una grave emergenza sanitaria. I neonati sono esposti agli antibiotici sia prima che dopo la nascita, spesso empiricamente a causa di fattori di rischio per l'infezione o per segni

aspecifici che possono o meno indicare la sepsi. Vi sono prove crescenti che, oltre alla resistenza agli antibiotici, l'uso di antimicrobici in gravidanza e nel periodo neonatale alteri il microbioma nel feto e nel neonato con un aumentato rischio di effetti avversi immediati e a lungo termine. La gestione degli antibiotici in epoca neonatale dovrebbe prevedere un programma coordinato che ne promuova l'uso appropriato, migliori gli esiti dei neonati, riduca la resistenza microbica e la diffusione delle infezioni causate da organismi multiresistenti ⁶³.

La stewardship antimicrobica (SA) è una strategia coordinata che si propone di migliorare l'outcome clinico dei pazienti, limitando la selezione di ceppi resistenti, ottimizzando le dosi, la durata e la via di somministrazione dei farmaci e di ridurre i costi associati mantenendo una elevata qualità delle cure. L'antibiotico-resistenza dei batteri è un problema globale in continua crescita. L'uso inappropriato degli antibiotici è il principale fattore responsabile dei meccanismi di adattamento delle cellule batteriche ai farmaci, che creano specie resistenti all'azione microbica di più antibiotici, fino alla multiresistenza. (multi-drug-resistant-bacteria - batteri MDR)

La corretta individuazione dei neonati realmente esposti al rischio di sepsi precoce, la determinazione delle misure terapeutiche preventive (compresa la somministrazione di terapie antimicrobiche a largo spettro) e la valutazione dell'interruzione delle terapie antibiotiche in caso di sepsi non provata, devono rappresentare un goal standard dell'assistenza dei neonati con il sospetto di sepsi.

3. Materiali e metodi

3.1 Scopo

Lo scopo dello studio è quello di determinare l'eccesso di trattamento antibiotico nei neonati lievemente pretermine e a termine con sospetta sepsi ad esordio precoce e dimostrare che le reti neonatali fanno minor uso di antibiotici non necessari.

L' **outcome primario** è definito come indice di sovra-trattamento (Overtreatment index=OI), che è il numero di neonati trattati per un caso di sepsi accertata.

Gli **outcomes secondari** includono:

- la percentuale di bambini che ricevono antibiotici tra la nascita e il 6° giorno di vita
- l'incidenza di EOS, la mortalità ospedaliera in generale e nei bambini con sospetta e/o provata EOS
- l'esposizione totale agli antibiotici (= numero di giorni di antibiotici per 1000 giorni vita)
- la percentuale di bambini ricoverati in ospedale (per qualsiasi motivo) tra la nascita e il 6° giorno di vita.

3.2 Disegno dello studio

Lo studio è osservazionale multicentrico retrospettivo internazionale, il centro coordinatore è l'Ospedale Universitario di Losanna.

In questo elaborato si riportano i dati relativi a due centri che partecipano all'indagine multicentrica.

Il comitato etico CE-AVEC ha valutato e approvato lo studio in oggetto.

Criteri di inclusione

Sono stati inclusi nello studio tutti i neonati nati tra 1.1.2014 e il 31.12.2018 presso IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria e l'Ospedale Maggiore di Bologna.

Criteri di inclusione:

- età gestazionale ≥ 34 settimane
- ricoverati in Terapia Intensiva Neonatale e trattati con antibiotici per via endovenosa entro le prime 168 ore successive alla nascita

Criteri di esclusione:

- età gestazionale < 34 settimane
- nati outborn

E' stato rilevato il numero dei nati/anno e i ricoveri /anno, il numero di ricoveri entro le 168 ore dalla nascita e la mortalità nei neonati con età gestazionale ≥ 34 settimane. Sono stati raccolti dati demografici (età gestazionale, peso alla nascita, sesso), segni clinici, dati microbiologici relativi a

emocoltura e colture liquorali, giorni totali di trattamento antibiotico e durata della degenza ospedaliera.

Sono stati inoltre raccolti dati relativi all'identificazione di fattori di rischio materni (% di aderenza allo screening prenatale per GBS, tampone vagino-rettale positivo ed urinocoltura positiva per GBS, pPROM \geq 18 h, Tc materna in travaglio \geq 38 °C, profilassi antibiotica intrapartum, la percentuale di PAI adeguate definite secondo i protocolli locali, l'utilizzo e la tipologia di molecole antimicrobiche, numero di figli precedenti con infezione invasiva da streptococco di gruppo B).

E' stato raccolto il dato relativo al valore della proteina C reattiva (PCR) all'esordio dei sintomi (T0), a distanza di 24 ore (T1) e 48-72 ore (T2). Sono stati riportati i dati relativi alla tipologia di molecole utilizzate nella profilassi antimicrobica neonatale empirica.

Sulla base di criteri stabiliti abbiamo identificato due gruppi:

1) EOS provata

I. Neonati di età gestazionale \geq 34 settimane, nati presso le istituzioni partecipanti

II. trattamento antibiotico endovenoso entro le prime 168 ore dalla nascita per sospetta EOS

III. coltura ematica positiva e / o del liquido cerebrospinale (CSF) nelle prime 168 ore successive alla nascita (sono state escluse le contaminazioni)

IV. Intenzione di trattamento antibiotico per \geq 5 giorni o decesso prima di 5 giorni di trattamento

2) EOS sospetta

I. Neonati di età gestazionale \geq 34 settimane, nati presso le istituzioni partecipanti


II. trattamento antibiotico endovenoso entro le prime 168 ore dalla nascita per sospetta EOS

III. Emo o liquor-coltura negative (entro 168 ore dalla nascita)

Tutti i criteri per la classificazione di EOS provata e EOS sospetta dovevano essere tutti presenti.

La raccolta dati è stata effettuata mediante un questionario (**figura 2**), i dati sono stati estratti dai database ospedalieri, dalle cartelle mediche elettroniche e dai database della microbiologia (colture del sangue e/o liquor). Ogni paziente è stato codificato con un numero di identificazione univoco assegnato in relazione al centro partecipante. I dati sono stati inseriti nel database Research Electronic Data Capture (REDCap) e il file contenente il collegamento tra l'identità del paziente e il numero identificativo dello studio (codice) è conservato presso ciascun centro e protetto da una password. Tutti i dati sono stati codificati e i neonati arruolati mediante il codice identificativo rimarranno anonimi.

