ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ – ΜΟΝΑΔΑ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ Π.Γ.Ν. «ΑΤΤΙΚΟΝ»

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ : ΤΣΑΝΤΕΣ ΑΡΓΥΡΙΟΣ

# ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΜΕΤΡΙΑ: ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΔΙΑΤΑΡΑΧΩΝ ΙΝΩΔΟΛΥΣΗΣ ΣΕ ΣΗΠΤΙΚΑ ΝΕΟΓΝΑ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΜΑΡΙΑ Δ. ΛΑΜΠΡΙΔΟΥ

Νοσηλεύτρια ΤΕ**, MSc**

ΑΘΗΝΑ **2020**



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ – ΜΟΝΑΔΑ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ Π.Γ.Ν. «ΑΤΤΙΚΟΝ»

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΤΣΑΝΤΕΣ ΑΡΓΥΡΙΟΣ

# ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΜΕΤΡΙΑ: ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΔΙΑΤΑΡΑΧΩΝ ΙΝΩΔΟΛΥΣΗΣ ΣΕ ΣΗΠΤΙΚΑ ΝΕΟΓΝΑ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΜΑΡΙΑ Δ. ΛΑΜΠΡΙΔΟΥ

Νοσηλεύτρια ΤΕ**, MSc**

ΑΘΗΝΑ **2020**

Ημερομηνία αίτησης της υποψήφιας : **01/02/2017**

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής : **28/04/2017**

Μέλη τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής :

1. Τσαντές Αργύριος, Αναπληρωτής Καθηγητής Εργαστηριακής Αιματολογίας – Αιμοδοσίας, ΕΚΠΑ, Διευθυντής Αιματολογικού Εργαστηρίου – Μονάδας Αιμοδοσίας, Π.Γ.Ν. Αττικόν
2. Ιακωβίδου Νικολέτα, Καθηγήτρια Παιδιατρικής - Νεογνολογίας ΕΚΠΑ, Διευθύντρια Νεογνολογικής Κλινικής «Αρεταίειο» Νοσοκομείο, Αθήνα
3. Μπούτσικου Θεοδώρα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής – Νεογνολογίας ΕΚΠΑ, Νεογνολογική Κλινική, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Αθήνα

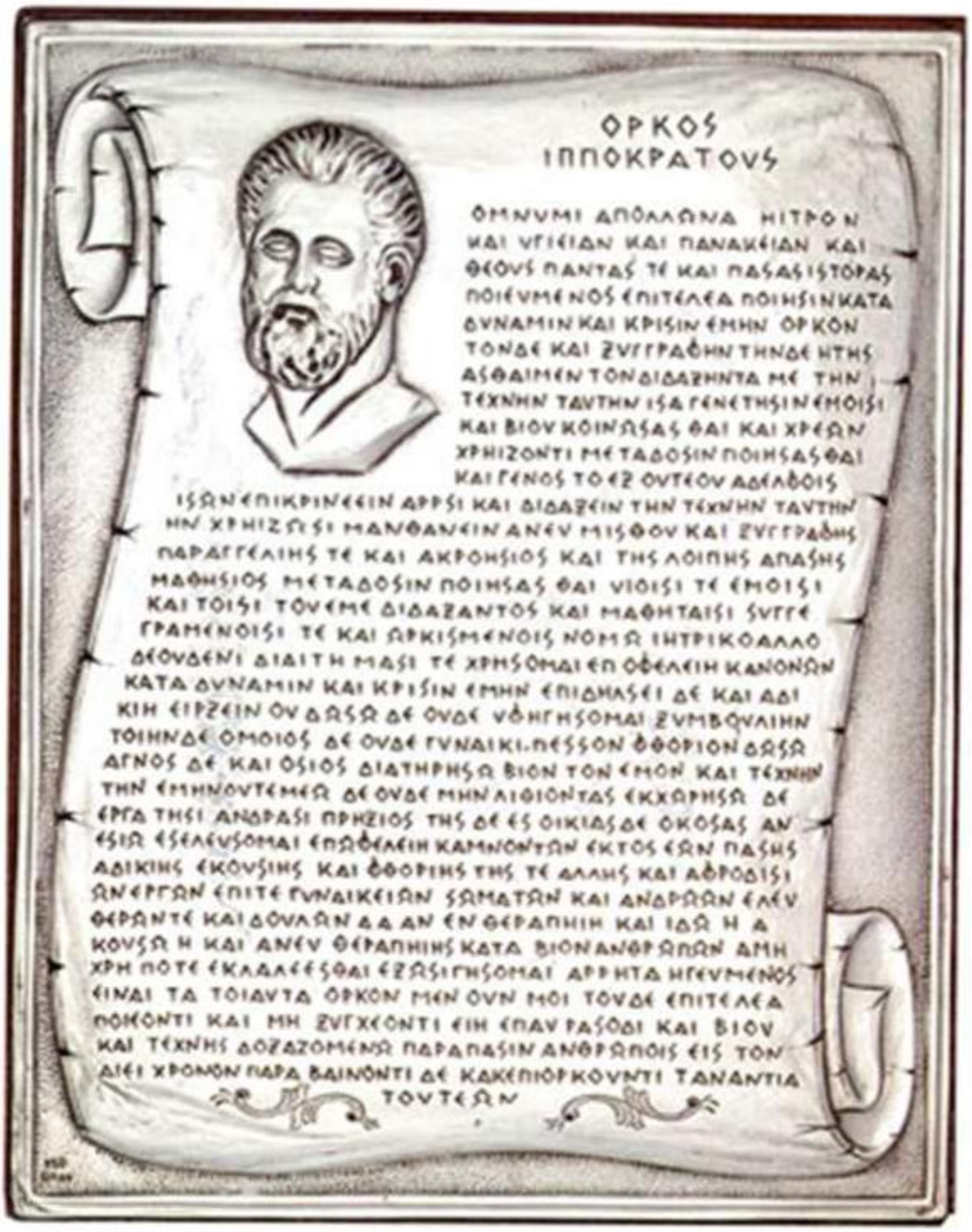
Ημερομηνία ορισμού του θέματος : **23/6/2017**

Ημερομηνία κατάθεσης της διδακτορικής διατριβής :

Μέλη επταμελούς **Ε**ξεταστικής Επιτροπής :

1. Τσαντές Αργύριος, Αναπληρωτής Καθηγητής Εργαστηριακής Αιματολογίας – Αιμοδοσίας, ΕΚΠΑ, Διευθυντής Αιματολογικού Εργαστηρίου – Μονάδας Αιμοδοσίας, Π.Γ.Ν. Αττικόν
2. Ιακωβίδου Νικολέτα, Καθηγήτρια Παιδιατρικής - Νεογνολογίας ΕΚΠΑ, Διευθύντρια Νεογνολογικής Κλινικής «Αρεταίειο» Νοσοκομείο, Αθήνα
3. Μπούτσικου Θεοδώρα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής – Νεογνολογίας ΕΚΠΑ, Νεογνολογική Κλινική, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Αθήνα
4. Πολίτου Μαριάννα**,** Αιματολόγος, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Ν.Υ. Αιμοδοσίας-Αιματολογικό Εργαστήριο, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Αθήνα
5. Κόσσυβα Λυδία**,** Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Β Π.Π. Κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών, Γ.Ν. Παίδων ¨Π&Α. Κυριακού¨, Αθήνα
6. Ηλιοδρομίτη Ζωή**,** Επίκουρη Καθηγήτρια Παιδιατρικής – Νεογνολογίας ΕΚΠΑ, Νεογνολογική Κλινική Αρεταίειο Νοσοκομείο, Αθήνα.
7. Βαλσάμη Σερένα**,** Αιματολόγος, Επίκουρη Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Ν.Υ. Αιμοδοσίας-Αιματολογικό Εργαστήριο, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Αθήνα.

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής Αθηνών : Καθηγητής Πέτρος Π. Σφηκάκης


ΟΡΚΟΣ
ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ
ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ
ΚΑΙ ΥΓΙΕΙΑΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ
ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ
ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΙΝ ΚΑΤΑ
ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ
ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ ΙΗΤΗΣ
ΑΞΘΑΙΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ
ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ
ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΞΑΣ ΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ
ΧΡΗΙΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ ΘΑΙ
ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΟΥΤΕΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ
ΙΣΩΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΕΙΝ ΑΡΡΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ
ΗΝ ΧΡΗΙΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗΣ
ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ
ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ ΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ
ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕ
ΓΡΑΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΩΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩΑΛΛΟ
ΔΕΟΥΔΕΝΙ ΔΙΔΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΩΝ
ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΕΠΙΔΗΛΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙ
ΚΙΗ ΕΙΡΓΕΙΝ ΟΥ Δ ΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΙΗΝ
ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΟΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ Δ ΩΣΩ
ΑΓΝΟΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ
ΤΗΝ ΕΜΗΝ ΟΥΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘΙΟΝΤΑΣ ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ
ΕΡΓΑ ΤΗΣΙ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡΗΞΙΟΣ ΤΗΣ ΔΕ ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ
ΕΣΙΩ ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ
ΑΔΙΚΙΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙ
ΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΩΝ ΕΛΕΥ
ΘΕΡΩΝΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ ΑΔ ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΗΙΗ ΚΑΙ ΙΔΩ Η Α
ΚΟΥΣΩ Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΗΙΗΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ ΑΜΗ
ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ ΕΞΩΣΙΓΗΣΟΜΑΙ ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ
ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΥΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ
ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΣΥΓΧΕΟΝΤΙ ΕΙΗ ΕΠΑΝΑΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ
ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΙΣ ΤΟΝ
ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑ ΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΚΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ ΤΑΝΑΝΤΙΑ
ΤΟΥΤΕΩΝ

Στην Ανθή

# ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εκπόνηση της διδακτορικής διατριβής αποτελεί μια μοναδική και ανεπανάληπτη εμπειρία με κύρια χαρακτηριστικά την προσπάθεια, τον κόπο, την επιμονή, την θέληση αλλά και τον ενθουσιασμό, τη διάθεση, το πείσμα και τον χρόνο, ο συνδυασμός των οποίων οδηγεί σε αυτόν τον απώτερο επιστημονικό στόχο.

Η παρούσα διατριβή πραγματοποιήθηκε στην Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ στο Αιματολογικό Εργαστήριο - Μονάδα Αιμοδοσίας Π.Γ.Ν. Αττικό. Η συλλογή των δειγμάτων της μελέτης έγινε στην Μονάδα Εντατικής Νοσηλείας Νεογνών και στη Μαιευτική κλινική του Γ.Ν. Νίκαιας «Άγιος Παντελεήμων» κατά το χρονικό διάστημα Απρίλιος 2017- Απρίλιος 2019.

Ολοκληρώνοντας αυτό το μακρύ και επίπονο ταξίδι, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους εκείνους που με την έμπρακτη υποστήριξη και ανεκτικότητά τους συνέβαλαν στην αποπεράτωση αυτής της προσπάθειας.

Θα ξεκινήσω λοιπόν από τον επιβλέποντα Αναπληρωτή Καθηγητή Εργαστηριακής Αιματολογίας - Αιμοδοσίας, Τμήμα Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ Τσαντέ Αργύρη, για την άριστη συνεργασία, την αμέριστη υποστήριξη του, την εποικοδομητική κριτική του, την σπουδαία συμβολή του στην γνωστοποίηση της ερευνητικής εργασίας καθώς επίσης και την εμπιστοσύνη με την οποία με περιέβαλε όλο αυτό το χρονικό διάστημα.

Οφείλω επίσης ένα μεγάλο ευχαριστώ στην Καθηγήτρια Παιδιατρικής - Νεογνολογίας ΕΚΠΑ, Ιακωβίδου Νικολέττα για την προθυμία, την συμπαράσταση και την στήριξη που μου παρείχε τόσο σε προσωπικό, όσο και σε επιστημονικό επίπεδο κ άθολη τη διάρκεια της εκπόνησης της διατριβής.

Παράλληλα θα ήθελα να ευχαριστήσω την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής - Νεογνολογίας ΕΚΠΑ, Μπούτσικου Θεοδώρα για την βοήθεια, την κατανόηση και την αξιοπρεπή συνεργασία που χαρακτήρισε τη σχέση μας τα τρία αυτά έτη.

Δεν μπορώ σε αυτό το σημείο να μην πω ένα μεγάλο ευχαριστώ στους κ.κ. Τσαντέ Ανδρέα και Μπονόβα Στέφανο που πραγμάτωσαν την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης.

Η συμβολή των εξαίρετων συναδέλφων ήταν καταλυτική για την ολοκλήρωση αυτής της διατριβής. Πιο συγκεκριμένα, θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς τους κ.κ. Θεοδωράκη Μάρθα, Κωνσταντινίδη Αικατερίνη, Ιωακειμίδη Γιώργο και Παραστατίδου Σταυρούλα για την πολύτιμη βοήθεια τους στην συλλογή των δειγμάτων, καθώς και για την διαρκή ενθάρρυνση τους όλο αυτό το χρονικό διάστημα.

Φτάνοντας προς το τέλος, το συναίσθημα της ευγνωμοσύνης και της εκτίμησης απέναντι στην φίλη, εξαίρετη νεογνολόγο-παιδίατρο Σώκου Ροζέτα, δεν μπορεί να αποτυπωθεί με λόγια. Υπήρξε ο άνθρωπος που με προέτρεψε όσο κανείς να αναλάβω αυτό το εγχείρημα, με αγκάλιασε με την εμπιστοσύνη της, με ωθούσε «εμπρός» κάθε φορά που λύγιζα, ήταν εκείνη που έλυνε τις απορίες μου, ανεχόταν την γκρίνια μου, με ενθάρρυνε στην απογοήτευση μου ενώ ταυτόχρονα μοιραζόταν τις χαρές και τον ενθουσιασμό μου σε όλη τη διάρκεια αυτού του ταξιδιού. Ήταν ο άνθρωπος που ήταν δίπλα μου 24 ώρες το 24ωρο με υπομονή, ανοχή και αμέριστη κατανόηση.

Τέλος, το μεγαλύτερο και ουσιαστικότερο ευχαριστώ το οφείλω στην οικογένεια μου, τους γονείς μου, τον Χρήστο, τη Σοφία και την Ανθή, για την αγάπη, τη συμπαράσταση και την ανοχή τους όλα αυτά τα χρόνια. Είναι πάντα το πιο ουσιαστικό στήριγμα, ακόμα και αν δεν τους το λέω συχνά. Η διατριβή είναι αφιερωμένη σε εκείνους, γιατί από μικρή ηλικία με έμαθαν να πιστεύω στον εαυτό μου και να μην επαναπαύομαι.

.

# ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

## ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

| | |
|---|---|
| Επώνυμο | Λαμπρίδου |
| Όνομα | Μαρία |
| Όνομα πατέρα | Δημήτριος |
| Όνομα μητέρας | Ανθή |
| Τόπος γέννησης | Πειραιάς |
| Εθνικότητα | Ελληνική |

## ΣΠΟΥΔΕΣ – ΤΙΤΛΟΙ

**28/04/2017-** έως σήμερα**:** Υποψήφια Διδάκτωρ Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

**06/12/2000:** Μεταπτυχιακός τίτλος σπουδών στη νοσηλευτική εκπαίδευση (MSc in Nursing and Education), University of Edinburgh.

**26/5/1998:** Πτυχίο Νοσηλευτικής, Τμήμα Νοσηλευτικής Α' της Σχολής Επαγγελμάτων Υγείας και Πρόνοιας του Τ.Ε.Ι. Αθήνας. Βαθμός πτυχίου 8,6/10 (Άριστα).

**01/3/1996-31/5/1996:** Τρίμηνη εκπαίδευση στα πλαίσια του προγράμματος

ανταλλαγής φοιτητών 'SOCRATES' in University of Northumbria at Newcastle.

## ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

**31/3/20** μέχρι σήμερα
Τμηματάρχης ΜΕΝΝ, Γενικό Νοσοκομείο Νίκαιας "Άγιος Παντελεήμων"

**7/9/2000 – 30/3/2020**
ΜΕΝΝ, Γενικό Νοσοκομείο Νίκαιας "Άγιος Παντελεήμων"
Υπεύθυνη Τ.Ε Νοσηλεύτρια

**20/1/1999 – 19/7/1999**
Ωνάσειο Καρδιοχειρουργικό Κέντρο, Αναισθησιολογικό Τμήμα
Τ.Ε. Νοσηλεύτρια

## ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

ΙΤΑΛΙΚΑ**:** Καλά
ΑΓΓΛΙΚΑ**:** Πολύ καλά

## ΓΝΩΣΗ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ

Word-Excel-Internet (Πιστοποίηση)

## ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΕΡΓΟ

| | |
|---|---|
| ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ | **5** |
| ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ | **3** |

| | |
|---|---|
| ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ | **20** |
| ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ | **1** |
| ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ | **25** |
| ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ | **4** |

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ **1**

1. Λαμπρίδου Μ**.,** Παπαδάκης Σ., Παναγιωτουνάκου Π., Βαζάκα Κ., Αντωνοπούλου Ε., Γούναρης Α., Αλεξίου Ν. Δερματικές ουλές στα νεογνά απότοκες της εντατικής νοσηλείας. *Νοσηλευτική* 2005, 44 (2):238-242.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ **4**

1. Rozeta Sokou, Daniele Piovani, Aikaterini Konstantinidi, Andreas G Tsantes,Stavroula Parastatidou, **Maria Lampridou**, Georgios Ioakeimidis, Antonis Gounaris, Nicoletta Iakovidou, Anastasios G Kriebardis, Marianna Politou, Petros Kopterides, Stefanos Bonovas, and Argirios E Tsantes. **"A risk score for predicting the incidence of hemorrhage in critically ill neonates: development and validation study."** *Thrombosis and Haemostasis.*

2. **Lampridou M**, Sokou R, Tsantes AG, Theodoraki M, Konstantinidi A, Ioakeimidis G, Bonovas S, Politou M, Valsami S, Iliodromiti Z, Boutsikou T, Iacovidou N, Nikolopoulos G, Tsantes AE. **"ROTEM® diagnostic capacity for measuring fibrinolysis in neonatal sepsis."** *Thromb Res.* 2020;192:103-108. doi:10.1016/j.thromres.

3. Konstantinidi, A., R. Sokou, P. Panagiotounakou, **M. Lampridou**, S. Parastatidou, K. Tsantila, E. Gounari and A. K. Gounaris. **"Umbilical Venous Catheters and Peripherally Inserted Central Catheters: Are They Equally Safe in Vlbw Infants? A Non-Randomized Single Center Study."** *Medicina (Kaunas)* 55, no. 8 (2019).

4. Apostolopoulou E., **Lambridou M.,** Lambadaridis I. **Nosocomial bloodstream infections in a Neonatal Intensive Care Unit.** *British Journal Of Nursing*, 2004, 13 (13): 806-812.

## ΕΠΙΜΟΡΦΩΣΗ

Ελληνικά συνέδρια και σεμινάρια **52**

## ΒΡΑΒΕΥΣΕΙΣ – ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ

**1999 – 2000.** Χορήγηση υποτροφίας του Ιδρύματος Κρατικών Υποτροφιών (ΙΚΥ) κατόπιν επιτυχών εξετάσεων στα πλαίσια της παρακολούθησης μεταπτυχιακού κύκλου μαθημάτων και απόκτησης μεταπτυχιακού τίτλου σπουδών στο εξωτερικό. (UNIVERSITY OF EDINBURGH).

# ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ 14

Ι. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ 19

**1.** ΝΕΟΓΝΙΚΗ ΣΗΨΑΙΜΙΑ 20

**1.1.** Επιδημιολογία 20

**1.2.** Ορισμοί-Υπεύθυνοι μικροοργανισμοί 21

**1.2.1.** Πρώιμη νεογνική σηψαιμία 22

**1.2.2.** Όψιμη νεογνική σηψαιμία 25

**2.** ΣΗΨΗ-ΣΗΠΤΙΚΗ ΚΑΤΑΠΛΗΞΙΑ**(SEPTIC SHOCK)**-ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΟΥΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ **(SIRS).** 28

**2.1.** Ορισμοί 28

**2.2.** Βιοδείκτες 35

**2.2.1.** Ειδικοί βιοδείκτες λοίμωξης 37

**2.2.2.** Μη ειδικοί βιοδείκτες λοίμωξης 39

**2.3.** Διαγνωστικά και προγνωστικά **scores** 46

**3.** ΣΗΨΗ ΚΑΙ ΔΙΑΧΥΤΗ ΕΝΔΟΑΓΓΕΙΑΚΗ ΠΗΞΗ **(**ΔΕΠ**)** 50

**3.1.** Διάγνωση της ΔΕΠ στη σήψη 54

**3.2.** Συστήματα βαθμολόγησης για διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη 55

**4.** ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ 59

**5.** ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΊΑ**/**ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΜΕΤΡΙΑ **(TEG/TEM)** 64

**6.** ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΜΕΤΡΙΑ ΚΑΙ ΣΗΨΗ 71

II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ 76

**1.** ΣΚΟΠΟΣ **77**

**2.** ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ **78**

**2.1.** ΑΣΘΕΝΕΙΣ **79**

**2.2.** ΜΕΘΟΔΟΙ **81**

**3.** ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ **88**

**4.** ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ **89**

**5.** ΣΥΖΗΤΗΣΗ **98**

**6.** ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ **102**

**7.** ΠΕΡΙΛΗΨΗ **103**

**8.** ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ **105**

III. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ **106**

**IV.** ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΠΟ ΤΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ **128**

# ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

a1AG = A1 acid glycoprotein

AAP = American Academy of Pediatrics

ACCP = American College of Chest Physicians

ACOG = American College of Obstetricians and Gynecologists

AGA = νεογνά με κανονικό βάρος γέννησης για την ηλικία κύησης

ALT = αμινοτρανσφεράση αλανίνης

ANG = angiopoietins

ap-TEM = αντιδραστήριο για την ανίχνευση υπερινωδόλυσης και ανάλυσης πήξης μη ευαίσθητης σε ηπαρίνη σε δείγματα αίματος με κιτρικό

APTT = ενεργός χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης - activated partial thromboplastin time

AST = ασπαρτική αμινοτρανσφεράση

BUN = ουρία ορού

CBP = complete blood picture

CFT = χρόνος σχηματισμού θρόμβου (κατά ROTEM)

$CO_2$ = διοξείδιο του άνθρακα

CR = κρεατινίνη ορού

CRP = C αντιδρώσα πρωτεΐνη (C-reactive protein)

CT= χρόνος πήξης (κατά ROTEM)

DAMPs = damage associated molecular patterns

DBIL = άμεση χολερυθρίνη

D-d, D-DIMERS = D διμερή θραύσματα

DIC = διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη-disseminated intravascular coagulation

E COLI = κολοβακτηρίδιο (escherichia coli)

EOS = πρώιμη νεογνική σηψαιμία (early onset sepsis)

ex-TEM = αντιδραστήριο για την ανίχνευση της εξωγενούς οδού πήξης και της αλληλεπίδρασης της με τα αιμοπετάλια σε αίμα με κιτρικό (αντιδραστήρια που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις ιστικού παράγοντα και φωσφολιπιδίων)

FEAST = fluid expansion as supportive therapy

FFP = φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα

GBS = στρεπτόκοκκος της ομάδας Β (group B streptococcus)

GFC = global fibrinolytic capacity

hs-CRP = highly sensitive C-reactive protein

IaIp = inter alpha inhibitor proteins

ICAM-1 = intracellular adhesion molecule 1

IL-10 = interleukin 10

IL1b = interleukin 1b

IL-4 = interleukin 4

IL-5 = interleukin 5

IL-6 = interleukin 6

IL-8 = interleukin 8

IMA = ischemia modified albumin

INR = Διεθνής δείκτης εξομάλυνσης (International Normalized Ratio)

ISTH DIC = International Society on Thrombosis and Hemostasis, Disseminated Intravascular Coagulation

ISTH SSC = International Society on Thrombosis and Hemostasis, Scientific and Standardization Committee

ISTH = Διεθνής Εταιρεία Θρόμβωσης και Αιμόστασης (International Society on Thrombosis and Hemostasis)

IUGR = νεογνό με ενδομήτρια καθυστέρηση αύξησης

IVH = ενδοκοιλιακή εγκεφαλική αιμορραγία

JAAM DIC = Japanese Association for Acute Medicine Disseminated Intravascular Coagulation

JMHW = Japan Ministry of Health and Welfare

LI 30%, LI 45%, LI 60% = δείκτης που περιγράφει την εκατοστιαία αναλογία του εναπομείναντα θρόμβου στα 30,45και 60 λεπτά μετά τον χρόνο πήξης (κατά ROTEM)

Los = όψιμη νεογνική σηψαιμία (late onset sepsis)

LPB = lipopolysaccharide protein binding

LPS = λιποπολυσακχαρίτης (lipopolysaccharide)

MCF = μέγιστη σταθερότητα θρόμβου (κατά ROTEM).

ML = η εκατοστιαία αναλογία του θρόμβου που έχει λυθεί, σε σχέση με το μέγιστο μέγεθος του θρόμβου (κατά ROTEM).

MODS = σύνδρομο ανεπάρκειας πολλαπλών οργάνων (multiple organ dysfunction syndrome)

NRBC = εμπύρηνα ερυθρά αιμοσφαίρια

PAF = παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (platelet activating factor)

PAI-1 = plasminogen activator inhibitor -1

PAMPs = pathogen associated molecular patterns

PCR = polymerase chain reaction

PCT = προκαλτσιτονίνη ορού (procalcitonin)

PEEP = τελοεκπνευστική πίεση

PETIA = particle enhanced turbidimetric immunoassay technique

PLT = αιμοπετάλια

POC = point of care medical device

PSCC = Pediatric Sepsis Consensus Conference

PT = χρόνος προθρομβίνης (prothrombin time)

PTT = χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (partial thromboplastin time)

PTX3 = pentraxin 3

ROTEM = περιστροφική θρομβοελαστομετρία (rotational thromboelastometry)

SAA = serum amyloid a

SCCM = society of critical care medicine

SCTs = σταθερές δοκιμασίες πήξης --standard coagulations tests

SGA = μικρό για την ηλικία κύησης νεογνό

SIRS = σύνδρομο φλεγμονώδους αντίδρασης (systemic inflammatory response syndrome)

SNAP-PE = score for neonatal acute physiology perinatal extension

sTREM-1 = soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1

suPAR= soluble form of the urokinase type plasminogen activator receptor

TBIL = ολική χολερυθρίνη

TEG = θρομβοελαστογραφία (Thromboelastograrhy)

TEM = θρομβοελαστομετρία (Thromboelastometry)

TNF-a = tumor necrosis factor

tPA = ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (tissue plasminogen activator)

TT = χρόνος θρομβίνης (Thrombin time)

U/S = υπερηχογράφημα

VCAM-1= vascular cell adhesion molecule 1

VET = ιξωδοελαστικές δοκιμασίες- Viscoelastic Tests

WBC = λευκά αιμοσφαίρια

WHO IMCI = World Health Organization Integrated Management of Childhood Illnesses

ΑΚΙ = οξεία νεφρική ανεπάρκεια

ΔΕΠ = διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη

ΗΚ = ηλικία κύησης

ΜΕΘ = μονάδα εντατικής θεραπείας

ΜΕΝΝ = μονάδα εντατικής νοσηλείας νεογνών

ΝΕΚ = νεκρωτική εντεροκολίτιδα

ΣΑΔ = σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας

ΣΔ = σακχαρώδης διαβήτης

ΤΕΡ = τελευταία έμμηνος ρύση

# ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

# 1. ΝΕΟΓΝΙΚΗ ΣΗΨΑΙΜΙΑ

## 1.1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Κάθε χρόνο,1,6 εκατομμύρια νεογέννητα νεογνά πεθαίνουν από σηψαιμία [1].

Παρόλη την πρόοδο που έχει σημειωθεί στην φροντίδα των νεογνών, η σηψαιμία αποτελεί τη σημαντικότερη αιτία νοσηρότητας τους και είναι μια από τις κύριες αιτίες θνησιμότητας αυτού του πληθυσμού [2]. Η συχνότητα της σηψαιμίας από παθογόνους μικροοργανισμούς υπολογίζεται σε 1 έως 5 περιπτώσεις ανά 1000 γεννήσεις ζώντων νεογνών, ενώ σύμφωνα με πιο πρόσφατη μελέτη, το ποσοστό αυτό ανέρχεται στα 8 ανά χίλιες γεννήσεις ζώντων νεογνών και σε 71 ανά χίλια περιστατικά εισαγωγής νεογνών σε μονάδα εντατικής νοσηλείας [3,4].

Τα πρόωρα νεογνά έχουν 20 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να εκδηλώσουν σηψαιμία σε σχέση με τα τελειόμηνα νεογνά σε συχνότητα που αγγίζει το 1/230 [5]. Η σηψαιμία είναι η πιο συχνή επιπλοκή που επηρεάζει πάνω από το 40% των πρόωρων νεογνών ηλικίας κύησης <28 εβδομάδων [6]. Τα πολύ χαμηλού βάρους νεογνά που νοσούν από βακτηριαιμία και λαμβάνουν θεραπεία υπολογίζεται πως αποτελούν το 50% του συνόλου των νοσηλευόμενων νεογνών σε μονάδες εντατικής νοσηλείας [7].

Η σηψαιμία ενοχοποιείται για το 30-80% του αυξανόμενου κινδύνου εμφάνισης νευρο-αναπτυξιακής βλάβης και για το 30-100% της πιθανότητας ελλειμματικής εγκεφαλικής ανάπτυξης και μακροχρόνιας νοσηρότητας [8]. Στις μονάδες εντατικής νοσηλείας νεογνών το 45% των μεταγενέστερων θανάτων οφείλεται στις λοιμώξεις [9]. Παρά την πρόοδο που έχει σημειωθεί στις θεραπευτικές μεθόδους, οι θάνατοι που οφείλονται στην σηψαιμία δεν έχουν πτωτική τάση τουλάχιστον τις 3 τελευταίες δεκαετίες [5].

Αν και η συχνότητα της σηψαιμίας στα νεογνά είναι ήδη μελετημένη, η συχνότητα του σηπτικού shock στο πληθυσμό αυτό δεν είναι ακόμη επαρκώς τεκμηριωμένη. Εκτιμάται ό,τι κυμαίνεται μεταξύ 1-5 % όλων των νεογνών που αποδεδειγμένα πάσχουν από βαριά σηψαιμία [10].

Οι Kermorvant-Duchemin E. και οι συνεργάτες του σε μελέτη τους αναφέρουν πως το σηπτικό shock αγγίζει το 1,3% στα εξαιρετικά χαμηλού βάρους γέννησης νεογνά και σχετίζεται με αυξημένη θνησιμότητα η οποία φτάνει το 71% [11].

Ο αυξανόμενος κίνδυνος νοσηρότητας και θνησιμότητας στα νεογνά που σχετίζεται με την σηψαιμία, οφείλεται κατά κύριο λόγο στη μη ανταπόκριση και απορρύθμιση του ανώριμου ανοσοποιητικού τους συστήματος με αποτέλεσμα την δυσλειτουργία της φλεγμονώδους απόκρισης στην συστηματική λοίμωξη που πολύ συχνά αναφέρεται ως «καταιγίδα κυτοκίνης» [12].

Η θνησιμότητα στα σηπτικά νεογνά ανέρχεται στο 10-16%, όπου το 50-57% πεθαίνουν τις 3 πρώτες ημέρες από την εγκατάσταση της σηψαιμίας, το 12-20% μεταξύ τέταρτης και έβδομης ημέρας και το 23-39% μετά την έβδομη ημέρα [13,14].

## **1.2.** ΟΡΙΣΜΟΙ - ΥΠΕΥΘΥΝΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ

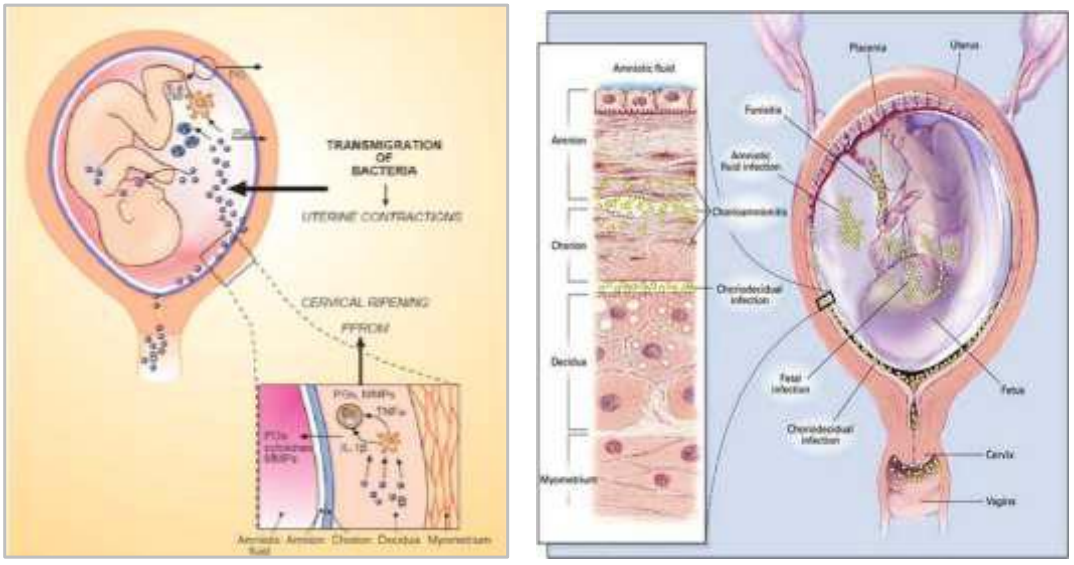
Η νεογνική σηψαιμία είναι μια συστηματική λοίμωξη που εμφανίζεται σε νεογνά τις πρώτες 28 ημέρες ζωής τους και αποτελεί μια από τις κυριότερες αιτίες νοσηρότητας και θνητότητας των νεογνών αυτών. Ανάλογα με τον χρόνο εμφάνισης της, η νεογνική σηψαιμία διακρίνεται σε πρώιμη (EOS) που εμφανίζεται από την πρώτη έως και την τρίτη ημέρα ζωής (τις πρώτες 72 ώρες) , και σε όψιμη, η οποία εμφανίζεται μεταξύ τρίτης και έβδομης ημέρας ζωής [15].

Συγκεκριμένα, στην πρώιμη νεογνική σηψαιμία η βακτηριαιμία ή η μηνιγγίτιδα βακτηριακής αιτιολογίας εμφανίζεται μέσα στις πρώτες 72 ώρες ζωής στα νεογνά που νοσηλεύονται σε μονάδα εντατικής νοσηλείας και έως και την έβδομη ημέρα ζωής στα τελειόμηνα νεογνά [16,17]. Στα πρόωρα νεογνά, η πρώιμη νεογνική σηψαιμία διαπιστώνεται ευκολότερα αφού εγκαθίσταται τις πρώτες 3 ημέρες ζωής και οφείλεται σε παθογόνους μικροοργανισμούς που μεταδίδονται απευθείας από τη μητέρα στο νεογνό κατά τη διάρκεια της κύησης ή κατά τον τοκετό [18]. Η όψιμη σηψαιμία εμφανίζεται μετά τον τοκετό, μεταξύ τρίτης και έβδομης ημέρας ζωής με κορύφωση έως και τον δεύτερο μήνα ζωής και κυρίως οφείλεται σε μικρόβια της κοινότητας ή σε ενδονοσοκομειακές λοιμώξεις. Στην όψιμη σηψαιμία μπορούν να συμπεριληφθούν και κάποιες περιπτώσεις κατά τις οποίες η μετάδοση του μικροβίου έγινε κατά τη διάρκεια του τοκετού από τη μητέρα, τα συμπτώματα όμως της νόσου εμφανίστηκαν μετά από 72 ώρες [15,19].

### 1.2.1. ΠΡΩΙΜΗ ΝΕΟΓΝΙΚΗ ΣΗΨΑΙΜΙΑ

Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που ενοχοποιούνται για την πρόκληση της πρώιμης νεογνικής σηψαιμίας συνήθως αποικίζουν τον κόλπο ή την περιουρηθρική χώρα, δηλαδή το ουροποιογεννητικό σύστημα της μητέρας και από εκεί μεταφέρονται οδηγώντας στην μόλυνση του αμνιακού υγρού, του πλακούντα, του τραχήλου και του κόλπου. Η ανιούσα μικροβιακή λοίμωξη από τον κόλπο στην αμνιακή κοιλότητα φαίνεται να αποτελεί τον κυριότερο μηχανισμό πρόκλησης της ενδοαμνιακής μόλυνσης [20]. Έτσι, το έμβρυο μπορεί να μολυνθεί από τον παθογόνο μικροοργανισμό, είτε μέσα στη μήτρα, είτε κατά τη διάρκεια του τοκετού (εικόνα 1).

Εικόνα **1.** Χοριοαμνιονίτιδα και ανιούσα λοίμωξη**.** [21,22]**.**




Παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη πρόωρης νεογνικής σηψαιμίας μπορεί να προέρχονται από τη μητέρα ή το νεογνό. Παράγοντες κινδύνου της μητέρας είναι για παράδειγμα η διατροφική πρόσληψη μολυσμένων τροφίμων με μικρόβια που εγκαθίστανται στη μητέρα πριν από την εγκυμοσύνη και τον τοκετό, όπως είναι η μόλυνση από λιστέρια που προέρχεται από κατανάλωση μη κατεψυγμένων κρεάτων, όπως τα αλλαντικά [16].
Κάποιες επεμβατικές εξετάσεις που διενεργούνται κατά τη διάρκεια της κύησης, όπως είναι η λήψη χοριακών λαχνών και η αμνιοκέντηση κατά την οποία διαρρηγνύεται η αμνιακή κοιλότητα, μπορεί να αυξήσουν τις πιθανότητες της ενδοαμνιακής λοίμωξης και κατά συνέπεια της μεταγενέστερης εμφάνισης σηψαιμίας του νεογνού [3] [23] Περιγεννητικοί

παράγοντες κινδύνου της μητέρας είναι η πρόωρη ρήξη θυλακίου, ο πυρετός, ο αποικισμός του κόλπου από στρεπτόκοκκο της ομάδας Β (GBS) και η GBS βακτηριουρία [24–26]. Η λήψη ιστορικού που περιλαμβάνει προηγούμενο περιστατικό νεογνού με σηψαιμία από ομάδας Β στρεπτόκοκκο, πρέπει να ληφθεί σοβαρά υπόψη ως παράγοντας κινδύνου της μητέρας για μεταγενέστερες εγκυμοσύνες [27,28]. Επιπλέον, η επάρκεια της ανοσολογικής απόκρισης της μητέρας ενοχοποιείται για την εμφάνιση σηψαιμίας στα νεογνά [16].

Η χοριοαμνίτιδα, η οποία καθορίζεται από διάφορα σημεία όπως ο πυρετός της μητέρας, η παρουσία λευκοκυττάρωσης (15.000/μL), η ταχυκαρδία της μητέρας [29], δύσοσμα αμνιακά υγρά, η ταχυκαρδία του νεογνού κατά την γέννηση, αποτελεί το κύριο και σοβαρότερο σημείο νεογνικής σηψαιμίας. Παράγοντες κινδύνου της μητέρας που σχετίζονται με την εκδήλωση χοριοαμνίτιδας είναι ο εργώδης τοκετός με ρήξη των εμβρυικών μεμβρανών, διάφορες κολπικές απεικονιστικές εξετάσεις, αιφνίδια έναρξη του τοκετού, και κεχρωσμένο αμνιακό υγρό [30,31].

Η συχνότητα εμφάνισης πρόωρης νεογνικής σηψαιμίας ανέρχεται στο 1% όταν η ρήξη των εμβρυικών μεμβρανών ξεπερνά τις 18 ώρες πριν από τον τοκετό, και αγγίζει το 1-4 % σε νεογνά που η μητέρα τους εμφάνισε χοριοαμνίτιδα [32,33]. Η πρώιμη νεογνική σηψαιμία είναι πιο συχνή σε νεογνά που γεννήθηκαν με φυσιολογικό τοκετό [16].

Στους νεογνικούς παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση της πρόωρης νεογνικής σηψαιμίας περιλαμβάνονται η προωρότητα, το χαμηλό βάρος γέννησης, συγγενείς ανωμαλίες, ο εργώδης τοκετός και το χαμηλό APGAR score. Η ανωριμότητα του ανοσοποιητικού συστήματος στα πρόωρα νεογνά σε συνάρτηση με τα χαμηλά επίπεδα ανοσοσφαιρίνης που σχετίζονται με την μειωμένη μεταφορά μέσω πλακούντα του μητρικού αντισώματος IgG, αυξάνει επίσης τον κίνδυνο για την εμφάνιση σηψαιμίας στα νεογνά [34]. Η λειτουργία του φραγμού του δέρματος είναι μειωμένη στα πρόωρα νεογνά και επιπλέον η ικανότητα αυτή επιβαρύνεται στα ασθενή πρόωρα νεογνά με την εφαρμογή πολλαπλών επεμβατικών διαδικασιών όπως είναι η εξασφάλιση ενδοφλέβιας οδού χορήγησης υγρών και η διασωλήνωση [14,35]. Η περιγεννητική ασφυξία και το άρρεν φύλο αποτελούν επίσης παράγοντες κινδύνου [36].

Η φτωχή ή η ελλιπής προγεννητική φροντίδα, το χαμηλό κοινωνικοοικονομικό επίπεδο της μητέρας, η μη ισορροπημένη διατροφή της, η κατάχρηση ουσιών, η εναλλαγή συντρόφων και η φυλή (οι αφροαμερικάνες μητέρες έχουν μεγαλύτερα ποσοστά αποικισμού από

ομάδας Β στρεπτόκοκκο), αποτελούν επιπλέον εθνικούς και κοινωνικούς παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με την εμφάνιση της νεογνικής σηψαιμίας [14,35].

*Παθογόνοι μικροοργανισμοί της πρώιμης νεογνικής σηψαιμίας*

Στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής οι κυριότεροι παθογόνοι μικροοργανισμοί που ενοχοποιούνται για την εμφάνιση της πρώιμης σηψαιμίας είναι ο στρεπτόκοκκος της ομάδας Β, με ακόλουθο το κολοβακτηρίδιο E coli, ενώ στην Ελλάδα τα Gram αρνητικά μικρόβια, όπως το κολοβακτηρίδιο και η κλεμπσιέλλα, φαίνεται να κατέχουν την πρώτη θέση, με τον στρεπτόκοκκο της ομάδας Β να παρουσιάζει αυξητική τάση στην συχνότητα απομόνωσης του [37].

Α. Στρεπτόκοκκος της ομάδας Β. Στην Αμερική η συχνότητα της εμφάνισης της πρόωρης σηψαιμίας συνολικά από το 2005 έως το 2008 κυμαίνονταν μεταξύ 0.76 με 0.77 περιπτώσεις ανά 1000 γεννήσεις ζώντων νεογνών [38]. Πρόσφατες μελέτες επιτήρησης πληθυσμού που έγιναν στην Αμερική αποκάλυψαν πως ο στρεπτόκοκκος της ομάδας Β αποτελεί τον βασικό αιτιολογικό παράγοντα της εμφάνισης της πρόωρης σηψαιμίας σε ποσοστό 38% με 43% από όλα τα περιστατικά βακτηριακής σηψαιμίας, με την συχνότητα εμφάνισης πρόωρης σηψαιμίας από στρεπτόκοκκο της ομάδας Β στα νεογνά να ανέρχεται στο 0.29 με 0.41 ανά χίλιες γεννήσεις ζώντων νεογνών. Η πλειοψηφία από τα περιστατικά εμφάνισης πρόωρης σηψαιμίας από στρεπτόκοκκο της ομάδας Β, δηλαδή το 73%, αφορούσε στα τελειόμηνα νεογνά [11,14,38,39].

