

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ:

«ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΛΟΙΜΩΞΙΟΛΟΓΙΑ»



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΘΕΜΑ: ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΗΣ ΥΚΛ-40 ΣΤΙΣ ΝΕΟΓΝΙΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ

ΜΕΤΑΠΤ. ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ: ΣΤΕΛΕΤΟΥ ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ: ΣΙΑΧΑΝΙΔΟΥ ΤΑΝΙΑ

ΑΘΗΝΑ

ΜΑΡΤΙΟΣ 2021

MASTER OF SCIENCE

” PEDIATRIC INFECTIOUS DISEASES”



NATIONAL AND KAPODISTRIAN UNIVERSITY OF ATHENS

MEDICAL SCHOOL

MASTER'S THESIS

DIAGNOSTIC VALUE OF YKL-40 IN NEONATAL INFECTIONS

POSTGRADUATE STUDENT: STELETOU EVANGELIA

SUPERVISOR: SIAHANIDOU TANIA

ATHENS

MARCH 2021

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η γλυκοπρωτεΐνη YKL-40, γνωστή και ως chitinase-3-like-1 protein (CHI3L1), είναι ένας πιθανά χρήσιμος διαγνωστικός δείκτης λοίμωξης, σύμφωνα με μελέτες ενηλίκων με σήψη. Η παρούσα διπλωματική εργασία διερευνά τη διαγνωστική αξία της YKL-40 στις νεογνικές λοιμώξεις.

Σκοπός: Να προσδιοριστεί η διαγνωστική αξία των επιπέδων YKL-40 ορού στη νεογνική σήψη και να συγκριθεί η YKL-40 με άλλους βιοδείκτες που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη, όπως η CRP ορού.

Μεθοδολογία: Πρόκειται για προοπτική μελέτη στην οποία περιλήφθηκαν 30 τελειόμηνα νεογνά ηλικίας 4-28 ημερών με σήψη και 15 υγιή νεογνά, ως μάρτυρες. Για τη διάγνωση της σήψης χρησιμοποιήθηκαν τα κριτήρια του International Pediatric Sepsis Consensus Conference (Goldstein, Giroir and Randolph, 2005). Στους ασθενείς λήφθηκαν καλλιέργειες αίματος, ούρων και ΕΝΥ και έγινε αιμοληψία κατά την εισαγωγή (οξεία φάση λοίμωξης-ημέρα 0) για τον εργαστηριακό έλεγχο ρουτίνας και τον προσδιορισμό των επιπέδων YKL-40 ορού με Elisa (kit για human CHI3L1, R&D Systems, USA). Τα επίπεδα YKL-40 ορού επαναπροσδιορίστηκαν στους ασθενείς σε δείγμα αίματος που λήφθηκε στην αποδρομή της λοίμωξης (ημέρα 7-10), ενώ μετρήθηκαν άπαξ στους μάρτυρες. Συγκρίθηκαν τα επίπεδα YKL-40 ορού μεταξύ ασθενών και μαρτύρων, καθώς και μεταξύ της οξείας φάσης και της αποδρομής της λοίμωξης. Αναζητήθηκε συσχέτιση των επιπέδων YKL-40 κατά την οξεία φάση με τον αριθμό λευκοκυττάρων, πολυμορφοκυττάρων και αιμοπεταλίων της γενικής αίματος και τα επίπεδα CRP ορού. Για τον προσδιορισμό της διαγνωστικής αξίας της YKL-40 χρησιμοποιήθηκε η καμπύλη ROC. Η στατιστική ανάλυση έγινε με το πρόγραμμα SPSS Statistics 26.

Αποτελέσματα: Σε 20 από τα 30 νεογνά με σήψη διαπιστώθηκε θετική καλλιέργεια αίματος (n=7) ή ούρων (n=13). Τα επίπεδα της YKL-40 [διάμεση τιμή (25^η-75^ηΕΘ)] βρέθηκαν σημαντικά υψηλότερα στην οξεία φάση της σήψης [35,5 (27,9-54,2) pg/ml] συγκριτικά με τα επίπεδα στην αποδρομή [24,1 (18-35,5) pg/ml, p=0,004] και τα επίπεδα στους μάρτυρες [21,5 (18,9-31,2) pg/ml, p=0,003]. Δε διέφεραν στατιστικά σημαντικά τα επίπεδα της YKL-40 μεταξύ ασθενών στην αποδρομή της σήψης και μαρτύρων. Τα επίπεδα της YKL-40 ήταν επίσης υψηλότερα στην οξεία φάση της σήψης με θετική καλλιέργεια [38,6 (31-63,1) pg/ml] συγκριτικά με τη σήψη με αρνητική καλλιέργεια [31,5 (21,3-35,9), p=0,061], αλλά η διαφορά

δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Διαπιστώθηκε θετική συσχέτιση των επιπέδων YKL-40 στην οξεία φάση της σήψης με τον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων και των πολυμορφοκυττάρων και τη CRP ορού. Η ανάλυση ROC για τα επίπεδα της YKL-40 ανέδειξε σημαντική περιοχή κάτω από την καμπύλη (area under the curve - AUC) για την αναγνώριση ασθενών με σήψη [AUC=0,771 (95%CI 0,632 – 0,911), P=0,003], όχι όμως για τη διάκριση μεταξύ σήψης με θετική και αρνητική καλλιέργεια.

Συμπεράσματα: Η YKL-40 ενδεχομένως θα μπορούσε να συμπεριληφθεί μεταξύ των βιοδεικτών για την αναγνώριση και παρακολούθηση της νεογνικής σήψης, αλλά όχι για τη διάκριση μεταξύ σήψης με θετική και αρνητική καλλιέργεια.

Λέξεις κλειδιά: νεογνικές λοιμώξεις, νεογνική σήψη, διαγνωστικός βιοδείκτης, CRP, YKL-40, CHI3L1, chitinase-3-like-1 protein

ABSTRACT

Background: YKL-40, also known as chitinase-3-like-1 protein (CHI3L1), might be a useful biomarker for infection based on adult studies with sepsis. The current research explores the diagnostic value of the glycoprotein YKL-40 in neonatal sepsis.

Objective: To determine the diagnostic value of serum YKL-40 levels in neonatal sepsis and to compare YKL-40 with other biomarkers which are currently used in clinical practice, such as CRP.

Methods: Thirty full-term neonates aged 4 to 28 days with sepsis and 15 healthy neonates, as controls, were prospectively studied. Sepsis was diagnosed using the International Pediatric Sepsis Consensus Conference criteria. Blood samples were obtained from septic neonates on admission (acute phase of sepsis – day 0) for routine laboratory tests (i.e. full blood count, serum CRP) and cultures, and also for measurement of serum YKL-40 levels with Elisa. Serum YKL-40 levels were also determined in all patients at recovery (day 7-10), and once in controls. Serum YKL-40 levels were compared between patients and controls, and also between the acute phase of sepsis and recovery. Correlations between YKL-40 levels at enrollment and several markers of sepsis (WBC, ANC, platelet count, and serum CRP levels) were assessed. ROC analysis was used to evaluate the diagnostic value of YKL-40. Statistical analysis was conducted using SPSS Statistics 26 software.

Results: In 20/30 septic neonates blood (n=7) or urine cultures (n=13) were positive. Serum YKL-40 levels [median (25th-75th percentile)] were significantly higher at the acute phase of sepsis [35.5 (27.9-54.2) pg/ml] than levels at recovery [24.1 (18-35.5) pg/ml; p=0.004] and levels in controls [21.5 (18.9-31.2) pg/ml; p=0.003]. Serum YKL-40 levels did not differ significantly between patients at recovery and controls. Serum YKL-40 levels at the acute phase of sepsis were also higher in patients with positive cultures [38.6 (31-63.1) pg/ml] compared to those with negative cultures [31.5 (21.3-35.9) pg/ml; p=0.061], but this difference was not statistically significant. Positive correlations between serum YKL-40 levels and WBC, ANC and CRP levels at enrollment were also observed. In ROC analysis, YKL-40 levels at enrollment resulted in significant areas under the curve (AUC) to identify patients with sepsis [AUC=0.771 (95%CI 0.632-0.911); P=0.003], but did not discriminate culture positive and culture negative sepsis.

Conclusions: Serum YKL-40 might be included among biomarkers for the diagnosis and monitoring of neonatal sepsis, but cannot discriminate culture positive and culture negative sepsis.

Keywords: neonatal infections, neonatal sepsis, diagnostic biomarker, CRP, YKL-40, CHI3L1, chitinase-3-like-1 protein

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την καθηγήτριά μου, κα Σιαχανίδου Τάνια, Καθηγήτρια Παιδιατρικής – Νεογνολογίας της Α' Παιδιατρικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, που με την επίβλεψη και την καθοδήγησή της συνέβαλε ουσιαστικά στην εκπόνηση αυτής της διπλωματικής εργασίας.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στον κο Παπασωτηρίου Ιωάννη, Βιολόγο και Διευθυντή του Βιοχημικού Εργαστηρίου του Νοσοκομείου Παιδων "Η Αγία Σοφία" και στην κα Μαργέλη Αλεξάνδρα, Χημικό του ίδιου τμήματος, για την άρτια συνεργασία και διεκπεραίωση των απαραίτητων μετρήσεων στα δείγματα της έρευνας.

Θα ήθελα, επίσης, να εκφράσω εκ βάθρων ευχαριστίες σε όλους τους καθηγητές του μεταπτυχιακού προγράμματος για την παροχή των πολύτιμων γνώσεών τους.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, για την αδιάκοπη στήριξη σε κάθε μου βήμα.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	3
ABSTRACT	5
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	7
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ.....	8
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	10
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	12
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΣΥΧΝΟΤΕΡΕΣ ΝΕΟΓΝΙΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ.....	12
1.1 Σήψη.....	12
1.2 Μηνιγγίτιδα.....	24
1.3 Ουρολοίμωξη.....	28
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΙΔΙΑΙΤΕΡΟΤΗΤΕΣ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΝΕΟΓΝΩΝ.....	32
2.1. Ανοσοποιητικό σύστημα νεογνών γενικά.....	32
2.2. Φυσική ανοσία νεογνών.....	32
2.3. Εντερική ανοσία και μητρικός θηλασμός.....	33
2.4. Αντίδραση οξείας φάσης.....	34
2.5. Κύτταρα φυσικής ανοσίας.....	34
2.6. Επίκτητη ανοσία.....	35
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΝΑΓΚΑΙΟΤΗΤΑ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ ΣΗΨΗΣ ΓΙΑ ΑΠΟΦΥΓΗ ΑΣΚΟΠΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ	37
3.1. Χρήση αντιβιοτικών στα νεογνά.....	37
3.2. Ανάπτυξη αντοχής στα αντιβιοτικά.....	37
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΙΔΑΝΙΚΟΣ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ.....	40
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΥΠΑΡΧΟΝΤΕΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΝΕΟΓΝΙΚΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ.....	42
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΒΙΟΔΕΙΚΤΗΣ ΥΚΛ-40.....	49
6.1. ΥΚΛ-40 – Γενικά.....	49

6.2. ΥΚΛ-40 – Κλινικές συσχετίσεις.....	52
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	54
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ.....	57
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	84
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	86
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	87

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα νεογνά αποτελούν ιδιαίτερα ευαίσθητο πληθυσμό και ευάλωτο σε λοιμώξεις, καθώς εκτίθενται σε ποικίλους δυνητικά παθογόνους παράγοντες. Αρχικά, είναι δυνατόν να προσβληθούν από κάποιο λοιμογόνο παράγοντα ενδομητρίως και κατά τον τοκετό. Άλλα πιθανά σημεία μετάδοσης θεωρούνται ο χώρος της μονάδας νεογνών, οι διάφορες επεμβατικές διαδικασίες που διενεργούνται κατά την παραμονή στο νοσοκομείο και η επαφή του νεογνού με ανθρώπους όπως οι επαγγελματίες υγείας, οι συγγενείς, οι επισκέπτες και η κοινότητα γενικότερα. Σημαντικός παράγοντας κινδύνου για λοίμωξη είναι το ανώριμο ανοσοποιητικό σύστημα των νεογνών, ιδιαίτερα των πρόωρων, που προδιαθέτει σε διεισδυτικές λοιμώξεις και σήψη (Shane and Stoll, 2014).

Οι λοιμώξεις κατά τη νεογνική ηλικία, ενέχουν κινδύνους τόσο στην οξεία φάση λόγω επιπλοκών έως και απειλητικών για τη ζωή του ασθενούς, όσο και μακροπρόθεσμα επηρεάζοντας την υγεία του χρονίως. Λόγω της ιδιαιτερότητας αυτής της ομάδας των ασθενών, είναι επιτακτική η ανάγκη για έγκαιρη, αλλά και έγκυρη διάγνωση των λοιμώξεων ώστε να αποφευχθεί η αλόγιστη χρήση αντιβιοτικών και να προληφθούν οι σοβαρές επιπλοκές.

Για το σκοπό αυτό έχουν προταθεί διάφοροι βιοδείκτες χρήσιμοι για τη διάγνωση αλλά και την πρόγνωση της νεογνικής σήψης (Shane and Stoll, 2014).

Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η διερεύνηση της πιθανής διαγνωστικής αξίας ενός νέου βιοδείκτη, του YKL-40, σε νεογνικές λοιμώξεις.

Στο πρώτο μέρος της εργασίας, αναφέρονται γενικές πληροφορίες για τις λοιμώξεις στα νεογνά, με κυριότερη τη νεογνική σήψη. Αναλύονται, επίσης, τα πρόσφατα δεδομένα για τους υπάρχοντες βιοδείκτες. Ακολούθως, παρατίθεται εκτενής περιγραφή του μορίου YKL-40 και γίνεται αναφορά στη χρήση του ως διαγνωστικού δείκτη κι όχι μόνο, σε διάφορες λοιμώξεις και άλλες καταστάσεις.

Στο δεύτερο μέρος, αναλύεται ο στόχος και η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για την διεκπεραίωση της συγκεκριμένης έρευνας. Παρουσιάζονται και αναλύονται εκτενώς τα αποτελέσματα της έρευνας από τη μέτρηση του εν λόγω βιοδείκτη στην οξεία φάση και στην αποδρομή της λοίμωξης σε νεογνά που νοσηλεύτηκαν στη Μονάδα Νεογνών της Α΄

Παιδιατρικής Κλινικής ΕΚΠΑ στο Νοσοκομείο Παίδων «Η Αγία Σοφία» και εξετάζεται η πιθανή χρησιμότητά του στην έγκαιρη και έγκυρη διάγνωση.

Τέλος, ακολουθεί σχετική συζήτηση επί του θέματος και διεξαγωγή συμπερασμάτων.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΣΥΧΝΟΤΕΡΕΣ ΝΕΟΓΝΙΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ

1.1. Σήψη

Ορισμός-Γενικά

Είναι δύσκολο να υπάρξει ομοφωνία σε παγκόσμιο επίπεδο ως προς τον ορισμό της νεογνικής σήψης δεδομένου ότι δεν υπάρχουν σαφή κριτήρια για τα νεογνά. Υπάρχουν διάφορες προσεγγίσεις για τη νεογνική σήψη βασιζόμενες σε δεδομένα που αφορούν στην κλινική εικόνα, τη μικροβιολογία και τα εργαστηριακά ευρήματα, καθώς επίσης και την αναγκαιότητα και τη διάρκεια της αντιβιοτικής αγωγής. Οι διαφορές μεταξύ πρόωρων και τελειόμηνων νεογνών, αλλά και η δυσκολία σύγκρισης της πρώιμης και όψιμης νεογνικής σήψης, καθιστούν ιδιαίτερα δύσκολη την ύπαρξη ομοφωνίας για ένα σαφή ορισμό ή ένα συγκεκριμένο τρόπο διαχείρισης των νεογνών με υποψία σήψης (Molloy et al., 2020).

Στο Consensus Conference on pediatric sepsis, του 2005, τροποποιήθηκαν τα κριτήρια των ενηλίκων για το systemic inflammatory response syndrome (SIRS) για παιδιά και αναθεωρήθηκαν οι ορισμοί της σοβαρής σήψης και της σηπτικής καταπληξίας (septic shock) για τον παιδιατρικό πληθυσμό (από τη νεογνική ηλικία έως και την εφηβεία). Ως SIRS ορίστηκε η μη ειδική φλεγμονώδης διαδικασία μετά από τραύμα, λοίμωξη, εγκαύματα, παγκρεατίτιδα και άλλες νόσους. Ως σήψη ορίζεται το SIRS που σχετίζεται με λοίμωξη. Στην εικόνα 1, παρουσιάζονται τα κριτήρια για τους ενήλικες και συμπεριλαμβάνονται οι τροποποιήσεις για τα παιδιά (έντονα γράμματα). Τα κριτήρια για SIRS περιλαμβάνουν πυρετό ($>38,5^{\circ}\text{C}$) ή υποθερμία ($<36^{\circ}\text{C}$), ταχυκαρδία ή βραδυκαρδία, ταχύπνοια ή μηχανικός αερισμός, λευκοκυττάρωση ή λευκοπενία ή ανώριμα ουδετερόφιλα σε ποσοστό $>10\%$. Στην εικόνα 2, παρουσιάζονται οι διαφοροποιήσεις των φυσιολογικών τιμών για κάθε κριτήριο ανάλογα με την ηλικία. Η λοίμωξη από παθογόνο μικροοργανισμό μπορεί να επιβεβαιώνεται από καλλιέργεια κάποιου υλικού ή Polymerase Chain Reaction test (PCR) ή να τίθεται ισχυρή

υποψία από την κλινική εικόνα, τις απεικονιστικές μεθόδους και τις εργαστηριακές εξετάσεις (Goldstein, Giroir and Randolph, 2005).

Εικόνα 1. Ορισμοί συνδρόμου συστηματικής φλεγμονώδους απάντησης (SIRS), λοίμωξης, σήψης, σοβαρής σήψης και σηπτικής καταπληξίας. (Πηγή: International pediatric sepsis consensus conference: Definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics, 2005. Pediatric Critical Care Medicine).

SIRS^a

The presence of at least two of the following four criteria, one of which must be abnormal temperature or leukocyte count:

- Core^b temperature of $>38.5^{\circ}\text{C}$ or $<36^{\circ}\text{C}$.
- Tachycardia, defined as a mean heart rate >2 sd above normal for age in the absence of external stimulus, chronic drugs, or painful stimuli; or otherwise unexplained persistent elevation over a 0.5- to 4-hr time period **OR** for children <1 yr old: bradycardia, defined as a mean heart rate <10 th percentile for age in the absence of external vagal stimulus, β -blocker drugs, or congenital heart disease; or otherwise unexplained persistent depression over a 0.5-hr time period.
- Mean respiratory rate >2 sd above normal for age or mechanical ventilation for an acute process not related to underlying neuromuscular disease or the receipt of general anesthesia.
- Leukocyte count elevated or depressed for age (not secondary to chemotherapy-induced leukopenia) or $>10\%$ immature neutrophils.

Infection

A suspected or proven (by positive culture, tissue stain, or polymerase chain reaction test) infection caused by any pathogen **OR** a clinical syndrome associated with a high probability of infection. Evidence of infection includes positive findings on clinical exam, imaging, or laboratory tests (e.g., white blood cells in a normally sterile body fluid, perforated viscus, chest radiograph consistent with pneumonia, petechial or purpuric rash, or purpura fulminans)

Sepsis

SIRS in the presence of or as a result of suspected or proven infection.

Severe sepsis

Sepsis plus one of the following: cardiovascular organ dysfunction **OR** acute respiratory distress syndrome **OR** two or more other organ dysfunctions. Organ dysfunctions are defined in Table 4.

Septic shock

Sepsis and cardiovascular organ dysfunction as defined in Table 4.

Modifications from the adult definitions are highlighted in boldface.

Εικόνα 2. Τιμές αναφοράς ζωτικών σημείων και εργαστηριακών εξετάσεων ανάλογα με την ηλικία (οι κατώτερες τιμές για την καρδιακή συχνότητα, τον αριθμό λευκοκυττάρων και τη συστολική αρτηριακή πίεση αντιστοιχούν στην 5^η εκατοστιαία θέση και οι ανώτερες στην 95^η εκατοστιαία θέση).

Age Group ^a	Heart Rate, Beats/Min ^{b,c}		Respiratory Rate, Breaths/Min ^d	Leukocyte Count, Leukocytes $\times 10^3/\text{mm}^3$ ^{b,c}	Systolic Blood Pressure, mm Hg ^{b,c,e,f}
	Tachycardia	Bradycardia			
0 days to 1 wk	>180	<100	>50	>34	<65
1 wk to 1 mo	>180	<100	>40	>19.5 or <5	<75
1 mo to 1 yr	>180	<90	>34	>17.5 or <5	<100
2–5 yrs	>140	NA	>22	>15.5 or <6	<94
6–12 yrs	>130	NA	>18	>13.5 or <4.5	<105
13 to <18 yrs	>110	NA	>14	>11 or <4.5	<117

Με βάση τα στοιχεία του Consensus Conference on pediatric sepsis, η λοίμωξη μπορεί να είναι βακτηριακής, ιογενούς, μυκητιασικής ή παρασιτικής αιτιολογίας. Συχνότερα επιβεβαιώνονται λοιμώξεις βακτηριακής αιτιολογίας είτε με απομόνωση σε καλλιέργεια είτε με άλλες μεθόδους. Παραδείγματα κλινικών ευρημάτων ενδεικτικών λοίμωξης είναι το πετεχειώδες εξάνθημα στα πλαίσια αιμοδυναμικής αστάθειας, ο πυρετός, ο βήχας και η υποξία σε συνδυασμό με λευκοκυττάρωση και πνευμονικές διηθήσεις, ακόμα και η διατεταμένη κοιλία. Ο ορισμός της σοβαρής σήψης περιλαμβάνει τη σήψη και ένα από τα ακόλουθα, όπως δυσλειτουργία του καρδιαγγειακού, σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας ή δυσλειτουργία δύο ή περισσότερων συστημάτων (αναπνευστικό, νεφροί, νευρικό, αιμοποιητικό, ήπαρ). Ο ορισμός της σηπτικής καταπληξίας στα παιδιά παραμένει προβληματικός. Εφόσον η αρτηριακή πίεση διατηρείται σε φυσιολογικά επίπεδα έως ότου καταστούν σοβαρά πάσχοντα, δεν απαιτείται αυτή η παράμετρος για να τεθεί η διάγνωση της σηπτικής καταπληξίας. Κριτήρια για τη διάγνωση αποτελούν η ταχυκαρδία με σημεία φτωχής περιφερικής αιμάτωσης, εναλλαγές επιπέδου συνείδησης, κρύα άκρα και αγγειοκινητικές διαταραχές και μειωμένη διούρηση. Η υπόταση είναι όψιμο εύρημα που επιβεβαιώνει τη διάγνωση (Goldstein, Giroir and Randolph, 2005).

Μετά το 2005, έγιναν διάφορες προσπάθειες με σκοπό να υπάρξει ομοφωνία στον ορισμό της νεογνικής σήψης. Σύμφωνα με τον ορισμό που προέκυψε από το Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic shock (Sepsis-3), η σήψη είναι «απειλητική για τη ζωή πολυοργανική ανεπάρκεια που προκαλείται από ανεξέλεγκτη απάντηση σε λοίμωξη» (Singer et al., 2016). Ο ορισμός αυτός επικράτησε μετά από ενδελεχή μελέτη δεδομένων που αφορούν ενήλικες, αλλά δεν μπορούσε να γενικευτεί και για τα νεογνά. Τα κριτήρια για τα νεογνά πρέπει να είναι αυστηρά για την αποφυγή υπερδιάγνωσης και να προσαρμόζονται ανάλογα με την ηλικία. Τα Sepsis-3 criteria βασίζονται στην άμεση έκβαση της σήψης σε ενήλικες, ενώ αναφορικά με τα νεογνά χρειάζονται περαιτέρω μελέτες για την αξιολόγηση των μακροπρόθεσμων επιπλοκών, ιδίως των νευρολογικών. Το SOFA score (Sequential Organ Failure Assessment Score) υπολογίζεται με βάση τις μεταβολές στην λειτουργία διαφόρων οργάνων και συστημάτων όπως αναπνευστικό, καρδιαγγειακό, σύστημα πήξης, κεντρικό νευρικό σύστημα, καθώς και την ηπατική και νεφρική λειτουργία. Υψηλότερο score σχετίζεται με μεγαλύτερη θνητότητα. Λαμβάνοντας υπόψη αυτά τα κριτήρια, διαμορφώθηκε το pSOFA score (pediatric), το οποίο βασίζεται εξίσου στις μεταβολές στη λειτουργία των οργάνων και θεωρείται αξιόπιστο εργαλείο για τον καθορισμό της πρόγνωσης και της θνητότητας σε νοσηλευόμενα παιδιά με σήψη (Matics and Sanchez-Pinto, 2017). Αναλυτικότερα, τροποποιήθηκαν οι τιμές αναφοράς για το καρδιαγγειακό σύστημα και τη

νεφρική λειτουργία ανάλογα με την ηλικία και προτάθηκε εναλλακτικός τρόπος αξιολόγησης της αναπνευστικής λειτουργίας (χρήση του λόγου $\text{SpO}_2:\text{FiO}_2$ αντί του $\text{PaO}_2:\text{FiO}_2$ ως ένδειξη πνευμονικής βλάβης). Προσφάτως, τροποποιήθηκε το SOFA score (neonatal SOFA) ώστε να προβλέπει τη θνητότητα από όψιμη νεογνική σήψη σε νεογνά με πολύ χαμηλό βάρος γέννησης (Wynn and Polin, 2020).

Ιδανικά, η εξέταση εκλογής για την επιβεβαίωση της διάγνωσης της νεογνικής σήψης («gold standard») είναι η ανάπτυξη μικροοργανισμού στην καλλιέργεια αίματος. Ωστόσο, κάποιοι παράγοντες, όπως η λήψη μικρής ποσότητας δείγματος αίματος στα νεογνά, η παρουσία μικρού βακτηριακού φορτίου ή η διαλείπουσα βακτηριαιμία, καθώς επίσης η έκθεση σε αντιμικροβιακούς παράγοντες που έλαβε η μητέρα περιγεννητικά, καθιστούν δυσκολότερη τη διάγνωση με βάση τη θετικοποίηση της καλλιέργειας αίματος. Δεδομένου ότι η κλινική εικόνα είναι άτυπη και η υπερβολική και αλόγιστη χρήση εμπειρικής αντιβιοτικής αγωγής σε υποψία σήψης οδηγεί σε αύξηση της αντοχής στα αντιβιοτικά, χρειάζονται πιο ακριβή και ευαίσθητα εργαλεία για τη διάγνωση (Connell et al., 2007), (Mukhopadhyay S., 2017). Επιπλέον, η προφυλακτική χορήγησης αντιβιοτικών περιγεννητικά σε υψηλού κινδύνου κυήσεις με σκοπό την πρόληψη της νεογνικής σήψης από Group B στρεπτόκοκκο (GBS) είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του ποσοστού απομόνωσης του συγκεκριμένου μικροοργανισμού στις καλλιέργειες αίματος νεογνών με σήψη. Η τακτική αυτή υιοθετήθηκε το 1995 και το ποσοστό σήψης, αποδεδειγμένης με απομόνωση του GBS στην καλλιέργεια αίματος, μειώθηκε κατά 85%. Πιο συγκεκριμένα, η συχνότητα της σήψης από GBS από 1,8 περιπτώσεις σε 1000 γεννήσεις ζώντων νεογνών το 1990, μειώθηκε σε 0,25 ανά 1000 γεννήσεις ζώντων το 2010 (Schrag et al., 2000), (CDC, 2013).

Ο επικρατέστερος διαχωρισμός που γίνεται με βάση την ηλικία εμφάνισης, χωρίζει τη σήψη σε πρώιμη και όψιμη. Η πρώιμη νεογνική σήψη (early-onset sepsis-EOS) αναφέρεται στη λοίμωξη που διαγιγνώσκεται τις πρώτες 72 ώρες ζωής για τα νεογνά που νοσηλεύονται σε μονάδα εντατικής θεραπείας και τις πρώτες 6 ημέρες ζωής για τα τελειόμηνα νεογνά. Περιλαμβάνει βακτηριαιμία ή βακτηριακή μηνιγγίτιδα και οφείλεται σε παθογόνους μικροοργανισμούς στους οποίους εκτέθηκε το νεογνό περιγεννητικά, είτε με κάθετη μετάδοση από τη μητέρα στο έμβρυο, είτε κατά τον τοκετό. Αντιθέτως, η όψιμη νεογνική σήψη (late-onset sepsis-LOS) αναφέρεται στη λοίμωξη που διαγιγνώσκεται από την 4^η ημέρα ζωής και μετά στα νεογνά που νοσηλεύονται σε μονάδα εντατικής θεραπείας και μετά την 7^η ημέρα ζωής για τα τελειόμηνα (Simonsen, Anderson-Berry, Delair and Davies, 2014).

Επιδημιολογία

Παρά τη βελτίωση της πρόγνωσης τα τελευταία χρόνια, η νεογνική σήψη παραμένει σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει τη νοσηρότητα και τη θνητότητα στα νεογνά (Stoll et al., 2016). Στοιχεία πρόσφατης μετα-ανάλυσης υπολογίζουν ότι η μεγαλύτερη επίπτωση της σήψης, ανάμεσα στις διάφορες ηλικίες, ανευρίσκεται στα νεογνά, προσβάλλοντας κατά προσέγγιση 3 εκατομμύρια νεογνά (22 ανά 1000 γεννήσεις) ετησίως, με θνητότητα 11-19% και απροσδιόριστες μακροπρόθεσμες νευρολογικές επιπλοκές. Η συγκεκριμένη μελέτη βασίστηκε σε δεδομένα που αφορούν μικρό πληθυσμό και σε συνδυασμό με την έλλειψη ομοφωνίας ως προς τον ορισμό της σήψης και τα διαγνωστικά κριτήρια, καθίσταται αδύνατο να γίνει ακριβής υπολογισμός της επίπτωσης της σήψης παγκοσμίως (Fleischmann-Struzek et al., 2018). Δεδομένα από 16 μονάδες εντατικής θεραπείας νεογνών στη χώρα μας, κατά τη χρονική περίοδο 2012-2015, υπολογίζουν την επίπτωση της πρώιμης νεογνικής σήψης με βακτηριαμία σε 4,4 περιπτώσεις ανά 1000 εισαγωγές νεογνών σε μονάδες εντατικής θεραπείας και αντίστοιχα για την όψιμη νεογνική σήψη σε 45,4 περιπτώσεις ανά 1000 εισαγωγές νεογνών σε μονάδες εντατικής θεραπείας στην Ελλάδα (Neonatal Infection Surveillance Network-neonIN).

Αιτιολογία

Οφείλεται σε παθογόνους μικροοργανισμούς προερχόμενους κάθετα από τη μητέρα ή περιγεννητικά, καθώς και από το νοσοκομειακό περιβάλλον ή την κοινότητα. Οι συχνότεροι μικροοργανισμοί είναι ο *Streptococcus agalactiae* (GBS-Group B streptococcus) και η *Escherichia coli*, που αθροιστικά αφορούν το 70% των περιπτώσεων. Στις υπόλοιπες περιπτώσεις, ενοχοποιούνται άλλοι μικροοργανισμοί, όπως *Listeria monocytogenes*, στρεπτόκοκκοι (viridans συνήθως, αλλά και *Streptococcus pneumoniae*), *Staphylococcus aureus*, εντερόκοκκοι, *Enterobacter* και *Haemophilus influenzae* (Weston et al., 2011). Η συχνότητα της σήψης από GBS τείνει να μειώνεται λόγω του προληπτικού ελέγχου προγεννητικά και της χορήγησης αντιβιοτικής αγωγής στη μητέρα περιγεννητικά (Stoll, B., Hansen, N., Sánchez, P. et al., 2011). Νεογνική σήψη ιογενούς ή μυκητιασικής αιτιολογίας μπορεί επίσης να συμβεί και θα πρέπει να διαχωρίζεται από τη σήψη βακτηριακής αιτιολογίας. Οι ιοί που εμπλέκονται μπορεί να είναι ο ιός του απλού έρπητα (herpes simplex virus-HSV), εντεροϊοί και parechovirus. Υπάρχουν και άλλοι ιοί υπεύθυνοι για συγγενείς ή

περιγεννητικές λοιμώξεις, όπως για παράδειγμα ο ιός της ερυθράς (rubella virus), ο κυτταρομεγαλοϊός (cytomegalovirus) και ο HIV (human immunodeficiency virus). Σήψη μυκητιασικής αιτιολογίας, συνήθως αφορά Candida και συμβαίνει συχνότερα σε νεογνά εξαιρετικά χαμηλού βάρους γέννησης (<1000γρ) (Simonsen, Anderson-Berry, Delair and Davies, 2014).

Συγκεκριμένα για την Ελλάδα, δεδομένα από το Κέντρο Κλινικής Επιδημιολογίας και Έκβασης νοσημάτων (CLEO), έως και το 2014, για τη νεογνική σήψη (πρώιμη και όψιμη), υπολογίζουν ως κύρια αιτία τους Coagulase-negative σταφυλοκόκκους (43%) και μετά τα εντεροβακτηριοειδή (29%) με συχνότερα την Klebsiella και το E.coli (Kopsidas et al., CLEO, 2014). Πιο πρόσφατη έρευνα στη χώρα μας, κατατάσσει τους Coagulase-negative σταφυλοκόκκους στην πρώτη θέση σε συχνότητα (80%) στην όψιμη νεογνική σήψη, ενώ τα είδη Klebsiella (39%) ακολουθούν (Gkentzi et al., 2019).

Κλινική εικόνα

Η υποψία σήψης είναι η πιο συχνή στις μονάδες εντατικής θεραπείας νεογνών. Τα σημεία και τα συμπτώματα δεν είναι ειδικά και διάφορες φλεγμονώδεις καταστάσεις μη λοιμώδους αιτιολογίας μπορεί να μιμούνται τη σήψη (Polin et al., AAP, 2012).

Η κλινική εικόνα της σήψης στα νεογνά ποικίλει ανάλογα με την ηλικία κύησης και τη βαρύτητα της λοίμωξης. Γενικά συμπτώματα είναι ο πυρετός ή η υποθερμία, ο λήθαργος, η μειωμένη σίτιση καθώς και μη ειδικά συμπτώματα όπως ανουρία και οξέωση. Επειδή η πνευμονία είναι σχετικά συχνή, συμπτώματα από το αναπνευστικό μπορεί να είναι η άπνοια, η ταχύπνοια, ο γογγυσμός, η αναπέταση των ρινικών πτερυγίων και οι εισολκές ευένδοτων σημείων του θώρακα. Συμπτώματα από το καρδιαγγειακό μπορεί να είναι η κυάνωση, ο χαμηλός κορεσμός οξυγόνου, η βραδυκαρδία, οι διαταραχές της αιμάτωσης, ο μειωμένος χρόνος τριχοειδικής επαναπλήρωσης και η υπόταση. Καθίσταται σαφές ότι μικρές αλλαγές στο αναπνευστικό, στη θερμοκρασία ή ακόμα και τα σιτιστικά προβλήματα, μπορεί να είναι τα πρώτα σημεία μιας απειλητικής για τη ζωή νεογνικής λοίμωξης (Simonsen, Anderson-Berry, Delair and Davies, 2014). Γενικά, τα συμπτώματα είναι περισσότερο σοβαρά σε λοιμώξεις από Gram-αρνητικά μικρόβια και μύκητες, σε σχέση με τις λοιμώξεις από Gram-θετικά μικρόβια (Shane and Stoll, 2014).