AENEAS Study

 Codebook ▾

Data Dictionary Codebook

02.03.2020 09:15

#	Variable / Field Name	Field Label <i>Field Note</i>	Field Attributes (Field Type, Validation, Choices, Calculations, etc.)				
Instrument: Demographics (demographics)							
1	aeneas_patient_id	AENEAS Patient Study Number	text				
2	birth_date	Section Header: <i>Inclusion criteria: I. Birth at a gestational age \geq 34 weeks within the network II. AND intravenous antibiotic treatment before postnatal day 7 (meaning at less than 7 calendar days after birth, the day of birth being day 0)</i> Date and time of birth Format "dd-mm-yy hh:mm". dd-mm-yy must be filled, hh if available (otherwise enter "00"), for mm, enter "00"	text (datetime_dmy), Required				
3	admission_date	Date and time of admission <i>Non-mandatory secondary outcome, only for networks that are able to provide the data. Format "dd-mm-yy hh:mm". dd-mm-yy must be filled, hh if available (otherwise enter "00"), for mm, enter "00"</i>	text (datetime_dmy)				
4	birth_place_hb_network	Place of birth for hospital-based networks. Provide the hospital number, using the same numbering as in the AENEAS Survey. <i>Leave blank for population-based networks</i>	text (integer, Min: 1, Max: 20)				
5	birth_place_pb_network	Place of birth for population-based networks <i>Leave blank for hospital-based networks</i>	radio <table border="1"> <tr> <td>1</td> <td>Level < 3 facility</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>Level \geq facility</td> </tr> </table>	1	Level < 3 facility	2	Level \geq facility
1	Level < 3 facility						
2	Level \geq facility						
6	gestational_age_weeks	Gestational age (weeks) <i>For an infant born at 40 weeks and 3 days, enter "40"</i>	text (integer, Min: 34, Max: 45)				
7	gestational_age_days	Gestational age (days) <i>For an infant born at 40 weeks and 3 days, enter "3"</i>	text (integer, Min: 0, Max: 6)				
8	birth_weight	Birth weight (g)	text (integer, Min: 1000, Max: 7000)				
9	sex	Gender	dropdown <table border="1"> <tr> <td>1</td> <td>Male</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>Female</td> </tr> </table>	1	Male	2	Female
1	Male						
2	Female						

	10	demographics_complete	Section Header: <i>Form Status</i> Complete?	dropdown <table border="1"> <tr> <td>0</td> <td>Incomplete</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>Unverified</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>Complete</td> </tr> </table>	0	Incomplete	1	Unverified	2	Complete
0	Incomplete									
1	Unverified									
2	Complete									
Instrument: Clinical Signs (clinical_signs)										
	11	clinical_signs	Section Header: <i>Definition of clinical signs: fetal and delivery room distress, temperature instability, respiratory/cardio-circulatory symptoms (respiratory rate >60, grunting, flaring, use of accessory muscles, apnea, heart rate >160/min or < 100/min, poor perfusion, mean arterial pressure < gestational age (mmHg)), neurologic symptoms (lethargy, poor tone, poor feeding, irritability, seizures), feeding intolerance, abdominal distension</i> Clinical signs (any)	dropdown <table border="1"> <tr> <td>0</td> <td>No</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>Yes</td> </tr> </table>	0	No	1	Yes		
0	No									
1	Yes									
	12	clinical_signs_complete	Section Header: <i>Form Status</i> Complete?	dropdown <table border="1"> <tr> <td>0</td> <td>Incomplete</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>Unverified</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>Complete</td> </tr> </table>	0	Incomplete	1	Unverified	2	Complete
0	Incomplete									
1	Unverified									
2	Complete									
Instrument: Proven Infection (proven_infection)										
	13	proven_infection	Section Header: <i>Definition of proven infection: I. Positive blood and/or cerebrospinal fluid culture before postnatal day 7 (contaminated cultures are excluded, according to definition) II. AND intent to treat with antibiotics for ≥ 5 days (= antibiotic treatment for ≥ 5 days or death before 5 days of treatment)</i> Culture proven infection	dropdown <table border="1"> <tr> <td>0</td> <td>No</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>Yes</td> </tr> </table>	0	No	1	Yes		
0	No									
1	Yes									
	14	proven_infection_complete	Section Header: <i>Form Status</i> Complete?	dropdown <table border="1"> <tr> <td>0</td> <td>Incomplete</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>Unverified</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>Complete</td> </tr> </table>	0	Incomplete	1	Unverified	2	Complete
0	Incomplete									
1	Unverified									
2	Complete									
Instrument: Blood Culture (blood_culture)										
	15	positive_bc Show the field ONLY if: [proven_infection] = "1"	Section Header: <i>Blood culture Fill this section only for cases with proven infection</i> Positive blood culture	dropdown <table border="1"> <tr> <td>0</td> <td>No</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>Yes</td> </tr> </table>	0	No	1	Yes		
0	No									
1	Yes									
	16	bc_date Show the field ONLY if: [positive_bc] = "1"	Date and time of obtaining the blood culture <i>Collect only in case of positive BC. Non-mandatory secondary outcome, only for networks that are able to provide the data. Format "dd-mm-yy hh:mm". dd-mm-yy must be filled, hh if available (otherwise enter "00"), for mm, enter "00"</i>	text (datetime_dmy)						

17	bc_tpositivity Show the field ONLY if: [positive_bc] = "1"	Time to positivity of blood culture (hours) <i>Non-mandatory secondary outcome, only for networks that are able to provide the data. Number of hours between placement of the culture bottle into the automated system and detection of a positive signal</i>	text (integer, Min: 1, Max: 72)						
18	bc_pathogen Show the field ONLY if: [positive_bc] = "1"	Pathogen(s) in blood culture	text						
19	bc_contaminated Show the field ONLY if: [positive_bc] = "1"	Contaminated blood culture <i>Defined as growth of bacteria usually considered as contaminants (eg diphtheroids, Micrococcus species) OR any Coagulase negative Staphylococci, OR blood cultures considered as a contamination by the responsible physician, implying that antimicrobial treatment is stopped after < 5 days (eg in the absence of a rise in CRP > 20 mg/L)</i>	dropdown <table border="1"> <tr><td>0</td><td>No</td></tr> <tr><td>1</td><td>Yes</td></tr> </table>	0	No	1	Yes		
0	No								
1	Yes								
20	blood_culture_complete Section Header: <i>Form Status</i> Complete?	Section Header: <i>Form Status</i> Complete?	dropdown <table border="1"> <tr><td>0</td><td>Incomplete</td></tr> <tr><td>1</td><td>Unverified</td></tr> <tr><td>2</td><td>Complete</td></tr> </table>	0	Incomplete	1	Unverified	2	Complete
0	Incomplete								
1	Unverified								
2	Complete								
Instrument: CSF Culture (csf_culture)									
21	positive_csf_culture Show the field ONLY if: [proven_infection] = "1"	Section Header: <i>Cerebrospinal fluid (CSF) culture</i> <i>Fill this section only for cases with proven infection.</i> Positive CSF culture	dropdown <table border="1"> <tr><td>0</td><td>No</td></tr> <tr><td>1</td><td>Yes</td></tr> </table>	0	No	1	Yes		
0	No								
1	Yes								
22	csf_culture_date Show the field ONLY if: [positive_csf_culture] = "1"	Date and time of obtaining CSF culture <i>Collect only in case of positive CSF culture. Non-mandatory secondary outcome, only for networks that are able to provide the data. Format "dd-mm-yy hh:mm". dd-mm-yy must be filled, hh if available (otherwise enter "00"), for mm, enter "00"</i>	text (datetime_dmy)						
23	csf_culture_pathogen Show the field ONLY if: [positive_csf_culture] = "1"	Pathogen(s) in CSF culture <i>Non-mandatory secondary outcome, only for networks that are able to provide the data. Number of hours between placement of the culture bottle into the automated system and detection of a positive signal</i>	text						
24	csf_culture_contaminated Show the field ONLY if: [positive_csf_culture] = "1"	Contaminated CSF culture <i>Defined as growth of bacteria usually considered as contaminants (eg diphtheroids, Micrococcus species) OR any Coagulase negative Staphylococci, OR blood cultures considered as a contamination by the responsible physician, implying that antimicrobial treatment is stopped after < 5 days (eg in the absence of a rise in CRP > 20 mg/L)</i>	dropdown <table border="1"> <tr><td>0</td><td>No</td></tr> <tr><td>1</td><td>Yes</td></tr> </table>	0	No	1	Yes		
0	No								
1	Yes								