Β. Το κολοβακτηρίδιο, Escherichia coli. Το E.coli αποτελεί τη δεύτερη αιτία εμφάνισης πρόωρης σηψαιμίας στα νεογνά σε ποσοστό που αγγίζει το 24 % από όλα τα περιστατικά πρόωρης σηψαιμίας, με το 81% των περιπτώσεων να αναφέρεται στα πρόωρα νεογνά και το 33.4% στα εξαιρετικά χαμηλού βάρους γέννησης νεογνά σύμφωνα με τα αποτελέσματα μιας μεγάλης πολυκεντρικής μελέτης [18,40]. Η συχνότητα της σηψαιμίας που οφείλεται σε Gram αρνητικούς μικροοργανισμούς μπορεί να είναι αυξημένη εξαιτίας της συχνής αντιβιοτικής προφύλαξης της μητέρας για τον στρεπτόκοκκο. Τα κολοβακτηρίδια συμπεριλαμβανομένου και του E. coli, συχνά αποικιζουν τον κόλπο της μητέρας και μεταδίδονται στα νεογνά αμέσως πριν ή κατά τη διάρκεια του τοκετού. Η πρώιμη νεογνική σηψαιμία μπορεί να εκδηλωθεί και ως σηπτική καταπληξία με κλινικά συμπτώματα ενδοτοξαιμίας [16].

Γ. Η λιστέρια αποτελεί ένα ενδοκυττάριο παθογόνο μικροοργανισμό που στοχεύει κυρίως στα μονοκύτταρα-μακροφάγα. Η λοίμωξη από λιστέρια αποτελεί το 5% του συνόλου της

πρώιμης σηψαιμίας στα πρόωρα νεογνά. Παρόλα αυτά, συνολικά η συχνότητα εμφάνισης της είναι χαμηλή, 2% με 13% ανά 100.000 γεννήσεις ζώντων νεογνών στην Αμερική και στην Ευρώπη[41,42].

Δ. Τα Gram μικρόβια εξαιρουμένου του E.Coli, δεν αποτελούν βασικές αιτίες για την εμφάνιση της πρώιμης σηψαιμίας, αλλά παραμένουν υψηλά στην κατάταξη των παθογόνων μικροοργανισμών που είναι υπαίτιοι για την εμφάνιση όψιμης σηψαιμίας. Παρουσιάζουν δε αυξανόμενο ενδιαφέρον που σχετίζεται με την ανησυχητική αύξηση της αντιμικροβιακής αντοχής. Ανάμεσα στα εντεροβακτηρίδια, το εντεροβακτηρίδιο (Enterobacter spp), η κλεμπσιέλλα (Klebsiella spp), και η σερράτια (Serratia spp), αποτελούν τις σημαντικότερες αιτίες σηψαιμίας, καθώς φέρουν πολυσακχαριδικό έλυτρο που συμβάλλει στην τοξικότητα τους με το να αποτρέπουν την οψωνινοποίηση, την φαγοκυττάρωση και την βακτηριακή λύση. Το κιτροβακτηρίδιο (Citrobacter spp.) και το Cronobacter sakasakii αποτελούν το 5 % των περιπτώσεων της βακτηριακής σηψαιμίας στα πολύ χαμηλού βάρους γέννησης νεογνά, αλλά θεωρούνται εξαιρετικά σημαντικά εξαιτίας της συσχέτισης τους με την μηνιγγίτιδα, με αποστήματα εγκεφάλου και με μεταγενέστερα σημαντικά νευρολογικά επακόλουθα [8].

Ε. Μυκητιασικές λοιμώξεις. Η πρώιμη μυκητιασική σηψαιμία αποτελεί μια σπάνια αιτία νεογνικής σηψαιμίας και οι παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνουν τον αποικισμό της μητέρας με μύκητες και την κάθετη μετάδοση τους από την κολπική οδό κατά τη διάρκεια του τοκετού. Στις μονάδες εντατικής νοσηλείας νεογνών οι μυκητιασικές λοιμώξεις συνήθως σχετίζονται με την όψιμη σηψαιμία με συχνότητα αντιστρόφως ανάλογη της εκτιμώμενης ηλικίας κύησης και του βάρους γέννησης. Η συχνότητα της πρόωρης σηψαιμίας από κάποιο είδος μύκητα σε μονάδα εντατικής νοσηλείας νεογνών αναφέρεται πως αγγίζει το 1,4% [7].

### 1.2.2. ΟΨΙΜΗ ΝΕΟΓΝΙΚΗ ΣΗΨΑΙΜΙΑ

Η συχνότητα της όψιμης νεογνικής σηψαιμίας (LOS) σχετίζεται αντιστρόφως ανάλογα με τον βαθμό ωριμότητας του νεογνού και ποικίλλει γεωγραφικά από 0.61% έως 14.2% ανάμεσα στα νοσηλευόμενα νεογέννητα [43]. Η εμφάνιση της όψιμης νεογνικής σηψαιμίας συμβαίνει συνήθως 72 ώρες μετά την γέννηση, χρονικό σημείο που αποτελεί ορόσημο για τη διαφοροποίηση της όψιμης νεογνικής σηψαιμίας από την πρώιμη, υπό όρους σε σχέση με τις αιτίες παθογένειας [44–46]. Η συχνότητα της όψιμης σηψαιμίας σχετίζεται επίσης με το βάρος σώματος. Πρόωρα νεογνά με βάρος σώματος <1000 γραμμάρια αποτελούν παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση όψιμης νεογνικής σηψαιμίας. Παρομοίως, το 36.3%

των νεογνών με ηλικία κύησης <28 εβδομάδων παρουσίασαν τουλάχιστον ένα επεισόδιο όψιμης νεογνικής σηψαιμίας συγκρινόμενα με το 29,6%, 17,5% και 16,5% από τα μετρίως πρόωρα (ηλικία κύησης 29-32 εβδομάδες), οριακά πρόωρα (ηλικία κύησης 33-36 εβδομάδες) και τα τελειόμηνα νεογνά, αντίστοιχα [47]. Εκτός από την ανωριμότητα άλλοι επιβεβαιωμένοι παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση της όψιμης νεογνικής σηψαιμίας περιλαμβάνουν το γένος, το φύλο, τις μακροχρόνιες επεμβατικές παρεμβάσεις, όπως είναι ο μηχανικός αερισμός, ο καθετηριασμός των αγγείων, η αποτυχία της γρήγορης εντερικής σίτισης με μητρικό γάλα, η μακρόχρονη παραμονή του νεογνού σε μονάδα εντατικής νοσηλείας, η διαταραχή της ακεραιότητας του δέρματος , η υπογαμμασφαιριναιμία, οι χειρουργικές επεμβάσεις και οι υποκείμενες αναπνευστικές και καρδιαγγειακές νόσοι [8,13,44,47–49]. Θα πρέπει να σημειωθεί πως γενετικοί παράγοντες όπως είναι πολυμορφισμοί στα γονίδια που σχετίζονται με την ανοσία μπορεί να συσχετίζονται με την νεογνική ευαισθησία ως προς την εμφάνιση της όψιμης νεογνικής σηψαιμίας [44].

Στην όψιμη νεογνική σηψαιμία σημαντικότεροι αιτιολογικοί παράγοντες θεωρούνται οι Gram θετικοί μικροοργανισμοί. Οι κοαγκουλάση αρνητικοί σταφυλόκοκκοι (coagulase-negative staphylococci cons), ανήκουν σε αυτή τη κατηγορία και αποτελούν τους κυρίαρχους υπαίτιους για την εκδήλωση LOS παθογόνους μικροοργανισμούς , με ποσοστό που αγγίζει το 53.2%-77.9% της εμφάνισης της σε βιομηχανικές περιοχές και 35.5% με 47.4% σε κάποιες ανεπτυγμένες περιοχές [44–46,49]. Η πλειονότητα των σταφυλόκοκκων εμφανίζει ανθεκτικότητα στα συνήθη αντιβιοτικά γι’ αυτό και για την καταπολέμηση τους φάρμακο επιλογής είναι η βανκομυκίνη [7,50,51]. Οι κυριότεροι gram αρνητικοί μικροοργανισμοί που είναι υπεύθυνοι για την εκδήλωση της LOS είναι το E.coli, η κλεμπσιέλλα, το εντεροβακτηρίδιο και η ψευδομονάδα [46,49]. Αναφέρεται πως ευθύνονται για το 20% περίπου των νεογνικών λοιμώξεων και είναι συχνότεροι στα εξαιρετικά χαμηλού βάρους γέννησης νεογνά, (ΒΓ<750 gr) [52].

Οι μύκητες επίσης, κυρίως η Candida spp, αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση της LOS σε πολύ χαμηλού βάρους γέννησης νεογνά, ιδιαίτερα σε κάποιες περιοχές [46,49]. Το μοτίβο κατανομής των αιτιολογικών παθογόνων μικροοργανισμών ποικίλλει στις διάφορες περιοχές και μπορεί να είναι διαφορετικό το επόμενο διάστημα ακόμη και στο ίδιο νοσοκομείο εξαιτίας των δημογραφικών χαρακτηριστικών των ασθενών, των συνθηκών του νοσοκομειακού περιβάλλοντος και της πολιτικής που εφαρμόζεται ως προς την χρήση των αντιβιοτικών [46].

Αξίζει να σημειωθεί πως η χρήση αντιβιοτικών ευρέος φάσματος τις προηγούμενες δεκαετίες, οδήγησε στην αύξηση της συχνότητας εμφάνισης πολυανθεκτικών GRAM – παθογόνων μικροοργανισμών, οι οποίοι ευθύνονται για το 20% των περιπτώσεων εμφάνισης βακτηριαιμίας, και σχετίζονται με ένα ποσοστό γύρω στο 20% της νεογνικής θνησιμότητας συγκριτικά με τα στελέχη των μικροβίων που δεν αναπτύσσουν πολυανθεκτικότητα [53].

Τέλος, θα πρέπει να σημειωθεί πως η όψιμη νεογνική σηψαιμία που εμφανίζεται σε νεογνά τα οποία δεν νοσηλεύονται σε μονάδα εντατικής νοσηλείας νεογνών οφείλεται κυρίως στο GBS, τη λιστέρια και το κολοβακτηρίδιο.

# 2. ΣΗΨΗ - ΣΗΠΤΙΚΗ ΚΑΤΑΠΛΗΞΙΑ **(SEPTIC SHOCK) –** ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΟΥΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ **(SIRS).**

## 2.1. ΟΡΙΣΜΟΙ

Η περιγραφή των διαφόρων νόσων ή συνδρόμων με κοινά αποδεκτούς και τεκμηριωμένους ορισμούς θεωρείται απαραίτητη για την καταγραφή, μελέτη και καθορισμό των θεραπευτικών μεθόδων. Σε αυτό το πλαίσιο, το American College of Chest Physicians και η Society of Critical Care Medicine (ACCP/ SCCM) πρότειναν το 1991 ορισμούς που αφορούν στη σήψη και τα συνοδά της σύνδρομα (Σύνδρομο Συστηματικής Φλεγμονώδους Αντίδρασης [SIRS], σοβαρή σήψη και καταπληξία), οι οποίοι παραμένουν μέχρι σήμερα καθολικά αποδεκτοί από την παγκόσμια ιατρική κοινότητα [54–57].

*Το σύνδρομο της συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης (Systemic Inflammatory Response Syndrome or SIRS),* περιγράφεται ως η συνδυασμένη απάντηση των μηχανισμών άμυνας του ανθρώπινου οργανισμού σε διάφορους παράγοντες που δρουν τοπικά η συστηματικά χωρίς να είναι απαραίτητα λοιμώδους αιτιολογίας (τραύμα, άσηπτη φλεγμονή, θερμική κάκωση κ.τ.λ.) [31,56–58].

*Το SIRS* περιλαμβάνει συνήθως τουλάχιστον 2 από τα κάτωθι χαρακτηριστικά:

- Υποθερμία (θερμοκρασία κάτω από 36$^{o}$C), η υπερθερμία (θερμοκρασία > 38$^{o}$C)
- Λευκοκυττάρωση ή λευκοπενία (λευκά αιμοσφαίρια >15000/mm$^{3}$ ή <4000/ mm$^{3}$ ή λόγος άωρων μορφών πολυμορφοπύρηνων/συνολικό αριθμό πολυμορφοπύρηνων ≥0,2, ή CRP >10 mg/L)
- ταχυκαρδία που ορίζεται ως η καρδιακή συχνότητα 2 SD πάνω από τη μέση για την ηλικία καρδιακή συχνότητα (επί απουσίας εξωτερικών ερεθισμάτων, χρήσης φαρμάκων ή επώδυνων ερεθισμάτων), ή βραδυκαρδία που ορίζεται ως η καρδιακή συχνότητα με ρυθμό <10 % από το μέσο για την ηλικία καρδιακό ρυθμό (επί απουσίας εξωτερικών ερεθισμάτων του πνευμονογαστρικού, χρήσης β-αποκλειστών ή συγγενούς καρδιοπάθειας) ή -διαφορετικά η ανεξήγητη επίμονη βραδυκαρδία χρονικής διάρκειας μισής με 1 ώρας
- αυξημένη αναπνευστική συχνότητα: Η μέση αναπνευστική συχνότητα 2 SD πάνω από την προβλεπόμενη μέση για την ηλικία αναπνευστική συχνότητα ή η αναγκαιότητα για οξεία εφαρμογή μηχανικού αερισμού, τα οποία αμφότερα δε σχετίζονται με υποκείμενη νευρομυϊκή ασθένεια ή χορήγηση αναισθησίας

*Σήψη*: Η συστηματική φλεγμονώδης αντίδραση σε λοίμωξη. Οι εκδηλώσεις της σήψης είναι ίδιες με αυτές που προσδιοριστήκαν ως SIRS, επιπλέον όμως συνυπάρχει και επιβεβαιωμένη λοίμωξη με βάση είτε μικροβιακές καλλιέργειες είτε ισχυρή κλινική ένδειξη.

*Σοβαρή σήψη*: Η σήψη η οποία συνοδεύεται από δυσλειτουργία τουλάχιστον ενός οργάνου.

*Σηπτική καταπληξία (shock)*: Ορίστηκε η σοβαρή σήψη σε συνδυασμό με δυσλειτουργία του καρδιαγγειακού συστήματος. Πιο συγκεκριμένα, η σηπτική καταπληξία αφορά στην συνύπαρξη σήψης, υπότασης ανθεκτικής στη χορήγηση υγρών, γαλακτικής οξέωσης, ολιγουρίας και διαταραχών επιπέδου συνείδησης.

*Σύνδρομο ανεπάρκειας πολλαπλών οργάνων (Multiple Organ Dysfunction Syndrome, MODS* [59–61]*:* Η παρουσία επηρεασμένης λειτουργίας πολλαπλών οργάνων σε οξέος πάσχοντες αρρώστους, για τη διατήρηση της ομοιόστασης των οποίων απαιτείται εξωγενής παρέμβαση:

1. Δυσλειτουργία καρδιαγγειακού συστήματος :
   - Υπόταση (συστολική πίεση κάτω από την 5η εκατοστιαία θέση ή 2 SD κάτω από τη μέση προβλεπόμενη για την ηλικία κύησης ή μέση αρτηριακή πίεση-ΜΑΠ< 30 mmHg) που εμμένει παρά την προσπάθεια αναπλήρωσης του ενδοαγγειακού όγκου με ενδοφλέβια χορήγηση κρυσταλλοειδών ή κολλοειδών διαλυμάτων σε δόση 10-60 mL/kg (10 mL/kg σε νεογνά με ηλικία κύησης < 32 εβδομάδες) επί μία ώρα

   - Ανάγκη χρήσης αγγειοσυσπαστικών φαρμάκων (ινότροπα: ντοπαμίνη – ντομπουταμίνη - νορεπινεφρίνη) για τη διατήρηση της αρτηριακή πίεσης εντός φυσιολογικών ορίων

2. Παρουσία δυο από τα ακόλουθα ευρήματα:
   - Ανεξήγητη μεταβολική οξέωση: έλλειμμα βάσης>7,0 mEq / L
   - Αυξημένη συγκέντρωση γαλακτικού οξέος στο αρτηριακό αίμα δυο φορές πάνω από το ανώτερο φυσιολογικό όριο
   - Ολιγουρία: παραγωγή ούρων <0,5 mL /kg /h

- Παρατεταμένος χρόνος επαναπλήρωσης τριχοειδών (>4 sec στα τελειόμηνα και >5 sec στα πρόωρα)
- Διαφορά κεντρικής και περιφερικής θερμοκρασίας σώματος πάνω από $3^{o}C$

3. Δυσλειτουργία αναπνευστικού συστήματος :
   - $PaO_2/FiO_2<300$ (επί απουσίας κυανωτικής καρδιοπάθειας ή προϋπάρχουσας πνευμονοπάθειας)
   - $PaCO_2 > 55mmHg$ ή 20 mmHg πάνω από την αρχική τιμή $PaCO_2$ στα αέρια αίματος
   - Αποδεδειγμένη ανάγκη χορήγησης > 50% $FiO_2$ για να διατηρείται ο κορεσμός > 92%
   - Ανάγκη για μη εκλεκτική ή μη επεμβατική μηχανική υποστήριξη της αναπνοής

4. Δυσλειτουργία κεντρικού νευρικού συστήματος: οξεία μεταβολή της νοητικής κατάστασης- αλλαγή επιπέδου συνείδησης (σύγχυση, λήθαργος, διέγερση, υπνηλία, σπασμοί).

5. Δυσλειτουργία αιμοποιητικού συστήματος:
   - Αριθμός αιμοπεταλίων < $80.000/mm^3$ ή μείωση κατά 50% του αριθμού των αιμοπεταλίων από την υψηλότερη τιμή που έχει καταγραφεί κατά τη διάρκεια των τελευταίων 3 ημερών παρακολούθησης
   - Παράταση χρόνου προθρομβίνης (PT), χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (partial thromboplastin time-PTT), δείκτη ISI 1.0: INR = (PT ασθενούς/PT μάρτυρα) δυο φόρες πάνω από τις φυσιολογικές για την ηλικία τιμές .

6. Νεφρική δυσλειτουργία
   - Κρεατινίνη ορού δυο φορές πάνω από το ανώτερο φυσιολογικό για την ηλικία όριο ή αύξηση της κρεατινίνης ορού δυο φορές πάνω από την τιμή που έχει καταγραφεί κατά τη διάρκεια των τελευταίων τριών ημερών παρακολούθησης.

7. Ηπατική δυσλειτουργία:

- Υπερχολερυθριναιμία - Παθολογική αύξηση τιμών ολικής και άμεσης χολερυθρίνης ορού
- Αύξηση τρανσαμινασών (κυρίως ALT) δυο φορές πάνω από το ανώτερο για την ηλικία φυσιολογικό όριο ή αύξηση κατά 50% πάνω από της βασικές τιμές του ασθενούς

Στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 1), αναφέρονται τα κριτήρια που έχουν οριστεί για την αναγνώριση της σηψαιμίας και της σηπτικής καταπληξίας στα παιδιά.

ΠΙΝΑΚΑΣ **1 /** Κριτήρια για την αναγνώριση της σηψαιμίας και της σηπτικής καταπληξίας στα παιδιά **[62] .**

**Pediatric Sepsis Consensus Conference definitions** Το **2005** το **Pediatric Sepsis Consensus Conference, PSCC,** καθόρισε ορισμούς και κριτήρια για το **SIRS,** τη σήψη, την σοβαρή σήψη και την σηπτική καταπληξία. Σύμφωνα με αυτό, η σήψη ορίζεται ως το σύνδρομο της συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης που σχετίζεται ή είναι το αποτέλεσμα της ύποπτης ή αποδεδειγμένης λοίμωξης. Το **SIRS** περιλαμβάνει: **(i)** την θερμορυθμιστική αστάθεια **(**που ορίζεται ως η θερμοκρασία σώματος **>38,5** η **<36◦C ), (ii)** την ταχυκαρδία **(**που ορίζεται ως η καρδιακή συχνότητα**> 2 SD** από τη μέση για την ηλικία καρδιακή συχνότητα επί απουσίας εξωτερικών ερεθισμάτων, χρήσης φαρμάκων η επώδυνων ερεθισμάτων, **(iii)** την βραδυκαρδία **(** που ορίζεται ως η καρδιακή συχνότητα με ρυθμό **<10%** από το μέσο για την ηλικία καρδιακό ρυθμό επί απουσίας των εξωτερικών ερεθισμάτων του πνευμονογαστρικού, της χρήσης β- αποκλειστών υποδοχέων ή συγγενούς καρδιοπάθειας, **(iv)** αυξημένη αναπνευστική συχνότητα **(**που ορίζεται ως μέση αναπνευστική συχνότητα **2 SD** πάνω από την προβλεπόμενη μέση για την ηλικία, αναπνευστική συχνότητα, ή, η αναγκαιότητα για οξεία εφαρμογή μηχανικού αερισμού, τα οποία αμφότερα δε σχετίζονται με υποκείμενη νευρομυϊκή ασθένεια ή χορήγηση γενικής αναισθησίας**), (v)** λευκά αιμοσφαίρια αυξημένα ή μειωμένα με βάση την ηλικία **( > 15000/mm³** ή **< 4000/mm³ )** ή **>10%** άωρα ουδετερόφιλα χωρίς να έχει προηγηθεί χημειοθεραπεία και κατ' επέκταση λευκοπενία. Η σηπτική καταπληξία ορίζεται ως η συνύπαρξη σήψης και ταυτόχρονης καρδιαγγειακής δυσλειτουργίας **[57].**

**World Health Organization definitions** Το **World Health Organization-Integrated Management of Childhood Illnesses, WHO-IMCI,** καθορίζει την σηψαιμία με βάση τον αποκλεισμό της διάγνωσης. Η σήψη χαρακτηρίζεται από πολύ υψηλό πυρετό **>39◦C,** και την εμφάνιση πολύ σοβαρής ασθένειας χωρίς να υπάρχει σαφής αιτιολογικός παράγοντας. **[63]** Η σηπτική καταπληξία σύμφωνα με το **WHO-IMCI,** περιλαμβάνει ως χαρακτηριστικά: **(i)** τα κρύα άκρα με φτωχή περιφερική κυκλοφορία, **(ii)** αυξημένο χρόνο επαναπλήρωσης των τριχοειδών **(>3 sec), (iii)** γρήγορη και αδύναμη ένταση παλμού, **(iv)** υπόταση, **(v)** μειωμένο επίπεδο συνείδησης **(**λήθαργος**) [55][63].**

| ΠΙΝΑΚΑΣ **1 /** Κριτήρια για την αναγνώριση της σηψαιμίας και της σηπτικής καταπληξίας στα παιδιά [62]**.** |
|---|
| **American College of Critical Care Medicine clinical practice parameters for hemodynamic support of pediatric and neonatal septic shock (2017 update)** To American College of Critical Care Medicine αναφέρει πως η σηψαιμία ορίζεται με την παρουσία υποθερμίας η υπερθερμίας συν την εμφάνιση κάποιων κλινικών σημείων μη επαρκούς ιστικής επαναιμάτωσης συμπεριλαμβανομένων κάποιων από τα ακόλουθα σημεία: (i) μειωμένο επίπεδο συνείδησης, (ii) χρόνο επαναπλήρωσης των τριχοειδών >2sec, (iii) ασθενείς παλμοί, (iv) παγωμένα άκρα, (v) παραγωγή ούρων <1 mL/kg/h. Αν και η υπόταση δεν θεωρείται απαραίτητος αιτιολογικός παράγοντας για την κλινική διάγνωση της σηπτικής καταπληξίας, η παρουσία της ωστόσο σε κάποιο παιδί που παρουσιάζει εικόνα υποψίας λοίμωξης, θεωρείται, ισχυρός επιβεβαιωτικός παράγοντας [64]. |
| **Fluid Expansion as Supportive Therapy definitions** To Fluid Expansion As Supportive Therapy, FEAST, σε ότι αφορά στη σηψαιμία και τα συνοδά της σύνδρομα παρουσιάζει τα ακόλουθα απαιτούμενα κριτήρια:<br>**i.** Θερμοκρασία ( θερμοκρασία σώματος από τη μασχάλη> 37.5 ή < 36◦C)<br>**ii.** Μειωμένο επίπεδο συνείδησης (κατάπτωση ή κώμα) και αναπνευστική δυσχέρεια ( εργώδης αναπνοή )<br>**iii.** Διαταραχές στην κυκλοφορία (επιβεβαιώνεται από την παρουσία ενός η περισσοτέρων από τα ακόλουθα κριτήρια: χρόνος τριχοειδικής επαναπλήρωσης πάνω από 3 sec, χαμηλή θερμοκρασία άκρων, αδύναμο ακτινωτό όγκο παλμού, ή, σοβαρή ταχυκαρδία, >180 παλμούς το λεπτό σε παιδιά κάτω του έτους, > 160 παλμούς το λεπτό σε παιδιά 1-5 ετών, ή >140 παλμούς το λεπτό σε παιδιά μεγαλύτερα από 5 ετών) [65] |

Αν και το International Consensus Conference on Pediatric Sepsis έχει ορίσει κριτήρια πού αφορούν και τα νεογνά, τα πολύ πρόωρα νεογνά εξαιρούνται από αυτή τη κατηγοριοποίηση καθώς, λόγω της ανωριμότητας τους, είναι πολύ δύσκολο να διαγνωστεί και να τεκμηριωθεί

αν πρόκειται για συμπτωματολογία της σήψης και των συνοδών της συνδρόμων, η, αν σχετίζονται με φυσιολογικά σημεία ανωριμότητας κατά την περίοδο προσαρμογής τους μετά τη γέννηση.

Υπάρχουν τα επιβεβαιωμένα κλινικά σημεία της νεογνικής σήψης η οποία είναι αποτέλεσμα βακτηριαιμίας, όπως είναι η διαταραχή της θερμορυθμιστικής ικανότητας, η εμφάνιση σοβαρής αναπνευστικής δυσχέρειας, η άπνοια, η κυάνωση, υπόταση, βραδυκαρδία η ταχυκαρδία, οξέωση, διάταση της κοιλιάς, υποτονία, λήθαργος, ευερεθιστότητα ,σπασμοί , προεξέχουσα πρόσθια πηγή , ωχρότητα, λύση του δέρματος και ίκτερος. Εκτός όμως από αυτά, υπάρχουν κάποια κλινικά σημεία στα πρόωρα νεογνά, όπως είναι η αυτόματη ανατασσόμενη βραδυκαρδία η άπνοια, η υπεργλυκαιμία, η ελλιπής σιτιστική ανοχή, η ήπια ταχύπνοια η ταχυκαρδία, που είναι ιδιαίτερης προγνωστικής αξίας καθώς αποτελούν ενδεικτικά κλινικά σημεία για υποψία λοίμωξης ,δίνοντας πληροφόρηση πολύ νωρίτερα από τα αποτελέσματα των εργαστηριακών εξετάσεων [66–69].

## 2.2. ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ

Τα συμπτώματα της νεογνικής λοίμωξης μπορεί αρχικά να απουσιάζουν, να είναι ήπια ή μη ειδικά και συχνά αποδίδονται λανθασμένα σε άλλες μη λοιμώδεις καταστάσεις. Η πρώιμη διάγνωση και αντιμετώπισή τους καθορίζει την έκβαση της πορείας των πασχόντων νεογνών. Η αδυναμία να αποκλειστεί επαρκώς η διάγνωση της νεογνικής σηψαιμίας, μπορεί να οδηγήσει σε άσκοπη και παρατεταμένη χορήγηση αντιβιοτικών. Η θετική καλλιέργεια αίματος αποτελεί το “gold standard” για τη διάγνωση της λοίμωξης αλλά η χαμηλή της ευαισθησία και ο χρόνος που απαιτείται για την ανάπτυξη του οργανισμού (48-72 ώρες), αποτελούν τα κύρια μειονεκτήματα της [57,70,71]. Για αυτό το λόγο, άρχισαν να χρησιμοποιούνται βιοδείκτες που βοηθούν στην έγκαιρη διάγνωση της λοίμωξης πριν από την εμφάνιση των κλινικών συμπτωμάτων, οι οποίοι συμβάλλουν στην άμεση έναρξη της θεραπείας και κατ’ επέκταση στην καλύτερη έκβαση της σηψαιμίας του νεογνού.

Ο βιοδείκτης είναι ένας όρος που χρησιμοποιείται συχνά στην ιατρική και αναφέρεται σε μετρήσιμες ουσίες ενός βιολογικού συστήματος και αποτελούν δείκτη φυσιολογικής ή παθολογικής κατάστασης ή ανταπόκρισης σε θεραπεία. Στους πίνακες 2 και 3 αναφέρονται τα εργαστηριακά και κλινικά χαρακτηριστικά ενός ιδανικού βιοδείκτη.

ΠΙΝΑΚΑΣ **2 /** Εργαστηριακά χαρακτηριστικά ενός ιδανικού βιοδείκτη [72,73]**.**

- ✓ Η σταθερότητα του σε βιολογικά υγρά κατά τη μεταφορά και τη φύλαξη τους
- ✓ Η δυνατότητα της ποσοτικής μέτρησης των τιμών
- ✓ Η αξιοπιστία και ακρίβεια του
- ✓ Μικρός χρόνος αναμονής από τη λήψη του δείγματος μέχρι την ανακοίνωση των αποτελεσμάτων (<6 h, turn-around time)
- ✓ Ο προσδιορισμός σε μικρή ποσότητα δείγματος. (π.χ. < 0,5 ml αίματος)
- ✓ Η διαθεσιμότητα στην καθημερινή κλινική πράξη
- ✓ Η δυνατότητα αυτοματοποιημένης και εύκολης μεθόδου μέτρησης
- ✓ Το χαμηλό κόστος [73]

| ΠΙΝΑΚΑΣ **3 /** Κλινικά χαρακτηριστικά ενός ιδανικού βιοδείκτη για την διάγνωση της νεογνικής σηψαιμίας [72,73]**.** |
|---|
| ✓ Ευαισθησία και αρνητική προγνωστική αξία (σχεδόν 100%)<br>✓ Ειδικότητα και θετική προγνωστική αξία (85%)<br>✓ Να έχει καθορισμένα όρια φυσιολογικών-παθολογικών τιμών.( cut-off values)<br>✓ Να μπορεί να αναγνωρίζει την λοίμωξη κατά την έναρξη των συμπτωμάτων και να παραμένει αυξημένος για τουλάχιστον 12-24 ώρες μετά την έναρξη της κατάλληλης θεραπείας προκειμένου να συμβάλει στη διάγνωση<br>✓ Να μπορεί να διακρίνει βακτηριακές από ιογενείς ή μυκητιασικές λοιμώξεις ή/και να αναγνωρίζει ειδικά παθογόνα ή ομάδα παθογόνων (π.χ. Gram - μικρόβια)<br>✓ Να αποτελεί τον καλύτερο δείκτη ανταπόκρισης στη θεραπεία<br>✓ Να αποτελεί τον κατάλληλο δείκτη για την έναρξη και διακοπή της θεραπείας<br>✓ Να μπορεί νωρίς, (κατά την έναρξη των συμπτωμάτων), να προβλέπει την πρόγνωση της βαρύτητας της νόσου και την έκβαση της |

Οι βιοδείκτες της νεογνικής λοίμωξης διακρίνονται στους ειδικούς και μη ειδικούς [72,73].

### 2.2.1. ΕΙΔΙΚΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ

Ειδικοί βιοδείκτες λοίμωξης [73,74].

Είναι δείκτες που μπορούν να διαγνώσουν τη λοίμωξη με ακρίβεια και να αναγνωρίσουν το είδος του παθογόνου μικροοργανισμού και τη αντοχή του ή όχι στα αντιβιοτικά εντός λίγων ωρών από την εμφάνιση των συμπτωμάτων. Σε αυτούς ταξινομούνται η αναγνώριση των παθογόνων μικροοργανισμών με:

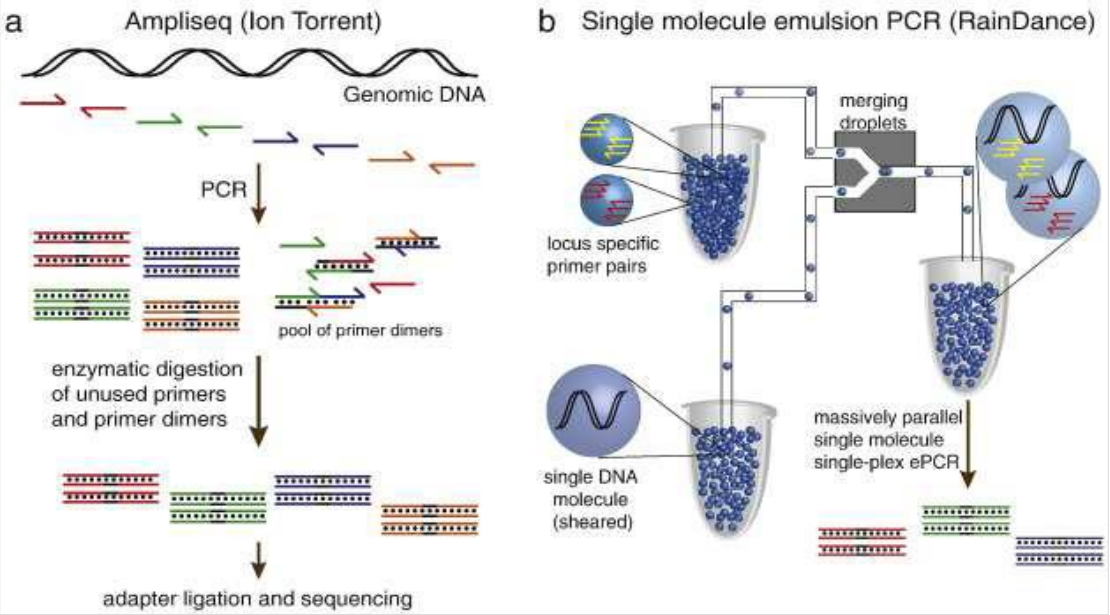
1. PCR
2. FISH
3. Microarray-based τεχνικές

Ο πιο γνωστός ειδικός βιοδείκτης λοίμωξης θεωρείται ο **PCR,** που έχει τα εξής χαρακτηριστικά [75–77]:

- Ευαισθησία έως 90%
- Ειδικότητα έως 96%
- Θεωρείται χρήσιμη για την ανίχνευση παθογόνων μικροοργανισμών εκεί που άλλες συμβατικές μικροβιολογικές μέθοδοι αποτυγχάνουν να το κάνουν, όπως για παράδειγμα, σηψαιμία με αρνητικές καλλιέργειες
- Παρατηρείται δυσκολία στην αναγνώριση των GRAM θετικών βακτηρίων και μυκήτων εξαιτίας της ανθεκτικότητας του τοιχώματος τους στη διάσπαση και τον διαχωρισμό του DNA
- Αδυναμία ανίχνευσης άλλων μικροοργανισμών πέρα από αυτούς που καθορίζει η μέθοδος
- Έχει αυξημένο κόστος
- Χρειάζεται κατάλληλος εξοπλισμός και εκπαιδευμένο προσωπικό για την υλοποίηση του

Οι πλέον γνωστοί τύποι PCR απεικονίζονται στην εικόνα 2.

Εικόνα **2.** Τύποι **PCR** [78].



### 2.2.2. ΜΗ ΕΙΔΙΚΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ

Οι μη ειδικοί βιοδείκτες επηρεάζονται συνήθως από φλεγμονώδεις μη λοιμώδεις καταστάσεις (π.χ. ιστική βλάβη, χειρουργική επέμβαση) και δεν ανιχνεύουν εντοπισμένες λοιμώξεις. Οι μη ειδικοί βιοδείκτες περιλαμβάνουν:

**I.** *Αιματολογικές παράμετροι*

**II.** *Πρωτεΐνες οξείας φάσης & άλλες πρωτεΐνες*

**III.** *Κυτταροκίνες & Χημειοκίνες*

**IV.** *Διάφοροι υποδοχείς*

**V.** *Αντιγόνα επιφανείας κυττάρων*

**VI.** *Παράγοντες που προέρχονται ή ενεργοποιούνται από βλάβη ενδοθηλίου*

I. Αιματολογικές παράμετροι

- Αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων (>15000 ή<4000/μL)
- Αριθμός πολυμορφοπύρηνων (>10000 ή<1000/μL)
- Άωρες μορφές πολυμορφοπύρηνων
- Λόγος άωρων μορφών πολυμορφοπύρηνων / συνολικό αριθμό πολυμορφοπύρηνων ≥0,2 .
- Μορφολογία πολυμορφοπύρηνων (π.χ. τοξική κοκκίωση)
- Αριθμός αιμοπεταλίων (<150000/μL)
- Διάφορα αιματολογικά scores (συνδυασμός των ανωτέρω )

II. Πρωτεΐνες οξείας φάσης και άλλες πρωτεΐνες.

II.α. ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΟΞΕΙΑΣ ΦΑΣΗΣ.

Οι πρωτεΐνες οξείας φάσης είναι οι εξής:

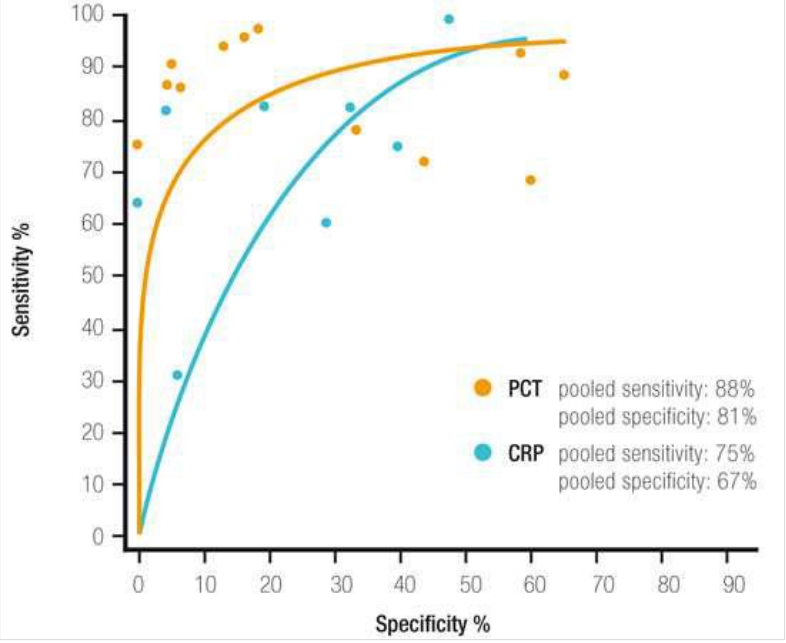
- CRP
- Προκαλσιτονίνη
- Αμυλοειδές Α
- Απτοσφαιρίνη
- Α1 αντιθρυψίνη
- Σερουλοπλασμίνη

Από τις αναφερόμενες οι **CRP** και η **PCT** (προκαλτσιτονίνη ορού) θεωρούνται οι κύριες πρωτεΐνες προσδιορισμού της λοίμωξης.

Η **CRP** ορού, **(C** αντιδρώσα πρωτεΐνη**).** Η CRP ορού, στην αρχική φάση της λοίμωξης έχει ευαισθησία <60% , η οποία μπορεί να αυξηθεί σημαντικά (79 - 98%) με την επανάληψη της μέτρησης σε 12-24 ώρες. Η ειδικότητα της κυμαίνεται μεταξύ 60 - 96%. Οι επαναληπτικές μετρήσεις της CRP είναι χρήσιμες για την παρακολούθηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία, τον καθορισμό της διάρκειας της θεραπείας και την ανίχνευση τυχόν επιπλοκών. Το βασικό της μειονέκτημα είναι πως δεν αποτελεί πολύ καλό προγνωστικό δείκτη γιατί αδυνατεί να προβλέψει την εξέλιξη σε σηπτική καταπληξία η θάνατο [79–84].

Η προκαλτσιτονίνη ορού **(PCT),** θεωρείται καλύτερος βιοδείκτης συγκριτικά με την CRP για την διάγνωση της λοίμωξης σε αρχικά στάδια. Έχει ευαισθησία 77-93 % και ειδικότητα 81-84%. Αυξάνει νωρίς, 2-4 ώρες από την έναρξη της λοίμωξης ενώ το “peak” της είναι στις 6-8 ώρες και ο χρόνος ημίσειας ζωής της 24 ώρες. Θεωρείται ειδικότερη από τη CRP για τη διάκριση μεταξύ ιογενούς και μικροβιακής λοίμωξης και έχει καλύτερη προγνωστική αξία για την εξέλιξη της λοίμωξης. Τα μειονεκτήματα της είναι το υψηλότερο κόστος και το γεγονός πως τα επίπεδα της μπορεί να είναι αυξημένα τις πρώτες 2-3 ημέρες ζωής ακόμη και σε νεογνά χωρίς λοίμωξη [85–89]. Στην εικόνα 3 απεικονίζεται σχηματικά η ειδικότητα και η ευαισθησία της CRP και PCT.

Εικόνα **3. CRP** και **PCT –** ειδικότητα και ευαισθησία [90]**.**

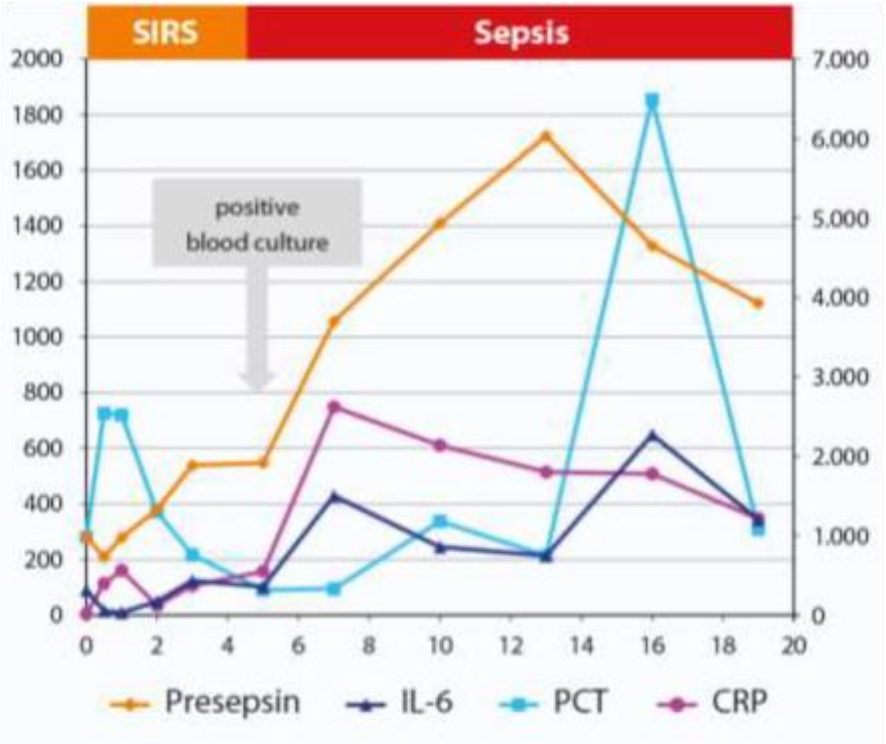


ΙΙ.β. ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ [72,74].

- Λακτοφερίνη , Νεοπτερίνη
- Ινονεκτίνη, Φερριτίνη
- Εψιδίνη, Λιποκαλίνη
- Κλάσματα συμπληρώματος (π.χ. C5a, C5L2)
- Λεκτίνη συνδεόμενη με μανόζη (↓)
- Ελαστάση πολυμορφοπύρηνων
- Inter-a-ανασταλτικές πρωτεΐνες (Ialps)
- Καλπροτεκτίνη
- Πρωτεΐνη συνδεόμενη με λιποπολυσακχαρίτη (LBP)
- Soluble CD14 subtype (sCD14-ST) presepsin

Το κλινικό προφίλ κάποιων εκ των μη ειδικών βιοδεικτών απεικονίζεται στην εικόνα 4.

Εικόνα **4.** Μη ειδικοί βιοδείκτες – κλινικό προφίλ. [91].



III. Κυτταροκίνες και Χημειοκίνες

Οι χημειοκίνες είναι μικρά πρωτεϊνικά μόρια με μοριακό βάρος 8-12 kDa. Οι γνωστές χημειοκίνες έχουν παρόμοια δομή περιέχοντας τουλάχιστον 4 αμινοξέα κυστεΐνης σε καθορισμένες περιοχές του μορίου τους. Ανάλογα με τη θέση των 2 πρώτων αμινοξέων κυστεΐνης στο μόριο, διακρίνονται 4 οικογένειες από τις οποίες οι α και β χημειοκίνες έχουν τα περισσότερα μέλη [92].