Διαφορική διάγνωση-Διερεύνηση

Τα συμπτώματα της πρώιμης νεογνικής σήψης στα τελειόμηνα νεογνά τυπικά αρχίζουν τις πρώτες 24 ώρες ζωής. Τα περισσότερα νεογνά εμφανίζουν αναπνευστική δυσχέρεια, η οποία μπορεί να συγκαλύψει άλλες διαγνώσεις όπως συγγενή καρδιοπάθεια, σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας, πνευμοθώρακα, παροδική ταχύπνοια, συγγενή διαφραγματοκήλη, κ.α. Τα περισσότερα από αυτά, μπορούν να διαγνωστούν ή να αποκλειστούν εύκολα με ακτινογραφίες θώρακος και ανάλυση των αερίων του αρτηριακού αίματος. Η σήψη θα πρέπει να είναι πρώτη στη διαφορική διάγνωση για κάθε παρόμοια νοσολογική οντότητα. Στα νεογνά με ήπια συμπτώματα, είναι αποδεκτό να υπάρχει απλή παρακολούθηση για 6 ώρες πριν τη λήψη εργαστηριακού ελέγχου και την έναρξη της αντιβιοτικής αγωγής. Αν το νεογνό, βελτιώνεται κλινικά, η σήψη είναι λιγότερο πιθανή. Αν τα συμπτώματα επιδεινώνονται, είναι απαραίτητη η λήψη εργαστηριακού ελέγχου, προ της έναρξης της αντιβιοτικής αγωγής, συμπεριλαμβανομένης και της καλλιέργειας αίματος καθώς και εγκεφαλονωτιαίου υγρού μετά από οσφυονωτιαία παρακέντηση (Polin et al., APP, 2012).

Κατά την εξέταση νεογνού ύποπτου για σήψη, είναι απαραίτητη η ενδελεχής ανασκόπηση προγεννητικών παραγόντων κινδύνου για τον καθορισμό του θεραπευτικού πλάνου. Τέτοιοι παράγοντες κινδύνου είναι ο τεκμηριωμένος αποικισμός της μητέρας με Group B Streptococcus (GBS), η ηλικία κύησης, δηλαδή η προωρότητα, η παρατεταμένη ρήξη των μεμβρανών περισσότερο από 18 ώρες, η χοριοαμνιονίτιδα, η νεαρή ηλικία της μητέρας, η μαύρη φυλή ή η προηγούμενη γέννηση νεογνού με διεισδυτική λοίμωξη από GBS (Schuchat, A., et al., 2000). Στον πίνακα 1, παρουσιάζονται οι παράγοντες κινδύνου για σήψη. Η προωρότητα αποτελεί παράγοντα κινδύνου τόσο για πρώιμη, όσο και για όψιμη νεογνική σήψη, και αυτό οφείλεται στην ανωριμότητα του ανοσοποιητικού συστήματος, αλλά και στο γεγονός ότι μικρός αριθμός προστατευτικών ανοσοσφαιρινών της μητέρας προλαβαίνει να διέλθει μέσω του πλακούντα στο νεογνό (Camacho-Gonzalez, Spearman, Stoll, 2013).

Πίνακας 1. Παράγοντες κινδύνου για νεογνική σήψη (Camacho-Gonzalez, Spearman, Stoll, 2013).

	Παράγοντες κινδύνου
Πρώιμη νεογνική Σήψη	
	Αποικισμός μητέρας από GBS
	Χorioαμνιονίτιδα
	Πρόωρη ρήξη μεμβρανών
	Παρατεταμένη ρήξη μεμβρανών (>18 ώρες)
	Ουρολοίμωξη μητέρας
	Πολύδυμη κύηση
	Προωρότητα
Όψιμη νεογνική Σήψη	
	Διαταραχή φυσικών φραγμών (δέρμα και βλεννογόνοι)
	Παρατεταμένη παραμονή ενδοφλέβιου καθετήρα
	Επεμβατικές πράξεις (πχ. ενδοτραχειακή διασωλήνωση)
	Νεκρωτική εντεροκολίτιδα
	Παρατεταμένη χρήση αντιβιοτικών
	Χρήση αποκλειστών H ₂ υποδοχέων ή αναστολέων αντλίας πρωτονίων

Η στενή παρακολούθηση του νεογνού είναι κριτικής σημασίας ώστε να αναγνωριστούν εγκαίρως συμπτώματα και σημεία ενδεικτικά σήψης. Η παρουσία εξανθήματος, σπασμών, μηνιγγοεγκεφαλίτιδας και ηπατικής ή καρδιακής δυσλειτουργίας θέτει την υποψία ιογενούς λοίμωξης, όπως από τον ιό του απλού έρπητα (Herpes Simplex Virus-HSV), εντεροϊό, και ιό ανθρώπινων θηλωμάτων (Human Papilloma Virus- HPV). Με εξαίρεση τη μυοκαρδίτιδα που σχετίζεται συνήθως με λοιμώξεις από εντεροϊούς, η διάκριση των λοιμώξεων μεταξύ των διαφόρων ιών είναι αδύνατη με βάση μόνο την κλινική εικόνα (Verboon-Maciolek et al., 2008).

Η απομόνωση του παθογόνου μικροοργανισμού στην καλλιέργεια αίματος δεν είναι πάντα εφικτή. Η πρόκληση στη διάγνωση της νεογνικής σήψης είναι ότι και η πρώιμη και η όψιμη παρουσιάζονται με άτυπα κλινικά σημεία τα οποία κατευθύνουν και προς άλλες συνήθεις νοσολογικές οντότητες μη λοιμώδους αιτιολογίας, όπως η παροδική ταχύπνοια και η άπνοια της προωρότητας για παράδειγμα. Ενώ η κατάλληλη επιθετική αντιβιοτική θεραπεία είναι κριτικής σημασίας, η αλόγιστη χρήση των αντιβιοτικών είναι επιζήμια για τον ασθενή και αυξάνει το κόστος νοσηλείας (Polin et al., APP, 2012).

Επιπλοκές

Η νεογνική σήψη, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, είναι κύρια αιτία θνητότητας των νεογνών και μπορεί, επίσης, να έχει σοβαρές μακροπρόθεσμες επιπλοκές και κυρίως νευροαναπτυξιακές (Bakhuizen et al., 2014). Πολλαπλές μελέτες έχουν συσχετίσει την περιγεννητική λοίμωξη με εγκεφαλική βλάβη, συμπεριλαμβανομένης της περικοιλιακής λευκομαλακίας (periventricular leukomalacia-PVL), της νευροαναπτυξιακής καθυστέρησης και της εγκεφαλικής παράλυσης (Adams-Chapman, 2012).

Στα πρόωρα νεογνά, η νεογνική σήψη και η έκθεση σε ενδομήτρια λοίμωξη λόγω χοριοαμνιονίτιδας σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης βρογχοπνευμονικής δυσπλασίας. Η βρογχοπνευμονική δυσπλασία (bronchopulmonary dysplasia-BPD) είναι μια χρόνια πνευμονική νόσος της προωρότητας που διαγιγνώσκεται από την ανάγκη χορήγησης οξυγόνου σε διορθωμένη ηλικία κύησης 36 εβδομάδων σε νεογνά που γεννήθηκαν με σωματικό βάρος λιγότερο από 1500gr. Η κατάσταση αυτή, έχει επιπτώσεις στη νευρολογική ανάπτυξη του νεογνού και σχετίζεται με παρατεταμένο χρόνο νοσηλείας αρχικά και συχνές επανεισαγωγές στο νοσοκομείο τον πρώτο χρόνο ζωής με αντίστοιχα μεγάλο κόστος για τη φροντίδα, καθώς και ανάπτυξη άσθματος σε μεγαλύτερη ηλικία (Jobe and Bancalari, 2001), (Simonsen, Anderson-Berry, Delair and Davies, 2014), (Benitz, Wynn and Polin, 2015), (Haller et al., 2016). Η νεογνική σήψη φαίνεται να τριπλασιάζει τον κίνδυνο ανάπτυξης πολλαπλών επιπλοκών της προωρότητας, όπως η βρογχοπνευμονική δυσπλασία και η περικοιλιακή λευκομαλακία που αναφέρθηκαν ήδη, αλλά και της ενδοκοιλιακής αιμορραγίας (intraventricular hemorrhage-IVH), της αμφιβληστροειδοπάθειας της προωρότητας και του θανάτου (Klinger et al., 2010).

Τα τελειόμηνα νεογνά που έχουν λοίμωξη από GBS, διατρέχουν μεγάλο κίνδυνο να εμφανίσουν επιπλοκές που επηρεάζουν σημαντικά τη ζωή τους. Οι επιπτώσεις είναι κυρίως νευρολογικές, όπως σπασμοί, τύφλωση, βαρηκοΐα ή κώφωση, έκπτωση της μνήμης και νευροαναπτυξιακές διαταραχές (Blumberg et al., 1996), (Barichello et al., 2013).

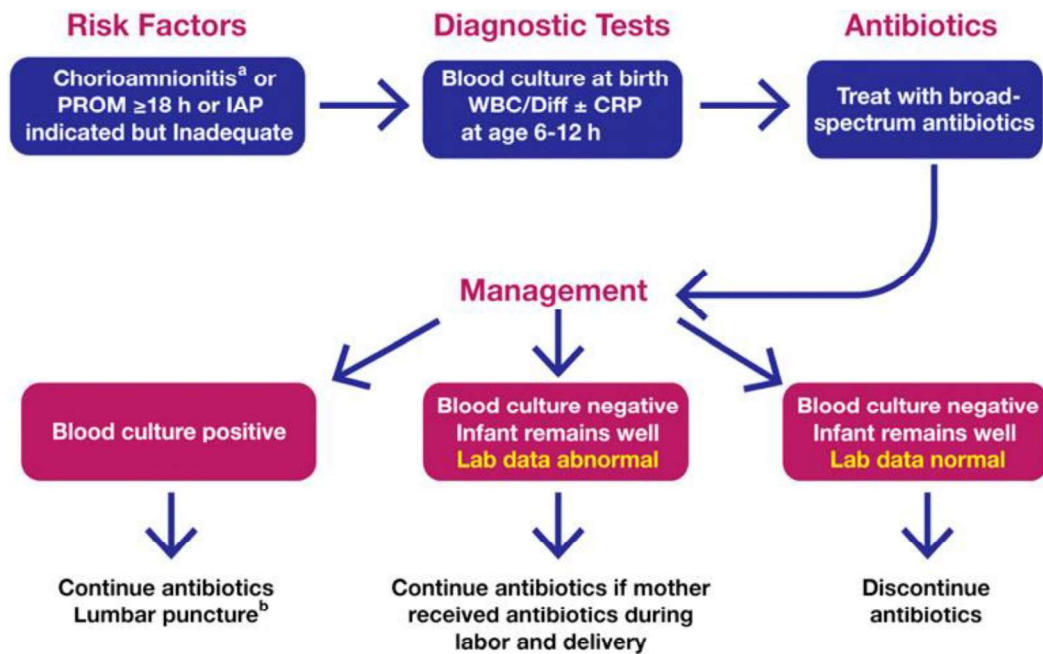
Σχετικά με τη νεογνική σήψη από ιούς, κυρίως για τον ιό του απλού έρπητα, η θεραπεία με ακυκλοβίρη έχει βελτιώσει τη νοσηρότητα των επιζώντων από διάχυτη νόσο. Η έκβαση εξαρτάται από την κλινική εικόνα, δηλαδή την εντόπιση. Παρά τη χορήγηση θεραπείας, υποτροπές μπορούν να συμβούν σε όλη τη διάρκεια της ζωής. Οι νευρολογικές επιπλοκές μετά από λοίμωξη του κεντρικού νευρικού συστήματος έχουν αυξηθεί σε ποσοστό λόγω της βελτίωσης της επιβίωσης. Στη νόσο με εντόπιση σε δέρμα, οφθαλμούς και στόμα, η

θνητότητα είναι σπάνια και οι επιπλοκές αφορούν περιπτώσεις νεογνών με πολλαπλές υποτροπές (Kimberlin, 2004), (Simonsen, Anderson-Berry, Delair and Davies, 2014).

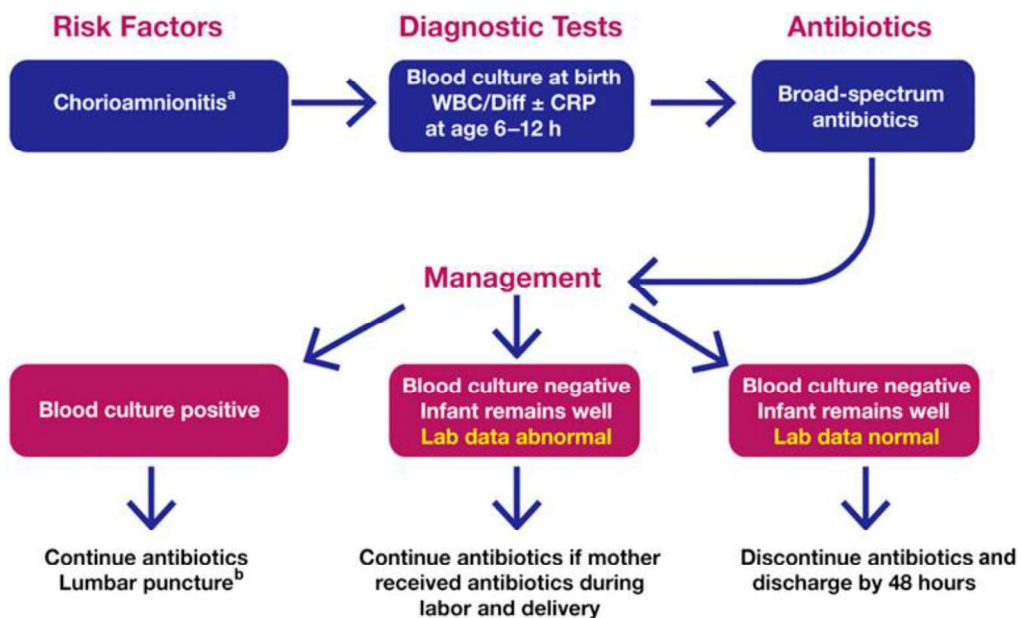
Αντιμετώπιση

Οι κλινικοί ιατροί καλούνται να αντιμετωπίσουν τις προκλήσεις που προκύπτουν στη διαχείριση των νεογνών. Αρχικά, πρέπει να αναγνωρίσουν τα νεογνά υψηλού κινδύνου για σήψη και να χορηγήσουν εγκαίρως αντιβιοτική αγωγή. Επιπλέον, πρέπει να ξεχωρίσουν τα νεογνά που βρίσκονται σε καλή κατάσταση χωρίς την ανάγκη θεραπείας και να διακόπτουν την αγωγή όταν η διάγνωση της σήψης είναι απίθανη. Χάρη στη βελτίωση της μαιευτικής παρακολούθησης και της χορήγησης αντιβιοτικής προφύλαξης στις εγκύους υψηλού κινδύνου, η πρώιμη νεογνική σήψη τείνει να είναι λιγότερο συχνή. Παρά ταύτα, παραμένει από τις πιο συνήθεις αιτίες νοσηρότητας και θνητότητας ιδίως των πρόωρων νεογνών. Η αναγνώριση των νεογνών υψηλού κινδύνου για σήψη συχνά βασίζεται σε παράγοντες που δεν είναι ούτε ειδικοί ούτε ευαίσθητοι. Επιπλέον, οι διαγνωστικές δοκιμασίες για τη νεογνική σήψη έχουν χαμηλή θετική προγνωστική αξία. Αποτέλεσμα όλων αυτών είναι οι κλινικοί ιατροί να θεραπεύουν με αντιβιοτικά για μεγάλο χρονικό διάστημα, νεογνά που φαίνονται υγιή, ακόμα και με αρνητικές καλλιέργειες. Η ενδεδειγμένη θεραπεία νεογνού με υποψία σήψης είναι ευρέος φάσματος αντιβιοτικά, όπως ο συνδυασμός της αμπικιλίνης με κάποια αμινογλυκοσίδη. Αν απομονωθεί συγκεκριμένο παθογόνο, η αντιβιοτική αγωγή πρέπει να τροποποιείται ανάλογα, εκτός κι αν είναι αναγκαία η συνέργεια του συνδυασμού των αντιβιοτικών. Πρόσφατα δεδομένα υποστηρίζουν ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της παρατεταμένης (περισσότερο από 5 ημέρες μετά τη γέννηση) χορήγησης ευρέος φάσματος αντιβιοτικών σε πρόωρα νεογνά και του κινδύνου όψιμης σήψης, νεκρωτικής εντεροκολίτιδας και θνητότητας. Για να μειωθούν αυτοί οι κίνδυνοι, η αντιμικροβιακή θεραπεία προτείνεται να διακόπτεται στις 48 ώρες στις κλινικές περιπτώσεις που η πιθανότητα σήψης είναι μικρή (Polin et al., APP, 2012).

Στις εικόνες 3-5, παρουσιάζονται οι αλγόριθμοι αντιμετώπισης που προτείνει η American Academy of Pediatrics, ανάλογα με την αξιολόγηση των παραγόντων κινδύνου για σήψη.



Εικόνα 3. Εκτίμηση ασυμπτωματικών νεογνών <37 εβδομάδων με παράγοντες κινδύνου για σήψη. (Πηγή: Management of neonates with suspected or proven early-onset bacterial sepsis. American Academy of Pediatrics, 2012)



Εικόνα 4. Εκτίμηση ασυμπτωματικών νεογνών ≥37 εβδομάδων με παράγοντες κινδύνου για σήψη. (Πηγή: Management of neonates with suspected or proven early-onset bacterial sepsis. American Academy of Pediatrics, 2012)

Επεξηγήσεις για τις εικόνες 3, 4.

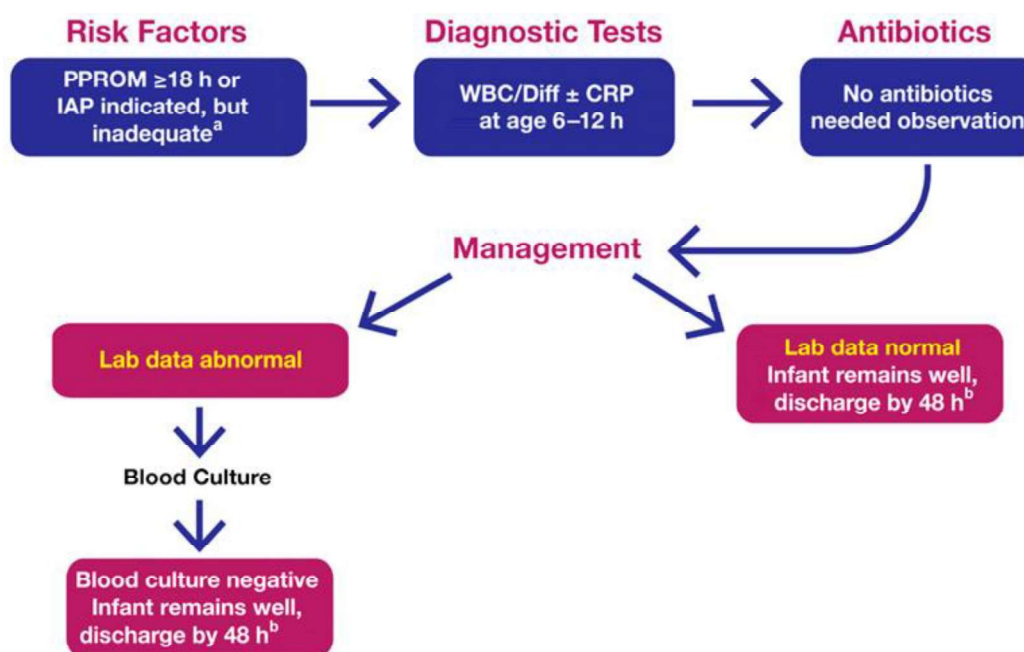
a. Η διάγνωση της χοριοαμνιονίτιδας είναι προβληματική και επηρεάζει σημαντικά τη διαχείριση των νεογνών οπότε οι παιδίατροι πρέπει να συζητούν εκτενώς με τους μαιευτήρες για να τεθεί η διάγνωση.

b. Η οσφυονωτιαία παρακέντηση ενδείκνυται σε κάθε νεογνό με θετική καλλιέργεια αίματος ή υψηλή υποψία σήψης βάσει των κλινικών σημείων, της ανταπόκρισης στη θεραπεία και των εργαστηριακών ευρημάτων.

IAP: intrapartum antimicrobial prophylaxis

WBC: white blood cell

Diff: differential white blood cell count.



Εικόνα 5. Εκτίμηση ασυμπτωματικών νεογνών ≥37 εβδομάδων με παράγοντες κινδύνου για σήψη, εκτός από χοριοαμνιονίτιδα. (Πηγή: Management of neonates with suspected or proven early-onset bacterial sepsis. American Academy of Pediatrics, 2012)

a. Inadequate treatment: Χορήγηση αντιβιοτικού εκτός από πενικιλίνη, αμπικιλίνη, κεφαζολίνη ή χορήγηση σε διάστημα μικρότερο των 4 ωρών προ του τοκετού.

1.2. Μηνιγγίτιδα

Ορισμός

Η μηνιγγίτιδα είναι λοίμωξη του κεντρικού νευρικού συστήματος. Πιο συγκεκριμένα, πρόκειται για οξεία φλεγμονή των μηνίγγων, του υπαραχνοειδούς χώρου και του εγκεφαλικού αγγειακού δικτύου λόγω λοίμωξης από παθογόνο μικροοργανισμό. Κατηγοριοποιείται σε πρώιμη και όψιμη με βάση την εμφάνιση συμπτωμάτων λοίμωξης και απομόνωσης παθογόνου μικροοργανισμού στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό τις πρώτες 72 ώρες ζωής ή αργότερα, αντίστοιχα (Ku, Boggess and Cohen-Wolkowicz, 2015).

Επιδημιολογία

Η βακτηριακή μηνιγγίτιδα είναι περισσότερο συχνή κατά τον πρώτο μήνα ζωής παρά σε οποιαδήποτε άλλη ηλικία. Παρά την πρόοδο στην εντατική φροντίδα των νεογνών, η νεογνική μηνιγγίτιδα παραμένει μια σοβαρότατη νοσολογική οντότητα με σημαντική νοσηρότητα και θνητότητα (Thigpen et al., 2011). Παρά την ανάπτυξη αποτελεσματικών εμβολίων, χρήσιμων εργαλείων για γρήγορη αναγνώριση των παθογόνων μικροοργανισμών και κατάλληλων αντιβιοτικών φαρμάκων, η νεογνική μηνιγγίτιδα εξακολουθεί να ευθύνεται για μεγάλο αριθμό νευρολογικών διαταραχών παγκοσμίως. Η επίπτωση της νόσου διαφέρει ανάλογα με τη γεωγραφική περιοχή. Στις αναπτυσσόμενες χώρες η επίπτωση της νόσου είναι πολύ μεγαλύτερη συγκριτικά με τις αναπτυγμένες χώρες. Στις αναπτυσσόμενες χώρες, η επίπτωση της νεογνικής μηνιγγίτιδας παραμένει υψηλή κι αυτό οφείλεται στην αύξηση της επιβίωσης των πρόωρων νεογνών και στην περιορισμένη πρόσβαση στις παροχές υγείας. Για τις αναπτυγμένες χώρες η επίπτωση της νόσου υπολογίζεται 0,3 στις 1000 γεννήσεις ζώντων. Ωστόσο, είναι δύσκολο να εκτιμηθεί με ακρίβεια η επίπτωση της νόσου παγκοσμίως λόγω των περιορισμών που αναφέρθηκαν. Ποσοστό έως 30-50% των νεογνών που νοσηλεύονται σε μονάδα εντατικής θεραπείας και διερευνώνται για σήψη, δεν υπόκεινται σε οσφυονωτιαία παρακέντηση. Ακόμη κι όταν διενεργείται παρακέντηση, συχνά γίνεται μετά την έναρξη αντιβιοτικής αγωγής, με αποτέλεσμα να αλλοιώνεται το αποτέλεσμα με ψευδώς αρνητικά ευρήματα (Ku, Boggess and Cohen-Wolkowicz, 2015).

Αιτιολογία

Η μηνιγγίτιδα στα νεογνά διαφέρει από τη νόσο σε μεγαλύτερα βρέφη και παιδιά σε πολλά σημεία. Σχετίζεται με παθογόνα κυρίως από τον ουρογεννητικό σωλήνα της μητέρας. Οι τύποι και η κατανομή των μικροοργανισμών που κυρίως παρατηρούνται στη νεογνική μηνιγγίτιδα είναι παρόμοια με τη νεογνική σήψη.

Στην πρώιμη νεογνική μηνιγγίτιδα, παρά την εφαρμογή αντιβιοτικής προφύλαξης στις μητέρες, ο στρεπτόκοκκος ομάδας B (GBS) παραμένει η κύρια αιτία και αφορά περισσότερο από 40% των περιπτώσεων. Δεύτερο πιο συχνό, στο 30% των περιπτώσεων, είναι το *Escherichia Coli* (*E.coli*), με αυξητική τάση κυρίως σε νεογνά πολύ χαμηλού βάρους γέννησης, δηλαδή λιγότερο από 1500γρ. (Stoll et al., 2016). Η *Listeria monocytogenes* είναι το τρίτο πιο συχνό αίτιο κι είναι το μοναδικό παθογόνο που μπορεί να μεταδοθεί διαπλακουντιακά, σε αντίθεση με τα άλλα που μπορούν να μεταδοθούν από το ουρογεννητικό σύστημα της μητέρας (Heath, Yusoff and Baker, 2003). Η όψιμη νεογνική μηνιγγίτιδα αφορά κυρίως πρόωρα νεογνά και η επίπτωση της αυξάνεται όσο μικρότερη η ηλικία κύησης και το βάρος γέννησης. Οι coagulase-negative σταφυλόκοκκοι κυρίως, αλλά και ο *Staphylococcus aureus* φαίνεται να είναι τα πιο συχνά παθογόνα. Σε μικρό ποσοστό, απαντώνται Gram-αρνητικοί μικροοργανισμοί με συχνότερους το *E. coli* και την *Klebsiella*. Ο GBS είναι λιγότερος συχνός στην όψιμη νεογνική μηνιγγίτιδα (Stoll, Hansen, Fanaroff et al., 2002) Οι ιοί που εμπλέκονται στη νεογνική μηνιγγίτιδα αναφέρθηκαν προηγουμένως για τη νεογνική σήψη.

Κλινική εικόνα-Διερεύνηση

Η κλινική εικόνα τυπικά δε διαφέρει από αυτή της νεογνικής σήψης χωρίς μηνιγγίτιδα, οπότε χρειάζεται υψηλός δείκτης υποψίας. Τα πιο συχνά αναφερόμενα κλινικά σημεία είναι μη ειδικά και αφορούν διαταραχές στη θερμοκρασία, ευερεθιστότητα ή λήθαργο, μειωμένη σίτιση ή εμέτους. Σημεία μηνιγγικού ερεθισμού όπως σπασμοί, προέχουσα πρόσθια πηγή και οπισθότονος είναι όψιμα ευρήματα και σχετίζονται με κακή πρόγνωση (Heath and Okike, 2010), (Polin et al., AAP, 2012). Λόγω της χορήγησης αντιβιοτικής προφύλαξης στη μητέρα για GBS, υπήρξαν ανησυχίες πως επηρεάζεται η εμφάνιση συμπτωμάτων και καθυστερεί ή συγκαλύπτεται η διάγνωση νεογνικών λοιμώξεων. Σύμφωνα όμως με το CDC, το 90% των συμπτωμάτων εμφανίζεται τις πρώτες 24 ώρες ζωής και δεν υπάρχει διαφορά μεταξύ των

νεογνών που η μητέρα είχε λάβει προφύλαξη με τα νεογνά που δεν είχε λάβει (Verani, McGee and Schrag, CDC, 2010).

Επιπλέον, η έλλειψη ειδικών κλινικών ευρημάτων καθιστά τη διάγνωση πιο δύσκολη στα νεογνά σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα παιδιά και τους ενήλικες (Thigpen et al., 2011). Η διάγνωση της νεογνικής μηνιγγίτιδας απαιτεί λήψη δείγματος εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ENY) με οσφυονωτιαία παρακέντηση. Οι φυσιολογικές τιμές των χημικών και κυτταρικών παραμέτρων του ENY διαφέρουν ανάλογα με την ηλικία. Αξιολογούνται ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων, των ουδετεροφύλων, η ποσότητα πρωτεΐνης και γλυκόζης. Στη βακτηριακή μηνιγγίτιδα στα νεογνά συνήθως παρατηρείται πλειοκυττάρωση με τον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων να ξεπερνά τα $1000/\text{mm}^3$. Τα κύτταρα που επικρατούν τη στιγμή της διάγνωσης είναι τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα, αλλά αυτό σταδιακά αλλάζει κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Αυξημένη ποσότητα πρωτεΐνης και υπογλυκορραχία (χαμηλή τιμή γλυκόζης στο ENY) παρατηρούνται επίσης συχνά. Η απομόνωση παθογόνου μικροοργανισμού στην καλλιέργεια του ENY παραμένει η εξέταση εκλογής για τη διάγνωση της νεογνικής μηνιγγίτιδας (gold standard). Η χρώση κατά Gram μπορεί επίσης να δώσει πρώιμα στοιχεία για το είδος του παθογόνου μικροοργανισμού (Pong and Bradley, 1999).

Επιπλοκές-Πρόγνωση

Στις αναπτυγμένες χώρες, η θνητότητα της νεογνικής μηνιγγίτιδας κυμαίνεται από 10-15%. Σε προοπτική μελέτη, φάνηκε ότι η θνητότητα στα πρόωρα νεογνά είναι τουλάχιστον διπλάσια συγκριτικά με τα τελειόμηνα. Το 50% των νεογνών με ιστορικό μηνιγγίτιδας μακροπρόθεσμα αναπτύσσει νευρολογικές επιπλοκές και το 25% έχει σοβαρή αναπηρία (Gaschignard et al., 2011). Παρά την πρόοδο της ιατρικής και τη μείωση της θνητότητας τα τελευταία χρόνια, η ανάπτυξη επιπλοκών μετά από νεογνική μηνιγγίτιδα δε φαίνεται να βελτιώνεται (Galiza and Heath, 2009). Στις αναπτυσσόμενες χώρες, η επίπτωση και η θνητότητα είναι πολύ μεγαλύτερη και ενδεχομένως να υποεκτιμάται λόγω των περιορισμένων πηγών, της δυσκολίας διαγνωστικών ελέγχων, αλλά και της πρόσβασης στην παροχή υγείας (Furyk, Swann and Molyneux, 2011).

Οι ασθενείς που επιβιώνουν έχουν υψηλό κίνδυνο να παρουσιάσουν νευρολογικές επιπλοκές δια βίου ως αποτέλεσμα της προσβολής του αναπτυσσόμενου ακόμα εγκεφάλου τους (De Louvois, Halket and Harvey, 2005). Νεογνά που θεραπεύονται για βακτηριακή μηνιγγίτιδα θα

πρέπει να παρακολουθούνται στενά για την εμφάνιση κάποιας επιπλοκής. Στις σοβαρές οξείες επιπλοκές συμπεριλαμβάνονται το εγκεφαλικό οίδημα, η αυξημένη ενδοκράνια πίεση, η κοιλίτιδα, η εγκεφαλίτιδα, ο υδροκέφαλος, το εγκεφαλικό απόστημα, το έμφρακτο, η θρόμβωση, η υπαραχνοειδής αιμορραγία και το εμπύημα. Η ανάπτυξη τέτοιων επιπλοκών μπορεί να απαιτεί περαιτέρω αντιμετώπιση, άμεση νευροχειρουργική εκτίμηση, ή παράταση της αντιμικροβιακής θεραπείας. Στις χρόνιες επιπλοκές συμπεριλαμβάνονται ο υδροκέφαλος, η εγκεφαλομαλακία, η πορεγκεφαλία, καθώς και η ατροφία του εγκεφαλικού φλοιού και της λευκής ουσίας. Οι κλινικές εκδηλώσεις αυτών είναι η καθυστέρηση της ανάπτυξης, οι σπασμοί, η εγκεφαλική παράλυση, η βαρηκοΐα, η τύφλωση και οι μαθησιακές δυσκολίες (Lepage and Dan, 2013).

Αντιμετώπιση

Για να βελτιωθεί η πρόγνωση, είναι αναγκαίες η έγκαιρη διάγνωση και η κατάλληλη θεραπεία ώστε να προληφθεί η θνητότητα και οι σοβαρές νευρολογικές επιπλοκές που οδηγούν σε μακροπρόθεσμες νευροαναπτυξιακές διαταραχές. Απαιτούνται ευρέος φάσματος αντιβιοτικά που διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, τα οποία τροποποιούνται με βάση το αντιβιογράμμα που θα προκύψει. Η διάρκεια της θεραπείας διαφέρει ανάλογα με το είδος του παθογόνου, την ανταπόκριση και την εμφάνιση επιπλοκών (Weisfelt, de Gans and van de Beek, 2007).

1.3. Ουρολοίμωξη

Ορισμός-Γενικά

Η ουρολοίμωξη είναι συνήθης στα νεογνά και από τις συχνότερες παιδιατρικές λοιμώξεις. Μπορεί να αφορά φλεγμονή του κατώτερου ουροποιητικού, δηλαδή κυστίτιδα ή του ανώτερου, δηλαδή πυελονεφρίτιδα. Αποτελεί πεδίο επιστημονικής ασυμφωνίας ως προς τη διάγνωση και την αντιμετώπιση. Στα νεογνά, μπορεί να σχετίζεται με βακτηριαμία ή υποκείμενη νεφρική ανωμαλία, λειτουργική ή ανατομική. Έγκαιρη διάγνωση και άμεση έναρξη θεραπείας είναι εξαιρετικά σημαντική για την πρόληψη των επιπλοκών όπως η χρόνια νεφρική βλάβη και η δημιουργία νεφρικών ουλών μακροπρόθεσμα.

Επιδημιολογία-Παράγοντες κινδύνου

Η ουρολοίμωξη τις 3 πρώτες ημέρες ζωής είναι εξαιρετικά απίθανο να συμβεί. Ο υπολογισμός της πραγματικής επίπτωσης τις πρώτες ημέρες ζωής είναι δύσκολο να γίνει, καθώς οι περισσότερες μελέτες αφορούν μεγαλύτερες ηλικίες (Shaikh, Morone, Bost and Farrell, 2008). Υπάρχουν έρευνες που υπολογίζουν την επίπτωση της νόσου σε νεογνά με εμπύρετο μεταξύ 10,7-15,4%. Υπάρχει ξεκάθαρη υπεροχή των αρρένων νεογνών στις περιπτώσεις ουρολοίμωξης (Bonadio and Maida, 2014).

Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της American Academy of Pediatrics για βρέφη και παιδιά ηλικίας 2-24 μηνών, υψηλού κινδύνου για ουρολοίμωξη θεωρούνται τα θήλαα βρέφη λευκής φυλής, με εμπύρετο (τουλάχιστον 39°C) διάρκειας τουλάχιστον 2 ημερών, χωρίς προφανή εστία και τα άρρενα βρέφη, που δεν ανήκουν στη μαύρη φυλή, με εμπύρετο διάρκειας τουλάχιστον 24 ωρών, χωρίς προφανή εστία (Subcommittee on Urinary Tract Infection, AAP, 2011).

Σε μετα-ανάλυση του 2008, υποστηρίζεται ότι από όσα νεογνά και βρέφη έως 3 μηνών εμφανίζουν πυρετό, τα αγόρια που δεν έχουν υποβληθεί σε περιτομή είναι πιθανότερο να έχουν ουρολοίμωξη σε σχέση με όσα έχουν περιτομή και με τα κορίτσια ίδιας ηλικίας (Shaikh, Morone, Bost and Farrell, 2008). Οι υποκείμενες νεφρικές ανωμαλίες αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης ουρολοίμωξης σε νεογνά. Το 20% των νεογνών αυτών έχουν κυστεοουρητηρική παλινδρόμηση (ΚΟΠ). Ωστόσο, δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές ως προς την ΚΟΠ,

ανάλογα με το φύλο, το βάρος γέννησης και την ηλικία κύησης (Cleper, Krause, Eisenstein and Davidovits, 2004).

Αιτιολογία

Το πιο κοινό αίτιο ουρολοίμωξης σε νεογνά, όπως και στις υπόλοιπες ηλικιακές ομάδες, είναι το *Escherichia coli* (Didier et al., 2012). Τα νεογνά με κυστεοουρητηρική παλινδρόμηση είναι πιο πιθανό να εμφανίζουν ουρολοίμωξη οφειλόμενη σε άλλους μικροοργανισμούς, κυρίως Gram-αρνητικούς όπως *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* και *Morganella morganii* (Zorc et al., AAP 2015), (Kanellopoulos et al., 2006). Ουρολοίμωξη σε νεογνά οφειλόμενη σε Gram-θετικούς μικροοργανισμούς απαντάται λιγότερο συχνά και αφορά περιπτώσεις από *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, Group B streptococcus και *Streptococcus pneumonia* (Morley et al., 2012), (Bitsori et al., 2005), (Hassoun et al., 2014). Coagulase-negative σταφυλόκοκκοι ενοχοποιούνται για ουρολοιμώξεις σε πρόωρα νεογνά σε μικρό ποσοστό, με συνύπαρξη βακτηριαιμίας σε κάποιες περιπτώσεις (Downey et al., 2013). Τέλος, ουρολοίμωξη από *Candida* και *Enterobacter cloacae* συμβαίνει πιο συχνά σε εξαιρετικά πρόωρα νεογνά (Phillips and Karlowicz, 1997).

Κλινική εικόνα

Τα τελειόμηνα νεογνά συχνά παρουσιάζουν εμπύρετο, μειωμένη σίτιση, έμετο, διάρροια έως και λήθαργο. Σύμπτωμα αποτελεί και ο ίκτερος, κυρίως όταν παρατείνεται μετά τις 8 ημέρες ζωής και το ενδεχόμενο ουρολοίμωξης, πρέπει να λαμβάνεται πάντοτε υπόψη. Οι κλινικές εκδηλώσεις στα πρόωρα νεογνά είναι παρόμοιες. Επιπροσθέτως, τα περισσότερα πρόωρα νεογνά με ουρολοίμωξη παρουσιάζουν συμπτώματα από το αναπνευστικό, όπως άπνοια, υποξία ή ταχύπνοια. Ο υψηλός πυρετός στα νεογνά είναι πιο πιθανό να σχετίζεται με σοβαρή βακτηριακή λοίμωξη όπως η ουρολοίμωξη παρά με ιογενή λοίμωξη (Arshad and Seed, 2015).

Διαφορική διάγνωση-Διερεύνηση

Η υποψία συνυπάρχουσας βακτηριαιμίας πρέπει να λαμβάνεται υπόψη στη διαφορική διάγνωση. Σε κάθε νεογνό που δεν έχει προφανή εστία εμπυρέτου, δείγμα ούρων πρέπει να

λαμβάνεται πριν την έναρξη αντιβιοτικής αγωγής. Η γενική ούρων, ιδιαίτερα στα νεογνά, μπορεί να μην παρέχει σημαντικές πληροφορίες για να τεθεί με ασφάλεια η διάγνωση. Για την έγκυρη διάγνωση, απαιτούνται αξιόπιστα δείγματα ούρων για καλλιέργεια. Ο ενδεδειγμένος τρόπος λήψης για τα νεογνά είναι είτε υπερηβική παρακέντηση είτε καθετηριασμός της κύστης και αξιολογείται μόνο η ανάπτυξη ενός παθογόνου και σε ποσότητα μεγαλύτερη των 50.000 CFU/ml. Η διάγνωση δεν μπορεί να στοιχειοθετηθεί αξιόπιστα με βάση τα αποτελέσματα από δείγμα ούρων που λήφθηκε με σακουλάκι που τοποθετείται εξωτερικά. Εκτός από την ανάπτυξη παθογόνου στην καλλιέργεια, αξιολογείται και η γενική εξέταση ούρων. Τα βασικά στοιχεία που συνηγορούν υπέρ της διάγνωσης της ουρολοίμωξης είναι η παρουσία πυοσφαιρίων (>10 κατά οπτικό πεδίο) ή και μικροοργανισμών. Η παρουσία νιτρωδών στα ούρα δεν είναι ευαίσθητος δείκτης στα παιδιά, ιδίως σε νεογνά που η ουροδόχος κύστη τους αδειάζει πολύ συχνά. Αξιολογείται κυρίως το θετικό αποτέλεσμα, που είναι πιο ειδικό, ενώ το αρνητικό αποτέλεσμα δεν αποκλείει την ουρολοίμωξη. Τέλος, αξιολογείται η ανίχνευση εστεράσης στα ούρα σε συνδυασμό με την ύπαρξη βακτηριουρίας. Πρέπει να χρησιμοποιείται με προσοχή λόγω της χαμηλής ειδικότητας και του μεγάλου αριθμού ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων (Subcommittee on Urinary Tract Infection, AAP, 2011). Συμπερασματικά, καθίσταται σαφές πως η διάγνωση δεν είναι πάντα εύκολη και γρήγορη, λόγω της απουσίας ειδικών συμπτωμάτων και πρακτικών δυσκολιών στη συλλογή κατάλληλων δειγμάτων ούρων για καλλιέργεια.

Επιπλοκές

Είναι δύσκολο να καθοριστεί η πρόγνωση της ουρολοίμωξης στη νεογνική ηλικία λόγω των υποκείμενων ανωμαλιών του ουροποιητικού. Κυστεοουρητηρική παλινδρόμηση βαθμού III ή περισσότερο, σχετίζεται σημαντικά με αυξημένο κίνδυνο βλάβης του νεφρικού φλοιού. Απαιτείται σπινθηρογράφημα (dimercaptosuccinic acid scan-DMSA) για να αναγνωριστούν νεφρικές ουλές (Goldman et al., 2000). Σε μελέτη που περιλαμβάνει νεογνά με ουρολοίμωξη, το 47% είχε παθολογικό υπερηχογράφημα νεφρών (Bonadio and Maida, 2014). Σε πιο πρόσφατη έρευνα που περιελάμβανε νεογνά με ουρολοίμωξη στα οποία πραγματοποιήθηκε υπερηχογράφημα νεφρών, ουρητήρων και κύστης, καθώς και DMSA εντός 72 ωρών από τη διάγνωση, φάνηκε ότι στο 71% με παθολογικό υπερηχογράφημα (ΚΟΠ βαθμού III ή περισσότερο), το DMSA ήταν φυσιολογικό. Παθολογικά ευρήματα που διαπιστώθηκαν στο 7% των ασθενών στο αρχικό DMSA, επιβεβαιώθηκαν στον επαναληπτικό έλεγχο 6 μήνες μετά, υποδηλώνοντας μόνιμη νεφρική βλάβη (Siomou et al., AAP, 2009).

Αντιμετώπιση

Για νεογνά με υποψία ουρολοίμωξης, συστήνεται η έναρξη εμπειρικής αντιβιοτικής αγωγής παρεντερικά σε αναμονή των αποτελεσμάτων των καλλιιεργειών. Η αντιβιοτική κάλυψη πρέπει να έχει ευρύ φάσμα έναντι των πιο πιθανών παθογόνων και στη συνέχεια να τροποποιείται με βάση το αντιβιογράμμα. Ωστόσο, η αυξανόμενη αντοχή στα αντιβιοτικά μπορεί να καθυστερεί την έναρξη της κατάλληλης θεραπείας.

Συστήνεται, επίσης, η διενέργεια υπερηχογραφήματος νεφρών, ουρητήρων και κύστης για την ανάδειξη ανατομικών ανωμαλιών. Σε παιδιά ηλικίας 2-24 μηνών, η κυστεοουρηθρογραφία δεν αποτελεί εξέταση ρουτίνας μετά από ένα επεισόδιο ουρολοίμωξης και συστήνεται στις περιπτώσεις υποτροπών, μεγάλου βαθμού ΚΟΠ, υδρονέφρωσης, αποφρακτικής ουροπάθειας ή άλλων ανωμαλιών (Subcommittee on Urinary Tract Infection, AAP, 2011). Ωστόσο, δεν υπάρχει ομοφωνία για την αναγκαιότητα διενέργειας κυστεοουρηθρογραφίας (ΚΟΓ) σε νεογνά. Μελέτη του 2020, υπολόγισε ευαισθησία του υπερηχογραφήματος νεφρών-ουρητήρων-κύστης σε νεογνά μόλις 60% στο να αναγνωρίζει την κυστεοουρητηρική παλινδρόμηση (Walawender et al., 2020). Άλλη πρόσφατη μελέτη, υποστηρίζει ότι η διενέργεια ΚΟΓ σε νεογνά με ουρολοίμωξη που νοσηλεύονται σε μονάδα εντατικής θεραπείας έχει μικρή αξία και θα πρέπει να πραγματοποιείται μόνο σε νεογνά με σοβαρές ή εμμένουσες ανωμαλίες στο υπερηχογράφημα νεφρών-ουρητήρων-κύστης (Flannery et al., 2019). Η αναγκαιότητα της χημειοπροφύλαξης παραμένει αμφιλεγόμενη (Arshad and Seed, 2015), (Bonadio and Maida, 2014).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΙΔΙΑΙΤΕΡΟΤΗΤΕΣ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΝΕΟΓΝΩΝ

2.1. Ανοσοποιητικό σύστημα νεογνών γενικά

Τα νεογνά, πρόωρα ή τελειόμηννα, διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο για λοιμώξεις σε σύγκριση με άλλες ηλικιακές ομάδες λόγω του ανώριμου ανοσοποιητικού συστήματος. Μετά τη γέννηση, εγκαταλείπουν το προστατευτικό ενδομήτριο περιβάλλον και εκτίθενται σε πολλαπλούς παράγοντες, τους οποίους αναλαμβάνουν να καταπολεμήσουν οι μηχανισμοί της φυσικής ανοσίας αρχικά. Ο μεγάλος όγκος παθογόνων που εκτίθεται το δέρμα, το πεπτικό και το αναπνευστικό, σε συνδυασμό με την ανεπάρκεια του ανοσοποιητικού συστήματος, καθιστούν τα νεογνά ιδιαίτερα ευπαθή σε λοιμώξεις (Tsitsami and Germenis, 2010).

2.2. Φυσική ανοσία νεογνών

Αναφορικά με την έμφυτη ανοσία, ο φυσικός φραγμός του δέρματος και των βλεννογόνων, δεν έχει ακόμα τη βέλτιστη αποτελεσματικότητα στο να εμποδίζει τους παθογόνους μικροοργανισμούς να εισβάλλουν στον οργανισμό. Το νεογέννητο καλύπτεται από παχύ σμήγμα πλούσιο σε προστατευτικούς παράγοντες. Παρ'όλα αυτά, το δέρμα αποικίζεται από ποικίλα μικρόβια, κυρίως σταφυλόκκους, και επάγεται φλεγμονώδης αντίδραση που δυνητικά μπορεί να ξεπεράσει τις δυνατότητες αυτού του ανώριμου ακόμα φραγμού. Αναφορικά με τα πρόωρα νεογνά, η κεράτινη στιβάδα είναι λεπτότερη και απουσιάζουν βασικά προστατευτικά συστατικά που παράγονται κατά το τέλος του τρίτου τριμήνου της κύησης, όπως λιπίδια και πρωτεΐνες και πεπτίδια με αντιμικροβιακή δράση. Αυτά τα χαρακτηριστικά, σε συνδυασμό με τις συχνές επεμβατικές πράξεις, όπως φλεβοκεντήσεις, στα νεογνά που νοσηλεύονται, καθιστούν αυτή την ομάδα ασθενών, ιδιαίτερα ευάλωτη σε λοιμώξεις. Αντίστοιχες ελλείψεις προστατευτικών παραγόντων παρατηρούνται και στους βλεννογόνους του αναπνευστικού και του γαστρεντερικού συστήματος (Collins, Weitkamp and Wynn, 2018).

2.3. Εντερική ανοσία και μητρικός θηλασμός

Πολλοί είναι οι παράγοντες που επηρεάζουν τη λειτουργία του εντερικού φραγμού, συμπεριλαμβανομένου και του γάλακτος. Μετά τη γέννηση, η αποβολή του αμνιακού υγρού με το οποίο είναι γεμάτο το γαστρεντερικό σύστημα, αφήνει χώρο στα παθογόνα του περιβάλλοντος να εισέλθουν. Η διαδικασία ρύθμισης του αποικισμού του εντέρου είναι πολύπλοκη. Ο κίνδυνος λοίμωξης αυξάνεται δευτεροπαθώς, λόγω μειωμένου αριθμού λεμφοκυττάρων στις λάχνες, μειωμένης εκκριτικής ανοσοσφαιρίνης A (immunoglobulin A – IgA) και μειωμένης παραγωγής βλέννης.

Το μικροβίωμα του εντέρου είναι βασικός παράγοντας στη λειτουργία του ως φραγμός σε παθογόνους μικροοργανισμούς. Σημαντικές διαφορές στη σύσταση του μικροβιώματος έχουν παρατηρηθεί ανάλογα με το είδος το τοκετού, το μητρικό θηλασμό έναντι του γάλακτος σε formula και τη λήψη αντιβιοτικών κατά τη νεογνική περίοδο. Στα πρόωρα νεογνά, σε αντίθεση με τα τελειόμηνα νεογνά, το μικροβίωμα αποικίζεται καθυστερημένα από *Bifidobacterium* και επικρατούν ο *Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcaceae* και άλλα βακτήρια του γένους *Lactobacillus* και *Weissella*, γεγονός που εν μέρει εξηγείται από την ανωριμότητα ανάπτυξης απαραίτητων ενζύμων που ρυθμίζουν τον αποικισμό των βακτηρίων (Collado et al., 2015). Η εμπειρική αντιβιοτική θεραπεία τις πρώτες ημέρες ζωής των νεογνών σχετίζεται με χαμηλότερη ποικιλομορφία του μικροβιώματος και η παρατεταμένη χορήγηση σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο σήψης, νεκρωτικής εντεροκολίτιδας και θανάτου, ειδικά στα πρόωρα νεογνά εξαιρετικά χαμηλού βάρους γέννησης (Cotten et al., 2009).

Τα πρόωρα νεογνά που καθυστερούν να σιτιστούν πλήρως, και όσα νεογνά στερούνται το μητρικό γάλα, διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο λοίμωξης. Το μητρικό γάλα παρέχει στο νεογνό απαραίτητα δραστικά μόρια για την άμυνα του εντερικού βλεννογόνου. Οι ολιγοσακχαρίτες του γάλακτος που πέπτονται σε λιπαρά οξέα, προωθούν την ανάπτυξη προβιοτικών και διεγείρουν τα πλασματοκύτταρα να παράξουν εκκριτική IgA και διάφορες αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες. Η σημασία του γάλακτος για τον εντερικό φραγμό των νεογνών πιστοποιείται από τη μείωση της σήψης, της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας και του θανάτου σε πρόωρα νεογνά που σιτίζονται με μητρικό γάλα σε σύγκριση με όσα σιτίζονται με formula (Patel et al., 2013).

2.4. Αντίδραση οξείας φάσης

Αν οι παθογόνοι μικροοργανισμοί προσπεράσουν τους αρχικούς προστατευτικούς φραγμούς, εισέρχονται στους ιστούς και δυνητικά μπορούν να εισέλθουν και στην κυκλοφορία, με αποτέλεσμα τη διασπορά τους, τη συστηματική φλεγμονώδη απάντηση και τη σήψη. Η φλεγμονώδης απάντηση διεγείρεται από μόρια της έμφυτης ανοσίας, όπως κυτταροκίνες, χημειοκίνες, πρωτεΐνες οξείας φάσης και το σύστημα του συμπληρώματος. Ο συνδυασμός αναποτελεσματικής παραγωγής και συντονισμού των μορίων που αναφέρθηκαν, έχει σαν αποτέλεσμα να μην ενεργοποιείται κατάλληλα το σύστημα της κυτταρικής ανοσίας ώστε να καταστρέψει τους παθογόνους μικροοργανισμούς κι αυτό αποτελεί βασική αιτία ευπάθειας των νεογνών σε λοιμώξεις, ιδιαίτερα των προώρων (Collins, Weitkamp and Wynn, 2018).

2.5. Κύτταρα φυσικής ανοσίας

Αναφορικά με την κυτταρική ανοσία των νεογνών, τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα παίζουν σημαντικό ρόλο στον περιορισμό λοιμώξεων. Οι φυσιολογικές τιμές τους έχουν μεγάλο εύρος στα νεογνά σε σύγκριση με τους ενήλικες (Schmutz, Henry, Jopling and Christensen, 2008). Τα νεογνά έχουν περιορισμένη ικανότητα παραγωγής ουδετεροφίλων, γεγονός που αυξάνει τον κίνδυνο ουδετεροπενίας σε σοβαρές λοιμώξεις. Η θνητότητα φαίνεται να είναι μεγαλύτερη σε ουδετεροπενικά νεογνά με σήψη. Ωστόσο, η χορήγηση αυξητικών παραγόντων των ουδετεροφίλων (G-CSF or GM-CSF) ως προφύλαξη ή ως θεραπεία δε φαίνεται να είναι αποτελεσματική (Pammi and Brocklehurst, 2011). Εκτός από μειωμένο απόθεμα ουδετεροφίλων, ειδικά στα πρόωρα νεογνά, δυσλειτουργία και των μηχανισμών δράσης τους, όπως η χημειοταξία, η προσκόλληση και κύλιση στο ενδοθήλιο των αγγείων, διαπίδυση και η φαγοκυττάρωση, επιβαρύνουν περισσότερο την άμυνα του οργανισμού και αυξάνουν τον κίνδυνο λοίμωξης (Raymond et al., 2017).

Τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, όπως μονοκύτταρα, μακροφάγα και δενδριτικά κύτταρα, συντονίζουν τη συνεργασία έμφυτης και επίκτητης ανοσίας. Τα νεογνά παρουσιάζουν ανεπαρκή ρύθμιση των βοηθητικών μορίων στην παρουσίαση του αντιγόνου και την ενεργοποίηση των T και B λεμφοκυττάρων (Levy, 2007). Τα κύτταρα φυσικοί φονείς (Natural killer cells - NK) παίζουν σημαντικό ρόλο στην άμυνα του οργανισμού, ιδίως ενάντια ιών. Τα κύτταρα αυτά στα νεογνά είναι ανώριμα και σε δομή και σε λειτουργία, με σημαντική μείωση της παραγωγής IFN γ και TNF α με αποτέλεσμα μειωμένη κυτταροτοξική δράση (Li et al., 2013).

2.6. Επίκτητη ανοσία

Σχετικά με την επίκτητη ανοσία, που αφορά T- και B-λεμφοκύτταρα και ανοσοσφαιρίνες, παρατηρούνται διαφορές και ανωριμότητα του συστήματος των νεογνών σε διάφορα επίπεδα συγκριτικά με τους ενήλικες. Κατά την εμβρυική ζωή, υπερισχύει η Th-2 απόκριση σε βάρος της Th1. Ως εκ τούτου, μετά τη γέννηση τα νεογνά είναι ευαίσθητα σε λοιμώξεις κυρίως από ενδοκυττάρια βακτήρια για τα οποία υπεύθυνη είναι η Th1 ανοσία. Από την άλλη, η επικράτηση της Th2 ανοσίας φαίνεται να είναι υπεύθυνη για την αλλεργική διάθεση που παρατηρείται τα πρώτα χρόνια ζωής (Tsitsami and Germenis, 2010).

Λόγω της περιορισμένης έκθεσης των υγιών νεογνών σε ξένα αντιγόνα, τα περισσότερα T κύτταρά τους είναι ανώριμα χωρίς ιδιαίτερη ικανότητα να παράγουν κυτταροκίνες. Προϊούσης της ηλικίας, αυξάνεται το ποσοστό λειτουργικών βοηθητικών CD4+ T κυττάρων και κυττάρων μνήμης και σταδιακά φτάνει στα επίπεδα των ενηλίκων (Tu et al., 2004). Η παραγωγή IFN- γ από διεγερμένα CD4+ T κύτταρα στον ομφάλιο λώρο είναι 5-10 φορές μικρότερη συγκριτικά με των ενηλίκων, γεγονός που ίσως δικαιολογεί την επικράτηση των ιογενών λοιμώξεων κατά την ενδομήτρια ζωή, όπως στην περίπτωση του κυτταρομεγαλοϊού (CMV) (Cimini et al., 2017).

Κατά τη νεογνική ηλικία, οι θυμοεξαρτώμενες αντισωματικές απαντήσεις, υστερούν σε σύγκριση με τις αντίστοιχες σε ενήλικες. Υπάρχει μεγαλύτερη καθυστέρηση στην ανάπτυξη ειδικών αντισωμάτων, βραχύτερη διάρκεια, χαμηλότερη χημική συγγένεια και περιορισμένη ετερογένεια. Κατά κύριο λόγο, η προστασία των νεογνών επιτυγχάνεται από τα αντισώματα της μητέρας που μεταφέρθηκαν μέσω του πλακούντα ενδομητρίως ή μέσω του μητρικού γάλακτος μετά τη γέννηση (Glezen, 2003). Τα νεογνά, για παράδειγμα, αδυνατούν να παράγουν αποτελεσματικά αντισώματα ως απάντηση σε πολυσακχαριδικά αντιγόνα, όπως για παράδειγμα σε βακτήρια όπως ο *H. influenzae type b* στον οποίο η μητέρα έχει μηδενικό ή μικρό τίτλο αντισωμάτων. Υπάρχει αντίστοιχη ανικανότητα των νεογνών στη μετατροπή των IgM αντισωμάτων που παράγονται από τα πλασματοκύτταρα μετά από διέγερση των B-λεμφοκυττάρων, στους ισότυπους IgG, IgA, IgE. Κατά το τρίτο τρίμηνο κύησης, μετά τις 32 εβδομάδες, επιτελείται η μέγιστη μεταφορά προστατευτικών IgG αντισωμάτων διαπλακουντιακά από τη μητέρα στο έμβρυο. Για το λόγο αυτό, στα πρόωρα νεογνά που αυτή η διαδικασία διακόπτεται νωρίτερα, ο τίτλος αντισωμάτων τους είναι σημαντικά μειωμένος, φτάνοντας σε ναδύρ στους 2-3 πρώτους μήνες ζωής. Ωστόσο, πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση έδειξε ότι η προφύλαξη ή θεραπεία νεογνών με ανοσοσφαιρίνες δεν ωφελεί ως πρακτική (Ohlsson and Lacy, 2020). Οι ανοσοσφαιρίνες IgA, IgD, IgM και IgE

δεν διαπερνούν τον πλακούντα σε μεγάλες ποσότητες. Επίσης, τα πλασματοκύτταρα που παράγουν IgA είναι σχεδόν ανύπαρκτα στο έντερο των νεογνών τον πρώτο μήνα ζωής. Ο ισορροπημένος αποικισμός του εντέρου των νεογνών με μικρόβια είναι κριτικής σημασίας για την ανάπτυξη ενός φυσιολογικού ανοσολογικού φραγμού και την παραγωγή της προστατευτικής IgA (Mirpuri et al., 2013).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΝΑΓΚΑΙΟΤΗΤΑ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ ΣΗΨΗΣ ΓΙΑ ΑΠΟΦΥΓΗ ΑΣΚΟΠΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ

3.1. Χρήση αντιβιοτικών στα νεογνά

Δεν υπάρχει ομοφωνία στον ορισμό της σήψης και στον τρόπο διαχείρισης των νεογνών με υποψία σήψης, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως. Αυτό επηρεάζει άμεσα τη διενέργεια ή μη εργαστηριακών εξετάσεων και τη χορήγηση ή μη αντιβιοτικής αγωγής με διαφορές στο είδος και τη διάρκεια. Η θεραπεία των νεογνών με αντιβιοτικά συνήθως απαιτεί κάποιου βαθμού αποχωρισμό από τη μητέρα, παρεμποδίζοντας την ανάπτυξη δεσμών μεταξύ μητέρας και παιδιού και δημιουργώντας επιπρόσθετο άγχος. Χρειάζεται συντονισμένη προσπάθεια ώστε να αποφευχθεί η επιβάρυνση υγιών νεογνών με περιττές επεμβατικές πράξεις και ο αποχωρισμός από τη μητέρα, αλλά και να περιοριστεί η αλόγιστη χρήση αντιβιοτικών (Mukhopadhyay S., 2017).

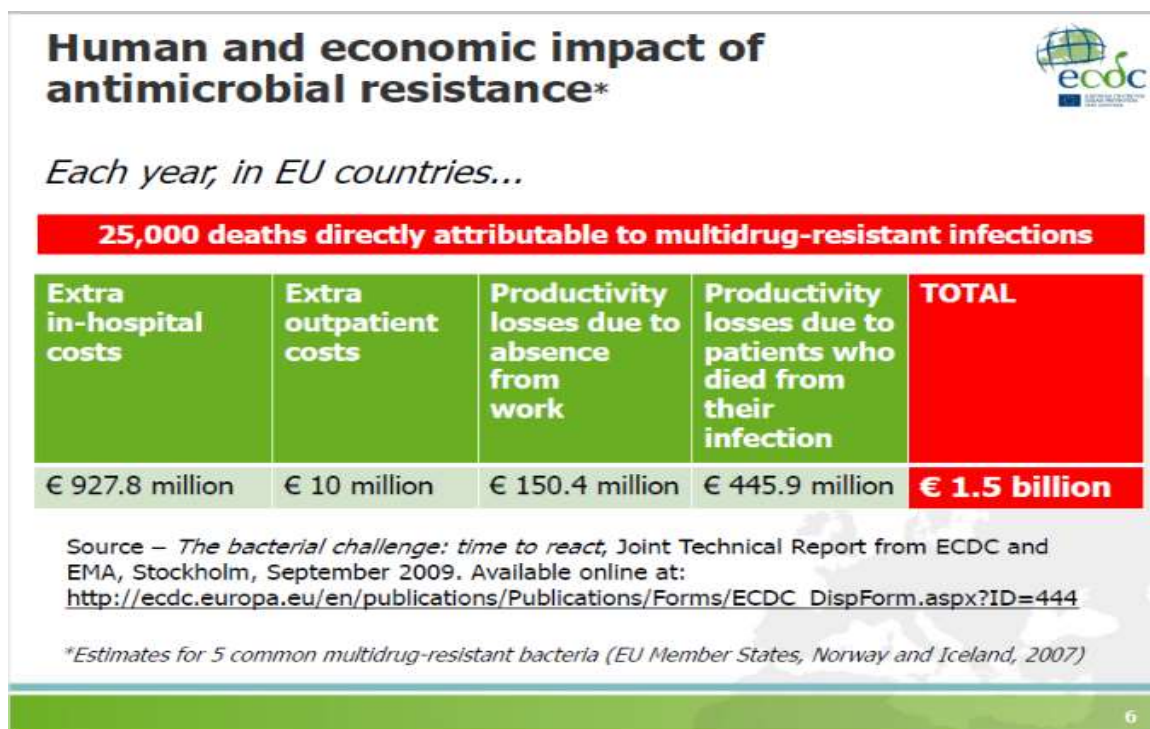
Η χρήση ευρέος φάσματος αντιβιοτικών έχει φανεί ότι διαταράσσει το μικροβίωμα του εντέρου του νεογνού και θέτει σε μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης νεκρωτικής εντεροκολίτιδας και διεισδυτικής μυκητιασικής λοίμωξης, τα ήδη ευάλωτα νεογνά και κυρίως τα πρόωρα (Cotten et al., 2009), (Greenberg and Benjamin, 2014). Πρόσφατα δεδομένα αναφορικά με τη χρήση αντιβιοτικών νωρίς κατά τη νεογνική ηλικία, υποστηρίζουν ότι, μεταξύ άλλων, αυτή η έκθεση σε αντιμικροβιακούς παράγοντες αυξάνει τον κίνδυνο για ανάπτυξη άσθματος και παχυσαρκίας (Yamamoto-Hanada et al., 2017), (Bailey et al., 2014).

3.2. Ανάπτυξη αντοχής στα αντιβιοτικά

Σε ευρύτερη βάση, η υπερβολική και άσκοπη χρήση αντιβιοτικών οδηγεί στην ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών. Σε σχετικά πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση φαίνεται η ισχυρή σύνδεση της κατανάλωσης αντιβιοτικών με την αντοχή. Σε μετα-ανάλυση που πραγματοποιήθηκε, βρέθηκε πως οι χώρες της Νότιας Ευρώπης εμφανίζουν μεγαλύτερη συσχέτιση χρήσης αντιβιοτικών με την αντοχή συγκριτικά με άλλες χώρες και θα πρέπει να ενισχυθούν οι προσπάθειες για τον περιορισμό της αλόγιστης χρήσης αντιβιοτικών (Bell et al., 2014). Η κατάχρηση αντιβιοτικών μπορεί να παράγει μεγαλύτερη αντοχή σε επίπεδο ασθενούς, αλλά και σε επίπεδο κοινότητας και αποτελεί φλέγον ζήτημα της επιστημονικής

κοινότητας. Το κόστος των λοιμώξεων από ανθεκτικά μικρόβια είναι ανυπολόγιστο για το σύστημα υγείας. Σύμφωνα με έκθεση του ECDC (European Centre of Disease Prevention and Control) και του EMA (European Medicines Agency) το 2009, όπως φαίνεται και στην εικόνα 6, κάθε χρόνο 25.000 άνθρωποι πεθαίνουν στην Ευρώπη λόγω λοίμωξης από πολυανθεκτικό μικρόβιο. Ο οικονομικός αντίκτυπος εκτιμάται σε € 1,5 δισεκατομμύριο ευρώ ετησίως.

Εικόνα 6. Αντίκτυπος αντιβιοτικής αντοχής σε ανθρώπινο και οικονομικό επίπεδο (ECDC/EMA, 2009).



Από τα διαθέσιμα στοιχεία σχετικά με τη χρήση αντιβιοτικών σε υποψία νεογνικής σήψης στην Ελλάδα προκύπτει ότι τα επίπεδα αντοχής σε κεφαλοσπορίνες 3^{ης} γενιάς και καρβαπενέμες είναι υψηλά (Kopsidas et al., CLEO, 2014). Σχεδόν στις μισές περιπτώσεις (45%) όψιμης νεογνικής σήψης από *Klebsiella* στην Ελλάδα, υπήρξε αντοχή σε τουλάχιστον μία αμινογλυκοσίδη, που αποτελεί μέρος της εμπειρικής αγωγής (Gkentzi et al., 2019). Απαιτείται διαρκής επιτήρηση των δεδομένων με σκοπό την καλύτερη κατανόηση της επιδημιολογίας στη χώρα μας με σκοπό την ανάπτυξη κατευθυντήριων οδηγιών βάσει δεδομένων (evidence-based guidelines) για την εμπειρική διαχείριση της νεογνικής σήψης.

Σε μονάδες εντατικής θεραπείας νεογνών στην χώρα μας, έχει καταγραφεί η παρατεταμένη χορήγηση διπλής αντιβιοτικής αγωγής ευρέος φάσματος, ακόμα και σε επιβεβαιωμένη απομόνωση παθογόνου μικροοργανισμού με γνωστή ευαισθησία σε αντιβιοτικά. Βασική παρέμβαση στον περιορισμό της αλόγιστης χρήσης αντιβιοτικών είναι η αποκλιμάκωση της εμπειρικής αντιβιοτικής αγωγής όταν γίνεται γνωστό το αίτιο και είναι διαθέσιμο το αντιβιογράμμα (Kopsidas et al., CLEO, 2015). Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί μεγάλο εύρος στη διάρκεια θεραπείας σε υποψία πρώιμης, αλλά και όψιμης νεογνικής σήψης, με αρνητικές καλλιέργειες. Τα δεδομένα αυτά είναι χρήσιμα ώστε να βρεθεί ο βέλτιστος κοινός τρόπος διαχείρισης των νεογνών αυτών στη χώρα μας (Kopsidas et al., CLEO, 2018).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΙΔΑΝΙΚΟΣ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ

Για τους λόγους που αναφέρθηκαν προηγουμένως, η ανάγκη για ακριβείς βιοδείκτες που βοηθούν στην έγκαιρη και έγκυρη διάγνωση των νεογνικών λοιμώξεων και κυρίως των σοβαρότερων, όπως η σήψη, παραμένει εξαιρετικά σημαντική.

Διαγνωστικός βιοδείκτης ορίζεται «ένα μόριο που χρησιμοποιείται για την αναγνώριση ή την επιβεβαίωση της παρουσίας μιας νόσου ή μιας ιδιαίτερης κατάστασης ή την ταυτοποίηση ατόμων με συγκεκριμένο τύπου μιας ασθένειας» [BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools), Updated: November 16, 2020] Για τον έλεγχο της ακρίβειας και της αξιοπιστίας ενός βιοδείκτη ως προς μια συγκεκριμένη διάγνωση, πρέπει να υπολογίζονται η ευαισθησία και η ειδικότητα, που επεξηγούνται στη συνέχεια. Απαραίτητη προϋπόθεση για να αξιολογηθεί ένας διαγνωστικός βιοδείκτης με αυτά τα εργαλεία, είναι η ευρεία γνώση των χαρακτηριστικών του. Πιο αναλυτικά, θα πρέπει να είναι γνωστός ο κατασκευαστής και τα τεχνικά χαρακτηριστικά του εξοπλισμού που απαιτείται, με λεπτομέρεια, το είδος και ο τρόπος λήψης του δείγματος και η αξιολόγηση πρέπει να γίνεται από εξειδικευμένο προσωπικό.

Ευαισθησία μιας διαγνωστικής δοκιμασίας για μια νόσο ορίζεται ως το ποσοστό των ασθενών που πάσχουν από τη συγκεκριμένη ασθένεια και έχουν θετικό τεστ.

Ειδικότητα ορίζεται ως το ποσοστό των υγιών ατόμων που δεν πάσχουν από τη συγκεκριμένη ασθένεια και έχουν αρνητικό τεστ.