	25	csf_culture_complete	Section Header: <i>Form Status</i> Complete?	dropdown <table border="1"> <tr><td>0</td><td>Incomplete</td></tr> <tr><td>1</td><td>Unverified</td></tr> <tr><td>2</td><td>Complete</td></tr> </table>	0	Incomplete	1	Unverified	2	Complete		
0	Incomplete											
1	Unverified											
2	Complete											
Instrument: Antibiotics (antibiotics)												
	26	indication_atb	Section Header: <i>Antibiotics</i> Indication of antibiotics <i>Non-mandatory secondary outcome, only for networks that are able to provide the data</i>	dropdown <table border="1"> <tr><td>1</td><td>Suspected EOS</td></tr> <tr><td>2</td><td>Prophylaxis for urinary tract malformation</td></tr> <tr><td>3</td><td>Perioperative (surgical) prophylaxis</td></tr> <tr><td>4</td><td>Other prophylaxis</td></tr> </table>	1	Suspected EOS	2	Prophylaxis for urinary tract malformation	3	Perioperative (surgical) prophylaxis	4	Other prophylaxis
1	Suspected EOS											
2	Prophylaxis for urinary tract malformation											
3	Perioperative (surgical) prophylaxis											
4	Other prophylaxis											
	27	start_atb	Date and time of first dose of antibiotics <i>Non-mandatory secondary outcome, only for networks that are able to provide the data. Format "dd-mm-yy hh:mm". dd-mm-yy must be filled, hh if available (otherwise enter "00"), for mm, enter "00"</i>	text (datetime_dmy)								
	28	end_atb	Date and time of last dose of antibiotics <i>Non-mandatory secondary outcome, only for networks that are able to provide the data. Format "dd-mm-yy hh:mm". dd-mm-yy must be filled, hh if available (otherwise enter "00"), for mm, enter "00"</i>	text (datetime_dmy)								
	29	antibiotics_complete	Section Header: <i>Form Status</i> Complete?	dropdown <table border="1"> <tr><td>0</td><td>Incomplete</td></tr> <tr><td>1</td><td>Unverified</td></tr> <tr><td>2</td><td>Complete</td></tr> </table>	0	Incomplete	1	Unverified	2	Complete		
0	Incomplete											
1	Unverified											
2	Complete											
Instrument: Death (death)												
	30	death	Section Header: <i>Death</i> Death	dropdown <table border="1"> <tr><td>0</td><td>No</td></tr> <tr><td>1</td><td>Yes</td></tr> </table>	0	No	1	Yes				
0	No											
1	Yes											
	31	date_death Show the field ONLY if: [death] = "1"	Date of death <i>dd-mm-yy</i>	text (date_dmy)								
	32	cause_death Show the field ONLY if: [death] = "1"	Cause of death	dropdown <table border="1"> <tr><td>1</td><td>Directly sepsis related</td></tr> <tr><td>2</td><td>Indirectly sepsis related</td></tr> <tr><td>3</td><td>Probably unrelated</td></tr> </table>	1	Directly sepsis related	2	Indirectly sepsis related	3	Probably unrelated		
1	Directly sepsis related											
2	Indirectly sepsis related											
3	Probably unrelated											
	33	cause_spec_death Show the field ONLY if: [death] = "1"	Cause of death specific	text								

	34	death_complete	Section Header: <i>Form Status</i> Complete?	dropdown
				0 Incomplete
				1 Unverified
				2 Complete

3.3 Metodi statistici

I dati di tutti i neonati inseriti nello studio sono stati conglobati e riassunti rispetto alle variabili demografiche e alle caratteristiche basali. Le analisi esplorative sono state condotte utilizzando statistiche descrittive. Le variabili continue sono state riportate come medie e deviazioni standard o mediana e range IQ. Le variabili categoriche riportate come numeri e percentuali. I dati di tipo categorico sono stati analizzati mediante test del Chi-quadrato o test di Fisher e i dati di tipo continuo con test parametrici (t test) o con test non parametrici (test U Mann-Whitney). L'influenza di fattori codificati sul fattore di esito sono stati valutati mediante analisi multivariata secondo modelli di regressione logistica.

Sono state considerate statisticamente significative le differenze con p value < 0.05.

4. Risultati

Dal 1/01/2014 al 31/12/2018 sono nati 31197 neonati di EG \geq 34 settimane presso IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria e l'Ospedale Maggiore di Bologna. Nel periodo descritto sono stati ricoverati 3802/ 31197 (12.2%) neonati di EG \geq 34 settimane nella prima settimana di vita presso le rispettive Terapie Intensive Neonatali. Il tasso di mortalità nei neonati ricoverati è stato 0.04 % (13/31197).

Secondo i criteri di inclusione sono stati arruolati nello studio 534 neonati che hanno ricevuto antibioticoteraapia endovenosa nelle prime 168 ore di vita.

La percentuale di neonati sottoposti a trattamento antibiotico è stata dell'1.7% (534/31197), di questi 472 (88.4%) sono stati trattati per sospetta sepsi precoce, 60 (11.2%) per profilassi chirurgiche cardiache ed addominali e 2 (0.4 %) per profilassi delle malformazioni del tratto genito-urinario (**grafico 1**).

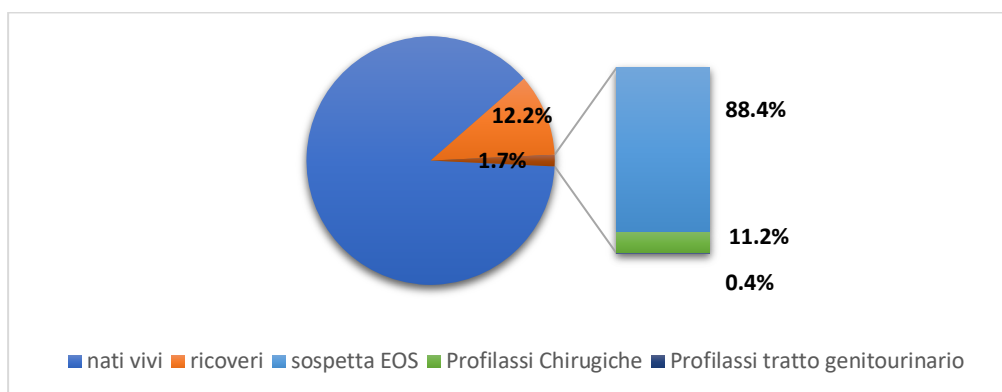


Grafico 1. Casistica dei neonati trattati con antibiotici per via endovenosa ed indicazioni al trattamento

L'analisi dei dati ha riguardato i neonati trattati per sospetta sepsi precoce (N=472) mentre sono stati esclusi i neonati trattati per profilassi di patologie chirurgiche e malformazioni del tratto genitourinario.

Nella **tabella 2** sono descritte le caratteristiche neonatali e materne in relazione ai fattori di rischio per sepsi precoce neonatale nei neonati trattati per EOS sospetta.