Οι κυτταροκίνες είναι ρυθμιστικές πρωτεΐνες ή γλυκοπρωτεΐνες χαμηλού μοριακού βάρους, που εκκρίνονται από λευκοκύτταρα και διάφορους άλλους κυτταρικούς τύπους του σώματος, ως απόκριση σε ένα πλήθος ερεθισμάτων. Οι πρωτεΐνες αυτές ασκούν επικουρικό ρόλο στη ρύθμιση της ανάπτυξης των ανοσοδραστικών κυττάρων και μερικές από αυτές μάλιστα, διαθέτουν την ικανότητα ανάπτυξης άμεσης δράσης [93].

Οι κυτταροκίνες και χημειοκίνες διακρίνονται στις προ φλεγμονώδεις και αντιφλεγμονώδεις [94]. Συγκεκριμένα:

| ΠΡΟΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ | ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ |
|---|---|
| IL-1a<br>IL-1b<br>IL-6<br>IL-8<br>IL-11<br>IL-12<br>IL-17<br>IL-18<br>TNF-a<br>IFN-γ<br>IP-10<br>MCP-1<br>RANTES<br>IL-2sRa | IL-4<br>IL-10<br>IL-13<br>IL-16<br>IL-1ra<br>IFN-a<br>TGF-b |

Σήμερα μπορούν να μετρηθούν πολλές κυτταροκίνες με τεχνολογία multiplex σε ελάχιστη ποσότητα αίματος. Τα μειονεκτήματα όμως της χρήσης αυτών των βιοδεικτών είναι πως η μέτρηση τους δεν έχει μπει στην καθ' ημέρα κλινική πράξη γιατί έχει υψηλό κόστος και δεν είναι αυτοματοποιημένη. Επίσης, η μέθοδος μέτρησης δεν είναι απλή, χρειάζεται εμπειρία και δεν μπορεί να εφαρμοστεί οποιαδήποτε στιγμή.

**IV.** Διάφοροι υποδοχείς

**(Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 [sTREM-1])** [95]**.**

- Είναι μέλος της οικογένειας IgG
- Εκφράζεται σε πολυμορφοπύρηνα και μονοπύρηνα
- Διεγείρει την παραγωγή προ φλεγμονωδών κυτταροκινών και χημειοκινών και οδηγεί στην αύξηση της φλεγμονώδους αντίδρασης
- Η σύνθεσή του αυξάνεται ταχέως σε μικροβιακές και μυκητιασικές λοιμώξεις
- Τα επίπεδά του μπορούν να μετρηθούν με ELISA σε σχετικά μικρό χρόνο (4,5 ώρες) σε βιολογικά υγρά
- Αναφέρονται αυξημένα επίπεδα sTREM-1 στον ορό νεογνών με σηψαιμία
- Δεν διαπιστώθηκε καλύτερη διαγνωστική αξία από την IL-6

**V.** Αντιγόνα επιφάνειας κυττάρων**.**

| Πολυμορφοπύρηνα | Λεμφοκύτταρα | Φυσικά κυτταροκτόνα **&** μονοπύρηνα |
|---|---|---|
| CD11b | CD3 | CD69 |
| CD11c | CD19 | HLA-DR |
| CD13 | CD25 | |
| CD15 | CD26 | |
| CD33 | CD45RO | |
| CD64 | CD69 | |
| CD66b | CD71 | |

Απαιτείται εκπαιδευμένο προσωπικό και δεν υπάρχει κυτταρομετρία ροής ως διαγνωστική μέθοδος ρουτίνας στις περισσότερες μονάδες νεογνών.

**VII.** Παράγοντες που προέρχονται ή ενεργοποιούνται από βλάβες ενδοθηλίου [96]**.**

Από την έναρξη της λοίμωξης και καθόλη τη διάρκεια της πορείας της παρατηρείται ενεργοποίηση και βλάβη του ενδοθηλίου η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της φλεγμονώδους αντίδρασης.

Οι παράγοντες που προέρχονται ή ενεργοποιούνται από ενδοθηλιακά κύτταρα ταξινομούνται σε τρεις κατηγορίες :

1. Μόρια προσκόλλησης
2. Αγγειογενετικοί παράγοντες
    - Αγγειοποιητίνης 1 (Ang-1)
    - αυξητικού παράγοντα ενδοθηλίου των αγγείων (VEGF)
    - αυξητικού παράγοντα των αιμοπεταλίων(PDGF)
    - αυξητικού παράγοντα ινοβλαστών (FGF)
    - αγγειοποιητίνης 2 (Ang-2).
3. Πρωτεΐνες μηχανισμού πήξης / ινωδόλυσης.
    - Ινωδογόνο
    - D-dimer
    - παράγοντας von Willebrand
    - θρομβομοδουλίνη
    - Παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων-Platelet activating factor (PAF)
    - Σύμπλεγμα θρομβίνης-αντιθρομβίνης III
    - Πλασμινογόνο
    - Ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου – Plasminogen tissue activator (tPA)
    - Αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1)

Στην εικόνα που ακολουθεί (εικόνα 5), αναγράφονται διάφοροι βιοδείκτες που χρησιμοποιούνται στο νεογνικό πληθυσμό για τη διάγνωση της σήψης.

Εικόνα **5.** Διάφοροι βιοδείκτες που χρησιμοποιούνται στο νεογνικό πληθυσμό για τη διάγνωση της σήψης**.**

| **Various biomarkers that have been used in neonatal population for the diagnosis of neonatal sepsis. Name of biomarker Complete blood picture (CBP):** [72] | |
|---|---|
| C-reactive protein (CRP)<br>Highly sensitive C-reactive protein (hs-CRP)<br>Procalcitonin (PCT)<br>Serum amyloid A (SAA)<br>Lipopolysaccharide-binding protein (LPB)<br>Interleukin 1b (IL1b)<br>Interleukin 4 (IL-4)<br>Interleukin 5 (IL-5)<br>Interleukin 6 (IL-6)<br>Interleukin 8 (IL-8)<br>Interleukin 10 (IL-10)<br>sIL2R<br>Tumor necrosis factor (TNF-a)<br>11sTNFR-p55<br>12sTNFR-p75<br>CD11b<br>Soluble CD163<br>CD 64<br>Pentraxin 3 (PTX3)<br>Angiopoietins (Ang) | Soluble form of the urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR).<br>Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1).<br>Inter alpha inhibitor proteins (IaIp).<br>Interferon-c<br>CXCL12 sCD14-ST or presepsin.<br>Intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)<br>Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)<br>E-selectin<br>L-selectin<br>Fibronectin<br>Haptoglobin<br>Neopterin<br>Orosomucoid<br>Complement activation products (C3a-desArg, C3bBbP, sC5b-9).<br>Asymmetric dimethylarginine.<br>L-arginine<br>Mannose-binding lectin<br>Melatonin<br>a1-acid glycoprotein (a1AG)<br>16S rDNA<br>Lactoferrin<br>Serum ischemia-modified albumin (IMA) |

## 2.3. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΑ **SCORES**

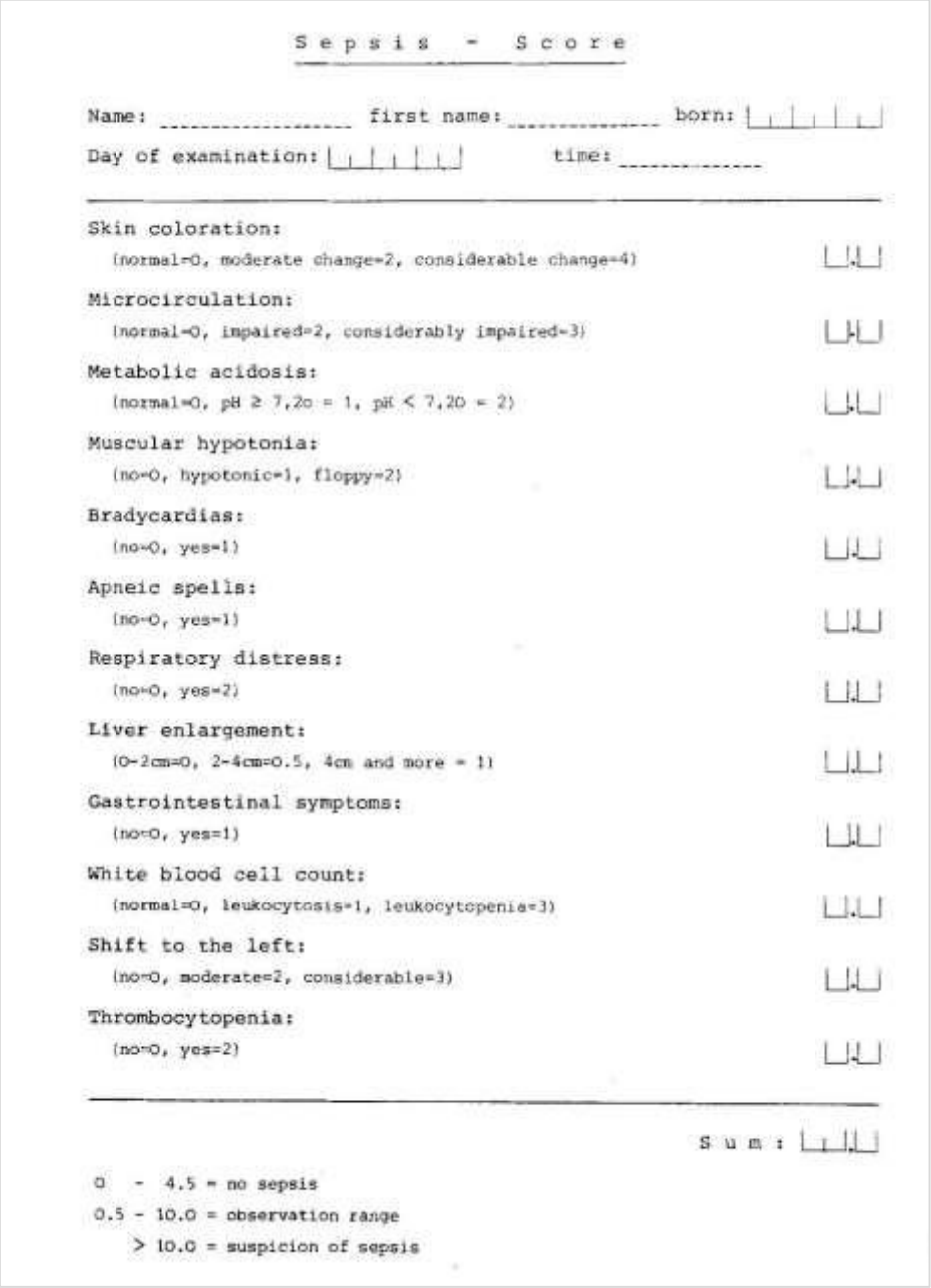
Για την διάγνωση και την εκτίμηση της νοσηρότητας και θνητότητας των νεογνών που νοσηλεύονται στις ΜΕΝΝ έχουν θεσπιστεί διάφορα scores και έχουν χρησιμοποιηθεί σε επιδημιολογικές έρευνες αλλά και κλινικές μελέτες. Οι κλίμακες (scores) οι οποίες προτείνονται για χρήση βοηθούν στην κατάταξη των ασθενών από άποψη βαρύτητας νόσου και πρέπει να χρησιμοποιούνται όχι απλά για στατιστικά δεδομένα, αλλά πρωταρχικά για την εντατικότερη και ταχύτερη εφαρμογή δραστικών παρεμβάσεων ("decision making"). Δεδομένου ότι τα νοσηλευόμενα νεογνά στις ΜΕΝΝ αποτελούν διαφορετικές πληθυσμιακές ομάδες, η έκβαση της πορείας και η θνητότητα τους δεν καθορίζεται μόνο από τη νόσο ή τη διάγνωσή της, αλλά και από τις διαταραχές-παρεκκλίσεις από το φυσιολογικό πρότυπο των τελειόμηνων νεογνών. Με άλλα λόγια, η βαρύτητα του νοσήματος που εξαρτάται από διάφορες παραμέτρους, θα πρέπει να μπορεί να βαθμολογηθεί και να διαβαθμιστεί αναλόγως, για να εφαρμοσθεί η έγκαιρη αντιμετώπιση του.

Για το λόγο αυτό, σε μια προσπάθεια αξιοποίησης της συλλογικής κλινικής εμπειρίας από το χώρο της εντατικής νοσηλείας και της προσέγγισης ζητημάτων όπως είναι η αποτελεσματικότητα, η αποδοτικότητα, η ισότητα και η ποιότητα της παρεχόμενης εντατικής φροντίδας, δημιουργήθηκε η ανάγκη για την διαβάθμιση της σοβαρότητας της ασθένειας. Έτσι, επήλθε η θέσπιση πολλών και διαφορετικών κλιμάκων (σκορ) προς χρήση τους στις μονάδες εντατικής θεραπείας νεογνών, οι κυριότεροι από τους οποίους είναι το TOLLNER score, SNAP-PE score, RALIS score και EOS Risk Calculator.

**TOLNER SCORE** [97–100]**.**

Σύστημα βαθμολόγησης βασισμένο σε κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα με απώτερο σκοπό την έγκαιρη διάγνωση της σήψης σε νεογνά. (Εικόνα 6).

Εικόνα **6. TOLNER SCORE**



Sepsis - Score

Name: _____ first name: _____ born: |_|_|_|_|_|_|

Day of examination: |_|_|_|_|_|_| time: _____

Skin coloration:
(normal=0, moderate change=2, considerable change=4) |_|.|_|

Microcirculation:
(normal=0, impaired=2, considerably impaired=3) |_|.|_|

Metabolic acidosis:
(normal=0, pH ≥ 7,20 = 1, pH < 7,20 = 2) |_|.|_|

Muscular hypotonia:
(no=0, hypotonic=1, floppy=2) |_|.|_|

Bradycardias:
(no=0, yes=1) |_|.|_|

Apneic spells:
(no=0, yes=1) |_|.|_|

Respiratory distress:
(no=0, yes=2) |_|.|_|

Liver enlargement:
(0-2cm=0, 2-4cm=0.5, 4cm and more = 1) |_|.|_|

Gastrointestinal symptoms:
(no=0, yes=1) |_|.|_|

White blood cell count:
(normal=0, leukocytosis=1, leukocytopenia=3) |_|.|_|

Shift to the left:
(no=0, moderate=2, considerable=3) |_|.|_|

Thrombocytopenia:
(no=0, yes=2) |_|.|_|

Sum: |_|_|.|_|

0 - 4.5 = no sepsis
0.5 - 10.0 = observation range
> 10.0 = suspicion of sepsis

***SNAP-PE*** (Score for Neonatal Acute Physiology - Perinatal Extension) [101–103]**.**

Το SNAP-PE score, το σύστημα δηλαδή εκτίμησης οξέων διαταραχών της φυσιολογίας και περιγεννητικών προβλημάτων υγείας των νεογνών , έχει επικυρωθεί ως μέσο εκτίμησης των βαρέως πασχόντων νεογνών και έχει σχεδιαστεί προκειμένου να προβλεφθεί η κλινική τους έκβαση. (Εικόνα 7).

Εικόνα **7. SNAP-PE score**



***RALIS SCORE*** [104].

Το RALIS score είναι ένας ηλεκτρονικός αλγόριθμος που επιτρέπει στον ειδικό χρήστη να εισάγει διάφορα δεδομένα σε συχνή βάση, συμπεριλαμβανομένου του καρδιακού ρυθμού, του αναπνευστικού ρυθμού, της θερμοκρασίας, του σωματικού βάρους, του αριθμού των περιπτώσεων αποκορεσμού (<85%) και του αριθμού των βραδυκαρδιακών επεισοδίων (καρδιακός ρυθμός <100 παλμούς ανά λεπτό). Η αρχική πιλοτική μελέτη που περιλάμβανε την εισαγωγή δεδομένων στη πλατφόρμα κάθε 2 ώρες έδειξε ότι το RALIS score ήταν σε θέση να ανιχνεύσει LOS, με ευαισθησία 95,8% και ειδικότητα 77,3% . Επειδή ωστόσο πρόκειται για μέθοδο που πρόσφατα αναπτύχθηκε, χρειάζεται να πραγματοποιηθούν περισσότερες μελέτες για να επικαιροποιηθεί η χρησιμότητα της.

***EOS Risk Calculator*** [105–107].

Η ανάπτυξη του αλγόριθμου Eos-risk calculator, ο οποίος αποτελεί έναν δείκτη πρόβλεψης κινδύνου εμφάνισης πρώιμης σηψαιμίας, λαμβάνει χρήση τα τελευταία χρόνια στις μονάδες εντατικής νοσηλείας με σκοπό την καθοδήγηση της περίθαλψης των ασθενών. Η εφαρμογή του αριθμοδείκτη κινδύνου EOS έχει επιφέρει βάση ερευνών, τριπλάσια μείωση στις ληφθέντες καλλιέργειες αίματος όπως και μείωση της χρήσης αντιβιοτικών από 5% σε 2,6% τις πρώτες 24 ώρες ζωής [74]. Αυτές οι βελτιώσεις ωστόσο δεν φαίνεται να συνδέονται με μείωση, για παράδειγμα, της θνητότητας ή της επανεισαγωγής στο νοσοκομείο. Χρειάζονται να υλοποιηθούν περισσότερες μελέτες για την περαιτέρω αξιολόγηση της εφαρμογής του Eos risk calculator. (Εικόνα 8).

Εικόνα **8. Eos-risk calculator**



# 3. ΣΗΨΗ ΚΑΙ ΔΙΑΧΥΤΗ ΕΝΔΟΑΓΓΕΙΑΚΗ ΠΗΞΗ (ΔΕΠ)

Η σηψαιμία ορίζεται ως «μη ρυθμισμένη ανοσοαπόκριση ξενιστή σε λοίμωξη που οδηγεί σε ανεπάρκεια οργάνου», η δε σοβαρή δυσλειτουργία οποιουδήποτε οργάνου αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες πρόγνωσης [108].

Η σήψη συνδέεται σχεδόν πάντα με αιμοστατικές διαταραχές που κυμαίνονται από θρομβοπενία και υποκλινική ενεργοποίηση της πήξης του αίματος (υπερπηκτικότητα) οδηγώντας στη συστηματική ενεργοποίηση της πήξης με τον μαζικό σχηματισμό θρομβίνης και ινώδους και επακόλουθη κατανάλωση αιμοπεταλίων και πρωτεϊνών του αιμοστατικού συστήματος (οξεία διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη, DIC) [109].

Με άλλα λόγια, στη σηψαιμία, ο αιτιολογικός παράγοντας και η σχετιζόμενη φλεγμονώδης απόκριση οδηγούν στο σχηματισμό και την απόθεση ινώδους όπου μαζί με άλλους δραστικούς μηχανισμούς (1. την απελευθέρωση των προπηκτικών ουσιών στην κυκλοφορία, 2. την αυξημένη κατανάλωση αντιπηκτικών ουσιών, 3. την καταστολή της ινωδόλυσης) οδηγούν στην εμφάνιση της διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης [110–112].

Η διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη δεν αποτελεί αυτοτελή νόσο, αλλά θρομβοαιμορραγικό σύνδρομο που εμφανίζεται ως επιπλοκή διαφόρων παθολογικών καταστάσεων.

Η ειδική ομάδα για την ΔΕΠ της Διεθνούς Κοινότητας Θρόμβωσης και Αιμόστασης (International Society on Thrombosis and Hemostasis) προτείνει για την ΔΕΠ τον ακόλουθο ορισμό:

*«ΔΕΠ είναι ένα επίκτητο σύνδρομο ποικίλης αιτιολογίας που χαρακτηρίζεται από ενδοαγγειακή ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης, με σύγχρονη απώλεια του περιορισμού του φαινομένου. Μπορεί να προέρχεται, αλλά και να προκαλεί βλάβη στα μικρά αγγεία, η οποία αν είναι αρκετά σοβαρή οδηγεί σε πολυοργανική ανεπάρκεια»* [113,114].

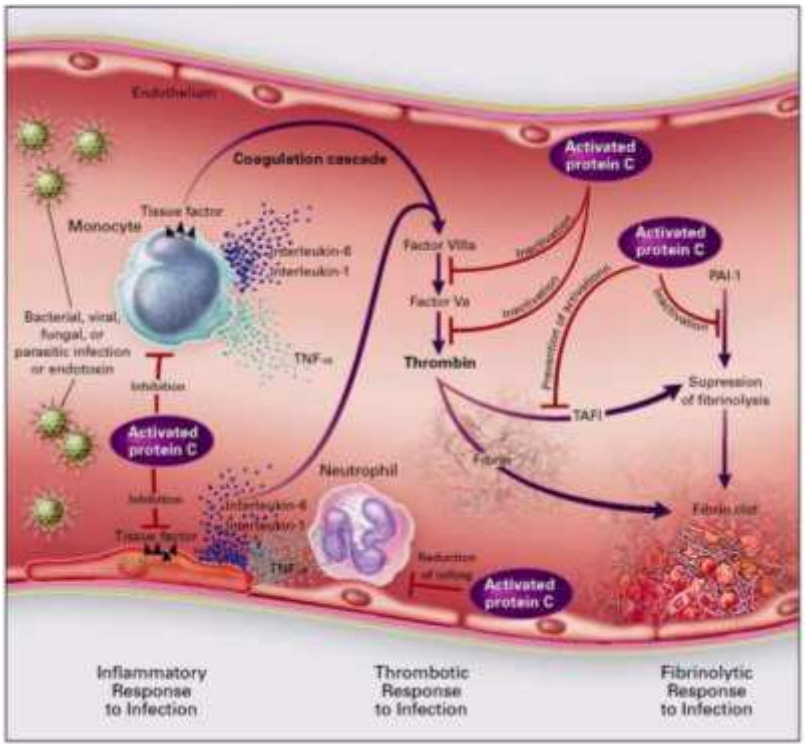
Χαρακτηρίζεται από συστηματική ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης με αποτέλεσμα την παραγωγή ινώδους και την δημιουργία θρόμβων και εναπόθεση τους σε διάφορα όργανα. Η ΔΕΠ παρατηρείται στο 1% των νοσηλευόμενων ασθενών. Δεν αποτελεί νόσο, αλλά είναι επιπλοκή διαφόρων άλλων νοσημάτων. Κλινικά, ανάλογα με τον παθογενετικό μηχανισμό που επικρατεί, μπορεί να υπερτερεί η αιμορραγική διάθεση, ή οι θρομβωτικές εκδηλώσεις. Σπανιότερα μπορεί στον ίδιο ασθενή να συνυπάρχουν και τα δύο [113,115].

Βασική παθογενετική διαταραχή είναι η απελευθέρωση στην κυκλοφορία ουσιών που έχουν προ πηκτικές ιδιότητες ή/και προκαλούν ενδοθηλιακή βλάβη, που επιφέρει ανεξέλεγκτη ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης. Η αλληλουχία των παθοφυσιολογικών φαινομένων είναι η ακόλουθη:

1. Ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης
2. Ανεξέλεγκτη παραγωγή θρομβίνης σε τοπικό ή συστηματικό επίπεδο → διάσπαρτη μικροαγγειακή θρόμβωση, διαταραχές αιματώσεως οργάνων
3. Σχηματισμός πλεγμάτων ινώδους που αποφράσσουν ολικώς ή μερικώς τα αγγεία, με αποτέλεσμα την εμφάνιση μικροαγγειοπαθητικής αιμολυτικής αναιμίας (παρουσία σχιστοκυττάρων) και θρομβοπενίας
4. Δευτεροπαθής ινωδόλυση στην προσπάθεια να διατηρηθεί η κυκλοφορία του αίματος στα αγγεία με ταυτόχρονη κατανάλωση αιμοπεταλίων, παραγόντων πήξης και ανασταλτών, που οδηγεί σε αιμορραγία

Στην εικόνα που ακολουθεί (εικόνα 9), απεικονίζεται η αλληλουχία των προαναφερθέντων παθολογικών φαινομένων της ΔΕΠ κατά τη διάρκεια της σήψη.

Εικόνα **9.** Σήψη και ΔΕΠ - αλληλουχία των παθοφυσιολογικών φαινομένων [116].

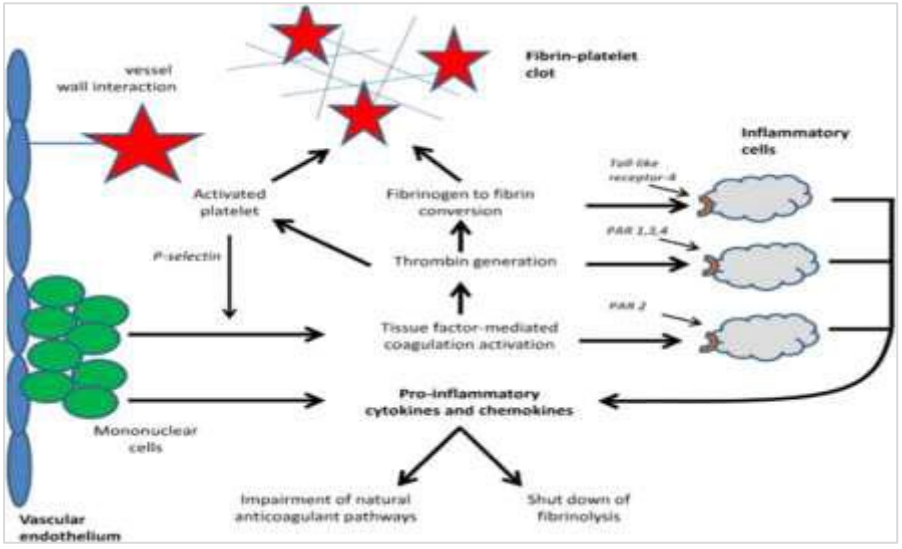


Τα κύρια συμπτώματα της ΔΕΠ εξαρτώνται από την ισορροπία μεταξύ της δημιουργίας θρομβίνης, της ινωδόλυσης και της αναστολής της ινωδόλυσης και μπορεί να είναι μικροαγγειακή θρόμβωση ή/και αιμορραγία.

Πιο συγκεκριμένα η ενεργοποίηση της πήξης στη σηψαιμία χαρακτηρίζεται από : (Εικόνα 10).

1. Αυξημένη παραγωγή θρομβίνης [117]. Η ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού στη σήψη διαπιστώνεται από τα υψηλά επίπεδα των προθρομβινικών θραυσμάτων 1 και 2 (F1+2), των D-διμερών και του συμπλέγματος θρομβίνης-αντιθρομβίνης (TAT)
2. Ανεπαρκής ινωδόλυση [31,118]. Η υπέρμετρη ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού στη σήψη συνδυάζεται πολύ συχνά με σχετική ανεπάρκεια του ινωδολυτικού συστήματος και έτσι, δημιουργείται μια κατάσταση υπερπηκτικότητας η οποία οδηγεί στο σχηματισμό των μικροθρόμβων στο αγγειακό δίκτυο
3. Δυσλειτουργία των φυσικών αναστολέων της πήξης (αντιθρομβίνη AT, πρωτεΐνη C – PrC) [31,118]

Εικόνα **10.** Ενεργοποίηση της πήξης στη σηψαιμία [110]**.**




Στα νεογνά, η σηψαιμία και η ΔΕΠ είναι σχεδόν πάντα συνδεδεμένες με μειωμένα επίπεδα πρωτεΐνης C και αντιθρομβίνης (AT) [119,120]. Έχει διαπιστωθεί ότι η μείωση της δραστικότητας της πρωτεΐνης C του πλάσματος είναι πιο ευαίσθητος δείκτης σε σύγκριση με τα χαμηλά επίπεδα AT στην αντιμετώπιση της νεογνικής σήψης με ΔΕΠ. Επιπλέον, τα χαμηλά

επίπεδα πρωτεΐνης C στο πλάσμα έχουν περιγραφεί ως χρήσιμος βιοδείκτης της πρόγνωσης των σηπτικών νεογνών.

Η παθοφυσιολογία της ΔΕΠ που σχετίζεται με τη σήψη είναι εξαιρετικά περίπλοκη και εξακολουθεί να θεωρείται θέμα που χρήζει εκτεταμένης έρευνας. Το βασικό χαρακτηριστικό γνώρισμα της ΔΕΠ είναι η συστηματική φλεγμονώδης απόκριση στον μολυσματικό παράγοντα [121,122].

Οι αιτιολογικοί μικροοργανισμοί οι οποίοι δεν ανευρίσκονται σε σπονδυλωτά ζώα και εκφράζουν μοναδικά κυτταρικά συστατικά, αναφέρονται ως σχετιζόμενοι με παθογόνα μοριακά πρότυπα (PAMPs) ή με μοριακά πρότυπα που συνδέονται με μικροβιακά κύτταρα (παραδείγματος χάρη, η ενδοτοξίνη ή ο λιποπολυσακχαρίτης, LPS) [123].

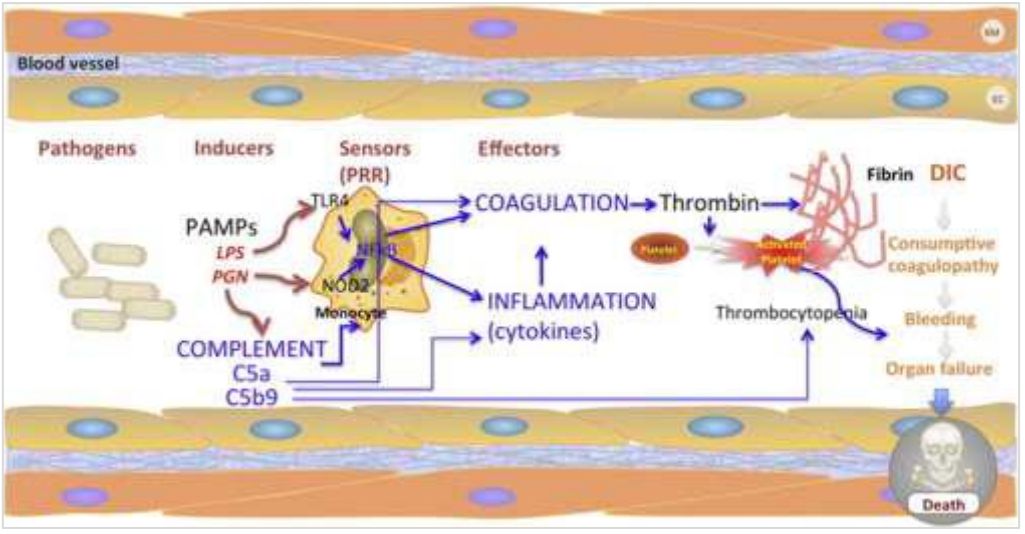
Επιπλέον, κατά τη διάρκεια της μόλυνσης, της φλεγμονής ή του στρες οι γενετικοί παράγοντες του ξενιστή εμφανίζονται ως «σήματα κινδύνου» (alarmins) τα οποία, μαζί με τα PAMP, αναφέρονται ως μοριακά μοτίβα σχετιζόμενα με τον κίνδυνο (DAMPs). Αυτά τα στοιχεία μέσω ειδικών υποδοχέων που ονομάζονται υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (PRRs), (υποδοχείς τύπου Toll (TLRs), υποδοχείς συμπληρώματος κ.α.), αναγνωρίζονται από ανοσοποιητικά και άλλα κύτταρα-ξενιστές (μονοκύτταρα-μακροφάγα, αιμοπετάλια, ενδοθηλιακά κύτταρα κ.α.). Η επακόλουθη ενεργοποίηση ειδικών ενδοκυττάριων οδών μεταγωγής σήματος οδηγεί τελικά στη σύνθεση ενός αριθμού πρωτεϊνών που συμπεριλαμβάνουν τις προ φλεγμονώδεις κυτοκίνες.

Αυτές, μαζί με άλλους μεσολαβητές που παράγονται από το φλεγμονώδη καταρράκτη συμπεριλαμβανομένων και αυτών που προέρχονται από την ενεργοποίηση του συμπληρώματος, δρουν σε συνεργασία με τους μικροοργανισμούς ή τα προϊόντα τους για να πυροδοτήσουν τις οδούς πήξης και να οδηγήσουν στη ΔΕΠ και στην κατ ’επέκταση, δυσλειτουργία οργάνων [110,123].

Αξίζει επίσης να σημειωθεί πως τα ένζυμα που παράγονται κατά τη διάρκεια του καταρράκτη θρόμβωσης μπορούν να αλληλοεπιδράσουν με συγκεκριμένους κυτταρικούς υποδοχείς προκαλώντας έτσι κυτταρικές αποκρίσεις που ενισχύουν τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις [124,125]. Η φλεγμονή μπορεί να οδηγήσει σε απόπτωση κυττάρων ή νέκρωση. Πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι προϊόντα που απελευθερώνονται από νεκρά κύτταρα, οι πυρηνικές πρωτεΐνες, μπορεί να οδηγήσουν σε περαιτέρω φλεγμονή, ΔΕΠ, κυτταρικό θάνατο και ανεπάρκεια οργάνων [121,126,127]. Στην εικόνα 11 απεικονίζεται η εξέλιξη της σοβαρότητας

της νόσου που περιλαμβάνει τη σήψη, ΔΕΠ, πολυοργανική ανεπάρκεια και καταλήγει στον θάνατο.

Εικόνα **11.** Σήψη – ΔΕΠ – Πολυοργανική ανεπάρκεια – Θάνατος [128].




## 3.1. ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΔΕΠ ΣΤΗ ΣΗΨΗ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΣΤΗ ΣΗΠΤΙΚΗ ΔΙΑΧΥΤΗ ΕΝΔΟΑΓΓΕΙΑΚΗ ΠΗΞΗ

Η διάγνωση της ΔΕΠ στη σήψη είναι δυνατή χρησιμοποιώντας έναν συνδυασμό εργαστηριακών εξετάσεων για τους οποίους είναι πλέον διαθέσιμοι απλοί διαγνωστικοί αλγόριθμοι. Ωστόσο, οι αλγόριθμοι αυτοί μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διάγνωση και την παρακολούθηση της ΔΕΠ μόνο όταν πληρούνται τουλάχιστον δύο βασικές προϋποθέσεις:

1) ταυτοποίηση της ΔΕΠ όσο το δυνατόν νωρίτερα και
2) διαθεσιμότητα σε συνήθεις, αλλά ιδιαίτερα σε επείγουσες καταστάσεις [129]

Ασθενείς με ΔΕΠ έχουν χαμηλά ή ταχέως μειωμένο αριθμό αιμοπεταλίων, παρατεταμένους χρόνους στις δοκιμασίες πήξης, χαμηλά επίπεδα παραγόντων πήξης και αναστολέων στο πλάσμα και αυξημένους δείκτες σχηματισμού ινώδους και αποδόμησης αυτού, όπως προϊόντα αποδόμησης D-διμερούς (D-dimer) ή ινώδους. Ως εκ τούτου, μια αξιόπιστη

προσέγγιση στη διάγνωση της DIC είναι η χρήση ενός απλού συστήματος βαθμολόγησης που βασίζεται στον συνδυασμό τακτικών διαθέσιμων δοκιμασιών πήξης.

## 3.2. ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΒΑΘΜΟΛΟΓΗΣΗΣ ΓΙΑ ΔΙΑΧΥΤΗ ΕΝΔΟΑΓΓΕΙΑΚΗ ΠΗΞΗ [130,131].

Μια πενταετής επισκόπηση από την ISTH SSC σχετικά με τη ΔΕΠ επιβεβαίωσε πρόσφατα ότι ένα ISTH σκορ 5 ή μεγαλύτερο μπορεί να προσδιορίσει με αξιοπιστία την κλινικά εμφανή ΔΕΠ με ευαισθησία 91% και ειδικότητα 97% [132]. (Πίνακας 4).

| ΠΙΝΑΚΑΣ 4 : ISTH SCORE<br>Αριθμός αιμοπεταλίων | Βαθμολόγηση |
|---|---|
| >100 x $10^9$/L | 0 |
| >50 - <100 x $10^9$/L | 1 |
| <50 x $10^9$/L | 2 |
| Αυξημένα επίπεδα προϊόντων αποδόμησης ινώδους/ινωδογόνου: [D Dimers] | |
| Καμία αλλαγή | 0 |
| Μέτρια αύξηση | 2 |
| Μεγάλη αύξηση | 3 |
| Παρατεταμένος χρόνος προθρομβίνης [PT] | |
| ≤ 3 sec | 0 |
| 3 sec< PT <6 sec | 1 |
| >6 sec | 2 |
| Επίπεδα ινωδογόνου | |
| >1.0 g/L | 0 |
| <1.0 g/L | 1 |

Επίσης, αποδείχθηκε ότι οι ασθενείς με κλινικά εμφανή ΔΕΠ που διαγνώστηκαν σύμφωνα με τη βαθμολογία ISTH DIC, είχαν σημαντικά υψηλότερο κίνδυνο θανάτου και εμφάνισης σηπτικού σοκ. Ωστόσο, δεδομένου ότι πάνω από το 95% των ασθενών με σηψαιμία έχουν

αυξημένα επίπεδα προϊόντων αποδόμησης ινωδογόνου, η βαθμολογία για τη ΔΕΠ εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την παράταση του PT και τον αριθμό των αιμοπεταλίων [133].
Εκτός όμως από την ISTH SSC, και το Ιαπωνικό Υπουργείο Υγείας και Πρόνοιας (JMHW) καθόρισε διαγνωστικά κριτήρια για τη ΔΕΠ το 1987. Αυτά τα κριτήρια βασίζονται επίσης σε ένα σύστημα βαθμολόγησης στηριζόμενο στην παρουσία υποκείμενης νόσου, αιμορραγίας, βλάβης οργάνων και των αποτελεσμάτων των δοκιμασιών της πήξης που χρησιμοποιούνται σε παγκόσμιο επίπεδο και περιλαμβάνουν:

- αριθμός αιμοπεταλίων: ≤120 x $10^9$/L = 1, ≤80x$10^9$/L = 2, ≤50x$10^9$/L = 3
- αυξημένα προϊόντα αποδόμησης ινώδους: ≥10μg/mL = 1, ≥20μg/mL = 2, ≥40μg/mL = 3
- PT ratio: ≥1.25 = 1, ≥1.67 = 2
- επίπεδα ινωδογόνου: ≤150 mg/dL = 1, ≤100 mg/dL = 2

Συνολική βαθμολογία ≥4 ή ≥7 είναι συμβατή με τη ΔΕΠ σε ασθενείς με ή χωρίς αιματολογικές διαταραχές αντίστοιχα.[134]. Ο βαθμός συμφωνίας στη διάγνωση ΔΕΠ βάσει κριτηρίων ISTH και JMHW ήταν 67%. Μόνο 2% των ασθενών χωρίς την παρουσία ΔΕΠ σύμφωνα με τα κριτήρια της JMHW διαγνώστηκαν με κλινικά εμφανή ΔΕΠ βάσει των κριτηρίων ISTH, υποδηλώνοντας ότι τα κριτήρια ISTH για κλινικά εμφανή ΔΕΠ μπορεί να περιλαμβάνουν τυπικές περιπτώσεις ΔΕΠ [135].
Η Ιαπωνική Ομάδα Μελέτης της Ιατρικής Εταιρείας DIC (JAAM) ανακοίνωσε πρόσφατα νέα διαγνωστικά κριτήρια ΔΕΠ για ασθενείς με κρίσιμη νόσο, επιβεβαιώνοντας την αξιοπιστία της χρήσης μιας κάρτας βαθμολόγησης τεσσάρων παραμέτρων που περιλαμβάνει:

- Κριτήρια διάγνωσης συνδρόμου φλεγμονώδους απόκρισης: ≥ 3 = 1, 0-2 = 0;
- αριθμός αιμοπεταλίων: < 80x$10^9$/L ή 50% μείωση εντός 24 ωρών = 3, ≥80x$10^9$/L, <120x$10^9$/L ή >30% μείωση εντός 24 ωρών = 1 και >120x$10^9$/L = 0.
- PT ratio: ≥1,2 = 1, <1,2 = 0
- προϊόντα αποδόμησης ινώδους/ινωδογόνου: ≥25 mg/L = 3, ≥10 και <25mg/dL = 1, <10 = 0

Μια συνολική βαθμολογία ≥4 είναι συμβατή με την ύπαρξη της ΔΕΠ [136].

Δύο μεταγενέστερες έρευνες μελέτησαν το ιστορικό των ασθενών με ΔΕΠ που διαγνώστηκαν με βάση τα διαγνωστικά κριτήρια JAAM DIC σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς, επισημαίνοντας την ευαισθησία του JAAM DIC σε σχέση με το ISTH DIC, σε ασθενείς με σήψη, και επιτρέποντας τους έτσι να λαμβάνουν έγκαιρη θεραπεία [137],[138]. Ακόμα πιο ενδιαφέρον είναι ότι πρόσφατη μελέτη της ομάδας μελέτης JAAM DIC έδειξε πως περισσότερο από το 50% των ασθενών με σήψη που πέθαναν εντός 28 ημερών δεν ήταν δυνατό να ανιχνευθούν με κριτήρια ISTH DIC κατά τη διάρκεια των αρχικών τριών ημερών [139]. Στον πίνακα 5 που ακολουθεί αναφέρονται οι εργαστηριακές δοκιμές που χρησιμοποιούνται για την διάγνωση της διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης.

Πίνακας 5: Εργαστηριακές δοκιμές στη διάγνωση της διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης [129].

| | |
|---|---|
| Συμβατικές δοκιμασίες ελέγχου πήξης:<br>✓ Παράταση του χρόνου προθρομβίνης (PT), ενεργοποιημένος χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (APTT) και χρόνος θρομβίνης (TT)<br>✓ Υποϊνωδογοναιμία<br>✓ Θρομβοπενία<br>✓ Αυξημένα προϊόντα αποδόμησης ινώδους / ινωδογόνου (FDP, D-διμερές)<br>✓ Παθολογικά ευρήματα στο περιφερικό επίχρισμα (σχιστοκύτταρα, μεγάλου μεγέθους αιμοπετάλια)<br>✓ Παρουσία διφασικής κυματομορφής | Ειδικές δοκιμασίες που υποδηλώνουν υπερπηκτικότητα:<br>✓ Αυξημένα επίπεδα του θραύσματος 1 + 2 (F1 + 2) προθρομβίνης<br>✓ Αυξημένα επίπεδα ινωδοπεπτιδίων A (PPA) και B (FPB)<br>✓ Αυξημένα επίπεδα συμπλέγματος θρομβίνης-αντιθρομβίνης (TAT)<br>✓ Αυξημένα επίπεδα διαλυτού μονομερές ινώδους (sFM) |
| Ειδικές δοκιμασίες που υποδηλώνουν την κατανάλωση φυσικών αναστολέων:<br>✓ Μειωμένα επίπεδα αντιθρομβίνης<br>✓ Μειωμένα επίπεδα αντιπλασμίνης<br>✓ Μειωμένα επίπεδα πρωτεΐνης C και S<br>✓ Αυξημένα επίπεδα συμπλέγματος πλασμίνης-αντιπλασμίνης (PAP) | Βιοδείκτες φλεγμονής:<br>✓ C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)<br>✓ Προκαλτσιτονίνη (PCT)<br>✓ Ιντερλευκίνες 1, 6 και 8<br>✓ Παράγοντας νέκρωσης όγκου-α (TNF-α)<br>✓ Η πρωτεΐνη δέσμευσης LPS (LBP)<br>✓ Λευκά αιμοσφαίρια και λευκοκυτταρικός τύπος. |

# 4. ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ

Οι εργαστηριακές δοκιμασίες οι οποίες παγκοσμίως χρησιμοποιούνται ως πρώτο βήμα στη διερεύνηση των διαταραχών της αιμόστασης, είναι οι ακόλουθες: [140,141].

1. προσδιορισμός χρόνου προθρομβίνης (PT) που εκφράζεται με το διεθνή δείκτη ομαλοποίησης (INR)
2. προσδιορισμός ενεργοποιημένου χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT)
3. προσδιορισμός ινωδογόνου
4. προσδιορισμός αριθμού αιμοπεταλίων
5. προσδιορισμός Δ-Διμερών(D-Dimers) –προϊόντα αποδομής του ινώδους.