Σε δοκιμασίες με απάντηση μια συνεχή μεταβλητή, τίθεται ως όριο μία τιμή cut-off πάνω από την οποία το τεστ θεωρείται θετικό. Σε αυτά τα τεστ η ευαισθησία και η ειδικότητα έχουν αντίστροφη σχέση, δηλαδή όσο μετακινείται το cut-off προς τιμές που αυξάνουν την ευαισθησία, τόσο μειώνεται η ειδικότητα και το αντίστροφο.

Στην πράξη, αυτό που ενδιαφέρει τον κλινικό ιατρό για τη λήψη αποφάσεων είναι η σημασία του αποτελέσματος για τον ασθενή. Αναλυτικότερα, είναι σημαντικό να καθοριστεί η πιθανότητα να πάσχει από την εν λόγω ασθένεια, το άτομο στο οποίο το τεστ είναι θετικό (**θετική προγνωστική αξία** - positive predictive value - **PPV**) και η πιθανότητα να είναι υγιές και να μην πάσχει από τη συγκεκριμένη ασθένεια το άτομο στο οποίο το τεστ είναι αρνητικό (**αρνητική προγνωστική αξία** - negative predictive value - **NPV**). Αυτές οι έννοιες

εξαρτώνται από την ευαισθησία και την ειδικότητα του τεστ και από τον επιπολασμό την νόσου στον πληθυσμό και διαφέρουν από ασθενή σε ασθενή, συνυπολογίζοντας την πιθανότητα νόσου πριν τη διενέργεια του τεστ (από το ιστορικό και την αντικειμενική εξέταση). Αν η αναλογία των ασθενών ως προς τους υγιείς είναι μικρή, είναι δύσκολο να επιτευχθεί υψηλή PPV κι αντίστοιχα αν το ποσοστό των πασχόντων είναι υψηλό, είναι δύσκολο να επιτευχθεί υψηλή NVP. Αντιθέτως, η ευαισθησία και η ειδικότητα είναι σταθερά, εγγενή χαρακτηριστικά του τεστ για μια συγκεκριμένη διάγνωση και δεν εξαρτώνται από τον εκάστοτε ασθενή» [BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools), Updated: November 16, 2020].

Συμπερασματικά, ο ιδανικός βιοδείκτης θα πρέπει να ακολουθεί ένα προβλέψιμο μοτίβο τόσο στην απάντηση στη λοίμωξη αλλά και στη θεραπεία, δηλαδή να αυξάνεται στην πορεία της νόσου και να μειώνεται ως αποτέλεσμα ανταπόκρισης στην αγωγή. Απαιτείται υψηλή ευαισθησία για να παρέχεται περισσότερη σιγουριά ότι κανένας ασθενής δε μένει αδιάγνωστος. Από την άλλη πλευρά, η ειδικότητα είναι επίσης σημαντική ώστε να αποφευχθεί η έκθεση υγιών νεογνών, για παράδειγμα, σε μη αναγκαία αντιβιοτική θεραπεία. Θα πρέπει, επιπλέον, να είναι ικανός να παρέχει προγνωστικές πληροφορίες, να μπορεί να ταυτοποιεί το παθογόνο, να μετριέται εύκολα με τεχνική που δεν απαιτεί πολύ χρόνο κι αν πρόκειται για δείγμα αίματος για παράδειγμα, να απαιτείται ελάχιστη ποσότητα (Bhandari, 2014).

Οι προκλήσεις για την εύρεση ιδανικού διαγνωστικού δείκτη είναι πολλές. Το φυσιολογικό εύρος τιμών του δείκτη μπορεί να εξαρτάται από την ηλικία του νεογνού ή τη διορθωμένη ηλικία για τα πρόωρα νεογνά. Μπορεί, παράλληλα, να υπάρχουν διακυμάνσεις λόγω συνυπαρχουσών μη λοιμωδών καταστάσεων. Στη σήψη, για παράδειγμα, η ανεύρεση παθογόνου μικροοργανισμού στην καλλιέργεια αίματος, ακόμη κι όταν υπάρχει σχετικά μικρό βακτηριακό φορτίο, θέτει χωρίς αμφιβολία τη διάγνωση (Schelonka et al., 1996). Παρόλα αυτά, οι κλινικοί ιατροί παραμένουν διστακτικοί στο να απορρίπτουν τη διάγνωση της λοίμωξης σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς με αρνητική καλλιέργεια αίματος (Klingenberg et al., 2018), (Gilfillan and Bhandari, 2019).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΥΠΑΡΧΟΝΤΕΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΝΕΟΓΝΙΚΗΣ ΛΟΙΜΩΣΗΣ

Αριθμός ουδετεροφίλων

Ο ελαττωμένος αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων, καθώς και ο απόλυτος αριθμός ουδετεροφίλων, με αντίστοιχα αυξημένο ποσοστό ανώριμων ουδετεροφίλων, σχετίζονται στενά με την παρουσία πρώιμης νεογνικής σήψης (Newman et al, 2010). Η διαγνωστική ακρίβεια φαίνεται να αυξάνεται προϋούσης της ηλικίας κύησης και ιδιαίτερα όταν η εξέταση πραγματοποιείται μετά τις 4 πρώτες ώρες ζωής του νεογνού. Στα πλαίσια της όψιμης νεογνικής σήψης, ανευρίσκεται τόσο υψηλός όσο και χαμηλός αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων, αυξημένος απόλυτος αριθμός ουδετεροφίλων, αυξημένος αριθμός ανώριμων ουδετεροφίλων ως προς τα συνολικά [immature to total-(I:T) μεγαλύτερος από 0,2] και θρομβοπενία. Ωστόσο, καμία από αυτές τις παραμέτρους δεν έχει την κατάλληλη αξιοπιστία ώστε να αποκλείσει όψιμη νεογνική σήψη (Hornik et al, 2012). Ο συνδυασμός αιματολογικών δεικτών φαίνεται να βελτιώνει επιπλέον τη διαγνωστική ακρίβεια, ειδικά σε σήψη που δεν επιβεβαιώνεται από την ανάπτυξη μικροοργανισμού στις καλλιέργειες (Streimish et al, 2014), (Gonzalez et al, 2003).

Εύρος κατανομής ερυθρών

Η αύξηση του εύρους κατανομής των ερυθρών (red cell-distribution width-RDW) φαίνεται να αποτελεί αρνητικό προγνωστικό δείκτη στους βαρέως πάσχοντες παιδιατρικούς ασθενείς με σήψη και σχετίζεται με αυξημένη θνητότητα σε νεογνά με σήψη (Ramby, Goodman, Wald and Weiss, 2015). Υποστηρίζεται ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός δείκτης σε περιπτώσεις πρώιμης, αλλά και όψιμης νεογνικής σήψης. Είναι μια παράμετρος που ήδη εύκολα μετριέται στη γενική αίματος, μια εξέταση ρουτίνας. Παρόλα αυτά, απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση ώστε να καθοριστούν οι cut-off τιμές για νεογνά ανάλογα με την ηλικία κύησης (Ellahony, El-Mekkawy and Farag, 2020).

Στα πλαίσια κλινικής χρησιμότητας, οι αιματολογικοί δείκτες είναι περιορισμένης αποτελεσματικότητας στην έγκαιρη αναγνώριση της νεογνικής σήψης, καθώς η κλινική σημειολογία ή αξιολόγηση των παραγόντων κινδύνου συνήθως προηγούνται της απόφασης για τη λήψη εργαστηριακού ελέγχου. Παθολογικά ευρήματα, όπως ουδετεροπενία και αυξημένος λόγος I:T, μπορεί να συνηγορούν υπέρ της απόφασης για την έναρξη αντιβιοτικής

αγωγής. Ωστόσο, οι φυσιολογικές τιμές στον εργαστηριακό έλεγχο θα πρέπει να αξιολογούνται σε συνδυασμό με την κλινική εικόνα. Ενώ η επανάληψη του εργαστηριακού ελέγχου και η επανεκτίμηση καθοδηγεί πιο ξεκάθαρα την απόφαση για διακοπή των αντιβιοτικών, στις πρόσφατες οδηγίες της American Academy of Pediatrics για τη διαχείριση της πρώιμης νεογνικής σήψης, προτείνεται η συνέχιση της αντιβιοτικής αγωγής πέραν των 48 ωρών μόνο όταν θετικοποιείται η καλλιέργεια αίματος ή όταν υπάρχει αντικειμενική ένδειξη εντοπισμένης λοίμωξης, ανεξάρτητα από τα αποτελέσματα των λοιπών εργαστηριακών εξετάσεων (Puopolo, Benitz and Zaoutis, 2018).

C-reactive protein (CRP)

Η CRP είναι ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος δείκτης λοίμωξης. Πρόκειται για πρωτεΐνη οξείας φάσης και εκκρίνεται από το ήπαρ σαν απάντηση σε ερέθισμα από τις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες. Το βασικό μόριο που συνδέεται με τη CRP είναι η φωσφοχολίνη, η οποία απαντάται σε λιποπολυσακχαρίτες, κυτταρικά τοιχώματα βακτηρίων και γενικότερα στις περισσότερες βιολογικές μεμβράνες. Μετά τη σύνδεσή της, αναγνωρίζεται από το σύστημα του συμπληρώματος, το οποίο ενεργοποιεί. Προωθεί τη φαγοκυττάρωση του μορίου με το οποίο έχει συνδεθεί, από ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα, μακροφάγα και άλλα κύτταρα. Ενεργοποιεί περαιτέρω τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα και διεγείρει την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Κατά την οξεία φάση, η αύξηση της CRP αρχίζει σε 12-24 ώρες από την έναρξη της λοίμωξης, φτάνοντας στα υψηλότερα επίπεδα στις 48 ώρες. Τα επίπεδά της παραμένουν υψηλά για όσο διαρκεί η διαδικασία της φλεγμονής ή της ιστικής καταστροφής και στη συνέχεια μειώνονται ταχύτατα. Ο χρόνος ημίσειας ζωής για διάφορες νόσους έχει υπολογιστεί στις 19 ώρες και τα επίπεδά της στον ορό αντικατοπτρίζουν κατά βάση το ρυθμό σύνθεσής της, γεγονός που εξηγεί τη χρησιμότητα της στην κλινική πράξη για την παρακολούθηση ενεργότητας της νόσου σε καταστάσεις οξείας φλεγμονώδους αντίδρασης. Σχετικά με την πρώιμη νεογνική σήψη, οι περισσότερες μελέτες υπολογίζουν την ευαισθησία αυτού του δείκτη από 49-68% με cut-off τιμή τα 10mg/L (Delanghe and Speeckaert, 2015). Η ειδικότητα είναι υψηλότερη, έως και περισσότερο από 90%, παρόλο που αύξηση της CRP προκαλείται και από μη λοιμώδεις φλεγμονώδεις καταστάσεις, όπως η εισρόφηση μηκωνίου και η παρατεταμένη διάρκεια τοκετού (Perrone et al., 2018). Σε πρόσφατη μετα-ανάλυση του 2020, σχετικά με το ρόλο της CRP στην όψιμη νεογνική σήψη, που αφορά μελέτες από όλο τον κόσμο, υπολογίστηκε διάμεση ειδικότητα 74% και ευαισθησία 62%. Το συμπέρασμα που προέκυψε ήταν ότι η CRP είναι απίθανο να βοηθήσει

στην έγκαιρη διάγνωση της όψιμης νεογνικής σήψης ή στην απόφαση έναρξης χορήγησης αντιβιοτικής αγωγής. Επιπλέον, δε φάνηκε να έχει ιδιαίτερη χρησιμότητα στην απόφαση διακοπής της αγωγής σε νεογνό με υποψία λοίμωξης. Μεγαλύτερη έμφαση από τη CRP, δόθηκε στη λήψη επαρκούς ποσότητας δείγματος αίματος ώστε να μεγιστοποιηθεί η πιθανότητα να απομονωθεί ο παθογόνος μικροοργανισμός και να επιβεβαιωθεί η διάγνωση της σήψης (Brown et al., 2020). Η ακρίβεια της CRP ως διαγνωστικός δείκτης βελτιώνεται με τις διαδοχικές μετρήσεις (Hofer, Zacharias, Müller and Resch, 2012). Η χρήση της CRP σε συνδυασμό με άλλους βιοδείκτες, κυρίως όσους αυξάνονται νωρίς κατά τη λοίμωξη, όπως η ιντερλευκίνη-8 (IL-8), έχει φανεί καλύτερη τακτική για την αξιολόγηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία και την έγκαιρη διακοπή της (Franz et al., 2004).

Procalcitonin (PCT)

Τα επίπεδα της PCT αυξάνονται σταθερά 2-4 ημέρες μετά τη γέννηση σε φυσιολογικές αλλά και σε παθολογικές καταστάσεις (Turner et al., 2006). Υπάρχουν διαθέσιμες τιμές αναφοράς για τελειόμνηνα αλλά και πρόωρα νεογνά (Hahn et al., 2015). Οι βακτηριακές ή μυκητιασικές λοιμώξεις προκαλούν πολύ πιο σημαντική αύξηση της PCT, η οποία μπορεί να ανιχνευθεί εντός 6 ωρών από την έναρξη της λοίμωξης, φτάνοντας στη μέγιστη τιμή στις 18-24 ώρες. Τα επίπεδα παραμένουν αυξημένα έως και 48 ώρες, καθιστώντας ευρύτερο το παράθυρο για την ανίχνευση. Εκτός από τη φυσιολογική αύξηση μετά τη γέννηση, η τιμή της PCT μπορεί να αυξηθεί λόγω διαφόρων περιγεννητικών καταστάσεων, όπως το σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας, η ενδοκράνια αιμορραγία, η υποξική ισχαιμική εγκεφαλοπάθεια, ο πνευμοθώρακας και η εμβρυική δυσπραγία (Altunhan et al., 2011). Σε μετα-ανάλυση του 2011, για την αξιολόγηση της PCT ως διαγνωστικού δείκτη σε πρόωμη και όψιμη νεογνική σήψη προ της χορήγησης αντιβιοτικών, η ευαισθησία υπολογίστηκε σε 81% και η ειδικότητα σε 79% (Vouloumanou et al., 2011). Δεδομένα από πιο πρόσφατη μετα-ανάλυση, δείχνουν ότι η PCT είναι δείκτης μέτριας ακρίβειας για τη διάγνωση νεογνικής σήψης, με προτεινόμενες cut-off τιμές 2.0-2.5 ng/ml. Απαιτούνται περισσότερες μελέτες για την πρόωμη και όψιμη νεογνική σήψη ξεχωριστά, ώστε να βελτιωθεί η ειδικότητά της σα διαγνωστικός δείκτης (Pontrelli et al., 2017). Ενδεχομένως λόγω των πολλαπλών μη λοιμωδών καταστάσεων που αναφέρθηκαν προηγουμένως και μπορεί να πυροδοτήσουν την αύξηση της PCT, έχει βρεθεί ότι ως διαγνωστικός δείκτης έχει μεγαλύτερη ακρίβεια στην αναγνώριση όψιμης νεογνικής σήψης από την πρόωμη. Επιπλέον, έχει φανεί ότι είναι καλύτερος δείκτης στη διάγνωση της όψιμης νεογνικής σήψης συγκριτικά με τη CRP (Yu et al., 2010). Η τιμή της PCT στον ορό

αίματος από τον ομφάλιο λώρο σχετίζεται σημαντικά με την πρόωμη νεογνική σήψη, ειδικά σε εξαιρετικά πρόωρα νεογνά. Η ευαισθησία όμως είναι χαμηλή και χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση (Frerot et al., 2019). Τα επίπεδα της PCT, όπως και της CRP, μειώνονται σε ανταπόκριση στην αντιβιοτική θεραπεία. Η καθοδηγούμενη από την πτώση της PCT απόφαση για διακοπή της αγωγής φαίνεται χρήσιμη στην κλινική πράξη για νεογνά με υποψία πρόωμης νεογνικής σήψης (Stocker et al., 2017).

Κυτταροκίνες και χημειοκίνες

Οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες IL-6 και IL-8 αυξάνονται σε 2-4 ώρες σαν απάντηση σε κάποιο παθογόνο μικροοργανισμό και φτάνουν στα υψηλότερα επίπεδα σε 6-8 ώρες (Chiesa et al., 2015). Η χρησιμότητα της IL-8 ως πρώιμου δείκτη νεογνικής σήψης έχει μελετηθεί και η ευαισθησία υπολογίζεται σε 81-92% και η ειδικότητα σε 70-94% (Zhou et al., 2015). Η διαγνωστική τους ακρίβεια βελτιώνεται σε συνδυασμό με άλλους βιοδείκτες, όπως έχει ήδη αναφερθεί (Delanghe and Speeckaert, 2015). Αυξημένα επίπεδα των δεικτών IL-6 και IL-10 με αντίστοιχα μειωμένα επίπεδα IL-4 σχετίζονται με τη νεογνική σήψη. Επιπροσθέτως, χαμηλά επίπεδα αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως IL-4, IL-12 και IFN-γ έχουν συσχετισθεί με χειρότερη πρόγνωση και θνητότητα (Leal et al., 2019).

CD64

Αυξημένη τιμή του CD64 μπορεί να ανευρεθεί εντός 1-6 ωρών από την προσβολή από βακτήριο και παραμένει σε υψηλά επίπεδα για περισσότερες από 24 ώρες. Αυτή η σχετικά έγκαιρη απάντηση στη φλεγμονή σε συνδυασμό με την ελάχιστη ποσότητα δείγματος που απαιτείται για τη μέτρηση εντός 1 ώρας, καθιστά αυτό το δείκτη πιο αξιόπιστο για τη διάγνωση νεογνικής σήψης, και μάλιστα ανώτερο της CRP, σύμφωνα με τη μελέτη του Choo και των συνεργατών (2012), όπου οι δύο δείκτες έχουν παρόμοια ειδικότητα αλλά η ευαισθησία του CD64 ξεπερνά το 90%. Σε πιο πρόσφατη μελέτη, η ευαισθησία του υπολογίζεται σε 77% και η ειδικότητα σε 74%. Η διαγνωστική ακρίβεια είναι καλύτερη στα τελειόμηνια σε σύγκριση με τα πρόωρα νεογνά, καθώς επίσης και στη σήψη με επιβεβαιωμένο μικρόβιο σε καλλιέργεια αίματος σε σύγκριση με τη σήψη που η διάγνωση τίθεται μόνο κλινικά (Shi et al., 2016).

sTREM1

Το μόριο sTREM1 έχει ταυτοποιηθεί ως πιθανός βιοδείκτης για νεογνική σήψη, με ευαισθησία 70-100% και ειδικότητα 71-100% (Delanghe and Speeckaert, 2015). Σε πρόσφατη πιλοτική μελέτη προτάθηκε το μόριο αυτό ως προγνωστικός δείκτης, με τα υψηλότερα επίπεδα να σχετίζονται ισχυρά με εμφάνιση σηπτικής καταπληξίας και θανάτου (Arizaga-Ballesteros et al., 2015). Δεδομένου ότι η λήψη δείγματος αίματος αποτελεί ζήτημα για τα ευαίσθητα νεογνά, έχει μελετηθεί προσφάτως η συγκέντρωση του sTREM1 στα ούρα, που δεν απαιτούν επεμβατική πράξη. Για τη νεογνική σήψη, η μέτρηση στα ούρα έχει ευαισθησία 90% και ειδικότητα 78%. Χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση για να βρεθούν οι κατάλληλες τιμές αναφοράς ανάλογα με την ηλικία (Ozdemir et al., 2018).

Serum Amyloid A (SAA)

Υψηλά επίπεδα SAA, μιας πρωτεΐνης οξείας φάσης, έχουν αναφερθεί νωρίς στην πορεία νεογνικής λοίμωξης, με ταυτόχρονη ανεύρεση φυσιολογικής τιμής CRP (Pizzini, Mussap, Plebani and Fanos, 2000). Η πρωτεΐνη αυτή παράγεται από το ήπαρ σαν απάντηση σε προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και η συγκέντρωσή της αυξάνεται σε υψηλά επίπεδα μετά από κατάλληλα ερεθίσματα (De Buck et al., 2016). Φαίνεται να έχει μεγαλύτερη ευαισθησία συγκριτικά με τη CRP και στην πρώιμη και στην όψιμη νεογνική σήψη, όπου η ευαισθησία φτάνει έως 90% συγκριτικά με τη CRP, τη στιγμή που τίθεται η αρχική κλινική υποψία σήψης (Arnon et al., 2007). Η μέτρηση του SAA σε δείγματα αίματος από τον ομφάλιο λώρο φάνηκε αποτελεσματική για τη διάγνωση πρώιμης νεογνικής σήψης μόνο στα νεογνά με θετική καλλιέργεια αίματος κι όχι σε αυτά με μόνη την υποψία σήψης (Mithal et al., 2017). Σε μετα-ανάλυση του 2013, φάνηκε ότι το SAA έχει μέτρια διαγνωστική ακρίβεια για τη νεογνική σήψη, καλύτερη όμως από αυτή της CRP (Yuan et al., 2013). Βασικό πλεονέκτημα αυτού του δείκτη σε σύγκριση με άλλους, όπως οι κυτταροκίνες, είναι ότι διατίθεται αυτοματοποιημένο rapid test.

Presepsin

Η presepsin, ένας διαλυτός υποτύπος του CD64 που εμπλέκεται στους μηχανισμούς της φυσικής ανοσίας, έχει πρόσφατα αναγνωριστεί ως δυναμικά σημαντικός βιοδείκτης για τη

σήψη (Chenevier-Gobeaux et al., 2015). Η presepsin υπολογίζεται ότι έχει ευαισθησία και ειδικότητα για τη νεογνική σήψη 91% και φαίνεται να είναι πιο αξιόπιστος δείκτης από τη CRP και την PCT (Bellos et al., 2018). Αυξημένη τιμή σε αίμα από ομφάλιο λώρο νεογνών με πρόωρη ρήξη μεμβρανών έχει βρεθεί ότι αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη για πρόωμη νεογνική σήψη (Seliem and Sultan, 2018). Έχουν υπολογιστεί οι φυσιολογικές τιμές για πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά και υπάρχει διαθέσιμο τεστ που παρέχει αποτέλεσμα εντός 15 λεπτών και απαιτεί ελάχιστη ποσότητα αίματος (Pugni et al., 2015).

Στον Πίνακα 2, παρατίθενται συνοπτικά στοιχεία για τους βιοδείκτες σήψης που αναφέρθηκαν, όπως η ευαισθησία και η ειδικότητα, ο χρόνος που ανιχνεύονται από την έναρξη της λοίμωξης, καθώς και τα κύρια πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα.

Πίνακας 2. Διαγνωστικοί βιοδείκτες σήψης (Gilfillan and Bhandari, 2019).

Βιοδείκτης	Ευαισθησία	Ειδικότητα	Χρόνος ανίχνευσης κατά τη λοίμωξη	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
Κυτταροκίνες IL-6 IL-8 IL-10	79% 81-92% 81%	84% 70-94% 100%	Άνοδος εντός 2-4 ωρών, διάρκεια 6-8 ώρες.	Ακριβής και έγκαιρη διάγνωση. Συνεκτίμηση με άλλους δείκτες για μεγαλύτερη ακρίβεια.	Γρήγορη πτώση επιπέδων κατά την εμφάνιση συμπτωμάτων. Διαθέσιμα μόνο για ερευνητικούς σκοπούς.
Presepsin	91%	91%	Αύξηση 2-12 ώρες μετά την εμφάνιση λοίμωξης.	Μικρή απαιτούμενη ποσότητα δείγματος. Υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα. Επίπεδα από ομφάλιο λώρο έχουν υψηλή προγνωστική αξία.	Μεγάλο εύρος cut-off τιμών. Περιορισμένες πληροφορίες για τη χρησιμότητα στην κλινική πράξη.
s-TREM-1	70-100%	71-100%	Αύξηση 2-4 ώρες μετά την εμφάνιση λοίμωξης. Παραμένει αυξημένο σε αίμα, ούρα και ΕΝΥ.	Υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα. Μέτρηση και σε ούρα.	Ανάγκη για προσδιορισμό cut-off τιμών για νεογνά ανάλογα με την ηλικία κύησης.

CD64	77-80%	74-83%	Αύξηση 1-6 ώρες μετά την εμφάνιση λοίμωξης. Παραμένει αυξημένο για 24 ώρες.	Μικρή απαιτούμενη ποσότητα δείγματος. Υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα όταν συνδυάζεται με αριθμό ουδετεροφίλων και CRP. Χρήσιμο και σε πρώιμη και όψιμη νεογνική σήψη.	Περιορισμένη διαγνωστική αξία ως μεμονωμένος δείκτης.
PCT	70-81%	79-89%	Αύξηση 3-4 ώρες μετά την εμφάνιση λοίμωξης. Μέγιστη τιμή στις 18-24 ώρες. Γρήγορη πτώση μετά από αντιβιοτική αγωγή.	Μέτρια-υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα. Μεγαλύτερη ακρίβεια σε συνδυασμό με CD64. Χρήσιμη σε όψιμη νεογνική σήψη (περισσότερο από πρώιμη).	Αύξηση και σε μη λοιμώδεις καταστάσεις. Δεν έχει τεκμηριωθεί η χρησιμότητα σε πρόωρα νεογνά (<35εβδ.)
SAA	84%	89%	Ταχεία αύξηση τις πρώτες 24 ώρες της λοίμωξης.	Διαθέσιμο rapid test. Πιθανή χρησιμότητα σε συνδυασμό με μέτρηση σε ομφάλιο λώρο.	Ποικίλη ευαισθησία σε σύγκριση με CRP. Οι τιμές αναφοράς επηρεάζονται από την ηπατική λειτουργία και τη σίτιση.
CRP	49-68%	>90%	Αύξηση 12-24 ώρες μετά την εμφάνιση λοίμωξης. Μέγιστη τιμή στις 36-48 ώρες. Γρήγορη πτώση μετά από αντιβιοτική αγωγή.	Άμεσα διαθέσιμη. Υψηλή ειδικότητα. Καλύτερος δείκτης ανταπόκρισης στη θεραπεία.	Καθυστέρηση αύξησης με την εμφάνιση λοίμωξης. Μέτρηση νωρίς, ψευδώς αρνητική. Αύξηση και σε μη λοιμώδεις καταστάσεις.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΒΙΟΔΕΙΚΤΗΣ YKL-40

6.1. YKL-40 – Γενικά

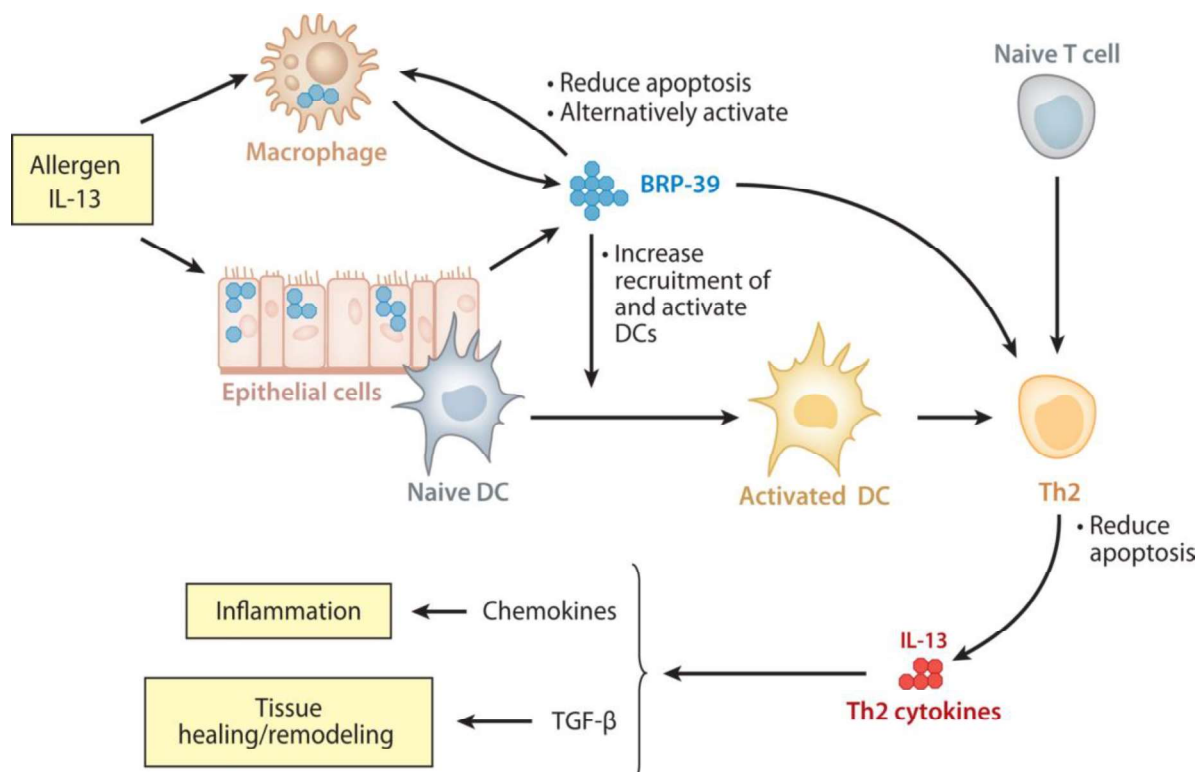
Το μόριο YKL-40, επίσης γνωστό και ως Chitinase-3-like protein 1 ή γλυκοπρωτεΐνη-39, είναι μία γλυκοπρωτεΐνη, μέλος της οικογένειας των χιτινασών. Εκφράζεται και εκκρίνεται από διάφορα κύτταρα, όπως τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα και μακροφάγα, τα χονδροκύτταρα, τα κύτταρα των λείων μυικών ινών των αγγείων, τα ηπατικά αστροκύτταρα, τα κύτταρα του νεφρού που έχουν υποστεί ισχαιμική βλάβη και άλλα κύτταρα (Schmidt et al., 2013). Η συντομογραφία προέρχεται από τους κωδικούς που χρησιμοποιούνται στη διαδικασία N-terminal sequencing για τα τρία πρώτα αμινοξέα του μορίου που είναι η τυροσίνη (Y), η λυσίνη (K) και η λευκίνη (L), καθώς και από το μοριακό της βάρος (40 kDa).

Οι πρωτεΐνες της οικογένειας των χιτινασών καταλύουν την υδρόλυση της χιτίνης, η οποία βρίσκεται σε αφθονία στη φύση, μετά την κυτταρίνη, στον εξωτερικό σκελετό εντόμων και στο κυτταρικό τοίχωμα βακτηρίων και μυκήτων (Prakash et al., 2013). Η συσσώρευση της χιτίνης ρυθμίζεται από την ισορροπία μεταξύ των συνθετασών χιτίνης και της αποδόμησης μέσω χιτινασών. Η οικογένεια των χιτινασών περιέχει 18 μόρια, εκ των οποίων τα 8 εκφράζονται στον άνθρωπο, παρόλο που δεν ανευρίσκεται χιτίνη και συνθετάση χιτίνης. Φαίνεται πως οι χιτινάσες και οι πρωτεΐνες που μοιάζουν με χιτινάσες (chitinase-like-proteins, CLPs) παίζουν σημαντικό ρόλο και στην έμφυτη και στην επίκτητη ανοσία. Στην κατηγορία των πραγματικών χιτινασών ανήκει η AMCase και η chitotriosidase (chitinase 1), ενώ τα μόρια oniductin, YKL-39, Stabilin-1-interacting chitinase-like protein (SI-CLP) και chitinase domain-containing 1 (CHID1), Ym1/Ym2, ανήκουν στην κατηγορία των CLPs, συμπεριλαμβανομένου και του μορίου YKL-40/HcGP-39 (chitinase 3-like 1). Όλες οι CLPs στερούνται τη δράση της χιτινάσης ως αποτέλεσμα μεταλλάξεων που αφορούν συγκεκριμένες ενζυμικές θέσεις (Lee et al., 2011).

Ειδικότερα, το μόριο YKL-40 αρχικά ανακαλύφθηκε σε καρκινικά κύτταρα ποντικών και βάσει αυτού, ερευνητές περιέγραψαν ποικιλία ομόλογων μορίων στον άνθρωπο με διάφορα ονόματα. Το υπεύθυνο γονίδιο για τη σύνθεση της γλυκοπρωτεΐνης YKL-40 (CHI3L1 γονίδιο) βρίσκεται στο χρωμόσωμα 1, τόσο στα ποντίκια όσο και στον άνθρωπο. Η γλυκοπρωτεΐνη που κωδικοποιείται δεν έχει δράση χιτινάσης. Η YKL-40 δεν εκφράζεται σε μονοκύτταρα και οριακά εκφράζεται σε δενδριτικά κύτταρα. Αποτελεί, ωστόσο, δείκτη διαφοροποίησης των

μακροφάγων, καθώς η σύνθεσή της επάγεται στα τελικά στάδια διαφοροποίησης τους. Η έκφρασή της ρυθμίζεται από διάφορες κυτταροκίνες και ορμόνες, συμπεριλαμβανομένων των IL-6, IL-13, IFN- γ , vasopressin και parathyroid hormone-related protein (Lee et al., 2011). Οι φλεγμονώδεις κυτταροκίνες TNF- α και IL-1 β επίσης διεγείρουν την έκφραση YKL-40 στα χονδροκύτταρα και ταυτόχρονα το ίδιο το μόριο αναστέλλει τις κυτταρικές απαντήσεις που επάγονται από αυτές τις κυτταροκίνες, στοιχειοθετώντας έτσι ένα μοτίβο αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης με σκοπό τον έλεγχο της διαδικασίας. Αν και η βιολογική δράση της YKL-40 δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί, το μοντέλο έκφρασής της έχει συσχετιστεί με παθογενετικούς μηχανισμούς που συμμετέχουν στη φλεγμονή, αλλά και στην αναδιαμόρφωση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, στο βρογχικό άσθμα, στην αγγειογένεση, στην ίνωση, έως και στην ανάπτυξη συμπαγών καρκινωμάτων (Johansen, Williamson, Rice and Price, 2009).

Στην YKL-40, έχει αποδοθεί ρόλος αυξητικού παράγοντα για κύτταρα του συνδετικού ιστού, ενώ επίσης ευνοεί τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Μελέτες δείχνουν ότι η YKL-40 συμβάλλει στη Th2-επαγόμενη φλεγμονή, αλλά έχει κι ευρύτερο ρόλο σε φλεγμονώδεις καταστάσεις (Lee et al., 2011) (Εικόνα 7).



Εικόνα 7. Συμμετοχή της YKL-40 (ή BRP-39) στην Th2 επαγόμενη φλεγμονή και στην ιστική αναδιαμόρφωση. Κυτταροκίνες όπως η ιντερλευκίνη-13 (IL-13) διεγείρουν την παραγωγή

YKL-40 από μακροφάγα και επιθηλιακά κύτταρα. Το μόριο YKL-40, ακολούθως, εμποδίζει την απόπτωση των μακροφάγων και προάγει τη διαφοροποίησή τους, αυξάνοντας τον αριθμό και ενεργοποιώντας δενδριτικά κύτταρα και αναστέλλοντας την απόπτωση των Th2 κυττάρων. Οι κυτταροκίνες που παράγονται στη συνέχεια, επάγουν τη δράση χημειοκινών και του TGF-β1, μόρια που συμμετέχουν στη φλεγμονή, στην αναδιαμόρφωση και στην επιδιόρθωση (Lee et al., 2011).