	N=472	%
Caratteristiche materne		
Screening prenatale GBS	411	87
TV GBS positivo	54	11.4
Urinocoltura GBS positiva	8	1.7
Figlio precedente con infezione GBS	1	0.2
Febbre intrapartum $\geq 38^{\circ}\text{C}$	47	9.9
pPROM $\geq 18\text{h}$	33	7
PAI eseguita	159	33.7
PAI completa	85	53.4
Caratteristiche neonatali		
EG		
<37 settimane	103	21.8
≥ 37 settimane	369	78.2
Modalità di parto		
Spontaneo	320	67.8
Cesareo	152	32.2
Peso alla nascita		
Pn <1500 g	8	1.7
Pn 1500-2500 g	60	12.7
Pn >2500 g	404	85.6
Apgar score ≥ 9 al 5'	387	82
Sesso		
M	302	64
Ricovero		
1 ^a giornata di vita	381	80.7

Tabella 2. Caratteristiche materne in relazione ai fattori di rischio per EOS e caratteristiche dei neonati trattati per sospetta EOS

I neonati sintomatici sono stati 445 (94.3%) mentre 27 neonati (5.7%) non presentavano alcuna sintomatologia al ricovero in Terapia Intensiva Neonatale. Sono stati trattati con terapia antimicrobica tutti i neonati con sintomi lievi e/o maggiori e 27 neonati asintomatici.

12 neonati (2.7%) hanno manifestato sofferenza alla nascita, 404 (90.7%) hanno presentato sintomi respiratori (distress respiratorio, tachipnea, apnea), 26 neonati (5.8%) sintomi neurologici (letargia, ipotonia, irritabilità convulsioni), 2 neonati (0.4%) sintomatologia addominale (sanguinamento, distensione addominale) e 1 (0.2%) neonato sintomi cardiaci (bradicardia). **Grafico 2**

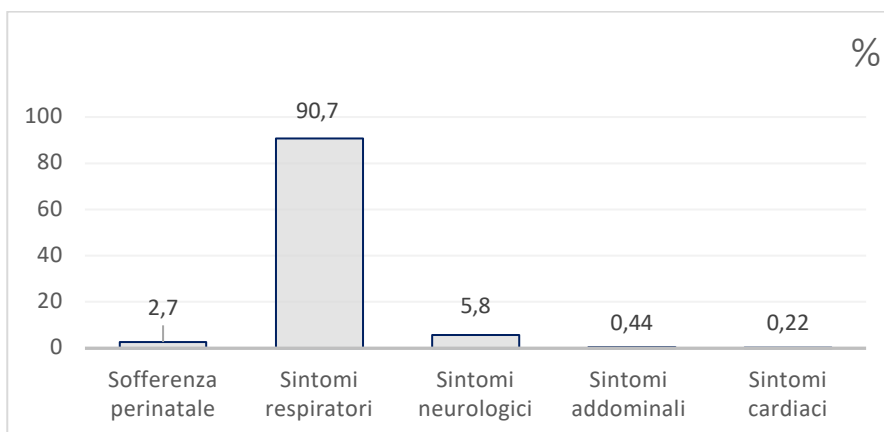


Grafico 2. Distribuzione dei neonati in relazione alla tipologia dei sintomi (%)

Nella nostra popolazione, l'incidenza di sepsi precoce neonatale è stata dello 0.22 su 1000 nati vivi. (7/31197). Il tasso di mortalità neonatale nei neonati ricoverati 0.04% (13/31197), nei neonati con sospetta EOS 1.5 % (7/472). I giorni di ricovero sono stati 9 ± 6 (m \pm DS). Nelle prime 72 ore di vita, sono stati eseguiti 1416 prelievi ematici per valutazione della PCR, 472 emocolture all'esordio dei sintomi, prima di intraprendere il trattamento antibiotico.

Dall'identificazione colturale avvenuta mediante emocoltura sono state riscontrate 4 positività per *Staphylococcus agalactiae* (GBS), 2 positività per *Escherichia coli* e 1 positività per *Staphylococcus epidermidis*. Il tasso di incidenza di sepsi precoci neonatali nella nostra popolazione è stato dello 0.12/1000 nati vivi per lo GBS e 0.06 / 1000 nati vivi per E.coli. Il timing di positivizzazione delle emocolture è risultato 6 ± 3.4 (media \pm DS) ore. In 1 (14.2) caso abbiamo isolato E.coli nel liquor cefalorachidiano prelevato mediante rachicentesi. (**Tabella 3**)

EG	PARTO	TV GBS	URINOCOLTURA	PPROM \geq 18	TC \geq 38°C	PROFILASSI INTRAPARTUM	SINTOMI	PATOGENO	GG AB
37	ps	non noto	-	No	No	non eseguita	distress	GBS	12
38	ps	non noto	-	No	No	non eseguita	tachipnea	STA EP	9
36	ps	non noto	GBS	No	No	incompleta	distress	GBS	8
39	tc	negativo	E.coli	Si	Si	completa	Tachipnea	E COLI	8
40	ps	non noto	-	No	No	non eseguita	distress	GBS	10
41	ps	negativo	-	No	No	non eseguita	distress	GBS	14
38	ps	negativo	-	si	No	completa	Irritabilità	E COLI	25

Tabella 3: Caratteristiche dei neonati con sepsi provata

L'esposizione al trattamento con antibiotico terapia endovenosa nella popolazione analizzata è risultata pari a 85 giorni /1000 nati vivi.

Dall'analisi dei dati è emerso che le molecole più frequentemente utilizzate come profilassi empirica sono state l'ampicillina, la gentamicina e l'amikacina. In particolare l'associazione tra penicilline e aminoglicoside è risultato il trattamento più frequentemente utilizzato e di prima scelta.

La percentuale di neonati trattati con sola ampicillina è stata 13.1%, l'associazione tra ampicillina+aminoglicoside (86%), cefotaxime (0.84%), piperacillina+tazobactam (1%), meropenem (0.2%), vancomicina (0.4%), metronidazolo (0.6%). (**Tabella 4**)

	<i>EOS sospetta</i> N=472 (%)
<i>Ampicillina</i>	62 (13.1)
<i>Ampicillina+ Aminoglicoside</i>	406 (86)
<i>Cefotaxime</i>	4 (0.84)
<i>Piperacillina+Tazobactam</i>	5 (1)
<i>Meropenem</i>	1 (0.2)
<i>Vancomicina</i>	2 (0.4)
<i>Metronidazolo</i>	3 (0.6)

Tabella 4. Elenco degli antibiotici utilizzati nella terapia empirica delle EOS

L'indice di sovratrattamento per un caso di sepsi certa è risultato 68.

In base ai criteri stabiliti sono stati identificati 2 gruppi: neonati con EOS sospetta e neonati con EOS provata.

Il numero dei bambini con sepsi provata è stato 7(1.5%), i neonati con EOS sospetta sono stati 465(98.5%).

Non si sono rilevate differenze statisticamente significative tra i due gruppi riguardo le caratteristiche di popolazione in termini di prematurità , peso alla nascita, tipo di parto e punteggio di Apgar ≥ 9 a 5 minuti di vita . (**tabella 5**)

	Neonati trattati per EOS N= 472	EOS sospetta N= 465, %	EOS provata N=7, %	<i>P value</i>
EG<37, n	103	102	1	1§
PN<1500 g, n	8	8	0	1§
Parto spontaneo, n	320	314	6	.43§
APGAR score ≥ 9 score, n	387	380	7	.36§

Tabella 5: Caratteristiche cliniche dei neonati nei due gruppi e risultati ottenuti dal confronto dei due gruppi mediante *Fisher's test* §

Sono state eseguite, confrontando i due gruppi, indagini statistiche correlate al fattore di esito (sepsi certa) mediante analisi univariata con test t di Student per campioni indipendenti e test di chi quadro

per variabili continue. Dall'analisi dei dati è emerso che i giorni di trattamento con antimicrobico nel gruppo dei neonati con sepsi provata è risultato superiore rispetto ai neonati con sepsi sospetta (pvalue =.009), mentre non si sono rilevate differenze statisticamente significative in relazione alla mortalità e ai giorni di degenza. **Tabella 6**

	EOS sospetta N= 465	EOS provata N=7	P value
Mortalità	7 (1.5)	0 (0)	1 §
Gg degenza, media± DS	9.4 ±6.0	13.3 ±5.3	.098°
Gg antibiotico, media ± DS	5.5 ±2.8	12.2 ±6.0	.009°

Tabella 6. Outcomes nelle due popolazioni a confronto e risultati ottenuti dal confronto con Fisher's test § e test di Student °

Dallo studio di correlazione tra i fattori di rischio materni (modalità di parto, tampone vagino-rettale non noto, tampone vagino-rettale positivo per GBS, urinocoltura positiva, profilassi antibiotica intrapartum eseguita e profilassi antibiotica intrapartum completa, pPROM ≥ 18 ore, febbre intrapartum) e il fattore di esito, abbiamo rilevato significatività statistiche per tampone vaginale non noto ed urinocoltura positiva (p value =.017, p value=.000 rispettivamente).