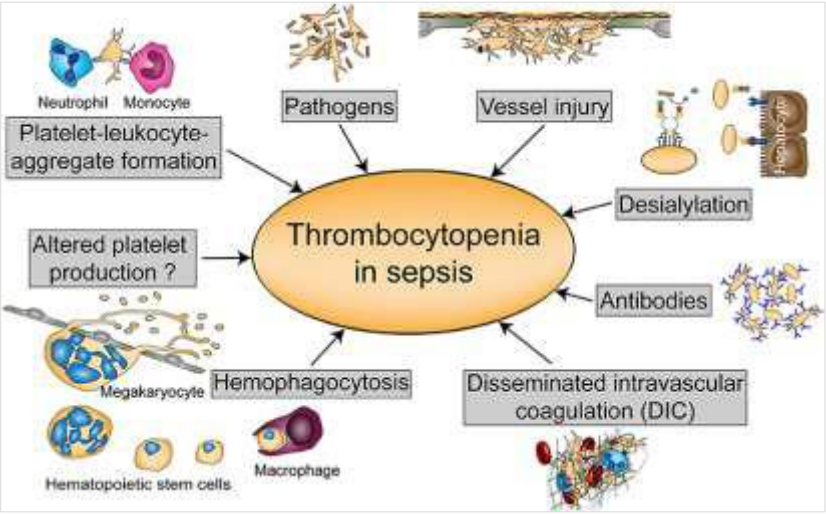
Το **PT** είναι μια απλή, γρήγορη και σχετικά ανέξοδη αιμοστατική δοκιμασία που διερευνά την εξωγενή και κοινή οδό πήξης του αίματος.(142) Παρόλο που οι τιμές του έχουν αναφερθεί ότι βρίσκονται αυξημένες στη μεγάλη πλειοψηφία των ασθενών με ΔΕΠ (μέχρι 70%), η χρήση του PT στη διάγνωση της ΔΕΠ είναι αμφισβητήσιμη, επειδή η αύξηση των τιμών εμφανίζονται συχνά σε μεταγενέστερο στάδιο της νόσου όταν η έκβαση των ασθενών μπορεί ήδη να έχει καθοριστεί [141].

Ο χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (APTT) είναι μια παγκόσμια δοκιμή πήξης ευαίσθητη στην επίδραση κυκλοφορούντων αντιπηκτικών όπως το αντιπηκτικό του λύκου, σε αναστολείς παραγόντων και στην επίδραση της ηπαρίνης. Ανεπάρκειες των παραγόντων πήξης της ενδογενούς και κοινής οδού που μελετά το APTT, μπορεί να είναι επίκτητες ή κληρονομούμενες. Παρατεταμένες τιμές APTT έχουν αναφερθεί σε ποσοστό έως και 50% των ασθενών με ΔΕΠ, αλλά στο άλλο 50% μπορεί να είναι εντός των φυσιολογικών ορίων ή ακόμη και μειωμένες, αντικατοπτρίζοντας τα αυξημένα επίπεδα του von Willebrand στην οξεία φάση της νόσου. Κατά συνέπεια, η κλινική χρησιμότητα της είναι περιορισμένη στη διάγνωση της ΔΕΠ και σίγουρα δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως διαγνωστικό κριτήριο. Θεωρείται ακόμη πιο αναξιόπιστη από την PT [141].

Τα επίπεδα ινωδογόνου συχνά μειώνονται σε ασθενείς με ΔΕΠ λόγω μαζικής κατανάλωσης της πρωτεΐνης που παγιδεύεται μέσα στους θρόμβους. Ωστόσο, η συνολική ευαισθησία των επιπέδων ινωδογόνου πλάσματος για τη διάγνωση ΔΕΠ είναι χαμηλή, δεδομένου ότι το ινωδογόνο κατατάσσεται στις πρωτεΐνες οξείας φάσης και τα επίπεδα του είναι συχνά εντός της φυσιολογικής κλίμακας για μεγάλο χρονικό διάστημα, ειδικά σε ασθενείς με σοβαρές λοιμώξεις. Επομένως, η υποϊνωδογοναιμία συχνά ανιχνεύεται μόνο σε πολύ σοβαρές περιπτώσεις ΔΕΠ ή σε προχωρημένα στάδια της νόσου [141,142]. Σημαντικότερος είναι ο ρόλος των τιμών του ινωδογόνου και η διαχρονική σύγκριση τους, διότι μια ξαφνική και δραματική πτώση συχνά υποκρύπτει μαζική κατανάλωση , όπως συμβαίνει συνήθως σε ασθενείς με ΔΕΠ [141,142].

Σε αντίθεση με το ινωδογόνο, ο αριθμός των αιμοπεταλίων θεωρείται πολύ ευαίσθητος δείκτης στη διάγνωση ΔΕΠ (εικόνα 12). Ο αριθμός των αιμοπεταλίων συσχετίζεται έντονα με τη δημιουργία θρομβίνης, καθώς η προκαλούμενη από θρομβίνη συσσωμάτωση αιμοπεταλίων είναι σε μεγάλο βαθμό υπεύθυνη για την κατανάλωση αιμοπεταλίων. Επιπλέον, επειδή ο αριθμός των αιμοπεταλίων δεν επηρεάζεται από την απόκριση οξείας φάσης, συνολικά είναι πιο αξιόπιστη από τη μέτρηση ινωδογόνου. Ωστόσο, επειδή ο κανονικός αριθμός αιμοπεταλίων κυμαίνεται μεταξύ 150 και 450x10$^{9}$/L, ένας μόνο προσδιορισμός μπορεί να είναι παραπλανητικός. Η διαχρονική σύγκριση δεδομένων μπορεί να παρέχει περισσότερες πολύτιμες πληροφορίες. Πολλές από τις υποκείμενες παθήσεις που σχετίζονται με τη ΔΕΠ μπορεί στην πραγματικότητα να προκαλέσουν χαμηλό αριθμό αιμοπεταλίων επί απουσίας ΔΕΠ, όπως σοβαρές τοπικές λοιμώξεις, κακοήθεια ή αντικαρκινική θεραπεία. Συνεπώς, μια συνεχής πτώση του αριθμού των αιμοπεταλίων, που καθορίζεται κυρίως σε διαστήματα μεταξύ μιας και τεσσάρων ωρών, υποκρύπτει την παραγωγή θρομβίνης και την επακόλουθη ενδοαγγειακή συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων. Αντίθετα, ένας σταθερός αριθμός αιμοπεταλίων υποδηλώνει ότι ο σχηματισμός θρομβίνης έχει σταματήσει [142].

Εικόνα **12.** Σήψη και αιμοπετάλια [143].




Παρόλο που η συμβολή των συμβατικών τεστ στη διάγνωση της ΔΕΠ είναι αναμφισβήτητη, κανένα μεμονωμένο αποτέλεσμα δεν μπορεί να διαγνώσει ή να αποκλείσει την ασθένεια. Δεδομένου ότι η διαδικασία της αιμόστασης πραγματοποιείται μέσα από μια περίπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ αιμοπεταλίων, ενδοθηλιακών κύτταρων, φλεγμονωδών κύτταρων, παραγόντων πήξης και ινωδογόνου, έχει επανειλημμένως αποδειχθεί ότι είναι από δυσχερές έως αδύνατο να προσδιοριστεί οποιαδήποτε εξειδικευμένη διαταραχή της αιμόστασης χρησιμοποιώντας μόνο τα συμβατικά τεστ πηκτικότητας [144]. Όταν προσεγγίζουμε ασθενείς με υποψία ΔΕΠ, είναι επομένως απαραίτητο να εξετάσουμε έναν σύνολο παραμέτρων, συμπεριλαμβανομένων των κλινικών σημείων και συμπτωμάτων, τον εντοπισμό πιθανής υποκείμενης νόσου και, τέλος, τα αποτελέσματα εργαστηριακών εξετάσεων. Όταν γίνεται η επιλογή μεταξύ δοκιμασιών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να βοηθήσουν στη διάγνωση, θα πρέπει πρώτα να θεωρηθεί ότι αυτές μπορεί τελικά να αντικατοπτρίζουν τις μεταβολές του μηχανισμού της αιμόστασης και να συμβαδίζουν με την κρίσιμη φύση αυτής της κατάστασης [145].

Οι παγκόσμιες δοκιμασίες αιμόστασης όπως PT, Το APTT, το ινωδογόνο και ο αριθμός αιμοπεταλίων παρέχουν σημαντικά στοιχεία για την ενεργοποίηση της πήξης του αίματος και, τελικά, την κατανάλωση παραγόντων πήξης, αλλά η διαγνωστική αποτελεσματικότητά τους είναι αμφισβητήσιμη. Οι προαναφερθείσες συμβατικές εξετάσεις δεν παρέχουν καμία πληροφορία-ένδειξη για τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων ή για το σύστημα της ινωδόλυσης [146].

Οι ινωδολυτικοί δείκτες (και συγκεκριμένα το D-διμερές) αντικατοπτρίζουν περισσότερο αξιόπιστα την έκταση της ενεργοποίησης τόσο της πήξης όσο και της ινωδόλυσης, έτσι ώστε η εύρεση των φυσιολογικών τιμών τους να μπορεί να χρησιμοποιηθεί πιο αξιόπιστα για να αποκλειστεί η ασθένεια [129]. Η διαγνωστική συμβολή άλλων δοκιμασιών της αιμόστασης, όπως η αντιθρομβίνη και η πρωτεΐνη C, είναι αμφισβητήσιμη. Τα χαμηλά επίπεδα αυτών των φυσικών αναστολέων είναι δείκτες της υποκείμενης ιστικής υποξίας [147] και συχνά παρατηρούνται σε σηπτικούς ασθενείς με ΔΕΠ, αλλά δεν ενσωματώνονται επί του παρόντος σε κανένα από τους τρεις ευρέως χρησιμοποιούμενους διαγνωστικούς αλγορίθμους για την ΔΕΠ [129].

Οι δοκιμασίες αυτές προϋποθέτουν κατάλληλη συλλογή δειγμάτων αίματος, ώστε να παρέχεται ακρίβεια στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Ωστόσο, σε καμία άλλη ομάδα ασθενών οι αιμοληψίες δε διενεργούνται σε τόσο δύσκολες και αντίξοες συχνά συνθήκες, όσο στα νεογνά. Η εργαστηριακή διάγνωση των αιμοστατικών διαταραχών σε αυτή την πληθυσμιακή ομάδα είναι δύσκολο να διαπιστωθεί, λόγω της ανάγκης να προσαρμοστούν οι εργαστηριακές δοκιμασίες στο πολύ μικρό δείγμα αίματος που λαμβάνεται [148]. Εξάλλου, η επείγουσα φύση των αντιμετωπιζόμενων περιστατικών δεν επιτρέπει την επανάληψη των δοκιμασιών επί αμφιβόλων αποτελεσμάτων, με αποτέλεσμα αυτές αυτόματα να κατατάσσονται ως δυσλειτουργικές, ανεπιθύμητες και χρονοβόρες [146]. Επιπλέον, για την διενέργειά τους απαιτείται μεγάλος όγκος αίματος, επαναλαμβανόμενες αιμοληψίες για επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων και αυξημένος χρόνος επεξεργασίας των δεδομένων, γεγονός που τις καθιστά μη εύχρηστες στην καθημερινή κλινική πράξη στη νεογνολογία.[149,150]. Αξίζει να σημειωθεί πως αν δεν ληφθεί υπόψη η ηλικία του νεογνού καθώς και ο τύπος του αναλυτή και αν δεν χρησιμοποιηθούν ειδικά αντιδραστήρια με γνωστές τιμές αναφοράς για αυτές τις ηλικίες, ελλοχεύει ο κίνδυνος της λανθασμένης διάγνωσης.

Η λειτουργία του αιμοστατικού συστήματος στα παιδιά και στα νεογνά είναι μια περίπλοκη διαδικασία που περιλαμβάνει ποιοτικές και ποσοτικές, με βάση την ηλικία, διαφοροποιήσεις. Οι μελετητές έχουν προχωρήσει στην επισήμανση και ανάλυση των ποιοτικών κυρίως διαφορών του συστήματος πήξης μεταξύ των παιδιών και των νεογνών οι οποίες αφορούν στις διαφορές των πλασματικών συγκεντρώσεων των πρωτεϊνών πήξης. Ειδικότερα, το ινωδογόνο στα νεογνά έχει αποδειχθεί ότι προϋπάρχει σε μια «δυσλειτουργική» εμβρυϊκή μορφή, με αυξημένη συγκέντρωση σε σιαλικό οξύ και σε φωσφόρο σε σύγκριση με το ώριμο ινωδογόνο του ενήλικα.

Ομοίως, παρά την έλλειψη των διαφορών στην ποσότητα και στη δομή των αιμοπεταλίων στα νεογνά σε σύγκριση με τους ενήλικες, αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι τα νεογνικά αιμοπετάλια έχουν ποιοτικές διαφορές σχετιζόμενες με την ηλικία όσον αφορά στη μειωμένη δέσμευση του ινωδογόνου, στην έκκριση κοκκίων, στη συσσώρευσή τους και στην ανταπόκρισή τους σε ανταγωνιστές [151–153].

Επιπλέον, η χρήση των τυπικών για τους ενήλικες εργαστηριακών εξετάσεων συχνά αμφισβητείται ως προς την αποτελεσματικότητα της στα νεογνά, λόγω των τεχνικών δυσκολιών στη δειγματοληψία αίματος στα νεογνά και του σχετικά μεγάλου όγκου αίματος που απαιτείται για μια ολοκληρωμένη δοκιμασία πολλαπλών πρωτεϊνών-στόχων (που αδυνατεί φυσικά να ληφθεί από τα νεογνά). Για όλους αυτούς τους λόγους επομένως, η εκτίμηση των διαταραχών της πήξης με βάση τους τυποποιημένους εργαστηριακούς προσδιορισμούς δεν είναι άκρως αξιόπιστη.

# 5. ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑ/ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΜΕΤΡΙΑ (TEG/TEM)

Σε ό,τι αφορά στην διάγνωση και θεραπευτική αντιμετώπιση της αιμόστασης στα νεογνά, η ακρίβεια στην εργαστηριακή ανάλυση των δειγμάτων αίματος είναι υψίστης σημασίας. Σε καμία άλλη ηλικιακή ομάδα δεν είναι τόσο σημαντική η προσοχή που πρέπει να δίδεται στους προ-αναλυτικούς παράγοντες [148]. Οι εργαστηριακοί παράγοντες της ανάλυσης είναι σημαντικοί και αυτό επεκτείνεται ακόμη και στην επιλογή του είδους του αναλυτή. Υπάρχουν λοιπόν δύο βασικοί τύποι αναλυτών πήξης: οι αναλυτές που ανιχνεύουν τον σχηματισμό θρόμβου μηχανικά μέσω της μείωσης της κίνησης του βιολογικού δείγματος σε μια μεταλλική μπάλα, μιμούμενοι τον σχηματισμό θρόμβου και οι αναλυτές που βασίζονται σε αλλαγές στην οπτική απορρόφηση του φωτός που διέρχεται μέσα από το θρόμβο καθώς αυτός σχηματίζεται. Τα οπτικά συστήματα επηρεάζονται από την παρουσία της χολερυθρίνης και των λιπιδίων και τα δύο από τα οποία είναι ιδιαίτερα ανιχνεύσιμα στο νεογνικό πλάσμα. Ανεξάρτητα από οποιαδήποτε προτίμηση για το ένα ή το άλλο είδος αναλυτή που μπορεί να υπάρχει-και να είναι όλες αποδεκτές-σε άλλες περιόδους της ζωής (πλην της νεογνικής), τα εργαστήρια που εξυπηρετούν τις ΜΕΝΝ μπορεί να χρειαστεί να εξετάσουν ενδελεχώς την ανάγκη για πρόσβαση σε ένα μηχανικό σύστημα πολύ εξειδικευμένο για την ανάλυση των δειγμάτων του νεογνικού αίματος [149,153].

Συγκεκριμένα, η παρακολούθηση και ανάλυση των μηχανισμών αιμόστασης και ινωδόλυσης με μία μόνο εύχρηστη και μη ογκώδη συσκευή που να απαιτεί μικρό δείγμα αίματος και να παρέχει άμεση διαθεσιμότητα των αποτελεσμάτων και αρωγή στην άμεση χορήγηση θεραπείας, είναι αναμφίβολα μια ελκυστική πρόκληση για τους νεογνολόγους [144].

Η θρομβοελαστογραφία/θρομβοελαστομετρία (TEG/TEM) πιθανόν να αντιπροσωπεύει επάξια μία διαγνωστική μέθοδο κατάλληλη για τη βέλτιστη έως τώρα κάλυψη της ανωτέρω ανάγκης. Η θρομβοελαστογραφία (TEG)/θρομβοελαστομετρία (TEM) χρησιμοποιώντας μια συσκευή, αποτελεί μια διαγνωστική μέθοδο που αφενός μεν παράσχει γενικές πληροφορίες σχετικά με τη δυναμική της ανάπτυξης και της λύσης του θρόμβου, αφετέρου δε αποτελεί και τη μοναδική δοκιμασία παρακολούθησης των σταδίων της πήξης με τις εξής πολύτιμες παραμέτρους [154,155].

1. Δημιουργία του θρόμβου
2. Κινητική του θρόμβου
3. Σταθερότητα και ελαστικότητα του θρόμβου
4. Λύση του θρόμβου
5. Αναπαράσταση των ιξωδο-ελαστικών αλλαγών που συμβαίνουν κατά τη διαδικασία αποδόμησης του ινώδους
6. Διαφορική διάγνωση των συγγενών και επίκτητων πρωτοπαθών διαταραχών της πήξης από την αιμορραγία χειρουργικής /τραυματικής αιτιολογίας [154]

Η TEG ξεκίνησε να χρησιμοποιείται από τον Dr Kang και τους συνεργάτες του την δεκαετία του 1970 στην καρδιοχειρουργική και στις μεταμοσχεύσεις ήπατος, αφού για πάνω από 25 χρόνια, από το 1948 που έγινε η πρώτη περιγραφή της από τον Helmut Hartert στην Χαϊδελβέργη, δεν είχε εφαρμοστεί στην κλινική πράξη. Από την δεκαετία του 1990 και μετά, η χρησιμοποίηση της άρχισε σταδιακά να αυξάνεται, κυρίως σε συγκεκριμένα κέντρα και λιγότερο σε μικρότερες υγειονομικές μονάδες, για την μελέτη περιστατικών που αφορούν σε παθολογικούς ασθενείς, (κιρρωτικούς, σηπτικούς κ.τ.λ.), πολυτραυματίες των ΜΕΘ, στην αναισθησιολογία, την μαιευτική, την παιδιατρική κ.τ.λ. Με το πέρασμα των χρόνων παρατηρείται μια σημαντική διεύρυνση του τομέα εφαρμογής της, αφού ολοένα και αυξάνονται οι κατηγορίες των ασθενών που μελετά [156–159].

### Η τεχνική της θρομβοελαστογραφίας/θρομβοελαστομετρίας **(TEG/**TEM**).**

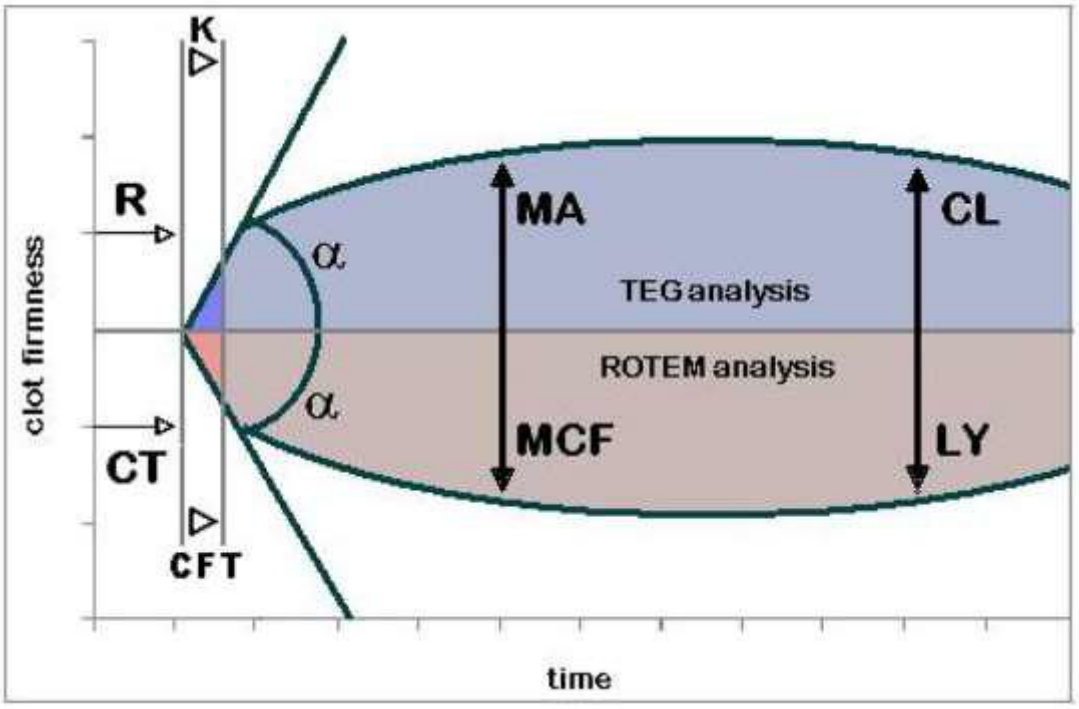
Οι συσκευές που διατίθενται σήμερα και χρησιμοποιούν τις αρχές της θρομβοελαστογραφίας είναι:

**1. TEG®** 500 Haemostatic Analyzer System
**2. ROTEM®** delta (TEM Innovations GmbH, München).
3. ROTEM® sigma C
4. ROTEM® aggregometry
5. TEG® 5000
6. TEG® 6s
7. TEG® analyzer with platelet mapping

Αυτά τα μηχανήματα, είναι συνδεμένα με υπολογιστή, ο οποίος με τη χρήση ενσωματωμένου μαθηματικού αλγόριθμου, εξάγει τις πληροφορίες για το αιμοστατικό προφίλ του ασθενούς.

Οι παράμετροι που μετρούν είναι παρόμοιοι, αλλά έχουν διαφορετικές ονομασίες [154,155,160,161]. (Εικόνα 13).

Εικόνα **13. TEG®/ROTEM®** παράμετροι




*1 - Χρόνος πήξης R (κατά TEG® 500) και CT (κατά ROTEM®):*

Αντιπροσωπεύει το χρονικό διάστημα από την έναρξη της εξέτασης, έως την έναρξη σχηματισμού του θρόμβου δηλαδή έως ότου η κυματομορφή να φτάσει το πλάτος των 2mm. Αυξημένος χρόνος R ή CT παρατηρείται σε καταστάσεις όπως:

- ανεπάρκεια παραγόντων πήξης
- χορήγηση αντιπηκτικών
- σοβαρή υποϊνωδογοναιμία
- σοβαρή θρομβοπενία

Μειωμένος χρόνος R ή CT παρατηρείται σε καταστάσεις όπως:

- σύνδρομα υπερπηκτικότητας

Αντανακλά διαταραχές σε επίπεδο παραγόντων πήξης, οι οποίες δε σχετίζονται πάντα με διαταραχές των PT και aPTT.

*2 - Σταθερά K (κατά TEG® 500) και CFT (κατά ROTEM®) ή χρόνος δημιουργίας* θρόμβου:

Αντιπροσωπεύει το χρόνο που είναι απαραίτητος για να επιτευχθεί ικανό και ασφαλές επίπεδο αντοχής και ισχύος του θρόμβου (χρόνος μηδέν = χρόνος R ή CT). Ισοδυναμεί με το χρόνο που απαιτείται για να αυξηθεί το πλάτος της κυματομορφής του θρόμβου κατά 20 mm πάνω από τα αρχικά 2mm. Αυξημένος χρόνος K ή CFT παρατηρείται σε καταστάσεις όπως:

- ανεπάρκεια παραγόντων πήξης
- θρομβοπενία
- υποϊνωδογοναιμία
- διαταραχές λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων

Μειωμένος χρόνος K ή CFT παρατηρείται σε καταστάσεις όπως:

- σύνδρομα υπερπηκτικότητας

*3 – Γωνία α° (και για τα δύο μηχανήματα):*

Μετρά την ταχύτητα σύνθεσης – ενίσχυσης του θρόμβου. Μετρά το ποσοστό του σχηματισμένου θρόμβου σε συγκεκριμένο χρόνο (ίδιος με αυτόν της σταθερά K ή CFT. Μεγαλύτερες τιμές γωνίας α είναι δηλώνουν αυξημένη ταχύτητα δημιουργίας θρόμβου. Επομένως, αυξημένες τιμές γωνίας α°, παρατηρούνται σε καταστάσεις όπως:

- σύνδρομα υπερπηκτικότητας

Μειωμένες τιμές γωνίας α°, παρατηρούνται σε καταστάσεις όπως:

- θρομβοπενία
- υποϊνωδογοναιμία

*4 - Μέγιστη σταθερότητα θρόμβου* MA *(κατά TEG® 500) και MCF (κατά ROTEM®):*

Αντιπροσωπεύει τη μέγιστη ισχύ και ανθεκτικότητα του θρόμβου. Αποτελεί άμεση συνάρτηση της μέγιστης δυναμικής ιδιότητας του ινώδους και της συγκόλλησης των αιμοπεταλίων μέσω των υποδοχέων GPIIb/IIIa. Σχετίζεται κατά 80% με τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων και κατά 20% με τη λειτουργικότητα του ινωδογόνου. Ο MCF/MA, εκφράζει τελικά τη μέγιστη αντοχή του τελικού αιμοστατικού πήγματος.

Αυξημένες τιμές MCF/MA παρατηρούνται σε καταστάσεις όπως:

- σύνδρομα υπερπηκτικότητας

Μειωμένες τιμές MCF/MA παρατηρούνται σε καταστάσεις όπως:

- μειωμένη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων
- θρομβοπενία
- υποϊνωδογοναιμία

*5 - A10, A20 και A30*: αντιπροσωπεύουν τη σταθερότητα του θρόμβου στα 10, 20 και 30 λεπτά αντίστοιχα, μετά από τη δημιουργία του CT, επηρεάζονται επίσης από τον αριθμό των αιμοπεταλίων και προβλέπουν την τιμή του MCF.

6 - *Σταθερά G ή MCE:* είναι ένα αριθμητικό μέτρο της συνολικής ισχύος – ελαστικότητας του θρόμβου, το οποίο εξάγεται από το πλάτος (A/MCF)του θρόμβου με ενσωματωμένη τη συνεισφορά ενζύμων και αιμοπεταλίων : G=(5000*A ή MCF)/(100-A ή MCF).

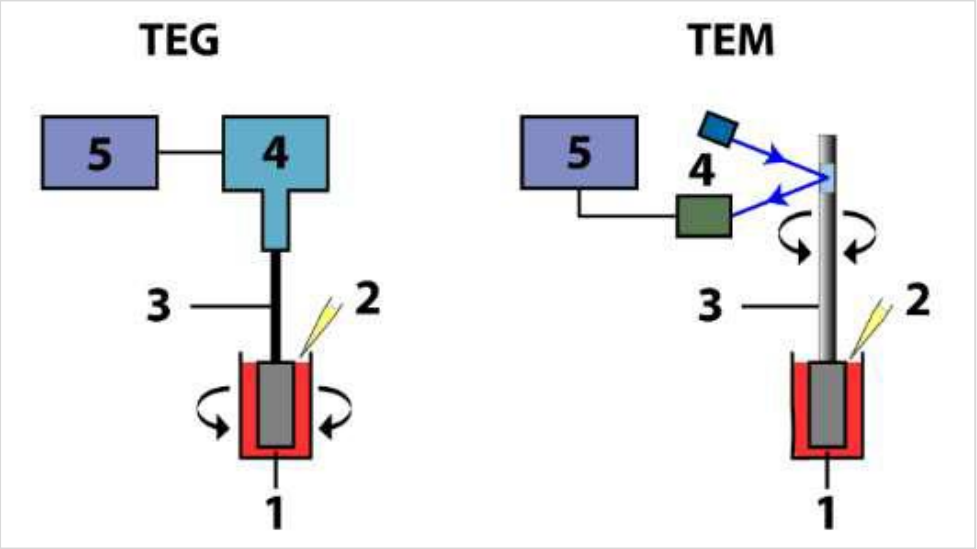
*7 - Lysis Index (%):* Ο δείκτης λύσης του θρόμβου αντιπροσωπεύει την ινωδόλυση σε ένα καθορισμένο χρονικό σημείο. Έτσι το LI30%, LI45%, LI60%: μετρά το ποσοστό του πλάτους του θρόμβου σε σχέση με MA/MCF στα 30, 45 και 60min αντίστοιχα μετά από το CT ή R.

*8 - ML (%):* Η μέγιστη λύση είναι μια παράμετρος που περιγράφει το βαθμό ινωδόλυσης σε σχέση με το MCF που επιτυγχάνεται κατά τη διάρκεια της μέτρησης. Μετρά το ποσοστό μείωσης του πλάτους του θρόμβου μετά από MCF/MA σε σχέση την MCF/MA και αντανακλά το βαθμό-ρυθμό της ινωδόλυσης. Αυξημένη τιμή ML σημαίνει υπερινωδόλυση.
Στην «κλασσική» θρομβοελαστογραφία του Hartert, το δείγμα ολικού αίματος τοποθετείται σε μια «κυβέτα» (πολύ μικρό δοχείο) η οποία περιστρέφεται αργά με ένα ρυθμό 6 κύκλων ανά λεπτό. Η «μη-φυσιολογική» επιφάνεια της κυβέτας με την προσθήκη «ιόντων ασβεστίου» ενεργοποιεί τον μηχανισμό της πήξης. Η ακίδα -"pin" αποτελεί τον «αισθητήρα» του μηχανήματος , είναι συνδεδεμένη με ένα ειδικό «σύρμα» και εισέρχεται εντός του

δείγματος. Ο σχηματισμένος θρόμβος φέρει σε επαφή -ως ένα είδος «φυσιολογικού» κυκλώματος- την έσω επιφάνεια της κυβέτας και την επιφάνεια του αισθητήρα.

Οι αλλαγές στην ελαστικότητα του δείγματος αίματος μέσα στην κυβέτα ανιχνεύονται με διαφορετικό τρόπο ανάλογα με τις τεχνολογικές δυνατότητες της κάθε εποχής. Ένας ηλεκτρονικός υπολογιστής έχει αντικαταστήσει το θερμογραφικό χαρτί της περιόδου του Helmut Hartert. Λόγω της ελεύθερης ανάρτησης του αισθητήρα, το θρομβοελαστογράφημα, σύμφωνα με τον Hartert, είναι εξαιρετικά ευαίσθητο σε μηχανικούς κραδασμούς. Αυτό το ελάττωμα ξεπερνιέται από το σύστημα ROTEM® το οποίο χρησιμοποιεί έναν περιστρεφόμενο αισθητήρα – pin, στερεωμένο σε έναν άξονα χάλυβα που σταθεροποιείται από ένα μοναδικό ρουλεμάν και την ακριβή μέθοδο οπτικής ανίχνευσης. Σήμερα η μέθοδος είναι πλήρως αυτοματοποιημένη, εκτελείται αεροστεγώς στους 37 ◦C και μπορεί να παραταθεί από 1 έως 2 ώρες υπό τις συνήθεις κλινικές καταστάσεις, έως 24 ώρες ή και περισσότερο στις περιπτώσεις μελέτης της ινωδόλυσης εάν αυτό κριθεί απαραίτητο. Το χρονικό όριο των 30-90 λεπτών για να δουλευτεί/επεξεργαστεί το δείγμα από τη στιγμή της λήψης του και την παράταση της λειτουργίας της μεθόδου στα 60-90 λεπτά από το χρόνο πήξης θεωρείται ως ένα ασφαλές και κατάλληλο χρονικό περιθώριο για μια ολική εκτίμηση του αιμοστατικού μηχανισμού. Στο σύστημα ROTEM® η ακίδα-«αισθητήρας» είναι προσαρμοσμένη στην άκρη ενός περιστρεφόμενου άξονα ο οποίος οδηγείται από ένα ηλεκτρονικά ελεγχόμενο σύστημα υψηλής ακρίβειας που φέρει μεταλλικά σφαιρίδια. Δείγμα ολικού αίματος τοποθετείται σε κυβέτα μέσα στην όποια βυθίζεται ο κυλινδρικός αισθητήρας-ακίδα. Μεταξύ του αισθητήρα και της κυβέτας παραμένει ένα κενό 1 mm, γεφυρωμένο από το αίμα. Ο άξονας, συνδεδεμένος με ένα ειδικό ελατήριο που ανιχνεύει τη μεταβολή στην ελαστικότητα του δείγματος, κινείται από δεξιά προς τα αριστερά σε μια γωνία (+/- 4,75◦) με περιοδικό χρόνο 10 κύκλων ανά λεπτό. Ένας μικρός καθρέπτης που είναι προσαρμοσμένος στον άξονα ανιχνεύει με την αντανάκλαση του φωτός την ακριβή θέση του. Όσο το αίμα είναι σε υγρή μορφή, η κίνηση είναι απεριόριστη. Όταν το αίμα αρχίζει να θρομβώνει, ο θρόμβος περιορίζει όλο και περισσότερο την περιστροφή του άξονα ανάλογα πάντα με την αυξανόμενη σταθερότητα του θρόμβου. Η γωνία κίνησης του άξονα μεταβάλλεται με την απώλεια της ελαστικότητας του θρόμβου κατά την ανάπτυξη αυτού εντός του δείγματος,. Οι μεταβολές αυτές αναλύονται από έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή και καταγράφονται οπτικά με μια γραφική απεικόνιση με την «τυπική» όπως λέγεται εικόνα του θρομβοελαστογραφικού γραφήματος δίκην «ποτηριού σαμπάνιας» (“champagne glass”). (Εικόνα 14).

Εικόνα **14.** Λειτουργία **TEG/ROTEM** [162].

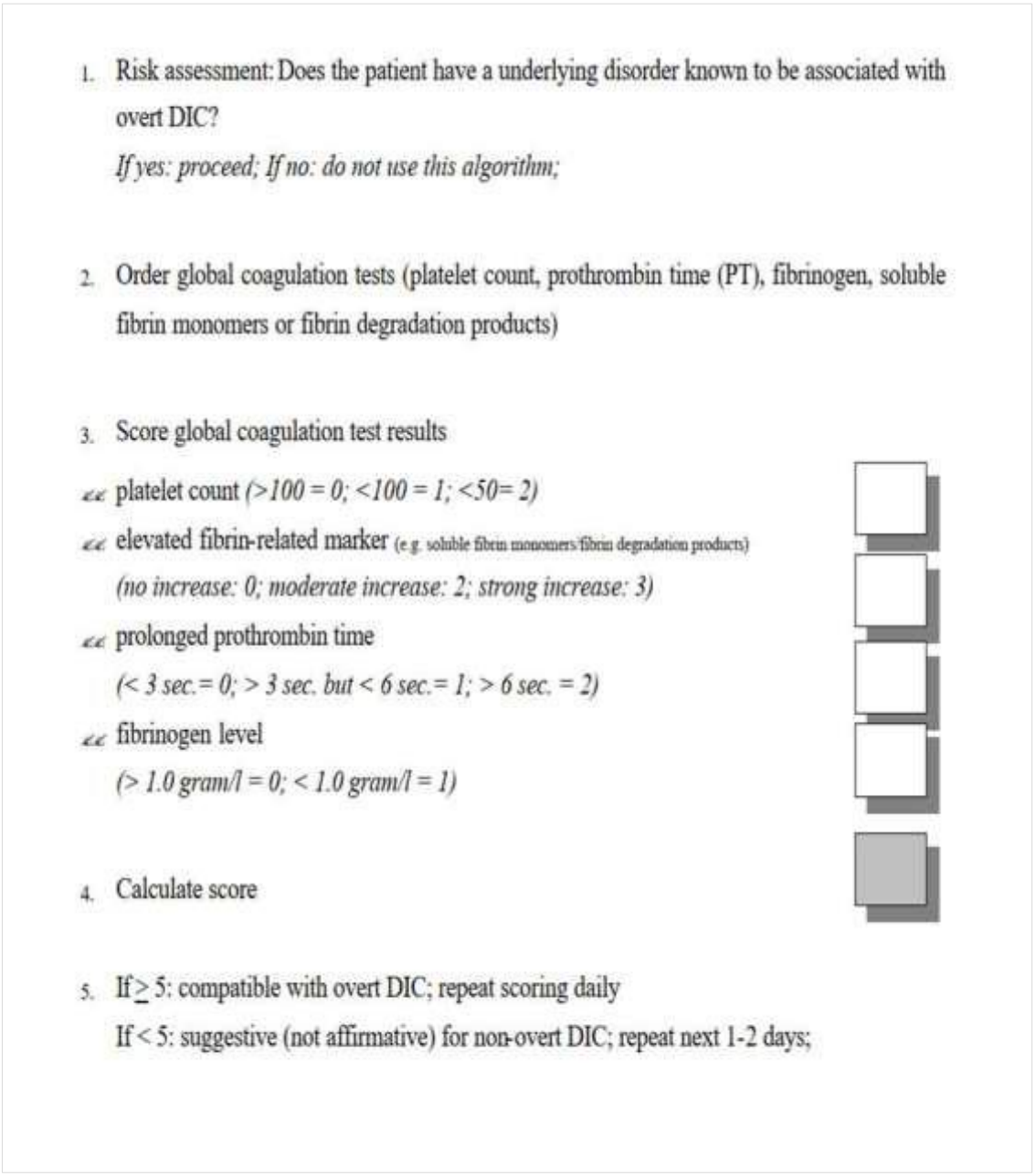



Η προηγμένη τεχνολογία του ROTEM® σε συνδυασμό με την αυτοματοποιημένη πιπέτα, την οθόνη αφής και το φιλικό προς το χρήστη λογισμικό στο ROTEM®, έχει βελτιστοποιήσει το TEM® κατατάσσοντας το ως POC (point-of-care medical device) καθιστώντας το ικανό για χρήση ακόμα και σε εργαστήρια έκτακτης ανάγκης [160].

# 6. ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΜΕΤΡΙΑ ΚΑΙ ΣΗΨΗ

Όπως ήδη έχει αναφερθεί, στο αρχικό στάδιο της σηψαιμίας παρατηρείται το φαινόμενο της υπερπηκτικότητας λόγω της συσσώρευσης ινώδους σε μικρά αγγεία και κατ' επέκταση της απόφραξης των τριχοειδών αγγείων με μικροθρόμβους. Στο αμέσως επόμενο στάδιο ωστόσο, η υπερπηκτικότητα αντικαθίσταται από την υποπηκτικότητα λόγω της άμετρης ενεργοποίησης και υπερκατανάλωσης των παραγόντων πήξης όπως και της υπερσυσσώρευσης των αιμοπεταλίων. Η ικανότητα ανίχνευσης της αιμοστατικής διαταραχής των σηπτικών ασθενών σε αρχικό στάδιο δρα ελπιδοφόρα για την έγκαιρη διάγνωση της διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης [131,163,164]. Πιο συγκεκριμένα, η διάγνωση της ΔΕΠ στη σήψη βασίζεται σε διάφορα συστήματα βαθμολόγησης όπως η βαθμολογία του ISTH ή η βαθμολογία του JAAM ,ο υπολογισμός των οποίων επιτυγχάνεται με τη χρήση συμβατικών δοκιμασιών πήξης (standard coagulations tests SCTs), (εικόνες 15,16), την μέτρηση των αιμοπεταλίων και την αξιολόγηση των προϊόντων αποδόμησης του ινώδους/ινωδογόνου [165,166]. Το 2001 το ISTH πρότεινε ένα σύστημα βαθμολόγησης για την διάγνωση της κλινικά μη εμφανούς ΔΕΠ εκτιμώντας τα αποτελέσματα των συμβατικών δοκιμασιών πήξης ,τα επίπεδα της αντιθρομβίνης και της πρωτεΐνης C, μελετώντας τις αλλαγές της κατάστασης σήψης με την πάροδο του χρόνου [130].

Εικόνα **15.** Διαγνωστικός αλγόριθμος για τη διάγνωση κλινικά εμφανούς ΔΕΠ[130]**.**



1. Risk assessment: Does the patient have a underlying disorder known to be associated with overt DIC?
   *If yes: proceed; If no: do not use this algorithm;*

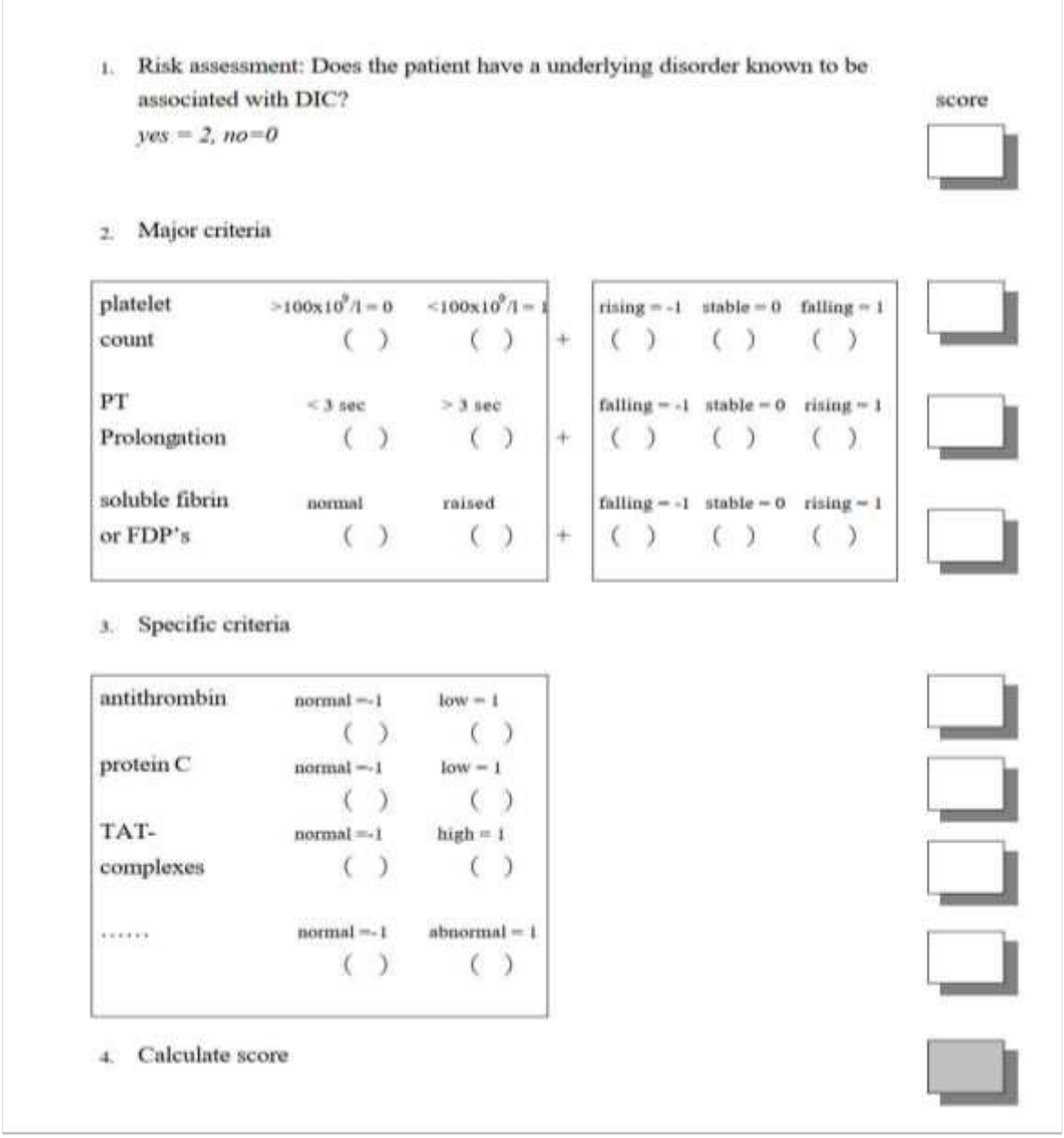
2. Order global coagulation tests (platelet count, prothrombin time (PT), fibrinogen, soluble fibrin monomers or fibrin degradation products)

3. Score global coagulation test results
   - platelet count *(>100 = 0; <100 = 1; <50= 2)*
   - elevated fibrin-related marker (e.g. soluble fibrin monomers/fibrin degradation products)
     *(no increase: 0; moderate increase: 2; strong increase: 3)*
   - prolonged prothrombin time
     *(< 3 sec.= 0; > 3 sec. but < 6 sec.= 1; > 6 sec. = 2)*
   - fibrinogen level
     *(> 1.0 gram/l = 0; < 1.0 gram/l = 1)*

4. Calculate score

5. If ≥ 5: compatible with overt DIC; repeat scoring daily
   If < 5: suggestive (not affirmative) for non-overt DIC; repeat next 1-2 days;

Εικόνα **16.** Προσχέδιο συστήματος βαθμονόμησης για μη κλινικά εμφανή ΔΕΠ[130]**.**




Η πλειοψηφία των ασθενών με σήψη δεν εντοπίζεται στην πρώιμη φάση της υπερπηκτικότητας (κλινικά μη εμφανής ΔΕΠ), αλλά μάλλον όταν η αιμοστατική δυσλειτουργία που προκαλείται από σηψαιμία έχει εγκατασταθεί και έχει ήδη προχωρήσει σε εμφανή ΔΕΠ.