Η YKL-40 εκφράζεται κυρίως από ουδετερόφιλα και ενεργοποιημένα μακροφάγα και απελευθερώνεται με εξωκυττάρωση από ειδικά κοκκία στο σημείο της φλεγμονής. Ως εκ τούτου, θα μπορούσε να αποτελεί διαγνωστικό και προγνωστικό ορολογικό δείκτη σε διάφορες λοιμώξεις, ιδίως βακτηριακές (Coffman, 2008). Ο μηχανισμός έκκρισης του μορίου και ο ρόλος του σε απαντήσεις σε μικρόβια *in vivo* δεν έχουν διευκρινιστεί πλήρως.

Η YKL-40 είναι πρωτεΐνη οξείας φάσης, που συγκριτικά με την ευρέως γνωστή CRP (C-reactive protein), μπορεί να αντανακλά με μεγαλύτερη ακρίβεια την πορεία της νόσου καθώς εκκρίνεται απευθείας από κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος που συμμετέχουν στα παθογενετικά μονοπάτια της φλεγμονής, όπως τα κοκκιοκύτταρα (Volck et al., 1998) και τα μακροφάγα (Bhat et al., 2008). Αντιθέτως, η CRP εκκρίνεται από τα ηπατοκύτταρα. Η έκκριση YKL-40 διεγείρεται από τις ιντερφερόνες (Kzhyshkowska et al., 2006) και την IL-6 (ιντερλευκίνη-6) (Nielsen et al., 2011). Παρόλο που η έκκριση των YKL-40 και CRP διεγείρεται εξίσου από την IL-6, ο τρόπος έκφρασής τους ελάχιστα σχετίζεται λόγω των διαφορετικών σημείων έκφρασης αλλά και του χρόνου που μεσολαβεί από την έναρξη της λοίμωξης και την αύξησή τους (Vind, Johansen, Price and Munkholm, 2003). Η CRP παραμένει αυξημένη στον ορό σοβαρά πασχόντων ασθενών για αρκετές ημέρες μετά την εισαγωγή τους σε μονάδα εντατικής θεραπείας, ενώ μελέτες υποστηρίζουν πως από φαρμακοκινητική άποψη η YKL-40 μειώνεται ταχύτερα στο πλάσμα κλινικά βελτιούμενων ασθενών, ομοίως με την PCT (προκαλσιτονίνη). Τα επίπεδα στον ορό παρέμεναν αυξημένα στους ασθενείς που κατέληξαν, πιθανότατα λόγω δευτερευουσών επιπλοκών που κατέστησαν χειρότερη την πρόγνωση (Castelli et al., 2004).

6.2. YKL-40 – Κλινικές συσχετίσεις

Αυξημένα επίπεδα YKL-40 στον ορό του αίματος έχουν παρατηρηθεί σε ασθενείς με οξείες ή χρόνιες φλεγμονώδεις νόσους (Prakash et al., 2013), σε ασθενείς με πνευμονία της κοινότητας (Spoorenberg et al., 2018) και σε ενήλικες με σήψη (Hattori et al., 2009).

Η YKL-40 έχει προταθεί ως βιοδείκτης σήψης, καθώς φάνηκε να εμπλέκεται στην παθοφυσιολογία της. Σε μελέτη που αφορά ενήλικες με σήψη, βρέθηκαν αυξημένες τιμές της YKL-40 στον ορό ασθενών σε σύγκριση με τους υγιείς, αλλά και υψηλότερες τιμές στους ασθενείς με θετική καλλιέργεια συγκριτικά με αυτούς με αρνητική. Παράλληλα, διαπιστώθηκε ότι υπάρχει θετική συσχέτιση της YKL-40 με μια ήδη γνωστή κυτταροκίνη, την IL-6 (Hattori et al., 2009). Πιο πρόσφατη μελέτη, έδειξε ότι τα επίπεδα της YKL-40 στο αίμα συσχετίζονται με τη βαρύτητα, αλλά και με τη θνητότητα στη σήψη σε ενήλικες (Kornblit et al., 2013). Η μοναδική μελέτη που αφορά παιδιά και συμπεριλαμβάνει και μικρό αριθμό νεογνών με σήψη, δημοσιεύτηκε το 2015 και τα αποτελέσματά της δείχνουν ισχυρή συσχέτιση των τιμών της YKL-40 με τη βαρύτητα της σήψης, και μάλιστα προτείνεται και ως δείκτης ανταπόκρισης στη θεραπεία (Liu, Wang και Qie, 2015).

Ως προς τις άλλες λοιμώξεις, έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα YKL-40 στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY) σε ασθενείς με μηνιγγίτιδα, είναι δε ενδιαφέρον ότι η συγκέντρωσή της στο ENY ήταν 10 φορές μεγαλύτερη από τη συγκέντρωσή της στον ορό του αίματος (Osteergard et al., 2002). Φαίνεται, επιπλέον, να συμμετέχει στον παθογενετικό μηχανισμό βλαβών των κυττάρων του κεντρικού νευρικού συστήματος σε ασθενείς με HIV (Hermansson et al., 2019).

Μελέτη που αφορά μικρό αριθμό παιδιών, ηλικίας 0-2 ετών, με εμπύρετη ουρολοίμωξη, στα οποία προσδιορίστηκε η συγκέντρωση της YKL-40 στα ούρα, προτείνει το μόριο αυτό ως διαγνωστικό δείκτη που παράγεται τοπικά στο σημείο της φλεγμονής του ουροποιητικού (Kim et al., 2018).

Για τις λοιμώξεις αναπνευστικού, μελέτες δείχνουν ότι ο συγκεκριμένος βιοδείκτης είναι χρήσιμος τόσο για τη διάγνωση της πνευμονίας της κοινότητας όσο και στην αξιολόγηση της βαρύτητας και της ανταπόκρισης στη θεραπεία (Wang et al., 2013). Πιο πρόσφατη έρευνα που αφορά παιδιά, επιβεβαίωσε την αύξηση της συγκέντρωσης της YKL-40 στο αίμα ασθενών με πνευμονία ιογενή ή βακτηριακή σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες, καθώς και τη συσχέτιση των επιπέδων YKL-40 με τη βαρύτητα της νόσου μόνο σε ιογενείς λοιμώξεις αναπνευστικού αλλά όχι σε βακτηριακές (Yang and Sheng, 2018). Εκτός από την αύξηση στον

ορό, αυξημένα επίπεδα YKL-40 έχουν βρεθεί στο ρινοφαρυγγικό έκκριμα παιδιών με λοίμωξη από αναπνευστικό συγκυτιακό ιό (RSV) (Kim et al., 2019).

Υψηλά επίπεδα YKL-40 έχουν ανευρεθεί σε διάφορες χρόνιες φλεγμονώδεις νόσους (Πίνακας 3). Αξίζει να σημειωθεί ο ρόλος του μορίου στη ρευματοειδή αρθρίτιδα, καθώς λειτουργεί ως αυτοαντιγόνο. Στο 50% των ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα τα δενδριτικά κύτταρα στο αρθρικό υγρό παρουσιάζουν την YKL-40 συνδεδεμένη με μόρια του μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας. Τα επίπεδα συγκέντρωσης της YKL-40 στο αρθρικό υγρό αντανακλούν τη σοβαρότητα της φλεγμονής (Verheijden et al., 1997).

Πίνακας 3. Καταστάσεις που σχετίζονται με αυξημένη έκφραση YKL-40 (Lee et al., 2011).

Οξείες λοιμώξεις
Βακτηριακή μηνιγγίτιδα
Πνευμονία
Σήψη
Χρόνιες φλεγμονώδεις καταστάσεις
Άσθμα/Αλλεργία
Αθηροσκληρήρυνση
Σακχαρώδης διαβήτης
Ρευματοειδής αρθρίτιδα/Οστεοαρθρίτιδα
Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος
Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου
Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια
Κακοήθειες
Οστεοσάρκωμα, γλοιοβλάστωμα, μελάνωμα, μαστού, παχέος εντέρου, ωοθηκών, πνευμόνων, προστάτη, νεφρών
Άλλα
Κίρρωση ήπατος
Σχιζοφρένεια
Γιγαντοκυτταρική αρτηρίτιδα

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Σκοπός

Πρωταρχικός σκοπός της μελέτης ήταν να διερευνηθεί η πιθανή διαγνωστική αξία των επιπέδων YKL-40 στο αίμα σε νεογνά με λοίμωξη. Δευτερευόντως, να αναζητηθεί πιθανή συσχέτιση των επιπέδων YKL-40 στο αίμα με δείκτες λοίμωξης που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη όπως ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων και των ουδετεροφίλων και τα επίπεδα της CRP ορού.

Υλικό-Μέθοδοι

Πρόκειται για προοπτική μελέτη στην οποία συμπεριλήφθηκαν τελειόμηνα νεογνά ηλικίας 4 έως 28 ημερών. Η μία ομάδα νεογνών περιελάμβανε νεογνά που εισήχθησαν στη ΜΑΦ Νεογνών της Α' Παιδιατρικής Κλινικής ΕΚΠΑ, στο Νοσοκομείο Παίδων "Η Αγία Σοφία", με κλινική εικόνα σήψης και η άλλη ομάδα υγιείς μάρτυρες, ανάλογης ηλικίας και φύλου με τους ασθενείς.

Η σήψη ορίστηκε σύμφωνα με τα κριτήρια του International Pediatric Sepsis Consensus Conference (Goldstein, Giroir and Randolph, 2005), ως σύνδρομο συστηματικής φλεγμονώδους απάντησης (systemic inflammatory response syndrome-SIRS) και παρουσία λοίμωξης (υποψία ή επιβεβαιωμένη). Η ομάδα των μαρτύρων περιελάμβανε νεογνά που εισήχθησαν στη μονάδα μετά τη γέννησή τους για λόγους διαφορετικούς από σήψη, όπως παροδική ταχύπνοια, ίκτερο, αναγωγές/παλινδρόμηση κ.ά. Νεογνά με ιστορικό προωρότητας ή περιγεννητικής ασφυξίας, συγγενείς ανωμαλίες, προηγούμενη χορήγηση αντιβιοτικών ή χειρουργική επέμβαση, εξαιρέθηκαν από τη μελέτη.

Στους ασθενείς της μελέτης ελήφθησαν δείγματα αίματος, ούρων (με υπερηβική παρακέντηση) και εγκεφαλονωτιαίου υγρού (με οσφυονωτιαία παρακέντηση) για ανάλυση και καλλιέργεια, κατά την εισαγωγή τους στο νοσοκομείο και πριν την έναρξη της χορήγησης αντιβιοτικών ενδοφλεβίως. Στο αίμα προσδιορίστηκαν δείκτες λοίμωξης (αριθμός λευκοκυττάρων, πολυμορφοπυρήνων, αιμοπεταλίων και CRP ορού) και μια μικρή ποσότητα ορού (0,01 ml), μετά από φυγοκέντρηση, φυλασσόταν στους -80°C έως τη μέτρηση των επιπέδων της YKL-40. Τα επίπεδα της YKL-40 μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας ELISA kit για

human CHI3L1 (R&D Systems, USA), σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Δείγμα αίματος ελήφθη και την 7^η έως 10^η ημέρα νοσηλείας, μετά την ολοκλήρωση της αγωγής και την κλινική βελτίωση των ασθενών, με στόχο τη μέτρηση της CRP και της YKL-40 στην αποδρομή της σήψης. Στους μάρτυρες ελήφθη αίμα για αντίστοιχες μετρήσεις μόνον άπαξ.

Για τις ανάγκες της μελέτης, καταγράφηκαν και αναλύθηκαν χαρακτηριστικά των νεογνών, όπως η χρονολογική ηλικία, το βάρος γέννησης, η ηλικία κύησης και το φύλο, το είδος της σήψης (με θετικές ή αρνητικές καλλιέργειες) και το είδος των μικροβίων που αναπτύχθηκαν. Η καλλιέργεια αίματος θεωρήθηκε θετική στην περίπτωση που απομονωνόταν ένας παθογόνος μικροοργανισμός. Μικροοργανισμοί όπως *Staphylococcus epidermidis* θεωρήθηκαν επιμόλυνση. Η καλλιέργεια ούρων θεωρήθηκε θετική στην περίπτωση που απομονωνόταν ένας παθογόνος μικροοργανισμός, με υπερηβική παρακέντηση ή καθετηριασμό της κύστης και σε συγκέντρωση μεγαλύτερη των 50.000 CFU/ml.

Συγκρίθηκαν τα επίπεδα YKL-40 ορού μεταξύ ασθενών και μαρτύρων, καθώς και μεταξύ της οξείας φάσης και της αποδρομής της σήψης. Αναζητήθηκε συσχέτιση των επιπέδων YKL-40 κατά την οξεία φάση με τον αριθμό των λευκοκυττάρων, πολυμορφοκυττάρων και αιμοπεταλίων της γενικής αίματος και τα επίπεδα CRP ορού. Διερευνήθηκε η διαγνωστική αξία της YKL-40 ως προς α) τη διάκριση των ασθενών από τους μάρτυρες και β) τη διάκριση των ασθενών με σήψη και θετικές καλλιέργειες από τους ασθενείς με σήψη και αρνητικές καλλιέργειες.

Η διενέργεια της μελέτης εγκρίθηκε από το επιστημονικό συμβούλιο του Νοσοκομείου Παίδων «Η Αγία Σοφία» και επιπλέον λήφθηκε έγγραφη συγκατάθεση των γονέων των νεογνών.

Στατιστική ανάλυση

Τα δεδομένα των μετρήσεων παρουσιάζονται, στη συνέχεια, με δείκτες περιγραφικής ανάλυσης. Αρχικά, παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα χαρακτηριστικά και οι μετρήσεις για όλα τα νεογνά για την περιγραφή του συνολικού δείγματος. Επιπλέον, γίνεται διαχωρισμός μεταξύ ασθενών και υγιών (μαρτύρων), αλλά και μεταξύ των ασθενών με θετική καλλιέργεια και αυτών με αρνητική. Για τις ποιοτικές μεταβλητές χρησιμοποιείται η συχνότητα, ενώ για τις ποσοτικές μεταβλητές χρησιμοποιείται η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση, καθώς και η διάμεσος και 25^η -75^η εκατοστιαία θέση για ποσοτικές μεταβλητές με μη κανονική κατανομή.

Οι στατιστικές διαφορές των μετρήσεων μεταξύ ασθενών και υγιών, αλλά και μεταξύ των ασθενών με θετική καλλιέργεια και αυτών με αρνητική, διερευνήθηκαν με τη χρήση t-test ή Mann-Whitney, ανάλογα με την κατανομή της κάθε μεταβλητής. Οι στατιστικές διαφορές ανάλογα με το βακτήριο που απομονώθηκε ή όχι, διερευνήθηκαν με Analysis Of Variance (ANOVA) test ή με Kruskal Wallis test, ανάλογα με την κατανομή της κάθε μεταβλητής. Η σύγκριση μεταβλητών, όπως τα επίπεδα YKL-40, μεταξύ της οξείας φάσης και της αποδρομής της λοίμωξης στους ασθενείς έγινε με Paired-t-test ή Wilcoxon/sign rank test, ανάλογα με την κατανομή.

Για την εύρεση της πιθανής συσχέτισης μεταξύ των επιπέδων της YKL-40 και των κλινικών παραμέτρων χρησιμοποιήθηκαν στατιστικοί δείκτες συσχέτισης. Συγκεκριμένα, διεξήχθησαν έλεγχοι βασιζόμενοι στην κατανομή των ποσοτικών μεταβλητών, όπως η μέθοδος Pearson correlation ή Spearman's rho correlation. Τέλος, πραγματοποιήθηκαν δύο πολυπαραγοντικές παλινδρομήσεις για να ελεγχθεί η συσχέτιση της ασθένειας (κύρια ανεξάρτητη μεταβλητή) με τις τιμές των CRP και YKL-40 (εξαρτημένες μεταβλητές) κατά την οξεία φάση της σήψης (ημέρα 0), ξεχωριστά, ελέγχοντας για τους παράγοντες φύλο, ηλικία, ηλικία κύησης και βάρος γέννησης (ανεξάρτητες/controls). Οι τιμές των CRP και YKL-40 χωρίστηκαν σε τεταρτημόρια και χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της διαβαθμισμένης λογιστικής παλινδρόμησης (ordered logistic regression).

Για να εξετάσουμε τη διαγνωστική αξία της YKL-40 στα νεογνά με σήψη, υπολογίσαμε την ευαισθησία, την ειδικότητα και την ιδανική cut-off τιμή, χρησιμοποιώντας την καμπύλη ROC (Receiver Operating Characteristic).

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα SPSS Statistics 26.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στη μελέτη περιλήφθηκαν συνολικά 45 νεογνά, εκ των οποίων 30 ήταν ασθενείς με σήψη και 15 υγιή νεογνά, ως μάρτυρες. Τα χαρακτηριστικά των νεογνών της μελέτης φαίνονται στον πίνακα 4.

Πίνακας 4. Περιγραφικά χαρακτηριστικά των νεογνών κατά την ένταξη στη μελέτη (συνόλου νεογνών, ασθενών στην οξεία φάση της σήψης και μαρτύρων).

	Σύνολο N=45	Ασθενείς N=30	Μάρτυρες N=15	p-value*
Φύλο				0,660
Θήλυ	16 (35,6%)	10 (33,3%)	6 (40%)	
Άρρεν	29 (64,4%)	20 (66,7%)	9 (60%)	
Ηλικία (ημέρες)	18,0 (6,7)	17,9 (6,6)	18,1 (7,2)	0,549
Ηλικία κύησης (εβδομάδες)	38,4 (1,2)	38,5 (1,2)	38,4 (1,3)	0,568
Βάρος γέννησης (γραμμάρια)	3128 (363)	3155 (303)	3075 (467)	0,752
Θετική καλλιέργεια (αίματος, ούρων ή ΕΝΥ)				
Όχι		10 (33,3%)		
Ναι		20 (66,7%)		
Θετική καλλιέργεια αίματος				
Όχι		23 (76,7%)		
Ναι		7 (23,3%)		

Οι τιμές εκφράζονται ως απόλυτες τιμές (%) ή ως μέση τιμή (SD)

*p-value: μεταξύ ασθενών και μαρτύρων

Από την ομάδα των ασθενών με σήψη, σε 20 (66,7%) ασθενείς αναπτύχθηκε μικρόβιο σε καλλιέργεια βιολογικού υγρού. Εξ αυτών, σε 7 (23,3 % των ασθενών) αναπτύχθηκε μικρόβιο σε καλλιέργεια αίματος, ενώ 13 (43,3% των ασθενών) είχαν θετική καλλιέργεια ούρων. Από το σύνολο των 20 ασθενών με θετική καλλιέργεια, στο 53,3% απομονώθηκε *Escherichia coli* και στο 13,3% απομονώθηκαν άλλα μικρόβια (*Enterococcus aerogenes*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*).

Οι τιμές των λευκών αιμοσφαιρίων, πολυμορφοπυρήνων και αιμοπεταλίων, καθώς και της CRP και YKL-40 ορού στο σύνολο των νεογνών της μελέτης και χωριστά στους ασθενείς και στους μάρτυρες, φαίνονται στον πίνακα 5 και αναλύονται παρακάτω.

Πίνακας 5. Αιματολογικές παράμετροι, CRP και YKL-40 ορού στο σύνολο των νεογνών, σε ασθενείς και σε μάρτυρες.

	Σύνολο	Ασθενείς	Μάρτυρες	p-value*
	N=45	N=30	N=15	
Λευκά αιμοσφαίρια (/mm³)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η)	11030 (8660-15940)	13165 (8570-19260)	10250 (8660-11030)	0,017
Πολυμορφοπύρρηνα (/mm³)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η)	3242 (1964-7970)	7089 (3192-11388)	2010 (1426-2854)	<0,001
Αιμοπετάλια (x10³/mm³)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η)	466 (369-609)	459 (361-555)	572 (418-702)	0,059
CRP day 0 (mg/L)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η)	3,4 (1-52,3)	30,3 (3,4-75)	0,6 (0,2-1,1)	<0,001
CRP day 7-10 (mg/L)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η)	NA	1,1 (0,4-1,9)	NA	0,174**
YKL-40 day 0 (pg/ml)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η)	32,9 (21,3-40,4)	35,5 (27,9-54,2)	21,5 (18,9-31,2)	0,003
YKL-40 day 7-10 (pg/ml)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η)	NA	24,1 (18-35,5)	NA	0,431**

Οι τιμές εκφράζονται ως διάμεση τιμή (25^η – 75^η ΕΘ).

*p-value: μεταξύ ασθενών και μαρτύρων

**p-value: μεταξύ ασθενών στην αποδρομή και μαρτύρων (άπαξ)

Η διάμεση τιμή (25^η-75^η ΕΘ) των λευκών αιμοσφαιρίων ήταν 11030/mm³ (8660-15940) για το σύνολο των νεογνών. Η διάμεση τιμή των λευκών αιμοσφαιρίων στην ομάδα των ασθενών με σήψη [13165/mm³ (8570-19260)] ήταν μεγαλύτερη από τη διάμεση τιμή στην ομάδα των υγιών μαρτύρων [10250/mm³ (8660-11030)] και αυτή η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική (p-value=0,017).

Η διάμεση τιμή (25^η-75^η ΕΘ) των ουδετερόφιλων πολυμορφοπυρήνων ήταν 3242/mm³ (1964-7970) για το σύνολο των νεογνών. Η διάμεση τιμή των ουδετερόφιλων πολυμορφοπυρήνων στην ομάδα των ασθενών με σήψη [7089/mm³ (3192-11388)] ήταν μεγαλύτερη από τη διάμεση τιμή στην ομάδα των υγιών μαρτύρων [2010/mm³ (1426-2854)] και αυτή η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική (p-value <0,001).

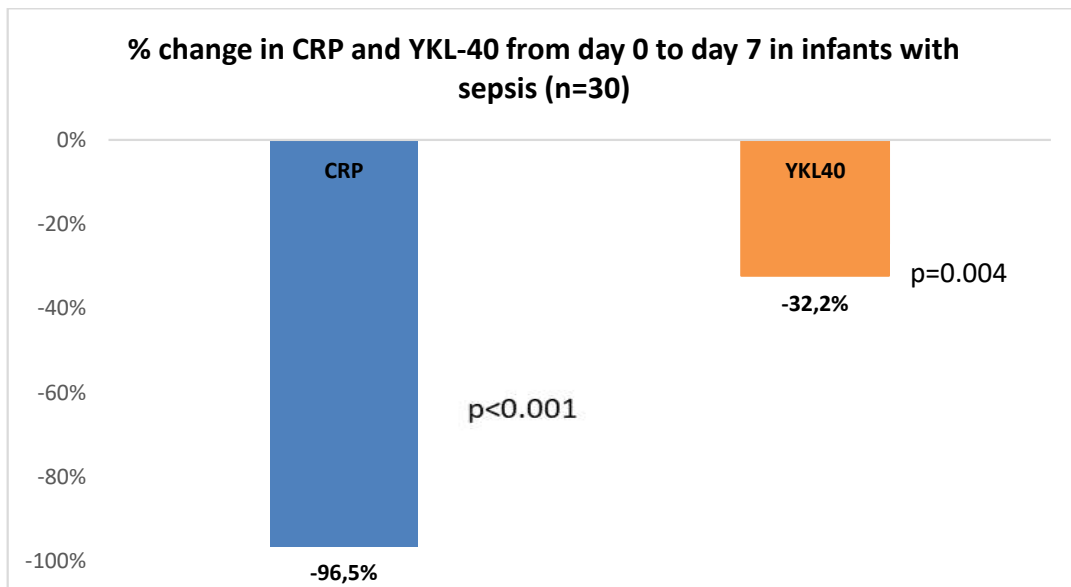
Η διάμεση τιμή (25^η-75^η ΕΘ) των αιμοπεταλίων ήταν 466 x103/mm³ (369-609) για το σύνολο των νεογνών. Η διάμεση τιμή των αιμοπεταλίων στην ομάδα των ασθενών με σήψη [459 x103/mm³ (361-555)] ήταν μικρότερη από τη διάμεση τιμή στην ομάδα των υγιών μαρτύρων [572x103/mm³ (418-702)] αλλά η διαφορά αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική (p-value=0,059).

Η διάμεση τιμή (25^η-75^η ΕΘ) της CRP κατά την ένταξη στη μελέτη ήταν 3,4 mg/L (1-52,3) για το σύνολο των νεογνών. Η διάμεση τιμή (25^η-75^η ΕΘ) της CRP στην ομάδα των ασθενών με σήψη [30,3 mg/L (3,4-75)] ήταν μεγαλύτερη από την αντίστοιχη τιμή στην ομάδα των υγιών μαρτύρων [0,6 mg/L (0,2-1,1)] και αυτή η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική (p-value <0,001). Στην αποδρομή της σήψης, η διάμεση τιμή της CRP στην ομάδα των ασθενών με σήψη [1,1 mg/L (0,4-1,9)] ήταν μεγαλύτερη από τη διάμεση τιμή των υγιών μαρτύρων αλλά η διαφορά αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική (p-value=0,174).

Η διάμεση τιμή (25^η-75^η ΕΘ) της YKL-40 κατά την ένταξη στη μελέτη ήταν 32,9 pg/ml (21,3-40,4) για το σύνολο των ασθενών. Η διάμεση τιμή της YKL-40 στην ομάδα των ασθενών με σήψη [35,5 pg/ml (27,9-54,2)] ήταν μεγαλύτερη από τη διάμεση τιμή στην ομάδα των υγιών μαρτύρων [21,5 pg/ml (18,9-31,2)] και αυτή η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική (p-value=0,003). Στην αποδρομή της σήψης, η διάμεση τιμή της YKL-40 στους ασθενείς [24,1 pg/ml (18-35,5)] ήταν μεγαλύτερη από τη διάμεση τιμή των μαρτύρων αλλά η διαφορά αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική (p-value=0,431).

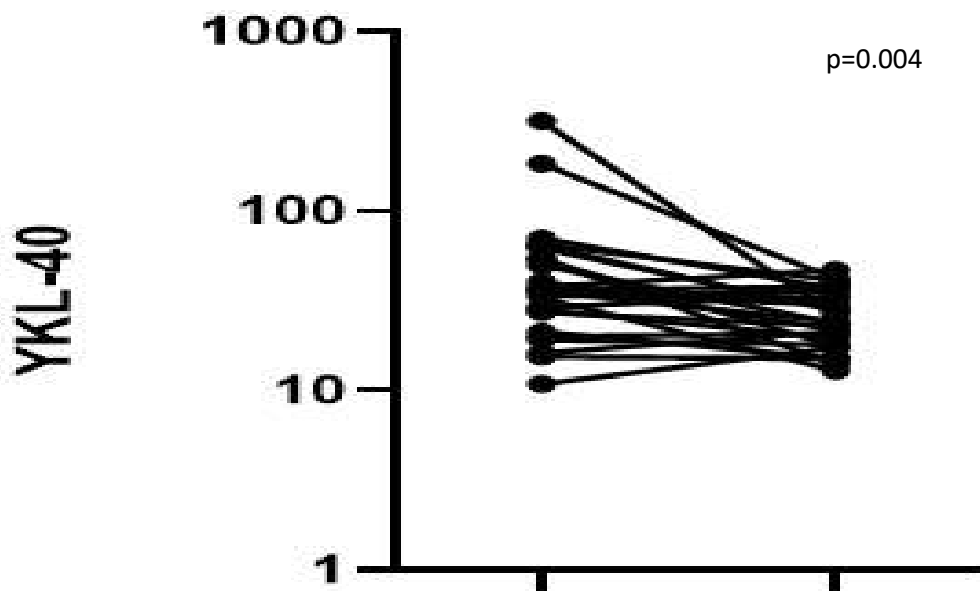
Στο γράφημα 1 απεικονίζεται η ποσοστιαία μεταβολή της CRP και της YKL-40 από την οξεία φάση έως την αποδρομή της σήψης στους ασθενείς (N=30). Η τιμή της CRP μειώθηκε κατά 96,5% (p-value<0,001) και της YKL-40 κατά 32,2% (p-value=0,004). Στο γράφημα 2 απεικονίζεται η μεταβολή των επιπέδων της YKL-40 στους ασθενείς από την οξεία φάση έως την αποδρομή (ακριβής μεταβολή για κάθε ασθενή).

Γράφημα 1. Ποσοστιαία μεταβολή της CRP και της YKL-40 μεταξύ της οξείας φάσης και της αποδρομής της σήψης στους ασθενείς.



*p-value: μεταξύ ασθενών στην οξεία φάση της σήψης και στην αποδρομή

Γράφημα 2. Επίπεδα YKL-40 στην οξεία φάση και στην αποδρομή της σήψης.



*p-value: μεταξύ ασθενών στην οξεία φάση της σήψης και στην αποδρομή

Ασθενείς με σήψη και θετική καλλιέργεια (culture positive sepsis) συγκριτικά με ασθενείς με σήψη και αρνητική καλλιέργεια (culture negative sepsis)

Από το σύνολο των ασθενών με σήψη (N=30), το 33,3% αφορούσε θήλεα νεογνά ενώ το 66,7% ήταν άρρενα νεογνά. Στην ομάδα των ασθενών με θετική καλλιέργεια (N=20), το 25% αφορά θήλεα νεογνά και το 75% τα άρρενα. Η ομάδα των ασθενών με αρνητική καλλιέργεια αίματος (N=10) περιελάμβανε θήλεα νεογνά στο 50% και 50% άρρενα. Η μέση τιμή της ηλικίας των νεογνών με σήψη, η ηλικία κύησης και το βάρος γέννησης περιγράφηκαν προηγουμένως. Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στο βάρος γέννησης ενώ οι άλλες παράμετροι (ηλικία και ηλικία κύησης) δε διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των ασθενών με θετική καλλιέργεια και αυτών με αρνητική (Πίνακας 6).

Πίνακας 6. Περιγραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών με σήψη και θετική καλλιέργεια συγκριτικά με τους ασθενείς με σήψη και αρνητική καλλιέργεια.

	Καλλιέργεια βιολογικού υγρού			p-value*
	Σήψη	Θετική	Αρνητική	
	30	20	10	
Φύλο				0,171
Θήλυ	10 (33,3%)	5 (25%)	5 (50%)	
Άρρεν	20 (66,7%)	15 (75%)	5 (50%)	
Ηλικία (ημέρες)	17,9 (6,6)	17,2 (6,8)	19,2 (6,3)	0,442
Ηλικία κύησης (εβδομάδες)	38,5 (1,2)	38,2 (1,2)	39,0 (1,2)	0,084
Βάρος γέννησης (γραμμάρια)	3155 (303)	3069 (282)	3326 (282)	0,026

Οι τιμές εκφράζονται ως απόλυτες τιμές (%) ή ως μέση τιμή (SD)

*p-value: μεταξύ ασθενών με θετική καλλιέργεια και ασθενών με αρνητική καλλιέργεια

Οι τιμές των λευκών αιμοσφαιρίων, των πολυμορφοπυρήνων και των αιμοπεταλίων, καθώς και των βιοδεικτών CRP και YKL-40, στους ασθενείς με σήψη και θετική καλλιέργεια συγκριτικά με τους ασθενείς με σήψη και αρνητική καλλιέργεια φαίνονται στον πίνακα 7 και αναλύονται παρακάτω.

Πίνακας 7. Αιματολογικές παράμετροι, CRP και YKL-40 ορού στο σύνολο των ασθενών με σήψη και θετική καλλιέργεια συγκριτικά με τους ασθενείς με σήψη και αρνητική καλλιέργεια βιολογικού υγρού.

	καλλιέργεια βιολογικού υγρού			p-value*
	Σήψη	Θετική	Αρνητική	
	30	20	10	
Λευκά αιμοσφαίρια (/mm³)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η ΕΘ)	13165 (8570-19260)	15270 (10690-20225)	10255 (6500-13960)	0,053
Πολυμορφοπύρρηνα (/mm³)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η ΕΘ)	7089 (3192-11388)	8674 (3521-12014)	3619 (1823-7199)	0,010
Αιμοπετάλια (x10³/mm³)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η ΕΘ)	459 (361-555)	462 (350-580)	397 (363-510)	0,395
CRP day 0 (mg/L)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η ΕΘ)	30,3 (3,4-75)	54,7 (24,2-81,1)	2,2 (1-3,8)	0,002
CRP day 7-10 (mg/L)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η ΕΘ)	1,1 (0,4-1,9)	1,2 (0,7-2,1)	0,32 (0,2-0,5)	0,071
YKL day 0 (pg/ml)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η ΕΘ)	35,5 (27,9-54,2)	38,6 (31-63,1)	31,5 (21,3-35,9)	0,061
YKL day 7 (pg/ml)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η ΕΘ)	24,1 (18-35,5)	25,3 (20,8-35,5)	22,8 (18-32,2)	0,837

Οι τιμές εκφράζονται ως διάμεση τιμή (25^η – 75^η ΕΘ).

*p-value: μεταξύ ασθενών με θετική καλλιέργεια και ασθενών με αρνητική καλλιέργεια

Η διάμεση τιμή (25^η-75^η ΕΘ) των λευκών αιμοσφαιρίων ήταν 13165/mm³ (8570-19260) για το σύνολο των νεογνών με σήψη. Η διάμεση τιμή των λευκών αιμοσφαιρίων στην ομάδα των ασθενών με θετική καλλιέργεια [15270/mm³ (10690-20225)] ήταν μεγαλύτερη από τη διάμεση τιμή των ασθενών με αρνητική καλλιέργεια [10255/mm³ (6500-13960)] και αυτή η διαφορά έτεινε αλλά δεν ήταν στατιστικά σημαντική (p-value=0,053).

Η διάμεση τιμή (25^η-75^η ΕΘ) των ουδετερόφιλων πολυμορφοπυρήνων ήταν 7089/mm³ (3192-11388) για το σύνολο των νεογνών με σήψη. Η διάμεση τιμή των ουδετερόφιλων πολυμορφοπυρήνων στην ομάδα των ασθενών με θετική καλλιέργεια [8674/mm³ (3521-

12014)] ήταν μεγαλύτερη από τη διάμεση τιμή στην ομάδα αυτών με αρνητική καλλιέργεια [3619/mm³ (1823-7199)] και αυτή η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική (p-value=0,010).