Nella nostra casistica il 94.2% dei neonati trattati con antibioticoterapia presentava sintomatologia clinica, l'analisi eseguita mediante test di Student non ha mostrato correlazione con la sepsi provata (P value =.05).

Tutti i neonati trattati hanno eseguito all'esordio dei sintomi (T0) un prelievo per la valutazione dell'indici di flogosi (PCR), tale indagine è stata ripetuta dopo 24 ore (T1) e 48-72 ore (T2). Nei neonati con sepsi provata i valori sono risultati più alti in tutti i timing di rilevazione. (**Tabella 7**)

	EOS sospetta N= 465	EOS provata N=7	P value
PCR T0	0.9± 1.4	4.8 ±6.1	.000°
media ± DS			
PCR T1	2.2 ±2.02	9.2 ±10.5	.000°
media ± DS			
PCR T2	1.09 ±1.46	5.0 ±5.7	.000°
media ± DS			

Tabella 7: Confronto dei valori di PCR al tempo 0 (T0), tempo 1(T1) e tempo 2(T2) nei neonati con sepsi sospetta e sepsi provata e analisi dei valori eseguita mediante test t di Student.

In relazione alle significatività statistiche rilevate all'indagine univariata, abbiamo costruito un modello di regressione logistica inserendo come variabile dipendente la sepsi provata e come variabili indipendenti il tampone vagino-rettale non noto, l'urinocoltura positiva e la PCR al T0. Dall'analisi di questo modello, tutte le variabili analizzate sono rimaste statisticamente significative associate al fattore di esito. (TVR non noto OR=15.1, 95% CI 1.98-115.50, p =.009, urinocoltura positiva OR=30.1, 95% CI 3.6-252.1, p = .002, PCR T0 OR=1.6, 95%CI 1.29-2.07, p = .000.)

Abbiamo infine costruito un altro modello inserendo come variabili indipendenti oltre ai fattori di rischio materni (TV non noto, urinocoltura positiva) la PCR al T1 e anche in questo caso tutti i valori sono rimasti statisticamente significativi associati al fattore di esito. (TV non noto OR=13.5 , 95% CI 1.8-99.0, p=.010, Urinocoltura positiva OR=31.2, 95% IC 3.6-270.1, p=.002, PCR al T1 OR=1.4, 95% IC1.2-1.73, p =.000).

Non sono state inserite nello stesso modello di regressione logistica sia valori di PCR al T0 che al T1 poiché questi sono risultati correlati.

5. DISCUSSIONE

Le sepsi neonatali precoci sono una causa importante di mortalità e morbilità neonatale. I microrganismi più comunemente in causa sono lo *Streptococcus agalactiae* (GBS) e l'*Escherichia coli* (E.coli).

Nella nostra popolazione, l'incidenza di EOS è stata dello 0.22 su 1000 nati vivi, in particolare 0.12/1000 per sepsi causate da GBS e 0.06/1000 per sepsi causate da E.coli.

In uno studio condotto dal 2006 al 2009 in 400.000 nati vivi negli Stati Uniti, 389 neonati hanno avuto un'infezione ad esordio precoce (0.98 casi per 1000 nati vivi) di queste il 43% causate da GBS (0.41 per 1000 nati vivi) e il 29% da E. coli (0.28 per 1000 nati vivi).⁵ L'incidenza di EOS in neonati di EG \geq 34 è compreso tra 0.2-0.7%.^{64,65,66,67,45,68,69,70} Dall'analisi della nostra casistica, l'incidenza di sepsi precoce neonatale risulta tendenzialmente bassa rispetto alle incidenze descritte in letteratura.

L'individuazione di strategie preventive quali lo screening materno universale antepartum e la somministrazione intrapartum di profilassi antibiotica, hanno ridotto considerevolmente il tasso di infezione delle sepsi sostenute da GBS (da 1.8 casi /1000 nati vivi nel 1990 a 0.25/1000 nati vivi nel 2013 fino a 0.23/1000 nati vivi nel 2015 negli Stati Uniti).¹² Le misure di prevenzione per GBS non hanno tuttavia modificato il tasso di incidenza delle sepsi da E.coli.¹⁴

Nel nostro studio l'1.5% dei neonati ha ricevuto terapia antibiotica endovenosa; in letteratura le percentuali di neonati trattati con antibiotici variano da stato a stato e il tasso oscilla tra 2% e 8%. (Scozia 2.3%, Olanda 5.3%, Australia 8.3%).^{70,71,67} A fronte di un basso tasso di trattamento nella popolazione descritta abbiamo riscontrato un Overtreatment index (OI) di 68. Confrontando casistiche di neonati con EG sovrapponibili a quella esaminata seppur con il limite della variabilità numerica, l'OI tra le reti neonatali risulta compreso tra 40-100.^{64,65,66,67,70,72} Uno studio svizzero condotto da Duvoisin et al.⁶⁶ su 11.503 neonati di EG \geq 35 settimane dal 2006 al 2011 ha rilevato un tasso di trattamento con antibiotico pari dell'1.7% e OI pari a 73, parametri simili alla nostra popolazione di studio. Indice di OI più alto è stato rilevato da Strunk⁷⁰ in uno studio monocentrico australiano del 2018 in cui sono stati arruolati neonati EG \geq 35 settimane, dall'analisi dei dati è emerso un tasso di esposizione agli antibiotici pari a 8.4% e OI=183. Anche tra le reti neonatali americane sono emersi indici di OI sostenuti; Kuzniewicz⁴⁵ descrive in uno studio monocentrico del 2017 il 2.6% di neonati trattati e OI=104 nel 2017, Mukhopadhyay⁶⁸ in uno studio monocentrico del 2014 riporta un tasso del 5.2 % di neonati trattati e OI=133. L'OI, derivato dall'analisi dei nostri dati, risulta medio-alto se confrontato con casistiche europee e basso a

confronto con casistiche neonatali americane e australiane. Nella nostra popolazione l'85% dei neonati trattati per sospetta EOS ha ricevuto come terapia empirica l'associazione di penicillina con aminoglicoside (gentamicina, amikacina).