Ωστόσο, στην πρώιμη φάση της ΔΕΠ, οι ιξωδοελαστικές δοκιμασίες (viscoelastic tests -VET), στις οποίες ανήκουν η περιστροφική θρομβοελαστομετρία (ROTEM®) και η θρομβοελαστογραφία (TEG®), μπορούν έγκαιρα να ανιχνεύσουν την ενεργοποίηση της πήξης που οδηγεί σε υπερπηκτικότητα, σε αντίθεση με τις συμβατικές δοκιμασίες πήξης που αδυνατούν να το κάνουν. Σε πειραματική μελέτη των Schochl και συνεργάτων του, η πρώιμη ενεργοποίηση της πήξης κατόπιν ενδοφλέβιας χορήγησης ενδοτοξίνης σε ζώα, ανιχνεύθηκε από το ROTEM® αλλά όχι από τις συμβατικές δοκιμασίες πήξης [167]. Σε μελέτη επίσης του Adamik και συνεργάτων του, χρησιμοποιώντας το ROTEM®, εντοπίστηκαν ασθενείς με υπερ-υποπηκτικότητα και φυσιολογικό προφίλ πήξης που όμως ήταν σηπτικοί και έγινε άμεση εισαγωγή τους στην ΜΕΘ. Η ROTEM® σχετίζει την ομάδα των ασθενών που παρουσιάζει διαταραχές στην πήξη (υπέρ ή υποπηκτικότητα) με υψηλό ποσοστό θνησιμότητας συγκριτικά με ασθενείς που παρουσιάζουν φυσιολογικές τιμές πήξης, σε αντίθεση με τις δοκιμασίες SCTs που δεν δύνανται να ανιχνεύσουν την ομάδα των σηπτικών ασθενών με υπερπηκτικότητα και κατ' επέκταση να επισημάνουν τον αυξημένο κίνδυνο θνησιμότητας [168].

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Sivula και συνεργάτες του, στην ομάδα των ασθενών με σήψη οι τιμές των παραμέτρων ROTEM παρουσίασαν διαφορές μεταξύ σηπτικών ασθενών με ή χωρίς ΔΕΠ, αποκαλύπτοντας την ύπαρξη υποπηκτικότητας σε ασθενείς με κλινικά εμφανή ΔΕΠ και μια τάση υπερπηκτικότητας σε εκείνους με κλινικά μη εμφανή ΔΕΠ συγκριτικά με τους υγιείς μάρτυρες [164]. Οι Sharma και οι συνεργάτες του επίσης, σε δική τους μελέτη διαπίστωσαν πως οι διαταραγμένες παράμετροι της TEG έδειχναν υποπηκτικότητα σε σηπτικούς ασθενείς με κλινικά εμφανή ΔΕΠ, ενώ, συνδυάζοντας τα αποτελέσματα τεσσάρων παραμέτρων της TEG αυξήθηκε ο βαθμός ευαισθησίας και ειδικότητας για την πρόβλεψη της ΔΕΠ [169].

Σε ένα μικρό δείγμα σηπτικών ασθενών αποδείχθηκε πως ο χρόνος πήξης CT που μετρήθηκε με τη μέθοδο ROTEM® είχε την ίδια διαγνωστική ικανότητα για την ανίχνευση της ΔΕΠ σε σηπτικούς ασθενείς με το JAAM DIC score, άμεση συσχέτιση με τη βαρύτητα της νόσου, όπως επίσης είχε πολύ καλό βαθμό ευαισθησίας και ειδικότητας για την πρόβλεψη της ΔΕΠ, παρόμοιο με αυτόν που παρέχουν η μέτρηση του PT, INR καθώς και η συγκέντρωση στο πλάσμα προϊόντων αποδόμησης ινώδους/ινωδογόνου [170].

Η σηψαιμία μπορεί να συσχετιστεί με διαταραχές της πήξης που χαρακτηρίζονται από ευρεία κλιμάκωση ως προς τη σοβαρότητα οι οποίες δεν μπορούν να αναγνωριστούν μόνο από τις

μεθόδους SCTs. Η χρήση των VET μπορεί να προσφέρει μια πιο λεπτομερή εικόνα και να αποκαλύψει απλές και στοχοθετημένες θεραπευτικές παρεμβάσεις για τη βελτιστοποίηση της πήξης. Στην σήψη, η κλινικά εμφανής ΔΕΠ συνδέεται με την υποπηκτικότητα που αποκαλύπτεται από τις παραμέτρους των VET, όπως οι παρατεταμένες τιμές μεταβλητών CT/R και CFT/K και από το μειωμένο πλάτος του θρόμβου [164,169,171].

Η χρήση των VET παρέχει ένα χρήσιμο εργαλείο για τη διάγνωση της ΔΕΠ, συμπεριλαμβανομένων των ασθενών με κλινικά μη εμφανή ΔΕΠ, χωρίς τις καθυστερήσεις που συνήθως συνδέονται με τις δοκιμασίες SCTs. Πολλές δοκιμές αντιπηκτικών θεραπειών σε σηψαιμία δεν ήταν επιτυχείς λόγω αδυναμίας στην έγκαιρη επιλογή των ασθενών ή καθυστέρησης στη χορήγηση φαρμάκου. Σε αυτό το σημείο, οι VET θα μπορούσαν επίσης να αποδειχθούν χρήσιμες για την έγκαιρη αναγνώριση των ασθενών με κλινικά εμφανή ΔΕΠ και για την κατάλληλη επιλογή των ασθενών-στόχων που θα συμπεριληφθούν σε δοκιμές αντιπηκτικών θεραπειών στη σηψαιμία.

Οι VET αποτελούν μέθοδο ανίχνευσης της μειωμένης λύσης του θρόμβου σε σηπτικούς ασθενείς. Παρέχουν σημαντικές πληροφορίες για την εκτίμηση της λύσης του θρόμβου, παρά την περιορισμένη ευαισθησία τους, όπως και για την ποσοτική εκτίμηση της ινωδόλυσης. Αντίθετα με την SCT, οι VET είναι χρήσιμες για την ανίχνευση υπερπηκτικότητας που απαντάται συχνά στα πρώιμα στάδια της σηψαιμίας, επιτρέποντας έγκαιρα τον εντοπισμό των ασθενών που διατρέχουν κίνδυνο εμφάνισης θρομβωτικών επιπλοκών.

Οι VET συμβάλλουν στην ταχεία αναγνώριση της ΔΕΠ και στην πρόβλεψη της έκβασης των ασθενών με σήψη, καθώς η ανάπτυξη της υποπηκτικότητας σχετίζεται έντονα με την αυξημένη θνησιμότητα. Ωστόσο, αδυνατούν να ανιχνεύσουν άλλες διαταραχές της αιμόστασης που σχετίζονται με μη αίσια έκβαση, όπως η δυσλειτουργία των αιμοπεταλίων ή η έλλειψη ADAMTS-13 και άλλα. Απαιτούνται περισσότερες έρευνες για την ανάπτυξη νέων αντιδραστηρίων ή/και δοκιμών που επιτρέπουν την καλύτερη αξιολόγηση της ισορροπίας μεταξύ υπό και υπερπηκτικότητας, με VET ολικού αίματος. Αυτό θα επέτρεπε μια καλύτερη αξιολόγηση της ινωδολυτικής δραστηριότητας έτσι ώστε να καταταχθούν οι δοκιμασίες VET στην κορυφή των εργαστηριακών εξετάσεων για την ανίχνευση των διαταραχών της αιμόστασης [172].

# ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

# **1.** ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της μελέτης είναι να αξιολογηθεί το κατά πόσο η θρομβοελαστογραφία/θρομβοελαστομετρία μπορεί να ανιχνεύσει πρώιμες διαταραχές της ινωδόλυσης σε σηπτικά νεογνά .

*Ειδικότερα:*

Η διερεύνηση της πιθανής ικανότητας του ROTEM να αξιολογήσει την κατάσταση του ινωδολυτικού συστήματος σε σηπτικά νεογνά προκειμένου να αποκτηθεί εικόνα σχετικά με την παθοφυσιολογία των διαταραχών της αιμόστασης στη νεογνική σηψαιμία και τη συσχέτιση του ινωδολυτικού προφίλ των σηπτικών νεογνών με τη σοβαρότητα της νόσου.

# **2.** ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

## **2.1.** ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Στο χρονικό διάστημα της διετίας από τον Απρίλιο 2017 έως τον Απρίλιο του 2019 μελετηθήκαν 66 πάσχοντα νεογνά με υποψία ή επιβεβαιωμένη σήψη και 110 υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά που χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες.

Τα πάσχοντα νεογνά ταξινομήθηκαν σε δύο ομάδες**:**

- Ομάδα Α: 44 νεογνά με επιβεβαιωμένη σήψη. Ως σηπτικά νεογνά ορίστηκαν τα νεογνά τα οποία πληρούσαν τα κάτωθι κριτήρια:
  - ✓ παρουσία >3 θετικών κλινικών συμπτωμάτων που σχετίζονται με τη σήψη
  - ✓ και/ή παρουσία >2 θετικών εργαστηριακών ευρημάτων-δεικτών που σχετίζονται με τη σήψη
  - ✓ ή/και παρουσία θετικής καλλιέργειας (κ/α) αίματος ή άλλων βιολογικών υγρών.

  Τα νεογνά της ομάδας Α κατηγοριοποιήθηκαν περαιτέρω σε δύο υποομάδες ανάλογα με την παρουσία ή όχι κλινικά εμφανούς αιμορραγικής διάθεσης (αιμορραγία από τους βλεννογόνους, αιμορραγία αναπνευστικού, γαστρεντερικού ή ουροποιητικού συστήματος και στα σημεία νυγμού μετά από φλέβο/αρτήριο-κέντηση).
- Ομάδα Β: 22 νεογνά με υποψία σήψης. Ως ύποπτα για σήψη κατατάχθηκαν νεογνά με κλινικά συμπτώματα και/ή σημεία ύποπτα λοίμωξης που έχρηζαν αντιμικροβιακής αγωγής, χωρίς όμως εργαστηριακή επιβεβαίωση σήψης (<2 εργαστηριακά ευρήματα και με βασική προϋπόθεση την αρνητική κ/α αίματος ή άλλων βιολογικών υγρών).

Τα κλινικά συμπτώματα και σημεία που σχετίζονται με τη σήψη περιλαμβάνουν: (i) θερμορυθμιστική αστάθεια (που ορίζεται ως η θερμοκρασία σώματος >38.5 ή <36 ◦ C ή διαφορά κεντρικής και περιφερικής θερμοκρασίας σώματος >3◦C), (ii) ταχυκαρδία (που ορίζεται ως η καρδιακή συχνότητα >2 SD από τη μέση για την ηλικία καρδιακή συχνότητα επί απουσίας εξωτερικών ερεθισμάτων, χρήσης φαρμάκων ή επώδυνων ερεθισμάτων, (iii) βραδυκαρδία (που ορίζεται ως η καρδιακή συχνότητα με ρυθμό <10% από το μέσο για την ηλικία καρδιακό ρυθμό επί απουσίας των εξωτερικών ερεθισμάτων του πνευμονογαστρικού, της χρήσης β- αποκλειστών υποδοχέων ή συγγενούς καρδιοπάθειας ή άλλης ανεξήγητης

ανθεκτικής ταχυκαρδίας σε χρονική περίοδο 0,5 έως 4 ωρών), (iv) άπνοια ή αυξημένη αναπνευστική συχνότητα με απώτερη ανάγκη οξυγονοθεραπείας ή μηχανικής υποστήριξης της αναπνοής (v) ιστική υποξία, υπόταση (μείωση της αρτηριακής πίεσης <5ο για την ηλικία εκατοστημόριο ή συστολική αρτηριακή πίεση> 2 SD κάτω από το φυσιολογικό για την ηλικία ή ανάγκη για αγγειοδραστικό φάρμακο για τη διατήρηση της αρτηριακής πίεσης σε κανονική κλίμακα), (vi)ελλιπής σιτιστική ανοχή, (vii) διάταση της κοιλιάς, ηπατομεγαλία, (viii) υποτονία, λήθαργος, ευερεθιστότητα, (ix) ωχρότητα, ίκτερος, λύση του δέρματος, αιμορραγικό εξάνθημα.

Στους παράγοντες κινδύνου για λοίμωξη από το περιγεννητικό ιστορικό καταγράφηκαν το εμπύρετο της μητέρας κατά τον τοκετό, η χοριοαμνιονίτιδα και η πρόωρη και παρατεταμένη ρήξη του θυλακίου (> 18 ώρες).

Εργαστηριακά ευρήματα ενδεικτικά σηψαιμίας**:** (i) Ανεξήγητη μεταβολική οξέωση (έλλειμμα βάσης>10, mEq/L ή/και αυξημένη συγκέντρωση γαλακτικού οξέος στο αρτηριακό αίμα δυο φορές πάνω από το ανώτερο φυσιολογικό όριο), (ii) λευκοπενία (WBC< 5000/$mm^3$), (iii) απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων >5400/$mm^3$ ή <500/$mm^3$, (iv) σχέση αώρων /ολικά ουδετερόφιλα (I/T)> 0.2, (v) θρομβοπενία (αριθμός αιμοπεταλίων < 100.000/$mm^3$ ή μείωση κατά 50% του αριθμού των αιμοπεταλίων από την υψηλότερη τιμή που έχει καταγραφεί κατά τη διάρκεια των τελευταίων 3 ημερών παρακολούθησης, (vi) αυξημένη CRP (>3mg/L).

Από τη μελέτη αποκλείστηκαν τα νεογνά με περιγεννητική ασφυξία, συγγενείς δυσπλασίες και εκείνα που κατά τη διάρκεια της νοσηλείας τους χρειάστηκαν μετάγγιση η οποία προηγήθηκε της αιμοληψίας για τη διενέργεια της ΤΕΜ, με παράγωγα αίματος (PLT, FFP ή κρυοϊζημα αναλόγως της διαταραχής).

Ως υγιείς μάρτυρες ορίστηκαν**:**

**110** τελειόμηνα και πρόωρα υγιή νεογνά

Ως υγιή τελειόμηνα νεογνά ορίστηκαν τα νεογνά που γεννήθηκαν στο μαιευτήριο του Γ.Ν. Νίκαιας ηλικίας κύησης μεγαλύτερη από $36^{+6}$ εβδομάδες και κανονικό βάρος γέννησης για την ηλικία κύησης (AGA), τα οοποία γεννήθηκαν με φυσιολογικό τοκετό ή προγραμματισμένη/ εκλεκτική καισαρική τομή, με ελεύθερο περιγεννητικό ιστορικό και χωρίς προβλήματα από το 1ο 24ωρο ζωής έως και την έξοδο τους από το μαιευτήριο. Από τη μελέτη αποκλείστηκαν τα τελειόμηνα νεογνά που γεννήθηκαν με επείγουσα καισαρική ή χρειάστηκαν νοσηλεία στη ΜΕΝΝ.

Ως υγιή πρόωρα νεογνά ορίστηκαν τα νεογνά που νοσηλεύτηκαν στην μονάδα του νοσοκομείου μας και είχαν ηλικία κύησης μικρότερη από 37 εβδομάδες και κανονικό βάρος γέννησης για την ηλικία κύησης (AGA). Πρόωρα νεογνά που κατά τη διάρκεια της νοσηλείας τους εκδήλωσαν κλινική σημειολογία συμβατή με διαταραχές της πηκτικότητας όπως αιμορραγική διάθεση- σοβαρό αιμορραγικό επεισόδιο και χρειάστηκαν μετάγγιση με παράγωγα αίματος (PLT, FFP ή κρυοϊζημα αναλόγως της διαταραχής) ή με θρόμβωση/θρομβοεμβολική νόσο, αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

Ως σοβαρό αιμορραγικό επεισόδιο ορίστηκε η κλινικά εμφανής αιμορραγία των βλεννογόνων, του αναπνευστικού, του γαστρεντερικού ή του ουροποιητικού συστήματος, η οποία:

1. συνδέθηκε με πτώση του επιπέδου αιμοσφαιρίνης ≥2 g / dL εντός των 24 ωρών
2. για την επίτευξη της αιμόστασης χρειάστηκε το νεογνό να υποβληθεί σε χειρουργική επέμβαση ή σε μετάγγιση με παράγωγα αίματος όπως συμπυκνωμένα ερυθρά, αιμοπετάλια, φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα ή κρυοϊζημα
3. εκδηλώθηκε ως οξεία αιμορραγία οργάνων (ενδοκράνια, πνευμονική κ.ά.)

Επίσης, από τη μελέτη αποκλείστηκαν όλα τα νεογνά (πρόωρα ή τελειόμηνα) με:

- ιστορικό περιγεννητικής υποξίας/ασφυξίας
- ιστορικό περιγεννητικής απώλειας αίματος
- μεταβολικές διαταραχές
- ατομικό ή οικογενειακό ιστορικό αιμορραγικών διαταραχών, γνωστές ή ύποπτες μείζονες συγγενείς διαμαρτυρίες /ή χρωμοσωμιακή ανωμαλία
- αιμόλυση από ασυμβατότητα ομάδας αίματος ή Rh
- ύποπτη ή επιβεβαιωμένη σηψαιμία

Σε όλα τα νεογνά της μελέτης αμέσως μετά τον τοκετό είχε χορηγηθεί βιταμίνη Κ (im) κατά τη συνήθη πρακτική.

## **2.2.** ΜΕΘΟΔΟΙ

Σε όλα τα νεογνά της παρούσας μελέτης καταγράφηκαν τα δημογραφικά τους στοιχεία ενώ παράλληλα ελήφθη λεπτομερές οικογενειακό, μαιευτικό, περιγεννητικό και νεογνικό ιστορικό.

Λήψη ιστορικού

Το οικογενειακό ιστορικό: όλες οι πληροφορίες δίνονταν από τους γονείς μετά από προσωπική συνέντευξη. Η συλλογή των πληροφοριών αφορούσε κυρίως στην αποτύπωση και καταγραφή των χρόνιων και κληρονομικών νοσημάτων όπως μεταβολικές διαταραχές, κυστική ίνωση, πολυκυστικοί νεφροί, κ.α., ιδιαίτερα όμως σε αυτά που αφορούσαν στο θετικό οικογενειακό ιστορικό για αιμορραγική νόσο ή θρομβοφιλία).

Το μαιευτικό ιστορικό: Ο μαιευτήρας και η μαία όπως επίσης και ο νεογνολόγος που ήταν παρόντες στον τοκετό έδωσαν πληροφορίες, μέσω προσωπικής συνέντευξης, για το περιγεννητικό ιστορικό.

Ιστορικό παρούσας κύησης: έγινε καταγραφή πληροφοριών που αφορούσαν σε προηγούμενους τοκετούς, (πρόωροι τοκετοί, νεογνικοί θάνατοι, συγγενείς διαμαρτίες κ.α. ) στο είδος τοκετού, στις επιπλοκές της κύησης (εκλαμψία και προεκλαμψία, σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ) κύησης, αιμορραγία, παρουσία πολυϋδράμνιου η ολιγοϋδραμνιου κ.α.,), προ/περιγεννητική χορήγηση αντιπηκτικών φαρμάκων στη μητέρα, ιστορικό θρομβοφιλίας της μητέρας, χειρουργικές επεμβάσεις της μητέρας, τραύματα και λοιμώξεις, χορήγηση κορτικοειδών και άλλων φαρμάκων, κάπνισμα.

Περιγεννητικό ιστορικό: Καταγράφηκαν πληροφορίες που αφορούσαν στην προβολή του νεογνού, στην έναρξη του τοκετού, στην καταγραφή των καρδιακών παλμών του κυήματος, στην παρουσία πυρετού της μητέρας, στη σύσταση (αίμα, μηκώνιο) και την ποσότητα του αμνιακού υγρού, στην χορήγηση αναλγητικών ή αναισθησίας, στο είδος τοκετού (κολπικός, καισαρική τομή, χρήση σικύας ή εμβρυουλκού), στο χρόνο ρήξης του θυλακίου, στην εκτίμηση βαθμολογίας του Apgar Score, στην αναγκαιότητα ή μη ανάνηψης του νεογνού και στο είδος ανάνηψης.

Σε όλα τα νεογνά έγινε καταγραφή:

- Της ηλικίας κύησης (ΗΚ) (σε συμπληρωμένες εβδομάδες) που υπολογίστηκε: (i) βάσει τελευταίας εμμήνου ρήσης (ΤΕΡ), (ii) βάσει U/S-υπερηχογραφήματος στην

αρχή της κύησης (μεταξύ 8ης και 14ης εβδομάδας κύησης), (iii) επιβεβαίωση με τη βαθμολογία Ballard (σε όλα τα νεογνά το 1ο-2ο 24ωρο ζωής γινόταν εκτίμηση της ηλικίας κύησης με τη βαθμολογία κατά Ballard από τον ίδιο ιατρό).

- Του φύλου
- Της εθνικότητας

Σε όλα τα νεογνά που νοσηλεύτηκαν στο τμήμα έγινε καταγραφή των διαγνώσεων:

- IVH (ενδοκοιλιακή-εγκεφαλική- αιμορραγία)
- ΔΕΠ (διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη)
- ΝΕΚ (νεκρωτική εντεροκολίτιδα)
- IUGR (νεογνό με ενδομήτρια καθυστέρηση της αύξησης)
- ΣΑΔ (σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας του νεογνού)
- AKI (οξεία νεφρική ανεπάρκεια)
- Περιγεννητική ασφυξία – για τον ορισμό της χρησιμοποιήθηκαν τα κριτήρια που έχουν θεσπιστεί από την Αμερικάνικη Παιδιατρική Ακαδημία (American Academy of Pediatrics, AAP) και από το Αμερικάνικο Κολέγιο Μαιευτήρων και Γυναικολόγων (American College of Obstetricians and Gynecologists, ACOG): (i)Apgar Score 0-3 για πάνω από 5 λεπτά, (ii) μεταβολική ή μεικτή οξέωση με pH ομφαλίου λώρου (ομφαλική αρτηρία) πρώτης ώρας ζωής <7 και έλλειμμα βάσης >12, (iii) κλινικά σημεία νεογνικής εγκεφαλοπάθειας (υποτονία, σπασμοί, κώμα), (iv) δυσλειτουργία πολλών οργάνων στην άμεση περιγεννητική περίοδο [173].
- SGA (μικρό για την ηλικία κύησης νεογνό). Ως μικρά για την ηλικία κύησης χαρακτηρίστηκαν τα νεογνά με βάρος γέννησης μικρότερο από την 10η εκατοστιαία θέση για την ηλικία κύησης, βάσει των καμπυλών αναφοράς του Fenton [174].
- Συγγενής δυσπλασίες-δυσμορφίες
- Γενετικά σύνδρομα/χρωμοσωμιακές ανωμαλίες
- Μεταβολικά νοσήματα

Κλινική εξέταση του νεογνού

Η κλινική εξέταση του νεογνού περιελάμβανε την επισκόπηση του νεογνού και συγκεκριμένα:

- την εκτίμηση της καρδιοαναπνευστικής λειτουργίας (ακρόαση, χρώμα, αναπνοές)
- την εξέταση του δέρματος (ύπαρξη κεχρίου, μογγολοειδών κηλίδων, τοξικού ερυθήματος, αιμαγγειωμάτων, καφεγαλακτοχρόων κηλίδων, σπίλων)
- την εξέταση της κοιλίας (επισκόπηση, ψηλάφηση, ακρόαση, εξέταση των γεννητικών οργάνων)
- τη νευρολογική εξέταση του νεογνού, (έλεγχος της στάσης σώματος, του μυϊκού τόνου, της μυϊκής ισχύος και των ενεργητικών και παθητικών κινήσεων,)
- τον έλεγχο των αρχέγονων αντανακλαστικών, (αντανακλαστικό της βάδισης, της αναρρίχησης, ασύμμετρο αντανακλαστικό του αυχένα, ραχιαίο αντανακλαστικό του κορμού, τα «μάτια της κούκλας»)
- την εξέταση του σκελετικού συστήματος του νεογνού (σπονδυλική στήλη, άνω άκρα, κάτω άκρα)
- την εξέταση κεφαλής, ώτων, ρινός, στοματικής κοιλότητας και τραχήλου
- την μέτρηση βάρους και μήκους σώματος και περιμέτρου κεφαλής

Η παρακολούθηση των νεογνών περιελάμβανε εκτός από την καθημερινή φυσική εξέταση και την καταγραφή των διαφόρων ιατρικών χειρισμών, της κάθε φαρμακευτικής αγωγής, καθώς και των ενδεικνυόμενων εργαστηριακών εξετάσεων ανάλογα με την κλινική κατάσταση του νεογνού. Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στην εντόπιση πιθανών διαταραχών της αιμόστασης όπως αιμορραγία-αιμορραγική διάθεση, θρόμβωση-θρομβωτική διάθεση. Καταγράφηκαν επίσης όλες οι παράμετροι των βασικών λειτουργιών (θερμοκρασία, καρδιακή και αναπνευστική συχνότητα, αρτηριακή πίεση, ρυθμός διούρησης), καθώς και η ημέρα επίτευξης πλήρους εντερικής σίτισης και οι ημέρες νοσηλείας των νεογνών.

### Τρόπος αιμοληψίας

Σε όλα τα νεογνά η αιμοληψία γινόταν μετά από αρτηριοκέντηση περιφερικής αρτηρίας με βελόνα φλεβοκέντησης με πτερύγια ‘’πεταλούδα’’-μεγέθους G23.

### Χρόνος διενέργειας εξέτασης ΤΕΜ

Στα ύποπτα και σηπτικά νεογνά, η εξέταση ΤΕΜ γινόταν αμέσως με την υπόνοια της κλινικής σημειολογίας λοίμωξης και παράλληλα με τον ενδεικνυόμενο έλεγχο για τη λοίμωξη.

Στα υγιή τελειόμηνα νεογνά του μαιευτηρίου, την $2^{η}$ - $3^{η}$ ημέρα ζωής παράλληλα με τον απαιτούμενο εργαστηριακό έλεγχο για οποιονδήποτε ιατρικό λόγο (π.χ. καθορισμός ομάδας αίματος, μέτρηση χολερυθρίνης, κ.ά.), μικρό δείγμα αίματος από την αιμοληψία αυτή χρησιμοποιήθηκε και για τη διενέργεια της ΤΕΜ. Στα υγιή πρόωρα νεογνά η εξέταση ΤΕΜ διενεργήθηκε παράλληλα με τον απαιτούμενο εργαστηριακό έλεγχο και ανάλογα με την κλινική κατάσταση του νεογνού, τη $2^{η}$ - $7^{η}$ ημέρα ζωής, μετά την σταθεροποίησή τους και όσον αφορά στην ανάγκη οξυγονοθεραπείας τους: στα νεογνά με ηλικία κύησης 32-$36^{+6}$ εβδομάδων μετά την απεξάρτηση τους από το οξυγόνο, ενώ στα νεογνά με ηλικία κύησης <32 εβδομάδων όταν πλέον είχαν σταθεροποιηθεί σε ρινικό CPAP με FiO2 0,21 και τελοεκπνευστική πίεση (PEEP) 5 cm $H_2O$.

### Εργαστηριακός έλεγχος λοίμωξης

Σε όλα τα πάσχοντα νεογνά με την υπόνοια της κλινικής σημειολογίας λοίμωξης και πριν την έναρξη αντιβιοτικής αγωγής λαμβάνονταν:

Γενική αίματος – ο προσδιορισμός του αριθμού και του τύπου των λευκών, του αριθμού των αιμοπεταλίων και των εμπύρηνων ερυθρών ανά 100 λευκά, γινόταν μέσω του αιματολογικού αναλυτή Sysmex XE-2100 (Roche, IL, USA) και ακολουθούσε οπτική επιβεβαίωση των ευρημάτων αυτών και ακριβής προσδιορισμός των άωρων μορφών των ουδετερόφιλων, που γινόταν με μικροσκοπική παρατήρηση επιχρίσματος περιφερικού αίματος σε αντικειμενοφόρο πλάκα με χρώση Giemsa.

Πλήρης βιοχημικός έλεγχος - όλες οι βιοχημικές παράμετροι (ηλεκτρολύτες, ασβέστιο, γλυκόζη, χολερυθρίνη, τρανσαμινάσες, ουρία, κρεατινίνη, κ.ά.) μετρήθηκαν με τον αναλυτή EXL DIMENSION Analyzer (SIEMENS, Healthcare Diagnostics, Newark, DE, USA). Η μέθοδος μέτρησης της CRP βασίζεται σε μία νεφελομετρική τεχνική ανοσοπροσδιορισμού της, ενισχυμένης με σωματίδια (PETIA-Particle Enhanced Turbidimetric Immunoassay Technique).
Οξεοβασική ισορροπία-γινόταν προσδιορισμός pH, ελλείμματος βάσεως και γαλακτικού οξέος στο περιφερικό αρτηριακό αίμα.
Καλλιέργεια αίματος – υπό άσηπτες συνθήκες και από περιφερική αρτηρία, δείγματα αίματος ελήφθησαν από κάθε νεογνό με αποστειρωμένη τεχνική και εμβολιάστηκαν (ενοφθαλμίστηκαν) σε αερόβια φιάλη αίματος (BacT Alert PF, Biomerieux, Lyon, France). Οι μικροοργανισμοί ταυτοποιήθηκαν μέσω του συστήματος BacT/ALERT που επιτρέπει την αυτόματη ανίχνευση βακτηριδίων με χρωματομετρική μέθοδο που στηρίζεται στην ανίχνευση της παραγωγής διοξειδίου του άνθρακα ($CO_2$). Επίσης οι μικροοργανισμοί ταυτοποιήθηκαν ανάλογα με τη χρώση τους κατά Gram και την ανάπτυξή τους σε εκλεκτικό /διαφοροποιητικό θρεπτικό υλικό (άγαρ).
Σε όλα τα πάσχοντα νεογνά της μελέτης λαμβανόταν καλλιέργεια ούρων, εγκεφαλονωτιαίου υγρού και άλλων βιολογικών υγρών (από τον ομφαλό, τον οφθαλμό, πυοδερμικά στοιχεία, βρογχικές εκκρίσεις), ανάλογα με την κλινική κατάσταση του κάθε νεογνού και επίσης γινόταν διενέργεια απεικονιστικού ελέγχου (όπως ακτινογραφίες ή υπερηχογραφήματα) για τον εντοπισμό της εστίας λοίμωξης. Σε αυτά τα νεογνά ελήφθησαν επανειλημμένα δείγματα αίματος για παρακολούθηση των δεικτών σηψαιμίας, όποτε αυτό ήταν κλινικά ενδεδειγμένο και μέχρι την ολοκλήρωση της θεραπείας με αντιβιοτικά.

## Τεχνική διενέργειας θρομβοελαστομετρίας TEM

Για τις μετρήσεις TEM χρησιμοποιήθηκε η συσκευή «περιστροφικής θρομβοελαστομετρίας» 4 καναλιών (ROTEM® Whole Blood Haemostasis System Rotation Thromboelastography Tem Innovations GmbH, Munich, Germany). Όλα τα δείγματα ολικού αίματος εξετάστηκαν στη συσκευή ROTEM® εντός ενός χρονικού διαστήματος 30 λεπτών από την αιμοληψία. Οι διενεργούμενες εξετάσεις - θρομβοελαστογραφικά γραφήματα- καταγράφονταν για έναν χρόνο παρατήρησης 90 λεπτών της ώρας.

Για την εκτίμηση του αιμοστατικού προφίλ και κυρίως για την αξιολόγηση της κατάστασης του ινωδολυτικού συστήματος των νεογνών διενεργήθηκαν οι εξής δοκιμασίες:

- EXTEM: Ενεργοποίηση του σχηματισμού θρόμβου με θρομβοπλαστίνη (ιστικός παράγοντας). Αξιολόγηση των παραγόντων VII, X, V, II, I, των αιμοπεταλίων και της ινωδόλυσης
- APTEM: Ενεργοποίηση όπως στο EXTEM με επιπλέον προσθήκη απροτινίνης, ενός αναστολέα της ινωδόλυσης. Στο APTEM test προστίθεται απροτινίνη (αναστολέας της παγκρεατικής θρυψίνης) που αδρανοποιεί την ελεύθερη μορφή πλασμίνης με αποτέλεσμα την αναστολή της ινωδόλυσης [175]. Συγκρίνοντας το APTEM με το EXTEM μπορεί να αναγνωριστεί μαζική υπερινωδόλυση μέσα σε 10-20 λεπτά.

Για τη διενέργεια της TEM χρησιμοποιήθηκε δείγμα ολικού αίματος σε αντιπηκτικό 0,109 mol/L κιτρικού τρινατρίου (σε αναλογία 9:1 αίματος/αντιπηκτικό) σε φιαλίδια κιτρικών αλάτων με επαναπροσθήκη ασβεστίου και διενεργήθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή χρησιμοποιώντας τυποποιημένα αντιδραστήρια που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις ιστικού παράγοντα και φωσφολιπιδίων (ex-TEM® reagent), ή απροτινίνης - αναστολέας της ινωδόλυσης- για την διενέργεια της εξέτασης EXTEM ή APTEM αντίστοιχα. Η διαδικασία σχηματισμού του θρόμβου προκλήθηκε με ενεργοποίηση της εξωγενούς οδού πήξης χρησιμοποιώντας 20μL $CaCl_2$ (0.2M) αντιδραστηρίου star-TEM®, το οποίο αναμειγνυόταν με 20μl αντιδραστηρίου ex-TEM® (Pentapharm, Munich, Germany) για τη διενέργεια του EXTEM test ή με 20μL αντιδραστηρίου ex-TEM® και 20μL αντιδραστηρίου ap-TEM® για τη διενέργεια του APTEM test, εντός μιας πλαστικής κυβέτας. Ακολούθως, αφού τα αντιδραστήρια αναμειγνύονταν επαρκώς, 300 μL του κιτρικού ολικού αίματος προστίθεντο στην κυβέτα και η κάθε εξέταση TEM® «έτρεχε» ταυτόχρονα για τουλάχιστον 60 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της λύσης θρόμβου στα 30 λεπτά. Όλα τα δείγματα αίματος ελέγχονταν προσεκτικά για θρόμβους ινώδους και σε περίπτωση ύπαρξης μικροθρόμβων στο δείγμα, τότε το δείγμα απορρίπτονταν.

Συνοπτικά, μετρήθηκαν οι ακόλουθες μεταβλητές ROTEM®: Ο χρόνος πήξης (CT, σε δευτερόλεπτα), ο χρόνος σχηματισμού θρόμβων (CFT, σε δευτερόλεπτα), το μέγεθος-πλάτος του θρόμβου που καταγράφηκε στα 10, 20 και 30 λεπτά (A10, A20 και A30 αντίστοιχα), η α-γωνία (a◦), η μέγιστη σταθερότητα θρόμβου (MCF, σε mm) και ο δείκτης λύσης του θρόμβου στα 45 και 60 λεπτά (LI45 και LI60,%, αντίστοιχα). Η υπερινωδόλυση ορίστηκε ως EXTEM ML (μέγιστος δείκτης λύσης) > 15% και φυσιολογικό APTEM ML στα 60 λεπτά μετά την έναρξη

του σχηματισμού θρόμβου [176] [177]( ενώ η καταστολή της ινωδόλυσης ορίστηκε ώς δείκτης λύσης EXTEM στα 60 λεπτά (LI60≥98%) [178].

Στα πάσχοντα νεογνά, αμέσως κατά την υπόνοια της κλινικής σημειολογίας λοίμωξης και παράλληλα με τον ενδεικνυόμενο έλεγχο λοίμωξης, γινόταν προσδιορισμός του SNAPPE [103] και Tollner score [97,100].

# **3.** ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η στατιστική ανάλυση έγινε με την χρήση του στατιστικού πακέτου R software version 3.6. Έγινε αμφίπλευρος έλεγχος σημαντικότητας και ορίστηκε σαν στατιστικώς σημαντική, τιμή p-value το ≤ 0.05, άρα με τιμές p-value ≤ 0.05 η μηδενική υπόθεση θα ήταν απορριφθείσα.
Τα δεδομένα παρουσιάστηκαν ως συχνότητες και ποσοστά (για τις κατηγορικές μεταβλητές) ή ως διάμεσες και εύρος για τις συνεχείς μεταβλητές.
Λόγω μη κανονικής κατανομής των μεταβλητών, υπολογίστηκαν οι διάμεσες τιμές με τα αντίστοιχα ποσοστημόρια και τις ποσοστιαίες αναλογίες για τα δημογραφικά στοιχεία και για όλες τις κλινικές, βιοχημικές και TEM® παραμέτρους. Για την εκτίμηση της στατιστικής σημαντικότητας των διαφορών των τιμών μεταβλητών των υπό μελέτη ομάδων (υγιή και πάσχοντα νεογνά – με υποψία /ή επιβεβαιωμένη σήψη) χρησιμοποιήθηκαν μη παραμετρικά τεστ, [Wilcoxon rank sum test ή Wilcoxon-Mann-Whitney, και το Kruskal-Wallis test]. Η σύγκριση μεταξύ των ποσοστιαίων αναλογιών έγινε με το Fisher's exact test. Ο έλεγχος συσχέτισης μεταξύ των παραμέτρων TEM® και των κλινικών χαρακτηριστικών /ή εργαστηριακών ευρημάτων μεταξύ των νεογνών της κάθε ομάδας έγινε με εφαρμογή γραμμικής παλινδρόμησης και τον συντελεστή συσχέτισης Spearman's (rho) ο οποίος αξιολογήθηκε ως:

- <0,20 πολύ ασθενής συσχέτιση
- 0,21 έως 0,40 ασθενής συσχέτιση
- 0,41 έως 0,60 μέτρια συσχέτιση
- 0,61 έως 0,80 ισχυρή συσχέτιση
- 0,81 πολύ ισχυρή συσχέτιση

Αρχικά, διεξήχθησαν μονοπαραγοντικές αναλύσεις λογιστικής παλινδρόμησης για την ανάδειξη συσχέτισης της σήψης με συγκεκριμένες παραμέτρους EXTEM. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε πολυπαραγοντική ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης που συμπεριέλαβε τις παραμέτρους οι οποίες στις μονοπαραγοντικές αναλύσεις βρέθηκαν να σχετίζονται σημαντικά με τη σήψη. Πολυπαραγοντική ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης διεξήχθη επίσης και για την εκτίμηση του αν η σήψη σχετίζεται με υπερ-ινωδόλυση ή υπο-ινωδόλυση.

# **4.** ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τον πληθυσμό της μελέτης αποτέλεσαν 66 πάσχοντα νεογνά εκ των οποίων τα 44 ήταν νεογνά με επιβεβαιωμένη σηψαιμία και 22 νεογνά με υποψία σήψης, ενώ 110 υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά αποτέλεσαν τον πληθυσμό των μαρτύρων. Τα δημογραφικά στοιχεία για τις 3 ομάδες μελέτης (υγιή νεογνά, σηπτικά νεογνά και νεογνά με υποψία σηψαιμίας) παρουσιάζονται στον Πίνακα **1.**

Πίνακας **1.** Δημογραφικά στοιχεία του πληθυσμού της μελέτης***.**

| Νεογνά | Συνολικά **(n=176)** | Σηπτικά **(n=44)** | Υποπτα σηπτικά **(n=22)** | Υγιή **(n=110)** | **p-value** |
|---|---|---|---|---|---|
| Ηλικία κύησης **(**εβδομάδες**)** | 38 (34-39) | 34 (29-37.5) | 34.5 (29-38) | 39 (38-40) | <0.001 |
| Φύλο **(**θήλυ**, %)** | 85 (48.3) | 15 (34.1) | 9 (40.9) | 61 (55.4) | 0.04 |
| Βάρος γέννησης **(**γραμμάρια**)** | 2900 (2060-3375) | 1470 (1075-2830) | 1980 (1220-2990) | 3185 (2800-3450) | <0.001 |
| Είδος τοκετού **(**καισαρική τομή**, %)** | 81 (46.0) | 27 (61.4) | 15 (68.2) | 39 (35.4) | 0.001 |

*****Τα δεδομένα παρουσιάζονται με συχνότητες και ποσοστά ή με διάμεσους και ενδοτεταρτημοριακά εύρη **(IQR)** όταν απαιτείται**.** Για τις στατιστικές αξιολογήσεις χρησιμοποιήθηκαν μη παραμετρικές δοκιμασίες **(**έλεγχος χ**2** και **Kruskal-Wallis).**

Παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των υγιών νεογνών και των νεογνών με σήψη ή υποψία σηψαιμίας σε ότι αφορά στο βάρος γέννησης, το φύλο, την ηλικία κύησης και το είδος τοκετού (p<0.001)

Πίνακας **2.** Κλινικά χαρακτηριστικά των πάσχοντων νεογνών της μελέτης*****.

| Μεταβλητές | Σηπτικά νεογνά **(n=44)** | Νεογνά ύποπτα για σηψαιμία **(n=22)** | **p-value** |
|---|---|---|---|
| **IVH (%)** | 15 (34.1) | 5 (22.7) | 0.34 |
| ΔΕΠ **(%)** | 13 (29.5) | 0 (0.0) | **0.004** |
| **ΝΕΚ (%)** | 3 (6.8) | 1 (4.5) | 0.71 |
| **IUGR (%)** | 5 (11.4) | 5 (22.7) | 0.22 |
| ΣΑΔ **(%)** | 29 (65.9) | 15 (68.2) | 0.85 |
| **ΑΚΙ (%)** | 18 (40.9) | 3 (13.6) | **0.02** |
| Αιμορραγικά συμβάντα **(%).** | 15 (34.1) | 1 (4.5) | **0.008** |
| *Συντομογραφίες: **IVH,** ενδοκοιλιακή αιμορραγία; ΔΕΠ, διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη; **ΝΕΚ,** νεκρωτική εντεροκολίτιδα; **IUGR,** νεογνό με ενδομήτρια καθυστέρηση της αύξησης; **RDS,** σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας; **ΑΚΙ** οξεία νεφρική βλάβη.* | | | |

***Τα δεδομένα παρουσιάζονται με συχνότητες και ποσοστά. Για τις στατιστικές αξιολογήσεις χρησιμοποιήθηκαν μη παραμετρικές δοκιμασίες (δοκιμασίες **chi-square**)***

Η συχνότητα εμφάνισης επιπλοκών όπως η ΔΕΠ, ΑΚΙ και η κλινικά εμφανής αιμορραγία ήταν υψηλότερη σε στατιστικά σημαντικό βαθμό στα σηπτικά νεογνά από ό, τι στα νεογνά με υποψία σηψαιμίας (p = 0,004, p = 0,02 και p = 0,008, αντίστοιχα).