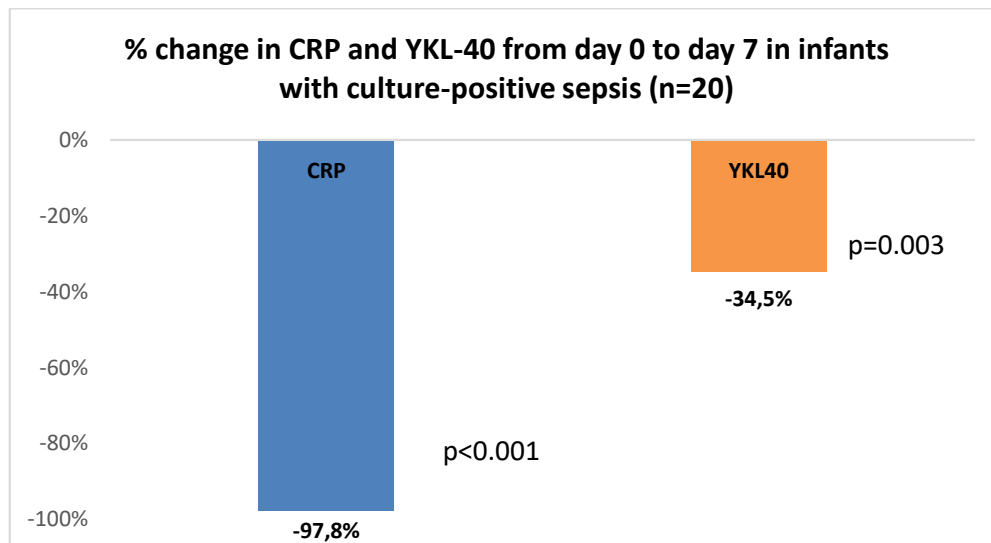
Η διάμεση τιμή (25^η-75^η ΕΘ) των αιμοπεταλίων ήταν 459 x10³/mm³ (361-555) για το σύνολο των νεογνών με σήψη. Η διάμεση τιμή των αιμοπεταλίων στην ομάδα των ασθενών με σήψη με θετική καλλιέργεια [462 x10³/mm³ (350-580)] ήταν μεγαλύτερη από τη διάμεση τιμή στην ομάδα αυτών με αρνητική καλλιέργεια [397x10³/mm³ (363-510)] αλλά αυτή η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική (p-value=0,395).

Η διάμεση τιμή (25^η-75^η ΕΘ) της CRP κατά την οξεία φάση της σήψης ήταν 30,3 mg/L (3,4-75) για το σύνολο των νεογνών με σήψη. Η διάμεση τιμή της CRP κατά την οξεία φάση στην ομάδα των ασθενών με θετική καλλιέργεια [54,7 mg/L (24,2-81,1)] ήταν μεγαλύτερη από την αντίστοιχη τιμή στην ομάδα των νεογνών με σήψη και αρνητική καλλιέργεια [2,2 mg/L (1-3,8)] και αυτή η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική (p-value=0,002). Στην αποδρομή της σήψης, η διάμεση τιμή της CRP ήταν 1,1 mg/L (0,4-1,9) για το σύνολο των ασθενών. Η διάμεση τιμή της CRP στην ομάδα των ασθενών με θετική καλλιέργεια [1,2 mg/L (0,7-2,1)] ήταν μεγαλύτερη από τη διάμεση τιμή στην ομάδα αυτών με αρνητική καλλιέργεια [0,3 mg/L (0,2-0,5)] αλλά αυτή η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική (p-value=0,071).

Η διάμεση τιμή (25^η-75^η ΕΘ) της YKL-40 κατά την οξεία φάση της σήψης ήταν 35,5 pg/ml (27,9-54,2) για το σύνολο των νεογνών με σήψη. Η διάμεση τιμή της YKL-40 στην ομάδα των ασθενών με θετική καλλιέργεια κατά την οξεία φάση [38,6 pg/ml (31-63,1)] ήταν μεγαλύτερη από τη διάμεση τιμή στην ομάδα των νεογνών με σήψη και αρνητική καλλιέργεια [31,5 pg/ml (21,3-35,9)] και αυτή η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική (p-value=0,061). Στην αποδρομή της σήψης, η διάμεση τιμή της YKL-40 ήταν 24,1 pg/ml (18-35,5) στους ασθενείς με σήψη συνολικά. Η διάμεση τιμή της YKL-40 στην ομάδα των ασθενών με θετική καλλιέργεια στην αποδρομή [25,3 pg/ml (20,8-35,5)] ήταν μεγαλύτερη από τη διάμεση τιμή στην ομάδα αυτών με αρνητική καλλιέργεια [22,8 pg/ml (18-32,2)], αλλά η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική (p-value=0,837).

Στο γράφημα 3 απεικονίζεται η ποσοστιαία μεταβολή της CRP και της YKL-40 από την οξεία φάση έως την αποδρομή της σήψης στους ασθενείς με σήψη και θετική καλλιέργεια (N=20). Η τιμή της CRP μειώθηκε κατά 97,8% (p-value<0,001) και της YKL-40 κατά 34,5% (p-value=0,003).

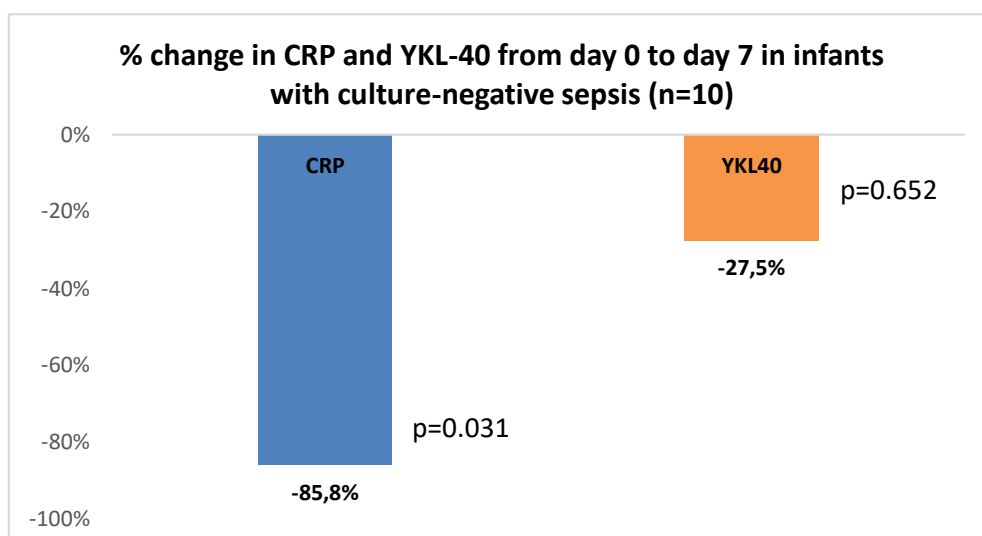
Γράφημα 3. Ποσοστιαία μεταβολή της CRP και της YKL-40 μεταξύ της οξείας φάσης και της αποδρομής της σήψης στα νεογνά με σήψη και θετική καλλιέργεια.



*p-value: μεταξύ οξείας φάσης και αποδρομής της σήψης σε ασθενείς με σήψη και θετική καλλιέργεια

Στο γράφημα 4 απεικονίζεται η ποσοστιαία μεταβολή της CRP και της YKL-40 από την οξεία φάση έως την αποδρομή της σήψης στους ασθενείς με σήψη και αρνητική καλλιέργεια αίματος (N=10). Η τιμή της CRP μειώθηκε κατά 85,8% (p-value=0,031) και της YKL-40 κατά 27,5% (p-value=0,652).

Γράφημα 4. Ποσοστιαία μεταβολή της CRP και της YKL-40 μεταξύ της οξείας φάσης και της αποδρομής της σήψης στα νεογνά με σήψη και αρνητική καλλιέργεια.



*p-value: μεταξύ οξείας φάσης και αποδρομής της σήψης σε ασθενείς με σήψη και αρνητική καλλιέργεια

Ασθενείς με σήψη και θετική καλλιέργεια αίματος (συνδυασμός νεογνικής σήψης και βακτηριαιμίας) συγκριτικά με ασθενείς με σήψη και αρνητική καλλιέργεια αίματος

Από το σύνολο των ασθενών με σήψη (N=30), το 33,3% αφορούσε θήλεα νεογνά ενώ το 66,7% ήταν αρρενα νεογνά. Στην ομάδα των ασθενών με θετική καλλιέργεια αίματος (N=7), το 42,9% αφορά θήλεα νεογνά και το 57,1% τα αρρενα. Η ομάδα των ασθενών με αρνητική καλλιέργεια αίματος (N=23) περιελάμβανε θήλεα νεογνά στο 30,4%, έναντι του 69,6% των αρρένων. Η μέση τιμή της ηλικίας των νεογνών με σήψη, η ηλικία κύησης και το βάρος γέννησης περιγράφηκαν προηγουμένως. Οι διαφορές αυτών των μεταβλητών μεταξύ των ασθενών με θετική καλλιέργεια αίματος και αυτών με αρνητική δεν ήταν στατιστικά σημαντικές (Πίνακας 8).

Πίνακας 8. Περιγραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών με σήψη και θετική καλλιέργεια αίματος συγκριτικά με τους ασθενείς με σήψη και αρνητική καλλιέργεια αίματος.

	Καλλιέργεια αίματος			p-value*
	Σήψη	Θετική	Αρνητική	
	30	7	23	
Φύλο				0,542
Θήλυ	10 (33,3%)	3 (42,9%)	7 (30,4%)	
Άρρεν	20 (66,7%)	4 (57,1%)	16 (69,6%)	
Ηλικία (ημέρες)	17,9 (6,6)	18,1 (8,5)	17,8 (6,1)	0,451
Ηλικία κύησης (εβδομάδες)	38,5 (1,2)	37,9 (0,7)	38,7 (1,3)	0,063
Βάρος γέννησης (γραμμάρια)	3155 (303)	3027 (281)	3193 (305)	0,209

Οι τιμές εκφράζονται ως απόλυτες τιμές (%) ή ως μέση τιμή (SD)

*p-value: μεταξύ ασθενών με θετική καλλιέργεια και ασθενών με αρνητική καλλιέργεια αίματος

Οι τιμές των λευκών αιμοσφαιρίων, των πολυμορφοπυρήνων και των αιμοπεταλίων, καθώς και των βιοδεικτών CRP και YKL-40, στους ασθενείς με σήψη και θετική καλλιέργεια αίματος συγκριτικά με τους ασθενείς με σήψη και αρνητική καλλιέργεια αίματος φαίνονται στον πίνακα 9 και αναλύονται παρακάτω.

Πίνακας 9. Αιματολογικές παράμετροι, CRP και YKL-40 ορού στους ασθενείς με σήψη και θετική καλλιέργεια αίματος συγκριτικά με τους ασθενείς με σήψη και αρνητική καλλιέργεια αίματος.

	Καλλιέργεια αίματος			
	Σήψη	Θετική	Αρνητική	p-value*
	30	7	23	
Λευκά αιμοσφαίρια (/mm³)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η ΕΘ)	13165 (8570-19260)	17840 (13930-24870)	11580 (8400-18730)	0,041
Πολυμορφοπύρρηνα (/mm³)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η ΕΘ)	7089 (3192-11388)	11774 (6980-14673)	5055 (2862-9378)	0,007
Αιμοπετάλια (x10³/mm³)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η ΕΘ)	459 (361-555)	397 (195-555)	462 (363-568)	0,064
CRP day 0 (mg/L)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η ΕΘ)	30,3 (3,4-75)	57,2 (28,5-146)	20,4 (2,1-63,5)	0,034
CRP day 7-10 (mg/L)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η ΕΘ)	1,1 (0,4-1,9)	1,9 (1,1-2,2)	0,6 (0,2-1,6)	0,453
YKL day 0 (pg/ml)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η ΕΘ)	35,5 (27,9-54,2)	62,1 (32,9-70,3)	35,1 (21,3-40,4)	0,023
YKL day 7 (pg/ml)				
Διάμεσος (25 ^η -75 ^η ΕΘ)	24,1 (18-35,5)	27,8 (13,9-33,4)	23,2 (18,8-36,8)	0,364

Οι τιμές εκφράζονται ως διάμεση τιμή (25^η – 75^η ΕΘ).

*p-value: μεταξύ ασθενών με θετική καλλιέργεια και ασθενών με αρνητική καλλιέργεια αίματος

Η διάμεση τιμή (25^η-75^η ΕΘ) των λευκών αιμοσφαιρίων ήταν 13165/mm³ (8570-19260) για το σύνολο των νεογνών με σήψη. Η διάμεση τιμή των λευκών αιμοσφαιρίων στην ομάδα των ασθενών με θετική καλλιέργεια αίματος [17840/mm³ (13930-24870)] ήταν μεγαλύτερη από τη διάμεση τιμή των ασθενών με αρνητική καλλιέργεια αίματος [11580/mm³ (8400-18730)] και αυτή η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική (p-value=0,041).

Η διάμεση τιμή (25^η-75^η ΕΘ) των ουδετερόφιλων πολυμορφοπυρήνων ήταν 7089/mm³ (3192-11388) για το σύνολο των νεογνών με σήψη. Η διάμεση τιμή των ουδετερόφιλων πολυμορφοπυρήνων στην ομάδα των ασθενών με θετική καλλιέργεια αίματος [11774/mm³ (6980-14673)] ήταν μεγαλύτερη από τη διάμεση τιμή στην ομάδα αυτών με αρνητική καλλιέργεια αίματος [5055/mm³ (2862-9378)] και αυτή η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική (p-value=0,007).

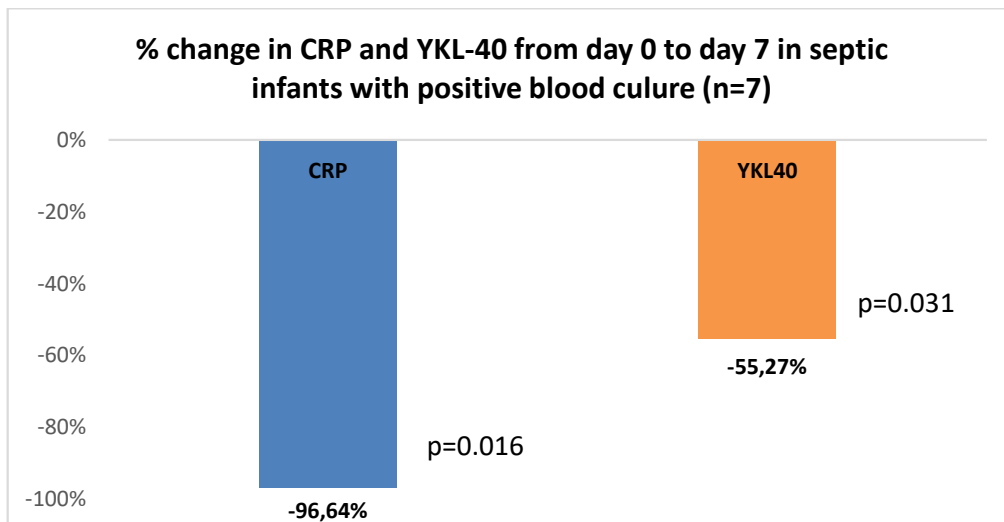
Η διάμεση τιμή (25^η-75^η ΕΘ) των αιμοπεταλίων ήταν $459 \times 10^3/\text{mm}^3$ (361-555) για το σύνολο των νεογνών με σήψη. Η διάμεση τιμή των αιμοπεταλίων στην ομάδα των ασθενών με σήψη με θετική καλλιέργεια αίματος [$397 \times 10^3/\text{mm}^3$ (195-555)] ήταν μικρότερη από τη διάμεση τιμή στην ομάδα αυτών με αρνητική καλλιέργεια [$462 \times 10^3/\text{mm}^3$ (195-555)] αλλά αυτή η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική (p-value=0,064).

Η διάμεση τιμή (25^η-75^η ΕΘ) της CRP κατά την οξεία φάση της σήψης ήταν 30,3 mg/L (3,4-75) για το σύνολο των νεογνών με σήψη. Η διάμεση τιμή της CRP κατά την οξεία φάση στην ομάδα των ασθενών με θετική καλλιέργεια αίματος [57,2 mg/L (28,5-146)] ήταν μεγαλύτερη από την αντίστοιχη τιμή στην ομάδα των νεογνών με σήψη και αρνητική καλλιέργεια αίματος [20,4 mg/L (2,1-63,5)] και αυτή η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική (p-value=0,034). Στην αποδρομή της σήψης, η διάμεση τιμή της CRP ήταν 1,1 mg/L (0,4-1,9) για το σύνολο των ασθενών. Η διάμεση τιμή της CRP στην ομάδα των ασθενών με θετική καλλιέργεια αίματος [1,9 mg/L (1,1-2,2)] ήταν μεγαλύτερη από τη διάμεση τιμή στην ομάδα αυτών με αρνητική καλλιέργεια αίματος [0,6 mg/L (0,2-1,6)] αλλά αυτή η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική (p-value=0,453).

Η διάμεση τιμή (25^η-75^η ΕΘ) της YKL-40 κατά την οξεία φάση της σήψης ήταν 35,5 pg/ml (27,9-54,2) για το σύνολο των νεογνών με σήψη. Η διάμεση τιμή της YKL-40 στην ομάδα των ασθενών με θετική καλλιέργεια αίματος κατά την οξεία φάση [62,1 pg/ml (32,9-70,3)] ήταν μεγαλύτερη από τη διάμεση τιμή στην ομάδα των νεογνών με σήψη και αρνητική καλλιέργεια αίματος [35,1 pg/ml (21,3-40,4)] και αυτή η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική (p-value=0,023). Στην αποδρομή της σήψης, η διάμεση τιμή της YKL-40 ήταν 24,1 pg/ml (18-35,5) στους ασθενείς με σήψη συνολικά. Η διάμεση τιμή της YKL-40 στην ομάδα των ασθενών με θετική καλλιέργεια αίματος στην αποδρομή [27,8 pg/ml (13,9-33,4)] ήταν μεγαλύτερη από τη διάμεση τιμή στην ομάδα αυτών με αρνητική καλλιέργεια αίματος [23,2 pg/ml (18,8-36,8)], αλλά η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντικό (p-value=0,364).

Στο γράφημα 5 απεικονίζεται η ποσοστιαία μεταβολή της CRP και της YKL-40 από την οξεία φάση έως την αποδρομή της σήψης στους ασθενείς με σήψη και θετική καλλιέργεια αίματος (N=7). Η τιμή της CRP μειώθηκε κατά 96,64% (p-value=0,016) και της YKL-40 κατά 55,27% (p-value=0,031).

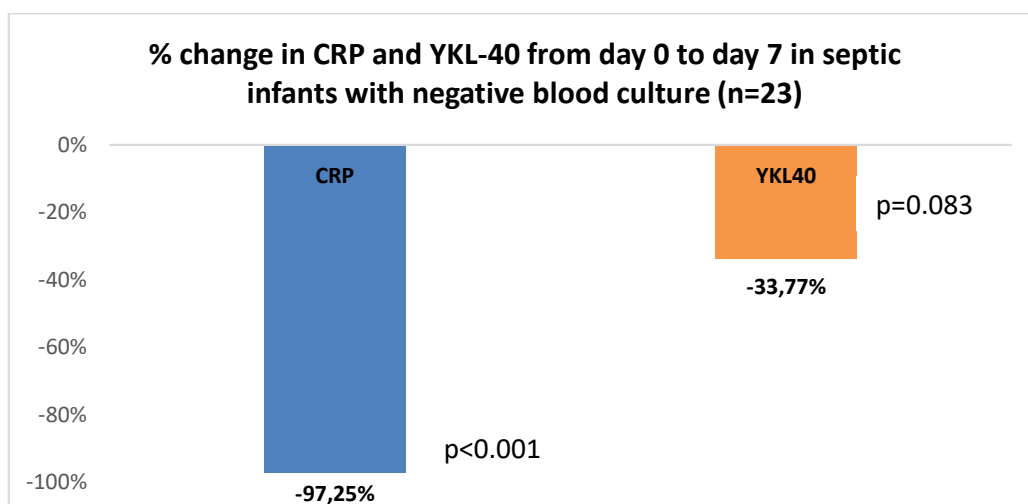
Γράφημα 5. Ποσοστιαία μεταβολή της CRP και της YKL-40 μεταξύ της οξείας φάσης και της αποδρομής της σήψης στα νεογνά με σήψη και θετική καλλιέργεια αίματος.



*p-value: μεταξύ οξείας φάσης και αποδρομής της σήψης σε ασθενείς με σήψη και θετική καλλιέργεια αίματος.

Στο γράφημα 6 απεικονίζεται η ποσοστιαία μεταβολή της CRP και της YKL-40 από την οξεία φάση έως την αποδρομή της σήψης στους ασθενείς με σήψη και αρνητική καλλιέργεια αίματος (N=23). Η τιμή της CRP μειώθηκε κατά 97,25% (p-value<0,001) και της YKL-40 κατά 33,77% (p-value=0,083).

Γράφημα 6. Ποσοστιαία μεταβολή της CRP και της YKL-40 μεταξύ της οξείας φάσης και της αποδρομής της σήψης στα νεογνά με σήψη και αρνητική καλλιέργεια αίματος.



*p-value: μεταξύ οξείας φάσης και αποδρομής της σήψης σε ασθενείς με σήψη και αρνητική καλλιέργεια αίματος.

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι πραγματοποιήθηκε μικρός αριθμός μετρήσεων του βιοδείκτη YKL-40 στα ούρα ασθενών (n=2) στην οξεία φάση της σήψης και μαρτύρων (n=5). Τα επίπεδα της YKL-40 στα ούρα ήταν εξαιρετικά χαμηλά [διάμεση τιμή 1 pg/ml (25^η-75^η ΕΘ 0,8-1,2)]. Ακόμη και στις περιπτώσεις ουρολοίμωξης, τα επίπεδα YKL-40 στα ούρα ήταν πολύ χαμηλά, συγκριτικά με τις τιμές στο αίμα.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ

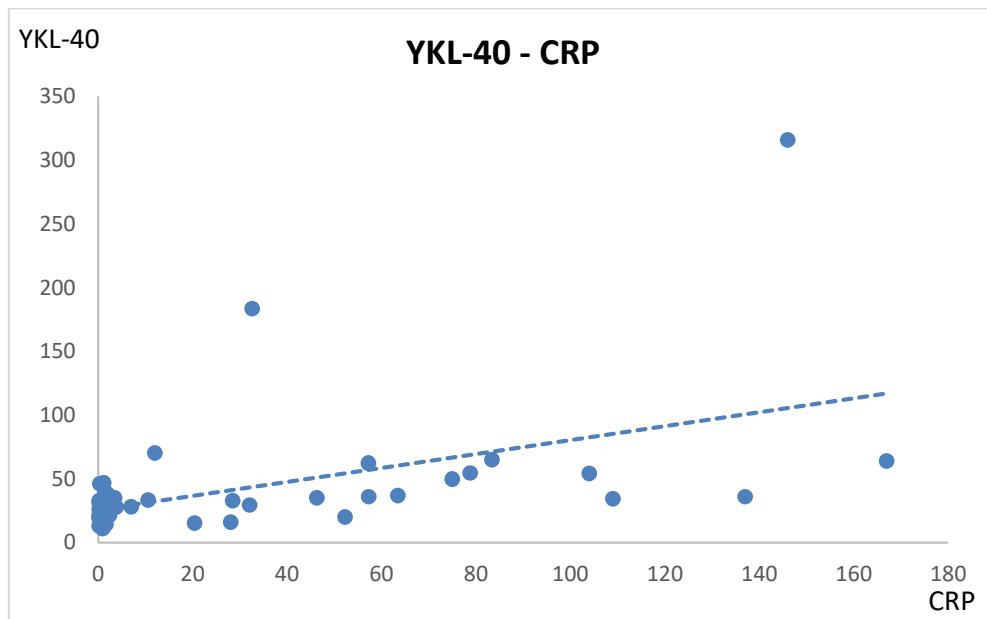
Στον πίνακα 10 και στα γραφήματα 7-13 παρουσιάζονται οι συσχετίσεις μεταξύ των επιπέδων CRP και YKL-40 με άλλες παραμέτρους κατά την ένταξη των νεογνών στη μελέτη.

Διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση των επιπέδων YKL-40 με τη CRP (συντελεστής συσχέτισης $r=0,59$, $p<0,001$). Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές και θετικές συσχετίσεις των επιπέδων YKL-40 και της CRP με τον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων και των πολυμορφοπύρηνων. Η συσχέτιση μεταξύ του αριθμού των αιμοπεταλίων ήταν στατιστικά μη σημαντική και για τους δύο βιοδείκτες (Πίνακας 10).

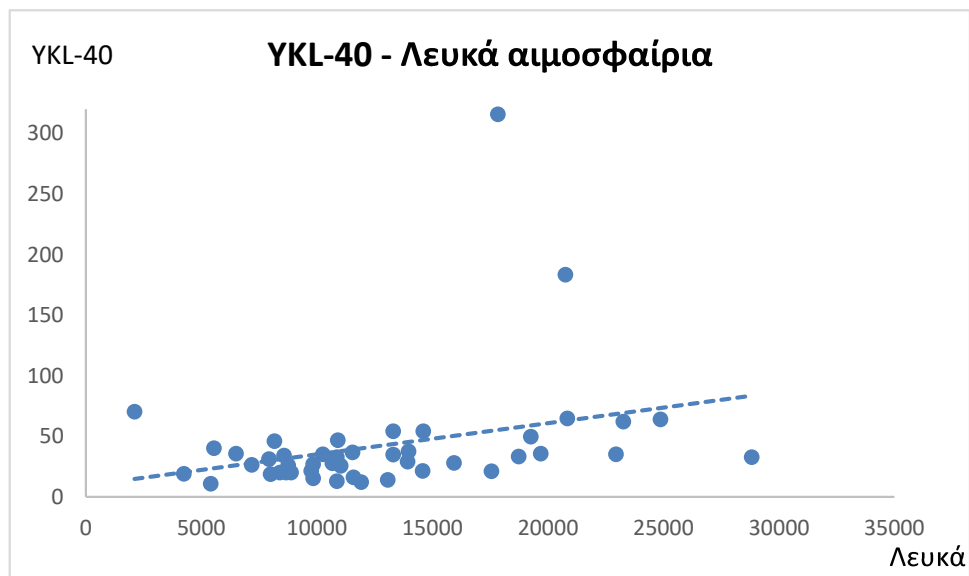
Πίνακας 10. Συσχετίσεις μεταξύ επιπέδων YKL-40 και CRP και αιματολογικών παραμέτρων.

	CRP day 0	p-value	YKL day 0	p-value
YKL day 0	0,59	<0,001	-	-
Λευκά αιμοσφαίρια	0,51	<0,001	0,39	0,009
Πολυμορφοπύρηννα	0,61	<0,001	0,43	0,003
Αιμοπετάλια	-0,08	0,599	-0,02	0,877

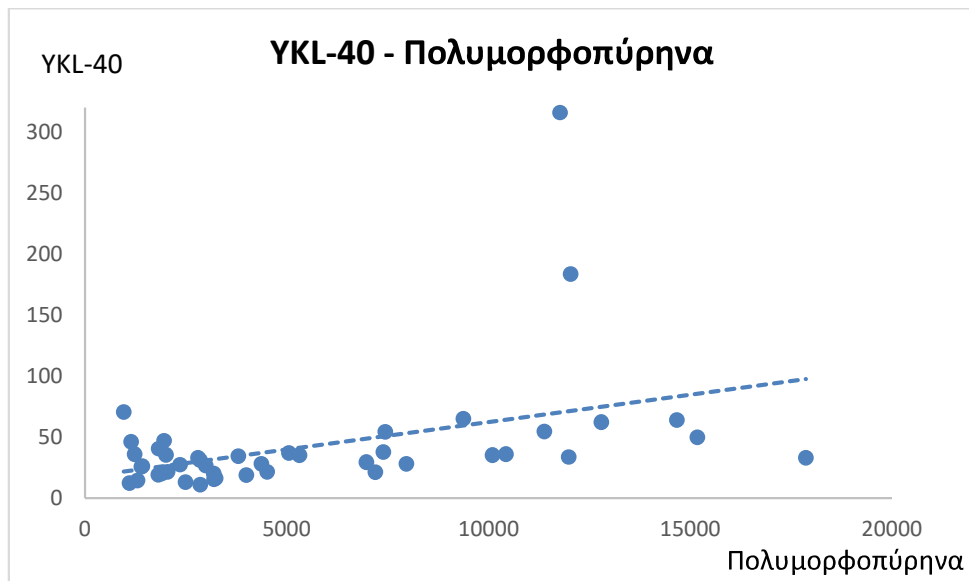
Γράφημα 7. Συσχέτιση των επιπέδων YKL-40 και CRP κατά την ένταξη των νεογνών στη μελέτη (ποσοτικές μεταβλητές).



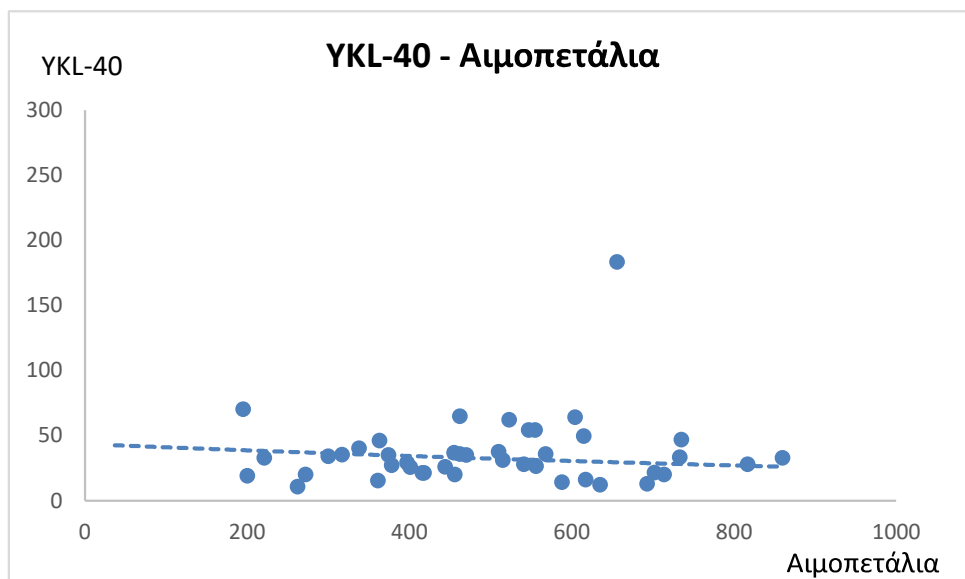
Γράφημα 8. Συσχέτιση των επιπέδων YKL-40 και του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων κατά την ένταξη των νεογνών στη μελέτη (ποσοτικές μεταβλητές).



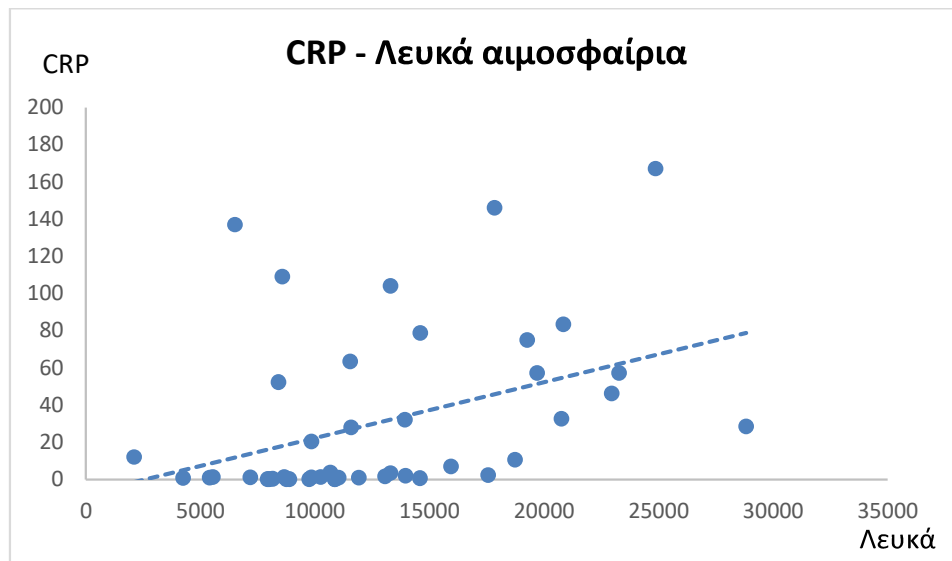
Γράφημα 9. Συσχέτιση των επιπέδων ΥΚΛ-40 και του αριθμού των πολυμορφοπύρηνων κατά την ένταξη των νεογνών στη μελέτη (ποσοτικές μεταβλητές).



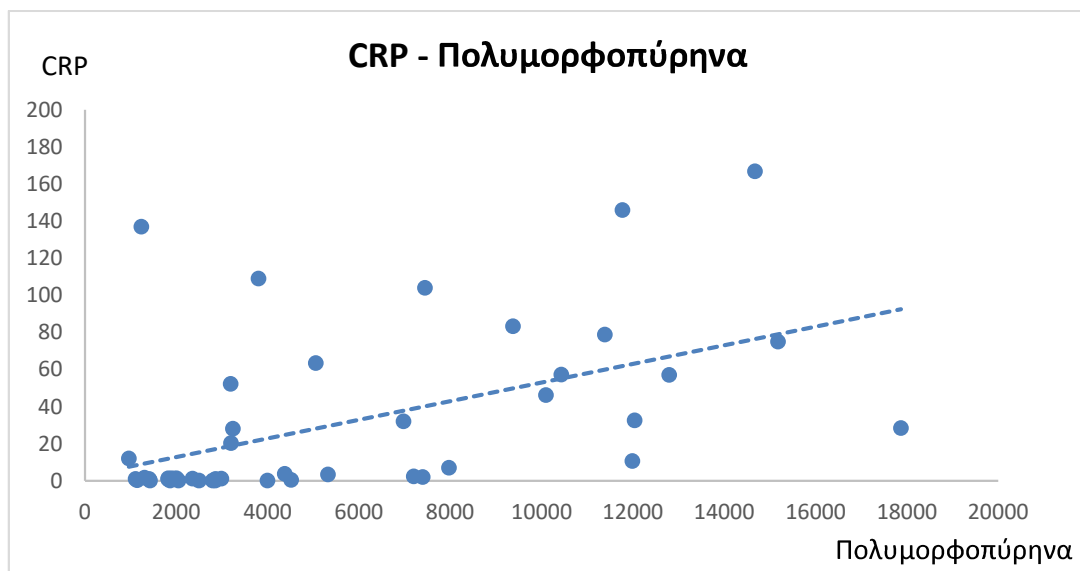
Γράφημα 10. Συσχέτιση των επιπέδων ΥΚΛ-40 και του αριθμού των αιμοπεταλίων κατά την ένταξη των νεογνών στη μελέτη (ποσοτικές μεταβλητές).