Uno studio condotto dal 2015 al 2017 in 312 terapie intensive neonatali degli Stati Uniti, l'utilizzo della terapia antibiotica a largo spettro con penicilline in associazione ad aminoglicoside (gentamicina) è risultato il trattamento prevalente (92%).^{73,74} Tale strategia è stata confermata anche in una recente survey europea condotta in 38 terapie intensive neonatali, dove la percentuale di neonati trattati empiricamente con tale associazione è stata del 76%.⁶²

In relazione ai fattori di rischio materni, le variabili correlate al fattore di esito sono state l'urinocoltura positiva e il tampone vaginale non noto. Ciò testimonia l'importanza di una corretta gestione della gravida nel prepartum e peripartum al fine di ridurre il passaggio di agenti patogeni al neonato anche se la colonizzazione materna può essere intermittente, transitoria o persistente. Le attuali indicazioni al trattamento materno sono guidate dalle raccomandazioni dei CDC (2010)²⁸, dell'AAP (2019)²⁹ e dell'American College of Obstetricians and Gynecologists (2020)³⁰.

Nella nostra popolazione 27 neonati asintomatici hanno ricevuto terapia antibiotica nelle prime ore di vita; tale pratica è derivata dall'indicazione di somministrare terapia antibiotica sulla base del dato materno di febbre intrapartum. Le continue revisioni delle linee guida sulla prevenzione dell'infezione da streptococco di gruppo B hanno modificato nel tempo la pratica clinica e costituiscono già una evoluzione nella stewardship antibiotica neonatale.

Il 94.2 % dei neonati trattati con antibiotico terapia risultava sintomatico, tra questi il 90.7% ha presentato sintomatologia respiratoria (distress respiratorio, tachipnea) e l'81.4% dei neonati è stato ricoverato nelle prime 24 ore di vita. In tutti i neonati è stato eseguito prelievo ematico per la determinazione della PCR all'esordio dei sintomi, ripetuta a distanza di 24 ore e 48-72 ore. La determinazione del valore di PCR è il parametro maggiormente utilizzato nella pratica clinica legata anche ai tempi rapidi di refertazione e al basso costo.⁷⁵

La sintomatologia respiratoria nelle prime 12-24 ore di vita è frequentemente caratterizzata da segni che sono l'espressione della fase di adattamento e transizione alla vita extrauterina. I sintomi variano considerevolmente, sono aspecifici e la sola rilevazione della sintomatologia può esporre ad un eccesso di trattamento con antibiotici.⁴⁴ Nella nostra popolazione non è risultato statisticamente significativo il dato clinico correlato al fattore di esito, probabilmente influenzato dal fatto che quasi tutti i neonati trattati presentavano sintomi. Ciò che invece sono risultati strettamente correlati alla sepsi provata, sono stati i valori di PCR rilevati sia all'esordio dei sintomi che a distanza di 24 ore. Questo conferma il valore predittivo della PCR nell'individuare casi di sepsi certa, in associazione ai fattori di rischio.

Nello studio condotto da Garrido⁶² nel 97.4% dei casi il valore di PCR ha determinato l'inizio della terapia antibiotica mentre nell' 87.8% dei casi la sospensione della terapia.

Nella nostra casistica 2/7 (28.6%) neonati tra quelli con sepsi provata presentavano all'inizio della terapia antibiotica PCR<1 mg/dl mentre tra i neonati con EOS sospetta 325/465 (69.9%) ha avuto PCR<1 mg/dl alla prima rilevazione. (p value=0.03)

Si evince che i neonati con sospetta EOS hanno intrapreso terapia antibiotica anche in assenza di PCR francamente positive e che il dato clinico all'esordio con molta probabilità ha avuto un peso maggiore nel processo decisionale.

Le recenti linee guida dell'AAP²⁹ dichiarano che valori costantemente normali di PCR dopo le 48 ore di vita a fronte di emocoltura negativa, escludono con molta probabilità l'insorgenza di sepsi precoce.⁵⁰ Nella nostra casistica i giorni di antibiotico terapia nei neonati con sospetta EOS sono stati mediamente 5.5 ± 2.8 (m± DS) a fronte di valori di PCR rilevati a 72 ore pari a 1.09 ± 1.46 (m±ds) ciò testimonia che la sospensione del trattamento antibiotico con emocoltura negativa a 48 ore dall'esecuzione è stata attuata con valori di PCR negativi.

6. CONCLUSIONI

Le sepsi neonatali precoci restano un'importante causa di mortalità e morbilità nel periodo neonatale. L'individuazione dei fattori di rischio materni ha portato ad una riduzione delle incidenze e ha modificato il trattamento antibiotico post-natale.

Sebbene il 95% delle EOS si manifestino nelle prime 48 ore di vita, la sfida nella gestione neonatale si interpone tra la necessità di individuare tutti i casi di sepsi certa e l'attenzione a non sovratrattare i neonati esposti al rischio con terapie antimicrobiche a largo spettro.

Nell'ottica di un processo che deve essere migliorativo nella stewardship antibiotica è importante l'individuazione dei fattori di rischio, l'esecuzione di esami colturali prima di intraprendere la terapia antimicrobica e definire il timing corretto di inizio della terapia.

L'associazione tra clinica e valori di PCR eseguiti all'esordio e dopo 24 ore dall'inizio della sintomatologia, possono orientare il neonatologo nell'identificazione di neonati potenzialmente esposti al rischio di sepsi certa e in alcuni casi l'osservazione clinica associata all'evoluzione degli indici di flogosi, può portare a ridurre il tempo di trattamento con antibiotici nei casi di sepsi non confermata.

L'attenzione all'utilizzo di molecole antimicrobiche in epoca neonatale deriva dal fatto che l'uso non appropriato promuove l'emergenza di germi patogeni resistenti, oltre a impedire il corretto sviluppo del microbioma intestinale.

L'introduzione nelle rispettive realtà di uno schema di osservazione clinica eseguita nelle prime 48 ore di vita nel neonato definito a rischio, ha già considerevolmente ridotto il numero di neonati trattati con terapie antimicrobiche.

Sarebbe interessante indagare ulteriormente all'interno della nostra popolazione un sottogruppo di neonati definibili a rischio intermedio, identificati da emocoltura negativa ma sottoposti a terapia antibiotica prolungata per presenza di caratteristiche cliniche e laboratoristiche suggestive di EOS. In questo sottogruppo sarebbe interessante studiare il ruolo di altri indici di flogosi (ad esempio dosaggio di presepsina o procalcitonina a 72 ore) o di strategie associate che possano aiutare ad escludere con certezza la sepsi provata.