Πίνακας **3.** Εργαστηριακές παράμετροι των σηπτικών νεογνών και των νεογνών με υποψία σηψαιμίας***.**

| Μεταβλητές | Σηπτικά νεογνά **(n=44)** | Νεογνά ύποπτα για σηψαιμία **(n=22)** | **p-value** |
|---|---|---|---|
| **WBC count/mL** | 12295 (9155-18450) | 11920 (9610-15180) | 0.97 |
| **NRBC (%)** | 67.9 (49.9- 81.45) | 53.2 (40-67.5) | **0.02** |
| **PLTs count (x10³)/mL** | 91 (42.5- 258) | 263.5 (133-364) | **0.002** |
| **CRP (mg/L)** | 53.9 (27.35-91.55) | 10.15 (2.7-64.3) | **0.002** |
| **AST (IU/L)** | 47 (30-96) | 39 (30-55) | 0.33 |
| **ALT (IU/L)** | 23 (14-54) | 18 (12-25) | 0.23 |
| **TBIL (mg/dL)** | 8 (3.9-11.9) | 7.5 (3.5-11.1) | 0.69 |
| **DBIL (mg/dL)** | 0.5 (0.3-2.2) | 0.3 (0.2-0.4) | **0.001** |
| **BUN (mg/dL)** | 51.5 (33.5-82) | 27.5 (19-44) | **0.001** |
| **Cr (mg/dL)** | 0.55 (0.3-0.8) | 0.4 (0.2-0.8) | 0.24 |
| **SNAPPE score** | 7.5 (4-19) | 2 (1-5) | **0.001** |
| Κίνδυνος θνητότητας****** | 0.25 (0.00-2.55) | 0.0 (0.0-0.1) | **0.02** |
| **TOLLNER score** | 8 (5-12) | 2.5 (1-5) | **<0.001** |

*Συντομογραφίες:* ***WBC,*** *λευκά αιμοσφαίρια;* ***NRBC,*** *εμπύρηνα ερυθρά αιμοσφαίρια;* ***PLT,*** *αιμοπετάλια;* ***CRP, C****-αντιδρώσα πρωτεΐνη;* ***AST,*** *ασπαρτική αμινοτρανσφεράση;* ***ALT,*** *αμινοτρανσφεράση αλανίνης;* ***TBIL,*** *ολική χολερυθρίνη;* ***DBIL,*** *άμεση χολερυθρίνη;* ***BUN,*** *ουρία ορού;* ***Cr,*** *κρεατινίνη ορού*.

******Ο κίνδυνος θνητότητας εκτιμήθηκε χρησιμοποιώντας τη βαθμολογία **SNAPPE.**

*****Τα δεδομένα παρουσιάζονται με διάμεσους και ενδοτεταρτημοριακά εύρη. Για τις στατιστικές αξιολογήσεις χρησιμοποιήθηκαν μη παραμετρικές δοκιμασίες **(Wilcoxon rank sum).**

Τα επίπεδα NRBC, CRP, BUN και DBIL ήταν σημαντικά υψηλότερα στα σηπτικά νεογνά (p = 0,02, p = 0,002, p = 0,001 και p = 0,001, αντίστοιχα) σε σύγκριση με τα νεογνά με υποψία σηψαιμίας. Ο αριθμός PLT ήταν σημαντικά χαμηλότερος (p = 0,002) στα σηπτικά νεογνά.

Πίνακας **4.** Σύγκριση των παραμέτρων **ROTEM®** μεταξύ υγιών νεογνών **(**Ομάδα Α**),** σηπτικών νεογνών **(**Ομάδα Β**)** και νεογνών με υποψία σήψης **(**Ομάδα Γ**)*.**

| | Ομάδα **Α** **(n=110)** | Ομάδα **Β** **(n=44)** | Ομάδα Γ **(n=22)** | **K-W test** | **A vs B; A vs C; B vs C** |
|---|---|---|---|---|---|
| **CT (sec)** | 53 (47-59) | 59 (50-81.5) | 52 (47-58) | **p=0.004** | **p=0.001**; p=0.77; **p=0.025** |
| **CFT (sec)** | 89 (74-106) | 96.5 (72-157) | 78.5 (51-98) | **p=0.04** | p=0.059; p=0.09; **p=0.042** |
| **A10 (mm)** | 52.5 (48-57) | 45 (33-60) | 58 (51-66) | **p=0.007** | **p=0.025**; **p=0.037**; p=**0.010** |
| **MCF (mm)** | 59 (55-63) | 54 (42-64) | 63 (54-69) | **p=0.008** | **p=0.016**; p=0.07; **p=0.013** |
| α° | 72.5 (70-75) | 73 (61-77) | 75.5 (73-80) | **p=0.02** | p=0.34; **p=0.010**; **p=0.033** |
| **LI60 (%)** | 95 (93-97) | 95 (92-99) | 94 (91-96) | p=0.20 | p=0.92; p=0.058; p=0.21 |
| **ML (%)** | 9 (7-12) | 7 (4-12) | 10 (7-13) | p=0.11 | p=0.10; p=0.29; p=0.06 |

*Συντομογραφίες:* ***CT,*** *χρόνος πήξης;* ***CFT,*** *χρόνος σχηματισμού θρόμβου; Α****10,*** *πλάτος θρόμβου στα* ***10*** *λεπτά;* ***MCF,*** *μέγιστη σταθερότητα θρόμβου;* α ***angle*****,** ***Alpha angle*****;** ***LI60,*** *δείκτης λύσης στα* ***60*** *λεπτά;* ***ML,*** *μέγιστη λύση.*

*****Τα στοιχεία παρουσιάζονται ως διάμεσες τιμές και ενδοτεταρτημοριακά εύρη σε παρένθεση**.** Ο μη παραμετρικός έλεγχος δύο δειγμάτων **Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney)** και η δοκιμασία διάταξης **Kruskal-Wallis (**ισότητα των πληθυσμών**)** χρησιμοποιήθηκαν για τις στατιστικές αξιολογήσεις**.**

Τα νεογνά με σήψη είχαν σημαντικά παρατεταμένο το CT και CFT, καθώς και μειωμένο MCF, A10 σε σύγκριση με τα νεογνά με υποψία σήψης και τα υγιή νεογνά (τιμές p < 0.05) ενώ δεν σημειώθηκε σημαντικά στατιστική διαφορά των τιμών των παραμέτρων ML και LI60 μεταξύ των τριών ομάδων (p = 0,11 και p = 0,20 αντίστοιχα).

Οι τιμές EXTEM ML και LI60 ήταν παρόμοιες για τα σηπτικά νεογνά με και χωρίς κλινικά αιμορραγικά συμβάντα (p = 0,64 και p = 0,11 αντίστοιχα). Οι τιμές ML και LI60 δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των σηπτικών νεογνών με και χωρίς DIC (p = 0,68 και p = 0,15, αντίστοιχα). Αντίθετα, σημαντική παράταση των CT και CFT σημειώθηκε στα σηπτικά νεογνά με κλινικά αιμορραγικά συμβάντα σε σύγκριση με αυτά χωρίς κλινικά αιμορραγικά συμβάντα (p = 0,005). Το MCF ήταν σημαντικά χαμηλότερο στα σηπτικά νεογνά με κλινικά αιμορραγικά συμβάντα σε σύγκριση με αυτά χωρίς (p < 0,001).

Πίνακας **5.** Νεογνά με υπερινωδόλυση και υποϊνωδόλυση με βάση τις παραμέτρους **EXTEM** και **APTEM.**

| Ινωδόλυση | Ομάδα **A** **(n=110)** | Ομάδα **B** **(n=44)** | Ομάδα Γ **(n=22)** | Α-Β-Γ | **A - B; A - Γ; B - Γ** |
|---|---|---|---|---|---|
| ***Υπερινωδόλυση** | 14 (12.7) | 8 (18.2) | 5 (22.7) | p=0.41 | p=0.38; p=0.22; p=0.66 |
| ****Υποϊνωδόλυση** | 3 (2.7) | 14 (31.8) | 2 (9.1) | **p=<0.001** | **p<0.001**; p=0.15; **p=0.042** |

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με συχνότητες και ποσοστά**.** Η δοκιμασία $\chi^2$ χρησιμοποιήθηκε για τις στατιστικές αξιολογήσεις**;** υγιή νεογνά **(**Ομάδα Α**);** σηπτικά νεογνά **(**Ομάδα Β**);** νεογνά με υποψία σήψης **(**Ομάδα Γ**)**

***** Ορίζεται ως **EXTEM ML (**μέγιστος δείκτης λύσης**) > 15%** και φυσιολογικό **APTEM ML** στα **60** λεπτά μετά την έναρξη του σχηματισμού θρόμβου**.**

****** Ορίζεται ως δείκτης λύσης **EXTEM** στα **60** λεπτά **(LI60)** ≥ **98%**

Η υπερ-ινωδόλυση, όπως ορίζεται από τις παραμέτρους ROTEM®, δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των υγιών νεογνών, των σηπτικών νεογνών και των νεογνών με υποψία σηψαιμίας (p = 0,41). Αντίθετα, η υποϊνωδόλυση, που ορίστηκε ως EXTEM LI60 ≥ 98%, διέφερε σημαντικά μεταξύ των τριών ομάδων (p < 0,001). Πιο συγκεκριμένα, η καταστολή της ινωδόλυσης ήταν πιο συχνή στα σηπτικά νεογνά από ό, τι σε υγιή νεογνά (p < 0,001) και σε νεογνά με υποψία σηψαιμίας (p = 0,042).

Πίνακας **6.** Συσχέτιση των παραμέτρων **EXTEM** με **CRP,** θνησιμότητα**,** και βαθμολογίες **SNAPPE** και **TOLLNER** σε σηπτικά νεογνά **(n = 44).**

| Μεταβλητές | **ML** | | **LI60** | | **CT** | | **CFT** | | **MCF** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Spearman's rho | p value | Spearman's rho | p value | Spearman's rho | p value | Spearman's rho | p value | Spearman's rho | p value |
| **CRP** | -0.14 | 0.36 | 0.19 | 0.24 | 0.18 | 0.23 | 0.19 | 0.23 | -0.24 | 0.11 |
| Κίνδυνος θνητότητας** | -0.40 | **0.007** | 0.43 | **0.005** | 0.14 | 0.35 | 0.42 | **0.005** | -0.60 | **<0.001** |
| **SNAPPE** | -0.33 | **0.03** | 0.35 | **0.02** | 0.11 | 0.45 | 0.39 | **0.01** | -0.59 | **<0.001** |
| **TOLLNER score** | -0.03 | 0.87 | 0.17 | 0.27 | 0.52 | **<0.001** | 0.56 | **<0.001** | -0.65 | **<0.001** |

*Συντομογραφίες:* ***ML,*** *μέγιστη λύση;* ***LI60,*** *δείκτης λύσης στα* ***60*** *λεπτά;* ***CT,*** *χρόνος πήξης;* ***CFT,*** *χρόνος σχηματισμού θρόμβου;* ***MCF,*** *μέγιστη σταθερότητα θρόμβου;* ***CRP, c*** *αντιδρώσα πρωτεΐνη;* ********Ο κίνδυνος θνητότητας εκτιμήθηκε χρησιμοποιώντας τη βαθμολογία ***SNAPPE.***

Από την στατιστική ανάλυση προέκυψε θετική συσχέτιση της παραμέτρου EXTEM LI60 με το SNAPPE score (Spearman rho = 0,35, p = 0,02) και τον κίνδυνο θνητότητας ο οποίος εκτιμήθηκε χρησιμοποιώντας το ίδιο (SNAPPE) score, (Spearman rho = 0,43, p = 0,005). Το ML είχε αρνητική συσχέτιση με τον κίνδυνο θνητότητας (Spearman rho = -0.40, p = 0.007) και το SNAPPE score (Spearman rho = -0.33, ρ = 0,03).

Πίνακας **7.** Αποτελέσματα ανάλυσης λογιστικής παλινδρόμησης για τη σήψη **(**σηπτικά έναντι υγιών νεογνών**)** ως εξαρτημένη μεταβλητή με παραμέτρους **EXTEM,** ηλικία κύησης**,** φύλο και βάρος γέννησης ως ανεξάρτητες μεταβλητές**.**

| Μεταβλητές | Σηψαιμία | | |
|---|---|---|---|
| | OR | 95% CI | p- value |
| **CT** | 1.15 | 1.07 – 1.23 | **<0.001** |
| **CFT** | 1.02 | 1.006 – 1.04 | **0.043** |
| **MCF** | 0.94 | 0.78 – 1.12 | 0.50 |
| **A10** | 0.95 | 0.78 – 1.14 | 0.59 |
| α° | 1.46 | 1.14 – 1.88 | **0.003** |
| Βάρος γέννησης | 0.99 | 0.99 – 1.00 | 0.11 |
| Φύλο **(**άρρεν**)** | 20.71 | 3.64 – 117.80 | **0.001** |
| Ηλικία κύησης | 0.66 | 0.42 – 1.03 | 0.06 |

*Συντομογραφίες: **CT,** χρόνος πήξης; **CFT,** χρόνος σχηματισμού θρόμβου; **A10,** πλάτος θρόμβου στα **10** λεπτά; **MCF,** μέγιστη σταθερότητα θρόμβου; **LI60,** δείκτης λύσης στα **60** λεπτά; **ML,** μέγιστη λύση.*

Μονοπαραγοντικές αναλύσεις αποκάλυψαν ότι τα σηπτικά νεογνά είχαν υψηλότερο CT (OR = 1,04, 95% CI: 1,004-1,08 p = 0,030), χαμηλότερο A10 (OR = 0,95, 95% CI: 0,91-0,98, p = 0,012) και χαμηλότερο MCF (OR = 0,94, 95% CI: 0,90-0,98, p = 0,014) σε σύγκριση με τα νεογνά με υποψία σηψαιμίας. Επιπλέον, τα σηπτικά νεογνά είχαν υψηλότερο CT (OR = 1,05, 95% CI: 1,02-1,08, p <0,001), υψηλότερο CFT (OR = 1,01, 95% CI: 1,004-1,019, p = 0,002), χαμηλότερο A10 (OR = 0,94, 95% CI: 0,91-0,97, p = 0,001), χαμηλότερο MCF (OR = 0,93, 95% CI: 0,90-0,97, p = 0,001) και χαμηλότερη γωνία άλφα (OR = 0,93, 95% CI: 0,89-0,98 , p = 0,005) σε σύγκριση με υγιή νεογνά. Τα ML και LI60 ήταν παρόμοια σε σηπτικά και υγιή νεογνά (OR = 0,97, 95% CI: 0,92-1,02, p = 0,28 και OR = 0,99, 95% CI: 0,94-1,04, p = 0,74 αντίστοιχα) καθώς και στα σηπτικά νεογνά και νεογνά με υποψία σήψης (OR = 0,96 95% CI: 0,91-1,01, p = 0,19 και OR = 1,03, 95% CI: 0,94-1,12, p = 0,51 αντίστοιχα). Πολυπαραγοντική ανάλυση σταθμισμένη για το φύλο, το βάρος γέννησης και την ηλικία κύησης έδειξε ότι τα σηπτικά νεογνά είχαν υψηλότερο CT (OR = 1,15, 95% CI: 1,07-1,23 p <0,001), CFT (OR = 1,02, 95% CI: 1,006-1,04, p = 0,043) και α° (OR = 1,46, 95% CI: 1,14-1,88, p = 0,003) σε σύγκριση με υγιή νεογνά.

Πίνακας **8.** Αποτελέσματα πολυπαραγοντικής ανάλυσης λογιστικής παλινδρόμησης για τη σήψη **(**σηπτικά έναντι υγιών νεογνών**)** ως εξαρτημένη μεταβλητή με υπερινωδόλυση**,** υποϊνωδόλυση**,** φύλο**,** βάρος γέννησης και ηλικία κύησης ως ανεξάρτητες μεταβλητές**.**

| Μεταβλητές | Σηψαιμία | | |
|---|---|---|---|
| | OR | 95% CI | p- value |
| ***Υπερινοδώλυση | 1.14 | 0.27 – 4.78 | 0.85 |
| ****Υποϊνωδόλυση | 18.23 | 2.87 – 115.80 | **0.002** |
| Βάρος γέννησης | 0.998 | 0.997 – 0.999 | **0.039** |
| Φύλλο **(**άρρεν**)** | 5.01 | 1.47 – 17.09 | **0.010** |
| Ηλικία κύησης | 0.86 | 0.63 – 1.18 | 0.37 |
| * Ορίζεται ως **EXTEM ML (**μέγιστος δείκτης λύσης**) > 15%** και φυσιολογικό **APTEM ML** στα **60** λεπτά μετά την έναρξη του σχηματισμού θρόμβου**.**<br>** Ορίζεται ως δείκτης λύσης **EXTEM** στα **60** λεπτά **(LI60)≥98%** | | | |

Η πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε ότι η υπερ-ινωδόλυση, όπως ορίζεται από τις παραμέτρους ROTEM® δεν συσχετίστηκε με σήψη (OR = 1,14, 95% CI: 0,27-4,78, p = 0,85). Αντιθέτως, τα σηπτικά νεογνά είχαν 18,23 φορές περισσότερες πιθανότητες να παρουσιάσουν καταστολή της ινωδόλυσης (OR = 18,23, 95% CI: 2,87-115,80, p = 0,002) σε σύγκριση με τα υγιή νεογνά.

# **5.** ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα μελέτη, στην οποία χρησιμοποιήθηκε η ROTEM® συμπεραίνεται πως τα σηπτικά νεογνά δεν παρουσίασαν σημεία υπερινωδόλυσης, αντίθετα μάλιστα, η καταστολή της ινωδόλυσης ήταν το συχνότερο εύρημα στον πληθυσμό αυτό. Ωστόσο, η κλινική χρησιμότητα των παραμέτρων LI60 ή ML ήταν περιορισμένη σε ότι αφορά στη διάκριση σηπτικών νεογνών από υγιή νεογνά ή νεογνά με υποψία σηψαιμίας και στην ικανότητα πρόβλεψης της έκβασης της σήψης.

Η ανάπτυξη και η εγκυρότητα των ινωδολυτικών δοκιμασιών έχουν εξελιχθεί βραδύτερα από τις δοκιμασίες πήξης. Ακριβείς δοκιμασίες διαλογής για τη μέτρηση της ινωδολυτικής δραστηριότητας είναι ακόμη ελλιπείς [179]. Εκτός από την ανίχνευση των υπο/υπερπηκτικών διαταραχών της αιμόστασης, η ROTEM® μπορεί να ανιχνεύσει διαταραχές της ινωδόλυσης και επιπλέον αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο εργαλείο για τη διάγνωση διαταραχών πήξης και ινωδόλυσης σε ενήλικες με σηψαιμία [131]. Ο δείκτης λύσης του θρόμβου (LI) θεωρείται αξιόπιστος βιοδείκτης τόσο για την έγκαιρη ταυτοποίηση [100,163], όσο και για την πρόγνωση [118,180] ασθενών που πάσχουν από σήψη ή σηπτικό σοκ. Η ROTEM αποτελεί μια αξιόπιστη δοκιμασία για την ανίχνευση της καταστολής της ινωδόλυσης στους πολυτραυματίες, ωστόσο ο προγνωστικός της ρόλος στην έκβαση τους παραμένει ασαφής [181,182].

Σε ότι αφορά στη διαγνωστική ικανότητα του ROTEM® για την ανίχνευση της υπερ-ινωδόλυσης, έχουν αναφερθεί αντιφατικά ευρήματα. Οι Raza και συνεργάτες διαπίστωσαν ότι η ROTEM δεν μπόρεσε να εντοπίσει τη μέτρια έως σοβαρή ινωδόλυση στους πολυτραυματίες [183], σε αντίθεση με τον Levrat και συνεργάτες που ανέφεραν ότι η ROTEM παρέχει ταχεία και ακριβής πληροφόρηση για τη διάγνωση της υπερινωδόλυσης στον ίδιο πληθυσμό [184]. Φαίνεται ότι οι ιξοδωελαστικές μέθοδοι είναι ικανές να ανιχνεύουν τις πιο σοβαρές μορφές υπερινωδόλυσης, αλλά σε ότι αφορά στις μέτριου βαθμού υπερινωδολυτικές καταστάσεις ο βαθμός ευαισθησίας τους είναι μέτριος έως ελλιπής [177]. Ένας σημαντικός περιορισμός όλων των μελετών που δημοσιεύθηκαν για το συγκεκριμένο πεδίο έρευνας που πιθανώς αντιστοιχούν στα διαμετρικά αντίθετα ευρήματα, είναι η απουσία μιας εύχρηστης και αξιόπιστης (gold standard assay) δοκιμασίας που θα μελετήσει σφαιρικά την ινωδολυτική δραστηριότητα και θα συμβάλλει στην καθιέρωση κοινά

αποδεκτών διαγνωστικών κριτηρίων της υπερινωδόλυσης, περιορίζοντας τη χρήση διαφορετικών ορίων ακόμη και για τις ιξοδωελαστικές μεθόδους που χρησιμοποιούνται σε διάφορες μελέτες.

Οι εργασίες που αφορούν στο ινωδολυτικό σύστημα στα νεογνά είναι περιορισμένες. Οι Peker και οι συνεργάτες, μελετώντας το ινωδολυτικό σύστημα σε 40 σηπτικά και 21 υγιή νεογνά χρησιμοποιώντας τη μέθοδο global fibrinolytic capacity (GFC) βρήκαν μειωμένο ινωδολυτικό δυναμικό στις πιο σοβαρές μορφές της νεογνικής σηψαιμίας [185]. Παρομοίως, ο Yurdakök και οι συνεργάτες του χρησιμοποιώντας την ίδια μέθοδο διαπίστωσαν μειωμένη ινωδολυτική ισχύ σε πρόωρα νεογνά με σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας [186].

Η ερευνητική μας ομάδα, χρησιμοποιώντας το ROTEM® ανέφερε πρόσφατα ότι η σηψαιμία, ωστόσο όμως, βάσει των EXTEM LIs, δεν φαίνεται να διαταράσσεται το ινωδολυτικό προφίλ των σηπτικών νεογνών [187].Το εύρημα αυτό λαμβάνοντας υπόψη την ικανότητα της ROTEM® να ανιχνεύσει εξασθενημένη ινωδολυτική δραστηριότητα σε σηπτικούς ενήλικες [100,163,188], αποτέλεσε ισχυρό κίνητρο για τον σχεδιασμό της τρέχουσας μελέτης ως προς την διερεύνηση της ινωδολυτικής δραστηριότητας κατά τη νεογνική σηψαιμία. Επιλέχθηκε ένας νέος πληθυσμός μελέτης και διενεργήθηκαν τόσο οι δοκιμές EXTEM όσο και APTEM, προκειμένου να διακρίνουμε την φυσιολογική ινωδολυτική απάντηση του οργανισμού από την υπερινωδόλυση, μια προσέγγιση που πιθανότατα είχε ως αποτέλεσμα μια πιο αξιόπιστη και ακριβής αξιολόγηση του ινωδολυτικού προφίλ στα σηπτικά νεογνά.

Ωστόσο, αν και οι περισσότερες παράμετροι EXTEM διέφεραν σημαντικά μεταξύ των υγιών νεογνών, των σηπτικών νεογνών και των νεογνών με υποψία σήψης, τα επίπεδα ML και LI60 ήταν παρόμοια για τις 3 ομάδες εύρημα το οποίο συμβάδιζε πλήρως με τα αποτελέσματα της αρχικής μελέτης [187]. Η υπερ-ινωδόλυση, όπως ορίζεται από τις παραμέτρους EXTEM και APTEM, δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των 3 ομάδων, υποδεικνύοντας ότι σύμφωνα με τη ROTEM® η υπερινωδολυτική δραστηριότητα σε σηπτικά νεογνά δεν επηρεάζεται από την σοβαρότητα της νόσου. Αντίθετα, στα σηπτικά νεογνά σε σύγκριση με τις άλλες δυο ομάδες παρατηρήθηκε καταστολή (shut down), της ινωδολυτικής δραστηριότητας που ορίστηκε ως EXTEM LI60 ≥ 98%, εύρημα παρόμοιο με τον Peker και συνεργάτες του [185]. Παρομοίως, σε σηπτικούς ενήλικες, παρατηρείται καταστολή της ινωδόλυσης [163], ενώ το LI60 έχει αναφερθεί ως πρώιμος και αξιόπιστος βιοδείκτης σοβαρής σήψης σε πάσχοντες [100].

Επιπλέον, στην τρέχουσα μελέτη παρατηρήθηκε ασθενής έως μέτρια συσχέτιση των LI60 και ML με τη θνησιμότητα και το SNAPPE score στα σηπτικά νεογνά. Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν πιθανώς ότι, όπως και οι ενήλικες, το «shut down» της ινωδόλυσης σε νεογνά που νοσηλεύονται στις ΜΕΝΝ μπορεί να είναι δείκτης σοβαρότητας της νόσου. Επιπλέον, οι περισσότερες παράμετροι πήξης ROTEM® διατήρησαν τη στατιστικά σημαντική διαφορά τους, καταδεικνύοντας ένα υποπηκτικό προφίλ σε σηπτικά νεογνά σε σύγκριση με τα υγιή ή εκείνα με υποψία σηψαιμίας, εύρημα το οποίο έχει περιγραφεί και σε προηγούμενη μελέτη της ομάδας μας [187]. Ωστόσο, η σημαντική επικάλυψη μεταξύ των αριθμητικών τιμών ROTEM® θέτει σε αμφισβήτηση τη διαγνωστική κλινική χρησιμότητά τους.

Σε ενήλικες, οι θρομβοελαστομετρικές παράμετροι LIs αποδείχθηκαν αξιόπιστοι βιοδείκτες για την έγκαιρη αναγνώριση των ασθενών που πάσχουν από σήψη [131] . Παρά το αυξημένο ποσοστό «shut down» της ινωδόλυσης που παρατηρήθηκε στα σηπτικά νεογνά, τα αποτελέσματά μας, δείχνουν ότι οι LI παράμετροι της θρομβοελαστομετρίας δεν μπορούν να διακρίνουν αποτελεσματικά τα σηπτικά νεογνά από εκείνα με υποψία σηψαιμίας. Θα μπορούσε να υποστηριχθεί ότι το εύρημα αυτό οφείλεται πιθανώς στη μειωμένη διαγνωστική απόδοση της ROTEM® όσον αφορά στις ήπιες- μέτριες μορφές ινωδολυτικής απάντησης του οργανισμού [177,189]. Επειδή τα ιξωδοελαστικά τεστ αξιολογούν σφαιρικά το αιμοστατικό σύστημα, οι παράμετροι εκτίμησης της ινωδόλυσης δεν συνιστούν μεμονωμένη ποσοτικοποίηση της ινωδολυτικής δραστηριότητας, αλλά εκφράζουν την ισορροπία μεταξύ σχηματισμού θρόμβου και αποδόμησης αυτού [182]. Έτσι, μια διαταραγμένη ινωδολυτική απάντηση θα μπορούσε να συνυπάρχει και να επικαλυφθεί από το έντονο υποπηκτικό προφίλ που επικρατεί στα σηπτικά νεογνά.

Η μελέτη μας έχει ορισμένους περιορισμούς. Αποτελεί μια έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε μια μονάδα εντατικής νοσηλείας νεογνών η οποία περιελάμβανε σχετικά περιορισμένο αριθμό ασθενών, επομένως απαιτούνται περαιτέρω μελέτες με μεγαλύτερα μεγέθη δείγματος για να επιβεβαιωθούν ή να αναιρεθούν αυτά τα αποτελέσματα. Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί ότι τα τρέχοντα ευρήματα ευθυγραμμίζονται πλήρως με αυτά που είχαν ληφθεί στο παρελθόν σε παρόμοιο πληθυσμό που έχει μελετήσει η ερευνητική μας ομάδα [187]. Δεδομένου ότι διενεργήσαμε μόνο μία μέτρηση ROTEM® την πρώτη ημέρα της σήψης, είναι αβέβαιο πώς η θεραπεία και η εξέλιξη της σήψης θα μπορούσαν να επηρεάσουν την ινωδολυτική απάντηση. Σύμφωνα με το πρωτόκολλο της μονάδας μας και τους περιορισμούς

που υφίστανται για τον επιτρεπόμενο όγκο αίματος που μπορεί να ληφθεί από τα νεογνά, οι συμβατικές δοκιμασίες πήξης διενεργήθηκαν σε περιορισμένο αριθμό νεογνών, επομένως δεν μπορούσαν να συμπεριληφθούν στη στατιστική ανάλυση και να συγκριθούν με τα αποτελέσματα από τις δοκιμασίες ROTEM®. Τέλος η απουσία μιας «gold standard» δοκιμασίας για τη μέτρηση της ινωδολυτικής δραστηριότητας όπως και η έλλειψη των τιμών αναφοράς δεν επέτρεψαν να ορίσουμε με ακρίβεια τις διαταραχές του συστήματος της ινωδόλυσης. Έτσι, τα χαρακτηριστικά διαγνωστικής απόδοσης της ROTEM® για την ινωδόλυση παραμένουν άγνωστα.

# **6.** ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά, η ROTEM®, με βάση τις ινωδολυτικές παραμέτρους, κατέγραψε «shut down» της ινωδόλυσης στα σηπτικά νεογνά, αλλά δεν κατάφερε ούτε να διακρίνει αποτελεσματικά τα νεογνά αυτά, ούτε να προβλέψει τη κλινική τους έκβαση. Το έντονο υποπηκτικό προφίλ που παρατηρήθηκε στα νεογνά με σηψαιμία, μπορεί να επικαλύπτει τις ήπιες- μέτριες μορφές ανώμαλης ινωδολυτικής απάντησης του οργανισμού. Ωστόσο, το «shut down» της ινωδόλυσης σε ενήλικες έχει ανιχνευθεί επανειλημμένα από τις ROTEM® LIs παραμέτρους ως αναπόσπαστο μέρος της απόκρισης του ξενιστή σε σοβαρή λοίμωξη, υποδεικνύοντας ότι το σύστημα ινωδόλυσης τόσο σε νεογνά όσο και σε ενήλικες, αντιδρά στην κρίσιμη ασθένεια με παρόμοιο τρόπο. Καθώς η χρήση των ιξωδοελαστικών μεθόδων στη διάγνωση και τη διαχείριση των διαταραχών πήξης στα νεογνά διευρύνεται σταδιακά [189], οι εργαστηριακές πληροφορίες που λαμβάνονται, αν και ενδιαφέρουσες, πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή. Το γεγονός ότι οι ιξωδοελαστικές μέθοδοι αξιολογούν ταυτόχρονα την κινητική του σχηματισμού και λύσης του θρόμβου, παρέχοντας συνολικές πληροφορίες για την πήξη και την ινωδόλυση, πιθανώς τις καθιστά ακατάλληλες για την αξιολόγηση κάθε συστήματος της αιμόστασης ξεχωριστά και ανεξάρτητα.

Με βάση τα ευρήματά μας, η ROTEM® φαίνεται να έχει περιορισμένη κλινική χρησιμότητα στην εκτίμηση της ινωδολυτικής κατάστασης στα σηπτικά νεογνά. Τέλος, το σύστημα πήξης και ινωδόλυσης στα νεογνά δεν είναι επαρκώς αναπτυγμένο [148], διαφέρει από αυτό των ενηλίκων και απαιτείται περαιτέρω έρευνα για τον καθορισμό των καταλληλότερων μεθόδων για την αξιολόγηση του αιμοστατικού προφίλ των νεογνών στην κλινική πράξη.

# 7. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: παρά το ότι η ινωδόλυση είναι ένα σημαντικό και αναπόσπαστο μέρος του αιμοστατικού συστήματος, λίγα δεδομένα είναι διαθέσιμα σχετικά με την ινωδολυτική δραστηριότητας στη νεογνική σηψαιμία.

Σκοπός: η αξιολόγηση της διαγνωστικής αξίας της ROTEM® στην πρώιμη διάγνωση των διαταραχών της ινωδόλυση σε σηπτικά νεογνά.

Υλικό και Μέθοδος: Μελετήθηκαν 66 νεογνά που νοσηλεύτηκαν στη ΜΕΝΝ με κλινική εικόνα ύποπτη σηψαιμίας (n=22) ή επιβεβαιωμένη σηψαιμία (n=44), τη διετία 2017-2019.

Στα νεογνά της μελέτης, με κλινική εικόνα ύποπτη σηψαιμίας, παράλληλα με τον συνήθη έλεγχο λοίμωξης, διενεργήθηκαν οι δοκιμασίες ROTEM® (EXTEM- APTEM) και μετρήθηκαν οι ακόλουθες παράμετροι: CT, CFT, A10, MCF, angle α° και LI60. Οι ευρεθείσες τιμές των παραμέτρων ROTEM® συγκρίθηκαν με τις αντίστοιχες 110 υγιών νεογνών.

Η υπερινωδόλυση ορίστηκε ως EXTEM ML (μέγιστος δείκτης λύσης)>15% και φυσιολογικό APTEM ML στα 60 λεπτά μετά την έναρξη του σχηματισμού θρόμβου (ενώ η καταστολή της ινωδόλυσης ορίστηκε ώς δείκτης λύσης EXTEM στα 60 λεπτά (LI60)≥98%.

Αποτελέσματα: Τα νεογνά με σήψη είχαν σημαντικά παρατεταμένο το CT και CFT, καθώς και μειωμένο MCF, A10 σε σύγκριση με τα νεογνά με υποψία σήψης και τα υγιή νεογνά (τιμές $p < 0.05$) ενώ δεν σημειώθηκε σημαντικά στατιστική διαφορά των τιμών των παραμέτρων ML και LI60 μεταξύ των τριών ομάδων ($p = 0,11$ και $p = 0,20$ αντίστοιχα). Η πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε ότι η υπερινωδόλυση, όπως ορίζεται από τις παραμέτρους ROTEM® δεν συσχετίστηκε με σήψη (OR = 1,14, 95% CI: 0,27-4,78, $p = 0,85$). Αντιθέτως, τα σηπτικά νεογνά είχαν 18,23 φορές περισσότερες πιθανότητες να παρουσιάσουν καταστολή της ινωδόλυσης (OR = 18,23, 95% CI: 2,87-115,80, $p = 0,002$) σε σύγκριση με τα υγιή νεογνά.

Από την στατιστική ανάλυση προέκυψε θετική συσχέτιση της παραμέτρου EXTEM LI60 με το SNAPPE score (Spearman rho = 0,35, $p = 0,02$) και τον κίνδυνο θνητότητας ο οποίος εκτιμήθηκε χρησιμοποιώντας το ίδιο (SNAPPE) score, (Spearman rho = 0,43, $p = 0,005$). Το ML είχε αρνητική συσχέτιση με τον κίνδυνο θνητότητας (Spearman rho = -0.40, $p = 0.007$) και το SNAPPE score (Spearman rho = -0.33, $ρ = 0,03$).

Συμπεράσματα**:** Τα σηπτικά νεογνά δεν παρουσίασαν σημεία υπερινωδόλυσης, αντίθετα μάλιστα, η καταστολή της ινωδόλυσης ήταν το συχνότερο εύρημα στον πληθυσμό αυτό. Ωστόσο, η κλινική χρησιμότητα των παραμέτρων LI60 ή ML ήταν περιορισμένη σε ότι αφορά στη διάκριση σηπτικών νεογνών από υγιή νεογνά ή νεογνά με υποψία σηψαιμίας και στην ικανότητα πρόβλεψης της έκβασης της σήψης. Με βάση τα ευρήματά μας, η ROTEM® φαίνεται να έχει περιορισμένη κλινική χρησιμότητα στην εκτίμηση της ινωδολυτικής κατάστασης στα σηπτικά νεογνά.

## ABSTRACT

**Background:** Hypofibrinolysis has been demonstrated in several studies in adult sepsis. Although fibrinolysis is an important and integral part of the hemostatic system, few data are available regarding its role in neonatal sepsis. Our purpose was to define fibrinolytic profiles across neonatal sepsis spectrum using rotational thromboelastometry (ROTEM®).

**Material and Methods**: This study was performed in a Greek tertiary General Hospital during an 18 month-period and included 44 neonates with confirmed sepsis and 22 with suspected sepsis; 110 healthy neonates served as controls. Whenever sepsis was suspected, EXTEM and APTEM assays were performed, clinical findings and laboratory data were recorded.

**Results:** Although most EXTEM parameters were significantly different among the 3 groups, Maximal Lysis (ML) and Lysis Index at 60 minutes (LI60) levels were similar (p=0.11 and p=0.20, respectively). Hyperfibrinolysis, as defined by ROTEM® parameters, did not significantly differ among the study populations (p=0.41). On the contrary, fibrinolysis shutdown, defined as an EXTEM LI60 ≥ 98%, was more common in septic neonates than in healthy (p<0.001) and neonates with suspected sepsis (p=0.042). A weak to moderate correlation of LI60 and ML with mortality (Spearman rho=0.43 and -0.40, p=0.005 and 0.007, respectively) and SNAPE score (Spearman rho=0.35 and -0.33, p=0.02 and 0.03, respectively) was noticed in sepsis group.

**Conclusions:** ROTEM®, based on fibrinolytic parameters, showed a more frequent fibrinolysis shutdown in neonatal sepsis, but it could neither effectively discriminate septic neonates, nor predict their clinical outcome. The considerable overlap among numerical ROTEM® values probably compromises their diagnostic clinical utility in neonatal sepsis.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ


1. Lawn, J. E.; Wilczynska-Ketende, K.; Cousens, S. N. Estimating the Causes of 4 Million Neonatal Deaths in the Year 2000. *Int. J. Epidemiol.* **2006**. https://doi.org/10.1093/ije/dyl043.
2. Hibbert, J. E.; Currie, A.; Strunk, T. Sepsis-Induced Immunosuppression in Neonates. *Front. Pediatr.* **2018**, *6*. https://doi.org/10.3389/fped.2018.00357.
3. Decembrino, L.; Ruffinazzi, G.; DAngelo, A.; Decembrino, N.; Manzoni, P.; Boncimino, A.; Stronati, M. Septic Shock in Neonates. In *Severe Sepsis and Septic Shock - Understanding a Serious Killer*; 2012. https://doi.org/10.5772/30027.
4. Northern Devon Healthcare; NHS. Sepsis Management Guidelines ( Early and Late Onset ) for Neonates. *Sepsis Manag. Guidel. (early late onset) Neonates* **2016**, *2*, 1–21.
5. Haque, K. N. Understanding and Optimizing Outcome in Neonates with Sepsis and Septic Shock. In *Intensive Care Medicine: Annual Update 2007*; 2007; pp 55–68. https://doi.org/10.1007/978-0-387-49518-7_6.
6. Greenberg, R. G.; Kandefer, S.; Do, B. T.; Smith, P. B.; Stoll, B. J.; Bell, E. F.; Carlo, W. A.; Laptook, A. R.; Sánchez, P. J.; Shankaran, S.; et al. Late-Onset Sepsis in Extremely Premature Infants: 2000-2011. *Pediatric Infectious Disease Journal*. 2017. https://doi.org/10.1097/INF.0000000000001570.
7. Stoll, B. J.; Hansen, N. Infections in VLBW Infants: Studies from the NICHD Neonatal Research Network. *Semin. Perinatol.* **2003**. https://doi.org/10.1016/S0146-0005(03)00046-6.
8. Stoll, B. J.; Hansen, N. I.; Adams-Chapman, I.; Fanaroff, A. A.; Hintz, S. R.; Vohr, B.; Higgins, R. D. Neurodevelopmental and Growth Impairment among Extremely Low-Birth-Weight Infants with Neonatal Infection. *J. Am. Med. Assoc.* **2004**. https://doi.org/10.1001/jama.292.19.2357.
9. Ince, C. The Microcirculation Is the Motor of Sepsis. *Critical Care*. 2005. https://doi.org/10.1186/cc3753.
10. Haque, K. N.; Khan, M. A.; Kerry, S.; Stephenson, J.; Woods, G. Pattern of Culture-Proven Neonatal Sepsis in a District General Hospital in the United Kingdom. *Infect.*

*Control Hosp. Epidemiol.* **2004**, *25* (9), 759–764. https://doi.org/10.1086/502473.

11. Kermorvant-Duchemin, E.; Laborie, S.; Rabilloud, M.; Lapillonne, A.; Claris, O. Outcome and Prognostic Factors in Neonates with Septic Shock. *Pediatr. Crit. Care Med.* **2008**. https://doi.org/10.1097/PCC.0b013e31816689a8.
12. Strunk, T.; Currie, A.; Richmond, P.; Simmer, K.; Burgner, D. Innate Immunity in Human Newborn Infants: Prematurity Means More than Immaturity. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. 2011, pp 25–31. https://doi.org/10.3109/14767058.2010.482605.
13. Stoll, B. J.; Hansen, N.; Fanaroff, A. A.; Wright, L. L.; Carlo, W. A.; Ehrenkranz, R. A.; Lemons, J. A.; Donovan, E. F.; Stark, A. R.; Tyson, J. E.; et al. Late-Onset Sepsis in Very Low Birth Weight Neonates: The Experience of the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics* **2002**. https://doi.org/10.1542/peds.110.2.285.
14. Stoll, B. J.; Hansen, N. I.; Sánchez, P. J.; Faix, R. G.; Poindexter, B. B.; Van Meurs, K. P.; Bizzarro, M. J.; Goldberg, R. N.; Frantz, I. D.; Hale, E. C.; et al. Early Onset Neonatal Sepsis: The Burden of Group B Streptococcal and E. Coli Disease Continues. *Pediatrics* **2011**. https://doi.org/10.1542/peds.2010-2217.
15. Shane, A. L.; Sánchez, P. J.; Stoll, B. J. Neonatal Sepsis. *The Lancet*. 2017. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31002-4.
16. Simonsen, K. A.; Anderson-Berry, A. L.; Delair, S. F.; Dele Davies, H. Early-Onset Neonatal Sepsis. *Clin. Microbiol. Rev.* **2014**. https://doi.org/10.1128/CMR.00031-13.
17. Schuchat, A. Neonatal Group B Streptococcal Disease - Screening and Prevention. *New England Journal of Medicine*. 2000. https://doi.org/10.1056/NEJM200007203430310.
18. Hornik, C. P.; Fort, P.; Clark, R. H.; Watt, K.; Benjamin, D. K.; Smith, P. B.; Manzoni, P.; Jacqz-Aigrain, E.; Kaguelidou, F.; Cohen-Wolkowiez, M. Early and Late Onset Sepsis in Very-Low-Birth-Weight Infants from a Large Group of Neonatal Intensive Care Units. *Early Hum. Dev.* **2012**. https://doi.org/10.1016/S0378-3782(12)70019-1.
19. Van Den Hoogen, A.; Gerards, L. J.; Verboon-Maciolek, M. A.; Fleer, A.; Krediet, T. G. Long-Term Trends in the Epidemiology of Neonatal Sepsis and Antibiotic Susceptibility of Causative Agents. *Neonatology* **2009**. https://doi.org/10.1159/000226604.

20. Polin, R. A.; St Geme, J. W. Neonatal Sepsis. *Advances in pediatric infectious diseases*. 1992.

21. Grigsby, P. L.; Novy, M. J.; Waldorf, K. M. A.; Sadowsky, D. W.; Gravett, M. G. Choriodecidual Inflammation: A Harbinger of the Preterm Labor Syndrome. *Reprod. Sci.* **2010**, *17* (1), 85–94. https://doi.org/10.1177/1933719109348025.

22. Goldenberg, R. L.; Hauth, J. C.; Andrews, W. W. Intrauterine Infection and Preterm Delivery. *New England Journal of Medicine*. 2000, pp 1500–1507. https://doi.org/10.1056/NEJM200005183422007.

23. R.S., G.; P., D. Progress in Pathogenesis and Management of Clinical Intraamniotic Infection. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1991**, *164* (5 I), 1317–1326.

24. Adair, C. E.; Kowalsky, L.; Quon, H.; Ma, D.; Stoffman, J.; McGeer, A.; Robertson, S.; Mucenski, M.; Davies, H. D. Risk Factors for Early-Onset Group B Streptococcal Disease in Neonates: A Population-Based Case-Control Study. *CMAJ* **2003**.

25. A., S.; K., D.-R.; B.D., P.; K.M., Z.; J., M.-B.; J.D., W.; G., R.-A.; B., P.; P., D.; E., S.; et al. Multistate Case-Control Study of Maternal Risk Factors for Neonatal Group B Streptococcal Disease. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **1994**.