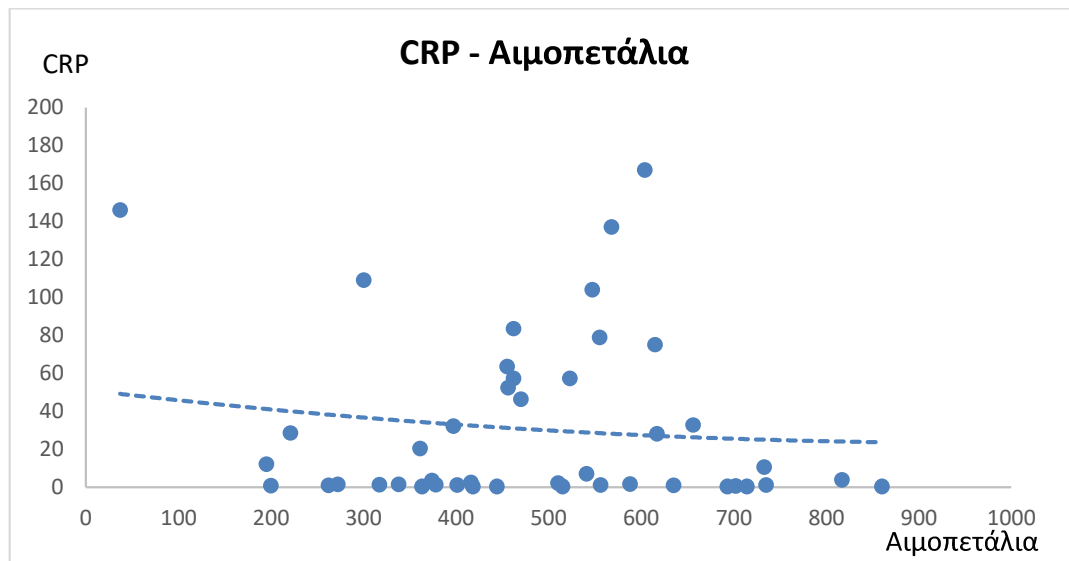
Γράφημα 11. Συσχέτιση των επιπέδων CRP και του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων κατά την ένταξη των νεογνών στη μελέτη (ποσοτικές μεταβλητές).



Γράφημα 12. Συσχέτιση των επιπέδων CRP και του αριθμού των πολυμορφοπύρηνων κατά την ένταξη των νεογνών στη μελέτη (ποσοτικές μεταβλητές).



Γράφημα 13. Συσχέτιση των επιπέδων CRP και του αριθμού των αιμοπεταλίων κατά την ένταξη των νεογνών στη μελέτη (ποσοτικές μεταβλητές).



ΠΟΛΥΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Τα αποτελέσματα της πολυπαραγοντικής τεταρτημοριακής παλινδρομής με την οποία ελέγχθηκε η ανεξάρτητη συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων α) CRP και β) YKL-40 των νεογνών κατά την ένταξή τους στη μελέτη και της πιθανότητας σήψης παρουσιάζονται στους πίνακες 11 και 12.

Παρατηρείται ότι η πιθανότητα αυξημένης τιμής CRP κατά την εισαγωγή στο νοσοκομείο για κάθε τεταρτημόριο είναι 41,24 φορές μεγαλύτερη σε νεογνά με σήψη σε σχέση με τα υγιή νεογνά και η YKL-40 6,11 φορές μεγαλύτερη αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα αυτά είναι στατιστικά σημαντικά ($p\text{-value} < 0,005$ και $< 0,001$ αντίστοιχα).

Πίνακας 11. Πιθανότητα αύξησης τιμής CRP ορού κατά την ένταξη των νεογνών στη μελέτη (ανά τεταρτημόριο) σε ασθενείς με σήψη έναντι των υγιών - Αποτελέσματα πολυπαραγοντικής παλινδρόμησης.

<u>CRP - day 0</u>			
	Odds Ratio	95% CI	p-value
Ασθενής			
Όχι	1,00		
Ναι	41,24	7,93 - 214,55	<0,001
Φύλο			
Θήλυ	1,000		
Άρρεν	1,96	0,52 - 7,38	0,319
Ηλικία	1,03	0,95 - 1,13	0,481
Ηλικία κύησης	0,65	0,37 - 1,16	0,143
Βάρος γέννησης	1,00	0,99 - 1,00	0,561

Πίνακας 12. Πιθανότητα αυξημένης τιμής YKL-40 ορού κατά την ένταξη των νεογνών στη μελέτη (ανά τεταρτημόριο) σε ασθενείς με σήψη έναντι των υγιών - Αποτελέσματα πολυπαραγοντικής παλινδρόμησης.

<u>YKL-40 - day 0</u>			
	Odds Ratio	95% CI	p-value
Ασθενής			
Όχι	1,00		
Ναι	6,11	1,75 - 21,33	0,005
Φύλο			
Θήλυ	1,00		
Άρρεν	3,31	0,88 - 12,51	0,078
Ηλικία	1,07	0,98 - 1,17	0,108
Ηλικία κύησης	0,41	0,22 - 0,75	0,004
Βάρος γέννησης	1,00	0,99 - 1,00	0,459

Διερεύνηση διαγνωστικής αξίας της YKL-40 - Σύγκριση με άλλους βιοδείκτες λοίμωξης

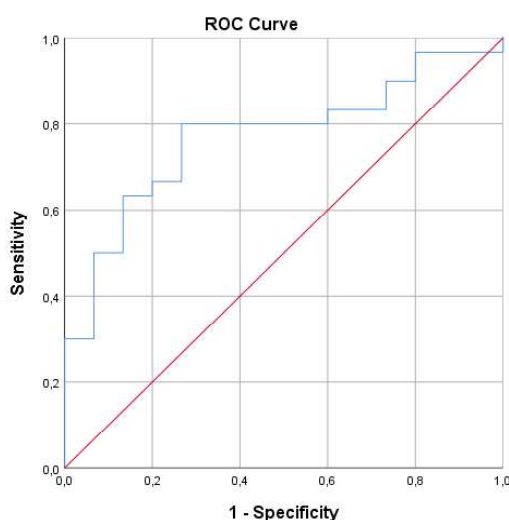
Προκειμένου να διερευνηθεί η διαγνωστική αξία της YKL-40 και να συγκριθεί με αυτή άλλων βιοδεικτών της μελέτης μας, χρησιμοποιήθηκαν καμπύλες ROC (Receiver Operating Characteristic) και υπολογίστηκε η περιοχή κάτω από την καμπύλη (area under the curve-AUC). Ακολουθούν τα αντίστοιχα γραφήματα 14-22 και οι πίνακες 13-21 για τη YKL-40, τη CRP, τα λευκά αιμοσφαίρια, τα πολυμορφοπύρρηνα και τα αιμοπετάλια. Επιπλέον, εξετάστηκε η ικανότητα της YKL-40 και της CRP να διακρίνουν τους ασθενείς με σήψη και θετική καλλιέργεια από αυτούς με σήψη και αρνητική καλλιέργεια, αλλά και αυτούς με σήψη και θετική καλλιέργεια αίματος από αυτούς με αρνητική.

Α) Διάκριση νεογνών με σήψη από τα υγιή νεογνά

Διαπιστώθηκε ότι για την **YKL-40**, η περιοχή κάτω από την ROC καμπύλη (AUC) είναι 0,771 (95%CI 0,632-0,911). Η τιμή αυτή διαφέρει στατιστικά σημαντικά από την τιμή 0,5 που υποδηλώνει μηδενική ικανότητα της YKL-40 να διακρίνει τη νεογνική σήψη ($p=0,003$). (Γράφημα 14, Πίνακας 13)

Η βέλτιστη **cut-off τιμή της YKL-40** πάνω από την οποία τίθεται η διάγνωση της σήψης φαίνεται να είναι τα **26,8 pg/ml**, με ευαισθησία 80% και ειδικότητα 73%.

Γράφημα 14. Καμπύλη ROC αναφορικά με την ικανότητα της **YKL-40** να διακρίνει τα νεογνά με σήψη από τα υγιή.



Πίνακας 13. Area Under the Curve (AUC) αναφορικά με την ικανότητα της **ΥKL-40** να διακρίνει τη νεογνική σήψη.

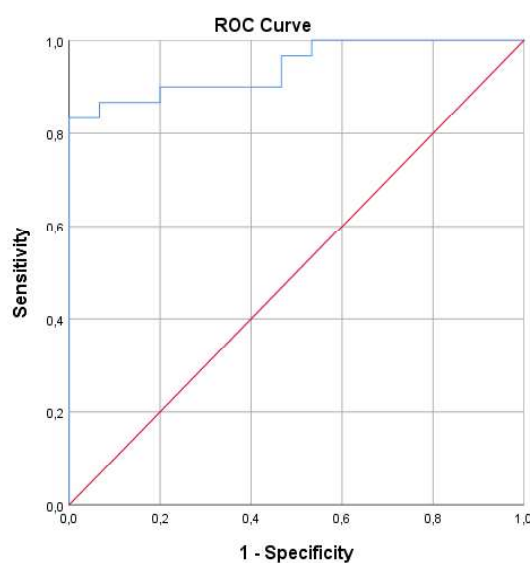
Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
,771	,071	,003	,632	,911

a. Under the nonparametric assumption

b. Null hypothesis: true area = 0.5

Για τη **CRP**, η περιοχή κάτω από την ROC καμπύλη είναι 0,942 (95%CI 0,879-1,000), τιμή που διαφέρει στατιστικά σημαντικά από την τιμή 0,5 που υποδηλώνει μηδενική ικανότητα της CRP να διακρίνει τη νεογνική σήψη ($p=0.000$). (Γράφημα 15, Πίνακας 14)

Γράφημα 15. Καμπύλη ROC αναφορικά με την ικανότητα της **CRP** να διακρίνει τα νεογνά με σήψη από τα υγιή.



Πίνακας 14. Area Under the Curve (AUC) αναφορικά με την ικανότητα της **CRP** να διακρίνει τη νεογνική σήψη.

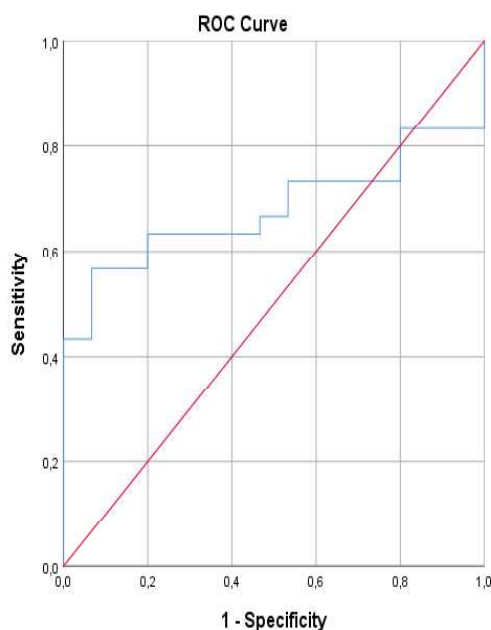
Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
,942	,032	,000	,879	1,000

a. Under the nonparametric assumption

b. Null hypothesis: true area = 0.5

Αντίστοιχα, για τα **λευκά αιμοσφαίρια**, η περιοχή κάτω από την ROC καμπύλη είναι 0,680 (95%CI 0,526-0,834), τιμή που τείνει αλλά δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά από την τιμή 0,5 που υποδηλώνει μηδενική ικανότητα των λευκών αιμοσφαιρίων να διακρίνουν τη νεογνική σήψη ($p=0,051$). (Γράφημα 16, Πίνακας 15)

Γράφημα 16. Καμπύλη ROC αναφορικά με την ικανότητα των **λευκών αιμοσφαιρίων** να διακρίνουν τα νεογνά με σήψη από τα υγιή.



Πίνακας 15. Area Under the Curve (AUC) αναφορικά με την ικανότητα των **λευκών αιμοσφαιρίων** να διακρίνουν τη νεογνική σήψη.

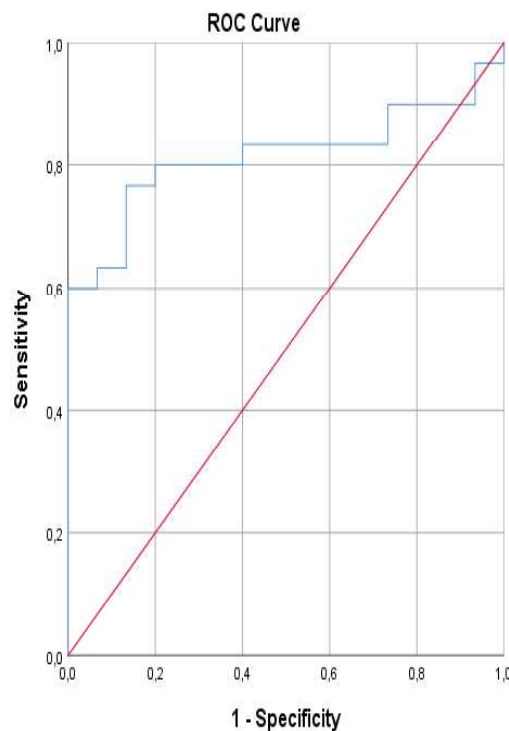
Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
,680	,078	,051	,526	,834

a. Under the nonparametric assumption

b. Null hypothesis: true area = 0.5

Για τα **ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα**, η περιοχή κάτω από την ROC καμπύλη είναι 0,814 (95%CI 0,690-0,941), τιμή που διαφέρει στατιστικά σημαντικά από την τιμή 0,5 που υποδηλώνει μηδενική ικανότητα των πολυμορφοπυρήνων να διακρίνει τη νεογνική σήψη ($p=0,001$) (Γράφημα 17, Πίνακας 16).

Γράφημα 17. Καμπύλη ROC αναφορικά με την ικανότητα των **ουδετερόφιλων πολυμορφοπυρήνων** να διακρίνουν τα νεογνά με σήψη από τα υγιή.



Πίνακας 16. Area Under the Curve (AUC) αναφορικά με την ικανότητα των **ουδετερόφιλων πολυμορφοπυρήνων** να διακρίνουν τη νεογνική σήψη.

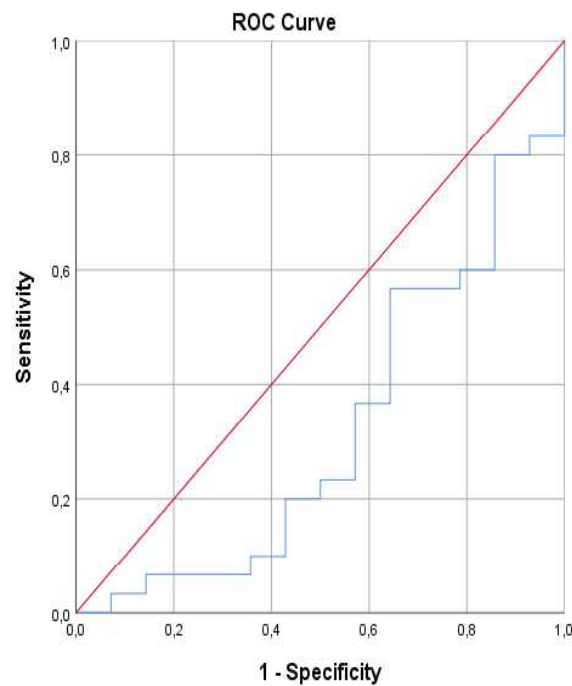
Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
,816	,064	,001	,690	,941

a. Under the nonparametric assumption

b. Null hypothesis: true area = 0.5

Για τα **αιμοπετάλια**, η περιοχή κάτω από την ROC καμπύλη είναι 0,321 (95%CI 0,146-0,497), τιμή που δε διαφέρει στατιστικά σημαντικά από την τιμή 0,5 που υποδηλώνει μηδενική ικανότητα των αιμοπεταλίων να διακρίνουν τα νεογνά με σήψη από τα υγιή ($p=0,059$) (Γράφημα 18, Πίνακας 17).

Γράφημα 18. Καμπύλη ROC αναφορικά με την ικανότητα των **αιμοπεταλίων** να διακρίνουν τη νεογνική σήψη.



Πίνακας 17. Area Under the Curve (AUC) αναφορικά με την ικανότητα των **αιμοπεταλίων** να διακρίνουν τα νεογνά με σήψη από τα υγιή.

Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
,321	,090	,059	,146	,497

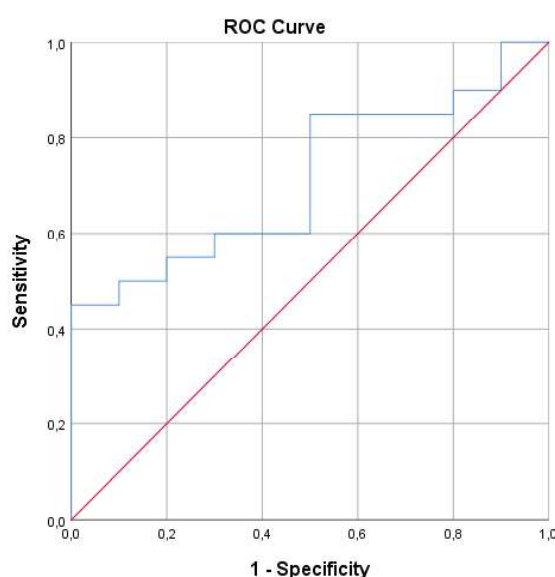
a. Under the nonparametric assumption

b. Null hypothesis: true area = 0.5

B) Διάκριση νεογνικής σήψης με θετική καλλιέργεια από τη σήψη με αρνητική καλλιέργεια

Για τη **YKL-40**, η περιοχή κάτω από την ROC καμπύλη είναι 0,715 (95%CI 0,531-0,899) τιμή που δε διαφέρει στατιστικά σημαντικά από την τιμή 0,5 που υποδηλώνει μηδενική ικανότητα της YKL-40 να διακρίνει τη νεογνική σήψη με θετική καλλιέργεια από τη σήψη με αρνητική καλλιέργεια ($p=0,059$) (Γράφημα 19, Πίνακας 18).

Γράφημα 19. Καμπύλη ROC αναφορικά με την ικανότητα των **YKL-40** να διακρίνει τη νεογνική σήψη με θετική καλλιέργεια από τη σήψη με αρνητική καλλιέργεια.



Πίνακας 18. Area Under the Curve (AUC) αναφορικά με την ικανότητα της **YKL-40** να διακρίνει τη νεογνική σήψη με θετική καλλιέργεια από τη σήψη με αρνητική καλλιέργεια.

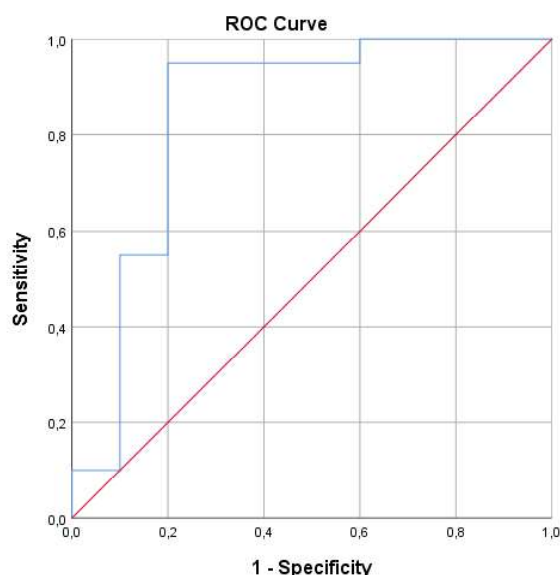
Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
,715	,094	,059	,531	,899

a. Under the nonparametric assumption

b. Null hypothesis: true area = 0.5

Για τη **CRP**, η περιοχή κάτω από την ROC καμπύλη είναι 0,845 (95%CI 0,662-1,000) τιμή που διαφέρει στατιστικά σημαντικά από την τιμή 0,5 που υποδηλώνει μηδενική ικανότητα της CRP να διακρίνει τη νεογνική σήψη με θετική καλλιέργεια από τη σήψη με αρνητική καλλιέργεια ($p=0,002$) (Γράφημα 20, Πίνακας 19).

Γράφημα 20. Καμπύλη ROC αναφορικά με την ικανότητα της **CRP** να διακρίνει τη νεογνική σήψη με θετική καλλιέργεια από τη σήψη με αρνητική καλλιέργεια.



Πίνακας 19. Area Under the Curve (AUC) αναφορικά με την ικανότητα της **CRP** να διακρίνει τη νεογνική σήψη με θετική καλλιέργεια από τη σήψη με αρνητική καλλιέργεια.

Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
,845	,093	,002	,662	1,000

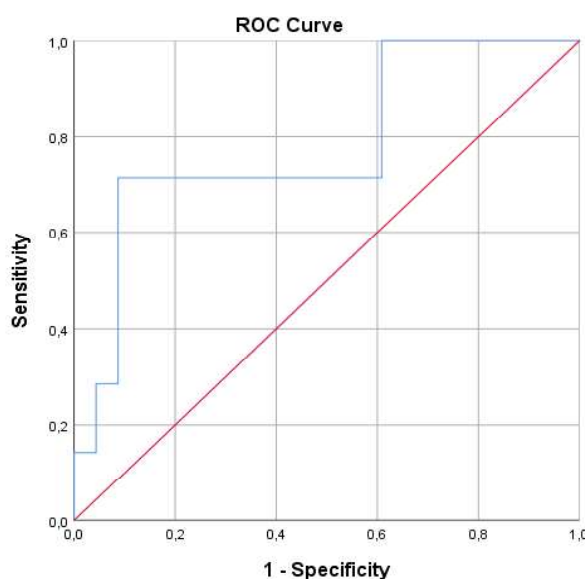
a. Under the nonparametric assumption

b. Null hypothesis: true area = 0.5

Γ) Διάκριση νεογνικής σήψης με θετική καλλιέργεια αίματος από τη σήψη με αρνητική καλλιέργεια αίματος

Για τη **YKL-40**, η περιοχή κάτω από την ROC καμπύλη είναι 0,783 (95%CI 0,573-0,992) τιμή που διαφέρει στατιστικά σημαντικά από την τιμή 0,5 που υποδηλώνει μηδενική ικανότητα της YKL-40 να διακρίνει τη νεογνική σήψη με θετική καλλιέργεια αίματος από τη σήψη με αρνητική καλλιέργεια αίματος ($p=0,026$) (Γράφημα 21, Πίνακας 20).

Γράφημα 21. Καμπύλη ROC αναφορικά με την ικανότητα των **YKL-40** να διακρίνει τη νεογνική σήψη με θετική καλλιέργεια αίματος από τη σήψη με αρνητική καλλιέργεια αίματος.



Πίνακας 20. Area Under the Curve (AUC) αναφορικά με την ικανότητα της **YKL-40** να διακρίνει τη νεογνική σήψη με θετική καλλιέργεια αίματος από τη σήψη με αρνητική καλλιέργεια αίματος.

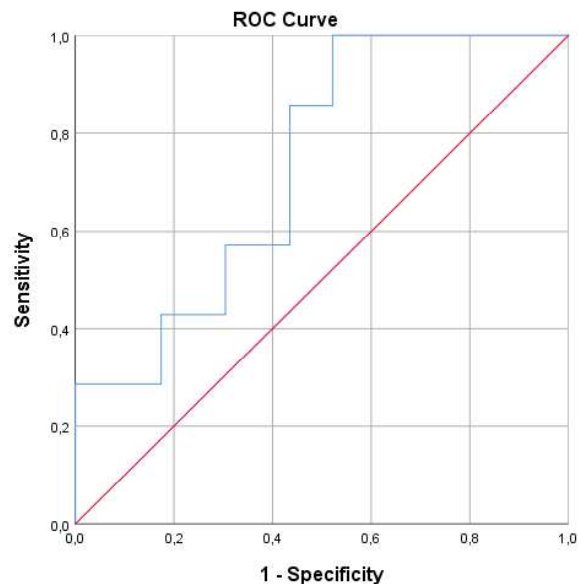
Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
,783	,107	,026	,573	,992

a. Under the nonparametric assumption

b. Null hypothesis: true area = 0.5

Για τη **CRP**, η περιοχή κάτω από την ROC καμπύλη είναι 0,733 (95%CI 0,539-0,927) τιμή που δε διαφέρει στατιστικά σημαντικά από την τιμή 0,5 που υποδηλώνει μηδενική ικανότητα της CRP να διακρίνει τη νεογνική σήψη με θετική καλλιέργεια αίματος από τη σήψη με αρνητική καλλιέργεια αίματος ($p=0,066$) (Γράφημα 22, Πίνακας 21).

Γράφημα 22. Καμπύλη ROC αναφορικά με την ικανότητα της **CRP** να διακρίνει τη νεογνική σήψη με θετική καλλιέργεια αίματος από τη σήψη με αρνητική καλλιέργεια αίματος.



Πίνακας 21. Area Under the Curve (AUC) αναφορικά με την ικανότητα της **CRP** να διακρίνει τη νεογνική σήψη με θετική καλλιέργεια αίματος από τη σήψη με αρνητική καλλιέργεια αίματος.

Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
,733	,099	,066	,539	,927

a. Under the nonparametric assumption

b. Null hypothesis: true area = 0.5

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής, τα επίπεδα YKL-40 είναι αυξημένα στην οξεία φάση της νεογνικής σήψης σε σύγκριση με α) τα επίπεδα σε υγιή νεογνά και β) τα επίπεδα στους ίδιους ασθενείς κατά την αποδρομή της σήψης. Η διαγνωστική αξία της YKL-40 για τη νεογνική σήψη ήταν πολύ καλή, αν και κατώτερη από αυτή της CRP. Εν τούτοις, η YKL-40 δε φαίνεται να είναι καλός δείκτης διάκρισης των ασθενών με νεογνική σήψη και θετική καλλιέργεια έναντι αυτών με σήψη και αρνητική καλλιέργεια συγκριτικά με τη CRP που φαίνεται να έχει αυτή την ικανότητα. Πιο συγκεκριμένα, η CRP στους ασθενείς στην οξεία φάση της σήψης φαίνεται να αυξάνεται έως και 28 φορές συγκριτικά με την αποδρομή και έως και 53 φορές συγκριτικά με τους υγιείς μάρτυρες. Αντίστοιχα, η YKL-40 στους ασθενείς στην οξεία φάση της σήψης φαίνεται να αυξάνεται έως και 1,5 φορές συγκριτικά με την αποδρομή και έως και 1,7 φορές συγκριτικά με τους υγιείς μάρτυρες. Ωστόσο, εστιάζοντας στην ικανότητα διάκρισης των ασθενών με νεογνική σήψη και θετική καλλιέργεια αίματος από τους ασθενείς με αρνητική καλλιέργεια αίματος, η YKL-40 φαίνεται να είναι καλός διαγνωστικός δείκτης, και μάλιστα υπερτερεί της CRP. Αξίζει όμως να σημειωθεί ότι στη συγκεκριμένη μελέτη, ο αριθμός των ασθενών με θετική καλλιέργεια αίματος είναι πολύ μικρός.

Αναφορικά με τις τιμές των ουδετερόφιλων πολυμορφοκυττάρων, φαίνεται να είναι καλός διαγνωστικός δείκτης για νεογνική σήψη. Τα ουδετερόφιλα φαίνονται κατώτερα σε σχέση με τη CRP και ανώτερα της YKL-40, σα διαγνωστικός δείκτης για τη νεογνική σήψη. Αντιθέτως, ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων και των αιμοπεταλίων δεν φαίνεται να είναι ικανός δείκτης διάγνωσης της νεογνικής σήψης, τουλάχιστον στο υλικό της μελέτης μας.

Επιπροσθέτως, στα νεογνά με σήψη, η παρακολούθηση των τιμών της YKL-40 θα μπορούσε ενδεχομένως να αποτελεί δείκτη ανταπόκρισης στη θεραπεία, καθώς οι τιμές της στην αποδρομή της λοίμωξης είναι παρόμοιες με αυτές των υγιών μαρτύρων. Ωστόσο χρειάζεται περαιτέρω μελέτη με προσδιορισμό της YKL-40 σε δείγματα αίματος που λαμβάνονται ανά τακτικά χρονικά διαστήματα π.χ. κάθε 24-48 ώρες μετά την έναρξη της σήψης ώστε να γίνει καλύτερη συσχέτιση με την κλινική ανταπόκριση.

Η συγκεκριμένη προοπτική μελέτη βασίστηκε σε δύο μετρήσεις της YKL-40 ορού -στην οξεία φάση της λοίμωξης και στην αποδρομή-, συγκρίνοντας τη YKL-40 με άλλους δείκτες νεογνικής σήψης, όπως η CRP, που είναι η συχνότερα χρησιμοποιούμενη στην κλινική πράξη,

αλλά και με τα λευκά αιμοσφαίρια, τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα και τα αιμοπετάλια που εύκολα και γρήγορα μπορούν να μετρηθούν. Από όσο γνωρίζουμε, είναι η πρώτη μελέτη που διερευνά τη διαγνωστική ακρίβεια της YKL-40 αμιγώς στη νεογνική σήψη.

Η διαγνωστική αξία του συγκεκριμένου βιοδείκτη έχει μελετηθεί σε σήψη σε ενήλικες, στην έρευνα των Hattori et al., που δημοσιεύθηκε το 2009. Στη μελέτη αυτή, βρέθηκαν αυξημένες τιμές της YKL-40 στον ορό ασθενών με σήψη σε σύγκριση με τους υγιείς, αποτελέσματα που ταιριάζουν με αυτά της παρούσας μελέτης. Στην ίδια μελέτη, αυξημένα επίπεδα ανευρέθηκαν και στους ασθενείς με θετική καλλιέργεια συγκριτικά με αυτούς με αρνητική, σε αντίθεση με τη μελέτη μας που ανέδειξε διαφορά στατιστικά μη σημαντική. Η μελέτη των Hattori και συν. έδειξε ότι τα εξαιρετικά αυξημένα επίπεδα YKL-40 σχετίζονται με σοβαρότερη κλινική εικόνα των ασθενών με σήψη (Hattori et al, 2009). Πρότειναν μια τιμή cut-off της YKL-40 που θα μπορούσε να διακρίνει τους σοβαρά πάσχοντες, όχι όμως να διακρίνει τους ασθενείς με σήψη από τους υγιείς. Τέλος, φάνηκε να υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ της YKL-40 και των επιπέδων της IL-6 κατά την οξεία φάση της σήψης. στην ομάδα των ασθενών κατά την εισαγωγή τους στο νοσοκομείο. Τα αποτελέσματα της μελέτης μας, δείχνουν να υπάρχει θετική συσχέτιση της τιμής της YKL-40 με τη CRP, τα λευκά αιμοσφαίρια και τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα, δείκτες δηλαδή που συχνά αυξάνονται σε σήψη. Η θετική συσχέτιση με τα ουδετερόφιλα, θα μπορούσε να εξηγηθεί και από το γεγονός ότι η YKL-40 απελευθερώνεται από τα κοκκία των ουδετεροφίλων (Volck et al., 1998).

Ελάχιστα έχει μελετηθεί η YKL-40 σε παιδιά με σήψη, ενώ δεν υπάρχουν από όσο γνωρίζουμε μελέτες σε νεογνικό πληθυσμό. Στη μελέτη των Liu και συν. (Liu, Wang and Qie, 2015), σε παιδιά με σήψη, συμπεριλήφθηκε στην ομάδα των ασθενών και μικρός αριθμός νεογνών. Φάνηκε ότι τα επίπεδα της YKL-40 σε ασθενείς με σήψη ήταν ιδιαίτερα αυξημένα πριν την εφαρμογή θεραπείας με συνεχή αιμοκάθαρση, ενώ ομαλοποιήθηκαν σε επίπεδα όμοια με των υγιών μετά τη θεραπεία.

Δεδομένα που προέκυψαν από λίγες μετρήσεις της YKL-40 στα ούρα ασθενών και υγιών, δεν παρατίθενται καθώς δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές λόγω του μικρού δείγματος ενδεχομένως, οπότε δε θα μπορούσαν να διεξαχθούν αξιόπιστα συμπεράσματα. Ωστόσο, είναι αξιοσημείωτο ότι η συγκέντρωση της YKL-40 στα ούρα ήταν εξαιρετικά χαμηλή συγκριτικά με τα επίπεδα στον ορό του αίματος.

Η συγκεκριμένη μελέτη έχει κάποιους περιορισμούς, εφόσον συμπεριλαμβάνει μόνο ασθενείς που επιβίωσαν και δε βρίσκονταν σε σηπτική καταπληξία. Ως εκ τούτου, δεν ήταν εφικτό να

μελετηθεί η προγνωστική αξία της YKL-40, η ικανότητα δηλαδή να προβλέπει την έκβαση. Επίσης, η έλλειψη σταθερής διενέργειας PCR στα βιολογικά υγρά που ελήφθησαν, δεν επιτρέπει την εξακρίβωση των υπεύθυνων μικροοργανισμών στις περιπτώσεις νεογνικής σήψης με αρνητικές καλλιέργειες. Λόγω του σχετικά μικρού αριθμού δειγμάτων, δεν ήταν δυνατό να διεξαχθούν αναλύσεις κατηγοριοποιώντας τους ασθενείς ανάλογα με τον υπεύθυνο παθογόνο μικροοργανισμό. Η έλλειψη μετρήσεων της IL-6 στην παρούσα μελέτη, αποτελεί έναν ακόμα περιορισμό, καθώς φαίνεται να αυξάνεται νωρίς κατά την οξεία φάση και έχει βρεθεί θετική συσχέτιση με τη YKL-40 στη σήψη (Hattori et al, 2009).

Περισσότερες μελέτες και με μεγαλύτερο δείγμα χρειάζεται να διεξαχθούν με στόχο να βρεθεί η βέλτιστη cut-off τιμή της YKL-40 για τη διάγνωση της νεογνικής σήψης, αλλά και να εξεταστούν οι ιδανικοί συνδυασμοί βιοδεικτών για τη διάγνωση και παρακολούθηση της πορείας των νεογνών με σήψη.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η γλυκοπρωτεΐνη YKL-40 φαίνεται να είναι χρήσιμος βιοδείκτης για τη διάγνωση της νεογνικής σήψης και ενδεχομένως για την ανταπόκριση στη θεραπεία. Χρειάζεται μεγαλύτερος αριθμός για να διαπιστωθεί αν η YKL-40 έχει χρησιμότητα δυνητικά και στη διάκριση νεογνών με σήψη και θετική καλλιέργεια από τα νεογνά με σήψη και αρνητική καλλιέργεια.

Περαιτέρω διερεύνηση χρειάζεται τόσο του ρόλου του ίδιου του βιοδείκτη, όσο και των συνδυασμών με άλλους βιοδείκτες συμπληρωματικά, με στόχο την εισαγωγή τους στην κλινική πράξη σε μονάδες νεογνών ως εργαλεία ρουτίνας που θα βοηθούν τους κλινικούς ιατρούς να λάβουν αποφάσεις για τα νεογνά με σήψη.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adams-Chapman, I., 2012. Long-term impact of infection on the preterm neonate. *Seminars in perinatology*. 36(6), pp. 462-470.
- Altunhan, H., Annagür, A., Örs, R. and Mehmetoğlu, I., 2011. Procalcitonin measurement at 24 hours of age may be helpful in the prompt diagnosis of early-onset neonatal sepsis. *Int J Infect Dis*. 15(12), pp. 854-8.
- Arízaga-Ballesteros, V., Alcorta-García, M., Lázaro-Martínez, L. et al., 2015. Can sTREM-1 predict septic shock & death in late-onset neonatal sepsis? A pilot study. *International Journal of Infectious Diseases*. 30, pp. 27-32.
- Arnon, S., Litmanovitz, I., Regev, R., Bauer, S., Shainkin-Kestenbaum, R. and Dolfin, T., 2007. Serum amyloid A: an early and accurate marker of neonatal early-onset sepsis. *Journal of Perinatology*. 27(5), pp. 297-302.
- Arshad, M. and Seed, P., 2015. Urinary tract infections in the infant. *Clinics in perinatology*. 42(1), pp. 17-28.
- Bakhuizen, S., de Haan, T., Teune, M., et al., 2014. Meta-analysis shows that infants who have suffered neonatal sepsis face an increased risk of mortality and severe complications. *Acta Paediatr*. 103, pp. 1211-1218.
- Barichello, T., Lemos, J., Generoso, J., Carradore, M., Moreira, A., Collodel, A., Zanatta, J., Valvassori, S., Quevedo, J., 2013. Evaluation of the brain-derived neurotrophic factor, nerve growth factor and memory in adult rats survivors of the neonatal meningitis by *Streptococcus agalactiae*. *Brain Res Bull*. 92, pp. 56-9.
- Bell, B., Schellevis, F., Stobberingh, E., Goossens, H., Pringle M., 2014. A systematic review and meta-analysis of the effects of antibiotic consumption on antibiotic resistance. *BMC Infectious diseases*.
- Bellos, I., Fitrou, G., Pergialiotis, V., Thomakos, N., Perrea, D., and Daskalakis, G., 2018. The diagnostic accuracy of presepsin in neonatal sepsis: a meta-analysis. *European journal of pediatrics*. 177(5), pp. 625-632.