Infine, nel percorso di miglioramento basato su una corretta e condivisa stewardship antibiotica, potrebbe essere utile valutare mediante uno studio prospettico interaziendale un modello che definisca, nei neonati sintomatici ricoverati in Terapia Intensiva, il ruolo dei test laboratoristici, il loro cut off, il timing di esecuzione in relazione alla sintomatologia clinica al fine di migliorare l'appropriatezza della terapia antibiotica neonatale.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Rampersaud R, Randis TM, Ratner AJ. Microbiota of the upper and lower genital tract. *Semin Fetal Neonatal Med* 2012; 17: 51–57.
2. Read JS, Cannon MJ, Stanberry LR, Schuval S. Prevention of mother-to-child transmission of viral infections. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2008; 38: 274–97.
3. Schrag SJ, Verani JR. Intrapartum antibiotic prophylaxis for the prevention of perinatal group B streptococcal disease: experience in the United States and implications for a potential group B streptococcal vaccine. *Vaccine* 2013; 31(suppl 4):D20–6
4. Weston EJ, Pondo T, Lewis MM et al. The burden of invasive early-onset neonatal sepsis in the United States, 2005- 2008. *Pediatr. Infect. Dis.* 2011; J. 30:937–941
5. Stoll BJ, Hansen NI, Sanchez PJ et al. Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. Early onset neonatal sepsis: the burden of group B streptococcal and *E. coli* disease continues. *Pediatrics* 2011;127:817–826.
6. Campbell JR, Hillier SL, Krohn MA, Ferrieri P, Zaleznik DF, Baker CJ. Group B streptococcal colonization and serotype-specific immunity in pregnant women at delivery. *Obstet Gynecol* 2000; 96:498–503.
7. Regan JA, Klebanoff MA, Nugent RP. The epidemiology of group B streptococcal colonization in pregnancy. *Vaginal Infections and Prematurity Study Group. Obstet Gynecol* 1991;77:604–10.
8. Kwatra G, Cunningham MC, Merrall E, Adrian PV, Ip M, Klugman KP, et al. Prevalence of maternal colonisation with group B streptococcus: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2016;16:1076–84.
9. Phares CR, Lynfield R, Farley MM, Mohle-Boetani J, Harrison LH, Petit S, et al. Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999–2005. *Active Bacterial Core surveillance/Emerging Infections Program Network. JAMA* 2008;299:2056–65.
10. Seale AC, Bianchi-Jassir F, Russell NJ, Kohli-Lynch M, Tann CJ, Hall J, et al. Estimates of the burden of group B streptococcal disease worldwide for pregnant women, stillbirths, and children. *Clin Infect Dis* 2017;65:S200–19
11. Le Doare K, Heath PT. An overview of global GBS epidemiology. *Vaccine* 2013;31(suppl 4):D7–12
12. Nanduri SA, Petit S, Smelser C, et al. Epidemiology of invasive early-onset and late-onset group B streptococcal disease in the United States, 2006 to 2015: multistate laboratory and population-based surveillance. *JAMA Pediatr* 2019;173(3):224-233.
13. Bianchi-Jassir F, Seale AC, Kohli-Lynch M, et al. Preterm birth associated with group B streptococcus maternal colonization worldwide: systematic review and meta-analyses. *Clin Infect Dis* 2017; 65:S133–42
14. Schrag SJ, Farley MM, Petit S, et al. Epidemiology of invasive early-onset neonatal sepsis, 2005 to 2014. *Pediatrics* 2016;138:e20162013.
15. Benitz WE, Gould JB, Druzin ML. Risk factors for early- onset group B streptococcal sepsis: estimation of odds ratios by critical literature review. *Pediatrics* 1999;103:e77.
16. Puopolo KM, Draper D, Wi S, et al. Estimating the probability of neonatal early-onset infection on the basis of maternal risk factors. *Pediatrics* 2011;128:e1155–63.

17. Anthony BF, Okada DM, Hobel CJ. Epidemiology of group B Streptococcus: longitudinal observations during pregnancy. *J Infect Dis* 1978;137:524–30.
18. Russell NJ, Seale AC, O’Sullivan C, et al. Risk of early-onset neonatal group B streptococcal disease with maternal colonization worldwide: systematic review and meta-analyses. *Clin Infect Dis* 2017;65:S152–9
19. Creti R, Imperi M, Berardi A, et al. Neonatal group B streptococcus infections: prevention strategies, clinical and microbiologic characteristics in 7 years of surveillance. Italian Neonatal GBS Infections Working Group. *Pediatr Infect Dis J* 2017; 36:256–62.
20. Shane AL, Stoll BJ. Recent developments and current issues in the epidemiology, diagnosis, and management of bacterial and fungal neonatal sepsis. *Am. J. Perinatol.* 2013;30:131–142.
21. Xie Y, Kim KJ, Kim KS. Current concepts on Escherichia coli K1 translocation of the blood-brain barrier. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2004; 42:271–279.
22. Gellin BG, Broome CV, Bibb WF, Weaver RE, Gaventa S, Mascola L. The epidemiology of listeriosis in the United States 1986. Listeriosis Study Group. *Am. J. Epidemiol.* 1991;133:392–401.
23. Goulet V, Hedberg C, Le Monnier A, de Valk H. Increasing incidence of listeriosis in France and other European countries. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14:734–740
24. Wilson CB, Lewis DB. Basis and implications of selectively diminished cytokine production in neonatal susceptibility to infection. *Rev. Infect. Dis* 1990; 12:S410–S420
25. Hunter CJ, Bean JF. Cronobacter: an emerging opportunistic pathogen associated with neonatal meningitis, sepsis and necrotizing enterocolitis. *J. Perinatol* 2013; 33:581–585
26. D’Angio CT, McGowan KL, Baumgart S, St Geme J, Harris MC. Surface colonization with coagulase-negative staphylococci in premature neonates. *J. Pediatr.* 1989 ;114:1029–1034
27. Sharag S, Gorwith R, Fultz-Butts K, Schuchat A. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. Revised Guidelines from CDC. *MMWR Recomm Rep* 2002 ;51(RR-11):1-22.
28. Verani JR, McGee L, Schrag SJ; Division of Bacterial Diseases, National Centers for Immunization and Respiratory Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of Perinatal group B Streptococcal disease-revised guidelines from CDC, 2010. *MMWR Recomm Rep.* 2010; 59 (RR-10):1-36.
29. Puopulo JM, Lynfield R, Cummings JJ, AAP Committee on Fetus and Newborn, AAP Committee on Infectious Diseases. Management of Infants at Risk for Group B Streptococcal Disease. *Pediatrics* 2019; 144 (2): e20191881.
30. American College of Obstetricians and Gynecologists. Prevention of group B streptococcal early-onset disease in newborn: ACOG Committee Opinion, Number 782. *Obstet Gynecol* 2019; 134 (1): e19-e40.
31. Nicolle LE, Gupta K, Bradley SF, et al. Clinical practice guideline for the management of asymptomatic bacteriuria. Updated by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2019; 68(10):e83-e110.
32. Smaill FM, Vazquez JC. Antibiotics for asymptomatic bacteriuria in pregnancy. *Cochrane database Syst Rev* 2015 7;(8):CD000490.
33. Thomsen AC, Morup L, Hansen KB. Antibiotic elimination of group-B streptococci in urine in prevention of preterm labour. *Lancet* 1987;1:591–3.
34. Baecher L, Grobman W. Prenatal antibiotic treatment does not decrease group B streptococcus colonization at delivery. *Int J Gynaecol Obstet* 2008;101:125–8.