26. Persson, K.; Christensen, K. K.; Christensen, P.; Forsgren, A.; Jörgensen, C.; Persson, P. Håk. Asymptomatic Bacteriuria during Pregnancy with Special Reference to Group B Streptococci. *Scand. J. Infect. Dis.* **1985**. https://doi.org/10.3109/inf.1985.17.issue-2.11.

27. Carstensen, H.; Christensen, K. K.; Grennert, L.; Persson, K.; Polberger, S. Early-Onset Neonatal Group B Streptococcal Septicaemia in Siblings. *J. Infect.* **1988**. https://doi.org/10.1016/S0163-4453(88)96426-2.

28. Faxelius, G.; Bremme, K.; Kvist-Christensen, K.; Christensen, P.; Ringertz, S. Neonatal Septicemia Due to Group B Streptococci — Perinatal Risk Factors and Outcome of Subsequent Pregnancies. *J. Perinat. Med.* **1988**. https://doi.org/10.1515/jpme.1988.16.5-6.423.

29. Herbst, A.; Källén, K. Time between Membrane Rupture and Delivery and Septicemia in Term Neonates. *Obstet. Gynecol.* **2007**. https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000277632.36186.84.

30. Tita, A. T. N.; Andrews, W. W. Diagnosis and Management of Clinical Chorioamnionitis. *Clinics in Perinatology*. 2010. https://doi.org/10.1016/j.clp.2010.02.003.

31. Wynn, J. L.; Wong, H. R. Pathophysiology and Treatment of Septic Shock in Neonates. *Clin. Perinatol.* **2010**, *37* (2), 439–479. https://doi.org/10.1016/j.clp.2010.04.002.

32. Polin, R. A.; Papile, L. A.; Baley, J. E.; Benitz, W.; Carlo, W. A.; Cummings, J.; Kumar, P.; Tan, R. C.; Wang, K. S.; Watterberg, K. L.; et al. Management of Neonates with Suspected or Proven Early-Onset Bacterial Sepsis. *Pediatrics* **2012**. https://doi.org/10.1542/peds.2012-0541.

33. Morven, E. S. Clinical Features, Evaluation, and Diagnosis of Sepsis in Term and Late Preterm Infants. *UpToDate* **2015**, *1* (4), 1–13.

34. Benitz, W. E.; Gould, J. B.; Druzin, M. L. Risk Factors for Early-Onset Group b Streptococcal Sepsis: Estimation of Odds Ratios by Critical Literature Review. *Pediatrics* **1999**. https://doi.org/10.1542/peds.103.6.e77.

35. Arnon, S.; Litmanovitz, I. Diagnostic Tests in Neonatal Sepsis. *Current Opinion in Infectious Diseases*. 2008. https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e3282fa15dd.

36. Gerdes, J. S. Clinicopathologic Approach to the Diagnosis of Neonatal Sepsis. In *Clinics in Perinatology*; 1991; Vol. 18, pp 361–381. https://doi.org/10.1016/s0095-5108(18)30528-1.

37. Stoll, B. J.; Gordon, T.; Korones, S. B.; Shankaran, S.; Tyson, J. E.; Bauer, C. R.; Fanaroff, A. A.; Lemons, J. A.; Donovan, E. F.; Oh, W.; et al. Early-Onset Sepsis in Very Low Birth Weight Neonates: A Report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *J. Pediatr.* **1996**. https://doi.org/10.1016/s0022-3476(96)70192-0.

38. Weston, E. J.; Pondo, T.; Lewis, M. M.; Martell-Cleary, P.; Morin, C.; Jewell, B.; Daily, P.; Apostol, M.; Petit, S.; Farley, M.; et al. The Burden of Invasive Early-Onset Neonatal Sepsis in the United States, 2005-2008. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **2011**. https://doi.org/10.1097/INF.0b013e318223bad2.

39. Aneja, R. K.; Aneja, R. V.; Good, M.; Carcillo, J. A. Neonatal Septic Shock. In *Neonatology*; 2018; pp 1773–1784. https://doi.org/10.1007/978-3-319-29489-6_255.

40. Shane, A. L.; Stoll, B. J. Recent Developments and Current Issues in the Epidemiology, Diagnosis, and Management of Bacterial and Fungal Neonatal Sepsis. *Am. J. Perinatol.* **2013**. https://doi.org/10.1055/s-0032-1333413.

41. Gellin, B. G.; Broome, C. V.; Bibb, W. F.; Weaver, R. E.; Gaventa, S.; Mascola, L. The Epidemiology of Listeriosis in the United States-1986. *Am. J. Epidemiol.* **1991**. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a115893.

42. Goulet, V.; Hedberg, C.; Le Monnier, A.; De Valk, H. Increasing Incidence of Listeriosis in France and Other European Countries. *Emerg. Infect. Dis.* **2008**. https://doi.org/10.3201/eid1405.071395.

43. Dong, Y.; Speer, C. P. Late-Onset Neonatal Sepsis:Recent Developments. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* **2015**, *100* (3), F257--F263. https://doi.org/10.1136/archdischild-2014-306213.

44. Boghossian, N. S.; Page, G. P.; Bell, E. F.; Stoll, B. J.; Murray, J. C.; Cotten, C. M.; Shankaran, S.; Walsh, M. C.; Laptook, A. R.; Newman, N. S.; et al. Late-Onset Sepsis in Very Low Birth Weight Infants from Singleton and Multiple-Gestation Births. *J. Pediatr.* **2013**. https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2012.11.089.

45. Hammoud, M. S.; Al-Taiar, A.; Thalib, L.; Al-Sweih, N.; Pathan, S.; Isaacs, D. Incidence, Aetiology and Resistance of Late-Onset Neonatal Sepsis: A Five-Year Prospective Study. *J. Paediatr. Child Health* **2012**. https://doi.org/10.1111/j.1440-1754.2012.02432.x.

46. Shim, G. H.; Kim, S. D.; Kim, H. S.; Kim, E. S.; Lee, H. J.; Lee, J. A.; Choi, C. W.; Kim, E. K.; Choi, E. H.; Kim, B. Il; et al. Trends in Epidemiology of Neonatal Sepsis in a Tertiary Center in Korea: A 26-Year Longitudinal Analysis, 1980-2005. *J. Korean Med. Sci.* **2011**. https://doi.org/10.3346/jkms.2011.26.2.284.

47. Tsai, M. H.; Hsu, J. F.; Chu, S. M.; Lien, R.; Huang, H. R.; Chiang, M. C.; Fu, R. H.; Lee, C. W.; Huang, Y. C. Incidence, Clinical Characteristics and Risk Factors for Adverse Outcome in Neonates with Late-Onset Sepsis. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **2014**. https://doi.org/10.1097/INF.0b013e3182a72ee0.

48. Tröger, B.; Göpel, W.; Faust, K.; Müller, T.; Jorch, G.; Felderhoff-Müser, U.; Gortner, L.; Heitmann, F.; Hoehn, T.; Kribs, A.; et al. Risk for Late-Onset Blood-Culture Proven Sepsis in Very-Low-Birth Weight Infants Born Small for Gestational Age: A Large Multicenter

Study from the German Neonatal Network. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **2014**. https://doi.org/10.1097/INF.0000000000000031.

49. Leal, Y. A.; Álvarez-Nemegyei, J.; Velázquez, J. R.; Rosado-Quiab, U.; Diego-Rodríguez, N.; Paz-Baeza, E.; Dávila-Velázquez, J. Risk Factors and Prognosis for Neonatal Sepsis in Southeastern Mexico: Analysis of a Four-Year Historic Cohort Follow-Up. *BMC Pregnancy Childbirth* **2012**, *12*, 48. https://doi.org/10.1186/1471-2393-12-48.

50. Gaynes, R. P.; Edwards, J. R.; Jarvis, W. R.; Culver, D. H.; Tolson, J. S.; Martone, W. J. Nosocomial Infections among Neonates in High-Risk Nurseries in the United States. *Pediatrics* **1996**, *98* (3), 357–361.

51. Stoll, B. J.; Gordon, T.; Korones, S. B.; Shankaran, S.; Tyson, J. E.; Bauer, C. R.; Fanaroff, A. A.; Lemons, J. A.; Donovan, E. F.; Oh, W.; et al. Late-Onset Sepsis in Very Low Birth Weight Neonates: A Report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *J. Pediatr.* **1996**, *129* (1), 63–71. https://doi.org/10.1016/S0022-3476(96)70191-9.

52. Thompson, P. J.; Greenough, A.; Hird, M. F.; Philpott-Howard, J.; Gamsu, H. R. Nosocomial Bacterial Infections in Very Low Birth Weight Infants. *Eur. J. Pediatr.* **1992**. https://doi.org/10.1007/BF01959362.

53. Tsai, M. H.; Chu, S. M.; Hsu, J. F.; Lien, R.; Huang, H. R.; Chiang, M. C.; Fu, R. H.; Lee, C. W.; Huang, Y. C. Risk Factors and Outcomes for Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteremia in the NICU. *Pediatrics* **2014**. https://doi.org/10.1542/peds.2013-1248.

54. Rhodes, A.; Evans, L. E.; Alhazzani, W.; Levy, M. M.; Antonelli, M.; Ferrer, R.; Kumar, A.; Sevransky, J. E.; Sprung, C. L.; Nunnally, M. E.; et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med.* **2017**, *43* (3), 304–377. https://doi.org/10.1007/s00134-017-4683-6.

55. Brierley, J.; Carcillo, J. A.; Choong, K.; Cornell, T.; Decaen, A.; Deymann, A.; Doctor, A.; Davis, A.; Duff, J.; Dugas, M. A.; et al. Clinical Practice Parameters for Hemodynamic Support of Pediatric and Neonatal Septic Shock: 2007 Update from the American College of Critical Care Medicine. *Crit. Care Med.* **2009**, *37* (2), 666–688. https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e31819323c6.

56. Wynn, J. L. Defining Neonatal Sepsis. *Current Opinion in Pediatrics*. 2016, pp 135–140. https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000315.

57. Goldstein, B.; Giroir, B.; Randolph, A. International Pediatric Sepsis Consensus Conference: Definitions for Sepsis and Organ Dysfunction in Pediatrics. In *Pediatric Critical Care Medicine*; 2005; Vol. 6. https://doi.org/10.1097/01.PCC.0000149131.72248.E6.

58. Dellinger, R. P.; Levy, M. M.; Carlet, J. M.; Bion, J.; Parker, M. M.; Jaeschke, R.; Reinhart, K.; Angus, D. C.; Brun-Buisson, C.; Beale, R.; et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2008. *Crit. Care Med.* **2008**, *36* (1), 296–327. https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000298158.12101.41.

59. Osthaus, W. A.; Witt, L.; Johanning, K.; Boethig, D.; Winterhalter, M.; Huber, D.; Heimbucher, C.; Suempelmann, R. Equal Effects of Gelatin and Hydroxyethyl Starch (6% HES 130/0.42) on Modified Thrombelastography in Children. *Acta Anaesthesiol. Scand.* **2009**. https://doi.org/10.1111/j.1399-6576.2008.01863.x.

60. Romlin, B. S.; Wåhlander, H.; Berggren, H.; Synnergren, M.; Baghaei, F.; Nilsson, K.; Jeppsson, A. Intraoperative Thromboelastometry Is Associated with Reduced Transfusion Prevalence in Pediatric Cardiac Surgery. *Anesth. Analg.* **2011**. https://doi.org/10.1213/ANE.0b013e3181fe4674.

61. Gando, S. Role of Fibrinolysis in Sepsis. *Semin. Thromb. Hemost.* **2013**, *39* (4), 392–399. https://doi.org/10.1055/s-0033-1334140.

62. Obonyo, N. G.; Schlapbach, L. J.; Fraser, J. F. Sepsis: Changing Definitions, Unchanging Treatment. *Front. Pediatr.* **2019**. https://doi.org/10.3389/fped.2018.00425.

63. WHO. *Pocket Book of Hospital Care for Children: Guidelines for the Management of Common Childhood Illnesses*; 2013.

64. Davis, A. L.; Carcillo, J. A.; Aneja, R. K.; Deymann, A. J.; Lin, J. C.; Nguyen, T. C.; Okhuysen-Cawley, R. S.; Relvas, M. S.; Rozenfeld, R. A.; Skippen, P. W.; et al. American College of Critical Care Medicine Clinical Practice Parameters for Hemodynamic Support of Pediatric and Neonatal Septic Shock. *Critical Care Medicine*. 2017, pp 1061–1093. https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000002425.

65. Maitland, K.; Kiguli, S.; Opoka, R. O.; Engoru, C.; Olupot-Olupot, P.; Akech, S. O.; Nyeko, R.; Mtove, G.; Reyburn, H.; Lang, T.; et al. Mortality after Fluid Bolus in African Children with Severe Infection. *N. Engl. J. Med.* **2011**, *364* (26), 2483–2495. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1101549.

66. Wynn, J.; Cornell, T. T.; Wong, H. R.; Shanley, T. P.; Wheeler, D. S. The Host Response to Sepsis and Developmental Impact. *Pediatrics*. 2010. https://doi.org/10.1542/peds.2009-3301.

67. Sankar, M. J.; Agarwal, R.; Deorari, A. K.; Paul, V. K. Sepsis in the Newborn. In *Indian Journal of Pediatrics*; 2008; Vol. 75, pp 261–266. https://doi.org/10.1007/s12098-008-0056-z.

68. Fischer, J. E.; Harbarth, S.; Agthe, A. G.; Benn, A.; Ringer, S. A.; Goldmann, D. A.; Fanconi, S. Quantifying Uncertainty: Physicians' Estimates of Infection in Critically Ill Neonates and Children. *Clin. Infect. Dis.* **2004**, *38* (10), 1383–1390. https://doi.org/10.1086/420741.

69. Ng, P. C. Diagnostic Markers of Infection in Neonates. *Archives of Disease in Childhood: Fetal and Neonatal Edition*. 2004. https://doi.org/10.1136/adc.2002.023838.

70. Kellogg, J. A.; Ferrentino, F. L.; Goodstein, M. H.; Liss, J.; Shapiro, S. L.; Bankert, D. A. Frequency of Low Level Bacteremia in Infants from Birth to Two Months of Age. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **1997**, *16* (4), 381–385. https://doi.org/10.1097/00006454-199704000-00009.

71. Vas, A. A.; Coptil, C. A.; Dima, M.; Căpitan, F.; Ilie, C. Markers for Quick Diagnosis of Neonatal Septicemia. *Ginecologia.ro* **2018**, *1* (19), 36. https://doi.org/10.26416/gine.19.1.2018.1515.

72. Sharma, D.; Farahbakhsh, N.; Shastri, S.; Sharma, P. Biomarkers for Diagnosis of Neonatal Sepsis: A Literature Review. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. 2018, pp 1646–1659. https://doi.org/10.1080/14767058.2017.1322060.

73. Ng, P. C.; Lam, H. S. Biomarkers for Late-Onset Neonatal Sepsis: Cytokines and Beyond. *Clinics in Perinatology*. 2010, pp 599–610. https://doi.org/10.1016/j.clp.2010.05.005.

74. Gilfillan, M.; Bhandari, V. <p>Neonatal Sepsis Biomarkers: Where Are We Now?</P>. *Res. Reports Neonatol.* **2019**, *Volume 9*, 9–20. https://doi.org/10.2147/rrn.s163082.

75. Van den Brand, M.; Peters, R. P. H.; Catsburg, A.; Rubenjan, A.; Broeke, F. J.; Van den Dungen, F. A. M.; Van Weissenbruch, M. M.; Van Furth, A. M.; Kõressaar, T.; Remm, M.; et al. Development of a Multiplex Real-Time PCR Assay for the Rapid Diagnosis of Neonatal Late Onset Sepsis. *J. Microbiol. Methods* **2014**, *106*, 8–15. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.07.034.

76. van den Brand, M.; van den Dungen, F. A. M.; Bos, M. P.; van Weissenbruch, M. M.; van Furth, A. M.; de Lange, A.; Rubenjan, A.; Peters, R. P. H.; Savelkoul, P. H. M. Evaluation of a Real-Time PCR Assay for Detection and Quantification of Bacterial DNA Directly in Blood of Preterm Neonates with Suspected Late-Onset Sepsis. *Crit. Care* **2018**, *22* (1). https://doi.org/10.1186/s13054-018-2010-4.

77. Straub, J.; Paula, H.; Mayr, M.; Kasper, D.; Assadian, O.; Berger, A.; Rittenschober-Böhm, J. Diagnostic Accuracy of the ROCHE Septifast PCR System for the Rapid Detection of Blood Pathogens in Neonatal Sepsis - A Prospective Clinical Trial. *PLoS One* **2017**, *12* (11). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187688.

78. Khodakov, D.; Wang, C.; Zhang, D. Y. Diagnostics Based on Nucleic Acid Sequence Variant Profiling: PCR, Hybridization, and NGS Approaches. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2016, pp 3–19. https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.005.

79. Perrone, S.; Lotti, F.; Longini, M.; Rossetti, A.; Bindi, I.; Bazzini, F.; Belvisi, E.; Sarnacchiaro, P.; Scapellato, C.; Buonocore, G. C Reactive Protein in Healthy Term Newborns during the First 48 Hours of Life. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* **2018**, *103* (2), F163–F166. https://doi.org/10.1136/archdischild-2016-312506.

80. Hofer, N.; Zacharias, E.; Müller, W.; Resch, B. An Update on the Use of C-Reactive Protein in Early-Onset Neonatal Sepsis: Current Insights and New Tasks. *Neonatology*. 2012, pp 25–36. https://doi.org/10.1159/000336629.

81. Pourcyrous, M.; Bada, H. S.; Korones, S. B.; Baselski, V.; Wong, S. P. Significance of Serial C-Reactive Protein Responses in Neonatal Infection and Other Disorders. *Pediatrics* **1993**, *92* (3), 431–435.

82. Franz, A. R.; Steinbach, G.; Kron, M.; Pohlandt, F. Reduction of Unnecessary Antibiotic Therapy in Newborn Infants Using Interleukin-8 and C-Reactive Protein as Markers of Bacterial Infections. *Pediatrics* **1999**, *104* (3 I), 447–453. https://doi.org/10.1542/peds.104.3.447.

83. Kawamura, M.; Nishida, H. The Usefulness of Serial C-reactive Protein Measurement in Managing Neonatal Infection. *Acta Paediatrica* **1995**, *84* (1), 10–13. https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.1995.tb13475.x.

84. Vincent, J. L.; Donadello, K.; Schmit, X. Biomarkers in the Critically Ill Patient: C-Reactive Protein. *Critical Care Clinics*. 2011, pp 241–251. https://doi.org/10.1016/j.ccc.2010.12.010.

85. Hahn, W. H.; Song, J. H.; Park, I. S.; Kim, H.; Park, S.; Oh, M. H. Reference Intervals of Serum Procalcitonin Are Affected by Postnatal Age in Very Low Birth Weight Infants during the First 60 Days after Birth. *Neonatology* **2015**, *108* (1), 60–64. https://doi.org/10.1159/000381330.

86. Altunhan, H.; Annagür, A.; Örs, R.; Mehmetoğlu, I. Procalcitonin Measurement at 24hours of Age May Be Helpful in the Prompt Diagnosis of Early-Onset Neonatal Sepsis. *Int. J. Infect. Dis.* **2011**, *15* (12). https://doi.org/10.1016/j.ijid.2011.09.007.

87. Vouloumanou, E. K.; Plessa, E.; Karageorgopoulos, D. E.; Mantadakis, E.; Falagas, M. E. Serum Procalcitonin as a Diagnostic Marker for Neonatal Sepsis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Intensive Care Medicine*. 2011, pp 747–762. https://doi.org/10.1007/s00134-011-2174-8.

88. Chiesa, C.; Panero, A.; Rossi, N.; Stegagno, M.; De Giusti, M.; Osborn, J. F.; Pacifico, L. Reliability of Procalcitonin Concentrations for the Diagnosis of Sepsis in Critically Ill Neonates. *Clin. Infect. Dis.* **1998**, *26* (3), 664–672. https://doi.org/10.1086/514576.

89. Dandona, P.; Nix, D.; Wilson, M. F.; Aljada, A.; Love, J.; Assicot, M. Procalcitonin Increase after Endotoxin Injection in Normal Subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1994**, *79* (6), 1605–1608. https://doi.org/10.1210/jcem.79.6.7989463.

90. Jensen, J. U.; Hein, L.; Lundgren, B.; Bestle, M. H.; Mohr, T. T.; Andersen, M. H.; Thornberg, K. J.; Løken, J.; Steensen, M.; Fox, Z.; et al. Procalcitonin-Guided Interventions against Infections to Increase Early Appropriate Antibiotics and Improve Survival in the Intensive Care Unit: A Randomized Trial. *Crit. Care Med.* **2011**, *39* (9), 2048–2058. https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e31821e8791.

91. Shozushima, T.; Takahashi, G.; Matsumoto, N.; Kojika, M.; Okamura, Y.; Endo, S. Usefulness of Presepsin (SCD14-ST) Measurements as a Marker for the Diagnosis and

Severity of Sepsis That Satisfied Diagnostic Criteria of Systemic Inflammatory Response Syndrome. *J. Infect. Chemother.* **2011**, *17* (6), 764–769. https://doi.org/10.1007/s10156-011-0254-x.

92. Miller, M. C.; Mayo, K. H. Chemokines from a Structural Perspective. *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, *18* (10), 1–16. https://doi.org/10.3390/ijms18102088.
93. Tisoncik, J. R.; Korth, M. J.; Simmons, C. P.; Farrar, J.; Martin, T. R.; Katze, M. G. Into the Eye of the Cytokine Storm. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2012**, *76* (1), 16–32. https://doi.org/10.1128/mmbr.05015-11.
94. Ramesh, G.; Maclean, A. G.; Philipp, M. T. Cytokines and Chemokines at the Crossroads of Neuroinflammation, Neurodegeneration, and Neuropathic Pain. *Mediators Inflamm.* **2013**, *2013*. https://doi.org/10.1155/2013/480739.
95. Patoulias, D.; Kalogirou, M. S.; Patoulias, I. Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1 (TREM-1) and Its Soluble in the Plasma Form (STREM-1) as a Diagnostic Biomarker in Neonatal Sepsis. *Folia Med. Cracov.* **2018**, *58* (2), 15–19. https://doi.org/10.24425/fmc.2018.124655.
96. Pietrasanta, C.; Pugni, L.; Ronchi, A.; Bottino, I.; Ghirardi, B.; Sanchez-Schmitz, G.; Borriello, F.; Mosca, F.; Levy, O. Vascular Endothelium in Neonatal Sepsis: Basic Mechanisms and Translational Opportunities. *Front. Pediatr.* **2019**, *7* (August), 1–16. https://doi.org/10.3389/fped.2019.00340.
97. Töllner, U. Early Diagnosis of Septicemia in the Newborn - Clinical Studies and Sepsis Score. *Eur. J. Pediatr.* **1982**, *138* (4), 331–337. https://doi.org/10.1007/BF00442511.
98. Payasli, M. Ö.; Özkul, A. A.; Ayaz, S.; Ataoğlu, E.; Elevli, M. Yenidoğan Sepsisinin Erken Tanisinda Yeni Bir Yöntem: Polimorfonükleer Lökosit Elastaz Düzeyleri. *Erciyes Tip Derg.* **2013**, *35* (2), 46–51. https://doi.org/10.5152/etd.2013.16.
99. Grant, H. W.; Hadley, G. P. Prediction of Neonatal Sepsis by Thromboelastography. *Pediatr. Surg. Int.* **1997**, *12* (4), 289–292. https://doi.org/10.1007/BF01372152.
100. Adamzik, M.; Eggmann, M.; Frey, U. H.; Görlinger, K.; Bröcker-Preuß, M.; Marggraf, G.; Saner, F.; Eggebrecht, H.; Peters, J.; Hartmann, M. Comparison of Thromboelastometry with Procalcitonin, Interleukin 6, and C-Reactive Protein as Diagnostic Tests for Severe Sepsis in Critically Ill Adults. *Crit. Care* **2010**, *14* (5). https://doi.org/10.1186/cc9284.

101. Mesquita Ramirez, M. N.; Godoy, L. E.; Alvarez Barrientos, E. SNAP II and SNAPPE II as Predictors of Neonatal Mortality in a Pediatric Intensive Care Unit: Does Postnatal Age Play a Role? *Int. J. Pediatr.* **2014**, *2014*, 1–5. https://doi.org/10.1155/2014/298198.

102. Morse, S.; Groer, M.; Shelton, M. M.; Maguire, D.; Ashmeade, T. A Systematic Review: The Utility of the Revised Version of the Score for Neonatal Acute Physiology among Critically Ill Neonates. *Journal of Perinatal and Neonatal Nursing*. 2015, pp 315–344. https://doi.org/10.1097/JPN.0000000000000135.

103. Sundaram, V.; Dutta, S.; Ahluwalia, J.; Narang, A. Score for Neonatal Acute Physiology II Predicts Mortality and Persistent Organ Dysfunction in Neonates with Severe Septicemia. *Indian Pediatr.* **2009**, *46* (9), 775–780.

104. Gur, I.; Markel, G.; Nave, Y.; Vainshtein, I.; Eisenkraft, A.; Riskin, A. A Mathematical Algorithm for Detection of Late-Onset Sepsis in Very-Low Birth Weight Infants: A Preliminary Diagnostic Test Evaluation. *Indian Pediatr.* **2014**, *51* (8), 647–650. https://doi.org/10.1007/s13312-014-0469-x.

105. Beavers, J. B.; Bai, S.; Perry, J.; Simpson, J.; Peeples, S. Implementation and Evaluation of the Early-Onset Sepsis Risk Calculator in a High-Risk University Nursery. *Clin. Pediatr. (Phila).* **2018**, *57* (9), 1080–1085. https://doi.org/10.1177/0009922817751337.

106. Kuzniewicz, M. W.; Walsh, E. M.; Li, S.; Fischer, A.; Escobar, G. J. Development and Implementation of an Early-Onset Sepsis Calculator to Guide Antibiotic Management in Late Preterm and Term Neonates. *Jt. Comm. J. Qual. Patient Saf.* **2016**, *42* (5), 232–239. https://doi.org/10.1016/S1553-7250(16)42030-1.

107. Ayrapetyan, M.; Carola, D.; Lakshminrusimha, S.; Bhandari, V.; Aghai, Z. H. Infants Born to Mothers with Clinical Chorioamnionitis: A Cross-Sectional Survey on the Use of Early-Onset Sepsis Risk Calculator and Prolonged Use of Antibiotics. *Am. J. Perinatol.* **2019**, *36* (4), 428–433. https://doi.org/10.1055/s-0038-1668548.

108. Iba, T.; Watanabe, E.; Umemura, Y.; Wada, T.; Hayashida, K.; Kushimoto, S.; Wada, H. Sepsis-Associated Disseminated Intravascular Coagulation and Its Differential Diagnoses. *Journal of Intensive Care*. 2019. https://doi.org/10.1186/s40560-019-0387-z.

109. Levi, M.; Schultz, M.; Van Der Poll, T. Disseminated Intravascular Coagulation in Infectious Disease. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 2010, pp 367–377. https://doi.org/10.1055/s-0030-1254046.

110. Levi, M. The Coagulant Response in Sepsis. *Clinics in Chest Medicine*. 2008, pp 627–642. https://doi.org/10.1016/j.ccm.2008.06.006.

111. Semeraro, N.; Colucci, M. Changes in the Coagulation-Fibrinolysis Balance of Endothelial Cells and Mononuclear Phagocytes: Role in Disseminated Intravascular Coagulation Associated with Infectious Diseases. *International Journal of Clinical & Laboratory Research*. 1992, pp 214–220. https://doi.org/10.1007/BF02591649.

112. Levi, M. Current Understanding of Disseminated Intravascular Coagulation. *British Journal of Haematology*. 2004, pp 567–576. https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2003.04790.x.

113. Key, N.; Makris, M.; O'Shaughnessy, D.; Lillicrap, D. *Practical Hemostasis and Thrombosis: Second Edition*; 2010. https://doi.org/10.1002/9781444306286.

114. Iba, T.; Levy, J. H.; Warkentin, T. E.; Thachil, J.; van der Poll, T.; Levi, M. Diagnosis and Management of Sepsis-Induced Coagulopathy and Disseminated Intravascular Coagulation. *J. Thromb. Haemost.* **2019**, *17* (11), 1989–1994. https://doi.org/10.1111/jth.14578.

115. Samuels, J. M.; Moore, H. B.; Moore, E. E. Coagulopathy in Severe Sepsis: Interconnectivity of Coagulation and the Immune System. *Surg. Infect. (Larchmt).* **2018**, *19* (2), 208–215. https://doi.org/10.1089/sur.2017.260.

116. Bernard, G. R.; Vincent, J. L.; Laterre, P. F.; LaRosa, S. P.; Dhainaut, J. F.; Lopez-Rodriguez, A.; Steingrub, J. S.; Garber, G. E.; Helterbrand, J. D.; Ely, E. W.; et al. Efficacy and Safety of Recombinant Human Activated Protein C for Severe Sepsis. *N. Engl. J. Med.* **2001**, *344* (10), 699–709. https://doi.org/10.1056/NEJM200103083441001.

117. Hesselvik, J. F.; Blomback, M.; Brodin, B.; Maller, R. Coagulation, Fibrinolysis, and Kallikrein Systems in Sepsis: Relation to Outcome. *Crit. Care Med.* **1989**, *17* (8), 724–733. https://doi.org/10.1097/00003246-198908000-00002.

118. Panigada, M.; Zacchetti, L.; L'Acqua, C.; Cressoni, M.; Anzoletti, M. B.; Bader, R.; Protti, A.; Consonni, D.; D'Angelo, A.; Gattinoni, L. Assessment of Fibrinolysis in Sepsis Patients

with Urokinase Modified Thromboelastography. *PLoS One* **2015**, *10* (8). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136463.

119. Lauterbach, R.; Pawlik, D.; Radziszewska, R.; Woźniak, J.; Rytlewski, K. Plasma Antithrombin III and Protein C Levels in Early Recognition of Late-Onset Sepsis in Newborns. *Eur. J. Pediatr.* **2006**, *165* (9), 585–589. https://doi.org/10.1007/s00431-006-0139-7.

120. Kreuz, W.; Veldmann, A.; Fischer, D.; Schlösser, R.; Werner Rettwitz, V.; Ettingshausen, C. E. Neonatal Sepsis: A Challenge in Hemostaseology. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 1999, pp 531–536. https://doi.org/10.1055/s-2007-994961.

121. Cinel, I.; Opal, S. M. Molecular Biology of Inflammation and Sepsis: A Primer*. *Critical Care Medicine*. 2009, pp 291–304. https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e31819267fb.

122. Tsujimoto, H.; Ono, S.; Efron, P. A.; Scumpia, P. O.; Moldawer, L. L.; Mochizuki, H. Role of Toll-like Receptors in the Development of Sepsis. *Shock*. 2008, pp 315–321. https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e318157ee55.

123. Semeraro, N.; Ammollo, C. T.; Semeraro, F.; Colucci, M. Sepsis-Associated Disseminated Intravascular Coagulation and Thromboembolic Disease. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*. 2010. https://doi.org/10.4084/MJHID.2010.024.

124. Monroe, D. M.; Key, N. S. The Tissue Factor-Factor VIIa Complex: Procoagulant Activity, Regulation, and Multitasking. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2007, pp 1097–1105. https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2007.02435.x.

125. Delvaeye, M.; Conway, E. M. Coagulation and Innate Immune Responses: Can We View Them Separately? *Blood*. 2009, pp 2367–2374. https://doi.org/10.1182/blood-2009-05-199208.

126. Xu, J.; Zhang, X.; Pelayo, R.; Monestier, M.; Ammollo, C. T.; Semeraro, F.; Taylor, F. B.; Esmon, N. L.; Lupu, F.; Esmon, C. T. Extracellular Histones Are Major Mediators of Death in Sepsis. *Nat. Med.* **2009**, *15* (11), 1318–1321. https://doi.org/10.1038/nm.2053.

127. Xu, J.; Lupu, F.; Esmon, C. T. Inflammation, Innate Immunity and Blood Coagulation. *Hamostaseologie*. 2010, pp 5–9. https://doi.org/10.1055/s-0037-1617146.

128. Lupu, F.; Keshari, R. S.; Lambris, J. D.; Mark Coggeshall, K. Crosstalk between the Coagulation and Complement Systems in Sepsis. *Thromb. Res.* **2014**, *133* (SUPPL. 1). https://doi.org/10.1016/j.thromres.2014.03.014.

129. Lippi, G.; Guidi, G. C. Laboratory Diagnostics in Septic Disseminated Intravascular Coagulation. *Eur. Oncol. Haematol.* **2009**, *03* (01), 19. https://doi.org/10.17925/eoh.2009.03.1.19.

130. Taylor, J.; Toh, C. H.; Hoots, W. K.; Wada, H.; Levi, M. Towards Definition, Clinical and Laboratory Criteria, and a Scoring System for Disseminated Intravascular Coagulation: On Behalf of the Scientific Subcommittee on Disseminated Intravascular Coagulation (DIC) of the International Society on Thrombosis And . *Thromb. Haemost.* **2001**, *86* (5), 1327–1330. https://doi.org/10.1055/s-0037-1616068.

131. Müller, M. C.; Meijers, J. C. M.; Vroom, M. B.; Juffermans, N. P. Utility of Thromboelastography and/or Thromboelastometry in Adults with Sepsis: A Systematic Review. *Crit. Care* **2014**, *18* (1), R30. https://doi.org/10.1186/cc13721.

132. Toh, C. H.; Hoots, W. K. The Scoring System of the Scientific and Standardisation Committee on Disseminated Intravascular Coagulation of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: A 5-Year Overview. *J. Thromb. Haemost.* **2007**, *5* (3), 604–606. https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2007.02313.x.

133. Voves, C.; Wuillemin, W. A.; Zeerleder, S. International Society on Thrombosis and Haemostasis Score for Overt Disseminated Intravascular Coagulation Predicts Organ Dysfunction and Fatality in Sepsis Patients. *Blood Coagul. Fibrinolysis* **2006**, *17* (6), 445–451. https://doi.org/10.1097/01.mbc.0000240916.63521.2e.

134. Kobayashi, N.; Maekawa, T.; Takada, M.; Tanaka, H.; Gonmori, H. Criteria for Diagnosis of DIC Based on the Analysis of Clinical and Laboratory Findings in 345 DIC Patients Collected by the Research Committee on DIC in Japan. *Bibl. Haematol.* **1983**, *VOL. 49*, 265–275. https://doi.org/10.1159/000408467.

135. Wada, H.; Gabazza, E. C.; Asakura, H.; Koike, K.; Okamoto, K.; Maruyama, I.; Shiku, H.; Nobori, T. Comparison of Diagnostic Criteria for Disseminated Intravascular Coagulation (DIC): Diagnostic Criteria of the International Society of Thrombosis and Hemostasis (ISTH) and of the Japanese Ministry of Health and Welfare for Overt DIC. *Am. J. Hematol.* **2003**, *74* (1), 17–22. https://doi.org/10.1002/ajh.10377.

136. Gando, S.; Iba, T.; Eguchi, Y.; Ohtomo, Y.; Okamoto, K.; Koseki, K.; Mayumi, T.; Murata, A.; Ikeda, T.; Ishikura, H.; et al. A Multicenter, Prospective Validation of Disseminated Intravascular Coagulation Diagnostic Criteria for Critically Ill Patients: Comparing Current Criteria. *Crit. Care Med.* **2006**, *34* (3), 625–631. https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000202209.42491.38.

137. Gando, S.; Saitoh, D.; Ogura, H.; Mayumi, T.; Koseki, K.; Ikeda, T.; Ishikura, H.; Iba, T.; Ueyama, M.; Eguchi, Y.; et al. Natural History of Disseminated Intravascular Coagulation Diagnosed Based on the Newly Established Diagnostic Criteria for Critically Ill Patients: Results of a Multicenter, Prospective Survey. *Crit. Care Med.* **2008**, *36* (1), 145–150. https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000295317.97245.2D.

138. Gando, S.; Saitoh, D.; Ogura, H.; Mayumi, T.; Koseki, K.; Ikeda, T.; Ishikura, H.; Iba, T.; Ueyama, M.; Eguchi, Y.; et al. Disseminated Intravascular Coagulation (DIC) Diagnosed Based on the Japanese Association for Acute Medicine Criteria Is a Dependent Continuum to Overt DIC in Patients with Sepsis. *Thromb. Res.* **2009**, *123* (5), 715–718. https://doi.org/10.1016/j.thromres.2008.07.006.

139. Kushimoto, S.; Gando, S.; Saitoh, D.; Ogura, H.; Mayumi, T.; Koseki, K.; Ikeda, T.; Ishikura, H.; Iba, T.; Ueyama, M.; et al. Clinical Course and Outcome of Disseminated Intravascular Coagulation Diagnosed by Japanese Association for Acute Medicine Criteria: Comparison between Sepsis and Trauma. *Thromb. Haemost.* **2008**, *100* (6), 1099–1105. https://doi.org/10.1160/TH08-05-0306.

140. Favaloro, E. J.; Adcock, D. M. Standardization of the INR: How Good Is Your Laboratory's INR and Can It Be Improved? *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 2008, pp 593–603. https://doi.org/10.1055/s-0028-1104538.

141. Bick, R. L. Disseminated Intravascular Coagulation: Pathophysiological Mechanisms and Manifestations. *Semin. Thromb. Hemost.* **1998**, *24* (1), 3–18. https://doi.org/10.1055/s-2007-994971.

142. Franchini, M.; Lippi, G.; Manzato, F. Recent Acquisitions in the Pathophysiology, Diagnosis and Treatment of Disseminated Intravascular Coagulation. *Thrombosis Journal*. 2006. https://doi.org/10.1186/1477-9560-4-4.

143. Assinger, A.; Schrottmaier, W. C.; Salzmann, M.; Rayes, J. Platelets in Sepsis: An Update on Experimental Models and Clinical Data. *Front. Immunol.* **2019**, *10* (JULY).

https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01687.

144. Radicioni, M.; Mezzetti, D.; Del Vecchio, A.; Motta, M. Thromboelastography: Might Work in Neonatology Too. *J. Matern. Neonatal Med.* **2012**, *25* (SUPPL.4), 10–13. https://doi.org/10.3109/14767058.2012.714996.

145. Levi, M.; Toh, C. H.; Thachil, J.; Watson, H. G. Guidelines for the Diagnosis and Management of Disseminated Intravascular Coagulation. *Br. J. Haematol.* **2009**, *145* (1), 24–33. https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2009.07600.x.

146. Diaz-Miron, J.; Miller, J.; Vogel, A. M. Neonatal Hematology. *Semin. Pediatr. Surg.* **2013**, *22* (4), 199–204. https://doi.org/10.1053/j.sempedsurg.2013.10.009.

147. Pilli, V. S.; Datta, A.; Afreen, S.; Catalano, D.; Szabo, G.; Majumder, R. Hypoxia Downregulates Protein S Expression. *Blood*. 2018. https://doi.org/10.1182/blood-2018-04-841585.

148. Revel-Vilk, S. The Conundrum of Neonatal Coagulopathy. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology. American Society of Hematology. Education Program*. 2012, pp 450–454. https://doi.org/10.1182/asheducation.v2012.1.450.3798660.

149. Will, A. Neonatal Haemostasis and the Management of Neonatal Thrombosis. *Br. J. Haematol.* **2015**, *169* (3), 324–332. https://doi.org/10.1111/bjh.13301.

150. Williams, M. D.; Chalmers, E. A.; Gibson, B. E. S. The Investigation and Management of Neonatal Haemostasis and Thrombosis. *British Journal of Haematology*. 2002, pp 295–309. https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2002.03674.x.

151. Faraoni, D.; O'Leary, J. D. Understanding Developmental Hemostasis through the Use of Viscoelastic Tests of Whole Blood Coagulation. *Minerva Anestesiologica*. 2017, pp 347–349. https://doi.org/10.23736/S0375-9393.17.11862-6.

152. Baker-Groberg, S. M.; Lattimore, S.; Recht, M.; McCarty, O. J. T.; Haley, K. M. Assessment of Neonatal Platelet Adhesion, Activation, and Aggregation. *J. Thromb. Haemost.* **2016**, *14* (4), 815–827. https://doi.org/10.1111/jth.13270.

153. Monagle, P.; Barnes, C.; Ignjatovic, V.; Furmedge, J.; Newall, F.; Chan, A.; De Rosa, L.; Hamilton, S.; Ragg, P.; Robinson, S.; et al. Developmental Haemostasis. Impact for

Clinical Haemostasis Laboratories. *Thromb. Haemost.* **2006**, *95* (2), 362–372.https://doi.org/10.1160/TH02-01-0047.

154. Jackson, G. N. B.; Ashpole, K. J.; Yentis, S. M. The TEG® vs the ROTEM® Thromboelastography/Thromboelastometry Systems. *Anaesthesia* **2009**, *64* (2), 212–215. https://doi.org/10.1111/j.1365-2044.2008.05752.x.

155. Sorensen, E. R.; Lorme, T. B.; Heath, D. Thromboelastography a Means to Transfusion Reduction. *Nursing Management*. 2005, pp 27–33. https://doi.org/10.1097/00006247-200505000-00010.

156. Wikkelsø, A.; Wetterslev, J.; Møller, A. M.; Afshari, A. Thromboelastography (TEG) or Thromboelastometry (ROTEM) to Monitor Haemostatic Treatment versus Usual Care in Adults or Children with Bleeding. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2016, p CD007871. https://doi.org/10.1002/14651858.CD007871.pub3.

157. Whiting, P.; Al, M.; Westwood, M.; Ramos, I. C.; Ryder, S.; Armstrong, N.; Misso, K.; Ross, J.; Severens, J.; Kleijnen, J. Viscoelastic Point-of-Care Testing to Assist with the Diagnosis, Management and Monitoring of Haemostasis: A Systematic Review and Cost-Effectiveness Analysis. *Health Technol. Assess. (Rockv).* **2015**, *19* (58), 1–228. https://doi.org/10.3310/hta19580.

158. Görlinger, K.; Dirkmann, D.; Solomon, C.; Hanke, A. A. Fast Interpretation of Thromboelastometry in Non-Cardiac Surgery: Reliability in Patients with Hypo-, Normo-, and Hypercoagulability. *Br. J. Anaesth.* **2013**, *110* (2), 222–230. https://doi.org/10.1093/bja/aes374.

159. Lier, H.; Vorweg, M.; Hanke, A.; Görlinger, K. Thromboelastometry Guided Therapy of Severe Bleeding: Essener Runde Algorithm. *Hamostaseologie*. 2013, pp 51–61. https://doi.org/10.5482/HAMO-12-05-0011.

160. Whiting, D.; Dinardo, J. A. TEG and ROTEM: Technology and Clinical Applications. *Am. J. Hematol.* **2014**, *89* (2), 228–232. https://doi.org/10.1002/ajh.23599.

161. Crochemore, T.; Piza, F. M. de T.; Rodrigues, R. D. R.; Guerra, J. C. de C.; Ferraz, L. J. R.; Corrêa, T. D. A New Era of Thromboelastometry. *Einstein (Sao Paulo, Brazil)*. 2017, pp 380–385. https://doi.org/10.1590/S1679-45082017MD3130.

162. Viscoelastic Hemostatic Assays - A Quest for Holy Grail of Coagulation Monitoring in Trauma Care. *J. Ann. Bioeng.* **2019**, *2019* (01). https://doi.org/10.33513/bioe/1901-06.

163. Brenner, T.; Schmidt, K.; Delang, M.; Mehrabi, A.; Bruckner, T.; Lichtenstern, C.; Martin, E.; Weigand, M. A.; Hofer, S. Viscoelastic and Aggregometric Point-of-Care Testing in Patients with Septic Shock - Cross-Links between Inflammation and Haemostasis. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*. 2012, pp 1277–1290. https://doi.org/10.1111/j.1399-6576.2012.02750.x.

164. Sivula, M.; Pettilä, V.; Niemi, T. T.; Varpula, M.; Kuitunen, A. H. Thromboelastometry in Patients with Severe Sepsis and Disseminated Intravascular Coagulation. *Blood Coagul. Fibrinolysis* **2009**, *20* (6), 419–426. https://doi.org/10.1097/MBC.0b013e32832a76e1.