- Benitz, W., Wynn, J. and Polin, R., 2015. Reappraisal of guidelines for management of neonates with suspected early-onset sepsis. *J Pediatr.* 166(4), pp. 1070-1074.
- Bhandari, V., 2014. Effective Biomarkers For Diagnosis Of Neonatal Sepsis. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, Volume 3, Issue 3, September 2014, pp. 234–245.
- Bhat, K., Pelloski, C., Zhang, Y., Kim, S., Delacruz, C., Rehli, M. and Aldape, K., 2008. Selective repression of YKL-40 by NF- κ B in glioma cell lines involves recruitment of histone deacetylase-1 and-2. *FEBS letters*, 582(21-22), pp. 3193-3200.
- Bitsori, M., Maraki, S., Raissaki, M., Bakantaki, A. and Galanakis, E., 2005. Community-acquired enterococcal urinary tract infections. *Pediatr Nephrol.* 20(11), pp. 1583-6.
- Blumberg, H., et al., 1996. Invasive group B streptococcal disease: the emergence of serotype V. *Journal of Infectious Diseases* 173(2), pp. 365-373.
- Bonadio, W. and Maida, G., 2014. Urinary tract infection in outpatient febrile infants younger than 30 days of age: a 10-year evaluation. *The Pediatric infectious disease journal.* 33(4), pp. 342-344.
- Brown, J., Meader, N., Wright, K., Cleminson, J., McGuire, W., 2020. Assessment of C-Reactive Protein Diagnostic Test Accuracy for Late-Onset Infection in Newborn Infants: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Pediatr.* 174(3), pp. 260–268.
- Camacho-Gonzalez, A., Spearman, P., Stoll, B., 2013. Neonatal infectious diseases: evaluation of neonatal sepsis. *Pediatr Clin North Am.* 60(2), pp. 367-89.
- Castelli, G., Pognani, C., Meisner, M., Stuani, A., Bellomi, D. and Sgarbi, L., 2004. Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction. *Critical care.* 8(4), pp. 1-9.
- Chenevier-Gobeaux, C., Borderie, D., Weiss, N., Mallet-Coste, T. and Claessens, Y., 2015. Presepsin (sCD14-ST), an innate immune response marker in sepsis. *Clinica chimica acta.* 450, pp. 97-103.
- Chiesa, C., Pacifico, L., Natale, F., Hofer, N., Osborn, J. and Resch, B., 2015. Fetal and early neonatal interleukin-6 response. *Cytokine.* 76(1), pp. 1-12.

- Choo, Y., Cho, H., Seo, I. and Lee, H., 2012. Comparison of the accuracy of neutrophil CD64 and C-reactive protein as a single test for the early detection of neonatal sepsis. *Korean journal of pediatrics*. 55(1), 11.
- Cimini, E., Castilletti, C., Sacchi, A., Casetti, R., Bordoni, V., Romanelli, A., Turchi, F., Martini, F., Tumino, N., Nicastri, E., Corpolongo, A., Di Caro, A., Kobinger, G., Zumla, A., Capobianchi, M., Ippolito, G. and Agrati, C., 2017. Human Zika infection induces a reduction of IFN- γ producing CD4 T-cells and a parallel expansion of effector V δ 2 T-cells. *Scientific Reports*, 7(1).
- Cleper. R., Krause, I., Eisenstein, B. and Davidovits, M., 2004. Prevalence of vesicoureteral reflux in neonatal urinary tract infection. *Clin Pediatr (Phila)*. 43(7), pp. 619-25.
- Coffman, F., 2008. Chitinase 3-Like-1 (CHI3L1): a putative disease marker at the interface of proteomics and glycomics. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci*. 45, pp. 531–562.
- Collado, M., Cernada, M., Neu, J., Pérez-Martínez, G., Gormaz, M. and Vento, M., 2015. Factors influencing gastrointestinal tract and microbiota immune interaction in preterm infants. *Pediatric Research*, 77(6), pp.726-731.
- Connell, T., Rele, M., Cowley, D., Buttery, J. and Curtis, N., 2007. How reliable is a negative blood culture result? Volume of blood submitted for culture in routine practice in a children's hospital. *Pediatrics*. 119(5), pp. 891-6.
- Collins, A., Weitkamp, J. and Wynn, J., 2018. Why are preterm newborns at increased risk of infection?. *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition*, 103(4), pp.F391-F394.
- Cotten, C., Taylor, S., Stoll, B., Goldberg, R., Hansen, N., Sanchez, P., Ambalavanan, N. and Benjamin, D., 2009. Prolonged Duration of Initial Empirical Antibiotic Treatment Is Associated With Increased Rates of Necrotizing Enterocolitis and Death for Extremely Low Birth Weight Infants. *PEDIATRICS*, 123(1), pp.58-66.
- De Buck, M., Gouwy, M., Wang, J., et al., 2016. The cytokine-serum amyloid A-chemokine network. *Cytokine Growth Factor Rev*. 30, pp. 55-69.
- De Louvois, J., Halket, S. and Harvey, D., 2005. Neonatal meningitis in England and Wales: sequelae at 5 years of age. *European journal of pediatrics*. 164(12), pp 730-734.

- Delanghe, J. and Speeckaert, M., 2015. Translational research and biomarkers in neonatal sepsis. *Clin Chim Acta*. 451(Pt A), pp. 46-64.
- Didier C., Streicher, M., Chognot, D., Campagni, R., Schnebelen, A., Messer, J., Donato, L., Langer, B., Meyer, N., Astruc, D. and Kuhn, P., 2012. Late-onset neonatal infections: incidences and pathogens in the era of antenatal antibiotics. *Eur J Pediatr*. 171(4), pp. 681-7.
- Downey, L., Benjamin, D., Clark, R., Watt, K., Hornik, C., Laughon, M., Cohen-Wolkowicz, M. and Smith, P., 2013. Urinary tract infection concordance with positive blood and cerebrospinal fluid cultures in the neonatal intensive care unit. *J Perinatol*. 33(4), pp. 302-6.
- Ellahony, D.,¹ El-Mekawy, M. and Farag, M., 2020. A study of red cell distribution width in neonatal sepsis. *Pediatr Emerg Care*. 36(8), pp. 378-383.
- Flannery, D., Brandsma, E., Saslow, J., Mackley, A., Paul, D., Aghai, Z., 2019. Do infants in the neonatal intensive care unit diagnosed with urinary tract infection need a routine voiding cystourethrogram? *J Matern Fetal Neonatal Med*. 32(11), pp. 1749-1754.
- Fleischmann-Struzek, C., Goldfarb, D., Schlattmann, P., Schlapbach, L., Reinhart, K., Kissoon, N., 2018. The global burden of paediatric and neonatal sepsis: a systematic review. *Lancet Respir Med*. 6(3), pp. 223-230.
- Franz, A., Bauer, K., Schalk, A., Garland, S., Bowman, E., Rex, K., Nyholm, C., Norman, M., Bougatef, A., Kron, M., Mihatsch, W., and Pohlandt, F., 2003. Measurement of interleukin 8 in combination with C-reactive protein reduced unnecessary antibiotic therapy in newborn infants: a multicenter, randomized, controlled trial. *Pediatrics*. 114(1), pp. 1-8.
- Frerot, A., Baud, O., Colella, M., et al., 2019. Cord blood procalcitonin level and early-onset sepsis in extremely preterm infants. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 38(9), pp. 1651-1657.
- Furyk, J., Swann, O. and Molyneux, E., 2011. Systematic review: neonatal meningitis in the developing world. *Trop Med Int Health*. 16, pp. 672–679.
- Galiza, E. and Heath, P., 2009. Improving the outcome of neonatal meningitis. *Curr Opin Infect Dis*. 22(3), pp. 229-34.
- Gaschignard, J., Levy, C., Romain, O., Cohen, R., Bingen, E., Aujard, Y., Boileau, P., 2011. Neonatal Bacterial Meningitis: 444 Cases in 7 Years. *Pediatr Infect Dis J*. 30(3), pp. 212-7.

- Gkentzi, D., Kortsalioudaki, C., Cailes, B., Zaoutis, T., Kopsidas, J., Tsolia, M., Spyridis, N., Siahianidou, S., Sarafidis, K., Heath, P., Dimitriou, G., 2019. Neonatal Infection Surveillance Network in Greece. *Epidemiology of infections and antimicrobial use in Greek Neonatal Units. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 104(3), pp. 293-297.
- Glezen, W., 2003. Effect of maternal antibodies on the infant immune response. *Vaccine*, 21(24), pp.3389-3392.
- Goldman, M., Lahat, E., Strauss, S., Reisler, G., Livne, A., Gordin, L., Aladjem, M., 2000. Imaging after urinary tract infection in male neonates. *Pediatrics*. 105(6), pp. 1232-5.
- Goldstein, B., Giroir, B., Randolph, A., 2005. Members of the International Consensus Conference on Pediatric Sepsis International pediatric sepsis consensus conference: Definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatric Critical Care Medicine*. 6(1), pp. 2-8.
- Gonzalez, B., Mercado, C., Johnson, L., Brodsky, N., Bhandari, V., 2003. Early markers of late-onset sepsis in premature neonates: clinical, hematological and cytokine profile. *J Perinat Med*. 31(1), pp. 60-68.
- Hahn, W., Song, J., Park, I., Kim, H., Park, S. and Oh, M., 2015. Reference Intervals of Serum Procalcitonin Are Affected by Postnatal Age in Very Low Birth Weight Infants during the First 60 Days after Birth. *Neonatology*. 108(1), pp. 60-4.
- Haller, S., et al., 2016. Neurological sequelae of healthcare-associated sepsis in very-low-birthweight infants: Umbrella review and evidence-based outcome tree. *Eurosurveillance*. 21(8).
- Hassoun, A., Stankovic, C., Rogers, A., Duffy, E., Zidan, M., Levijoki, C., Stanley, R., Mahajan, P., 2014. *Listeria* and enterococcal infections in neonates 28 days of age and younger: is empiric parenteral ampicillin still indicated? *Pediatr Emerg Care*. 30(4), pp. 240-3.
- Hattori, N., Oda, S., Sadahiro, T. et al., 2009. YKL-40 identified by proteomic analysis as a biomarker of sepsis. *Shock*. 32(4), 393-400.
- Heath, P. and Okike, I., 2010. Neonatal bacterial meningitis: an update. *Paediatrics and Child Health*. 20, pp. 526-530.

- Heath, P., Yusoff, N. and Baker, C., 2003. Neonatal meningitis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 88(3), pp. 173-8.
- Hermansson, L., Yilmaz, A., Axelsson, M. et al., 2019. Cerebrospinal fluid levels of glial marker YKL-40 strongly associated with axonal injury in HIV infection. *Journal of neuroinflammation*, 16(1), 1-9.
- Hofer, N., Zacharias, E., Müller, W. and Resch, B., 2012. An update on the use of C-reactive protein in early-onset neonatal sepsis: current insights and new tasks. *Neonatology*. 102, pp. 25–36.
- Hornik, C., Benjamin, D., Becker, K., Daniel, K., Benjamin, Jr., Li, J., Clark, H., Cohen-Wolkowicz, M., Smith, B., 2012. Use of the complete blood cell count in early-onset neonatal sepsis. *Pediatr Infect Dis J.* 31(8), pp. 799–802.
- Jobe, A., Bancalari, E., 2001. Bronchopulmonary dysplasia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 163, pp. 1723–1729.
- Johansen, J., Williamson, M., Rice, J. and Price, P., 2009. Identification of proteins secreted by human osteoblastic cells in culture. *Journal of Bone and Mineral Research*, 7(5), pp.501-512.
- Kanellopoulos, T., Salakos, C., Spiliopoulou, I., Ellina, A., Nikolakopoulou, N. and Papanastasiou, D., 2006. First urinary tract infection in neonates, infants and young children: a comparative study. *Pediatr Nephrol.* 21(8), pp. 1131-7.
- Kim, H., Chung, M., Bin, J., Cho, K., Lee, J. and Suh, J., 2018. Urinary YKL-40 as a candidate biomarker for febrile urinary tract infection in young children. *Annals of laboratory medicine*, 38(1), 39.
- Kim, M., Shim, D., Cha, H. et al., 2019. Chitinase 3-like 1 protein plays a critical role in respiratory syncytial virus-induced airway inflammation. *Allergy*, 74(4), 685-697.
- Kimberlin, D., 2004. Neonatal herpes simplex infection. *Clinical Microbiology Reviews.* 17(1), pp. 1-13.
- Klinger, G., et al., 2010. Outcome of early-onset sepsis in a national cohort of very low birth weight infants. *Pediatrics.* 125(4), pp. 736-740.

- Klingenberg, C., Kornelisse, R., Buonocore, G., Maier, R., Stocker, M., 2018. Culture-Negative Early-Onset Neonatal Sepsis - At the Crossroad Between Efficient Sepsis Care and Antimicrobial Stewardship. *Front Pediatr.* 6, pp. 285
- Kornblit, B., Hellemann, D., Munthe-Fog, L. et al., 2013. Plasma YKL-40 and CHI3L1 in systemic inflammation and sepsis—Experience from two prospective cohorts. *Immunobiology*, 218(10), 1227-1234.
- Ku, L., Boggess, K. and Cohen-Wolkowicz, M., 2015. Bacterial meningitis in infants. *Clinics in perinatology.* 42(1), pp. 29-45.
- Kzhyshkowska, J., Mamidi, S., Gratchev, A. et al., 2006. Novel stabilin-1 interacting chitinase-like protein (SI-CLP) is up-regulated in alternatively activated macrophages and secreted via lysosomal pathway. *Blood.* 107(8), pp. 3221-3228.
- Leal, Y., Álvarez-Nemegyei, J., Lavadores-May, A., Girón-Carrillo, J., Cedillo-Rivera, R. and Velazquez, J., 2019. Cytokine profile as diagnostic and prognostic factor in neonatal sepsis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 32(17), pp. 2830-2836.
- Lee, C., Da Silva, C., Dela Cruz, C., Ahangari, F., Ma, B., Kang, M., He, C., Takyar, S. and Elias, J., 2011. Role of Chitin and Chitinase/Chitinase-Like Proteins in Inflammation, Tissue Remodeling, and Injury. *Annual Review of Physiology*, 73(1), pp.479-501.
- Lepage, P., Dan, B., 2013. Infantile and childhood bacterial meningitis. *Handb Clin Neurol.* 112, pp. 1115-25.
- Levy, O., 2007. Innate immunity of the newborn: basic mechanisms and clinical correlates. *Nature Reviews Immunology*, 7(5), pp.379-390.
- Li, J., Li, H., Mao, H., Yu, M., Yang, F., Feng, T., Fan, Y., Lu, Q., Shen, C., Yin, Z., Mao, M. and Tu, W., 2013. Impaired NK cell antiviral cytokine response against influenza virus in small-for-gestational-age neonates. *Cellular & Molecular Immunology*, 10(5), pp.437-443.
- Liu, J., Wang, X. and Qie, L., 2015. Disease indicators for sepsis and analysis of sepsis treatment in children using the continuous blood purification technique. *Genet. Mol. Res.* 14(2), pp. 5685-5693.

- Matics, T. and Nelson Sanchez-Pinto, N., 2017. Adaptation and Validation of a Pediatric Sequential Organ Failure Assessment Score and Evaluation of the Sepsis-3 Definitions in Critically Ill Children. *JAMA Pediatr.* 171(10):e172352.
- Mithal, L., Palac, H., Yogev, R., Ernst, L. and Mestan, K., 2017. Cord blood acute phase reactants predict early onset neonatal sepsis in preterm infants. *PLOS one.* 12(1), e0168677.
- Mirpuri, J., Raetz, M., Sturge, C., Wilhelm, C., Benson, A., Savani, R., Hooper, L. and Yarovinsky, F., 2013. Proteobacteria-specific IgA regulates maturation of the intestinal microbiota. *Gut Microbes*, 5(1), pp.28-39.
- Molloy, E., Wynn, J., Bliss, J., Koenig, J., Keij, F., McGovern, M., Kuester, H., Turner, M., Giannoni, E., Mazela, J., Degtyareva, M., Strunk, T., Simons, S., Janota, J., Plotz, F., van den Hoogen, A., de Boode, W., Schlapbach, L. and Reiss, I., 2020. Neonatal sepsis: need for consensus definition, collaboration and core outcomes. *Pediatric Research*, 88(1), pp.2-4.
- Morley, E., Lapoint, J., Roy, L., Cantor, R., Grant, W., Paolo, W. and Wojcik, S., 2012. Rates of positive blood, urine, and cerebrospinal fluid cultures in children younger than 60 days during the vaccination era. *Pediatr Emerg Care.* 28(2), pp. 125-30.
- Mukhopadhyay, S., Taylor, J., Von Kohorn, I., Flaherman, V., Burgos, A., Phillipi, C., Dhepyasuwan, N., King, E., Dhudasia, M., Puopolo, K., 2017. Variation in Sepsis Evaluation Across a National Network of Nurseries. *Pediatrics.* 139(3):e20162845.
- Newman, T., Puopolo, K., Wi, S., Draper, D. and Escobar, G., 2010. Interpreting complete blood counts soon after birth in newborns at risk for sepsis. *Pediatrics.* 126(5), pp. 903–909.
- Nielsen, A., Plomgaard, P., Krabbe, K., Johansen, J. and Pedersen, B., 2011. IL-6, but not TNF- α , increases plasma YKL-40 in human subjects. *Cytokine.* 55(1), pp. 152-155.
- Ohlsson, A., Lacy, J., 2020. Intravenous immunoglobulin for suspected or proven infection in neonates. *Cochrane Database Syst Rev.* 1(1):CD001239
- Østergaard, C., Johansen, J., Benfield, T., Price, P. and Lundgren, J., 2002. YKL-40 is elevated in cerebrospinal fluid from patients with purulent meningitis. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*, 9(3), 598-604.
- Ozdemir, S., Ozer, E., Ilhan, O., Sutcuoglu, S. and Tatlı, M., 2018. Diagnostic value of urine soluble triggering receptor expressed on myeloid cells (sTREM-1) for late-onset neonatal

sepsis in infected preterm neonates. *Journal of International Medical Research*. 46(4), pp. 1606-1616.

Pammi, M. and Brocklehurst, P., 2011. Granulocyte transfusions for neonates with confirmed or suspected sepsis and neutropenia. *Cochrane Database of Systematic Reviews*.

Patel, A., Johnson, T., Engstrom, J., Fogg, L., Jegier, B., Bigger, H. and Meier, P., 2013. Impact of early human milk on sepsis and health-care costs in very low birth weight infants. *Journal of Perinatology*, 33(7), pp.514-519.

Perrone, S., Lotti, F., Longini, M., Rossetti, A., Bindi, I., Bazzini, F., Belvisi, E., Sarnacchiaro, P., Scapellato, C. and Buonocore, G., 2018. C reactive protein in healthy term newborns during the first 48 hours of life. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 103(2), pp. 163-166.

Phillips, J. and Karlowicz M., 1997. Prevalence of *Candida* species in hospital-acquired urinary tract infections in a neonatal intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J*. 16(2), pp. 190-4.

Pizzini, C., Mussap, M., Plebani, M., and Fanos, V., 2000. C-reactive protein and serum amyloid A protein in neonatal infections. *Scandinavian journal of infectious diseases*. 32(3), pp. 229-235.

Polin, R.; Committee on Fetus and Newborn, 2012. Management of neonates with suspected or proven early-onset bacterial sepsis. *Pediatrics*. 129(5), pp. 1006-15.

Pong, A. and Bradley, J., 1999. Bacterial meningitis and the newborn infant. *Infectious Disease Clinics of North America*. 13(3), pp. 711-733.

Pontrelli, G., De Crescenzo, F., Buzzetti, R. et al., 2017. Accuracy of serum procalcitonin for the diagnosis of sepsis in neonates and children with systemic inflammatory syndrome: a meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 17(1), pp. 302.

Prakash, M., Bodas, M., Prakash, D., Nawani, N., Khetmalas, M., Mandal, A. and Eriksson, C., 2013. Diverse pathological implications of YKL-40: Answers may lie in 'outside-in' signaling. *Cellular Signalling*, 25(7), pp.1567-1573.

Pugni, L., Pietrasanta, C., Milani, S. et al., 2015. Presepsin (soluble CD14 subtype): reference ranges of a new sepsis marker in term and preterm neonates. *PLoS One*. 10(12), e0146020.

- Puopolo, K., Benitz, W. and Zaoutis, T., AAP Committee on fetus and newborn, AAP Committee on infectious diseases, 2018. Management of neonates born at $\leq 34\frac{6}{7}$ weeks' gestation with suspected or proven early-onset bacterial sepsis. *Pediatrics*. 142(6).
- Ramby, A., Goodman, D., Wald, E. and Weiss, S., 2015. Red blood cell distribution width as a pragmatic marker for outcome in pediatric critical illness. *PLoS ONE* 10(6): e0129258
- Raymond, S., Mathias, B., Murphy, T., Rincon, J., López, M., Ungaro, R., Ellett, F., Jorgensen, J., Wynn, J., Baker, H., Moldawer, L., Irimia, D. and Larson, S., 2017. Neutrophil chemotaxis and transcriptomics in term and preterm neonates. *Translational Research*, 190, pp.4-15.
- Schelonka, R., Chal, M., Yoder, B., Hensley, D., Brockett, R. and Ascher, D., et al., 1996. Volume of blood required to detect common neonatal pathogens. *The Journal of Pediatrics*, 129(2), pp. 275-278
- Schmidt, I., Hall, I., Kale, S., Lee, S., He, C., Lee, Y., Chupp, G., Moeckel, G., Lee, C., Elias, J., Parikh, C. and Cantley, L., 2013. Chitinase-Like Protein Brp-39/YKL-40 Modulates the Renal Response to Ischemic Injury and Predicts Delayed Allograft Function. *Journal of the American Society of Nephrology*, 24(2), pp.309-319.
- Schmutz, N., Henry, E., Jopling, J. and Christensen, R., 2008. Expected ranges for blood neutrophil concentrations of neonates: the Manroe and Mouzinho charts revisited. *Journal of Perinatology*, 28(4), pp.275-281.
- Schrag, S., Zywicki, S., Farley, M., Reingold, AL. et al., 2000. Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *N Engl J Med*. 342, pp: 15-20.
- Schuchat, A., Whitney, C. and Zangwill, K., Centers for Disease Control and Prevention, 1996. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: a public health perspective. *MMWR*, 45(No. RR-7).
- Schuchat, A., et al., 2000. Risk factors and opportunities for prevention of early-onset neonatal sepsis: a multicenter case-control study. *Pediatrics*. 105(1), pp. 21-26.
- Seliem, W. and Sultan, A., 2018. Presepsin as a predictor of early onset neonatal sepsis in the umbilical cord blood of premature infants with premature rupture of membranes. *Pediatrics International*, 60(5), pp. 428-432.

- Shaikh, N., Morone, N., Bost, J. and Farrell, M., 2008. Prevalence of urinary tract infection in childhood: a meta-analysis. *Pediatr Infect Dis J.* 27(4), pp. 302-8.
- Shane, A. and Stoll, B., 2014. Neonatal sepsis: Progress towards improved outcomes. *Journal of Infection*, 68, pp.S24-S32.
- Shi, J., Tang, J. and Chen, D., 2016. Meta-analysis of diagnostic accuracy of neutrophil CD64 for neonatal sepsis. *Italian journal of pediatrics.* 42(1), pp. 1-9.
- Simonsen, K., Anderson-Berry, A., Delair, S. and Davies, H., 2014. Early-Onset Neonatal Sepsis. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(1), pp.21-47.
- Singer, M., Deutschman, C., Warren Seymour, C., et al., 2016. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 315(8), pp. 801-810.
- Siomou, E., Giapros, V., Fotopoulos, A., Âasioti, M., Papadopoulou, F., Serbis, Siamopoulou, A. and Andronikou, S., 2009. *Pediatrics.* 124(3), pp. 881-887.
- Smellie, J., Poulton, A. and Prescod, N., 1994. Retrospective study of children with renal scarring associated with reflux and urinary infection. *BMJ.* 308(6938), pp. 1193-1196.
- Spoorenberg, S., Vestjens, S., Voorn, G. et al., 2018. Course of SP-D, YKL-40, CCL18 and CA 15-3 in adult patients hospitalised with community-acquired pneumonia and their association with disease severity and aetiology: A post-hoc analysis. *PloS one*, 13(1), e0190575.
- Stocker, M., Van Herk, W., El Helou, S., et al., 2017. Procalcitonin-guided decision making for duration of antibiotic therapy in neonates with suspected early-onset sepsis: a multicentre, randomised controlled trial (NeoPIIns). *The Lancet.* 390(10097), pp. 871-881.
- Stoll, B., Hansen, N., Bell, E., Walsh, M., Carlo, W., Shankaran, S., Laptook, A., Sánchez, P., Van Meurs, K., Wyckoff, M., Das, A., Hale, E., Ball, M., Newman, N., Schibler, K., Poindexter, B., Kennedy, K., Cotten, C., Watterberg, K., D'Angio, C., DeMauro, S., Truog, W., Devaskar, U. and Higgins, R., 2016. Trends in Care Practices, Morbidity, and Mortality of Extremely Preterm Neonates, 1993 to 2012. *Obstetric Anesthesia Digest*, 36(2), pp.76-77.
- Stoll, B., Hansen, N., Fanaroff, A. et al., 2002. Changes in pathogens causing early-onset sepsis in very-low-birth-weight infants. *N Engl J Med.* 347, pp. 240–247.
- Stoll, B., Hansen, N., Sánchez, P. et al., 2011. Early onset neonatal sepsis: the burden of group B Streptococcal and E. coli disease continues. *Pediatrics.* 127(5), pp. 817–826.

Streimish, I., Bizzarro, M., Northrup, V., Wang, C., Renna, S., Koval, N.,¹ Li, F., Ehrenkranz, R., Rinder, H., Bhandari, V., 2014. Neutrophil CD64 with hematologic criteria for diagnosis of neonatal sepsis. *Am J Perinatol.* 31(1), pp. 21-30.

Subcommittee on Urinary Tract Infection, Steering Committee on Quality Improvement and Management, 2011. *Pediatrics.* 128(3), pp. 595-610.

Thigpen, M., et al, 2011. Bacterial meningitis in the United States, 1998–2007. *New England Journal of Medicine.* 364(21), pp. 2016-2025.

Tu, W., Chen, S., Sharp, M., Dekker, C., Manganello, A., Tongson, E., Maecker, H., Holmes, T., Wang, Z., Kemble, G., Adler, S., Arvin, A. and Lewis, D., 2004. Persistent and Selective Deficiency of CD4+T Cell Immunity to Cytomegalovirus in Immunocompetent Young Children. *The Journal of Immunology*, 172(5), pp.3260-3267.

Turner, D., Hammerman, C., Rudensky, B., Schlesinger, Y., Goia, C. and Schimmel, M., 2006. Procalcitonin in preterm infants during the first few days of life: introducing an age related nomogram. *Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition.* 91(4), 283-286.

Verani, J., McGee, L. and Schrag, S. Prevention of perinatal group B streptococcal disease--revised guidelines from CDC, 2010. *MMWR Recomm Rep.* 59, pp. 1–36.

Verboon-Maciolek, M. et al., 2008. Severe Neonatal Parechovirus Infection and Similarity With Enterovirus Infection. *The Pediatric Infectious Disease Journal.* 27(3), pp. 241-245.

Verheijden, G., Rijnders, A., Bos, E., Coenen-de Roo, C., van Staveren, C. et al., 1997. Human cartilage glycoprotein-39 as a candidate autoantigen in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 40, pp. 1115–1125.

Vind, I., Johansen, J., Price, P. and Munkholm, P., 2003. Serum YKL-40, a potential new marker of disease activity in patients with inflammatory bowel disease. *Scandinavian journal of gastroenterology.* 38(6), 599-605.

Volck, B., Price, P., Johansen, J., Sørensen, O., Benfield, T., Nielsen, H., Calafat, J., Borregaard, N., 1998. YKL-40, a mammalian member of the chitinase family, is a matrix protein of specific granules in human neutrophils. *Proc Assoc Am Physicians.* 110(4), pp. 351-60.

- Vouloumanou, E., Plessa, E., Karageorgopoulos, D., Mantadakis, E. and Falagas, M., 2011. Serum procalcitonin as a diagnostic marker for neonatal sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med.* 37(5), pp. 747-62.
- Walawender, L., Hains, D., Schwaderer, A., 2020. Diagnosis and imaging of neonatal UTIs. *Pediatr Neonatol.* 61(2), pp. 195-200.
- Wang, H., Hsiao, P., Tsai, H., Yeh, C. and Yang, S., 2013. Usefulness of plasma YKL-40 in management of community-acquired pneumonia severity in patients. *International journal of molecular sciences*, 14(11), 22817-22825.
- Weisfelt, M., de Gans, J. and van de Beek, D., 2007. Bacterial meningitis: a review of effective pharmacotherapy. *Expert Opin Pharmacother.* 8(10), pp. 1493-504.
- Weston, E., Pondo, T., Lewis, M., Martell-Cleary, P., Morin, C., Jewell, B., Daily, P., Apostol, M., Petit, S., Farley, M., Lynfield, R., Reingold, A., Hansen, N., Stoll, B., Shane, A., Zell, E., Schrag, S., 2011. The Burden of Invasive Early-onset Neonatal Sepsis in the United States, 2005–2008, *The Pediatric Infectious Disease Journal.* 30(11), pp. 937-941.
- Wynn, J. and Polin, R., 2020. A neonatal sequential organ failure assessment score predicts mortality to late-onset sepsis in preterm very low birth weight infants. *Pediatr Res.* 88(1), pp. 85-90.
- Yang, X. and Sheng, G., 2018. YKL-40 levels are associated with disease severity and prognosis of viral pneumonia, but not available in bacterial pneumonia in children. *BMC pediatrics.* 18(1), 1-8.
- Yu, Z., Liu, J., Sun, Q., Qiu, Y., Han, S., Guo, X., 2010. The accuracy of the procalcitonin test for the diagnosis of neonatal sepsis: a meta-analysis. *Scand J Infect Dis.* 42(10), pp. 723–733.
- Yuan, H., Huang, J., Lv, B, et al., 2013. Diagnosis value of the serum amyloid A test in neonatal sepsis: a meta-analysis. *Biomed Res Int.* 520294.
- Zhou, M., Cheng, S., Yu, J. and Lu, Q., 2015. Interleukin-8 for diagnosis of neonatal sepsis: a meta-analysis. *PloS one.* 10(5), e0127170.
- Zorc, J., Levine, D., Platt, S., Dayan, P., Macias, C., Krief, W., Schor, J., Bank, D., Shaw, K. and Kuppermann, N. Multicenter RSV-SBI Study Group of the Pediatric Emergency Medicine Collaborative Research Committee of the American Academy of Pediatrics, 2005. Clinical and

demographic factors associated with urinary tract infection in young febrile infants. *Pediatrics*. 116(3), pp. 644-8.

ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ

BEST (Biomarkers, Endpoints, And Other Tools) Resource, Updated, November 2020. Available at: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/pdf/Bookshelf_NBK326791.pdf [Accessed 13 January 2021].

Centers for Disease Control and Prevention. Active Bacterial Core Surveillance (ABCs) Report: Group B streptococcus, 2012. Available at: <https://www.cdc.gov/abcs/reports-findings/survreports/gbs12.pdf> [Accessed 9 February 2021].

European Centre for Disease Prevention and Control. 2009. ECDC/EMEA Joint Technical Report: The Bacterial Challenge: Time To React. Available at: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/ecdcemea-joint-technical-report-bacterial-challenge-time-react> [Accessed 13 January 2021].

Gilfillan, M. and Bhandari, V., 2019. Neonatal sepsis biomarkers: where are we now?. Available at: <https://www.dovepress.com/neonatal-sepsis-biomarkers-where-are-we-now-peer-reviewed-fulltext-article-RRN> (Accessed 18 January 2021).

Kopsidas, I., Bouza, E., Gouvias, T., Kaffe, A., Karachristou, K., Kourkouni, E., Mavrogeorgos, G., Roilides, E., Siahianidou, T., Soubasi, V., Spyridis, N., Stratiki, E., Theodoraki, M., Triantafyllidou, P., Tsintoni, A., Tsopela, G., Tzaki, M., Zaoutis, T., CLEO, 2018. Variability of length of therapy for possible early onset sepsis (EOS) and late onset sepsis (LOS): identifying opportunities for antibiotic stewardship in the Neonatal Intensive Care Unit (NICU). Available at: <https://www.cleoresearch.org/el/publications/abstracts/277-variability-of-length-of-therapy-for-possible-early-onset-sepsis-eos-and-late-onset-sepsis-los-identifying-opportunities-for-antibiotic-stewardship-in-the-neonatal-intensive-care-unit-nicu> (Accessed 20 February 2021).

Kopsidas, J., Kortsalioudaki, C., Zannikos, K., Karachristou, K., Kourlaba, G., Anatolitou, F., Lipsou, N., Siachanidou, T., Kent, A., Gkentzi, D., Dimitriou, G., Zaoutis, T., Heath, P., Spyridis, N.; on behalf of the Neonatal Infection Surveillance Network (neonIN), 2014. Epidemiology of

Neonatal Bacteremia in Greece – Data from a European Surveillance Network. Available at: <https://www.cleoresearch.org/el/publications/abstracts/118-epidemiology-of-neonatal-bacteremia-in-greece-data-from-a-european-surveillance-network> (Accessed 20 February 2021).

Kopsidas, I., Lianou, L., Kourkouni, E., Karachristou, K., Stratiki, E., Vintila, A., Karaviti, D., Kirikas, Z., Baglatzi, L., Mougkou, K., Pappa, M., Tsolia, M., Zaoutis, T., Spyridis, N., CLEO, 2016. Infection Control, Antimicrobial Resistance, Chemoprophylaxis and Antimicrobial Stewardship Prolonged Dual Antibiotic Courses for Culture Positive Neonatal Sepsis in 3 Greek Neonatal Units. Available at: <https://www.cleoresearch.org/el/publications/abstracts/126-infection-control-antimicrobial-resistance-chemoprophylaxis-and-antimicrobial-stewardship-prolonged-dual-antibiotic-courses-for-culture-positive-neonatal-sepsis-in-3-greek-neonatal-units> (Accessed 20 February 2021).

Tsitsami, E. and Germanis, A., 2010. The Immune System In Neonates And Infants: Mechanisms And Clinical Correlates. Available at: <https://core.ac.uk/display/132816556> (Accessed 17 January 2021).