35. Allen VM, Yudin MH. Management of group B streptococcal bacteriuria in pregnancy. *J Obstet Gynaecol Can* 2018;40:e181–6
36. Paccione KA, Wiesenfeld HC. Guideline adherence for intrapartum group B streptococci prophylaxis in penicillin-allergic patients. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2013;2013:917304.
37. Briody VA, Albright CM, Has P, Hughes BL. Use of cefazolin for group B streptococci prophylaxis in women reporting a penicillin allergy without anaphylaxis. *Obstet Gynecol* 2016;127:577–83.
38. Shenoy ES, Macy E, Rowe T, Blumenthal KG. Evaluation and management of penicillin allergy: a review. *JAMA* 2019;321:188–99.
39. Petri WA Jr. Penicillins, cephalosporins, and other b-lactam antibiotics. In: Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC, editors. *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. 12th ed. New York (NY): McGraw Hill Medical; 2011. p. 1477–503.
40. Teatero S, Ferrieri P, Martin I, Demczuk W, McGeer A, Fittipaldi N. Serotype distribution, population structure, and antimicrobial resistance of group B streptococcus strains recovered from colonized pregnant women. *J Clin Microbiol* 2017;55:412–22.
41. Wear CD, Towers CV, Brown MS, Weitz B, Porter S, Wolfe L. Transplacental passage of clindamycin from mother to neonate. *J Perinatol* 2016;36:960–1.
42. Nanovskaya T, Patrikeeva S, Zhan Y, Fokina V, Hankins GD, Ahmed MS. Transplacental transfer of vancomycin and telavancin. *Am J Obstet Gynecol* 2012;207:331.e1–6.
43. Hnat MD, Gainer J, Bawdon RE, Wendel GD Jr. Trans placental passage of vancomycin in the ex vivo human perfusion model. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2004;12:57– 61.
44. Shane A.L, Sanchez P.J, Stoll B.J. Neonatal sepsis. *Lancet* 2017;14:390(10104)
45. Kuzniewicz MW, Puopolo KM, Fischer A, et al. A quantitative, risk-based approach to the management of neonatal early-onset sepsis. *JAMA Pediatr* 2017;171(4):365–71.
46. Berardi A, Fornaciari S, Rossi C, et al. Safety of physical examination alone for managing well-appearing neonates ≥ 35 weeks' gestation at risk for early-onset sepsis. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2015;28(10):1123–1127
47. Berardi A, Bedetti L, Spada C, et al. Serial clinical observation for management of newborns at risk of early-onset sepsis *Curr Opin Pediatr* 2020 ;32(2):245-251
48. Schelonka RL, Chai MK, Yoder BA, Hensley D, Brockett RM, Ascher DP. Volume of blood required to detect common neonatal pathogens. *J. Pediatr*.1996; 129:275–278.
49. Meem M, Modak JK, Mortuza R, Morshed M, Islam MS, Saha SK. Biomarkers for diagnosis of neonatal infections: a systematic analysis of their potential as a point-of-care diagnostics. *J. Glob. Health* 2011;1:201–209
50. Benitz WE, Han MY, Madan A, Ramachandra P. Serial serum C-reactive protein levels in the diagnosis of neonatal infection. *Pediatrics* 1998; 102:E41.
51. Altunhan H, Annagur A, Ors R, Mehmetoglu I. Procalcitonin measurement at 24 hours of age may be helpful in the prompt diagnosis of early-onset neonatal sepsis. *Int. J. Infect. Dis* 2011;.15:e854 – e858.
52. Monneret G, Labaune JM, Isaac C, Bienvenu F, Putet G, Bienvenu J. Procalcitonin and C-reactive protein levels in neonatal infections. *Acta Paediatr* 1997; 86:209–212.
53. Ganesan P, Shanmugam P, Sattar SB, Shankar SL. Evaluation of IL-6, CRP and hs-CRP as early markers of neonatal sepsis. *J Clin Diagn Res*. 2016;10(5):DC13–17.
54. Ye Q, Du LZ, Shao WX, Shang SQ. Utility of cytokines to predict neonatal sepsis. *Pediatr Res*. 2017;81(4):616–621.

55. Shahkar L, Keshtkar A, Mirfazeli A, Ahani A, Roshandel G. The role of IL-6 for predicting neonatal sepsis: a systematic review and meta- analysis. *Iran J Pediatr.* 2011;21(4):411–417.
56. Delanghe JR, Speeckaert MM. Translational research and biomarkers in neonatal sepsis. *Clin Chim Acta.* 2015;451(Pt A):46–64.
57. Zhou M, Cheng S, Yu J, Lu Q. Interleukin-8 for diagnosis of neonatal sepsis: a meta-analysis. *Plos One.* 2015;10(5):e0127170
58. Chenevier-Gobeaux C, Borderie D, Weiss N, Mallet-Coste T, Claes- sens Y-E, Presepsin CYE. Presepsin (sCD14-ST), an innate immune response marker in sepsis. *Clin Chim Acta.* 2015;450:97–103.
59. Bellos I, Fitrou G, Pergialiotis V, Thomakos N, Perrea DN, Daskalakis G. The diagnostic accuracy of presepsin in neonatal sepsis: a meta analysis. *Eur J Pediatr.* 2018;177(5):625–632.
60. Seliem W, Sultan AM. Presepsin as predictor of EONS in umbilical cord blood of premature with PROM. *Pediatr Int.* 2018;60(5): 428–432.
61. Pugin L, Pietrasanta C, Milani S, et al. Presepsin (soluble CD14 sub-type): reference ranges of a new sepsis marker in term and preterm neonates. *PLoS One.* 2015;10(12):e0146020.
62. Garrido F, Allegaert K, Arribas C, et al. Variations in Antibiotic Use and Sepsis Management in Neonatal Intensive Care Units: A European Survey Antibiotics (Basel) 2021 27;10(9):1046.
63. Ramasethu J, Kawakita T. Antibiotic stewardship in perinatal and neonatal care *Semin Fetal Neonatal Med.* 2017 ;22(5):278-283.
64. Berardi A, Buffagni AM, Rossi C, et al. Serial physical examinations, a simple and reliable tool for managing neonates at risk for early- onset sepsis. *World J Clin Pediatr.* 2016 8;5(4):358-364.
65. Fjalstad JW, Stensvold HJ, Bergseng H, et al. Early-onset Sepsis and Antibiotic Exposure in Term Infants: A Nationwide Population-based Study in Norway. *Pediatr Infect Dis J.* 2016 ;35(1):1-6
66. Duvoisin G, Fischer C, Maucort-Boulch D, Giannoni E. Reduction in the use of diagnostic tests in infants with risk factors for early-onset neonatal sepsis does not delay antibiotic treatment. *Swiss Med Wkly.* 2014; 25:144.
67. Sikias P, Parmentier C, Imbert P, et al. Early-onset neonatal infection: assessment of professional practices in 14 maternity wards in the Île-de-France region in 2013. *Arch Pediatr.* 2015;22(10):1021-6.
68. Mukhopadhyay S, Taylor JA, Von Kohorn I, et al. Variation in Sepsis Evaluation Across a National Network of Nurseries. *Pediatrics.* 2017;139(3).
69. Dhudasia MB, Mukhopadhyay S, Puopolo KM. Implementation of the Sepsis Risk Calculator at an Academic Birth Hospital. *Hosp Pediatr.* 2018 ;8(5):243-250.
70. Strunk T, Buchiboyina A, Sharp M, Nathan E, Doherty D, Patole S. Implementation of the Neonatal Sepsis Calculator in an Australian Tertiary Perinatal Centre. *Neonatology.* 2018;113(4):379-382
71. Stocker M, van Herk W, El Helou S et al; NeoPInS Study Group. Procalcitonin-guided decision making for duration of antibiotic therapy in neonates with suspected early-onset sepsis: a multicentre, randomised controlled trial (NeoPIns). *Lancet.* 2017;390(10097):871-881
72. Cotten C. Adverse consequences of neonatal antibiotic exposure. *Curr Opin Pediatr* 2016;28(2):141-9.

73. Clark R H, Bloom B T, Spitzer A R, and Gerstmann DR. Empiric use of ampicillin and cefotaxime, compared with ampicillin and gentamicin, for neonates at risk for sepsis is associated with an increased risk of neonatal death. *Pediatrics* 2006; 117 (1), 67–74.
74. Klingenberg,C, Glad G T, Olsvik R, Flaegstad T. Rapid PCR detection of the methicillin resistance gene, *mecA*, on the hands of medical and non-medical personnel and healthy children and on surfaces in a neonatal intensive care unit *Scand J Infect Dis.* 2001;33(7):494
75. Hofer N, Zacharis E, Muller W, Resh B. An update on the use of C-reactive protein in early-onset neonatal sepsis: current insights and new tasks. *Neonatology* 2012;102(1):25-36.