165. Gando, S.; Saitoh, D.; Ogura, H.; Fujishima, S.; Mayumi, T.; Araki, T.; Ikeda, H.; Kotani, J.; Kushimoto, S.; Miki, Y.; et al. A Multicenter, Prospective Validation Study of the Japanese Association for Acute Medicine Disseminated Intravascular Coagulation Scoring System in Patients with Severe Sepsis. *Crit. Care* **2013**, *17* (3). https://doi.org/10.1186/cc12783.

166. Asakura, H.; Takahashi, H.; Uchiyama, T.; Eguchi, Y.; Okamoto, K.; Kawasugi, K.; Madoiwa, S.; Wada, H. Proposal for New Diagnostic Criteria for DIC from the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis. *Thrombosis Journal*. 2016. https://doi.org/10.1186/s12959-016-0117-x.

167. Schöchl, H.; Solomon, C.; Schulz, A.; Voelckel, W.; Hanke, A.; van Griensven, M.; Redl, H.; Bahrami, S. Thromboelastometry (TEM®) Findings in Disseminated Intravascular Coagulation in a Pig Model of Endotoxinemia. *Mol. Med.* **2011**, *17* (3–4), 226–272. https://doi.org/10.2119/molmed.2010.00159.

168. Adamik, B.; Gozdzik, W.; Jakubczyk, D.; Welna, M.; Kübler, A. Coagulation Abnormalities Identified by Thromboelastometry in Patients with Severe Sepsis: The Relationship to Endotoxemia and Mortality. *Blood Coagul. Fibrinolysis* **2017**, *28* (2), 163–170. https://doi.org/10.1097/MBC.0000000000000572.

169. Sharma, P.; Saxena, R. A Novel Thromboelastographic Score to Identify Overt Disseminated Intravascular Coagulation Resulting in a Hypocoagulable State. *Am. J. Clin. Pathol.* **2010**, *134* (1), 97–102. https://doi.org/10.1309/AJCPPZ4J6CAFYDVM.

170. Koami, H.; Sakamoto, Y.; Ohta, M.; Goto, A.; Narumi, S.; Imahase, H.; Yahata, M.; Miike, T.; Iwamura, T.; Yamada, K. C.; et al. Can Rotational Thromboelastometry Predict Septic Disseminated Intravascular Coagulation? *Blood Coagul. Fibrinolysis* **2015**, *26* (7), 778–783. https://doi.org/10.1097/MBC.0000000000000351.

171. Declerck, P.; Alessi, M.; Verstreken, M.; Kruithof, E.; Juhan-Vague, I.; Collen, D. Measurement of Plasminogen Activator Inhibitor 1 in Biologic Fluids with a Murine Monoclonal Antibody-Based Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Blood* **1988**, *71* (1), 220–225. https://doi.org/10.1182/blood.v71.1.220.bloodjournal711220.

172. Scarlatescu, E.; Juffermans, N. P.; Thachil, J. The Current Status of Viscoelastic Testing in Septic Coagulopathy. *Thrombosis Research*. 2019, pp 146–152. https://doi.org/10.1016/j.thromres.2019.09.029.

173. Hankins, G. D. V.; Speer, M. Defining the Pathogenesis and Pathophysiology of Neonatal Encephalopathy and Cerebral Palsy. *Obstetrics and Gynecology*. 2003, pp 628–636. https://doi.org/10.1016/S0029-7844(03)00574-X.

174. Fenton, T. R.; Kim, J. H. A Systematic Review and Meta-Analysis to Revise the Fenton Growth Chart for Preterm Infants. *BMC Pediatr.* **2013**, *13* (1). https://doi.org/10.1186/1471-2431-13-59.

175. H., S.; T., F.; M., P.; C., J. Hyperfibrinolysis after Major Trauma: Differential Diagnosis of Lysis Patterns and Prognostic Value of Thrombelastometry. *J. Trauma - Inj. Infect. Crit. Care* **2009**. https://doi.org/10.1097/TA.0b013e31818b2483 LK - http://limo.libis.be/resolver?&sid=EMBASE&issn=00225282&id=doi:10.1097%2FTA.0b013e31818b2483&atitle=Hyperfibrinolysis+after+major+trauma%3A+Differential+diagnosis+of+lysis+patterns+and+prognostic+value+of+thrombelastometry&stitle=J.+Trauma+Inj.+Infect.+Crit.+Care&title=Journal+of+Trauma+-+Injury%2C+Infection+and+Critical+Care&volume=67&issue=1&spage=125&epage=131&aulast=Sch%C3%B6chl&aufirst=Herbert&auinit=H.&aufull=Sch%C3%B6chl+H.&coden=JOTRF&isbn=&pages=125-131.

176. Kim, J. S.; Wang, I. J.; Yeom, S. R.; Cho, S. J.; Kim, J. H.; Seok, J. P.; Lee, S. H.; Bae, B. G.; Min, M. K. Usefulness of Rotational Thromboelastometry as a Mortality Predictor of Hyperfibrinolysis in Patients with Severe Trauma. *Acute Crit. Care* **2018**, *33* (3), 162–169. https://doi.org/10.4266/acc.2018.00199.

177. Gall, L. S.; Brohi, K.; Davenport, R. A. Diagnosis and Treatment of Hyperfibrinolysis in Trauma (A European Perspective). *Semin. Thromb. Hemost.* **2017**, *43* (2), 224–234. https://doi.org/10.1055/s-0036-1598001.

178. Stettler, G. R.; Moore, E. E.; Moore, H. B.; Nunns, G. R.; Silliman, C. C.; Banerjee, A.; Sauaia, A. Redefining Postinjury Fibrinolysis Phenotypes Using Two Viscoelastic Assays. *J. Trauma Acute Care Surg.* **2019**, *86* (4), 679–685. https://doi.org/10.1097/TA.0000000000002165.

179. Longstaff, C. Measuring Fibrinolysis: From Research to Routine Diagnostic Assays. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2018, pp 652–662. https://doi.org/10.1111/jth.13957.

180. Ostrowski, S. R.; Windeløv, N. A.; Ibsen, M.; Haase, N.; Perner, A.; Johansson, P. I. Consecutive Thrombelastography Clot Strength Profiles in Patients with Severe Sepsis and Their Association with 28-Day Mortality: A Prospective Study. *J. Crit. Care* **2013**, *28* (3), 317.e1-317.e11. https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2012.09.003.

181. Moore, H. B.; Moore, E. E.; Liras, I. N.; Gonzalez, E.; Harvin, J. A.; Holcomb, J. B.; Sauaia, A.; Cotton, B. A. Acute Fibrinolysis Shutdown after Injury Occurs Frequently and Increases Mortality: A Multicenter Evaluation of 2,540 Severely Injured Patients. In *Journal of the American College of Surgeons*; 2016; Vol. 222, pp 347–355. https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2016.01.006.

182. Gomez-Builes, J. C.; Acuna, S. A.; Nascimento, B.; Madotto, F.; Rizoli, S. B. Harmful or Physiologic: Diagnosing Fibrinolysis Shutdown in a Trauma Cohort with Rotational Thromboelastometry. *Anesth. Analg.* **2018**, *127* (4), 840–849. https://doi.org/10.1213/ANE.0000000000003341.

183. Raza, I.; Davenport, R.; Rourke, C.; Platton, S.; Manson, J.; Spoors, C.; Khan, S.; De'Ath, H. D.; Allard, S.; Hart, D. P.; et al. The Incidence and Magnitude of Fibrinolytic Activation in Trauma Patients. *J. Thromb. Haemost.* **2013**, *11* (2), 307–314. https://doi.org/10.1111/jth.12078.

184. Levrat, A.; Gros, A.; Rugeri, L.; Inaba, K.; Floccard, B.; Negrier, C.; David, J. S. Evaluation of Rotation Thrombelastography for the Diagnosis of Hyperfibrinolysis in Trauma Patients. *Br. J. Anaesth.* **2008**, *100* (6), 792–797. https://doi.org/10.1093/bja/aen083.

185. Peker, E.; Akbayram, S.; Geylani, H.; Dogan, M.; Kirimi, E. Global Fibrinolytic Capacity in Neonatal Sepsis. *Clin. Appl. Thromb.* **2011**, *17* (6). https://doi.org/10.1177/1076029610384113.

186. Yurdakk, M.; Korkmaz, A.; Kirazl, S.; Aygn, C.; Yigit, S. Global Fibrinolytic Capacity in Early Respiratory Distress Syndrome: A Pilot Study. *Am. J. Hematol.* **2002**, *69* (4), 255–257. https://doi.org/10.1002/ajh.10060.

187. Sokou, R.; Giallouros, G.; Konstantinidi, A.; Pantavou, K.; Nikolopoulos, G.; Bonovas, S.; Lytras, T.; Kyriakou, E.; Lambadaridis, I.; Gounaris, A.; et al. Thromboelastometry for Diagnosis of Neonatal Sepsis-Associated Coagulopathy: An Observational Study. *Eur. J. Pediatr.* **2018**, *177* (3), 355–362. https://doi.org/10.1007/s00431-017-3072-z.

188. Schmitt, F. C. F.; Manolov, V.; Morgenstern, J.; Fleming, T.; Heitmeier, S.; Uhle, F.; Al-Saeedi, M.; Hackert, T.; Bruckner, T.; Schöchl, H.; et al. Acute Fibrinolysis Shutdown Occurs Early in Septic Shock and Is Associated with Increased Morbidity and Mortality: Results of an Observational Pilot Study. *Ann. Intensive Care* **2019**, *9* (1). https://doi.org/10.1186/s13613-019-0499-6.

189. Konstantinidi, A.; Sokou, R.; Parastatidou, S.; Lampropoulou, K.; Katsaras, G.; Boutsikou, T.; Gounaris, A. K.; Tsantes, A. E.; Iacovidou, N. Clinical Application of Thromboelastography/Thromboelastometry (TEG/TEM) in the Neonatal Population: A Narrative Review. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 2019, pp 449–457. https://doi.org/10.1055/s-0039-1692210.

Thrombosis Research 192 (2020) 100–106

Contents lists available at ScienceDirect

Thrombosis Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/thromres

Full Length Article

# ROTEM diagnostic capacity for measuring fibrinolysis in neonatal sepsis

Maria Lampridou[a], Rozeta Sokou[b], Andreas G. Tsantes[b], Martha Theodoraki[a], Aikaterini Konstantinidi[a], Georgios Ioakeimidis[b], Stefanos Bonovas[c,d], Marianna Politou[e], Serena Valsami[e], Zoe Iliodromiti[f], Theodora Boutsikou[f], Nicoletta Iacovidou[f], Georgios Nikolopoulos[g], Argirios E. Tsantes[b,*]

[a] Neonatal Intensive Care Unit, "Agios Panteleimon" General Hospital of Nikaia, Piraeus, Greece
[b] Laboratory of Haematology and Blood Bank Unit, "Attiko" University Hospital, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece
[c] Humanitas University, Department of Biomedical Sciences, Milan, Italy
[d] Humanitas Clinical and Research Center, Milan, Italy
[e] Department of Blood Transfusion, Areteion Hospital, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece
[f] Neonatal Department, National and Kapodistrian University of Athens, Areteio Hospital, Athens, Greece
[g] Medical School, University of Cyprus, Nicosia, Cyprus

ARTICLE INFO

*Keywords:*
Thromboelastometry
ROTEM
Fibrinolysis
Neonatal sepsis

ABSTRACT

*Background:* Hyperfibrinolysis has been demonstrated in several studies in adult sepsis. Although fibrinolysis is an important and integral part of the hemostatic system, few data are available regarding its role in neonatal sepsis. Our purpose was to define fibrinolytic profiles across neonatal sepsis spectrum using rotational thromboelastometry (ROTEM).

*Material and methods:* This study was performed in a Greek tertiary General Hospital during an 18 month-period and included 44 neonates with confirmed sepsis and 22 with suspected sepsis; 110 healthy neonates served as controls. Whenever sepsis was suspected, EXTEM and APTEM assays were performed, clinical findings and laboratory data were recorded.

*Results:* Although most EXTEM parameters were significantly different among the 3 groups, Maximal Lysis (ML) and Lysis Index at 60 min (LI60) levels were similar ($p = 0.11$ and $p = 0.20$, respectively). Hyperfibrinolysis, as defined by ROTEM parameters, did not significantly differ among the study populations ($p = 0.41$). On the contrary, fibrinolysis shutdown, defined as an EXTEM LI60 > 98%, was more common in septic neonates than in healthy ($p < 0.001$) and neonates with suspected sepsis ($p = 0.042$). A weak to moderate correlation of LI60 and ML with mortality (Spearman rho = −0.43 and −0.40, $p = 0.005$ and 0.007, respectively) and SNAPE score (Spearman rho = 0.35 and −0.33, $p = 0.02$ and 0.03, respectively) was noticed in sepsis group.

*Conclusions:* ROTEM, based on fibrinolytic parameters, showed a more frequent fibrinolysis shutdown in neonatal sepsis, but it could neither effectively discriminate septic neonates, nor predict their clinical outcome. The considerable overlap among numerical ROTEM values probably compromises their diagnostic clinical utility in neonatal sepsis.

## 1. Introduction

Sepsis is a major cause of mortality in neonates worldwide, despite the availability of many effective antimicrobial agents and advanced neonatal life-support care. In adult sepsis patients, the uncontrolled activation of hemostasis is of essential pathophysiologic relevance, as it is associated with increased mortality [1], probably due to fibrin deposition in the vasculature, leading to ischemia and multi-organ failure [2]. Systemic host response to infection includes coagulation activation, consumption of anticoagulation factors, and inhibited fibrinolysis [3].

Abbreviations: A10, clot strength at 10 min; A20, clot strength at 20 min; A30, clot strength at 30 min; AKI, acute kidney injury; ALT, alanine aminotransferase; ANC, absolute neutrophil count; α, α angle; BUN, blood urea nitrogen; CFT, clot formation time; CRP, C-reactive protein; CT, clotting time; DBIL, direct bilirubin; DIC, disseminated intravascular coagulopathy; IUGR, intrauterine growth restriction; IVH, intraventricular hemorrhage; LI60, lysis index at 60 min; MCF, maximal clot firmness; ML, maximal lysis

* Corresponding author at: Laboratory of Haematology and Blood Bank Unit, "Attiko" University Hospital, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, 1 Rimini Str., 12462 Athens, Greece.
*E-mail address:* atsantes@yahoo.com (A.E. Tsantes).

https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.05.028
Received 17 October 2019; Received in revised form 23 April 2020; Accepted 18 May 2020
Available online 20 May 2020
0049-3848/ © 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

During infections, the blood coagulation system is activated and components of the hemostatic system are directly involved in the immune response and immune system modulations. The current view is that the activation of coagulation is beneficial for infections with bacteria and viruses. It limits pathogen dissemination, but on the other hand, overactivation can lead to microvascular thrombosis and thereby, multiple organ failure with subsequent depletion of hemostatic factors and secondary bleeding in patients with severe sepsis [4].

Hypofibrinolysis has been demonstrated in several studies in sepsis adult [5–8] and pediatric patients [9]. However, septic coagulopathy represents a very dynamic disease entity, tilting from initial hypercoagulability towards a subsequent hypocoagulable disease state, depending on the phase of septic coagulopathy [7]. Thus, besides fibrinolysis shutdown in sepsis, evidence of activation of the fibrinolytic system and association of intense fibrinolytic activity with mortality, have also been reported [9].

Although fibrinolysis is an important and integral part of the hemostatic system, few data are available regarding its role in neonatal sepsis [10]. The absence of a "gold standard" assay in clinical laboratory that could estimate overall fibrinolysis probably accounts for the slow progress in assessment of fibrinolysis in several clinical entities. A variety of methods has been proposed to measure fibrinolytic activity in blood or its components, with advantages and limitations. Fibrinolytic testing separates into three groups: (1) screening tests such as euglobulin lysis time, global fibrinolytic capacity in plasma and whole blood, plasma turbidity methods based on the measurement of changes in optical density and percent clot lysis on viscoelastic methods (VMs) [11], (2) routine tests such as fibrinogen and D-dimer, and (3) specialized tests typically sent to reference laboratories quantifying certain fibrinolytic enzymes. Screening assays are typically used to detect severely abnormal fibrinolysis associated with active bleeding or thrombosis. Global methods reflect the overall fibrinolytic state, while assays for the measurement of individual factor levels cannot effectively assess total fibrinolytic activity in blood or its components [12]. Moreover, some of these methods seem to be more appropriate for detecting hypofibrinolytic conditions, whereas others may be better for detecting hyperfibrinolytic states [11]. Besides hypofibrinolysis, the diagnostic capacity of VMs to detect hyperfibrinolysis produced controversial findings in adults [12,13]. In order to assess fibrinolysis more accurately, several rotational thromboelastometry (ROTEM) parameters and modifications have been proposed. One such parameter is maximal lysis (ML) for ROTEM, which reflects the percent decrease of clot maximal amplitude over time. Small decreases may be due to clot retraction. However, an ML of > 15% likely represents a hyperfibrinolytic condition [14]. To ensure that this decrease, as expressed in ML, is attributed to fibrinolysis, a special modification in the ROTEM system, known as the APTEM test, has been proposed. Bovine pancreatic trypsin inhibitor (aprotinin) is added in the APTEM test to inhibit plasmin activity, thereby helping to distinguish clot retraction from fibrinolysis [15].

In a recent study by our research group, a ROTEM hypocoagulable profile noted on the first day of sepsis, was associated with disease severity and was quite promising for the early detection of sepsis in neonates [16]. The present study explored the potential ability of ROTEM to evaluate the status of the fibrinolytic system in septic neonates in order to gain insight into the pathophysiology of sepsis coagulopathy and the association of fibrinolytic profile with disease severity.

## 2. Methods

This single-center, prospective study included 66 full-term and preterm neonates with sepsis or suspected sepsis, hospitalized in the neonatal intensive care unit of the General Hospital of Nikaia, Piraeus, over a period of two years (from April 2017 to April 2019). The Institutional Review Board of the General Hospital of Nikaia approved the study protocol (152/2017, 14/4/2017). The neonates were categorized in two groups. Group A included 44 neonates with confirmed sepsis and group B included 22 neonates with suspected sepsis. Inclusion and exclusion criteria for both groups have been previously described [16]. One hundred and ten healthy full-term and preterm neonates born at the obstetric unit of the General Hospital of Nikaia, were also recruited during the same period and served as controls. Inclusion criteria for controls are those previously used to establish reference ranges for standard extrinsically activated ROTEM assay (EXTEM) in true blood samples of normal full-term and preterm neonates [17]. Written informed consent was obtained from the parents or guardians of the children included in the study.

In all suspected and confirmed cases of sepsis, SNAPPE (Score for Neonatal Acute Physiology Perinatal Extension) and Tollner score were calculated. Data on demographics, maternal and pregnancy history, maternal medication during pregnancy, neonatal physiological parameters, clinical findings, and laboratory results were also recorded. Neonatal respiratory distress syndrome (RDS), intraventricular hemorrhage (IVH), necrotizing enterocolitis (NEC), intrauterine growth restriction (IUGR) and acute kidney injury (AKI) were diagnosed according to the previously defined criteria [18–22]. As per our Unit protocol, disseminated intravascular coagulopathy (DIC) was diagnosed as a systemic thrombohemorrhagic disorder in association with well-defined clinical situations and laboratory evidence of platelets consumption and biochemical and clinical evidence of end-organ damage or failure [23]. Prior to initiating antibiotic therapy, blood specimens for culture, routine biochemical tests (arterial blood gas, electrolytes, transaminases, urea, creatinine, bilirubin, glucose, calcium), complete blood count, peripheral blood smear, and CRP were collected. Chest radiograph, cerebrospinal fluid culture, and urine culture were performed whenever clinically indicated. In these neonates, blood samples for sepsis markers were repeatedly obtained, whenever it was necessary, until completion of antibiotic therapy.

Complete blood counts were performed on Sysmex XE-2100 analyzer (Roche, IL, USA). Nucleated red blood cell (NRBC) counts were assessed on peripheral blood smear. Blood specimens were obtained from neonates by a sterile technique and were inoculated into an aerobic blood bottle (BacT Alert PF, Biomerieux, Lyon, France). The organisms were identified based on gram staining and growth on agar media. All biochemical parameters were measured by EXL DIMENSION Analyzer (SIEMENS, Healthcare Diagnostics, Newark, DE, USA). CRP method is based on a particle enhanced turbidimetric immunoassay technique (PETIA).

On the first day of sepsis or suspected sepsis in the sick neonates, on 2nd-3rd day of life for healthy full term neonates, and on 2nd-7th day of life for healthy preterm ones, 600 μL of citrated whole blood were analyzed on the ROTEM analyzer (Tem Innovations GmbH, Munich, Germany) using the EXTEM and APTEM assay, according to the manufacturer's recommendations. In the EXTEM assay, clot formation was induced by activation of the extrinsic coagulation pathway using 20 μL of 0.2 M calcium chloride solution (star-TEM reagent) and 20 μL of extrinsic activator (ex-TEM reagent). After the reagents were adequately mixed, 300 μL of citrated whole blood was added to the cup and the assay was running for at least 60 min after the completion of clot lysis at 30 min. In the APTEM test analysis, coagulation is activated by tissue factor as in the EXTEM assay, but the excess addition of 20 μL of aprotinin to the blood sample inhibits fibrinolysis.

The following EXTEM and APTEM variables were measured: Clotting Time (CT, seconds) determined as the time elapsed from the start of measurement until the formation of a clot 2 mm in amplitude; Clot Formation Time (CFT, seconds) as the time elapsed from the end of the CT (amplitude of 2 mm) until a clot firmness of 20 mm is achieved; the Amplitude recorded at 10, 20, and 30 min (A10, A20, and A30); A-angle (α) that is the angle between the central line (x-axis) and the tangent of the TEM tracing at the amplitude point of 2 mm describing the kinetics of clot formation; Maximum Clot Firmness (MCF, mm) that reflects the final strength of the clot; Lysis Index at 60 min (LI 60%)

defined as the percentage of remaining clot stability in relation to the MCF following the 60-min observation period after CT and indicating the speed of fibrinolysis; and ML, which reflects the percent decrease of maximal amplitude over time. Hyperfibrinolysis was diagnosed when the EXTEM ML was > 15 and the APTEM ML was normal [24,25], while fibrinolysis shutdown was defined as an EXTEM LI60 ≥98% [26].

### 2.2. Statistical analysis

Data were summarized with medians and interquartile ranges (IQR) for continuous variables, or with frequencies and percentages for categorical variables. Demographics, clinical characteristics, laboratory parameters, and hyperfibrinolysis (as defined by EXTEM and APTEM parameters) across the 3 study groups (control group, sepsis group, and suspected sepsis group) were compared using the nonparametric tests Wilcoxon Rank Sum, Kruskal-Wallis, and chi-squared when applicable. Moreover, the correlation between EXTEM parameters and certain variables in septic neonates was evaluated by the nonparametric Spearman's rank test. Spearman's rho of < 0.20 indicates very weak correlation, 0.21 to 0.40 weak correlation, 0.41 to 0.60 moderate correlation, 0.61 to 0.80 strong correlation, and > 0.81 very strong correlation. Univariable logistic regression analyses were performed to evaluate whether sepsis was associated with certain EXTEM parameters and subsequently multivariable logistic regression analysis was performed including the parameters that found to be significantly associated with sepsis in the univariable analyses. Multivariable logistic regression analysis was also performed to evaluate whether sepsis was associated with hyperfibrinolysis or hypofibrinolysis. For statistical analysis, the R software was used, version 3.6. Due to the exploratory nature of the study, a *p*-value lower than 0.05 was chosen to indicate statistical significance.

## 3. Results

Demographics for the 3 study groups (healthy neonates, septic neonates, and neonates with suspected sepsis) are presented in Table 1.

Birth weight, sex, gestational age, and delivery mode significantly differed between healthy neonates and neonates with sepsis or suspected sepsis ($p < 0.001$). Clinical parameters and results of conventional laboratory tests for septic neonates and neonates with suspected sepsis are summarized in Table 2.

The rate of several adverse events including DIC, AKI, and clinically overt bleeding was higher in septic neonates than in neonates with suspected sepsis ($p = 0.004$, $p = 0.02$ and $p = 0.006$, respectively). Also, NRBC, CRP, BUN and DBIL levels were significantly higher in septic neonates ($p = 0.02$, $p = 0.002$, $p = 0.001$, and $p = 0.001$, respectively) compared to neonates with suspected sepsis. The PLT count was significantly lower ($p = 0.002$) in septic neonates.

Most EXTEM parameters were significantly different among the 3 groups except for ML and LI60 levels, which were similar ($p = 0.11$ and $p = 0.20$ respectively; Table 3).

Moreover, hyperfibrinolysis, as defined by ROTEM parameters, did not significantly differ among healthy neonates, septic neonates, and neonates with suspected sepsis ($p = 0.41$, Table 4). On the contrary, hypofibrinolysis, defined as an EXTEM LI60 ≥98%, significantly differed among the three groups ($p < 0.001$; Table 4). More specifically, fibrinolysis shutdown was more common in septic neonates than in healthy neonates ($p < 0.001$) and neonates with suspected sepsis ($p = 0.042$).

EXTEM ML and LI60 levels were similar for septic neonates with and without clinically bleeding events ($p = 0.64$ and $p = 0.11$ respectively). ML and LI60 did not significantly differ between septic neonates with and without DIC ($p = 0.68$ and $p = 0.15$, respectively). On the contrary, CT and CFT were significantly higher in septic neonates with clinically bleeding events compared to those without clinically bleeding events ($p = 0.005$). MCF was significantly lower in septic neonates with clinically bleeding events compared to those without ($p < 0.001$).

Analyses on EXTEM parameters and certain variables in septic

**Table 2**
Clinical characteristics and laboratory data of septic neonates and the neonates with suspected sepsis.

| Variables | Sepsis group (Group B, n = 44) | Suspected sepsis group (Group C, n = 22) | *p*-Value |
|---|---|---|---|
| IVH (%) | 15 (34.1) | 5 (22.7) | 0.34 |
| DIC (%) | 13 (29.5) | 0 (0.0) | **0.004** |
| NEC (%) | 3 (6.8) | 1 (4.5) | 0.71 |
| IUGR (%) | 5 (11.4) | 5 (22.7) | 0.22 |
| RDS (%) | 29 (65.9) | 15 (68.2) | 0.85 |
| AKI (%) | 18 (40.9) | 3 (13.6) | **0.02** |
| Clinically bleeding events (%) | 15 (34.1) | 1 (4.5) | **0.009** |
| WBC count/mL | 12,295 (9155–18,450) | 11,920 (9610–15,160) | 0.47 |
| NRBC (%) | 67.9 (49.9–82.45) | 53.2 (40–67.5) | **0.02** |
| PLTs count ($x10^9$/L) | 91 (42.5–258) | 263.5 (133–364) | **0.002** |
| CRP (mg/L) | 55.9 (27.35–91.55) | 10.15 (2.7–64.3) | **0.002** |
| AST (IU/L) | 47 (30–90) | 29 (20–35) | 0.33 |
| ALT (IU/L) | 23 (14–54) | 18 (13–25) | 0.23 |
| TBIL (mg/dl) | 8 (3.9–11.9) | 7.5 (3.5–11.1) | 0.69 |
| DBIL (mg/dl) | 0.5 (0.3–2.2) | 0.3 (0.2–0.4) | **0.001** |
| BUN (mg/dl) | 51.3 (33.5–62) | 27.5 (19–44) | **0.001** |
| Creatine (mg/dl) | 0.55 (0.3–0.8) | 0.4 (0.2–0.8) | 0.24 |
| Mortality risk* | 0.25 (0.08–2.35) | 0.0 (0.0–0.1) | **0.02** |
| SNAPPE | 7.5 (4–19) | 2 (1–5) | **0.001** |
| TOLUNAY score | 8 (5–12) | 2.5 (1–5) | **< 0.001** |

Abbreviations: IVH, intraventricular hemorrhage; DIC, disseminated intravascular coagulopathy; NEC, necrotizing enterocolitis; IUGR, intrauterine growth restriction; RDS, respiratory distress syndrome; AKI, acute kidney injury; WBC, white blood cells; NRBC, nucleated red blood cells; PLTs, platelets; CRP, C-reactive protein; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; TBIL, total bilirubin; DBIL, direct bilirubin; BUN, blood urea nitrogen;
Data are presented with frequencies and percentages or with medians and IQR when appropriate. Nonparametric tests (chi-square test and Wilcoxon rank sum test) were used for the statistical evaluations
Statistical significance $p < 0.05$
* The mortality risk was estimated using SNAPPE score.

**Table 1**
Demographics of study population.

| | Total (n = 176) | Control group (Group A, n = 110) | Sepsis group (Group B, n = 44) | Suspected sepsis group (Group C, n = 22) | *p*-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Gestational age (weeks) | 36 (34–39) | 39 (38–40) | 34 (29–37.5) | 34.5 (29–38) | < 0.001 |
| Gender (females) | 85 (48.3) | 61 (55.4) | 15 (34.1) | 9 (40.9) | 0.04 |
| Birth weight (gr) | 2900 (2060–3375) | 3165 (2830–3450) | 1475 (1075–2830) | 1980 (1220–2990) | < 0.001 |
| Delivery mode (cesarian section) | 83 (46.6) | 39 (35.4) | 27 (61.4) | 13 (68.2) | 0.001 |

Data are presented with frequencies and percentages or with medians and IQR when appropriate. Nonparametric tests (chi-square test and Kruskal-Wallis test) were used for the statistical evaluations.



M. Lampridou, et al. Thrombosis Research 192 (2020) 103–108

**Table 3**
Comparison of ROTEM parameters between healthy neonates (Group A), septic neonates (Group B), and neonates with suspected sepsis (Group C).

| | Control group (Group A, n = 116) | Sepsis group (Group B, n = 44) | Suspected sepsis group (Group C, n = 22) | K-W test | A vs B; A vs C; B vs C |
|---|---|---|---|---|---|
| CT (sec) | 51 (47–59) | 59 (56–61.5) | 52 (47–58) | **p = 0.004** | **p = 0.001**; p = 0.77; **p = 0.025** |
| CFT (sec) | 89 (74–106) | 96.5 (72–157) | 76.5 (51–98) | **p = 0.04** | p = 0.059; p = 0.09; **p = 0.042** |
| A10 (mm) | 52.5 (46–57) | 45 (33–60) | 58 (51–66) | **p = 0.007** | **p = 0.025**; **p = 0.037**; **p = 0.010** |
| MCF (mm) | 59 (55–63) | 54 (42–64) | 63 (54–69) | **p = 0.008** | **p = 0.016**; p = 0.07; **p = 0.013** |
| Alpha angle | 72.5 (70–75) | 73 (61–77) | 75.5 (73–80) | **p = 0.02** | p = 0.39; **p = 0.010**; **p = 0.033** |
| LI60 (%) | 95 (93–97) | 95 (92–98) | 94 (91–96) | p = 0.20 | p = 0.92; p = 0.056; p = 0.21 |
| ML (%) | 9 (7–12) | 7 (4–12) | 10 (7–13) | p = 0.13 | p = 0.10; p = 0.28; p = 0.06 |

Abbreviations: CT, clotting time; CFT, clot formation time; A10, clot amplitude at 10 min; MCF, maximum clot firmness; LI60, lysis index at 60 min; ML, maximal lysis.
Data are presented as medians and interquartile ranges in parentheses. The non-parametric two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test, and the Kruskal-Wallis (equality-of-populations) rank test, were used for the statistical evaluations.

**Table 4**
Neonates with hyperfibrinolysis and hypofibrinolysis based on EXTEM and APTEM parameters.

| Fibrinolysis | Control group (Group A, n = 153) | Sepsis group (Group B, n = 44) | Suspected sepsis group (Group C, n = 22) | Overall | A vs B; A vs C; B vs C |
|---|---|---|---|---|---|
| Hyperfibrinolysis[a] | 14 (12.7) | 6 (16.2) | 5 (22.7) | 0.41 | p = 0.28; p = 0.22; p = 0.66 |
| Hypofibrinolysis[b] | 3 (2.7) | 14 (31.8) | 2 (9.1) | **< 0.001** | **p < 0.001**; p = 0.15; **p = 0.042** |

Data are presented with frequencies and percentages. The chi-square test was used for the statistical evaluations.
[a] Defined as EXTEM ML (maximum lysis index) > 15% and normal APTEM ML at 60 min after the start of clot formation.
[b] Defined as EXTEM Lysis Index at 60 min (LI60) ≥ 98%.

**Table 5**
Correlation of EXTEM parameters with CRP, mortality, SNAPPE and TOLUNER score in septic neonates (n = 44).

| Variables | ML | | LI60 | | CT | | CFT | | MCF | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Spearman's rho | p-Value | Spearman's rho | p-Value | Spearman's rho | p-Value | Spearman's rho | p-Value | Spearman's rho | p-Value |
| CRP | −0.14 | 0.36 | 0.19 | 0.24 | 0.18 | 0.23 | 0.19 | 0.23 | −0.24 | 0.11 |
| Mortality | −0.40 | **0.007** | 0.43 | **0.003** | 0.34 | 0.30 | 0.42 | **0.005** | −0.40 | **< 0.001** |
| SNAPPE | −0.33 | 0.03 | 0.35 | **0.02** | 0.41 | 0.45 | 0.39 | **0.01** | −0.59 | **< 0.001** |
| TOLUNER score | −0.03 | 0.87 | 0.17 | 0.27 | 0.52 | **< 0.001** | 0.56 | **< 0.001** | −0.63 | **< 0.001** |

Abbreviations: ML, maximal lysis; LI60, lysis index at 60 min; CT, clotting time; CFT, clot formation time; MCF, maximum clot firmness; CRP, c reactive protein.

neonates (Table 3) revealed that LI60 was positively correlated with mortality (Spearman rho = 0.43, p = 0.005) and the SNAPE score (Spearman rho = 0.35, p = 0.02). ML was negatively correlated with mortality (Spearman rho = −0.40, p = 0.007) and the SNAPE score (Spearman rho = −0.33, p = 0.03).

Univariable analyses revealed that septic neonates had higher CT (OR = 1.04, 95% CI: 1.004–1.08 p = 0.030), lower A10 (OR = 0.95, 95% CI: 0.91–0.98, p = 0.012) and lower MCF (OR = 0.94, 95% CI: 0.90–0.98, p = 0.014) compared to neonates with suspected sepsis. Moreover, septic neonates had higher CT (OR = 1.05, 95% CI: 1.02–1.08, p < 0.001), higher CFT (OR = 1.01, 95% CI: 1.004–1.019, p = 0.002), lower A10 (OR = 0.94, 95% CI: 0.91–0.97, p = 0.001), lower MCF (OR = 0.93, 95% CI: 0.90–0.97, p = 0.001) and lower alpha angle (OR = 0.93, 95% CI: 0.89–0.98, p = 0.005) compared to healthy neonates. ML and LI60 were similar in septic and healthy neonates (OR = 0.97, 95% CI: 0.92–1.02, p = 0.28 and OR = 0.96, 95% CI: 0.94–1.04, p = 0.74 respectively) as well as in septic neonates and neonates with suspected sepsis (OR = 0.96, 95% CI: 0.91–1.01, p = 0.19 and OR = 1.03, 95% CI: 0.94–1.12, p = 0.51 respectively). Multivariable analysis adjusted for sex, birth weight and gestational age showed that septic neonates had higher CT (OR = 1.15, 95% CI: 1.07–1.23 p < 0.001), CFT (OR = 1.02, 95% CI: 1.006–1.04, p = 0.043) and alpha angle (OR = 1.46, 95% CI: 1.14–1.88, p = 0.003) compared to healthy neonates (Table 6).

Additionally, multivariable analysis showed that hyperfibrinolysis, as defined by ROTEM parameters was not associated with sepsis

**Table 6**
Results of logistic regression analysis for sepsis (septic vs healthy neonates) as dependent variable with EXTEM parameters, gestational age, sex and birth weight as independent variables.

| Variables | Sepsis | | |
|---|---|---|---|
| | OR | 95% CI | p-Value |
| CT | 1.15 | 1.07–1.23 | **< 0.001** |
| CFT | 1.02 | 1.006–1.04 | **0.043** |
| MCF | 0.94 | 0.78–1.12 | 0.50 |
| A10 | 0.95 | 0.78–1.14 | 0.59 |
| Alpha | 1.46 | 1.14–1.88 | **0.003** |
| Birth weight | 0.99 | 0.99–1.00 | 0.11 |
| Gender (male) | 20.71 | 3.69–117.80 | **0.001** |
| Gestational age | 0.68 | 0.42–1.03 | 0.06 |

Abbreviations: CT, clotting time; CFT, clot formation time; A10, clot amplitude at 10 min; MCF, maximum clot firmness; LI60, lysis index at 60 min; ML, maximal lysis.

(OR = 1.14, 95% CI: 0.27–4.78, p = 0.85). Unlike, septic neonates were 18.23 times more likely to have fibrinolysis shutdown (OR = 18.23, 95% CI: 2.87–115.80, p = 0.002) compared to healthy neonates (Table 7).

**Table 7**
Results of multivariable logistic regression analysis for sepsis (septic vs healthy neonates) as dependent variable with hyperfibrinolysis, hypofibrinolysis, sex, birth weight and gestational age as independent variables.

| Variables | Sepsis | | |
|---|---|---|---|
| | OR | 95% CI | p Value |
| Hyperfibrinolysis[a] | 1.14 | 0.27–4.79 | 0.85 |
| Hypofibrinolysis[b] | 18.23 | 2.87–115.80 | **0.002** |
| Birth weight | 0.998 | 0.997–0.999 | **0.039** |
| Gender (male) | 3.01 | 1.47–17.09 | **0.050** |
| Gestational age | 0.86 | 0.63–1.18 | 0.37 |

[a] Defined as EXTEM ML (maximum lysis index) > 15% and normal APTEM ML at 60 min after the start of clot formation.
[b] Defined as EXTEM Lysis Index at 60 min (LI60) ≥ 98%.

## 4. Discussion

In the present study, septic neonates showed no evidence of hyperfibrinolysis using ROTEM assay. On the contrary, fibrinolysis shutdown was more common in neonatal sepsis. However, the clinical utility of LI60 or ML to discriminate septic neonates from healthy or those with suspected sepsis, or predict a worse clinical outcome was limited.

Development and standardization of fibrinolytic assays have evolved slower than coagulation testing. Accurate routine screening tests for measurement of fibrinolytic activity are still missing [12]. In addition to hypo- and hypercoagulability, ROTEM can detect impairment in fibrinolysis and is a promising tool in diagnosing alterations in coagulation and fibrinolysis in adult sepsis [27]. Thromboelastometrical lysis indexes (LIs) proved to be reliable biomarkers for both early identification [6,7] and prognosis [28,29] of patients suffering from sepsis or septic shock. As far as it concerns trauma patients, ROTEM can frequently detect hypofibrinolysis. However, its prognostic role remain unclear [30,31].

Concerning ROTEM diagnostic capacity to detect hyperfibrinolysis, contradictory findings have been reported. Raza et al. found that ROTEM could not identify trauma patients with moderate-to-severe fibrinolysis [13], unlike Levrat and colleagues who reported ROTEM as a rapid and accurate assay for the diagnosis of hyperfibrinolysis in the same clinical setting [32]. It seems that VMs appear capable of detecting the most severe forms of hyperfibrinolysis, but are relatively insensitive to moderate, yet clinically significant fibrinolytic activation [33]. An important limitation of all the studies published in the field that probably accounts for the discrepant findings, is the absence of a single gold standard assay for global measurement of fibrinolytic activity and consequently the different definitions of hyperfibrinolysis, as detected by VMs used in various studies.

Studies on the fibrinolytic system in neonates are sparse. Peker et al., using the method of global fibrinolytic capacity (GFC), found decreased fibrinolytic potential in severe neonatal sepsis [10]. Similarly, Yurdakök and colleagues found reduced fibrinolytic potency with the same assay in preterm infants with respiratory distress syndrome [34]. Our research team, using ROTEM, has recently reported that hypocoagulability seems to be the main coagulopathy associated with neonatal sepsis, but no abnormal fibrinolytic profile, based on EXTEM LIs, was observed [16]. This was an intriguing finding, taking into account that ROTEM capacity to detect impaired fibrinolytic activity in adult sepsis has been repeatedly proved [6,7,35]. Because of this finding, we designed the current study to investigate the fibrinolytic potential in this clinical setting by recruiting a new study population and performing both EXTEM and APTEM tests in order to distinguish clot retraction from fibrinolysis, an approach probably resulting in a more reliable and accurate assessment of fibrinolytic profile. However, although most EXTEM parameters were significantly different among healthy neonates, septic neonates, and neonates with suspected sepsis, ML and LI60 levels were similar for the 3 groups in complete consistency with the results of the initial study [16]. Hyperfibrinolysis, as defined by EXTEM and APTEM parameters, did not significantly differ among the 3 groups, indicating that a hyperfibrinolytic state, as detected by ROTEM parameters, is not affected by the status of sepsis. On the contrary, increased percentage of hypofibrinolysis, defined as an EXTEM LI60 ≥ 98%, was observed in sepsis group compared to control and suspected sepsis groups in accordance with findings of Peker et al. [10]. Similarly, in septic adult patients, fibrinolysis is often significantly reduced [7], while LI60 has been regarded as an early and reliable biomarker of severe sepsis in critically ill adults [6]. Furthermore, in the current study a weak to moderate correlation of LI60 and ML with mortality and SNAPE score in the sepsis group was noticed. These findings possibly indicate that, like adults, fibrinolysis shutdown in neonates admitted to NICUs might be an index of disease severity. Moreover, most ROTEM coagulation parameters retained their statistically significant difference demonstrating a hypocoagulable profile in neonatal sepsis compared to healthy or those with suspected sepsis, as previously described [16]. However, the considerable overlap among numerical ROTEM values compromises their diagnostic clinical utility.

In adults, thromboelastometrical LIs proved to be reliable biomarkers for early identification of patients suffering from sepsis [27]. Despite the increased percentage of fibrinolysis shutdown in septic neonates, our results, demonstrate that the thromboelastometry LIs cannot effectively discriminate septic neonates from those with suspected sepsis. It could be argued that this discrepancy is probably due to decreased diagnostic performance of ROTEM for a moderately abnormal fibrinolytic activation [33]. Because viscoelastic tests globally evaluate the hemostatic system, their fibrinolysis measure is not an isolated quantification of the fibrinolytic activation, but the balance between clot formation and degradation [31]. Thus, an abnormal fibrinolytic activity could coexist and be concealed by the intense hypocoagulable profile prevailing in septic neonates.

Our study has a number of limitations. It was a single-site research including a relatively limited number of patients, thus further studies with larger sample sizes are necessary to confirm or refute these results. However, it is noteworthy that the current findings are completely in line with those previously obtained in a similar population that our research group has studied [16]. Since we only considered a single ROTEM measurement on the first day of sepsis, it is uncertain how treatment and evolution of sepsis might affect the fibrinolysis status. Standard coagulation tests were performed to a limited number of neonates, as per our NICU protocol, thus they could not be included in the statistical analysis. Furthermore, other surrogates of fibrinolytic activity were not undertaken, while the absence of a single gold-standard assay for measuring fibrinolytic activity did not allow accurate definitions of abnormal fibrinolysis. Thus, ROTEM diagnostic performance characteristics for fibrinolysis remain unknown. Finally, due to the relatively large number of comparisons among the study groups, the likelihood of Type I error may be inflated, therefore the statistical significance at a $p$ value 0.05 should be interpreted with caution.

## 5. Conclusions

In conclusion, ROTEM, based on fibrinolytic parameters, showed a more frequent fibrinolysis shutdown in neonatal sepsis, but it could neither effectively discriminate septic neonates, nor predict their clinical outcome. The intense hypocoagulable profile noted in neonatal sepsis, due to consumption coagulopathy, might overlap a moderately abnormal fibrinolytic activity. However, inhibition of fibrinolysis in adults has been repeatedly detected by ROTEM LIs, as an integral part of the host response to severe infection, indicating that fibrinolysis system both in neonates and adults, reacts to critical illness in a similar way. As the use of VMs in diagnosis and management of coagulation disorders in neonates becomes gradually widespread [36], the laboratory information obtained, although intriguing, should be interpreted

